# ведомство

- (43) Дата публикации заявки 2020.07.21
- (22) Дата подачи заявки 2018.10.16

- **(51)** Int. Cl. *A61K 31/4709* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
- (54) МОДУЛЯТОРЫ КАНАЛОВ СКАС ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПИЩЕВОДА

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

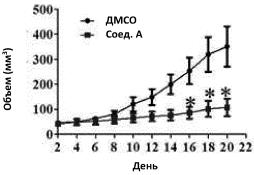
- (31) 201741036809
- (32) 2017.10.17
- (33) IN
- (86) PCT/IB2018/058018
- (87) WO 2019/077496 2019.04.25
- (71) Заявитель: РИЗЕН ФАРМАСЬЮТИКАЛ

РИЗЕН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ СА (CH) **(72)** Изобретатель:

Висванадха Срикант (IN), Ваккаланка Сваруп Кумар Венката Сатья (СН)

(74) Представитель: Нилова М.И. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к применению модулятора кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция (CRAC), такого как N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)фенил)-2-(хинолин-6-ил)ацетамид (соединение (А)) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, или фармацевтической композиции, содержащей указанный модулятор каналов CRAC, для лечения рака пищевода.



# МОДУЛЯТОРЫ КАНАЛОВ CRAC ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПИЩЕВОДА

[01] Настоящее изобретение испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент Индии № 201741036809, поданной 17 октября 2017 г., содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

5

10

15

20

25

30

# ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[02] Настоящее изобретение относится к применению модулятора кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция (CRAC), такого как N-[4-(3,5-дициклопропил-1*H*-пиразол-1-ил)-фенил]-2-(хинолин-6-ил)-ацетамид (Соединение (А)), или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения, или фармацевтической композиции, содержащей указанный модулятор каналов CRAC, для лечения рака пищевода.

#### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

- [03] Рак пищевода (РП) представляет собой вид рака, поражающий пищевод трубку для продвижения пищи, соединяющую глотку и желудок. Симптомы часто включают затрудненное глотание и потерю массы. Другие симптомы могут включать боль при глотании, хриплый голос, увеличенные лимфатические узлы («железы») вокруг ключицы, сухой кашель и, возможно, откашливание или рвоту кровью. См. *Ferri*, *FF*, *et al.* (2012), статья *«Esophageal Tumors»(«Опухоли пищевода»)*, стр. 389-391 <u>Ferri's Clinical</u> Advisor 2013, Mosby (Elsevier) (Филадельфия, штат Пенсильвания).
  - [04] Двумя основными подтипами РП являются плоскоклеточная карцинома пищевода (часто сокращенно обозначаемая ПККП), более распространенная в развивающихся странах, и аденокарцинома пищевода (АКП), более распространенная в развитых странах. Также известно несколько менее распространенных типов. Плоскоклеточная карцинома пищевода возникает из эпителиальных клеток, выстилающих пищевод. Аденокарцинома возникает из железистых клеток, расположенных в нижней трети пищевода, часто там, где они уже превратились в клетки кишечного типа (состояние, известное как пищевод Барретта). См. Montgomery, EA, et al. (2014), «Oesophageal Cancer» («Рак тищевода»), в Stewart, BW; Wild, CP, World Cancer Report (Всемирный доклад о раке) 2014, World Health Organization (Всемирная Организация Здравоохранения), стр. 528–543. Причины плоскоклеточной карциномы пищевода включают табак, алкоголь, очень горячие напитки, плохое питание и жевание бетеля. Наиболее частыми причинами аденокарциномы пищевода являются курение табака, ожирение и кислая отрыжка. См. Zhang, HZ et al. (июнь

- 2012), «Epidemiologic differences in esophageal cancer between Asian and Western populations,» («Эпидемиологические отличия рака пищевода в азиатской и западной популяциях»), Chinese Journal of Cancer (Китайский онкологический журнал), 31(6):281–6.
- [05] Рак пищевода часто трудно поддается лечению с использованием современных терапевтических подходов и имеет неблагоприятный исход. Ежегодно диагностируется почти 400 000 новых случаев рака пищевода он находится на восьмом месте по распространенности среди видов рака и на шестом месте по числу случаев смерти, связанных с раком.

10

15

20

25

30

- [06] Распространенность рака пищевода широко варьируется в зависимости от географического региона и расовой принадлежности. Распространенность аденокарциномы дистального отдела пищевода или пищеводно-желудочного перехода значительно возросла в западных странах за последние 3 десятилетия, тогда как распространенность плоскоклеточной карциномы (ПКК) несколько снизилась. Ранее считали, что аденокарцинома пищевода составляет менее 10 % всех опухолей пищевода, но последние исследования показывают, что по меньшей мере 40 % всех опухолей пищевода в настоящее время составляют аденокарциномы.
- [07] Причины повышения распространенности аденокарцином плохо понятны, но ожирение, гастроэзофагеальный рефлюкс и эпителий Барретта могут вносить свой вклад. Напротив, риск ПКК пищевода и головы и шеи связан с курением и употреблением алкоголя. См. Katsuhiko Higuchi et al., *Gastrointest Cancer Res.* 2009 июль август; 3(4):153–161.
- [08] Карцинома пищевода представляет собой один наиболее ИЗ распространенных видов рака, и считается весьма злокачественным в отношении прогноза и показателя смертности. Несмотря на многие достижения в диагностике и лечении, рак пищевода все еще остается быстро развивающимся заболеванием, характеризующимся высокой степенью местно-регионарных и системных рецидивов и плохой общей выживаемостью. Хирургическое вмешательство является главным компонентом лечения операбельного рака пищевода, особенно аденокарциномы. Хирургическое вмешательство ранее рассматривалось как основа лечения рака пищевода, хотя контроль отдаленных последствий и доля полного иссечения при хирургическом вмешательстве остаются проблемами. Послеоперационная смертность и более высокая частота рецидивов при удалении пищевода побудили к проведению исследований по многопрофильной тактике ведения, такой как одновременная химиорадиотерапия (CCRT), с хирургическим вмешательством или без него. Однако наиболее подходящий вид терапии рака пищевода все еще вызывает споры.

- [09] В последнее десятилетие было проведено несколько исследований лечебного потенциала ССRТ, разрабатывающих идею, что хирургическое вмешательство не является неотъемлемой частью излечивающей терапии. Факторы, влияющие на выбор стратегии лечения, включают исходную клиническую стадию, локализацию первичной опухоли и гистологию. См. Miao-Fen Chen et al, *Scientific Reports*, 2017, DOI: 10.1039/srep46139.
- [10] Возрастающая частота и плохой прогноз для рака пищевода представляют собой важную мировую проблему здоровья населения. По оценкам, в 2013 г. в Соединенных Штатах будет диагностировано 17 990 новых случаев рака пищевода, и только 15 % пациентов останется в живых после болезни. Хотя в последние несколько десятилетий случаи ПКК заметно уменьшаются, частота аденокарциномы (АК) в западных странах увеличивается с тревожной скоростью (> 6-кратно). ПКК и АК существенно отличаются по факторам, лежащим в основе этиологии и образования опухоли. Для ПКК факторами риска являются табак и алкоголь, предшествующий рак головы и шеи и инфицирование вирусом папилломы человека; с повышенным риском АК ассоциируются гастроэзофагеальнорефлюксная болезнь (ГЭРБ) и ожирение. ПКК развивается из предракового диспластического поражения, происходящего из клеток исходного плоского эпителия, тогда как развитие АК инициируется метапластическим кишечным поражением (пищевод Барретта, ПБ), возникающим как реакция на ГЭРБ.
- [11]Кроме хирургического удаления, современный стандарт оказания медицинской помощи пациентам с ПКК или АК включает химиотерапию цисплатином и 5фторурацилом (5-ФУ), и в комбинации с другими агентами, такими как оксалиплатин и иринотекан. К сожалению, у большинства пациентов на поздних стадиях заболевания указанные методы лечения не имеют успеха, и 5-летний показатель выживаемости остается менее 15 %, подчеркивая критическую необходимость в более эффективных вариантах Следовательно, существует острая необходимость в идентификации лечения. молекулярных изменений при ПКК и АК, и определении молекулярных сигнатур для распознавания этих двух типов рака пищевода. В обзоре Abbes Belkhiri et al. (Oncotarget, 2015, 6(3):1348-1358) собраны данные о находящихся в клинической разработке вариантах направленной терапии и предложены потенциальные новые терапевтические мишени для лечения ПКК и АК.
- [12] Несмотря на достигнутый прогресс, сохраняются значительные затруднения в лечении различных видов рака пищевода. Следовательно, сохраняется неудовлетворенная и крайняя нужда в лекарственных средствах для лечения и/или облегчения рака пищевода.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

5

10

15

20

25

30

- [13] Настоящее изобретение относится к применению модулятора кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция (CRAC), такого как ингибитор каналов CRAC, для лечения рака пищевода, включая плоскоклеточную карциному пищевода (ПККП).
- [14] Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что ингибитор каналов CRAC N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамид (Соединение (А), показано ниже), демонстрирует превосходную активность в отношении рака пищевода, включая плоскоклеточную карциному пищевода (ПККП).

10 (A) [15] Согласно одному из вариантов реализации предложено

5

15

20

25

- [15] Согласно одному из вариантов реализации предложено применение модулятора каналов CRAC, такого как ингибитор каналов CRAC, для лечения рака пищевода, такого как ПККП. Предпочтительный вариант реализации представляет собой применение ингибитора каналов CRAC Соединения (А) или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения для лечения рака пищевода, такого как ПККП. Модулятор каналов CRAC можно вводить в качестве терапии первой линии или терапии второй линии.
- [16] Согласно другому варианту реализации предложен способ лечения рака пищевода у субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества модулятора каналов CRAC. Согласно одному из вариантов реализации, указанный модулятор каналов CRAC представляет собой ингибитор каналов CRAC.
- [17] Предпочтительный вариант реализации представляет собой способ лечения рака пищевода у субъекта (предпочтительно, человека), включающий введение указанному субъекту (предпочтительно, человеку) эффективного количества Соединения (А) или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения.
- [18] Другой вариант реализации представляет собой способ модулирования каналов CRAC у субъекта (предпочтительно, человека), страдающего раком пищевода, путем введения субъекту эффективного количества модулятора каналов CRAC. В предпочтительном варианте реализации модулятор каналов CRAC представляет собой Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения.
- [19] Другой вариант реализации представляет собой способ ингибирования (или подавления) метастатической пролиферации клеток рака пищевода у субъекта

(предпочтительно, человека), включающий введение указанному субъекту эффективного количества модулятора каналов CRAC, такого как Соединение (A) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения.

[20] Предмет настоящего изобретения относится к описанным применениям для лечения субъекта, предпочтительно, человека.

5

10

20

25

30

- [21] Предметом настоящего изобретения является применение Соединения (А) или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения для получения лекарственного средства, предназначенного для лечения рака пищевода.
- [22] Одним из предметов настоящего изобретения является применение Соединения (А) или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения для получения лекарственного средства, предназначенного для лечения рака пищевода, причем указанное лекарственное средство предназначено для введения пероральным путем.
- [23] В предпочтительном варианте реализации рак пищевода представляет собой плоскоклеточную карциному пищевода (ПККП).
- 15 [24] В другом варианте реализации рак пищевода представляет собой аденокарциному пищевода (АКП).
  - [25] В другом варианте реализации субъект страдает неоперабельным раком пищевода.
  - [26] В предпочтительном варианте реализации Соединение (А) вводят в виде солянокислой соли Соединения (А). Например, Соединение (А) можно вводить в виде гидрохлорида N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамида.
    - [27] Модулятор каналов CRAC, такой как Соединение (А) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, можно вводить субъекту пероральным путем, внутривенным путем, внутримышечным путем или внутрибрюшинным путем. В одном предпочтительном варианте реализации модулятор каналов CRAC вводят перорально.
    - [28] Согласно одному из вариантов реализации, модулятор каналов CRAC, такой как Соединение (А) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, вводят в качестве терапии первой линии для лечения рака пищевода.
  - [29] В другом варианте реализации модулятор каналов CRAC, такой как Соединение (А) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, вводят в качестве терапии второй линии для лечения рака пищевода.
    - [30] В другом варианте реализации применения модулятора каналов CRAC согласно настоящему описанию, модулятор каналов CRAC применяют в комбинации (с одновременным или последовательным введением) с противораковым лечением, одним

или более цитостатическими, цитотоксическими или противораковыми агентами, таргетной терапией или любой комбинацией любых из перечисленных вариантов.

[31] В другом варианте реализации, в способах согласно настоящему описанию модулятор каналов CRAC применяют в комбинации (с одновременным или последовательным введением) с противораковым лечением, одним или более цитостатическими, цитотоксическими или противораковыми агентами, таргетной терапией или любой комбинацией любых из перечисленных вариантов.

5

10

15

20

25

- [32] Подходящее противораковое лечение включает радиотерапию. Подходящие цитостатические, цитотоксические и противораковые агенты включают, без ограничения, взаимодействующие с ДНК агенты, такие как цисплатин или доксорубицин; ингибиторы топоизомеразы II, такие как этопозид; ингибиторы топоизомеразы I, такие как СРТ-11 или топотекан; взаимодействующие с тубулином агенты, такие как паклитаксел, доцетаксел или эпотилоны (например, иксабепилон), как природные, так и синтетические; гормональные агенты, такие как тамоксифен; ингибиторы тимидилатсинтазы, такие как 5-фторурацил; и антиметаболиты, такие как метотрексат; другие ингибиторы тирозинкиназы, такие как гефитиниб (торговое название Iressa®) и эрлотиниб (также известный как OSI-774); ингибиторы ангиогенеза; ингибиторы ЭФР; ингибиторы ФРЭС; ингибиторы ЦЗК; ингибиторы SRC; ингибиторы с-Кіt; ингибиторы Her1/2 и моноклональные антитела к рецепторам фактора роста, такие как эрбитукс (ЭФР) и герцептин (Her2), и другие модуляторы протеинкиназ.
- [33] Другой вариант реализации представляет собой Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения, подходящие для применения в терапии первой линии для лечения рака пищевода.
- [34] Другой вариант реализации представляет собой Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения, подходящие для применения в терапии второй линии для лечения неоперабельного рака пищевода.
- [35] Другой вариант реализации представляет собой Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения, подходящие для ингибирования (или подавления) метастатической пролиферации клеток рака пищевода.
- [36] Другой вариант реализации представляет собой фармацевтическую композицию для лечения рака пищевода, содержащую модулятор каналов CRAC, такой как ингибитор каналов CRAC (предпочтительно, Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения), и, факультативно, один или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

- [37] В предпочтительном варианте реализации модулятор каналов CRAC представляет собой гидрохлоридную (HCl) соль Соединения (A).
- [38] В одном из вариантов реализации фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более цитостатических, цитотоксических или противораковых агентов.

10

15

20

25

30

- [39] В одном из вариантов реализации фармацевтическая композиция подходит для применения в комбинации с одним или более видами противоракового лечения, одним или более из цитостатических, цитотоксических или противораковых агентов, таргетной терапией или любой комбинацией любых из перечисленных вариантов. Модулятор каналов СRAC можно применять одновременно или последовательно с одним или более видами противоракового лечения, одним или более из цитостатических, цитотоксических или противораковых агентов, таргетной терапией или любой комбинацией любых из перечисленных вариантов.
- [40] В одном из предпочтительных вариантов реализации фармацевтическая композиция подходит для перорального введения. В более предпочтительном варианте реализации, модулятор каналов CRAC в фармацевтической композиции для перорального введения представляет собой гидрохлоридную соль Соединения (A).
- [41] В другом варианте реализации Соединение (A) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения вводят в дозе от 25 до 1000 мг, предпочтительно, в дозе от 25 до 800 мг, от 25 до 600 мг, от 25 до 400 мг или от 25 до 200 мг.
- [42] В другом варианте реализации Соединение (A) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения вводят в дозе от 50 до 1000 мг, предпочтительно, в дозе от 50 до 800 мг, от 50 до 600 мг, от 50 до 400 мг или от 50 до 200 мг.
- [43] В одном из предпочтительных вариантов Соединение (A) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения вводят в дозе от 100 до 1000 мг, предпочтительно, в дозе от 100 до 800 мг, от 100 до 600 мг, от 100 до 400 мг или от 100 до 200 мг.
- [44] В другом варианте реализации Соединение (A) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения вводят в дозе от 25 до 100 мг в сутки, предпочтительно, в дозе от 50 до 500 мг в сутки, более предпочтительно, в дозе от 100 до 400 мг в сутки.
- [45] Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения вводят в виде единственной дозы или в виде разделенных доз.
- [46] В другом варианте реализации Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения вводят один раз в сутки.

[47] В другом варианте реализации Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения вводят дважды в сутки.

# КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

- [48] Фигура 1A представляет собой график противоопухолевого действия, измеренного по объему опухоли, как описано в Примере 2, для Соединения A по сравнению с носителем.
  - [49] Фигура 1В представляет собой график противоопухолевого действия, измеренного по массе опухоли, как описано в Примере 2, для Соединения А по сравнению с носителем.

# ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

## Определения

5

10

15

20

25

30

- [50] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют значения, которые они обычно имеют в той области техники, к которой относится предмет обсуждения. В случае если для указанных терминов существует множество значений, преимущество имеет указанное в настоящем разделе. Если приведены ссылки на URL или другой подобный идентификатор или адрес, понятно, что подобные идентификаторы могут изменяться, и конкретная информация в Интернете добавляется и удаляется, но можно найти эквивалентную информацию путем поиска в Интернете. Ссылки показывают очевидную доступность и широкое распространение такой информации.
- [51] Понятно, что приведенное выше общее описание и следующее подробное описание являются только примерами и пояснениями, и никоим образом не ограничивают предмет настоящего изобретения. В настоящем описании использование терминов в единственном числе включает множественное число, если отдельно не указано иное. Следует отметить, что в настоящем описании формы единственного числа включают указание на множественное число, если контекст явно не предписывает обратное. В настоящем описании использованием союза «или» обозначает «и/или», если не указано обратное. Кроме того, термин «включающий», как и другие его формы, такие как «включать», «включает» и «включал», не являются ограничительными.
- [52] Определения стандартных терминов в области химии и молекулярной биологии можно найти в справочной литературе, включая, без ограничения, Carey and Sundberg «ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY («Современная органическая химия») 4-е издание», Тома A (2000) и В (2001), Plenum Press, Нью-Йорк, и «MOLECULAR BIOLOGY

OF THE CELL («Молекулярная биология клетки») 5-е издание» (2007), Garland Science, Нью-Йорк. Если не указано иное, традиционные методы масс-спектроскопии, ЯМР, ВЭЖХ, химии белков, биохимии, методик с участием рекомбинантной ДНК и фармакологии входят в объем вариантов реализации настоящего изобретения.

5

10

15

20

25

30

- [53] Если не приведены конкретные определения, применяемая номенклатура, лабораторные техники и методики аналитической химии и медицинской фармацевтической химии, описанные настоящем документе, являются общеупотребительными. В некоторых вариантах реализации применяют стандартные методики химического анализа, приготовления фармацевтических препаратов, составов, доставки лекарственных средств, и лечения пациентов. В других вариантах реализации применяют стандартные методики для рекомбинантной ДНК, синтеза олигонуклеотидов, культуры тканей и трансформации (например, электропорация, липофекция). В некоторых вариантах реализации реакции и методики очистки осуществляют, например, с использованием комплектов, согласно инструкциям производителя, или согласно настоящему описанию. Вышеуказанные методики и процедуры в целом осуществляют традиционными способами и согласно описаниям в различных общих и конкретных работах, на которые ссылаются и которые обсуждают в настоящем описании.
- [54] Кроме того, модуляторы каналов CRAC согласно настоящему описанию, включая Соединение (А) и фармацевтически приемлемые соли указанного соединения, включают соединения, отличающиеся только присутствием одного или более обогащенных изотопами атомов, например, замещение водорода дейтерием.
- [55] Термины «субъект» или «пациент» включают млекопитающих и других животных. Примеры млекопитающих включают, без ограничения, любого представителя класса Млекопитающие: людей, других приматов, таких как шимпанзе, и других обезьян; сельскохозяйственных животных, таких как крупный рогатый скот, лошади, овцы, козы и свиньи; домашних животных, таких как кролики, собаки и кошки; и лабораторных животных, включая грызунов, таких как крысы, мыши и морские свинки. Примеры немлекопитающих животных включают, без ограничения, птиц, рыб и подобных животных. В одном из предпочтительных вариантов реализации способов, применений и композиций согласно настоящему описанию млекопитающее представляет собой человека.
- [56] Термины «лечить», «лечащий» или «лечение» в настоящем описании включают ослабление, смягчение или облегчение симптомов заболевания, нарушения или состояния, предотвращение возникновения дополнительных симптомов, облегчение или предотвращение исходных причин симптомов, замедление развития заболевания, нарушения или состояния, например, остановка развития заболевания, нарушения или

состояния, задержка заболевания, нарушения или состояния, обратное развитие заболевания, нарушения или состояния, устранение состояния, вызванного заболеванием, нарушением или состоянием, или прекращение симптомов заболевания, нарушения или состояния, профилактическое и/или терапевтическое.

5

10

15

20

25

30

- [57] Термин «терапия первой линии» относится к первому лечению, назначаемому при указанном заболевании. Часто она является частью стандартного комплекса лечения, такого как хирургическое вмешательство с последующими химиотерапией и радиотерапией. При использовании в отдельности, терапией первой линии является терапия, принятая в качестве наилучшего варианта лечения. Если указанна терапия не излечивает заболевание или вызывает тяжелые побочные действия, к ней могут быть добавлены или использованы взамен другие варианты лечения. Также ее называют индукционной терапией, первичной терапией или первичным лечением.
- [58] Термин «терапия второй линии» относится к лечению, назначаемому, когда первичная терапия (терапия первой линии) недостаточно эффективна или перестала быть эффективной.
- [59] В настоящем описании термин «белок-мишень» относится к белку или части белка, способному связываться или взаимодействовать с соединением согласно настоящему описанию, таким как соединение, способное модулировать белок STIM и/или белок Огаі. В некоторых вариантах реализации белок-мишень представляет собой белок STIM. В других вариантах реализации белок-мишень представляет собой белок Огаі, и в других вариантах реализации мишенями соединения являются одновременно белки STIM и Огаі.
- Термин «белок STIM» относится к любому белку, расположенному в [60] мембране эндоплазматической сети или в плазматической мембране, который активирует увеличение потока поступления кальция в клетку при помощи канала CRAC. (STIM относится к молекуле стромальных взаимодействий.) В настоящем описании «белок STIM» включает, без ограничения, STIM-1 млекопитающих, такой как STIM-1 человека или грызуна (например, мыши), D-STIM Drosophila melanogaster, C-STIM C. elegans, STIM Anopheles gambiae и STIM-2 млекопитающих, такой как STIM-2 человека или грызуна настоящему изобретению, (например, мыши). Согласно такие белки идентифицированы как вовлеченные, принимающие участие и/или обеспечивающие следующие процессы: депо-управляемое поступление кальция или его модулирование, буферное накопление цитоплазматического кальция и/или модулирование уровней кальция, или движение кальция во внутриклеточные депо кальция (например, эндоплазматическая сеть), внутри них или из них.

[61] Следует учесть, что под терминами «активирует» или «активация» подразумевают способность белка STIM повышающе регулировать, стимулировать, усиливать или иным образом способствовать потоку кальция в клетку посредством канала CRAC. Предполагают, что взаимное влияние между белком STIM и каналом CRAC может осуществляться посредством прямого или непрямого молекулярного взаимодействия. Соответственно, белок STIM представляет собой трансмембранный белок, ассоциированный или расположенный в непосредственной близости с каналом CRAC.

5

10

15

20

25

30

- [62] В данной области техники известно, что STIM1 представляет собой существенно важный компонент активации каналов CRAC. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что STIM1 и STIM2 экспрессированы в некоторых линиях клеток ПККП. Кроме того, CRACM1/Orai1 и CRACM3/Orai3 избыточно экспрессированы в некоторых линиях клеток ПККП. Не желая ограничиваться никакой конкретной теорией, полагают, что белки CRAC и STIM потенциально вносят вклад в активацию пролиферативных путей в клетках ПККП следующим образом: (i) избыточное разрегулирование STIM в клетках ПККП приводит к неправильному накоплению STIM в плазматической мембране, и (ii) в плазматической мембране STIM активирует CRAC (посредством прямого или непрямого взаимодействия), что приводит к избыточному притоку кальция в клетку и стимуляции транскрипции, пролиферации и инвазивности в клетках ПККП. Следовательно, ингибирование канала CRAC или пути STIM является эффективным лечением ПККП.
- [63] В настоящем описании «белок Orai» включает Orai1 (SEQ ID NO: 1, описанный в WO 07/081 804), Orai2 (SEQ ID NO: 2, описанный в WO 07/081 804) или Orai3 (SEQ ID NO: 3, описанный в WO 07/081,804). Последовательность нуклеиновых кислот соответствует учетному номеру GenBank NM-032790, последовательность нуклеиновых кислот Orai2 соответствует учетному номеру GenBank BC069270 и последовательность нуклеиновых кислот Orai3 соответствует учетному номеру GenBank NM-152288. В настоящем описании, Orai относится к любому из генов Orai, например, Orai1, Orai2 и Orai3 (см. Таблицу I в WO 07/081 804). Согласно настоящему изобретению, такие белки были идентифицированы как вовлеченные, принимающие участие и/или обеспечивающие следующие процессы: депо-управляемое поступление кальция или его модулирование, буферное накопление цитоплазматического кальция и/или модулирование уровней кальция, или движение кальция во внутриклеточные депо кальция (например, эндоплазматическая сеть), внутри них или из них. В альтернативных вариантах реализации белок Огаі может быть снабжен молекулярной меткой, например, фрагментом фермента, белком (например, с-тус или другой белковой меткой или фрагментом белковой метки),

ферментной меткой, флуоресцентной меткой, флуорофорной меткой, хромофорной меткой, меткой для спектроскопии комбинационного рассеяния, хемилюминесцентной меткой, меткой с квантовой точкой, антителом, радиоактивной меткой или комбинацией указанных вариантов.

5

10

15

20

25

30

- [64] Термин «фрагмент» или «производное», по отношению к белку (например, STIM, Orai) обозначает белки или полипептиды, сохраняющие по существу такую же биологическую функцию или активность в по меньшей мере одном тесте, что и исходный белок (белки). Например, фрагмент или производное указанного белка предпочтительно сохраняет по меньшей мере примерно 50 % активности исходного белка, по меньшей мере примерно 75 % или по меньшей мере примерно 95 % активности исходного белка, как определено, например, в тесте на приток кальция.
- [65] В настоящем описании «облегчение» относится к улучшению заболевания или состояния, или по меньшей мере частичному исчезновению симптомов, связанных с заболеванием или состоянием. В настоящем описании облегчение симптомов конкретного заболевания, нарушения или состояния путем введения определенного соединения или фармацевтической композиции относится к любому уменьшению тяжести, задержке наступления, замедлению развития или сокращению продолжительности, постоянным или временным, длительным или преходящим, приписываемым или ассоциированным с введением указанного соединения или композиции.
- [66] Термин «модулировать» в настоящем описании означает взаимодействовать с белком-мишенью, непосредственно или опосредованно, при этом изменяя активность белка-мишени, включая, например, ингибирование активности мишени, или ограничение или уменьшение активности мишени.
- [67] В настоящем описании термин «модулятор» относится к соединению, изменяющему активность мишени (например, белка-мишени). Например, в некоторых вариантах реализации, модулятор вызывает увеличение или уменьшение величины определенной активности соединения-мишени по сравнению с величиной активности в отсутствии модулятора. В некоторых вариантах реализации модулятор представляет собой ингибитор, который уменьшает величину одной или более активностей мишени. В некоторых вариантах реализации ингибитор полностью препятствует одной или более активностям мишени.
- [68] В настоящем описании термин «модулирование», по отношению к внутриклеточному кальцию, относится к любому изменению или регулированию внутриклеточного кальция, включая, без ограничения, изменение концентрации кальция в цитоплазме и/или органеллах внутриклеточных депо кальция, например,

эндоплазматической сети, или к изменению кинетики потоков кальция внутрь, наружу или внутри клетки. В одном из аспектов модулирование относится к уменьшению.

[69] Термины «ингибирует», «ингибирование» или «ингибитор» активности канала SOC или активности канала CRAC, в настоящем описании относятся к ингибированию активности депо-управляемых кальциевых каналов, или активности кальциевых каналов, управляемых высвобождением кальция.

5

10

15

20

25

- [70] Термин «приемлемый» применительно к составу, композиции или ингредиенту в настоящем описании означает не имеющий постоянного отрицательного воздействия на общее состояние здоровья получающего лечение субъекта.
- [71] Под «фармацевтически приемлемым» в настоящем описании понимают материал, такой как носитель или разбавитель, который не нарушает биологическую активность или свойства соединения, и является относительно нетоксичным, т.е. материал, введенный индивидууму, не вызывает нежелательных биологических действий или нежелательного взаимодействия с любым из компонентов композиции, которая его содержит.
- [72] Фармацевтически приемлемые соли, составляющие часть настоящего изобретения, представляют собой соли, образованные неорганическими основаниями, такими как Li, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn и Mn; соли органических оснований, таких как N,N'-диацетилендиамин, глюкамин, триэтиламин, холин, гидроксид, дициклогексиламин, метформин, бензиламин, триалкиламин, тиамин и подобные соединения; хиральными основаниями, такими как алкилфениламин, глицинол и фенилглицинол, соли природных аминокислот, таких как глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, норлейцин, тирозин, цистин, цистеин, метионин, пролин, гистидин, орнитин, лизин, аргинин и серин; четвертичные аммониевые соли, образованные из соединений согласно настоящему изобретению и алкилгалогенидов или алкилсульфатов, таких как MeI и (Me)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, соли неприродных аминокислот, таких как D-изомеры или замещенные аминокислоты; соли гуанидина, замещенного гуанидина, где заместители выбраны из групп нитро, амино, алкил, алкенил, алкинил, солей аммония или замещенного аммония, и солей алюминия. Соли могут включать соли, образованные присоединением кислоты, такие как сульфаты, нитраты, фосфаты, перхлораты, бораты, гидрогалогениды, ацетаты, тартраты, малеаты, цитраты, фумараты, сукцинаты, пальмитаты, метансульфонаты, бензоаты, салицилаты, бензолсульфонаты, аскорбаты, глицерофосфаты и кетоглутараты. Фармацевтически приемлемые сольваты могут представлять собой гидраты или содержать другие кристаллизационные растворители, такие как спирты.

- [73] Термин «фармацевтическая композиция» относится к композиции, содержащей модулятор каналов CRAC и один или более других химических компонентов, таких как носители, стабилизаторы, разбавители, диспергирующие агенты, суспендирующие агенты, загущающие агенты и/или вспомогательные вещества.
- [74] Соединение и фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению можно вводить различными путями, включая, без ограничения, внутривенное, пероральное, аэрозольное, парентеральное, офтальмическое, легочное введение и местное нанесение.

10

15

20

- [75] Термины «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» в настоящем описании относятся к достаточному количеству вводимого агента или соединения, которое будет до некоторой степени облегчать один или более симптомов заболевания или состояния, лечение которого проводят. Результатом является уменьшение и/или облегчение признаков, симптомов или причин заболевания, или другое желаемое изменение биологической системы. Например, «эффективное количество» для терапевтических применений представляет собой количество соединения согласно настоящему изобретению, необходимое для обеспечения клинически значимого уменьшения симптомов заболевания. В некоторых вариантах реализации подходящее «эффективное» количество в каждом отдельном случае определяют с использованием таких методик, как исследование с повышением дозы.
- [76] Термины «усиливает» или «усиление» в настоящем описании обозначают увеличение или продление мощности или длительности желаемого действия. Так, в отношении усиления действия терапевтических агентов, термин «усиление» относится к способности увеличивать или продлевать, по мощности или длительности, действие других терапевтических агентов на систему. «Эффективно усиливающее количество» в настоящем описании относится к количеству, адекватному для усиления действия другого терапевтического агента на выбранную систему.
  - [77] Термин «носитель» в настоящем описании относится к относительно нетоксичным химическим соединениям или агентам, способствующим включению соединения в клетки или ткани.
- 30 [78] Термин «разбавитель» относится к химическим соединениям, применяемым для разбавления рассматриваемого соединения перед доставкой. В некоторых вариантах реализации разбавители применяют для стабилизации соединений, поскольку они обеспечивают более стабильную среду. Соли, растворенные в буферных растворах (которые также обеспечивают контроль или поддержание рН), применяемых в качестве разбавителей, включают, без ограничения, фосфатный буферный раствор.

[79] В настоящем описании «внутриклеточный кальций» относится к кальцию, находящемуся в клетке, без уточнения конкретного местонахождения в клетке. Напротив, «цитозольный» или «цитоплазматический» по отношению к кальцию относится к кальцию, находящемуся в цитоплазме клетки.

5

10

15

20

25

30

- [80] В настоящем описании действие на внутриклеточный кальций представляет собой любое изменение любого аспекта, относящегося к внутриклеточному кальцию, включая, без ограничения, изменение концентраций и местонахождения внутриклеточного кальция, и движение кальция внутрь, наружу или внутри клетки или внутриклеточного депо кальция или органеллы. Например, в некоторых вариантах реализации, действие на внутриклеточный кальций представляет собой изменение таких свойств, как, например, кинетика, восприимчивость, скорость, амплитуда И электрофизиологические характеристики, потока или движения кальция, наблюдающегося в клетке или части клетки. В некоторых вариантах реализации действие на внутриклеточный кальций представляет собой изменение любого внутриклеточного модулирующего кальций процесса, включая депо-управляемое поступление кальция, буферное накопление цитозольного кальция, и концентрации кальция, или движения кальция внутрь, наружу или внутри внутриклеточных депо кальция. Любой из указанных аспектов оценивают множеством путей, включая, без ограничения, оценку концентраций кальция или другого иона (в частности, катиона), движения кальция или другого иона (в частности, катиона), колебаний концентрации кальция или другого иона (в частности, катиона), кинетики потоков кальция или другого иона (в частности, катиона) и/или транспорта кальция или другого иона (в частности, катиона) через мембрану. Изменение представляет собой любое статистически значимое изменение. Так, например, в некоторых вариантах реализации, если утверждают, что концентрации внутриклеточного кальция в испытываемой клетке и в контрольной клетке различаются, указанное различие представляет собой статистически значимое различие.
- [81] Модулирование внутриклеточного кальция представляет собой любое изменение или регулирование внутриклеточного кальция, включая, без ограничения, изменение концентрации кальция в цитоплазме и/или внутриклеточных органеллах-депо кальция, например, эндоплазматической сети, изменение движения кальция внутрь, наружу или внутри клетки или внутриклеточного депо или органеллы, изменение местоположения кальция внутри клетки, изменение кинетических или других свойств потоков кальция внутрь, наружу или внутри клетки. В некоторых вариантах реализации модулирование внутриклеточного кальция включает изменение или регулирование, например, уменьшение или ингибирование, депо-управляемого поступления кальция, буферного накопления цитозольного кальция, уровней кальция в клетке или движения кальция внутрь, наружу или

внутри внутриклеточного кальциевого депо или органеллы, и/или базовых уровней или уровней покоя цитозольного кальция. Модулирование внутриклеточного кальция включает изменение или регулирование опосредуемого рецептором движения иона (например, кальция), управляемого вторичным мессенджером движения иона (например, кальция), потоком кальция внутрь или выходом кальция наружу клетки и/или всасыванием или высвобождением иона (например, кальция) из внутриклеточных пространств, включая, например, эндосомы и лизосомы.

5

10

15

20

25

30

- [82] В настоящем описании «вовлеченный в», по отношению к взаимодействиям между белком и аспектом регулирования внутриклеточного кальция или межклеточного кальция, означает, что экспрессия или активность белка в клетке уменьшается, изменяется или устраняется и это сопутствует или ассоциировано с уменьшением, изменением или устранением одного или более аспектов регулирования внутриклеточного кальция или межклеточного кальция. Такое изменение или уменьшение экспрессии или активности наблюдается посредством изменения экспрессии гена, кодирующего указанный белок, или изменения концентраций белка. Белок, вовлеченный внутриклеточного кальция, такой как, например, депо-управляемое поступление кальция, представляет собой один из белков, обеспечивающих или участвующих в указанном аспекте регулирования внутриклеточного кальция или межклеточного кальция. Например, белок, обеспечивающий депо-управляемое поступление кальция, представляет собой белок STIM и/или белок Orai.
- [83] В настоящем описании белок, представляющий собой компонент кальциевого канала, представляет собой белок, принимающий участие в многобелковом комплексе, образующем канал.
- [84] В настоящем описании «поступление катиона» или «поступление кальция» в клетку относится к проникновению катионов, таких как кальций, во внутриклеточное местоположение, такое как цитоплазма клетки, или в просвет внутриклеточной органеллы или депо. Так, в некоторых вариантах реализации, поступление катионов представляет собой, например, движение катионов в цитоплазму клетки из внеклеточной среды, или из внутриклеточной органеллы или депо, или движение катионов во внутриклеточную органеллу или депо из цитоплазмы или из внеклеточной среды. Движение кальция в цитоплазму из внутриклеточной органеллы или депо также называется «высвобождением кальция» из органеллы или депо.
- [85] В настоящем описании «иммунные клетки» включают клетки иммунной системы и клетки, осуществляющие функцию или активность при иммунном ответе, как например, без ограничения, Т-клетки, В-клетки, лимфоциты, макрофаги, дендритные

клетки, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, тучные клетки, плазматические клетки, лейкоциты, анитиген-презентирующие клетки и клетки-естественные киллеры.

[86] «Депо-управляемое поступление кальция» или «SOCE» относится к механизму, согласно которому ионы кальция из внутриклеточных депо координируются с поступлением ионов через плазматическую мембрану.

5

10

15

20

25

30

- Гомеостаз кальция в клетке является результатом суммарного действия [87] регуляторных систем, участвующих В контроле концентраций движений внутриклеточного кальция. Гомеостаз кальция в клетке достигается, по меньшей мере отчасти, путем связывания кальция и путем движения кальция внутрь и наружу клетки через плазматическую мембрану, и внутри клетки путем движения кальция через мембраны внутриклеточных органелл, включая, например, эндоплазматическую сеть, саркоплазматическую сеть, митохондрии и эндоцитозные органеллы, включая эндосомы и лизосомы.
- [88] Движение через клеточные мембраны осуществляется при помощи специальных белков. Например, кальций из внеклеточного пространства проникает в клетку через различные кальциевые каналы и натриево/кальциевых обменников, и активно выделяется из клетки при помощи кальциевых насосов и натриево/кальциевых обменников. Также кальций высвобождается из внутренних депо посредством рецепторов инозитолтрифосфата или рианодина и, вероятно, поступает в указанные органеллы при помощи кальциевых насосов.
- [89] Кальций поступает в клетки при помощи нескольких общих классов каналов, включая, без ограничения, потенциал-управляемые кальциевые каналы (VOC), депо-управляемые кальциевые каналы (SOC) и натриево/кальциевые обменники, действующие в режиме реверса. Каналы VOC активируются деполяризацией мембраны и обнаружены в возбудимых клетках, таких как нервы и мышцы, и по большей части не обнаружены в невозбудимых клетках. В определенных условиях Ca<sup>2+</sup> также поступает в клетки посредством Na<sup>+</sup>- Ca<sup>2+</sup> обменников, действующих в режиме реверса.
- [90] Эндоцитоз обеспечивает другой способ поступления кальция из внеклеточной среды посредством эндосом. Кроме того, некоторые клетки, например экзокринные клетки, выделяют кальций посредством экзоцитоза.
- [91] Концентрации цитозольного кальция строго регулируются, уровни покоя обычно составляют в клетках млекопитающих 0,1 мкМ, тогда как концентрация внеклеточного кальция обычно составляет примерно 2 мкМ. Это строгое регулирование способствует передаче сигналов внутрь и внутри клеток при помощи кратковременных потоков кальция через плазматическую мембрану и мембраны внутриклеточных органелл.

Существует множество систем транспорта и буферного накопления внутриклеточного кальции в клетках, которые служат для формирования внутриклеточных кальциевых сигналов и для поддержания низкого уровня покоя концентрации цитоплазматического кальция. В клетках в состоянии покоя основными компонентами, вовлеченными в поддержание базовых уровней кальция, являются кальциевые насосы и утечки в эндоплазматической сети и плазматической мембране. Колебание уровней покоя цитозольного кальция обеспечивает передачу таких сигналов и приводит к дефектам в ряде клеточных процессов. Например, в пролиферацию клеток вовлечена долговременная последовательность кальциевых сигналов. Кальциевые сигналы вовлечены и в другие клеточные процессы, включая, без ограничения, секрецию, передачу сигналов и фертилизацию.

5

10

15

20

25

30

- Рецепторы на поверхности клеток, активирующие фосфолипазу C(PLC), [92] создают сигналы цитозольного кальция Ca<sup>2+</sup> из внутри- и внеклеточных источников. Первоначальное кратковременное повышение [Са<sup>2+</sup>]і (внутриклеточной концентрации кальция) возникает в результате высвобождения  $Ca^{2+}$  из эндоплазматической сети (ЭС), запускаемого продуктом PLC, инозит-1,4,5-трифосфатом (IP3), открывающим рецепторы IP3 в ЭС (Streb et al. Nature, 306, 67-69, 1983). Затем следует фаза длительного поступления Са<sup>2+</sup> через плазматическую мембрану через специализированные депо-управляемые кальциевые каналы (SOC) (в случае иммунных клеток каналы SOC представляют собой кальциевые каналы, управляемые высвобождением кальция (CRAC)) в плазматической мембране. Депо-активируемое поступление кальция Ca<sup>2+</sup> (SOCE) представляет собой процесс, в котором сами опустошающиеся депо  $Ca^{2+}$  активируют каналы  $Ca^{2+}$  в плазматической мембране, способствуя заполнению депо заново (Putney, Cell Calcium, 7, 1-12, 1986; Parekh et al, Physiol. Rev. 757-810; 2005). SOCE не просто обеспечивает Ca<sup>2+</sup> для нового заполнении депо, но само создает длительные сигналы Ca<sup>2+</sup>, управляющие такими важными функциями, как экспрессия генов, метаболизм клетки и экзоцитоз (Parekh and Putney, Physiol. Rev. 85, 757-810 (2005).
- [93] В лимфоцитах и тучных клетках активация рецепторов антигена или Fc приводит к высвобождению  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо, что в свою очередь приводит к поступлению  $Ca^{2+}$  через каналы CRAC в плазматической мембране. Последующее повышение внутриклеточного  $Ca^{2+}$  активирует кальциневрин, фосфатазу, регулирующую транскрипционный фактор NFAT. В клетках в состоянии покоя NFAT фосфорилирован и находится в цитоплазме, но будучи дефосфорилирован кальциневрином, NFAT перемещается в ядро и активирует различные генетические программы, в зависимости от условий стимуляции и типа клетки. В ответ на инфекции и при отторжении трансплантата

NFAT действует совместно с транскрипционным фактором AP-1 (Fos-Jun) в ядре «эффекторных» Т-клеток, благодаря чему происходит трансактивация генов цитокинов, которые регулируют пролиферацию Т-клеток, и других генов, которые организовывают активный иммунный ответ (Rao et al., Annu Rev Immunol, 1997; 15:707-47). Напротив, в Тклетках, распознающих собственные антигены, NFAT активируется в отсутствии AP-1, и активирует транскрипционную программу, также известную как «толерантность», подавляющую аутоиммунные ответы (Macian et al., Transcriptional mechanisms underlying lymphocyte tolerance. (Транскрипционные механизмы, лежащие в основе толерантности лимфоцитов.) Cell. 2002 июнь 14; 109(6):719-31). В подклассе Т-клеток, известном как регуляторные Т-клетки, которые подавляют аутоиммунность, опосредуемую аутореактивными Т-клетками-эффекторами, **NFAT** действует совместно транскрипционным фактором FOXP3 для активации генов, отвечающих за функцию подавления (Wu et al., Cell, 2006 Jul. 28; 126(2):375-87; Rudensky A Y, Gavin M, Zheng Y. Cell. 2006 Jul. 28; 126(2):253-256).

5

10

15

20

25

30

- Эндоплазматическая сеть (ЭС) обеспечивает различные процессы. ЭС играет роль восприимчивого к агонисту депо и поглотителя  $Ca^{2+}$ , в ее просвете протекает сворачивание/переработка белка. Многочисленные Са<sup>2+</sup>-зависимые белки-шапероны обеспечивают корректное сворачивание синтезированных белков и отправку их в соответствующий пункт назначения. ЭС также вовлечена в везикулярную миграцию, высвобождение сигналов стресса, регулирование метаболизма холестерина и апоптоз. Многие из указанных процессов требуют участия внутрипросветного  $Ca^{2+}$ , и неправильное сворачивание белков, реакции ЭС на стресс и апоптоз, вероятно, индуцируются обеднением  $ЭС Ca^{2+}$  в течение длительного времени. Из-за роли ЭС как источника  $Ca^{2+}$ , очевидно, что содержание  $Ca^{2+}$  в ЭС должно падать после стимуляции. Однако для сохранения функциональной целостности ЭС жизненно важно, чтобы содержание Ca<sup>2+</sup> не падало слишком низко или не поддерживалось на низком уровне. Следовательно, пополнение ЭС Са<sup>2+</sup> представляет собой центральный процесс во всех эукариотических клетках. Поскольку падение содержания  $Ca^{2+}$  в ЭС активирует депо-управляемые каналы  $Ca^{2+}$  в плазматической мембране, полагают, что основной функцией пути поступления Ca<sup>2+</sup> является поддержание уровней Ca<sup>2+</sup> в ЭС, необходимых для синтеза и сворачивания белка. Однако депоуправляемые каналы  $Ca^{2+}$  играют и другие важные роли.
- [95] Понимание депо-управляемого поступления кальция обеспечили электрофизиологические исследования, которые установили, что процесс опустошения депо активирует ток  $Ca^{2+}$  в тучных клетках, называемый ток  $Ca^{2+}$ , управляемый высвобождением  $Ca^{2+}$  или ICRAC. ICRAC является не потенциал-управляемым каналом

внутреннего выпрямления, обладающим заметной селективность к  $Ca^{2+}$ . Он был обнаружен в нескольких типах клеток, в основном гемопоэтического происхождения. ICRAC представляет собой не только депо-управляемый ток, в настоящее время известно, что депо-управляемый приток включает группу  $Ca^{2+}$ -проницаемых каналов, с различными свойствами в различных типах клеток. ICRAC был первым описанным депо-управляемым током  $Ca^{2+}$  и остается популярной моделью изучении депо-управляемого притока.

# Способы лечения и применения

5

10

15

20

25

30

35

[96] В способах лечения и применениях согласно настоящему описанию можно вводить один или более дополнительных агентов совместно с Соединением (А) или фармацевтически приемлемой солью указанного соединения. Например, Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения применяют в комбинации (с одновременным или последовательным введением) с одним или более видами противоракового лечения, такими как химиотерапия, радиационная терапия, биологическая терапия, трансплантация костного мозга, трансплантация стволовых клеток или любая противораковая терапия, или с одним или более цитостатическими, цитотоксическими или противораковыми агентами, или с таргетной терапией, отдельно или в комбинации, такими как, без ограничения, взаимодействующие с ДНК агенты, такие как флударабин, цисплатин, хлорамбуцил, бендамустин или доксорубицин; алкилирующие агенты, такие как циклофосфамид; ингибиторы топоизомеразы ІІ, такие как этопозид; ингибиторы топоизомеразы I, такие как СРТ-11 или топотекан; взаимодействующие с тубулином агенты, такие как паклитаксел, доцетаксел или эпотилоны (например, иксабепилон), как природные, так и синтетические; гормональные агенты, такие как тамоксифен; ингибиторы тимидилатсинтазы, такие как 5-фторурацил; и антиметаболиты, такие как метотрексат; другие ингибиторы тирозинкиназы, такие как гефитиниб (торговое название Iressa®) и эрлотиниб (также известный как OSI-774); ингибиторы ангиогенеза; ингибиторы ЭФР; ингибиторы ФРЭС; ингибиторы ЦЗК; ингибиторы SRC; ингибиторы с-Kit; ингибиторы Her1/2, ингибиторы киназы контрольной точки и моноклональные антитела к рецепторам фактора роста, такие как эрбитукс (ЭФР) и герцептин (Her2); моноклональные антитела к CD20, такие как ритуксимаб, убликстумаб (TGR-1101), офатумумаб (HuMax; Intracel), окрелизумаб, велтузумаб, GA101 (обинутузумаб), окаратузумаб (AME-133v, LY2469298, Applied Molecular Evolution, Mentrik Biotech), PRO131921, тозитумомаб, велтузумаб (hA20, Immunomedics, Inc.), ибритумомаб-тиуксетан, BLX-301 (Biolex Therapeutics), редитукс (Dr. Reddy's Laboratories) и PRO70769 (описанный в WO2004/056312); другие моноклональные антитела, нацеленные на В-клетки, такие как белимумаб, атацицепт, или слитые белки, такие как блисибимод и BR3-Fc, другие моноклональные антитела, такие как алемтузумаб, и другие модуляторы протеинкиназ.

5

10

15

20

25

- [97] Способы лечения и применения согласно настоящему описанию также включают применение одного или более дополнительных активных агентов, вводимых с Соединением (А) или фармацевтически приемлемой солью указанного соединения. Например, СНОР (циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизон); R-CHOP (ритуксимаб-СНОР); hyperCV AD (гиперфракционированный циклофосфамид, винкристин, доксорубицин, дексаметазон, метотрексат, цитарабин); R-hyperCV AD (ритуксимаб-hyperCV AD); FCM (флударабин, циклофосфамид, митоксантрон); R-FCM (ритуксимаб, флударабин, циклофосфамид, митоксантрон); бортезомиб и ритуксимаб; темсиролимус и ритуксимаб; темсиролимус и бортезомиб (Velcade<sup>®</sup>); иод-131 тозитумомаб (Bexxar®) и CHOP; CVP (циклофосфамид, винкристин, преднизон); R-CVP (ритуксимаб-CVP); ICE (ифосфамид, карбоплатин, этопозид); R-ICE (ритуксимаб-ICE); FCR (флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб); FR (флударабин, ритуксимаб); и D.T. PACE (дексаметазон, талидомид, цисплатин, адриамицин, циклофосфамид и этопозид).
- [98] Модуляторы CRAC, включая Соединение (А) и фармацевтически соли указанного соединения, приемлемые часто применяют в комбинации (с одновременным или последовательным введением) с одним или более стероидными противовоспалительными лекарственными средствами, нестероидными противовоспалительными лекарственными средствами (NSAIDs) или иммуноселективными противовоспалительными производными (ImSAIDs).
- [99] Согласно настоящему изобретению, модулятор каналов CRAC, такой как Соединение (А) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения, можно также вводить в комбинации с одним или более другими активными веществами (началами), применяемыми при одной из указанных выше патологий, например, противорвотными, анальгетиками, противовоспалительными или антикахексическими агентами.
- [100] Также можно комбинировать модулятор каналов CRAC, такой как Соединение (A) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, с радиационным лечением.
- [101] Также можно комбинировать модулятор каналов CRAC, такой как Соединение (А) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, с хирургическим вмешательством, включая предоперационный период, послеоперационный период или во время хирургического вмешательства.

[102] Разные виды лечения можно вводить совместно, раздельно, последовательно и/или через определенный промежуток времени.

# Модуляторы CRAC

5

10

15

20

25

30

- [103] Модуляторы CRAC могут представлять собой любые известные в данной области техники, включая описанные в международной опубликованной заявке № WO 2011/042798, содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки. Модуляторы CRAC (такие как Соединение (А) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения), могут ингибировать депо-управляемое поступление кальция, прерывать сборку единиц SOCE, изменять функциональные взаимодействия белков, образующих комплексы депо-управляемых кальциевых каналов и изменять функциональные взаимодействия STIM1 с Orai1. Модуляторами каналов CRAC являются блокаторы пор каналов SOC и блокаторы пор каналов CRAC.
- [104] Соединение согласно настоящему описанию модулирует внутриклеточный кальций и применяется для лечения заболеваний, нарушений или состояний, при которых модулирование внутриклеточного кальции оказывает полезное действие. В одном из вариантов реализации соединение согласно настоящему описанию ингибирует депоуправляемое поступление кальция. В одном из вариантов реализации соединение согласно настоящему описанию способно модулировать внутриклеточные концентрации кальция путем прерывания сборки элементов SOCE. В другом варианте реализации соединение согласно настоящему описанию способно модулировать внутриклеточные концентрации кальция путем изменения функциональных взаимодействий белков, образующих комплексы депо-управляемых кальциевых каналов. В одном из вариантов реализации соединение согласно настоящему описанию способно модулировать внутриклеточные концентрации кальция путем изменения функциональных взаимодействий STIM1 с Orai1. В других вариантах реализации соединение согласно настоящему описанию, способное модулировать внутриклеточные концентрации кальция, представляет собой блокатор пор каналов SOC. В других вариантах реализации соединение согласно настоящему описанию, способное модулировать внутриклеточные концентрации кальция, представляет собой блокатор пор каналов CRAC.
- [105] В одном из аспектов, соединение согласно настоящему описанию, способное модулировать внутриклеточные концентрации кальция, ингибирует электрофизиологический ток (ISOC), прямо ассоциированный с активированными каналами SOC. В одном из аспектов, соединение согласно настоящему описанию, способное модулировать внутриклеточные концентрации кальция, ингибирует

электрофизиологический ток (ICRAC), прямо ассоциированный с активированными каналами CRAC.

[106] Соединение (A) (N-[4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил]-2-(хинолин-6-ил)-ацетамид) и его соли могут быть получены, как описано в международной опубликованной заявке № WO 2011/042798.

[107] Соединение (А) и его соли модулируют активность, модулируют взаимодействие, связываются или взаимодействуют по меньшей мере с частью белка в комплексе депо-управляемого кальциевого канала. В одном из вариантов реализации соединение согласно настоящему описанию модулирует активность, модулирует взаимодействие, связывается или взаимодействует по меньшей мере с частью белка в комплексе кальциевых каналов, управляемых высвобождением кальция. В одном из вариантов реализации соединения согласно настоящему описанию уменьшают уровень функционирующих комплексов кальциевых каналов, управляемых высвобождением кальция. В другом варианте реализации соединения согласно настоящему описанию уменьшают уровень активированных комплексов кальциевых каналов, управляемых высвобождением кальция. В другом варианте реализации комплексы депо-управляемых каналов представляют собой комплексы кальциевых каналов, управляемых высвобождением кальция.

# ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

5

10

15

20

25

30

- [108] Фармацевтические композиции могут содержать модулятор каналов CRAC (предпочтительно, ингибитор каналов CRAC, такой как Соединение (А) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения) и, факультативно, один или более фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ.
- [109] В одном из вариантов реализации фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество модулятора каналов CRAC, такого как Соединение (А) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения. Фармацевтическая композиции может содержать один или более дополнительных активных ингредиентов согласно настоящему описанию.
- [110] Фармацевтические носители и/или вспомогательные вещества могут быть выбраны из разбавителей, наполнителей, солей, дезинтегрирующих агентов, связующих агентов, смазывающих агентов (лубрикантов), способствующих скольжению агентов, смачивающих агентов, матриц с контролируемым высвобождением, красителей, ароматизаторов, буферных агентов, стабилизаторов, солюбилизаторов и любой комбинации любых из вышеуказанных добавок.

[111] Фармацевтическую композиции можно вводить отдельно или в комбинации с одним или более другими активными агентами. При желании, модулятор(ы) каналов СRAC и другой(ие) агент(ы) можно смешивать в одном препарате, или оба компонента можно вводить в состав отдельных препаратов для применения их в комбинации, отдельно или одновременно.

5

10

15

20

25

- [112] Фармацевтическую композицию можно вводить одновременно или последовательно с одним или более другими активными агентами. При желании, модулятор каналов CRAC и другой(ие) агент(ы) для использования в комбинации можно вводить совместно, или можно вводить последовательно.
- [113] Модулятор каналов CRAC и фармацевтическую композицию согласно настоящему описанию можно вводить любым путем, обеспечивающим доставку модулятора каналов CRAC в место действия, таким как пероральный, интраназальный, местный (например, трансдермальный), интрадуоденальный, парентеральный (включая внутривенный, внутриартериальный, внутримышечный, внутрисосудистый, внутрибрюшинный, или при помощи инъекции или инфузии), внутрикожный, интрамаммарный, интратекальный, внутриглазной, ретробульбарный, внутрилегочный (например, аэрозольные лекарственные средства), подкожный (включая введение в виде депо для длительного высвобождения, например, в подселезеночную капсулу, головной мозг или в роговицу), сублингвальный, анальный, ректальный, вагинальный, или при помощи хирургической имплантации (например, в подселезеночную капсулу, головной мозг или в роговицу).
- [114] Фармацевтическую композицию можно вводить в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной форме, или в виде сухого порошка, такого как лиофилизированная форма. Фармацевтическую композицию можно для удобства доставки изготавливать в виде дозированных форм, включая, например, твердые дозированные формы, такие как капсулы, саше, желатиновые капсулы, бумажные пакеты, таблетки, суппозитории, гранулы, пилюли, пастилки и леденцы. Тип упаковки в общем случае будет зависеть от желаемого пути введения. Также включены составы с длительным высвобождением для имплантации, а также трансдермальные составы.
- [115] Фармацевтическая композиция может, например, находиться в форме, подходящей для перорального введения, такой как таблетка, капсула, пилюля, порошок, составы с длительным высвобождением, растворы, суспензии, для парентерального введения в виде стерильного раствора, суспензии или эмульсии, для местного нанесения в виде мази или крема, или для ректального введении в виде суппозитория.

Фармацевтическая композиция может находиться в виде единичных дозированных форм, подходящих для однократного введения точной дозировки.

[116] Пероральные твердые дозированные формы в целом описаны в Remingtons Pharmaceutical Sciences, 20-е изд., Lippincott Williams & Wilkins., 2000, Глава 89, «Solid dosage forms include tablets, capsules, pills, troches or lozenges, and cachets or pellets» («Твердые дозированные формы, включая таблетки, капсулы, пилюли, пастилки или леденцы, а также саше или гранулы.»). Также можно применять для получения составов композиции липосомное или белковоподобное капсулирование (как, например, белковоподобные микросферы, описанные в патенте США № 4 925 673). Липосомное капсулирование может включать липосомы, полученные из различных полимеров (например, патент США № 5 013 556). Фармацевтическая композиция может содержать модулятор каналов CRAC и инертные ингредиенты, защищающие его от разрушения в желудке и обеспечивающие высвобождение биологически активного материала в кишечнике.

- [117] Вводимое количество модулятора каналов CRAC, такого как Соединение (А) или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, зависит от того, лечение какого млекопитающего проводят, тяжести заболевания или состояния, скорости введения, расположения соединения и усмотрения лечащего врача. Однако эффективная дозировка находится в диапазоне от примерно 0,001 до примерно 100 мг на кг массы тела в сутки, предпочтительно от примерно 1 до примерно 35 мг/кг/сутки, в виде однократной дозы или разделенных доз. Для человека массой 70 кг это количество составило бы от примерно 0,05 до 7 г/сутки, предпочтительно, от примерно 0,05 до примерно 2,5 г/сутки. Эффективное количество соединения согласно настоящему изобретению можно вводить однократно или в виде нескольких доз (например, два или три раза в сутки).
- [118] Термин «совместное введение», «введение в комбинации с» и их грамматические эквиваленты в настоящем описании включают введение субъекту двух или более агентов так, чтобы оба указанных агента и/или их метаболиты присутствовали в организме животного одновременно. Совместное введение включает одновременное введение в составе отдельных композиций, введение отдельных композиций в различное время, или введение одной композиции, содержащей оба агента.
- [119] Предпочтительнее, модулятор каналов CRAC представляет собой Соединение (A) или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения. В одном из предпочтительных вариантов реализации Соединение (A) находится в форме гидрохлоридной соли (например, гидрохлорид N-[4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил]-2-(хинолин-6-ил)-ацетамида). Например, в одном из вариантов реализации

фармацевтическая композиция содержит гидрохлорид N-[4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил]-2-(хинолин-6-ил)-ацетамида.

- [120] Другой вариант реализации настоящего изобретения относится к способу лечении рака пищевода, включающему введение терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции согласно настоящему описанию субъекту (предпочтительно, человеку), нуждающемуся в указанном лечении.
- [121] Другой вариант реализации настоящего изобретения относится к способу применения фармацевтической композиции согласно настоящему описанию для получения лекарственного средства для лечения рака пищевода, такого как плоскоклеточная карцинома пищевода (ПККП) или аденокарцинома пищевода (АКП).
- [122] В следующей общей методологии в целом описаны образ и способ применения модулятора каналов СRAC, являющиеся иллюстративными, а не ограничительными. Также можно осуществить дальнейшие модификации предложенной методологии и дополнительные новые способы, разработанные для достижения целей настоящего изобретения. Следовательно, понятно, что возможные другие варианты реализации, попадающие в объем и сущность настоящего изобретения, определенные в настоящем документе.

# ПУТИ ВВЕДЕНИЯ

5

10

15

20

25

30

35

[123] В способах и применениях согласно настоящему изобретению модулятор каналов CRAC и фармацевтическую композицию можно вводить различными путями. Например, модулятор каналов СРАС и фармацевтическую композицию можно приготовить для инъекции или для перорального, назального, трансдермального или других путей введения, включая, например, внутривенное, внутрикожное, внутримышечное, интрамаммарное, внутрибрюшинное, интратекальное, внутриглазное, ретробульбарное, внутрилегочное (например, аэрозольные лекарственные средства), подкожную инъекцию (включая введение в виде депо для длительного высвобождения, например, в подселезеночную капсулу, головной мозг или в роговицу), сублингвальное, анальное, ректальное, вагинальное введение, или при помощи хирургической имплантации, например, в подселезеночную капсулу, головной мозг или в роговицу. Лечение может состоять из единственной дозы или из многих доз в течение некоторого промежутка времени. В целом, способы согласно настоящему изобретению включают введение эффективных количеств модулятора каналов CRAC совместно с одним или более фармацевтически приемлемыми разбавителями, консервантами, солюбилизаторами, эмульгаторами, вспомогательными добавками и/или носителями, как описано выше.

[124] Ниже настоящее изобретение будет проиллюстрировано биологическими примерами.

# ПРИМЕРЫ

10

15

20

25

30

5 Биологическая оценка, иллюстрирующая действие Соединения (А) на рак пищевода.

# Пример 1

# Антипролиферативное действие Соединения (A) на различные линии клеток ПККП человека (МТТ-тест)

[125] Линии клеток ПККП (KYSE-30, KYSE-150, KYSE-790 и KYSE-70) высевали на 96-луночные планшеты и инкубировали с желаемой концентрацией Соединения А в течение 48 – 72 ч. В конце инкубации добавляли МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия). Планшеты помещали в шейкер на 5 мин для перемешивания формазана и измеряли оптическую плотность на длине волны 560 нм при помощи спектрофотометра. Данные наносили на график с использованием программы Graphpad Prism для расчета концентраций IC<sub>50</sub>.

[126] Результаты: Значения IC<sub>50</sub> в указанном тесте на выживаемость клеток при добавлении Соединения (А) приведены в таблице ниже.

Линия клеток	KYSE-30	KYSE-70	KYSE-150	KYSE-780
IC50 (MKM)	1,2	1,4	1,4	5,5

Пример 2

# Противоопухолевое действие Соединения (A) на ксенотрансплантат рака пищевода

[127] Противоопухолевое действие Соединения (A) определяли в модели ксенотрансплантата КҮЅЕ-150 на мышах. Коротко, в область бока инъецировали 10<sup>6</sup> клеток. Мышей случайным образом распределяли по массе тела на две группы по пять животных. Через неделю после инъекции опухолевых клеток мыши получали внутрибрюшинное введение среды или Соединения (A) в дозе 20 мг/кг каждые 2 дня в течение 2 недель. После окончания периода исследования мышей умерщвляли и извлекали опухоли.

[128] В испытанной дозе Соединение (А) значительно уменьшает рост опухоли в сравнении с контрольной группой, получавшей среду.

[129] Результат: Соединение (A) показало потенциал в модели на животных рака пищевода, как показано на Фигурах 1A и 1B, полученные данные показывают терапевтический потенциал Соединения A для лечения рака пищевода.

**Пример 3** 

10

15

20

25

30

# Действие Соединения (A) на транслокацию NF-кВ/р65 в ядра

- [130] Соединение (А) испытывали на способность блокирования ядерной транслокации ядерного фактора каппа-В (NF-кВ/р65) при сывороточной стимуляции в клетках ПККП. Клетки КҮЅЕ-150 выдерживали в голодном режиме в среде, дополненной 0,1 % ФБС в течение 24 ч. После голодания флуоресцентный сигнал NF-кВ/р65 (зеленый) наблюдался почти исключительно в цитозоле, без одновременного обнаружения в окрашенных Hoechst 33342 ядрах (имитация красным цветом). После стимуляции 10 % ФБС в течение 1 ч проявилась транслокация NF-кВ/р65 в ядра, одновременное обнаружение в ядрах наблюдалось примерно в 84 % клеток КҮЅЕ-150. Обработка 20 мкМ ВТР-2 или 10 мкМ Соединения (А) уменьшала число клеток с локализацией NF-кВ/р65 в ядрах до 8,53 % и 10,52 %, соответственно. В согласии с исследованиями *in vitro*, иммунофлуоресцентное окрашивание тканей опухоли показало, что число содержащих NFкВ/р65 в ядре клеток составляло только 9 % для группы, получавшей Соединение (А), по сравнению с 41 % для контрольных животных. Экспрессия циклина D1, являющегося мишенью для NF-кВ/р65, также была значительно снижена в опухолях, полученных у животных, получавших Соединение (А), по сравнению с опухолями, полученными у контрольной группы животных.
- [131] Результат: Соединение (A) продемонстрировало блокировку сигнального пути NF-кВ/р65 в клетках ПККП как *in vivo*, так и *in vitro*.
- [132] Хотя настоящее изобретение было описано со ссылками на конкретные варианты реализации, понятно, что указанные варианты реализации являются только иллюстрациями идей и применений настоящего изобретения. Следовательно, понятно, что могут быть сделаны в указанных иллюстративных вариантах реализации, и могут быть разработаны другие варианты. Не выходя за рамки объема и сущности настоящего изобретении, описанного выше. Понятно, что объем изобретения определяется прилагаемым описанием и что способы и структуры, входящие в объем настоящего описания, и их эквиваленты входят в объем настоящего изобретения.

[133] Все публикации, патенты и заявки на патенты, на которые ссылаются в настоящем описании, включены в настоящую заявку посредством ссылок в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент были специально и отдельно указаны как включенные в настоящее описание посредством ссылки.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

- 1. Способ лечения рака пищевода, включающий введение субъекту модулятора кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция.
- 2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой ингибитор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция.

5

10

- 3. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция представляет собой N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамид или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения.
- 4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой гидрохлоридную (HCl) соль N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамида.
- 5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что рак пищевода представляет собой плоскоклеточную карциному пищевода (ПККП).
  - 6. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что рак пищевода представляет собой аденокарциному пищевода (АКП).
  - 7. Способ по любому из пп. 1 6, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят в качестве терапии первой линии для лечения рака пищевода.
    - 8. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что указанный субъект страдает неоперабельным раком пищевода.
- 9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека.
  - 10. Способ по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят субъекту пероральным, внутривенным, внутримышечным или внутрибрюшинным путем.
- 11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов,30 активируемых высвобождением кальция, вводят пероральным путем.

- 12. Способ по любому из пп. 1 11, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция вводят в дозе
  - і) от 25 до 1000 мг,
  - іі) от 25 до 800 мг,
  - ііі) от 25 до 600 мг,

10

15

- iv) от 25 до 400 мг, или
- v) от 25 до 200 мг.
- 13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что доза составляет
  - і) от 50 до 1000 мг,
  - іі) от 50 до 800 мг,
  - ііі) от 50 до 600 мг,
  - iv) от 50 до 400 мг, или
  - v) от 50 до 200 мг.
- 14. Способ по п. 12 или п. 13, отличающийся тем, что доза составляет
  - і) от 100 до 1000 мг,
  - іі) от 100 до 800 мг,
  - ііі) от 100 до 600 мг,
  - iv) от 100 до 400 мг, или
  - v) от 100 до 200 мг.
- 20 15. Способ по любому из пп. 1 14, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят в виде единственной дозы или разделенных доз.
  - 16. Способ по любому из пп. 1 15, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, ингибирует депо-управляемое поступление кальция, прерывает сборку единиц SOCE, изменяет функциональные взаимодействия белков, образующих комплексы депо-управляемых кальциевых каналов, изменяет функциональные взаимодействия STIM1 с Orai1, или оказывает любую комбинацию из вышеуказанных вариантов действия.

- 17. Способ по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой блокатор пор каналов SOC или блокатор пор каналов CRAC.
- 18. Способ по любому из пп. 1-17, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, модулирует внутриклеточный кальций.

10

15

20

25

- 19. Способ по любому из пп. 1-18, дополнительно включающий введение одного или более видов противоракового лечения, одного или более цитостатического, цитотоксического или противоракового агентов, таргетной терапии или любой комбинации любых из перечисленных вариантов.
- 20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят одновременно или последовательно с одним или более видами противоракового лечения, одним или более цитостатическими, цитотоксическими или противораковыми агентами, или таргетной терапией.
- 21. Способ по п. 19 или п. 20, отличающийся тем, что противораковые агенты выбраны из взаимодействующих с ДНК агентов, алкилирующих агентов, ингибиторов топоизомеразы ІІ, ингибиторов топоизомеразы І, взаимодействующих с тубулином агентов, гормональных агентов, ингибиторов тимидилатсинтазы, антиметаболитов, ингибиторов тирозинкиназы, ингибиторов ангиогенеза; ингибиторов ЭФР; ингибиторов ФРЭС; ингибиторов ЦЗК; ингибиторов SRC; ингибиторов с-Кіt; ингибиторов Her1/2, ингибиторов киназы контрольной точки и моноклональных антител к рецепторам фактора роста, выбранных из ЭФР и Нег2, моноклональных антител к CD20, моноклональных антител, нацеленных на В-клетки, слитых белков, модуляторов протеинкиназы, СНОР (циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизон), R-CHOP (ритуксимаб-CHOP), hyperCV AD (гиперфракционированный циклофосфамид, винкристин, доксорубицин, дексаметазон, метотрексат, цитарабин), R-hyperCV AD (ритуксимаб-hyperCV AD), FCM (флударабин, циклофосфамид, митоксантрон), R-FCM (ритуксимаб, флударабин, циклофосфамид, митоксантрон), бортезомиб и ритуксимаб; темсиролимус и ритуксимаб; темсиролимус и бортезомиб, иод-131 тозитумомаб и СНОР, CVP (циклофосфамид, винкристин, преднизон), R-CVP (ритуксимаб-CVP), ICE (ифосфамид, карбоплатин, этопозид), R-ICE (ритуксимаб-ICE), FCR (флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб), FR (флударабин, ритуксимаб), и D.T. РАСЕ (дексаметазон, талидомид, цисплатин, адриамицин, циклофосфамид и этопозид), стероидных противовоспалительных лекарственных средств, нестероидных противовоспалительных лекарственных средств

- (NSAIDs), иммуноселективных противовоспалительных производных (ImSAIDs), противорвотных, анальгетиков, противовоспалительных или антикахексических агентов, или любых комбинаций любых из вышеуказанных агентов.
- 22. Способ по п. 19 или п. 20, отличающийся тем, что противораковое лечение выбрано из химиотерапии, радиационной терапии, биологической терапии, трансплантации костного мозга, трансплантации стволовых клеток или любой комбинации любых из вышеуказанных вариантов.

10

15

20

25

- 23. Способ подавления метастатической пролиферации клеток рака пищевода у субъекта, нуждающегося в указанном подавлении, включающий введение субъекту модулятора кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция.
- 24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой ингибитор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция.
- 25. Способ по п. 23 или п. 24, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамид или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения.
  - 26. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, для применения для лечения рака пищевода.
- 27. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 26, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой ингибитор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция.
  - 28. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 26 или п. 27, который представляет собой N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамид или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения.
  - 29. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 28, отличающийся тем, что модулятор представляет собой гидрохлоридную (HCl) соль N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамида.

- 30. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 29, отличающийся тем, что отличающийся тем, что рак пищевода представляет собой плоскоклеточную карциному пищевода (ПККП).
- 31. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 29, отличающийся тем, что рак пищевода представляет собой аденокарциному пищевода (АКП).
- 32. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 31, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят в качестве терапии первой линии для лечения рака пищевода.
- 33. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 31, отличающийся тем, что указанный рак пищевода представляет собой неоперабельный рак пищевода.
- 34. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 33, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека.
  - 35. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 34, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят субъекту пероральным, внутривенным, внутримышечным или внутрибрюшинным путем.
  - 36. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 35, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят пероральным путем.
- 37. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по
  25 любому из пп. 26 36, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция вводят в дозе
  - і) от 25 до 1000 мг,

10

15

20

- іі) от 25 до 800 мг,
- ііі) от 25 до 600 мг,
- iv) от 25 до 400 мг, или
- v) от 25 до 200 мг.

- 38. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 37, отличающийся тем, что доза составляет
  - і) от 50 до 1000 мг,
  - іі) от 50 до 800 мг,
  - ііі) от 50 до 600 мг,

10

15

20

- iv) от 50 до 400 мг, или
- v) от 50 до 200 мг.
- 39. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 37 или п. 38, отличающийся тем, что доза составляет
  - і) от 100 до 1000 мг,
  - іі) от 100 до 800 мг,
  - ііі) от 100 до 600 мг,
  - iv) от 100 до 400 мг, или
  - v) от 100 до 200 мг.
- 40. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 39, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят в виде единственной дозы или разделенных доз.
- 41. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 40, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, ингибирует депо-управляемое поступление кальция, прерывает сборку единиц SOCE, изменяет функциональные взаимодействия белков, образующих комплексы депо-управляемых кальциевых каналов, изменяет функциональные взаимодействия STIM1 с Orai1, или оказывает любую комбинацию из вышеуказанных вариантов действия.
- 42. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26-41, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой блокатор пор каналов SOC или блокатор пор каналов CRAC.

- 43. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 40, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, модулирует внутриклеточный кальций.
- 44. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по любому из пп. 26 43, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят в комбинации с одним или более видами противоракового лечения, одним или более цитостатическим, цитотоксическим или противораковым агентом, таргетной терапией или любой комбинацией любых из перечисленных вариантов.

10

15

20

25

- 45. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 44, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, вводят одновременно или последовательно с одним или более видами противоракового лечения, одним или более цитостатическими, цитотоксическими или противораковыми агентами, или таргетной терапией.
  - 46. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 44 или п. 45, отличающийся тем, что противораковые агенты выбраны из взаимодействующих ДНК агентов. алкилирующих агентов. ингибиторов топоизомеразы II, ингибиторов топоизомеразы I, взаимодействующих с тубулином агентов, гормональных агентов, ингибиторов тимидилатсинтазы, антиметаболитов, ингибиторов тирозинкиназы, ингибиторов ангиогенеза; ингибиторов ЭФР; ингибиторов ФРЭС; ингибиторов ЦЗК; ингибиторов SRC; ингибиторов с-Кіt; ингибиторов Her1/2, ингибиторов киназы контрольной точки и моноклональных антител к рецепторам фактора роста, выбранных из ЭФР и Her2, моноклональных антител к CD20, моноклональных антител, нацеленных на В-клетки, слитых белков, модуляторов протеинкиназы, СНОР (циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизон), R-CHOP (ритуксимаб-CHOP), hyperCV AD (гиперфракционированный циклофосфамид, винкристин, доксорубицин, дексаметазон, метотрексат, цитарабин), R-hyperCV AD (ритуксимаб-hyperCV AD), FCM (флударабин, циклофосфамид, митоксантрон), R-FCM (ритуксимаб, флударабин, циклофосфамид, митоксантрон), бортезомиб и ритуксимаб; темсиролимус и ритуксимаб; темсиролимус и бортезомиб, иод-131 тозитумомаб и СНОР, CVP (циклофосфамид, винкристин, преднизон), R-CVP (ритуксимаб-CVP), ICE (ифосфамид, карбоплатин, этопозид), R-ICE (ритуксимаб-ICE), FCR (флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб), FR (флударабин, ритуксимаб), и D.Т. РАСЕ (дексаметазон, талидомид, цисплатин, адриамицин, циклофосфамид и этопозид), стероидных противовоспалительных

лекарственных средств, нестероидных противовоспалительных лекарственных средств (NSAIDs), иммуноселективных противовоспалительных производных (ImSAIDs), противорвотных, анальгетиков, противовоспалительных или антикахексических агентов, или любых комбинаций любых из вышеуказанных агентов.

47. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 44 или п. 45, отличающийся тем, что противораковое лечение выбрано из химиотерапии, радиационной терапии, биологической терапии, трансплантации костного мозга, трансплантации стволовых клеток или любой комбинации любых из вышеуказанных вариантов.

5

10

15

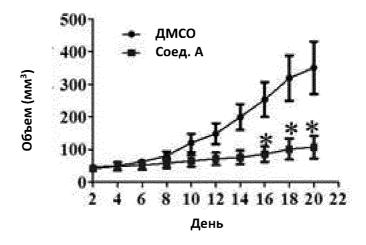
20

25

- 48. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, для применения для подавления метастатической пролиферации клеток рака пищевода у субъекта.
  - 49. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 48, отличающийся тем, что отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой ингибитор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция.
  - 50. Модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, по п. 48 или п. 49, отличающийся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамид или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения.
  - 51. Фармацевтическая композиция для применения для лечения рака пищевода, содержащая модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, и фармацевтически приемлемый носитель.
  - 52. Фармацевтическая композиция по п. 51, отличающаяся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой ингибитор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция.
  - 53. Фармацевтическая композиция по п. 51 или п. 52, отличающаяся тем, что модулятор кальциевых каналов, активируемых высвобождением кальция, представляет собой N-(4-(3,5-дициклопропил-1H-пиразол-1-ил)-фенил)-2-(хинолин-6-ил)-ацетамид или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения.

. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 51-53, дополнительно содержащая один или более из цитостатических, цитотоксических или противораковых агентов.

Фиг. 1А



Фиг. 1В

