

# (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

- (43) Дата публикации заявки 2023.05.26
- (22) Дата подачи заявки 2021.07.30

- (51) Int. Cl. A61K 31/13 (2006.01) A61K 31/27 (2006.01) A61K 31/445 (2006.01) A61K 31/47 (2006.01) A61K 31/473 (2006.01) A61K 31/55 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
- (54) N'-(2-ХЛОР-6-МЕТИЛБЕНЗОИЛ)-4-МЕТИЛ-3-[2-(3-ХИНОЛИЛ)ЭТИНИЛ]БЕНЗОГИДРАЗИД ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА
- (31) 202021032951
- (32) 2020.07.31
- (33) IN
- (86) PCT/IB2021/056986
- (87) WO 2022/024072 2022.02.03
- (71) Заявитель:

САН ФАРМА ЭДВАНСТ РИСЕРЧ КОМПАНИ ЛИМИТЕД (IN) (72) Изобретатель:

Дамле Нитин Кришнаджи, Мандхане Санджай Нандлалхи, Сони Дургеш Ашоккумар, Джаин Шакти Камалчанд, Раманатан Викрам Кришна (IN)

(74) Представитель: Нилова М.И. (RU)

Изобретение относится способу предупреждения или лечения болезни (57) Альцгеймера и ее симптомов, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей, где предупреждение и/или лечение указанного заболевания и его симптомов достигается путем ингибирования агрегации амилоид-бета (АВ) бляшек, гиперфосфорилирования тау-белка, с-Abl-киназы или их комбинации. Также раскрыто применение терапевтически эффективного количества N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей для ингибирования агрегации амилоид-бета (АВ) бляшек, гиперфосфорилирования тау-белка, c-Abl-киназы или их комбинации.

# *N′*-(2-ХЛОР-6-МЕТИЛБЕНЗОИЛ)-4-МЕТИЛ-3-[2-(3-ХИНОЛИЛ)ЭТИНИЛ]-БЕНЗОГИДРАЗИД ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

### Область техники

Настоящее изобретение относится к способу предупреждения или лечения болезни Альцгеймера и ее симптомов, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей, где предупреждение и/или лечение указанного заболевания и его симптомов достигается путем ингибирования агрегации амилоидбета (А $\beta$ ) бляшек, гиперфосфорилирования тау-белка, с-Abl-киназы или их комбинации. Также раскрыто применение терапевтически эффективного количества N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей для ингибирования агрегации амилоид-бета (А $\beta$ ) бляшек, гиперфосфорилирования тау-белка, с-Abl-киназы или их комбинации.

Уровень техники

Болезнь Альцгеймера (AD) представляет собой серьезное нейродегенеративное расстройство, преимущественно встречающееся у стареющего населения. AD представляет собой шестую по значимости причину смертности в Соединенных Штатах и пятую по значимости причину смертности среди американцев в возрасте 65 лет и старше. В настоящее время AD поражено 5,3 миллиона человек только в Соединенных Штатах.

Главными признаками AD являются широко распространенные амилоидные бляшки Аβ и клубки нейронов в головном мозге. Известно, что существует потеря синаптической пластичности, приводящая к когнитивному дефициту, что предшествует образованию бляшек. Также известно, что некоторые другие факторы, такие как астроглиоз, дегенерация нейронов и сосудистые изменения способствуют патологии AD. Токсичность пептида Аβ и его накопление в головном мозге частично связаны с прогрессированием во многих клинических исследованиях пациентов с AD. Основные биохимические изменения, происходящие у пациентов с AD, включают агрегацию Аβ и аномальный процессинг, а также гиперфосфорилирование тау-белка.

15

20

25

30

5

Бляшки и небольшие скопления бета-амилоидов, называемые олигомерами, могут способствовать повреждению и гибели нейронов (нейродегенерации) из-за нарушения связи между нейронами в синапсах. Клубки тау-белка блокируют транспортировку питательных веществ и других важных молекул внутри нейронов. Хотя полная последовательность событий неясна, бета-амилоид может начать накапливаться перед аномальным тау-белком, и увеличение накопления бета-амилоида связано с последующим увеличением количества тау-белка. (См. *Neuron* 2018; 98(4):861-4; *JAMA Neurol* 2019; 76(8):915-24).

5

10

15

20

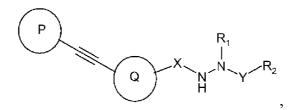
25

Следовательно, соединения, предупреждающие или способствующие устранению агрегации Аβ и гиперфосфорилирования тау-белка, обладают потенциалом для лечения AD.

USFDA одобрило пять лекарственных средств для лечения болезни Альцгеймера — ривастигмин, галантамин, донепезил, мемантин и мемантин в сочетании с донепезилом. За исключением мемантина, эти лекарственные средства временно улучшают когнитивные функции за счет увеличения количества нейротрансмиттеров в головном мозге. Мемантин блокирует определенные рецепторы в головном мозге от избыточной стимуляции, которая может повредить нервные клетки. Эффективность таких лекарственных средств варьируется от человека к человеку и их длительность действия ограничена. (См. Alzheimer's Dement. 2020; 16:391-460).

Несмотря на многолетние исследования, нет четких терапевтических методов лечения для пациентов с AD. С учетом вышеизложенных фактов авторы настоящего изобретения осознали, что должно быть фармакологическое лечение (лекарственный препарат), которое может предупредить или способствовать устранению агрегации Аβ и гиперфосфорилирования тау-белка и может стать одним из терапевтических методов лечения для пациентов с AD.

В WO 2012/098416 («публикации '416») раскрыты ингибиторы тирозинкиназы (например, ингибиторы Abl), имеющие структурную формулу



или их фармацевтически приемлемая соль, где;

5

10

15

20

25

кольцо Р и кольцо Q независимо выбраны из арильного кольца, содержащего 6—14 атомов углерода, или 5—14-членного гетероарильного кольца, содержащего один — четыре гетероатома, каждый из которых независимо выбран из О, S и N, необязательно замещенных одним или более одинаковыми или различными радикалами R<sub>3</sub>, при условии, что если кольцо Q представляет собой пиридил, то кольцо Р представляет собой гетероарил; R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, -C<sub>1</sub>—8-алкила, -C<sub>2</sub>—10-алкенила, -C<sub>2</sub>—12-алкинила, -C<sub>3</sub>—12-циклоалкила, с<sub>4</sub>—12-циклоалкилалкила, -C<sub>3</sub>—12-циклоалкенила, арила, гетероарила, арилалкила и гетероарилалкильного радикала, где арильное кольцо содержит 6—14 атомов углерода, и гетероарильное кольцо содержит 5—14-членную кольцевую систему с одним — четырьмя гетероатомами, каждый из которых независимо выбран из О, S и N, и необязательно замещены одним или более одинаковыми или различными радикалами R<sub>3</sub>;

X и Y независимо выбраны из группы, состоящей из C=O, C=S и SO<sub>2</sub>;

 $R_3$  выбран из группы, состоящей из галогена, -OH, -CN, -NO<sub>2</sub>, -N<sub>3</sub>, -C<sub>1</sub>—8-алкила, -C<sub>3</sub>—<sub>12</sub>-циклоалкила, -(C<sub>1</sub>—8-алкила)-C<sub>3</sub>—<sub>12</sub>-циклоалкила, -гетероциклоалкила, содержащего 3—12 кольцевых атомов, содержащих один или два гетероатома, каждый из которых независимо выбран из O, S и N, -(C<sub>1</sub>—8-алкил)-гетероциклоалкила, содержащего 3—12 кольцевых атомов, содержащих один или два гетероатома, каждый из которых независимо выбран из O, S и N, -O-C<sub>1</sub>—8-алкила, -O-C<sub>3</sub>—<sub>12</sub>-циклоалкила, - O-арила, -O-гетероарила, -C<sub>1</sub>—8алкил-O-C<sub>1</sub>—8алкила, -O-C<sub>1</sub>—8алкил-O-C<sub>1</sub>—8алкила, -O-C<sub>1</sub>—8алкила, -O-C<sub>1</sub>—8алкила, -O-C<sub>1</sub>—8алкила, -O-C<sub>1</sub>—8алкила, -C<sub>2</sub>—12алкила, -C(O)-C<sub>1</sub>—8алкила, -C(O)-C<sub>1</sub>—8алкила, -C(O)-NH-C<sub>1</sub>—8алкила, -C<sub>2</sub>—12алкинила, -OC(O)-NH<sub>2</sub>, -OC(O)-NH(C<sub>1</sub>—8алкил), -OC(O)-N(C<sub>1</sub>—8алкил), -NH<sub>2</sub>, -NH(C<sub>1</sub>—8алкил), -N(C<sub>1</sub>—8алкил), -N(C<sub>1</sub>—8алкил), -NH-C<sub>1</sub>—8алкила, -NH-C<sub>1</sub>—8алкила, -NH-C<sub>2</sub>—12-8алкила, -NH-C<sub>2</sub>—12-8алкил

 $-N(C_{1-8}$ алкил) $-C(O)-(C_{1-8}$ алкил),  $-NH-C(O)O-C_{1-8}$ алкила,  $-N(C_{1-8}$ алкил) $-C(O)O-C_{1-8}$  $-NH-C(O)-NH_2$  $-NH-C(O)-NH(C_{1-8}$ алкил),  $-N(C_{1}$ —8алкил)-C(O)- $NH(C_{1}$ — 8алкила, 8алкил),  $-N(C_{1}-8$ алкил)- $C(O)-N(C_{1}-8$ алкил)<sub>2</sub>,  $-NH-C(O)-NH-SO_{2}-C_{1}-8$ алкила,  $-N(C_{1}-8)$ 8алкил)-C(O)- $NHSO_2$ - $C_{1}$ —8алкила, - $N(C_{1}$ —8алкил)-C(O)- $N(C_{1}$ —8алкил)- $SO_2$ - $C_{1}$ —8алкила, -S-C<sub>1—8</sub>алкила, -S(O)-C<sub>1—8</sub>алкила, -SO<sub>2</sub>-С<sub>1—8</sub>алкила, -S-арила, -S(O)-арила, SO<sub>2</sub>-арила, - $-SO_2NH-(C_{1-8}$ алкил),  $-SO_2N(C_{1-8}$ алкил)<sub>2</sub>; -арила,  $SO_2NH_2$  $-(C_{1}$ —4алкил)-арила, гетероарила или -(С1—8алкил)-гетероарильной группы, где арильное кольцо содержит 6—14 атомов углерода, и гетероарильное кольцо содержит 5—14-членную кольцевую систему с одним — четырьмя гетероатомами, каждый из которых независимо выбран из O, S и N, где вышеуказанные группы R<sub>3</sub> могут быть необязательно замещены одной группой, выбранной из группы, состоящей из: С1—4алкила, С1—4алкокси, С1— 4галогеналкила, -OH, -COOH, -CN, -NO<sub>2</sub>, галогена, -NH<sub>2</sub> и -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

В публикации '416 дополнительно раскрыт ряд конкретных соединений, их получение, фармацевтические композиции и их применимость для лечения видов рака, таких как хронический миелоидный лейкоз (СМL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз меланома, (AML), миелодиспластический синдром, герминогенные гастроинтестинальная стромальная опухоль (GIST), немелкоклеточная карцинома легкого (SCLC), мастоцитоз, нейробластома, глиобластома, астроцитома, гепатоцеллюлярная карцинома, почечно-клеточный рак, рак молочной железы, кожный системный склероз, рак простаты и колоректальный рак, и другие солидные опухоли.

После исчерпывающего исследования авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение формулы

(называемое далее в данном документе как «соединение 1») среди тысяч соединений, охватываемых вышеуказанной структурой Маркуша, вместе с конкретно

25

5

10

15

приведенными в качестве примеров соединениями в публикации '416, в значительной степени предупреждает или способствует устранению агрегации  $A\beta$  (уменьшает распространение амилоидных бляшек  $A\beta$ ).

Гиперфосфорилированный тау-белок является основным признаком патологии AD. Активация c-Abl ассоциирована с фосфорилированием тау-белка при AD как непосредственно, так и через активацию Cdk5. Следовательно, применение c-Abl может быть успешной стратегией лечения AD. (*Current Alzheimer Research*, 2011, 8:643-651).

Таким образом, настоящее изобретение дает большую надежду на то, что лекарственный препарат сможет решить проблемы, вызывающие серьезную глобальную обеспокоенность в области здравоохранения, *то есть* болезнь Альцгеймера.

#### Сущность изобретения

## Проблемы, решаемые настоящим изобретением

Как поняли авторы настоящего изобретения, существует необходимость в новом лекарственном препарате, который в значительной степени предупреждает или способствует устранению агрегации Аβ (уменьшает распространение бляшек Аβ) и гиперфосфорилирования тау-белка, и в то же время обладает значительно более высокой концентрацией в головном мозге для повышения эффективности и хорошего профиля безопасности, пригодного для использования человеком.

#### Средства для решения проблем

5

10

15

20

25

В результате интенсивных исследований авторы настоящего изобретения обнаружили, что соединение 1 в значительной степени предотвращает и/или способствует устранению агрегации Аβ (уменьшает распространение бляшек Аβ) и может предупреждать гиперфосфорилирование тау-белка. В частности, соединение 1 по настоящему изобретению обладает значительно более высокой концентрацией в головном мозге в сравнении с плазмой крови и превосходным профилем безопасности, пригодным для применения человеком.

Таким образом, в одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено 30 следующее.

- [1] Способ предупреждения или лечения болезни Альцгеймера и ее симптомов, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей.
- [2] Способ в соответствии с [1], где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли регулируют уровни гиперфосфорилирования тау-белка.

5

10

15

20

- [3] Способ в соответствии с [1], где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли регулируют уровни гиперфосфорилирования тау-белка путем ингибирования с-Abl-киназы.
- [4] Способ в соответствии с [1], где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли предупреждают или способствуют устранению агрегации  $A\beta$  (уменьшают распространение бляшек  $A\beta$ ).
- [5] Способ в соответствии с [1], где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли предупреждают или способствуют устранению агрегации  $A\beta$  (уменьшают распространение бляшек  $A\beta$ ) путем ингибирования с-Abl-киназы.
- [6] Способ в соответствии с любым из способов [1] [5], где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе в диапазоне от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10,0 мг/кг.
- [7] Способ ингибирования гиперфосфорилирования тау-белка, включающий введение субъекту количества соединения, достаточного для ингибирования гиперфосфорилирования тау-белка, где указанное соединение модулирует АТФ- зависимый фермент, где указанное соединение представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.

[8] Способ ингибирования, предупреждения или способствования устранению агрегации  $A\beta$ , включающий введение количества соединения, достаточного для уменьшения количества бляшек  $A\beta$ , где указанное соединение модулирует  $AT\Phi$ -зависимый фермент, где указанное соединение представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.

5

15

- [9] Способ в соответствии с [7] и [8], где АТФ-зависимый фермент представляет собой киназу.
  - [10] Способ в соответствии с [9], где киназа представляет собой тирозинкиназу.
- 10 [11] Способ в соответствии с [10], где тирозинкиназа представляет собой с-Ablкиназу.
  - [12] Способ в соответствии с любым из [1] [11], где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли дополнительно вводят в комбинации с дополнительным терапевтическим средством.
  - [13] Способ в соответствии с [12], где дополнительное терапевтическое средство выбрано из мемантина, донепезила (Aricept®), галантамина (Reminyl®), такрина гидрохлорида (Cognex®) или ривастигмина тартрата (Exelon®).
- [14] N'-(2-Хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]- 20 бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли для применения в предупреждении или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов.
  - [15] Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов.
  - [16] Фармацевтическая композиция в соответствии с [15], где фармацевтическая композиция имеет форму, выбранную из таблеток, пеллет, капсул, диспергируемых таблеток, саше, гранул или сиропов.

- [17] Фармацевтическая композиция в соответствии с [16], где фармацевтическая композиция представляет собой капсулу и вводится перорально.
- [18] Фармацевтическая композиция в соответствии с [16], где фармацевтическая композиция представляет собой таблетку и вводится перорально.
- [19] Применение N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]- бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей для изготовления лекарственного препарата, предназначенного для предупреждения и/или лечения болезни Альцгеймера и ее симптомов.

5

15

20

25

- [20] Ингибитор с-Abl для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов, где ингибитор представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли.
  - [21] Ингибитор гиперфосфорилирования тау-белка для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов, где ингибитор гиперфосфорилирования тау-белка представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли.
  - [22] Ингибитор агрегации бляшек А $\beta$  для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов, где ингибитор представляет собой N'- (2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли.
  - [23] Способ улучшения симптомов болезни Альцгеймера у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей для улучшения симптомов у субъекта, где улучшение достигается за счет ингибирования агрегации бляшек  $A\beta$ , гиперфосфорилирования тау-белка, с-Abl-киназы или их комбинации.
  - [24] Способ в соответствии с [23], где соединение или его фармацевтически приемлемые соли вводят в дозе в диапазоне от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10,0 мг/кг.

- [25] Способ в соответствии с любым из [1] [24], в котором симптомами AD являются трудности с запоминанием недавних событий или разговора, дезориентация, изменение настроения и поведения, трудности с речью, глотанием, ходьбой или когнитивное расстройство.
- [26] Способ или применение в соответствии с любым из [1] [27], где доля ингибирования с-Abl-киназы в процентах составляет 37%.

5

25

- [28] Способ или применение в соответствии с любым из [1] [27], где доля ингибирования с-Abl-киназы в процентах составляет приблизительно 37%.
- [29] Способ или применение в соответствии с любым из [1] [27], где доля ингибирования с-Abl-киназы в процентах составляет по меньшей мере 37%.

## Краткое описание графических материалов

Различные аспекты настоящего изобретения проиллюстрированы со ссылкой на следующие графические материалы.

<u>Фигура 1</u>. Общее содержание Аβ в коре головного мозга мышей Tg APP/PS1 с применением ELISA.

В соответствии с результатами ELISA соединение 1 при уровнях дозы 30 и 45 мг/кг продемонстрировало значительное снижение общего содержания Аβ в коре головного мозга мышей Тg APP/PS1 по сравнению с группой, получавшей плацебо.

<u>Фигура 2.</u> Нагрузка бляшками Аβ (доля площади в %) в коре головного мозга 20 мышей Тg APP/PS1 с применением IHC.

В соответствии с результатами IHC соединение 1 при уровнях дозы 30 мг/кг в значительной степени уменьшало долю площади бляшек А $\beta$  по сравнению с группой, получавшей плацебо.

<u>Фигура 3.</u> Контекстное условно-рефлекторное замирание (CFC): замирание у мышей Тg APP/PS1.

В соответствии с результатами анализа СFC соединение 1 продемонстрировало значительное повышение % замирания мышей при дозах 30 и 45 мг/кг по сравнению с группой, получавшей плацебо.

**Фигура 4.** Соотношение  $A\beta_{42}$  и  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  у мышей TgSwDI с применением ELISA.

В соответствии с результатами ELISA соединение 1 при дозах 15, 30 и 45 мг/кг продемонстрировало дозозависимое снижение  $A\beta_{42}$  и соотношения  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ .Влияние на  $A\beta_{42}$  и соотношение  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  было статистически значимым при дозах 30 и 45 мг/кг по сравнению с группой, получавшей плацебо, тогда как в случае нилотиниба статистически значимым было только снижение соотношения  $A\beta_{42}/40$ .

5

10

15

20

25

Вышеуказанные аспекты и варианты осуществления, а также другие аспекты, цели, признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего подробного описания.

Если не указано иное, содержание каждого рассмотренного здесь документа включено посредством ссылки во всей его полноте.

### Подробное описание изобретения

Используемые в данном документе следующие определения применяются, если явно не указано иное. Следует отметить, что формы единственного числа включают ссылку на формы множественного числа, если контекст явно не указывает на обратное. Используемый в данном документе термин «приблизительно» относится к любому значению, которое находится в пределах диапазона, определяемого отклонением не более  $\pm 10\%$  от значения. Следует понимать, что, если прямо не указано иное, соединение 1 химически относится к N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразиду, а структурно относится к

N'-(2-Хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид может быть получен согласно процедуре, известной специалистам в данной области техники, например, процедуре, раскрытой в публикации '416.

Неожиданно было обнаружено, что N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид является сильным ингибитором с-Abl при

тестировании его на способность ингибировать клеточную пролиферацию клеток К562, которая представляет собой меру способности соединения ингибировать активность эндогенной Всг-Аbl-киназы. Активность соединения 1 значительно выше, что удивительно и неожиданно, поскольку схожие соединения из публикации '416 не проявляли активности при дозе 0,1 нМ, как показано ниже. (Касаемо экспериментальной процедуры, она относится к публикации '416 под заголовком *Invitro* Cell Proliferation Assay).

Таблица 1. Анализ данных клеточной пролиферации *in-vitro* 

5

10

№ соединения	Структура	% ингибирования (при 0,1 нМ)
Соединение 1	CI NH O H	37
Соединение 1.10 из публикации '416	NH O CH <sub>3</sub>	0
Соединение 1.21 из публикации '416	CI NH OCH3	6
Соединение 1.50 из публикации '416	CI NH NH CH <sub>3</sub>	0
Соединение 1.55 из публикации '416	F NH NH CH <sub>3</sub>	0
Соединение 1.59 из публикации '416	CI CH <sub>3</sub>	2

Соединение 1 обладает хорошей проникаемостью в головной мозг со значительно более высоким отношением концентрации в головном мозге к концентрации в плазме крови для N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида по сравнению с нилотинибом или дазатинибом.

(Пример 2 из WO 2017/208267, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте).

Таблица 2. Концентрация соединений в головном мозге и в плазме крови.

Соединение	Доза (мг/кг)	Контрольный	Концентрация в плазме крови (нг соединения/мл плазмы крови	Концентрация в головном мозге (нг соединения/г ткани головного мозга	Соотношение концентрации в головном мозге/концент рации в плазме крови
Соединение 1		1	4798±858	1901±959	0,40
	30	4	3167±50	510±367	0,16
		8	2715±379	435±157	0,16
Нилотиниб		1	31683±7958	380±70	0,01
	100	4	38813±11635	487±126	0,01
		8	16988±2133	180±46	0,01

Как отражено в результатах, соединение 1 показало примерно в 40 раз (через 1 час) более высокое отношение концентрации в головном мозге к концентрации в плазме крови по сравнению с нилотинибом. Подобные результаты наблюдали для 1 c дазатинибом, соединения при сравнении при ЭТОМ соединение продемонстрировало значительно лучшее проникновение в головной мозг, чем дазатиниб. Результаты показывают, что соединение 1 демонстрирует более высокую концентрацию в головном мозге в течение более длительного периода времени по сравнению с нилотинибом и дазатинибом.

5

10

15

20

Соответственно, некоторые варианты осуществления настоящего изобретения включают варианты применения или способы введения соединения 1 таким образом, чтобы достичь соотношения концентрации в головном мозге/плазме крови от приблизительно 0,16 до приблизительно 0,40. Другие варианты осуществления включают варианты применения или способы введения соединения 1 таким образом, чтобы достичь соотношения концентрации в головном мозге/плазме крови 0,16—0,40. В этих вариантах осуществления концентрации в головном мозге/плазме крови измеряют так, как они измерены в приведенной выше таблице.

Соединение 1 представляет собой также безопасный ингибитор c-Abl. Другие ингибиторы c-Abl известны своей токсичностью в отношении сердечно-сосудистой системы (см. J Clin Oncol 33:4210-4218, 2015 и Vascular Health and Risk Management 13:

293–303, 2017). По факту, маркировка, соответствующая требованиям US FDA для Tasigna® (нилотиниба), Sprycel® (дазатиниба), Iclusig® (понатиниба), Bosulif® (бозутиниба) и Gleevec® (иматиниба), предупреждает о ассоциированной с данными препаратами тяжелой кардиотоксичности. Неожиданно, авторы настоящего изобретения обнаружили, что соединение формулы 1 в терапевтически эффективной дозе не вызывает побочных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы при его тестировании в отношении влияния *in vitro* на канал hERG и его влияния *in vivo* на параметры ECG, такие как интервал QT, интервал QTс, интервал QTс и частота сердечных сокращений у собак породы бигль и морских свинок в состоянии бодрствования. (Примеры 5 и 6 из WO 2017/208267).

5

10

15

20

25

30

Таким образом, в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения предложен способ предупреждения или лечения болезни Альцгеймера и ее симптомов, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей.

Используемый в данном документе термин «терапевтически эффективное количество» представляет собой количество соединения 1 или его фармацевтически приемлемой соли, достаточное для обеспечения терапевтического эффекта при лечении или управлении течением заболевания или для задержки, сведения к минимуму или устранения симптомов, ассоциированных с заболеванием.

Применяемый в данном документе термин «фармацевтически приемлемый», относится к соединению, которое не является биологически или иным образом нежелательным, *т. е.* соединение 1 может быть включено в фармацевтический состав по настоящему изобретению и введено пациенту, не вызывая каких-либо нежелательных биологических эффектов или вредного взаимодействия с любым из других компонентов состава, в котором он содержится.

Используемый в данном документе термин «соли» относится к солям неорганической кислоты, такой как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, ортофосфорная кислота и т. п., или к солям органических кислот, таких как, например, уксусная кислота, бензолсульфоновая кислота, метансульфоновая кислота, бензойная кислота, лимонная кислота, гликолевая кислота, молочная кислота,

фумаровая кислота, янтарная кислота, адипиновая кислота, пимелиновая кислота, субериновая кислота, азелаиновая кислота, яблочная кислота, винная кислота, или аминокислот, таких как глутаминовая кислота или аспарагиновая кислота и т. п.

Используемый в данном документе термин «субъект» относится к пациенту, такому как человек, страдающий болезнью Альцгеймера и нуждающийся в терапевтическом вмешательстве для лечения и предупреждения AD и ее симптомов. К пациентам относятся пожилые люди, например, в возрасте 60 лет и старше.

5

10

15

20

25

30

Исследования на животных моделях AD показали, что увеличение количества Ав вызывает увеличение активности с-Abl в нейронах гиппокампа (Schlatterer SD et al, J Mol Neurosci. 2011 Nov; 45(3): 445–452). Ингибирование и модуляция тирозинкиназы с-Abl продемонстрировали уменьшение тау-фосфорилирования и поведенческих симптомов. Последовательность Ав приводит к двум основным изоформам Ав: Ав42 (42 остатка в длину) и Аβ40 (40 остатка в длину). Аβ42 представляет собой основной компонент амилоидных бляшек в головном мозге, подверженном AD, при этом Аβ40 обнаруживается только в субпопуляции бляшек. Таким образом, Ав 42 является основным, а иногда и единственным компонентом амилоидных бляшек. (См. Ј. Neurochem. 2013; 126, 305-311). Повышенные соотношения Аβ42/Аβ40 видимо коррелируют со случаями ранней наследственной AD, обусловленными мутациями пресенилина (см. Human Mutation 2006, 27(7): 686-695). Снижение соотношения Аβ42/Аβ40 у трансгенных мышей уменьшает отложение Аβ (См., *The Journal of* Neuroscience, 2007, 27(3):627-633). Сообщалось о более высокой нейротоксичности образцов, имеющих более высокое соотношение Аβ42/Аβ40 (см. *The EMBO Journal*, 2010 29:3408-3420).

Неожиданно, соединение 1 продемонстрировало дозозависимое снижение содержания Аβ42 и соотношения Аβ42/40. Предпочтительно соединение, раскрытое в данном документе, снижает распространение амилоидных бляшек Аβ42.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемая соль регулирует уровни гиперфосфорилирования таубелка у пациентов с AD путем ингибирования с-Abl-киназы.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли предупреждают или способствуют устранению агрегации  $A\beta$  (уменьшают распространение амилоидных бляшек  $A\beta$ ) у пациентов с AD путем ингибирования Abl-киназы.

5

10

15

20

25

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемая соль регулируют уровни гиперфосфорилирования таубелка и в то же время предупреждают или способствуют устранению агрегации  $A\beta$  (уменьшаютраспространение бляшек  $A\beta$ ) у пациентов с AD путем ингибирования с-Ab1-киназы.

В еще одном варианте осуществления N-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемая соль уменьшают распространение амилоидных бляшек А $\beta$ 42 у пациентов с AD путем ингибирования Abl-киназы.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения представлен способ лечения и/или предупреждения AD и ее симптомов, где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе в диапазоне от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10,0 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления соединение 1 можно вводить в дозе не более приблизительно 10 мг/кг, предпочтительно от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10,0 мг/кг, более предпочтительно от приблизительно 3,0 мг/кг до приблизительно 7,0 мг/кг. В различных вариантах осуществления дозу предпочтительно вводят один раз в день, но также можно вводить многократными дозами в течение дня, например, один, два, три или четыре раза в день. В качестве альтернативы доза может вводиться через день или каждые три дня, четыре дня или пять дней на усмотрение квалифицированного практикующего врача. Дозы соединения 1 можно вводить в течение короткого периода времени, например, недель, месяцев, или

в течение более длительного периода времени, такого как длительное применение, например, в течение нескольких месяцев или лет.

В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения представлен способ ингибирования гиперфосфорилирования тау-белка, включающий введение субъекту количества соединения, достаточного для ингибирования гиперфосфорилирования тау-белка, где указанное соединение модулирует АТФ-зависимый фермент, где указанное соединение представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.

5

10

15

20

25

Еще в одном аспекте настоящего изобретения представлен способ ингибирования, предупреждения или способствования устранению агрегации бляшек  $A\beta$ , включающий введение количества соединения, достаточного для уменьшения количества бляшек  $A\beta$ , где указанное соединение модулирует  $AT\Phi$ -зависимый фермент, где указанное соединение представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления фермент представляет собой киназу.

В другом варианте осуществления киназа представляет собой тирозинкиназу.

В другом варианте осуществления, тирозинкиназа представляет собой c-Abl-киназу.

В соответствии с другим вариантом осуществления N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль дополнительно вводят в комбинации с дополнительным терапевтическим средством, выбранным из мемантина, донепезила (Aricept®), галантамина (Reminyl®), такрина гидрохлорида (Cognex®) или ривастигмина тартрата (Exelon®).

В другом аспекте настоящего изобретения представлен N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемая соль для применения в предупреждении или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов.

Еще в одном аспекте настоящего изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемой соли для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов.

5

10

15

20

25

30

Еще в одном аспекте настоящего изобретения представлено применение N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемой соли для изготовления лекарственного препарата, предназначенного для предупреждения и/или лечения болезни Альцгеймера и ее симптомов.

В соответствии с одним вариантом осуществления фраза «применение лекарственного препарата» относится к применению схемы дозирования непосредственно в качестве лекарственного препарата в дополнение к применению в любой стадии получения такого лекарственного препарата.

В соответствии с другим аспектом представлен ингибитор с-Abl для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера, риска развития AD и ее симптомов, где ингибитор представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.

В соответствии с еще одним аспектом представлен ингибитор гиперфосфорилирования тау-белка для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов, где ингибитор представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.

В соответствии с еще одним аспектом представлен ингибитор агрегации бляшек А $\beta$  для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов, где ингибитор представляет собой N-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.

Применяемый в данном документе термин «симптомы» относится к трудностям запоминания недавних событий или разговора, дезориентации, изменению настроения и поведения, трудностям с речью, глотанием, ходьбой или когнитивному расстройству,

которые влияют на обучение, память, восприятие, способность решать проблемы и включают амнезию, деменцию и бред.

Таким образом, в соответствии с другим аспектом, настоящее изобретение относится к способу улучшения симптомов болезни Альцгеймера у субъекта, включающему введение субъекту терапевтически эффективной дозы N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемой соли для эффективного улучшения симптомов у субъекта, где улучшение достигается за счет ингибирования агрегации бляшек  $\Lambda \beta$ , гиперфосфорилирования тау-белка, с- $\Lambda$ bl-киназы или их комбинации.

5

10

15

20

25

30

В предпочтительном варианте осуществления эффективная доза N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемой соли находится в диапазоне от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг.

В предпочтительном варианте осуществления симптомы AD включают без ограничения потерю памяти, трудности с выполнением знакомых задач, проблемы с речью, дезориентацию во времени и пространстве, слабую или сниженную функцию суждения, проблемы с абстрактным мышлением, неправильное размещение вещей, изменения в настроении или поведении, изменения личности и потерю инициативы. В другом предпочтительном варианте осуществления симптомы включают когнитивное расстройство, которое влияет на обучение, память, восприятие, способность решать проблемы и включает амнезию, деменцию и бред.

В предпочтительном варианте осуществления фармацевтическая композиция предназначена для перорального введения. Композиция, подходящая для перорального применения, включает без ограничения таблетки, гранулы, капсулы, диспергируемые таблетки, саше, гранулы, сироп и т. п. Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть получена с помощью традиционных подходов с применением традиционных фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, хорошо известных в данной области техники. В Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) раскрыты фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, которые могут использоваться для получения подходящей лекарственной формы, содержащей N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-

3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли в качестве активного ингредиента.

Например, фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, пригодные для таблетирования, включают без ограничения разбавители (например, двухосновный фосфат кальция, карбонат кальция, лактозу, глюкозу, микрокристаллическую порошкообразную целлюлозу, целлюлозу, силикатизированную микрокристаллическую целлюлозу, силикат кальция, крахмал, желатинизированный крахмал или полиолы, такие как маннит, сорбит, ксилит, мальтит и сахароза), связующие (например, крахмал, желатинизированный крахмал, карбоксиметилцеллюлозу, натриевую целлюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, поливинилпирролидон, кросповидон или их комбинации), разрыхлители (например, сшитую целлюлозу, сшитый поливинилпирролидон (кросповидон), гликолят крахмала натрия, поливинилпирролидон (поливидон, повидон), карбоксиметилцеллюлозу натрия, сшитую карбоксиметилцеллюлозу натрия (кроскармеллозу натрия), гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, ксантановую камедь, альгиновую кислоту или соевые полисахариды), смачивающие средства (например, полисорбат, лаурилсульфат натрия или глицерилстеарат) или смазывающие вещества (например, лаурилсульфат натрия, тальк, стеарат магния, натрия стеарил фумарат, стеариновую кислоту, бегенат глицерина, гидрогенизированное растительное масло или стеарат цинка).

В другом предпочтительном варианте осуществления фармацевтическая композиция имеет форму, выбранную из таблеток, пеллет, капсул, диспергируемых таблеток, саше, гранул или сиропов.

В еще одном предпочтительном варианте осуществления фармацевтическую композицию в виде капсул вводят перорально.

В еще одном предпочтительном варианте осуществления фармацевтическую композицию в виде таблеток вводят перорально.

#### Биологическая оценка

5

10

15

20

Далее в данном документе настоящее изобретение описано со ссылкой на тестовые примеры, но объем настоящего изобретения ими не ограничивается. Любая модификация в процедурах, описанных в данном документе, другие анализы или модели и модификации могут быть использованы или адаптированы. Все такие модификации и альтернативные процедуры находятся в пределах сущности и объема настоящей заявки.

### Оценка соединения 1 на мышиных моделях болезни Альцгеймера

Эффективность соединения 1 оценивали в двух моделях трансгенных мышей — дважды трансгенная APP/PS1 и трижды трансгенная Tg-SwDI мышиные модели AD. APP/PS1 представляют собой дважды трансгенных мышей, экспрессирующих химерный белок-предшественник амилоидов (Mo/HuAPP695swe) мыши/человека и мутантный пресенилин 1 (PS1-dE9) человека, оба направлены на нейроны ЦНС. Обе мутации ассоциированы с ранней болезнью Альцгеймера. «Гуманизированный» трансген Mo/HuAPP695swe позволяет мышам секретировать пептид А $\beta$  человека. Такие мыши могут быть полезны в исследовании неврологических нарушений головного мозга, конкретно болезни Альцгеймера, образования амилоидных бляшек и старения. Трижды трансгенные мыши Tg-SwDI экспрессируют белок-предшественник амилоида-бета человека, полученный из нейронов, ген APP, изоформу 770, содержащую шведские мутации (Lys670 $\rightarrow$ Asn/Met671 $\rightarrow$ Leu), голландские мутации (Glu693 $\rightarrow$ Gln) и мутации Айова (Asp694 $\rightarrow$ Asn), находящиеся под контролем промотора антигена 1-тета клеток тимуса мыши ThyI.

#### Исследование I

5

10

15

20

25

30

Использовали самцов мышей APP/PS1 шестимесячного возраста, которые проявляли слабовыраженный поведенческий или патологический фенотип AD. Все участием животных были проведены эксперименты С В соответствии институциональными руководящими принципами использования и ухода животными после одобрения Институционального комитета по этике животных (ІАЕС), Центрального фонда животных Индийского института науки. Только самцов мышей применяли для исследования и располагали при температуре окружающей среды, составляющей 25°C, при цикле по 12 часов света и темноты со свободным доступом к корму и питьевой воде. Всем мышам перорально один раз в день вводили дозу плацебо или соединения 1 при 30 и 45 мг/кг в течение периода, составлявшего три месяца.

После завершения фазы обработки мышей подвергали оценке поведения с применением теста СFC с последующей биохимической оценкой Аβ в головном мозге с применением твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) и нагрузки бляшками Аβ с применением иммуногистохимического исследования (IHC).

5

10

15

20

25

30

# Общее содержание Ав в коре головного мозга мышей Tg APP/PS1 с применением ELISA

Животных (n = 10/обработка) глубоко анестезировали смесью ксилазина и кетамина (1:8), осуществляли перфузию с помощью 10 мл 1х солевого раствора в течение 4 минут, их головной мозг вырезали, сразу гомогенизировали в 0,5 мл буфера для ELISA и центрифугировали при 5000хg в течение 15 минут при 4°С с осаждением осадка. Общий Аβ оценивали в коре головного мозга мышей APP/PS1 с применением аналитического набора для ELISA в соответствии с инструкцией производителя.

Соединение 1 при уровнях дозы 30 и 45 мг/кг продемонстрировало значительное снижение общего содержания Аβ в коре головного мозга мышей Тg APP/PS1 по сравнению с группой, получавшей плацебо (см. фигуру 1).

# Нагрузка бляшками Аβ (доля площади в %) в коре головного мозга мышей Тg APP/PS1 с применением IHC

Головной мозг мышей (n = 5/обработка) фиксировали в 4% (вес/об.) забуференном параформальдегиде (PFA). Ткани головного мозга обрабатывали для погружения в парафин и нарезали серийные срезы (толщина 5 мкМ) с применением микротома (Leica Biosystems Inc., Буффало-Гроув, Иллинойс, США). Удаляли из срезов воск путем обработки ксилолом с последующим быстрым промыванием хлороформом для удаления остаточного ксилола. Активность эндогенной пероксидазы блокировали пероксидом водорода, содержащим метанол (3%, об./об.), в течение 30 минут. Срезы гидратировали в спирте с постепенным изменением концентрации с последующими быстрыми промываниями водой и забуференным фосфатом солевым раствором (10 мМ, рН 7,4, PBS). Срезы обрабатывали под давлением в течение 10 минут в буфере с цитратом натрия (рН 6,8). После охлаждения срезы промывали

забуференным фосфатом солевым раствором (PBS) и инкубировали в нормальной козьей сыворотке в течение 30 минут при комнатной температуре для блокирования неспецифического связывания. Затем срезы инкубировали с первичным антителом к  $\beta$ -амилоиду, антитело 1-16 (6E10), в течение ночи при 4°C. После промывания забуференным фосфатом солевым раствором (10 мМ, рН 7,4, PBS) срезы инкубировали с вторичным антителом. Затем срезы промывали и заключали в среду для заливки, предотвращающую обесцвечивание (VECTASHIELD). Получение изображений проводили с применением  $40 \times /0,75$  NA, Zeiss Axio Imager M2 (Carl Zeiss Microscopy, LLC, Торнвуд, Нью-Йорк, США).

5

10

15

20

25

30

Результат IHC показал, что по сравнению с плацебо соединение 1 в дозе 30 мг/кг в значительной степени снижало количество бляшек Аβ (доля площади в %) (см. фигуру 2).

# Контекстное условно-рефлекторное замирание (CFC): замирание у мышей Tg APP/PS1

Тест CFC проводили с применением аппарата от San Diego Instruments (Калифорния, США). Тренировочная среда для СГС была прямоугольной формы, идентичность среды поддерживали с помощью наличия отчетливого запаха (2% уксусная кислота, об./об.). Камеру кондиционирования очищали с помощью 70% этанола перед каждой сессией и после нее. Мышей располагали по отдельности и сначала проводили процедуры в течение 5 минут в течение 3 дней. В день тренировки мышам (п = 6/обработка) позволяли исследовать тренировочную среду в течение 1 минуты, а затем они получали 3 электроболевых раздражения лап (2 с и 0,6 мА каждое, интервал между испытаниями: 30 с). Контекстную память о страхе оценивали путем возвращения мышей в тренировочную среду через 24 часа после обеспечения условнорефлекторного замирания и анализировали замирание во время тестового периода, составлявшего 2 минуты. Замирание определяется как полное отсутствие соматической подвижности, отличной от дыхательных движений. (Sci Rep. 2018; Sep 3; 8(1):13119). Результат анализа СFC показал значительное повышение замирания мышей в % при дозах 30 и 45 мг/кг соединения 1 по сравнению с группой, получавшей плацебо. Такие результаты свидетельствуют о том, что обработка соединением 1 в

указанных дозах приводит к улучшению когнитивного дефицита у мышей Tg APP/PS1 (см. фигуру 3).

#### Исследование II

10

15

20

25

# Оценка соотношения $A\beta_{42}$ и $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ у мышей TgSwDI с применением 5 ELISA

Для исследования применяли самок TgSwDI (экспрессирующих человеческий ген АРР, содержащий шведские, голландские мутации и мутации Иова) возрастом 5-7 месяцев. Животных приучали к проведению процедуры в течение одной недели до начала введения доз. Все эксперименты с участием животных были проведены в соответствии с институциональными руководящими принципами использования и ухода за животными после одобрения Институционального комитета по этике животных (IAEC), Sun Pharma Advanced Research Company (SPARC) Ltd. Мышей располагали при температуре окружающей среды, составляющей 25°C, при цикле по 12 часов света и темноты со свободным доступом к корму и питьевой воде. Животных обрабатывали назначенными средствами обработки р.о., о.d. в течение периода, составлявшего 96 дней. Таким образом, соединение 1 вводили в дозе 15, 30 и 45 мг/кг, а нилотииб вводили в дозе 30 мг/кг. После завершения фазы обработки осуществляли перфузию мышам из каждой группы обработки с помощью ледяного забуференного фосфатом солевого раствора (PBS, pH 7,4), головной мозг вырезали, кору головного мозга выделяли и обрабатывали с получением лизатов в соответствии с протоколом, предоставленным в наборе для ELISA от Invitrogen. Оценку Аβ42 и Аβ40 проводили в соответствии с инструкциями, предоставленными в руководстве для пользователя от Invitrogen. Рассчитывали соотношение Aβ42/40.

Результат ELISA указывал, что соединение 1 при 15, 30 и 45 мг/кг показало дозозависимое снижение содержания Аβ42 и соотношения Аβ42/40. По сравнению с группой, получавшей плацебо, эффект в отношении содержания и соотношения Аβ42 был статистически значимым при дозах 30 и 45 мг/кг. По сравнению с плацебо нилотиниб не показал статистически значимого снижения содержания Аβ42 (см. фигуру 4).

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ предупреждения или лечения болезни Альцгеймера и ее симптомов, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей.

5

10

15

- 2. Способ по п. 1, где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли регулируют уровни гиперфосфорилирования тау-белка.
- 3. Способ по п. 1, где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли регулируют уровни гиперфосфорилирования тау-белка путем ингибирования с-Abl-киназы.
  - 4 Способ по п. 1. где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3хинолил)этинил]-бензогидразид фармацевтически приемлемые соли или его предупреждают или способствуют устранению агрегации Αβ (уменьшают распространение бляшек АВ).
  - 5. Способ по п. 1, N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3где хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые предупреждают или способствуют Αβ устранению агрегации (уменьшают распространение бляшек АВ) путем ингибирования с-Abl-киназы.
  - 6. Способ по любому из пп. 1—5, где N-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе в диапазоне от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10,0 мг/кг.
- 7. Способ ингибирования гиперфосфорилирования тау-белка, включающий введение субъекту количества соединения, достаточного для ингибирования гиперфосфорилирования тау-белка, где указанное соединение модулирует АТФ-зависимый фермент, где указанное соединение представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.

- 8. Способ ингибирования, предупреждения способствования или  $A\beta$ , устранению агрегации включающий введение количества соединения, достаточного для уменьшения количества бляшек АВ, где указанное соединение модулирует АТФ-зависимый фермент, где указанное соединение представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемую соль.
- 9. Способ по п. 7 и п. 8, где АТФ-зависимый фермент представляет собой киназу.
  - 10. Способ по п. 9, где киназа представляет собой тирозинкиназу.

5

10

- 11. Способ по п. 10, где тирозинкиназа представляет собой с-Abl-киназу.
- 12. Способ по любому из пп. 1—11, где N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли дополнительно вводят в комбинации с дополнительным терапевтическим средством.
- 13. Способ по п. 12, где дополнительное терапевтическое средство выбрано из мемантина, донепезила (Aricept®), галантамина (Reminyl®), такрина гидрохлорида (Cognex®) или ривастигмина тартрата (Exelon®).
  - 14. N'-(2-Хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]- бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли для применения в предупреждении или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов.
- 20 15. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов.
  - 16. Фармацевтическая композиция по п. 15, где фармацевтическая композиция имеет форму, выбранную из таблеток, пеллет, капсул, диспергируемых таблеток, саше, гранул или сиропов.
    - 17. Фармацевтическая композиция по п. 16, где фармацевтическая композиция представляет собой капсулу и вводится перорально.

- 18. Фармацевтическая композиция по п. 16, где фармацевтическая композиция представляет собой таблетку и вводится перорально.
- 19. Применение N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей для изготовления лекарственного препарата, предназначенного для предупреждения и/или лечения болезни Альцгеймера и ее симптомов.

5

10

15

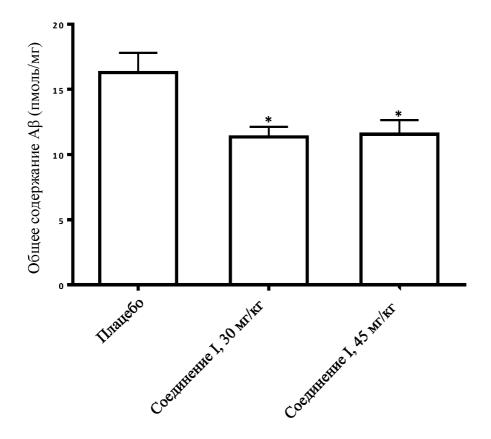
20

- 20. Ингибитор c-Abl для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов, где ингибитор представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли.
- 21. Ингибитор гиперфосфорилирования тау-белка для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов, где ингибитор гиперфосфорилирования тау-белка представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли.
- 22. Ингибитор агрегации бляшек А $\beta$  для применения в предупреждении и/или лечении болезни Альцгеймера и ее симптомов, где ингибитор представляет собой N'-(2-хлор-6-метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразид или его фармацевтически приемлемые соли.
- 23. Способ улучшения симптомов болезни Альцгеймера у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы N'-(2-хлор-6метилбензоил)-4-метил-3-[2-(3-хинолил)этинил]-бензогидразида или его фармацевтически приемлемых солей для улучшения симптомов у субъекта, где ингибирования улучшение достигается за счет агрегации бляшек  $A\beta$ , гиперфосфорилирования тау-белка, с-Abl-киназы или их комбинации.
  - 24. Способ по п. 23, где соединение или его фармацевтически приемлемые соли вводят в дозе в диапазоне от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10,0 мг/кг.
- 25. Способ по любому из пп. 1—24, в котором симптомами AD являются 30 трудности с запоминанием недавних событий или разговора, дезориентация,

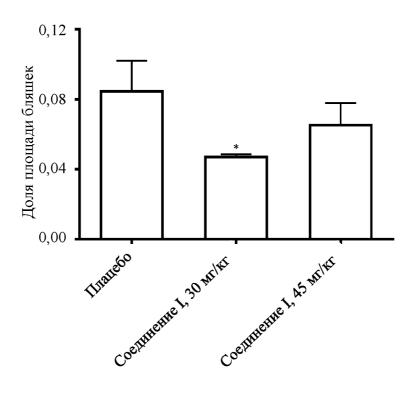
изменение настроения и поведения, трудности с речью, глотанием, ходьбой или когнитивное расстройство.

- 26. Способ или применение по любому из пп. 1—25, где доля ингибирования c-Abl-киназы в процентах составляет 37%.
- 5 27. Способ или применение по любому из пп. 1—25, где доля ингибирования с-Abl-киназы в процентах составляет приблизительно 37%.
  - 28. Способ или применение по любому из пп. 1—25, где доля ингибирования c-Abl-киназы в процентах составляет по меньшей мере 37%.

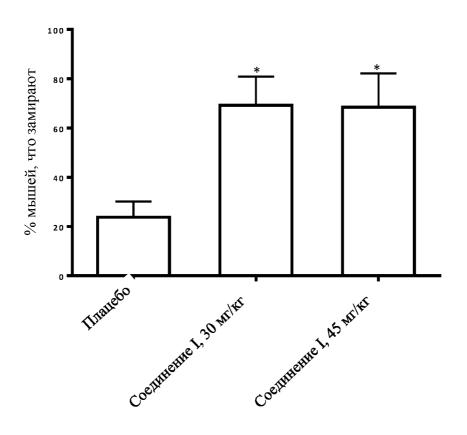
Фигура 1. Общее содержание Аβ в коре головного мозга мышей Tg APP/PS1



Фигура 2. Нагрузка бляшками  ${\bf A}{f \beta}$  (доля площади в %) в коре головного мозга мышей  ${\bf Tg}~{\bf APP/PS1}$ 



Фигура 3. Контекстное условно-рефлекторное замирание (CFC): замирание у мышей Tg APP/PS1



Фигура 4. А $eta_{42}$  и соотношение А $eta_{42}/Aeta_{40}$  у мышей TgSwDI

