



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **119538** (13) **C2**
(51) МПК (2019.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2015 11278	(72) Винахідник(и): Реймон Хітер (US), Хедж Крістен Мей (US)
(22) Дата подання заявки: 16.04.2014	(73) Власник(и): СІГНАЛ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, елелсі, 10300 Campus Point Drive, Suite 100, San Diego, CA 92121, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.07.2019	(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/813,071	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2010062571 A1, 03.06.2010 WO 2011053518 A1, 05.05.2011 WO 2008051493 A2, 02.05.2008 WO 2013082344 A1, 06.06.2013 WO 2013059396 A2, 26.04.2013 WO 2012016113, 02.02.2012 JHANWAR-UNIY ET AL., "Involvement of mTORC1 and mTORC2 in regulation of glioblastoma multiforme growth and motility", INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY (20090901), vol. 35, no. 4, Pp. 731-740 WU P. ET AL., "PI3K/Akt/mTOR Pathway Inhibitors in Cancer: A Perspective on Clinical Progress", CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY (20101201), vol. 17, no. 35, pages 4326-4341
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 17.04.2013	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.02.2016, Бюл.№ 4	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2019, Бюл.№ 13	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ PCT/US2014/034304, 16.04.2014	

(54) ЛІКУВАННЯ ЗЛОЯКІСНОЇ ПУХЛИНИ ДИГІДРОПІРАЗИНОПІРАЗИНАМИ

(57) Реферат:

У даному описі представлені способи лікування або профілактики мультиформної гліобластоми (GBM), яка відрізняється експресією O⁶-метилгуанін-ДНК метилтрансферази (MGMT) і/або статусом метилування промотору, які включають введення ефективної кількості дигідропіразинопіразинові сполуки пацієнту з мультиформною гліобластою (GBM), яка відрізняється експресією O⁶-метилгуанін-ДНК метилтрансферази (MGMT) і/або статусом метилування промотору.

UA 119538 C2

[0001] За даною заявкою запитується пріоритет попередньої заявки США № 61/813071, поданої 17 квітня 2013 року, опис якої включений в даний документ як посилання в повному обсязі.

1. Галузь техніки, до якої належить винахід

[0002] У даному описі представлені способи лікування або профілактики мультиформної гліобластоми (GBM), яка відрізняється експресією O⁶-метилгуанін-ДНК метилтрансферази (MGMT) і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки хворому на мультиформну гліобластоми (GBM), що відрізняється експресією O⁶-метилгуанін-ДНК метилтрансферази (MGMT) і/або статусом метилування промотору.

2. Рівень техніки

[0003] Зв'язок між патологічним фосфорилуванням білка і причиною або наступними захворюваннями відома більше 20 років. Таким чином, протеїнкінази стали вкрай важливою мішенню групою для лікарських засобів. Див. Cohen, *Nature*, 1:309-315 (2002). Різні інгібітори протеїнкіназ використовуються в клінічній практиці для лікування широкого спектра захворювань, таких як злоякісні пухлини і хронічні запальні захворювання, у тому числі діабет і інсульт. Див. Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001), *Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Disease: The Promise and the Problems*, Handbook of Experimental Pharmacology, Springer Berlin Heidelberg, 167 (2005).

[0004] Протеїнкінази являють собою велике і різноманітне сімейство ферментів, які каталізують фосфорилування білків і відіграють основну роль у клітинній сигналізації. Протеїнкінази можуть робити позитивні або негативні регуляторні ефекти, залежно від їхнього білка-мішені. Протеїнкінази залучені в специфічні сигнальні шляхи, що регулюють функції клітин, такі як, але ними не обмежуючись, метаболізм, клітинний цикл, клітинна адгезія, функція судин, апоптоз і ангиогенез. Порушення функції клітинної сигналізації пов'язане з великим числом захворювань, найбільш характерні з яких включають злоякісні пухлини і діабет. Регуляція передачі сигналу цитокінами і зв'язок сигнальних молекул із протоонкогенами і супресорами пухлинних генів докладно описано в документах. Аналогічно, був показаний зв'язок між діабетом і пов'язаними станами і рівнями протеїнкіназ із порушеною регуляцією. Див., наприклад, Sridhar et al. *Pharmaceutical Research*, 17(11):1345-1353 (2000). Вірусні інфекції і стани, що стосуються їх, також пов'язані з регуляцією протеїнкіназ. Park et al. *Cell* 101 (7): 777-787 (2000).

[0005] У результаті того, що протеїнкінази регулюють практично кожен клітинний процес, у тому числі метаболізм, клітинну проліферацію, клітинну диференціацію і клітинну виживаність, вони є привабливими мішенями для терапевтичного втручання при різних патологічних станах. Наприклад, контроль клітинного циклу й ангиогенез, при якому протеїнкінази відіграють основну роль, є клітинними процесами, пов'язаними з численними патологічними станами, такими як, але ними не обмежуючись, злоякісні пухлини, запальні захворювання, патологічний ангиогенез і захворювання, що стосуються їх, атеросклероз, дегенерація жовтої плями, діабет, ожиріння і біль.

[0006] Протеїнкінази стали привабливими мішенями для лікування злоякісних пухлин. Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002). Було зроблене припущення, що залучення протеїнкіназ у розвиток злоякісних пухлин у людини може виникати в результаті: (1) геномних перебудов (наприклад, BCR-ABL при хронічному мієлолейкозі), (2) мутацій, що приводять до активності конститутивно-активної кінази, наприклад, гострий мієлобластний лейкоз і шлунково-кишкові пухлини, (3) порушеної регуляції кіназної активності шляхом активації онкогенів або втрати супресорної пухлинної функції, наприклад, при онкологічних пухлинах з онкогенним RAS, (4) порушеної регуляції кіназної активності при надекспресії, як у випадку EGFR, і (5) ектопічної експресії факторів росту, що можуть зробити внесок у розвиток і підтримку неопластичного фенотипу. Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002).

[0007] З'ясування складності протеїнкіназних шляхів і комплексності відношень і взаємодій серед і між різними протеїнкіназами і шляхами кіназ підкреслює важливість розробки фармацевтичних агентів, здатних діяти як модулятори протеїнкіназ, регулятори або інгібітори, що мають корисну активність відносно множини кіназ або множинних кіназних шляхів. Відповідно, залишається потреба в нових модуляторах кіназ.

[0008] Білок, який називається mTOR (мішень рапаміцину ссавців), який також називають FRAP, RAFT1 або RAPT1, являє собою Ser/Thr-протеїнкіназу з 2549 амінокислот, яка, як було показано, є одним з найбільш важливих білків у шляху MTOR/PI3K/Akt, що регулює ріст і проліферацію клітин. Georgakis and Younes *Expert Rev. Anticancer Ther.* 6(1):131-140 (2006). mTOR існує в двох комплексах, mTORC1 і mTORC2. У той час як mTORC1 чутливий до аналогів

рапаміцину (наприклад, темсиролімус або еверолімус), mTORC2 у значній мірі нечутливий до рапаміцину. Примітно, що рапаміцин не є інгібітором кінази TOR. Кілька інгібіторів mTOR уже були оцінені в клінічних дослідженнях для лікування раку або оцінюються в даний час. У 2007 році темсиролімус був схвалений для використання при нирково-клітинній карциномі, а в 1999 році сиролімус був схвалений для профілактики відторгнення трансплантата нирок. У 2009 році еверолімус був схвалений для лікування хворих на ниркову карциному, що показали прогрес при лікуванні інгібіторами рецепторів фактора росту ендотелію судин, у 2010 році - для хворих на туберозний склероз (TS), зв'язаний із субependимальними гігантськими клітинами астроцитоми (SEGA), яким потрібна терапія, але які не є кандидатами для хірургічного видалення, і в 2011 році - для прогресивних нейроендокринних пухлин із панкреатичним походженням (PNET) у хворих з неоперабельним, місцево-розповсюдженим або метастатичним раком. Залишається потреба в додаткових інгібіторах кінази TOR.

[0009] ДНК-залежна протеїнкіназа (ДНК-ПК) являє собою серин/треонінкіназу, що бере участь у відновленні двониткових розривів ДНК (DSB). DSB вважаються найбільш смертоносним ушкодженням ДНК, і вони відбуваються ендегенно або у відповідь на іонізуюче випромінювання і хіміотерапевтичні препарати [див. Jackson, S. P., Bartek, J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature Rev* 2009; 461:1071-1078]. Якщо DSB не усуваються, то це приводить до зупинки клітинного циклу і/або клітинної смерті [Hoeijmakers, J. H. J. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001; 411: 366-374; van Gent, D. C., Hoeijmakers, J. H., Kanaar, R. Chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 196-206]. У відповідь на ушкодження клітини розробили складні механізми відновлення таких розривів, і ці механізми можуть бути основою для стійкості до дії терапевтичних засобів. Є два основні шляхи, що використовуються для відновлення DSB, - приєднання негомолігічних кінців (NHEJ) і гомолігічна рекомбінація (HR). При NHEJ відбувається контакт зруйнованих кінців ДНК і повторне їхнє з'єднання незалежно від другої матриці [Collis, S. J., DeWeese, T. L., Jeggo P. A., Parker, A.R. The life and death of DNA-PK. *Oncogene* 2005; 24: 949-961]. Навпаки, HR залежить від близькості сестриних хроматид, що забезпечує матрицю для опосередкування правильного відновлення [Takata, M., Sasaki, M.S., Sonoda, E., Morrison, C., Hashimoto, M., Utsumi, H., et al. Homologous recombination and non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. *EMBO J* 1998; 17: 5497-5508; Haber, J. E. Partners and pathways repairing a double-strand break. *Trends Genet* 2000; 16: 259-264]. NHEJ відновлює більшість DSB. При NHEJ DSB розпізнаються білком Ku, який зв'язує, а потім активує каталітичну субодиницю ДНК-ПК. Це приводить до збільшення числа й активації ферментів для заключної обробки, полімераз і ДНК-лігази IV [Collis, S. J., DeWeese, T. L., Jeggo P. A., Parker, A.R. The life and death of DNA-PK. *Oncogene* 2005; 24: 949-961]. NHEJ у першу чергу контролюється ДНК-ПК і, таким чином, інгібування ДНК-ПК є привабливим підходом для модуляції відновлювальної відповіді на екзогенно індуковані DSB. Клітини, дефіцитні по компонентах шляху NHEJ, неповноцінні для відновлення DSB і дуже чутливі до іонізуючої радіації і топоізомеразних отрут [Smith, G. C. M., Jackson, S.P. The DNA-dependent protein kinase. *Genes Dev* 1999; 13: 916-934; Jeggo, P.A., Caldecott, K., Pidsley, S., Banks, G.R. Sensitivity of Chinese hamster ovary mutants defective in DNA double strand break repair to topoisomerase II inhibitors. *Cancer Res* 1989; 49: 7057-7063]. Інгібітор ДНК-ПК, як повідомлялося, має той же ефект сенсibilізації злоякісних клітин відносно терапевтично індукованих DSB [Smith, G.C.M., Jackson S.P. The DNA-dependent protein kinase. *Genes Dev* 1999; 13: 916-934].

[0010] Цитування або вказівка будь-якого посилання в розділі 2 даного опису не повинне бути витлумачене як визнання того, що це посилання є рівнем техніки даної заявки.

3. Суть

[0011] У даному описі представлені способи лікування або профілактики мультиформної гліобластоми (GBM), яка відрізняється експресією O⁶-метилгуанін-ДНК метилтрансферази (MGMT) і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинових сполук хворому на GBM, що відрізняється експресією MGMT і/або статусом метилування промотору.

[0012] У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені способи оцінки відповіді для робочої групи з нейро-онкології (RANO) для випадку повної відповіді, часткової відповіді на лікування мультиформної гліобластоми або для випадку стабільного захворювання в хворого на мультиформну гліобластоми, що відрізняється експресією MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки зазначеному хворому.

[0013] У визначених варіантах здійснення промотор MGMT є гіпометильованим. В іншому варіанті здійснення експресується білок MGMT.

[0014] У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинова сполука являє собою сполуку, як описано в даному документі.

5 [0015] Представлені варіанти здійснення можуть бути краще зрозумілі завдяки посилянню на докладний опис і приклади, що призначені для ілюстрації необмежуваних варіантів здійснення.

4. Короткий опис креслень

10 [0016] Фігура 1: Аналіз повторного сфероутворення показує, що Сполука 1 не націлюється специфічно на клітини, які ініціюють сфероутворення, у культурах клітин GBM, отриманих у пацієнтів. Пухлинні сфери ліній A) 206 B) 217 C) 254 D) 282 дисоціювали і висівали як окремі клітини з густиною 50000 клітин/мл середовища для пухлинних сфер у цілому 10 мл на колбу для клітинної культури T-25 і 5 колб на клітинну лінію. Кожну колбу обробляли однією концентрацією Сполуки 1 протягом 7 днів. Клітини, що виживали на 7 день обробки, відмивали від Сполуки 1, дисоціювали на окремі клітини і висівали при клональній густині пухлинних сфер у 96-ямковій планшети. З кожної колби клітин висівали 60 ямок. Перш ніж їх підраховували, пухлинні сфери залишали рости доти, поки вони не досягали щонайменше 60 мікронів у діаметрі. Відсоток утворення пухлинних сфер розраховували, як число підрахованих пухлинних сфер, поділене на число клітин, що висівали, помножене на ефективність покриття в контролі.

20 [0017] Фігура 2: Аналіз виживання Каплана-Мейєра для лінії HF2354 PDX (кінець дослідження). Зазначені схеми лікування для виживання (Rx) і «ураження мішені» (TH).

5. Докладний опис

5.1 Визначення

25 [0018] Група «алкіл» являє собою насичений, частково насичений або ненасичений нерозгалужений ланцюг або розгалужений нециклічний вуглеводень, що має від 1 до 10 атомів вуглецю, звичайно від 1 до 8 вуглеців або, у визначених варіантах здійснення, від 1 до 6, від 1 до 4 або від 2 до 6 атомів вуглецю. Характерні алкільні групи включають -метил, -етил, -н-пропіл, -н-бутил, -н-пентил і н-гексил; тоді як насичені розгалужені алкіли включають -ізопропіл, -втор-бутил, -ізобутил, -трет-бутил, -ізопентил, 2-метилпентил, 3-метилпентил, 4-метилпентил, 30 2,3-диметилбутил тощо. Приклади ненасичених алкільних груп включають, але ними не обмежуються, крім іншого, вініл, аліл, $\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, $\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$, $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$ і $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$. Алкільна група може бути заміщеною або незаміщеною. У визначених варіантах здійснення, якщо алкільні групи, описані в даному документі, зазначені як «заміщені», то вони можуть бути заміщені будь-яким замісником або замісниками, зазначеними в ілюстративних сполуках і варіантах здійснення, описаних у даному документі, а також галогеном (хлором, йодом, бромом або фтором); гідроксиллом; алкокси; алкоксіалкілом; аміно; алкіламіно; карбокси; нітро; ціано; тіолом; тіоефіром; іміном; імідом; амідом; гуанідіном; енаміном; амінокарбонілом; ациламіно; фосфонато; фосфіном; тіокарбонілом; сульфонілом; сульфеном; 40 сульфонамідом; кетоном; альдегідом; складним ефіром; сечовиною; уретаном; оксимом; гідроксиламіном; алкоксіаміном; аралкоксіаміном; N-оксидом; гідразіном; гідразидом; гідразоном; азидом; ізоціанатом; ізотіоціанатом; ціанатом; тіоціанатом; $\text{B}(\text{OH})_2$ або O(алкіл)амінокарбонілом.

45 [0019] Група «алкеніл» являє собою нерозгалужений ланцюг або розгалужений нециклічний вуглеводень, що має від 2 до 10 атомів вуглеців, як правило від 2 до 8 атомів вуглецю, і включає щонайменше один подвійний зв'язок вуглець-вуглець. Характерний нерозгалужений ланцюг і розгалужені (C_2-C_8) алкеніли включають -вініл, -аліл, -1-бутеніл, -2-бутеніл, -ізобутиленіл, -1-пентеніл, 2 пентеніл, -3-метил-1-бутеніл, -2-метил-2-бутеніл, -2,3-диметил-2-бутеніл, -1-гексеніл, -2-гексеніл, -3-гексеніл, -1-гептеніл, -2-гептеніл, -3-гептеніл, -1-октеніл, -2-октеніл, 3-октеніл тощо. Подвійний зв'язок алкенільної групи може бути не конденсований або конденсований з ще однією ненасиченою групою. Алкенільна група може бути незаміщеною або заміщеною.

50 [0020] Група «циклоалкіл» являє собою насичену або частково насичену циклічну алкільну групу з 3-10 атомів вуглецю, що має одне циклічне кільце або множину конденсованих або зв'язаних містчковим зв'язком кілець, що можуть бути необов'язково заміщені 1-3 алкільними групами. У деяких варіантах здійснення циклоалкільна група має від 3 до 8 членів у кільці, тоді як в інших варіантах здійснення число кільцевих атомів вуглецю знаходиться в діапазоні від 3 до 5, від 3 до 6 або від 3 до 7. Такі циклоалкільні групи включають, як приклад, одиничні кільцеві структури, такі як циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, 60 1-метилциклопропіл, 2-метилциклопентил, 2-метилциклооктил тощо, або множинні або зв'язані

місточковим зв'язком структури, такі як адамантил тощо. Приклади ненасичених циклоалкільних груп включають, крім іншого, циклогексеніл, циклопентеніл, циклогексادیєніл, бутадієніл, пентадієніл, гексادیєніл. Циклоалкільна група може бути заміщеною або незаміщеною. Такі заміщені циклоалкільні групи включають, як приклад, циклогексанодин тощо.

5 [0021] Група «арил» являє собою ароматичну карбоциклічну групу з 6-14 атомів вуглецю, що має одиничне кільце (наприклад, феніл) або множину конденсованих кілець (наприклад, нафтил або антрил). У визначених варіантах здійснення арильна група містить від 6 до 14 вуглеців, а в інших - від 6 до 12 або навіть від 6 до 10 атомів вуглецю в кільцевих частинах груп. Конкретні арили включають феніл, біфеніл, нафтил тощо. Арильна група може бути заміщеною або

10 незаміщеною. Фраза «арильна група» також включає групи, що містять конденсовані кільця, такі як конденсовані ароматичні-аліфатичні циклічні системи (наприклад, інданіл, тетрагідронафтил тощо).

[0022] Група «гетероарил» являє собою арильну циклічну систему, що має від одного до чотирьох гетероатомів як атоми кільця в гетероароматичній циклічній системі, де інші атоми

15 являють собою атоми вуглецю. У визначених варіантах здійснення гетероарильні групи містять від 5 до 6 атомів кільця, а в інших - від 6 до 9 або навіть від 6 до 10 атомів у кільцевих частинах груп. Придатні гетероатоми включають кисень, сірку й азот. У визначених варіантах здійснення гетероарильна циклічна система є моноциклічною або біциклічною. Необмежуючі приклади включають, але ними не обмежуються, групи, такі як групи піроліл, піразоліл, імідазоліл,

20 триазоліл, тетразоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіазоліл, піроліл, піридил, піридазиніл, піримідиніл, піразиніл, тіофеніл, бензотіофеніл, фураніл, бензофураніл (наприклад, ізобензофуран-1,3-діїмін), індоліл, азаіндоліл (наприклад, піролопіридил або 1H-піроло[2,3-b]піридил), індазоліл, бензімідазоліл (наприклад, 1H-бензо[d]імідазоліл), імідазопіридил (наприклад, азабензімідазоліл, 3H-імідазо[4,5-b]піридил або 1H-імідазо[4,5-b]піридил), піразолопіридил,

25 триазолопіридил, бензотриазоліл, бензоксазоліл, бензотіазоліл, бензотіадіазоліл, ізоксазолопіридил, тіанафталеніл, пуриніл, ксантиніл, аденініл, гуанініл, хінолініл, ізохінолініл, тетрагідрохінолініл, хіноксалініл і хіназолініл.

[0023] «Гетероцикліл» являє собою ароматичний (також позначений як гетероарил) або неароматичний циклоалкіл, у якому від одного до чотирьох вуглецевих атомів кільця незалежно

30 заміщені гетероатомними групами, що складаються з O, S і N. У визначених варіантах здійснення гетероциклільні групи включають від 3 до 10 членів кільця, тоді як інші такі групи мають від 3 до 5, від 3 до 6 або від 3 до 8 членів кільця. Гетероцикліли можуть бути зв'язані з іншими групами на будь-якому атомі кільця (тобто, на будь-якому атомі вуглецю або гетероатомі гетероциклічного кільця). Гетероциклілалкільна група може бути заміщеною або

35 незаміщеною. Гетероциклільні групи включають ненасичені, частково насичені і насичені циклічні системи, такі як, наприклад, групи імідазоліл, імідазолініл і імідазолідиніл. Фраза гетероцикліл включає конденсовані кільцеві системи, у тому числі кільцеві системи, що містять конденсовані ароматичні і неароматичні групи, такі як, наприклад, бензотриазоліл, 2,3-дигідробензо[1,4]діоксиніл і бензо[1,3]діоксоліл. Ця фраза також включає зв'язані місточковим

40 зв'язком поліциклічні циклічні системи, що містять гетероатом, наприклад, але ними не обмежуються, хінуклідил. Характерні приклади гетероциклільної групи включають, але ними не обмежуються, групи азиридиніл, азетидиніл, піролідил, імідазолідиніл, піразолідиніл, тіазолідиніл, тетрагідротіофеніл, тетрагідрофураніл, діоксоліл, фураніл, тіофеніл, піроліл, піролініл, імідазоліл, імідазолініл, піразоліл, піразолініл, триазоліл, тетразоліл, оксазоліл,

45 ізоксазоліл, тіазоліл, тіазолініл, ізотіазоліл, тіадіазоліл, оксадіазоліл, піперидил, піперазиніл, морфолініл, тіоморфолініл, тетрагідропіраніл (наприклад, тетрагідро-2H-піраніл), тетрагідротіопіраніл, оксатіан, діоксил, дитіаніл, піраніл, піридил, піримідиніл, піридазиніл, піразиніл, триазиніл, дигідропіридил, дигідродитіїніл, дигідродитіоніл, гомопіперазиніл, хінуклідил, індоліл, індолініл, ізоіндоліл, азаіндоліл (піролопіридил), індазоліл, індолізиніл,

50 бензотриазоліл, бензімідазоліл, бензофураніл, бензотіофеніл, бензтіазоліл, бензохадіазоліл, бензоксазиніл, бензодитіїніл, бензоксатіїніл, бензотіазиніл, бензоксазоліл, бензотіазоліл, бензотіадіазоліл, бензо[1,3]діоксоліл, піразолопіридил, імідазопіридил (азабензімідазоліл; наприклад, 1H-імідазо[4,5-b]піридил або 1H-імідазо[4,5-b]піридин-2(3H)-оніл), триазолопіридил, ізоксазолопіридил, пуриніл, ксантиніл, аденініл, гуанініл, хінолініл, ізохінолініл, хінолізиніл,

55 хіноксалініл, хіназолініл, ціонолініл, фталазиніл, нафтиридиніл, птеридиніл, тіанафталеніл, дигідробензотіазиніл, дигідробензофураніл, дигідроіндоліл, дигідробензодіоксиніл, тетрагідроіндоліл, тетрагідроіндазоліл, тетрагідробензімідазоліл, тетрагідробензотриазоліл, тетрагідропіролопіридил, тетрагідропіразолопіридил, тетрагідроімідазопіридил, тетрагідротриазолопіридил і тетрагідрохінолініл. Характерні заміщені гетероциклільні групи

60 можуть бути моно-заміщеними або заміщеними більше одного разу, наприклад, але ними не

обмежуючись, групи піридил або морфолініл, що являють собою 2-, 3-, 4-, 5- або 6-заміщені або дизаміщені різними замісниками, такими як замісники, перераховані нижче.

[0024] Група «циклоалкілалкіл» являє собою радикал формули: -алкіл-циклоалкіл, де алкіл і циклоалкіл такі, як визначено вище. Заміщені циклоалкілалкільні групи можуть бути заміщені на алкільний, циклоалкільний або обох алкільний і циклоалкільний частинах групи. Характерні циклоалкілалкільні групи включають, але ними не обмежуються, циклопентилметил, циклопентилетил, циклогексилметил, циклогексилетил і циклогексилпропіл. Характерні заміщені циклоалкілалкільні групи можуть бути моно-заміщеними або заміщеними більше одного разу.

[0025] Група «аралкіл» являє собою радикал формули: -алкіл-арил, де алкіл і арил такі, як визначено вище. Заміщені аралкільні групи можуть бути заміщені на алкільний, арильний або обох алкільний і арильний частинах групи. Характерні аралкільні групи включають, але ними не обмежуються, групи бензил і фенетил і конденсовані (циклоалкіларил)алкільні групи, такі як 4-етил-інданіл.

[0026] Група «гетероцикліалкіл» являє собою радикал формули: -алкіл-гетероцикліл, де алкіл і гетероцикліл такі, як визначено вище. Заміщені гетероцикліалкільні групи можуть бути заміщені на алкільний, гетероциклільний або обох алкільний і гетероциклільний частинах групи. Характерні гетероцикліалкільні групи включають, але ними не обмежуються, 4-етил-морфолініл, 4-пропілморфолініл, фуран-2-ілметил, фуран-3-ілметил, піридин-3-ілметил, (тетрагідро-2Н-піран-4-іл)метил, (тетрагідро-2Н-піран-4-іл)етил, тетрагідрофуран-2-ілметил, тетрагідрофуран-2-ілетил і індол-2-ілпропіл.

[0027] «Галоген» являє собою хлор, йод, бром або фтор.

[0028] Група «гідроксіалкіл» являє собою алкільну групу, як описано вище, заміщену одним або декількома гідроксигрупами.

[0029] Група «алкокси» являє собою О-(алкіл), де алкіл такий, як визначено вище.

[0030] Група «алкоксіалкіл» являє собою (алкіл)-О-(алкіл), де алкіл такий, як визначено вище.

[0031] Група «амін» являє собою радикал формули: NH_2 .

[0032] Група «гідроксиамін» являє собою радикал формули: $\text{N(R}^\#\text{)OH}$ або NHOH , де $\text{R}^\#$ являє собою заміщену або незаміщену групу алкіл, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, арил, аралкіл, гетероцикліл або гетероцикліалкіл, як визначено в даному документі.

[0033] Група «алкоксіамін» являє собою радикал формули: $\text{N(R}^\#\text{)O-алкіл}$ або NHO-алкіл , де $\text{R}^\#$ такий, як визначено вище.

[0034] Група «аралкоксіамін» являє собою радикал формули: $\text{N(R}^\#\text{)O-арил}$ або NHO-арил , де $\text{R}^\#$ такий, як визначено вище.

[0035] Група «алкіламін» являє собою радикал формули: NH алкіл або N(алкіл)_2 , де кожен алкіл незалежно такий, як визначено вище.

[0036] Група «амінокарбоніл» являє собою радикал формули: $-\text{C(=O)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{C(=O)NH(R}^\#\text{)}$ або C(=O)NH_2 , де кожен $\text{R}^\#$ такий, як визначено вище.

[0037] Група «ациламіно» являє собою радикал формули: $\text{NHC(=O)(R}^\#\text{)}$ або $\text{N(алкіл)C(=O)(R}^\#\text{)}$, де кожен алкіл і $\text{R}^\#$ незалежно такий, як визначено вище.

[0038] Група «О(алкіл)амінокарбоніл» являє собою радикал формули: $-\text{O(алкіл)C(=O)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{O(алкіл)C(=O)NH(R}^\#\text{)}$ або $-\text{O(алкіл)C(=O)NH}_2$, де кожен $\text{R}^\#$ незалежно такий, як визначено вище.

[0039] Група «N-оксид» являє собою радикал формули: $-\text{N}^+-\text{O}^-$.

[0040] Група «карбокси» являє собою радикал формули: C(=O)OH .

[0041] Група «кетон» являє собою радикал формули: $\text{C(=O)(R}^\#\text{)}$, де $\text{R}^\#$ такий, як визначено вище.

[0042] Група «альдегід» являє собою радикал формули: $-\text{CH(=O)}$.

[0043] Група «складний ефір» являє собою радикал формули: $\text{C(=O)O(R}^\#\text{)}$ або $\text{OC(=O)(R}^\#\text{)}$, де $\text{R}^\#$ такий, як визначено вище.

[0044] Група «сечовина» являє собою радикал формули: $-\text{N(алкіл)C(=O)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{N(алкіл)C(=O)NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{N(алкіл)C(=O)NH}_2$, $-\text{NHC(=O)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{NHC(=O)NH(R}^\#\text{)}$ або NHC(=O)NH_2 , де кожен алкіл і $\text{R}^\#$ незалежно такий, як визначено вище.

[0045] Група «імін» являє собою радикал формули: $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)}_2$ або $-\text{C(R}^\#\text{)}=\text{N(R}^\#\text{)}$, де кожен $\text{R}^\#$ незалежно такий, як визначено вище.

[0046] Група «імід» являє собою радикал формули: $-\text{C(=O)N(R}^\#\text{)C(=O)(R}^\#\text{)}$ або $\text{N((C=O)(R}^\#\text{))}_2$, де кожен $\text{R}^\#$ незалежно такий, як визначено вище.

[0047] Група «уретан» являє собою радикал формули: $-\text{OC(=O)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{OC(=O)NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{N(R}^\#\text{)C(=O)O(R}^\#\text{)}$ або $-\text{NHC(=O)O(R}^\#\text{)}$, де кожен $\text{R}^\#$ незалежно такий, як визначено вище.

[0048] Група «амідин» являє собою радикал формули: $-\text{C(=N(R}^\#\text{))N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{C(=N(R}^\#\text{))NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{C(=N(R}^\#\text{))NH}_2$, $-\text{C(=NH)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{C(=NH)NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)NH}_2$, $-\text{C(=NH)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{C(=NH)NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{C(=NH)NH}_2$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)NH}_2$, $-\text{C(=NH)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{C(=NH)NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{C(=NH)NH}_2$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)N(R}^\#\text{)}_2$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)NH(R}^\#\text{)}$, $-\text{N}=\text{C(R}^\#\text{)NH}_2$.

$N=C(R^{\#})NH_2$, $-N(R^{\#})C(R^{\#})=N(R^{\#})$, $-NHC(R^{\#})=N(R^{\#})$, $-N(R^{\#})C(R^{\#})=NH$ або $-NHC(R^{\#})=NH$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0049] Група «гуанідин» являє собою радикал формули: $-N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))N(R^{\#})_2$, $-NHC(=N(R^{\#}))N(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})C(=NH)N(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))NH(R^{\#})$, $-N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))NH_2$, $-NHC(=NH)N(R^{\#})_2$, $-NHC(=N(R^{\#}))NH(R^{\#})$, $-NHC(=N(R^{\#}))NH_2$, $-NHC(=NH)NH(R^{\#})$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-N=C(N(R^{\#})_2)_2$, $-N=C(NH(R^{\#}))_2$ або $-N=C(NH_2)_2$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0050] Група «енамін» являє собою радикал формули: $-N(R^{\#})C(R^{\#})=C(R^{\#})_2$, $-NHC(R^{\#})=C(R^{\#})_2$, $-C(N(R^{\#})_2)=C(R^{\#})_2$, $-C(NH(R^{\#}))=C(R^{\#})_2$, $-C(NH_2)=C(R^{\#})_2$, $-C(R^{\#})=C(R^{\#})(N(R^{\#})_2)$, $C(R^{\#})=C(R^{\#})(NH(R^{\#}))$ або $-C(R^{\#})=C(R^{\#})(NH_2)$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0051] Група «оксим» являє собою радикал формули: $-C(=NO(R^{\#}))(R^{\#})$, $-C(=NOH)(R^{\#})$, $-CH(=NO(R^{\#}))$ або $-CH(=NOH)$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0052] Група «гідразид» являє собою радикал формули: $-C(=O)N(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-C(=O)NHN(R^{\#})_2$, $-C(=O)N(R^{\#})NH(R^{\#})$, $-C(=O)N(R^{\#})NH_2$, $-C(=O)NHNH(R^{\#})_2$ або $-C(=O)NHNH_2$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0053] Група «гідразин» являє собою радикал формули: $-N(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-NHN(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})NH(R^{\#})$, $-N(R^{\#})NH_2$, $-NHNH(R^{\#})_2$ або $-NHNH_2$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0054] Група «гідразон» являє собою радикал формули: $-C(=N-N(R^{\#})_2)(R^{\#})_2$, $-C(=N-NH(R^{\#}))(R^{\#})_2$, $-C(=N-NH_2)(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})(N=C(R^{\#})_2)$ або $-NH(N=C(R^{\#})_2)$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0055] Група «азид» являє собою радикал формули: $-N_3$.

[0056] Група «ізоціанат» являє собою радикал формули: $N=C=O$.

[0057] Група «ізотіоціанат» являє собою радикал формули: $N=C=S$.

[0058] Група «ціанат» являє собою радикал формули: OCN .

[0059] Група «тіоціанат» являє собою радикал формули: SCN .

[0060] Група «тіоефір» являє собою радикал формули: $-S(R^{\#})$, де $R^{\#}$ такий, як визначено вище.

[0061] Група «тіокарбоніл» являє собою радикал формули: $-C(=S)(R^{\#})$, де $R^{\#}$ такий, як визначено вище.

[0062] Група «сульфініл» являє собою радикал формули: $-S(=O)(R^{\#})$, де $R^{\#}$ такий, як визначено вище.

[0063] Група «сульфон» являє собою радикал формули: $-S(=O)_2(R^{\#})$, де $R^{\#}$ такий, як визначено вище.

[0064] Група «сульфоніламіно» являє собою радикал формули: $-NHSO_2(R^{\#})$ або $-N(алкіл)SO_2(R^{\#})$, де кожен алкіл і $R^{\#}$ такі, як визначено вище.

[0065] Група «сульфонамід» являє собою радикал формули: $-S(=O)_2N(R^{\#})_2$, або $-S(=O)_2NH(R^{\#})$ або $-S(=O)_2NH_2$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0066] Група «фосфонат» являє собою радикал формули: $-P(=O)(O(R^{\#}))_2$, $-P(=O)(OH)_2$, $-OP(=O)(O(R^{\#}))(R^{\#})$ або $-OP(=O)(OH)(R^{\#})$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0067] Група «фосфін» являє собою радикал формули: $-P(R^{\#})_2$, де кожен $R^{\#}$ незалежно такий, як визначено вище.

[0068] Якщо групи, описані в даному документі, крім алкільної групи, зазначені як «заміщені», то вони можуть бути заміщені будь-яким придатним замісником або замісниками. Характерні приклади замісників являють собою замісники, що можуть бути знайдені в ілюстративних сполуках і варіантах здійснення, описаних у даному документі, а також галоген (хлор, йод, бром або фтор); алкіл; гідроксил; алкокси; алкоксіалкіл; аміно; алкіламіно; карбокси; нітро; ціано; тіол; тіоефір; імін; імід; амідин; гуанідин; енамін; амінокарбоніл; ациламіно; фосфонат; фосфін; тіокарбоніл; сульфініл; сульфен; сульфонамід; кетон; альдегід; складний ефір; сечовина; уретан; оксим; гідроксиламін; алкоксіамін; аралкоксіамін; N-оксид; гідразин; гідразид; гідразон; азид; ізоціанат; ізотіоціанат; ціанат; тіоціанат; кисень ($=O$); $B(OH)_2$, $O(алкіл)амінокарбоніл$; циклоалкіл, що може бути моноциклічним або конденсованим або неконденсованим поліциклічним (наприклад, циклопропіл, циклобутил, циклопентил або циклогексил), або гетероцикліл, що може бути моноциклічним або конденсованим або неконденсованим поліциклічним (наприклад, піролідил, піперидил, піперазиніл, морфолініл або тіазиніл); моноциклічний або конденсований або неконденсований поліциклічний арил або гетероарил (наприклад, феніл, нафтил, піроліл, індоліл, фураніл, тіофеніл, імідазоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіазоліл, триазоліл, тетразоліл, піразоліл, піридиніл, хінолініл, ізохінолініл, акридиніл, піразиніл, піридазиніл, піримідиніл, бензімідазоліл, бензотіофеніл або бензофураніл) арилокси; аралкілокси; гетероциклілокси; і гетероциклілалкокси.

[0069] Як використовується в даному документі, термін «фармацевтично прийнятна(i) сіль(i)» стосується солі, отриманої з фармацевтично прийнятної нетоксичної кислоти або основи, включаючи неорганічну кислоту і основу, і органічну кислоту і основу. Придатні фармацевтично прийнятні солі додавання основ дигідропіразино-піразинової сполуки включають, але ними не обмежуються, солі металів, отримані з алюмінію, кальцію, літію, магнію, калію, натрію і цинку, або органічні солі, отримані з лізину, N,N'-добензилетилендіаміну, хлорпрокаїну, холіну, діетаноламіну, етилендіаміну, меглумін(N-метилглюкамін) і прокаїну. Придатні нетоксичні кислоти включають, але ними не обмежуються, неорганічні й органічні кислоти, такі як оцтова, альгінова, антранілова, бензолсульфонова, бензойна, камфорсульфонова, лимонна, етенсульфонова, мурашина, фумарова, фуранкарбонова, галактуринона, глюконова, глюкуронова, глутамінова, гліколева, бромистоводнева, соляна, ізетіонова, молочна, малеїнова, яблучна, мигдальна, метансульфонова, муцинова, азотна, памова, пантотенова, фенілоцтова, фосфорна, пропіонова, саліцилова, стеаринова, бурштинова, сульфанілова, сірчана, винна кислота і п-толуолсульфонова кислота. Конкретні нетоксичні кислоти включають соляну, бромистоводневу, фосфорну, сірчану і метансульфонову кислоти. Приклади конкретних солей, таким чином, включають солі гідрохлорид і мезилат. Інші солі являють собою добре відомі в даній галузі, див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е видання, Mack Publishing, Easton PA (1990) або Remington's Pharmaceutical Sciences and Practice of Pharmacy, 19-е видання, Mack Publishing, Easton PA (1995).

[0070] Як використовується в даному документі, і якщо не зазначено іншого, термін «клатрат» позначає дигідропіразино-піразинову сполуку, або її сіль, у формі кристалічної решітки, що містить простори (наприклад, канали), що мають захоплені усередині «гостьові» молекули (наприклад, розчинник або воду), або кристалічної решітки, де дигідропіразино-піразинова сполука являє собою «гостьову» молекулу.

[0071] Як використовується в даному документі, і якщо не зазначено іншого, термін «сольват» означає дигідропіразино-піразинову сполуку, або її сіль, що додатково включає стехіометричну або нестехіометричну кількість розчинника, приєднаного нековалентною силою міжмолекулярної взаємодії. В одному з варіантів здійснення сольват являє собою гідрат.

[0072] Як використовується в даному документі, і якщо не зазначено іншого, термін «гідрат» означає дигідропіразино-піразинову сполуку, або її сіль, що додатково включає стехіометричну або нестехіометричну кількість води, приєднаної нековалентною силою міжмолекулярної взаємодії.

[0073] Як використовується в даному документі, і якщо не зазначено іншого, термін «пролікарський засіб» означає похідне дигідропіразино-піразинової сполуки, що може гідролізуватися, окислятися або іншим способом взаємодіяти в біологічних умовах (in vitro або in vivo) з одержанням активної сполуки, зокрема, дигідропіразино-піразинової сполуки. Приклади пролікарських засобів включають, але ними не обмежуються, похідні і метаболіти дигідропіразино-піразинової сполуки, що включають біогідролізовані групи, такі як біогідролізовані аміди, біогідролізовані ефіри, біогідролізовані карбамати, біогідролізовані карбонати, біогідролізовані уреїди і біогідролізовані фосфатні аналоги. У визначених варіантах здійснення проліки сполук карбоксильними функціональними групами являють собою нижчі алкільні ефіри карбонової кислоти. Карбоксилатні ефіри звичайно утворюються шляхом етерифікації будь-якої групи карбонової кислоти, що присутня на молекулі. Проліки, як правило, одержують добре відомими способами, такими як способи, описані у Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 6-е видання [Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley] і Design and Application of Prodrugs [H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers Gmhf].

[0074] Як використовується в даному документі, і якщо не зазначено іншого, термін «стереоізомер» або «стереомерно чистий» означає один стереоізомер дигідропіразино-піразинової сполуки, що по суті вільний від інших стереоізомерів цієї сполуки. Наприклад, стереомерно чиста сполука, що має один хіральний центр, буде по суті чистою від протилежної енантіомерної сполуки. Стереомерно чиста сполука, що має два хіральні центри, буде по суті вільна від інших діастереомерних сполук. Звичайна стереомерно чиста сполука містить більш ніж приблизно 80% за масою одного стереоізомера сполуки і менше ніж приблизно 20% за масою іншого стереоізомера сполуки, більше ніж приблизно 90% за масою однієї стереоізомерної сполуки і менше ніж приблизно 10% за масою іншої стереоізомерної сполуки, більше ніж приблизно 95% за масою однієї стереоізомерної сполуки і менше ніж приблизно 5% за масою іншої стереоізомерної сполуки, або більше ніж приблизно 97% за масою однієї стереоізомерної сполуки і менше ніж приблизно 3% за масою іншої стереоізомерної сполуки. Дигідропіразино-піразинові сполуки можуть мати хіральні центри і можуть існувати у вигляді рацематів, індивідуальних енантіомерів або діастереомерів, і у вигляді їхніх сумішей. Усі такі

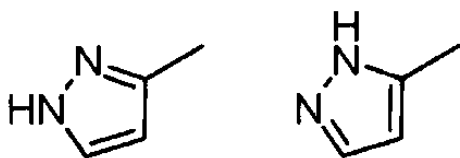
ізомерні форми входять в обсяг варіантів здійснення, описаних у даному документі, включаючи їхні суміші. Застосування стереоізомерно чистих форм таких дигідропіразино-піразинових сполук, а також застосування сумішей цих форм входять в обсяг варіантів здійснення, описаних у даному документі. Наприклад, суміші, що містять еквівалентні або нееквівалентні кількості

5 енантіомерів конкретної дигідропіразино-піразинової сполуки можна використовувати в способах і композиціях, описаних у даному документі. Ці ізомери можуть бути асиметрично синтезованими або розділені стандартними способами, такими як хіральні колонки або хіральні розділяючі агенти. [Див., наприклад, Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw Hill, NY, 1962); i Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972)].

[0075] Також потрібно зазначити, що дигідропіразино-піразинові сполуки можуть включати ізомери E і Z або їхню суміш, і цис- і ізомери або їхню суміш. У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинові сполуки виділяють або як цис-, або як транс-ізомер. В інших варіантах здійснення дигідропіразино-піразинові сполуки являють собою суміш цис- і транс-ізомерів.

[0076] «Таутомери» стосуються ізомерних форм сполуки, що знаходяться в рівновазі одна з одною. Концентрації ізомерних форм залежать від оточення, у якому знаходяться сполуки, і

20 можуть відрізнятися залежно від того чи є, наприклад, сполука твердою або знаходиться в органічному або водному розчині. Наприклад, у водному розчині піразоли можуть мати наступні ізомерні форми, що позначені як таутомери один одного:



[0077] Фахівцю в даній галузі буде зрозуміло, що широкий спектр функціональних груп і інших структур може мати таутомеризм і всі таутомери дигідропіразино-піразинових сполук входять в обсяг даного винаходу.

[0078] Також потрібно зазначити, що дигідропіразино-піразинові сполуки можуть містити неприродні пропорції атомних ізоотопів на одному або декількох атомах. Наприклад, сполуки можуть бути радіоміченими радіоактивними ізоотопами, такими, наприклад, як тритій (^3H), йод-125 (^{125}I), сірка-35 (^{35}S) або вуглець-14 (^{14}C), або можуть бути ізоотопно-збагаченими, наприклад, дейтерієм (^2H), вуглець-13 (^{13}C) або азот-15 (^{15}N). Як використовується в даному документі, «ізоотополог» являє собою ізоотопно-збагачену сполуку. Термін «ізоотопно-збагачений» стосується атома, що має ізоотопний склад, відмінний від природного ізоотопного складу цього атома. «Ізоотопно-збагачений» може стосуватися сполуки, що містить щонайменше один атом, що має ізоотопний склад, відмінний від природного ізоотопного складу цього атома. Термін «ізоотопний склад» стосується кількості кожного ізоотопу, що присутній для даного атома. Радіомічені і ізоотопно-збагачені сполуки можуть використовуватися як терапевтичні засоби, наприклад,

40 терапевтичні засоби для лікування злоякісних новоутворень і запалення, агенти для досліджень, наприклад, агенти для аналізу зв'язування, і діагностичні засоби, наприклад, *in vivo* візуалізуючі засоби. Зрозуміло, що всі ізоотопні варіанти дигідропіразино-піразинових сполук, як описано в даному документі, чи є вони радіоактивними, чи ні, входять в обсяг варіантів здійснення, наведених у даному документі. У визначених варіантах здійснення наведені ізоотопологи дигідропіразино-піразинових сполук, наприклад, ізоотопологи являють собою дигідропіразино-піразинові сполуки, збагачені дейтерієм, вуглецем-13 або азотом-15.

[0079] Потрібно зазначити, що, якщо виникає протиріччя між зображеною структурою і назвою цієї структури, то зображеній структурі надається велика значущість.

[0080] O^6 -Алкіл-гуанін являє собою основне канцерогенне ушкодження в ДНК, викликане алкілюючими мутагенами. Такий аддукт ДНК видаляється за допомогою ремонтного білка, O^6 -метилгуанін-ДНК метилтрансферазою (MGMT), кодуваною геном MGMT. Білок не є справжнім ферментом, тому що акцептує алкільну групу з ушкодження в стехіометричній реакції й активний фермент не відновлюється після такого алкілювання. Метил-акцепторним залишком у білку є цистеїн [Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP (серпень 2007). *DNA Repair* (Amst.)

6 (8): 1079-99)]. Знижена експресія білка MGMT через метилування сайтів CpG у промоторній області гена MGMT забезпечує нагромадження алкілгуанінової ДНК, що, після неправильного спарювання основ з тиміном, запускає пошкоджуючий сигнальний шлях ДНК і загибель клітин. Метилування промотору MGMT є ключовим механізмом сайленсингу гена MGMT.

5 [0081] Як використовується в даному документі «статус експресії білка MGMT» стосується експресії білка MGMT. В одному з варіантів здійснення білок MGMT є експресованим. В одному з варіантів здійснення експресія білка MGMT визначена, наприклад, імуногістохімією або Вестерн-блотингом.

10 [0082] Як використовується в даному документі «статус метилування промотору MGMT» стосується метилування промотору гена MGMT. В одному з варіантів здійснення промотор гіпометильований. В одному з варіантів здійснення статус метилування промотору MGMT визначають, наприклад, ПЛР, специфічним для метилування (MSP), і бісульфітним секвенуванням (BiSEQ) 24 суміжних сайтів CpG.

15 [0083] «Лікування», як використовується в даному документі, означає полегшення перебігу, повністю або частково, GBM, що відрізняється експресією MGMT і/або статусом метилування промотору, або її симптому, або уповільнення, або припинення подальшого прогресування або погіршення GBM, що відрізняється експресією MGMT/або статусом метилування промотору, або її симптому. В одному з варіантів здійснення промотор MGMT гіпометильований. В іншому варіанті здійснення білок MGMT є експресованим.

20 [0084] «Профілактика», як використовується в даному документі, означає запобігання виникненню, рецидивування або поширення, повністю або частково, GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, або її симптому. В одному з варіантів здійснення промотор MGMT гіпометильований. В іншому варіанті здійснення білок MGMT є експресованим.

25 [0085] Термін «ефективна кількість», відносно дигідропіразино-піразинової сполуки, означає кількість, здатну полегшити, повністю або частково, симптоми, пов'язані з GBM, що відрізняється експресією MGMT/або статусом метилування промотору, або сповільнити або зупинити подальше прогресування або погіршення цих симптомів, або використовуватися для лікування або профілактики GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. Ефективна кількість дигідропіразино-піразинової сполуки, наприклад, у фармацевтичній композиції, може бути такою кількістю, при якій буде розвиватися бажаний ефект; наприклад, від приблизно 0,005 мг/кг маси тіла індивідуума до приблизно 100 мг/кг маси тіла пацієнта в лікарській формі як для перорального, так і для парентерального введення. Як буде зрозуміло фахівцям у даній галузі, варто очікувати, що ефективна кількість дигідропіразино-піразинової сполуки, описаної в даному документі, може змінюватися залежно від важкості симптому, відносно якого спрямоване лікування.

30 [0086] В одному з варіантів здійснення пацієнтом є людина, що страждає на GBM, що відрізняється експресією MGMT/або статусом метилування промотору. В одному з варіантів здійснення промотор MGMT є гіпометильованим. В іншому варіанті здійснення білок MGMT є експресованим.

40 [0087] Терміни «пацієнт» і «індивідуум», як використовується в даному документі, включають тварину, включаючи, але ними не обмежуючись, тварину, таку як корова, мавпа, кінь, вівця, свиня, курка, індичка, перепел, кішка, собака, миша, щур, кролик або морська свинка, в одному з варіантів здійснення - ссавець, в іншому варіанті здійснення - людина. В одному з варіантів здійснення «пацієнтом» або «індивідуумом» є людина, що страждає на GBM, що відрізняється експресією MGMT/або статусом метилування промотору. В одному з варіантів здійснення пацієнтом є людина з гістологічно або цитологічно підтвердженою GBM, що відрізняється експресією MGMT/або статусом метилування промотору, включаючи індивідуумів, у яких спостерігався прогрес при проведенні стандартної терапії злоякісної пухлини (або в якій не розвивалася толерантність) або для яких не існує стандартної терапії злоякісної пухлини. В одному з таких варіантів здійснення стандартною терапією злоякісної пухлини є терапія темозоломідом.

50 [0088] У контексті GBM, що відрізняється експресією MGMT/або статусом метилування промотору, лікування може бути оцінене по інгібуванню прогресування захворювання, по інгібуванню росту пухлини, зменшенню первинної і/або вторинної пухлини(пухлин), по полегшенню симптомів, пов'язаних з пухлиною, по поліпшенню якості життя, по відстрочці виникнення первинної і/або вторинної пухлини(пухлин), по уповільненню розвитку первинної і/або вторинної пухлини(пухлин), по зниженню виникнення первинної і/або вторинної пухлини(пухлин), або уповільненню зниженню важкості вторинних ефектів захворювання, по припиненню росту пухлини і/або регресії пухлин, крім іншого. У визначених варіантах здійснення

лікування GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, можна оцінити по інгібуванню фосфорилування S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у циркулюючій крові і/або пухлинних клітинах і/або шкірних біоптатах або пухлинних біоптатах/аспіратах перед, під час і/або після лікування дигідропіразино-піразиновією сполукою.

5 В інших варіантах здійснення лікування GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, може бути оцінене по інгібуванню активності ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-ПК) у зразках шкіри і/або шкірних біоптатах/аспіратах, наприклад, шляхом оцінки кількості S2056 рDNA-ПК як біомаркера для шляхів ушкодження ДНК перед, під час і/або після лікування дигідропіразино-піразиновією сполукою. В одному з варіантів здійснення зразок шкіри опромінюють УФ-світлом. У крайньому випадку повне інгібування називається в даному документі профілактикою або хіміопротекцією. У цьому контексті термін «профілактика» включає або профілактику виникнення клінічно видимої GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, у цілому, або профілактику виникнення доклінічно видимої стадії карциноми GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. Також зрозуміло, що це визначення включає профілактику трансформації в злоякісні клітини, або припинення або зворотного прогресу переходу передзлоякісних клітин у злоякісні клітини. До нього належить профілактичне лікування ризику розвитку GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору.

20 [0089] Методики, угоди і визначення, описані нижче, представляють посібник з реалізації рекомендацій з оцінки відповіді для робочої групи з нейро-онкології (RANO) відносно критерію відповіді на лікування гліоми з високим ступенем злоякісності [Wen P., Macdonald, DR., Reardon, DA., et al. Updated response assessment criteria for highgrade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. J Clin Oncol 2010; 28: 1963-1972]. Первинні зміни в критерії RANO для критерію відповіді в часові точки (TPR) можуть включати доповнення діючих угод, що стосуються визначення змін у дозі глюкокортикоїдів і виключення компонента клінічного погіршення в індивіда для того, щоб сфокусуватися на об'єктивних радіологічних оцінках. Базове сканування МРТ визначається як оцінка, здійснювана наприкінці післяопераційного періоду спокою, перед повторним проведенням лікування сполукою. Вихідне МРТ використовується як еталон для оцінки повної відповіді (CR) і часткової відповіді (PR). У свою чергу, найменше SPD (сума продуктів перпендикулярних діаметрів), отримана або при базовій, або при наступній оцінках, буде позначати найнижчий рівень оцінки і використовуватися як еталон для визначення прогресії. За 5 днів до сканування МРТ, передбаченого будь-яким протоколом, індивіди або не одержують глюкокортикоїдів, або приймають стабільну дозу глюкокортикоїдів. Стабільна доза визначена як однакова добова доза протягом 5 послідовних днів, що передують скануванню МРТ. Якщо запропонована доза глюкокортикоїдів змінюється протягом 5 днів до базового сканування, то потрібне проведення нового базового сканування з використанням глюкокортикоїдів, що відповідає критеріям, описаним вище. Будуть використані наступні визначення.

40 [0090] Вимірювані ушкодження: Вимірювані ушкодження являють собою ушкодження, що накопичують контраст, які можуть бути вимірювані двовимірно. Проводять вимірювання діаметра пухлини, що максимально накопичує контраст (також відомий як найбільший діаметр, LD). Найбільший перпендикулярний діаметр вимірюється на тому ж зображенні. Перехрестя двовимірних вимірювань повинні перетинатися і розраховується добуток цих діаметрів.

45 [0091] Мінімальний діаметр: T1-зважене зображення, у якому зрізи становлять 5 мм із пропуском у 1 мм. Мінімальний LD вимірюваного ушкодження встановлюється як 5 мм на 5 мм. Великі діаметри можуть знадобитися для включення і/або позначення цільових ушкоджень. Після базового рівня цільові ушкодження, що стають менше, ніж мінімальна вимога для вимірювання, або більше не піддаються двовимірному вимірюванню, будуть записані як значення за замовчуванням 5 мм для кожного діаметра нижче 5 мм. Ушкодження, що зникають, буде записані як 0 мм на 0 мм.

50 [0092] Багатоцентрове ушкодження: Ушкодження, що вважаються багатоцентричними (на відміну від безперервних), є ушкодженнями, при яких між двома (або більшою кількістю) ушкодженнями знаходиться нормальна мозкова тканина. Для мультицентричних ушкоджень, що є дискретними вогнищами нагромадження, підходом є окреме вимірювання кожного ушкодження з нагромадженням контрасту, що відповідає критеріям включення. Якщо між двома (або більшою кількістю) ушкодженнями немає нормальної тканини головного мозку, то вони вважаються одним ураженням.

60 [0093] Невимірювані ушкодження: Всі ушкодження, що не відповідають критерію вимірюваних захворювань, як визначено вище, будуть вважатися невимірюваними

ушкодженнями, а також усі, що не нагромаджуючий контраст і інші дійсно невимірювані ураження. Невимірювані ураження включають вогнища нагромадження, що є менше зазначеного найменшого діаметра (тобто, менше 5 мм на 5 мм), ушкодження, які не нагромаджують контраст (наприклад, як видно на T1-зважених постконтрастних, T2-зважених зображеннях або на зображеннях, отриманих інверсією-відновленням з ослабленням сигналу від рідини [FLAIR]), геморагічні або переважно кістозні або некротичні ураження і лептоменінгіальну пухлину. Геморагічні ураження часто мають внутрішню T1-зважену гіперінтенсивність, що може бути невірно витлумачена як пухлина, що накопичує контраст, і з цієї причини, може бути оцінене передконтрастне T1-зважене зображення на виключення базового або інтервального підгострого крововиливу.

[0094] При базовій оцінці ураження будуть класифіковані в такий спосіб: Цільові ушкодження: до 5 вимірюваних ушкоджень можуть бути вибрані як цільові ушкодження, кожне розміром щонайменше 10 мм на 5 мм, характерних для хвороби індивіда; нецільові ушкодження: Всі інші ушкодження, у тому числі всі невимірювані ушкодження (у тому числі мас-ефекти і дані T2/FLAIR) і будь-яке вимірюване ушкодження, не вибране як цільове ушкодження. При базовій оцінці ушкодження повинні бути вимірювані, як описано у визначенні терміна вимірювані ушкодження і повинні бути визначені SPD усіх цільових ушкоджень. Наявність всіх інших ушкоджень повинні бути задокументовані. Під час всіх оцінок після лікування базова класифікація уражень, як цільових, так і нецільових уражень, буде зберігатися, і ураження будуть задокументовані й описані послідовно протягом часу (наприклад, записано в тому ж порядку, як у вихідних документах і eCRF). Усі вимірювані і невимірювані ураження повинні бути оцінені за допомогою того ж устаткування, що використовувалося при базовій оцінці (наприклад, індивіди повинні бути візуалізовані на тому самому сканері МРТ томографії або принаймні з такою ж силою магніту) протягом усього дослідження для зменшення труднощів інтерпретації змін. При кожній оцінці будуть вимірюватися цільові ушкодження і розраховуватися SPD. Нецільові ушкодження будуть якісно оцінюватися, а нові ураження, якщо такі виникнуть, будуть окремо задокументовані. При кожній оцінці буде визначена відповідь у часові точки для цільових уражень, нецільових уражень і нового ураження. Прогресування пухлини може бути встановлено, навіть якщо оцінюється тільки вибірка ушкоджень. Проте, якщо прогресування не спостерігається, то об'єктивний статус (стабілізація захворювання, PR або CR) може бути визначений, тільки якщо оцінюються всі ушкодження.

[0095] Оцінка для підтвердження усіх відповідей у часові точки CR і PR буде здійснена на наступній передбаченій стадії оцінки, але підтвердження може бути не зроблено, якщо сканування проведені з інтервалом <28 днів. Краща відповідь, що включає вимоги підтвердження, буде отримана із серії часових точок.

[0096] У визначених варіантах здійснення лікування злоякісної пухлини може бути оцінене по інгібуванню фосфорилювання S6RP, 4E-BP1, АКТ і/або ДНК-ПК у циркулюючій крові і/або пухлинних клітинах і/або шкірних біоптатах і/або пухлинних біоптатах/аспіратах перед, під час і/або після лікування інгібітором кінази TOR, наприклад, дигідропіразино-піразиновою сполукою. Наприклад, інгібування фосфорилювання S6RP, 4E BP1, АКТ і/або ДНК-ПК оцінюють у В-клітинах, Т-клітинах і/або в моноцитах.

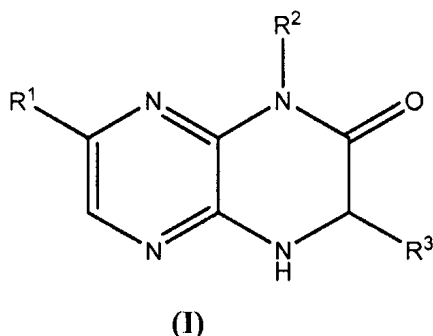
[0097] В інших варіантах здійснення лікування злоякісної пухлини може бути оцінене по інгібуванню активності ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-ПК) шкірних біоптатах і/або пухлинних біоптатах/аспіратах, наприклад, по оцінці кількості рДНК-ПК S2056 як біомаркера для шляхів ушкодження ДНК перед, під час і/або після лікування інгібітором кінази TOR, наприклад, дигідропіразино-піразиновою сполукою. В одному з варіантів здійснення шкірний зразок опромінюють УФ-світлом.

[0098] У крайньому випадку повне інгібування називається в даному документі як профілактика або хіміопрофілактика. У цьому контексті термін «профілактика» включає або профілактику виникнення клінічно видимої GBM, що відрізняється метилуванням MGMT, у цілому, або профілактику виникнення доклінічно видимої стадії GBM, що відрізняється метилуванням MGMT. Також зрозуміло, що це визначення включає профілактику трансформації в злоякісні клітини, або припинення або звертання прогресії переходу передзлойкісних клітин у злоякісні клітини. До нього належить профілактичне лікування ризику розвитку GBM, що відрізняється метилуванням MGMT.

5.2 Дигідропіразино-піразинові сполуки

[0099] Сполуки, запропоновані в даному документі, являють собою інгібітори кінази TOR, у загальному позначені як «дигідропіразино-піразинова(і) сполука(и)». В одному з аспектів інгібітори кінази TOR не включають рапаміцин або аналоги рапаміцину (рапалоги).

[00100] В одному з варіантів здійснення дигідропіразино-піразинові сполуки включають сполуки наступної формули (I):



5

і їх фармацевтично прийнятні солі, хлатрати, сольвати, стереоізомери, таутомери, пролікарські засоби, метаболіти і ізотопологи, де:

R¹ являє собою заміщений або незаміщений C₁₋₈ алкіл, заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений гетероцикліл, або заміщений або незаміщений гетероцикліалкіл;

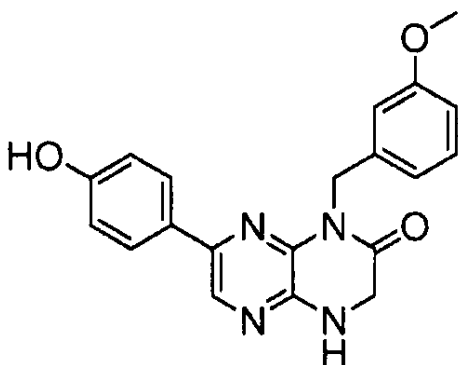
10

R² являє собою H, заміщений або незаміщений C₁₋₈ алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений гетероцикліл, заміщений або незаміщений гетероцикліалкіл, заміщений або незаміщений аралкіл, або заміщений або незаміщений циклоалкілалкіл;

15

R³ являє собою H або заміщений або незаміщений C₁₋₈ алкіл,

де у визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинові сполуки не включають 7-(4-гідроксифеніл)-1-(3-метоксибензил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он, зображений нижче:



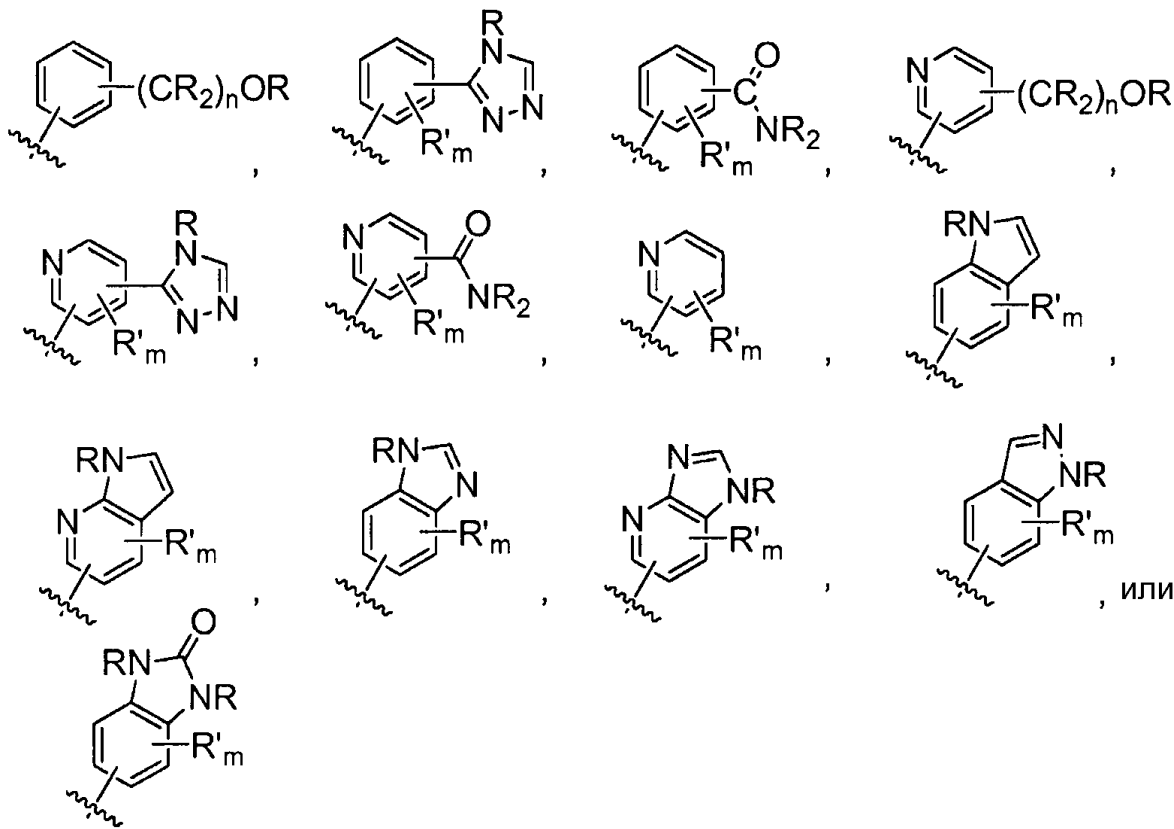
20

[00101] У визначених варіантах здійснення сполук формули (I) R¹ являє собою заміщений або незаміщений арил або заміщений або незаміщений гетероарил. Наприклад, R¹ являє собою феніл, піридил, піримідил, бензімідазоліл, 1H-піроло[2,3-b]піридил, індазоліл, індоліл, 1H-імідазо[4,5-b]піридил, 1H-імідазо[4,5-b]піридин-2(3H)-оніл, 3H-імідазо[4,5-b]піридил або піразоліл, кожен необов'язково заміщений. У визначених варіантах здійснення R¹ являє собою феніл, заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C₁₋₈ алкілу (наприклад, метилу), заміщеного або незаміщеного гетероциклілу (наприклад, заміщений або незаміщений триазоліл або піразоліл), амінокарбонілу, галогену (наприклад, фтор), ціано, гідроксіалкілу і гідрокси. В інших варіантах здійснення R¹ являє собою піридил, заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C₁₋₈ алкілу (наприклад, метилу), заміщеного або незаміщеного гетероциклілу (наприклад, заміщений або незаміщений триазоліл), галогену, амінокарбонілу, ціано, гідроксіалкілу (наприклад, гідроксипропіл), -OR і -NR₂, де кожен R незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл. У

35

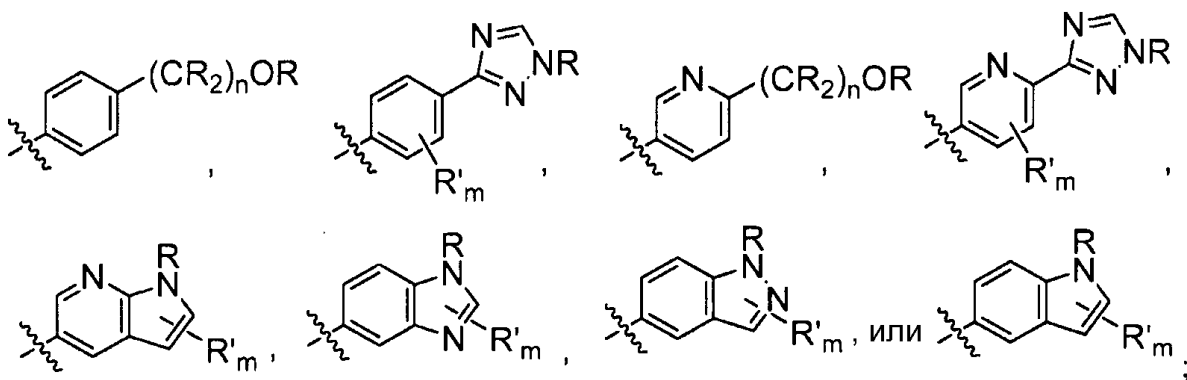
визначених варіантах здійснення R^1 являє собою 1H-піроло[2,3-b]піридил або бензімідазоліл, необов'язково заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C_{1-8} алкілу, і NR_2 , де R незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C_{1-4} алкіл.

5 [00102] У визначених варіантах здійснення R¹ являє собою
або



де R у кожному випадку незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл (наприклад, метил); R' у кожному випадку незалежно являє собою заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл (наприклад, метил), галоген (наприклад, фтор), ціано, -OR або NR₂; m дорівнює 0-3; і n дорівнює 0-3. Фахівцям у даній галузі буде зрозуміло, що будь-який із замісників R' може бути приєднаний до будь-якого придатного атома біля будь-якого кільця в конденсованих циклічних системах.

15 [00103] У визначених варіантах здійснення сполук формули (I) R¹ являє собою
Або

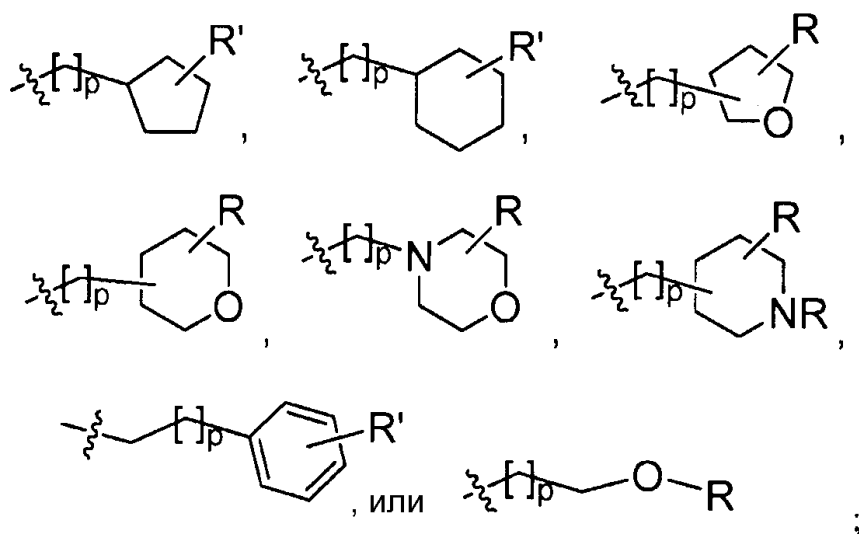


де R у кожному випадку незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл; R' у кожному випадку незалежно являє собою заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл, галоген, ціано, -OR або -NR₂; m дорівнює 0-3; i n дорівнює 0-3.

[00104] У визначених варіантах здійснення сполук формули (I) R² являє собою H, заміщений або незаміщений C₁₋₈ алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений гетероцикліл, заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл-гетероцикліл, заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл-арил, або заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл-циклоалкіл. Наприклад, R² являє собою H, метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, сек-бутил, ізобутил, трет-бутил, н-пентил, ізопентил, циклопентил, циклогексил, тетрагідрофураніл, тетрагідропіраніл, (C₁₋₄ алкіл)-феніл, (C₁₋₄ алкіл)циклопропіл, (C₁₋₄ алкіл) циклобутил, (C₁₋₄ алкіл)циклопентил, (C₁₋₄ алкіл)циклогексил, (C₁₋₄ алкіл)піролідил, (C₁₋₄ алкіл)піперидил, (C₁₋₄ алкіл)піперазиніл, (C₁₋₄ алкіл)морфолініл, (C₁₋₄ алкіл)тетрагідрофураніл, або (C₁₋₄ алкіл)тетрагідропіраніл, кожен необов'язково заміщений.

[00105] В інших варіантах здійснення R² являє собою H, C₁₋₄ алкіл, (C₁₋₄ алкіл)(OR),

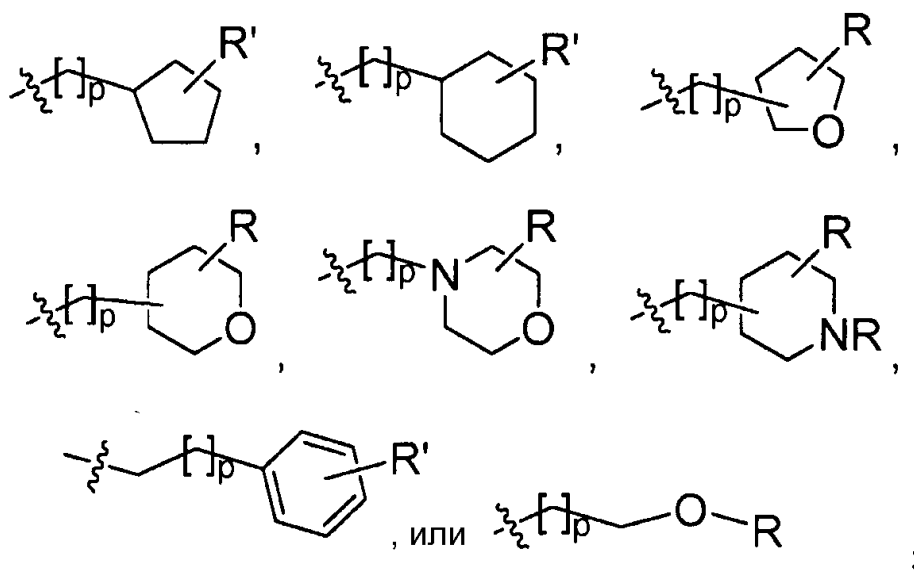
Або



де R у кожному випадку незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл (наприклад, метил); R' у кожному випадку незалежно являє собою H, OR, ціано або заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл (наприклад, метил); i p дорівнює 0-3.

[00106] В інших варіантах здійснення сполук формули (I) R² являє собою H, C₁₋₄ алкіл, (C₁₋₄ алкіл)(OR),

Або



де R у кожному випадку незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C_{1-2} алкіл; R' у кожному випадку незалежно являє собою H, -OR, ціано або заміщений або незаміщений C_{1-2} алкіл; і p дорівнює 0-1.

[00107] В інших варіантах здійснення сполук формули (I), R^3 являє собою H.

[00108] У деяких таких варіантах здійснення, описаних у даному документі, R^1 являє собою заміщений або незаміщений арил, або заміщений або незаміщений гетероарил. Наприклад, R^1 являє собою феніл, піридил, піримідил, бензімідазоліл, 1H-піроло[2,3-b]піридил, індазоліл, індоліл, 1H-імідазо[4,5-b]піридин, піридил, 1H-імідазо[4,5-b]піридин-2(3H)-оніл, 3H-імідазо[4,5-b]піридил або піразоліл, кожен необов'язково заміщений. У визначених варіантах здійснення R^1 являє собою феніл, заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C_{1-8} алкілу, заміщеного або незаміщеного гетероциклілу, амінокарбонілу, галогену, ціано, гідроксіалкілу і гідрокси. В інших випадках R^1 являє собою піридил, заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із C_{1-8} алкілу, заміщеного або незаміщеного гетероциклілу, галогену, амінокарбонілу, ціано, гідроксіалкілу, -OR і -NR₂, де кожен R незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C_{1-4} алкіл. У ще інших випадках R^1 являє собою 1H-піроло[2,3-b]піридил або бензімідазоліл, необов'язково заміщені одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C_{1-8} алкілу, і -NR₂, де R незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C_{1-4} алкіл.

[00109] В одному з варіантів здійснення сполук формули (I) R^1 являє собою феніл, піридил, піримідил, бензімідазоліл, 1H-піроло[2,3-b]піридил, індазоліл або індоліл, кожен необов'язково заміщений. У деяких таких варіантах здійснення R^1 являє собою феніл, заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C_{1-8} алкілу, заміщеного або незаміщеного гетероциклілу (наприклад, заміщений або незаміщений триазоліл) або галогену. У деяких інших таких варіантах здійснення R^1 являє собою піридил, заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C_{1-8} алкілу, заміщеного або незаміщеного гетероциклілу (наприклад, заміщений або незаміщений триазоліл), галогену, амінокарбонілу, гідроксіалкілу, -OR і -NR₂, де кожен R незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C_{1-4} алкіл. У деяких таких інших варіантах здійснення R^1 являє собою 1H-піроло[2,3-b]піридил або бензімідазоліл, необов'язково заміщені одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C_{1-8} алкілу, і NR₂, де R незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений C_{1-4} алкіл.

[00110] У визначених варіантах здійснення сполук формули (I) R^2 являє собою H, заміщений або незаміщений C_{1-8} алкіл, заміщений або незаміщений циклоалкіл, заміщений або незаміщений C_{1-4} алкіл-гетероцикліл, заміщений або незаміщений C_{1-4} алкіл-арил, або заміщений або незаміщений C_{1-4} алкіл-циклоалкіл. У деяких таких варіантах здійснення R^2

являє собою Н, метил, етил, ізопропіл, циклогексил, (C₁₋₄ алкіл)феніл, (C₁₋₄ алкіл)циклогексил (або (C₁₋₄ алкіл)тетрагідропіраніл, кожен необов'язково заміщений.

[00111] У деяких таких варіантах здійснення R², R¹ являє собою феніл, піридил, піримідил, бензімідазоліл, 1Н-піроло[2,3-*b*]піридил, індазоліл або індоліл, кожен необов'язково заміщений. Наприклад, R¹ являє собою феніл, заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C₁₋₈ алкілу, заміщеного або незаміщеного гетероциклілу (наприклад, заміщений або незаміщений триазоліл) або галогену. У деяких таких варіантах здійснення R¹ являє собою піридил, заміщений одним або декількома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається із заміщеного або незаміщеного C₁₋₈ алкілу, заміщеного або незаміщеного гетероциклілу (наприклад, заміщений або незаміщений триазоліл), галогену, амінокарбонілу, гідроксіалкілу, -OR і -NR₂, де кожен R незалежно являє собою Н або заміщений або незаміщений C₁₋₄ алкіл.

[00112] У визначених варіантах здійснення сполуки формули (I) мають групу R¹, зазначену в даному документі, і групу R², зазначену в даному документі.

[00113] У визначених варіантах здійснення сполук формули (I) сполука інгібує кіназу TOR. В інших варіантах здійснення сполук формули (I) сполука інгібує ДНК-РК. У визначених варіантах здійснення сполук формули (I) сполука інгібує як кіназу TOR, так і ДНК-РК.

[00114] У визначених варіантах здійснення сполук формули (I), сполука при концентрації 10 мкМ інгібує кіназу TOR, ДНК-РК, РІЗК або їхнє сполучення щонайменше приблизно на 50%. Може бути показано, що сполуки формули (I) є інгібіторами кінази, у зазначеній вище придатній системі аналізу.

[00115] Характерні дигідропіразино-піразинові сполуки формули (I) включають:

7-(5-фтор-2-метил-4-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(цис-4-метоксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

1-етил-7-(1Н-піроло[3,2-*b*]піридин-5-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(1Н-бензо[*d*]імідазол-4-іл)-1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-4-іл)-1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-((транс-4-гідроксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(цис-4-гідроксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(цис-4-гідроксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(тетрагідро-2Н-піран-4-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-етил-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-((цис-4-гідроксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(тетрагідро-2Н-піран-4-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(1Н-індол-4-іл)-1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-((транс-4-гідроксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

7-(6-(1Н-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-((цис-4-гідроксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-*b*]піразин-2(1Н)-он;

- 7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(транс-4-гідроксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 5 7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-ізопропіл-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(транс-4-гідроксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 10 7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-ізопропіл-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 15 1-етил-7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(2-гідроксипіридин-4-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-ізопропіл-7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 20 5-(8-ізопропіл-7-оксо-5,6,7,8-тетрагідропіразино[2,3-b]піразин-2-іл)-4-метилпіколінамід;
 7-(1H-індазол-4-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(2-амінопіримідин-5-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 25 7-(2-амінопіридин-4-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(6-(метиламіно)піридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 30 7-(6-гідроксипіридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(4-(1H-піразол-3-іл)феніл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(піридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 35 7-(1H-індазол-4-іл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(1H-індазол-6-іл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(піримідин-5-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(6-метоксипіридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 40 1-(2-метоксіетил)-7-(1H-піроло[2,3-b]піридин-5-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-етил-7-(1H-піроло[2,3-b]піридин-5-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-етил-7-(1H-індазол-4-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(піридин-4-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 45 7-(6-амінопіридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-метил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 2-(2-гідроксипропан-2-іл)-5-(8-(транс-4-метоксициклогексил)-7-оксо-5,6,7,8-тетрагідропіразино[2,3-b]піразин-2-іл)піридин 1-оксид;
 4-метил-5-(7-оксо-8-((тетрагідро-2H-піран-4-іл)метил)-5,6,7,8-тетрагідропіразино[2,3-b]піразин-2-іл)піколінамід;
 5-(8-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-7-оксо-5,6,7,8-тетрагідропіразино[2,3-b]піразин-2-іл)-4-метилпіколінамід;
 55 7-(1H-піразол-4-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-(транс-4-метоксициклогексил)-7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

- 3-((7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-2-оксо-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-1(2H)-іл)метил)бензонітрил;
 1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 5 3-(7-оксо-8-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-5,6,7,8-тетрагідропіразино[2,3-b]піразин-2-іл)бензамід;
 5-(8-(транс-4-метоксициклогексил)метил)-7-оксо-5,6,7,8-тетрагідропіразино[2,3-b]піразин-2-іл)-4-метилпіколінамід;
 3-((7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-2-оксо-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-1(2H)-іл)метил)бензонітрил;
 10 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((1R,3R)-3-метоксициклопентил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((1S,3R)-3-метоксициклопентил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 15 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((1S,3S)-3-метоксициклопентил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((1R,3S)-3-метоксициклопентил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(1H-індазол-6-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 20 7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(2-морфоліноетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-(транс-4-гідроксициклогексил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 25 1-(цис-4-гідроксициклогексил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-(2-морфоліноетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-ізопропіл-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 30 7-(1H-імідазо[4,5-b]піридин-6-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 35 1-(транс-4-гідроксициклогексил)-7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-(цис-4-гідроксициклогексил)-7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 4-(7-оксо-8-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-5,6,7,8-тетрагідропіразино[2,3-b]піразин-2-іл)бензамід;
 40 7-(1H-індазол-5-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(1H-піроло[2,3-b]піридин-5-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 45 7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-((1S,3R)-3-метоксициклопентил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-((1R,3R)-3-метоксициклопентил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 50 1-((1R,3S)-3-метоксициклопентил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-((1S,3S)-3-метоксициклопентил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 55 7-(1H-індол-5-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 1-етил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 7-(1H-індол-6-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
 60 он;

- 7-(4-(2-гідроксипропан-2-іл)феніл)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 5 1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 1 1-(2-метоксіетил)-7-(4-метил-2-(метиламіно)-1H-бензо[d]імідазол-6-іл)-3,4-
- 10 дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(7-метил-2-оксо-2,3-дигідро-1H-бензо[d]імідазол-5-іл)-1-((тетрагідро-2H-піран-4-іл)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 1 1-(2-метоксіетил)-7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 15 1-бензил-7-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(3-фтор-4-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 20 7-(3-фтор-4-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(3-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 1-(транс-4-метоксициклогексил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-
- 25 дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(5-фтор-2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 30 7-(3-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 1-(2-метоксіетил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-
- 35 дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 1-(циклопентилметил)-7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(4-(2-гідроксипропан-2-іл)феніл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 40 (S)-7-(6-(1-гідроксіетил)піридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- (R)-7-(6-(1-гідроксіетил)піридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-((тетрагідро-2H-піран-4-іл)метил)-3,4-
- 45 дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(4-(2-гідроксипропан-2-іл)феніл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-(4-(трифторметил)бензил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 50 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-(3-(трифторметил)бензил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-(3-метоксипропіл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-
- 55 дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-(2-метоксіетил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((тетрагідро-2H-піран-4-іл)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

7-(4-метил-2-(метиламіно)-1H-бензо[d]імідазол-6-іл)-1-((тетрагідро-2H-піран-4-іл)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

7-(2-аміно-4-метил-1H-бензо[d]імідазол-6-іл)-1-((тетрагідро-2H-піран-4-іл)метил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

5 7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

(R)-7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-3-метил-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

10 (S)-7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-3-метил-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-3,3-диметил-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

7-(2-аміно-4-метил-1H-бензо[d]імідазол-6-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

15 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

7-(2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

20 7-(4-(1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)-1-(2-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он;

1-(1-гідроксипропан-2-іл)-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он; і

1-(2-гідроксіетил)-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он,

25 і їх фармацевтично прийнятні солі, хлатрати, сольвати, стереоізомери, таутомери, пролікарські засоби, метаболіти і ізотопологи.

5.3 Способи одержання дигідропіразино-піразинових сполук

[00116] Дигідропіразино-піразинові сполуки можуть бути отримані стандартними, добре відомими способами синтезу, [див. наприклад, March, J. Advanced Organic Chemistry; Reactions Mechanisms, and Structure, 4-е видання, 1992.] Вихідні речовини, що можуть використовуватися для одержання сполук формули (I) і проміжних речовин, таким чином, комерційно доступні або можуть бути отримані з комерційно доступних речовин, використовуючи синтетичні способи і реагенти.

35 [00117] Конкретні способи одержання сполук формули (I) описані в патенті США № 8110578, виданому 7 лютого 2012 року, і в патенті США № 8569494, виданому 29 жовтня 2013 року, кожний повністю включений у даний документ як посилання.

5.4 Способи застосування

[00118] У даному описі представлені способи лікування або профілактики мультиформної гліобластоми (GBM), яка відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки пацієнту, що страждає на GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять пацієнту, що має локально розповсюджену, рецидивуючу або метастатичну GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що не піддається існуючим методам хірургічного видалення. В іншому варіанті здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять пацієнту з GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, у якого був рецидив щонайменше один раз до початку хіміотерапії, наприклад, темозоломідом. У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять пацієнту, що страждає на GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору і що демонструє надекспресію ДНК-РК.

[00119] У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять пацієнту з GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору.

55 [00120] У деяких таких варіантах здійснення промотор MGMT є гіпометильованим. В інших білок MGMT є експресованим.

[00121] У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені способи оцінки відповіді для робочої групи з нейро-онкології (RANO) для випадку повної відповіді, часткової відповіді на лікування мультиформної гліобластоми або для випадку стабільного захворювання в пацієнта з мультиформною гліобластою, що відрізняється експресією MGMT і/або статусом

метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки зазначеному пацієнту.

[00122] В одному з варіантів здійснення в даному описі представлені способи інгібування фосфорилювання S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у пацієнта з мультиформною гліобластомою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки зазначеному пацієнту. У деяких таких варіантах здійснення інгібування фосфорилювання оцінюють у біологічному зразку пацієнта, наприклад, у циркулюючій крові і/або пухлинних клітинах, шкірних біоптатах і/або пухлинних біоптатах або аспіраті. У таких варіантах здійснення ступінь інгібування фосфорилювання оцінюють шляхом порівняння кількості фосфо-S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ перед і після введення дигідропіразино-піразинової сполуки. У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені способи вимірювання інгібування фосфорилювання S6RP, 4E-BP1 або АКТ у пацієнта з мультиформною гліобластомою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки зазначеному пацієнту, вимірювання кількості фосфорилюваного S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у зазначеного пацієнта, і порівняння зазначеної кількості фосфорилюваного S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ з кількістю у зазначеного пацієнта до введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки.

[00123] У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені способи інгібування фосфорилювання S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у біологічному зразку пацієнта з мультиформною гліобластомою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки зазначеному пацієнту і порівняння кількості фосфорилюваного S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у біологічному зразку пацієнта, отриманого перед і після введення зазначеної дигідропіразино-піразинової сполуки, де менша кількість фосфорилюваних S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у зазначеному біологічному зразку, отриманому після введення зазначеної дигідропіразино-піразинової сполуки, порівняно з кількістю фосфорилюваних S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у зазначеному біологічному зразку, отриманому перед введенням зазначеної дигідропіразино-піразинової сполуки, указує на інгібування.

[00124] В одному з варіантів здійснення в даному описі представлені способи інгібування активності ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-РК) у пацієнта з мультиформною гліобластомою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки зазначеному пацієнту з GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. У визначених варіантах здійснення інгібування ДНК-РК оцінюють на шкірі пацієнта з мультиформною гліобластомою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, в одному з прикладів, в УФ-опроміненному шкірному зразку зазначеного пацієнта. В іншому варіанті здійснення інгібування ДНК-РК оцінюють у пухлинній біопсії або в аспіраті пацієнта з мультиформною гліобластомою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. В одному з варіантів здійснення інгібування оцінюють по вимірюванні кількості фосфорилюваної S2056 ДНК-РК (також відома як S2056 pDNA-PK) перед і після введення дигідропіразино-піразинової сполуки. У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені способи вимірювання інгібування фосфорилювання ДНК-РК S2056 у шкірному зразку пацієнта з мультиформною гліобластомою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки зазначеному пацієнту, вимірювання кількості фосфорилюваної ДНК-РК S2056, що присутні у шкірному зразку, і порівняння зазначеної кількості фосфорилюваної ДНК-РК S2056 з кількістю в шкірному зразку зазначеного пацієнта перед введенням ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки. В одному з варіантів здійснення шкірний зразок опромінюють УФ-світлом.

[00125] У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені способи інгібування активності ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-РК) у шкірному зразку пацієнта з мультиформною гліобластомою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення ефективної кількості дигідропіразино-піразинової сполуки зазначеному пацієнту і порівняння кількості фосфорилюваної ДНК-РК у біологічному зразку пацієнта, отриманому перед і після введення зазначеної дигідропіразино-піразинової сполуки, де зменшена кількість фосфорилюваної ДНК-РК у зазначеному біологічному зразку, отриманому після введення зазначеної дигідропіразино-піразинової сполуки порівняно з кількістю фосфорилюваної ДНК-РК у зазначеному біологічному зразку, отриманому перед введенням зазначеної дигідропіразино-піразинової сполуки, вказує на інгібування.

[00126] У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинова сполука являє собою сполуку, як описано в даному документі. В одному з варіантів здійснення дигідропіразино-піразинова сполука являє собою Сполуку 1 (дигідропіразино-піразинова сполука, зазначена в даному документі, що має молекулярну формулу $C_{16}H_{16}N_8O$). В одному з варіантів здійснення дигідропіразино-піразинова сполука являє собою Сполуку 2 (дигідропіразино-піразинова сполука, зазначена в даному документі, що має молекулярну формулу $C_{21}H_{27}N_5O_3$). В одному з варіантів здійснення дигідропіразино-піразинова сполука являє собою Сполуку 3 (дигідропіразино-піразинова сполука, зазначена в даному документі, що має молекулярну формулу $C_{20}H_{25}N_5O_3$). В одному з варіантів здійснення Сполука 1 являє собою 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он, або його таутомер, наприклад, 1-етил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он, або 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-5-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он. В одному з варіантів здійснення Сполука 2 являє собою 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((1r,4r)-4-метоксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он, позначений інакше як 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((транс)-4-метоксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он або 7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-1-((1R*,4R*)-4-метоксициклогексил)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он. В іншому варіанті здійснення Сполука 3 являє собою 1-((транс)-4-гідроксициклогексил)-7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он, позначений інакше як 1-((1r,4r)-4-гідроксициклогексил)-7-(6-(2-гідроксипропан-2-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он. В одному з варіантів здійснення Сполука 3 являє собою метаболіт Сполуки 2.

[00127] Дигідропіразино-піразинову сполуку можна комбінувати з променевою терапією або хірургією. У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять пацієнту, що одержує променевою терапію, що раніше одержував променевою терапію або буде одержувати променевою терапію. У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять пацієнту після видалення GBM хірургічним шляхом.

[00128] Також у даному описі представлені способи лікування пацієнта, у якого раніше проводилося лікування мультиформної гліобластоми, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, але який не відповідав на стандартні способи терапії, наприклад, темозоломід, а також у пацієнтів, що раніше не одержували лікування. Крім того, у даному описі представлені способи лікування пацієнтів, у яких була проведена операція в спробі лікування розглянутого стану, а також пацієнтів, у яких вона не була проведена. Оскільки пацієнти з мультиформною гліобластою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, можуть мати різні клінічні прояви і різні клінічні результати, то лікування, проведене в пацієнта, може відрізнятися залежно від прогнозу пацієнта. Фахівець у даній галузі легко і зайвого експериментування визначить специфічні вторинні засоби, види хірургії і типи стандартної терапії, основаної на нелікарських засобах, що можуть ефективно використовуватися для лікування конкретного пацієнта з мультиформною гліобластою, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. У визначених варіантах здійснення способи, описувані в даному документі, додатково включають введення темозоломід. У деяких таких варіантах здійснення, мультиформна гліобластома є стійкою до дії темозоломід.

[00129] В одному з варіантів здійснення мультиформна гліобластома, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, є гліобластою, при якій активований шлях PI3K/mTOR. У визначених варіантах здійснення мультиформна гліобластома, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, є гліобластою, при якій активований шлях PI3K/mTOR у результаті мутації ERBB2, мутації або делеції PTEN, мутації або делеції NF1, мутації PIK3Ca, мутації або надекспресії EGFR, ампліфікації Met, активації або ампліфікації PDGFRa, ампліфікації AKT або їхнього сполучення. В одному з варіантів здійснення мутація EGFR являє собою мутацію EGFRviii.

5.5 Фармацевтичні композиції і шляхи введення

[00130] У даному описі представлені композиції, що містять ефективну кількість дигідропіразино-піразинової сполуки, і композиції, що містять ефективну кількість дигідропіразино-піразинової сполуки і фармацевтично прийнятний носій або розріджувач. У визначених варіантах здійснення фармацевтичні композиції, описувані в даному документі, підходять для перорального, парентерального, черезслизового, черезшкірного введення або місцевого застосування.

[00131] Дигідропіразино-піразинові сполуки можна вводити пацієнту перорально або парентерально в загальноприйнятій препаративній формі, такій як, капсули, мікрокапсули,

таблетки, гранули, порошки, пастилки, пігулки, супозиторії, ін'єкції, суспензії і сиропи. Придатні склади можуть бути отримані звичайно використовуваними способами, використовуючи загальноприйняті органічні або неорганічні добавки, такі як ексципієнт (наприклад, сахароза, крохмаль, маніт, сорбіт, лактоза, глюкоза, целюлоза, тальк, фосфат кальцію або карбонат кальцію), зв'язувальний засіб (наприклад, целюлоза, метилцелюлоза, гідроксиметилцелюлоза, поліпропілпіролідон, полівінілпіролідон, желатин, гуміарабік, поліетиленгліколь, сахароза або крохмаль), дезінтегруючий засіб (наприклад, крохмаль, карбоксиметилцелюлоза, гідроксипропілкрохмаль, низькозаміщена гідроксипропілцелюлоза, бікарбонат натрію, фосфат кальцію або цитрат кальцію), мастильний засіб (наприклад, стеарат магнію, слабка безводна кремнієва кислота, тальк або лаурилсульфат натрію), ароматизатор (наприклад, лимонна кислота, ментол, гліцин або апельсиновий порошок), консервант (наприклад, бензоат натрію, бісульфіт натрію, метилпарабен або пропілпарабен), стабілізатор (наприклад, лимонна кислота, цитрат натрію або оцтова кислота), суспендуючий засіб (наприклад, метилцелюлоза, полівінілпіролідон або стеарат алюмінію), диспергуючий засіб (наприклад, гідроксипропілметилцелюлоза), розріджувач (наприклад, вода) і базисний віск (наприклад, олія какао, медичний вазелін або поліетиленгліколь). Ефективна кількість дигідропіразино-піразинової сполуки у фармацевтичній композиції може мати рівень, що буде реалізувати бажаний ефект; наприклад, приблизно 0,005 мг/кг від маси тіла пацієнта до приблизно 10 мг/кг маси тіла пацієнта в одиницях дозування для перорального і для парентерального введення.

[00132] Доза дигідропіразино-піразинової сполуки для введення пацієнту досить широко варіює і може регулюватися відповідно до думки практикуючого лікаря. У цілому, дигідропіразино-піразинової сполуки можна вводити пацієнту від одного до чотирьох разів у добу в дозі, що дорівнює приблизно від 0,005 мг/кг маси тіла пацієнта до приблизно 10 мг/кг маси тіла пацієнта, але вище зазначені дози можуть бути придатним чином змінені залежно від віку, маси тіла і загального стану здоров'я пацієнта і від шляху введення. В одному з варіантів здійснення доза дорівнює від приблизно 0,01 мг/кг маси тіла пацієнта до приблизно 5 мг/кг маси тіла пацієнта, від приблизно 0,05 мг/кг маси тіла пацієнта до приблизно 1 мг/кг маси тіла пацієнта, від приблизно 0,1 мг/кг маси тіла пацієнта до приблизно 0,75 мг/кг маси тіла пацієнта, від приблизно 0,25 мг/кг маси тіла пацієнта до приблизно 0,5 мг/кг маси тіла пацієнта, або від приблизно 0,007 мг/кг маси тіла пацієнта до приблизно 1,7 мг/кг маси тіла пацієнта. В одному з варіантів здійснення одна доза приймається один раз у добу. В іншому варіанті здійснення дві дози приймаються протягом доби. У будь-якому випадку, кількість дигідропіразино-піразинової сполуки, що вводиться, буде залежати від таких факторів, як розчинність активного компонента, використовуваного складу і шляху введення.

[00133] В іншому варіанті здійснення в даному описі представлені способи лікування або профілактики мультиформної гліобластоми, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення від приблизно 0,375 мг/доба до приблизно 750 мг/доба, від приблизно 0,75 мг/доба до приблизно 375 мг/доба, від приблизно 3,75 мг/доба до приблизно 75 мг/доба, від приблизно 7,5 мг/доба до приблизно 55 мг/доба, від приблизно 18 мг/доба до приблизно 37 мг/доба, від приблизно 0,5 мг/доба до приблизно 60 мг/доба, або від приблизно 0,5 мг/доба до приблизно 128 мг/доба дигідропіразино-піразинової сполуки, пацієнту, який потребує цього. В іншому варіанті здійснення в даному описі представлені способи лікування або профілактики мультиформної гліобластоми, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, що включають введення від приблизно 0,5 мг/доба до приблизно 1200 мг/доба, від приблизно 10 мг/доба до приблизно 1200 мг/доба, від приблизно 100 мг/доба до приблизно 1200 мг/доба, від приблизно 400 мг/доба до приблизно 1200 мг/доба, від приблизно 600 мг/доба до приблизно 1200 мг/доба, від приблизно 400 мг/доба до приблизно 800 мг/доба від приблизно 600 мг/доба до приблизно 800 мг/доба дигідропіразино-піразинової сполуки, пацієнту, який потребує цього. У конкретному варіанті здійснення способи, описувані в даному документі, включають введення 0,5 мг/доба, 1 мг/доба, 2 мг/доба, 4 мг/доба, 8 мг/доба, 10 мг/доба, 15 мг/доба, 16 мг/доба, 20 мг/доба, 25 мг/доба, 30 мг/доба, 45 мг/доба, 60 мг/доба, 90 мг/доба, 120 мг/доба або 128 мг/доба дигідропіразино-піразинової сполуки, пацієнту, який потребує цього.

[00134] В іншому варіанті здійснення в даному описі представлені стандартні лікарські складки, що містять від приблизно 0,1 мг до приблизно 2000 мг, приблизно від 1 мг до 200 мг, від приблизно 35 мг до приблизно 1400 мг, від приблизно 125 мг до приблизно 1000 мг, від приблизно 250 мг до приблизно 1000 мг або від приблизно 500 мг до приблизно 1000 мг дигідропіразино-піразинової сполуки.

[00135] У конкретному варіанті здійснення в даному описі представлені стандартні лікарські складки, що містять приблизно 0,1 мг, 0,25 мг, 0,5 мг, 1 мг, 2,5 мг, 5 мг, 7,5 мг, 10 мг, 15 мг, 20 мг,

30 мг, 35 мг, 45 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг, 75 мг, 100 мг, 125 мг, 140 мг, 150 мг, 175 мг, 200 мг, 250 мг, 280 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 500 мг, 560 мг, 600 мг, 700 мг, 750 мг, 800 мг, 1000 мг або 1400 мг дигідропіразино-піразинової сполуки. У конкретному варіанті здійснення в даному описі представлені стандартні лікарські складки, що містять 2,5 мг, 5 мг, 7,5 мг, 8 мг, 10 мг, 15 мг, 20 мг, 30 мг, 45 мг, 50 мг, 60 мг або 100 мг дигідропіразино-піразинової сполуки. У конкретному варіанті здійснення в даному описі представлені стандартні лікарські складки, що містять 5 мг, 7,5 мг або 10 мг дигідропіразино-піразинової сполуки.

[00136] Дигідропіразино-піразинову сполуку можна вводити один, два, три, чотири або більше разів у добу.

[00137] У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять пацієнту циклічно. Циклічна терапія включає введення активного засобу протягом деякого періоду часу, після чого йде спокій протягом деякого періоду часу і повторення цього послідовного введення. Циклічна терапія може знижувати розвиток резистентності, при ній можуть бути відсутніми або знижуватися побічні ефекти, і/або циклічна терапія може поліпшувати ефективність лікування.

[00138] В одному з варіантів здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять щодоби в одній або дробних дозах протягом приблизно 3 днів, приблизно 5 днів, приблизно один тиждень, приблизно два тижні, приблизно три тижні, приблизно чотири тижні (наприклад, 28 днів), приблизно п'ять тижнів, приблизно шість тижнів, приблизно сім тижнів, приблизно вісім тижнів, приблизно десять тижнів, приблизно п'ятнадцять тижнів або приблизно двадцять тижнів, після чого слідує період відпочинку протягом від приблизно 1 дня до приблизно десяти тижнів. В одному з варіантів здійснення способи, запропоновані в даному документі, припускають циклічне лікування протягом приблизно одного тижня, приблизно двох тижнів, приблизно трьох тижнів, приблизно чотирьох тижнів, приблизно п'яти тижнів, приблизно шести тижнів, приблизно восьми тижнів, приблизно десяти тижнів, приблизно п'ятнадцяти тижнів або приблизно двадцяти тижнів. У визначених варіантах здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку вводять однією або дробними дозами протягом приблизно 3 днів, приблизно 5 днів, приблизно один тиждень, приблизно два тижні, приблизно три тижні, приблизно чотири тижні (наприклад, 28 днів), приблизно п'ять тижнів або приблизно шість тижнів із періодом спокою приблизно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 29 або 30 днів. У визначених варіантах здійснення період спокою становить 1 день. У визначених варіантах здійснення період спокою становить 3 дні. У визначених варіантах здійснення період спокою становить 7 днів. У визначених варіантах здійснення період спокою становить 14 днів. У визначених варіантах здійснення період спокою становить 28 днів. Частота, число і тривалість циклів дозування може бути збільшена або зменшена.

[00139] Дигідропіразино-піразинову сполуку можна вводити перорально з розумінням зручності. В одному з варіантів здійснення при пероральному введенні дигідропіразино-піразинову сполуку вводять разом з їжею або водою. В іншому варіанті здійснення дигідропіразино-піразинову сполуку диспергують у воді або соку (наприклад, яблучному соку або апельсиновому соку) і вводять перорально у вигляді суспензії. В іншому варіанті здійснення при пероральному введенні дигідропіразино-піразинову сполуку вводять на голодний шлунок.

[00140] Дигідропіразино-піразинову сполуку також можна вводити внутрішньошкірно, внутрішньом'язово, внутрішньочеревинно, підшкірно, внутрішньовенно, підшкірно, інтраназально, епідурально, під'язиково, внутрішньочеребрально, інтравагінально, трансдермально, ректально, через слизову, шляхом інгаляції або місцево у вуха, ніс, очі або на шкіру. Спосіб введення залишається на розсуд практикуючого лікаря і може залежати почасти від місця розташування патологічного стану.

[00141] В одному з варіантів здійснення в даному описі представлені капсули, що містять дигідропіразино-піразинову сполуку без додаткового носія, ексципієнта або розріджувача.

[00142] В іншому варіанті здійснення в даному описі представлені композиції, що містять ефективну кількість дигідропіразино-піразинової сполуки і фармацевтично прийнятний носій або розріджувач, де фармацевтично прийнятний носій або розріджувач може містити ексципієнт, розчинник або їхню суміш. В одному з варіантів здійснення композиція являє собою фармацевтичну композицію.

[00143] Композиції може бути у формі таблеток, жувальних таблеток, капсул, розчинів, парентеральних розчинів, пастилок, супозиторіїв і суспензій тощо. Рецептuru композиції може бути складена так, щоб містити добову дозу, або зручну частину від добової дози в одиниці дозування, що може бути одиничною таблеткою або капсулою, або зручним об'ємом рідини. В одному з варіантів здійснення розчини одержують із водорозчинних солей, таких як гідрохлоридна сіль. У цілому, усі композиції одержують відповідно до відомих способів

фармацевтичної хімії. Капсули можуть бути отримані шляхом змішування дигідропіразино-піразинової сполуки з придатним носієм або розріджувачем, і наповненням капсул відповідною кількістю суміші. Звичайні носії і розріджувачі включають, але ними не обмежуються, інертні порошкові речовини, такі як крохмаль різних видів, порошкову целюлозу, особливо кристалічну і мікрокристалічну целюлозу, цукор, такий як фруктоза, маніт і сахароза, борошно зернових культур тонкого помелу і подібні їстівні порошки.

[00144] Таблетки можуть бути отримані шляхом прямого пресування, шляхом вологого гранулювання або шляхом сухого гранулювання. Їхні склади, як правило, включають розріджувачі, зв'язувальні засоби, мастильні засоби і дезінтегруючі засоби, на додаток до сполуки. Звичайні розріджувачі включають, наприклад, різні види крохмалю, лактози, маніту, каоліну, фосфату або сульфат кальцію, неорганічні солі, такі як хлорид натрію і порошковий цукор. Також можна використовуватися порошкові похідні целюлози. В одному з варіантів здійснення фармацевтична композиція не містить лактозу. Звичайні зв'язувальні засоби таблеток являють собою речовини, такі як крохмаль, желатин і цукри, такі як лактоза, фруктоза, глюкоза тощо. Також підходять природні і синтетичні камеді, у тому числі гуміарабік, альгінати, метилцелюлоза, полівінілпіролідін тощо. Поліетиленгліколь, етилцелюлоза і воски можуть служити як зв'язувальні засоби.

[00145] Мастильна речовина може бути необхідна в складі таблетки для запобігання таблетки і преса від прилипання заготовки. Мастильна речовина може бути вибрана з таких ковзких твердих речовин, як тальк, стеарат магнію і кальцію, стеаринова кислота і гідровані рослинні олії. Дезінтегратори таблеток, що набухають при зволоженні для дисоціації таблетки і вивільнення сполуки. Вони включають крохмалі, глини, целюлози, альгіни і смоли. Більш конкретно, можна використовувати, наприклад, кукурудзяний і картопляний крохмаль, метилцелюлозу, агар, бентоніт, деревну целюлозу, порошкоподібну природну губку, катіонообмінні смоли, альгінову кислоту, гуарову камедь, м'якоть цитрусових і карбоксиметилцелюлозу, а також лаурилсульфат натрію. Таблетки можуть бути покриті цукром як смаковою добавкою і герметиком, або плівкоутворювальними захисними агентами для модифікації властивостей розчинення таблетки. Композиції можуть бути також введені до складу у вигляді жувальних таблеток, наприклад, за допомогою речовин, таких як маніт.

[00146] Якщо бажано вводити дигідропіразино-піразинову сполуку у вигляді супозиторія, то можна використовувати звичайні основи. Олія какао є звичайною основою для супозиторія, що може бути змінена шляхом додавання восків для того, щоб злегка підвищити його температуру плавлення. Широко використовуються змішувані з водою основи супозиторіїв, включаючи, зокрема, поліетиленгліколі різних молекулярних мас.

[00147] Ефект дигідропіразино-піразинової сполуки може бути відкладений або продовжений за допомогою відповідного складу. Наприклад, можуть бути отримані повільно розчинні гранули дигідропіразино-піразинової сполуки і включені в таблетку або капсулу, або мати вигляд імплантованого засобу з повільним вивільненням. Методи також включають одержання гранул з різною швидкістю розчинення і заповнення капсул сумішшю таких гранул. Таблетки або капсули можуть бути покриті плівкою, стійкою до розчинення протягом прогнозованого періоду часу. Навіть парентеральні препарати можуть бути отримані як довгостроково діючі шляхом розчинення або суспендування дигідропіразино-піразинової сполуки в масляних або емульгованих носіях, що дозволяють їй повільно диспергувати у сироватці.

[00148] У деяких варіантах здійснення Сполуку 2 вводять до складу, зазначеного у заявці на патент США № 2013-0142873, опублікованій 6 червня 2013, що включена в даний опис у повному обсязі [див. зокрема, параграфи [0323]-[0424], і параграфи [0636]-[0655]]. В інших варіантах здійснення Сполуку 2 вводять до складу, зазначеного у попередній патентній заявці США № 61/828,506, поданій 29 травня, 2013, що включена в даний опис у повному обсязі [див. зокрема параграфи [0246]-[0403] і параграфи [0571]-[0586]].

[00149] У деяких варіантах здійснення Сполуку 1 вводять до складу, зазначеного у попередній заявці США 61/813,064, поданій 17 квітня 2013, що включена в даний опис у повному обсязі [див. зокрема, параграфи [0168]-[0189] і параграфи [0262]-[0294]]. В інших варіантах здійснення Сполуку 1 вводять до складу, описаного у попередній патентній заявці США № 61/911,201, поданій 3 грудня 2013, що включена в даний опис у повному обсязі [див. зокрема, параграфи [0170]-[0190] і параграф [0264]-[0296]].

5.6 Набори

[00150] У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені набори, що містять дигідропіразино-піразинову сполуку.

[00151] В інших варіантах здійснення в даному описі представлені набори, що містять дигідропіразино-піразинову сполуку і засоби для моніторингу відповіді пацієнта на введення

зазначеної дигідропіразино-піразинової сполуки. У визначених варіантах здійснення пацієнт страждає на мультиформну гліобластому, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. У конкретних варіантах здійснення вимірювана відповідь пацієнта являє собою інгібування прогресування захворювання, інгібування росту пухлини, зменшення первинної і/або вторинної пухлини(пухлин), ослаблення симптомів, пов'язаних із пухлиною, поліпшення якості життя, відстрочку виникнення первинної і/або вторинної пухлини(пухлин), уповільнення розвитку первинної і/або вторинної пухлини(пухлин), зниження виникнення первинної і/або вторинної пухлини(пухлин), уповільнення або зниження важкості вторинних ефектів захворювання, припинення росту пухлини і/або регресію пухлини.

[00152] В інших варіантах здійснення в даному описі представлені набори, що містять дигідропіразино-піразинову сполуку, і засоби для вимірювання ступеня інгібування фосфорилювання S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у пацієнта. У визначених варіантах здійснення набори містять засоби для вимірювання інгібування фосфорилювання 6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у циркулюючій крові або в пухлинних клітинах і/або шкірних біоптатах або в пухлинних біоптатах/аспіратах пацієнта. У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені набори, що містять дигідропіразино-піразинову сполуку, і засоби для вимірювання ступеня інгібування фосфорилювання, як оцінено по порівнянню кількості фосфо-S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ перед, під час/або після введення дигідропіразино-піразинової сполуки. У визначених варіантах здійснення пацієнт страждає на мультиформну гліобластому, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору.

[00153] В інших варіантах здійснення в даному описі представлені набори, що містять дигідропіразино-піразинову сполуку, і засоби для вимірювання ступеня інгібування активності ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-РК) у пацієнта. У визначених варіантах здійснення набори містять засоби для вимірювання ступеня інгібування активності ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-РК) у шкірному зразку і/або пухлинній біопсії/аспіраті пацієнта. В одному з варіантів здійснення набори містять засоби для вимірювання кількості S2056 pDNA-РК у шкірному зразку і/або пухлинній біопсії/аспіраті пацієнта. В одному з варіантів здійснення шкірний зразок опромінюють УФ-світлом. У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені набори, що містять дигідропіразино-піразинову сполуку, і засоби для вимірювання ступеня інгібування активності ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-РК) перед, у час і/або після введення дигідропіразино-піразинової сполуки. У визначених варіантах здійснення в даному описі представлені набори, що містять дигідропіразино-піразинову сполуку, і засоби для вимірювання рівня фосфорилювання ДНК-РК S2056 перед, під час і/або після введення дигідропіразино-піразинової сполуки. У визначених варіантах здійснення пацієнт страждає на мультиформну гліобластому, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору.

[00154] У визначених варіантах здійснення в даному документі представлені набори, що містять кількість дигідропіразино-піразинової сполуки, ефективну для лікування або профілактики мультиформної гліобластоми, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. У визначених варіантах здійснення в даному документі представлені набори, що містять Сполуку 1.

[00155] У визначених варіантах здійснення в даному документі додатково представлені набори, що містять інструкції для застосування, наприклад, для застосування дигідропіразино-піразинової сполуки і/або моніторингу відповіді пацієнта на введення дигідропіразино-піразинової сполуки

6. Приклади

6.1 Склади сполуки

[00156] Проілюстровані склади Сполуки 1, що можуть бути використані в способах, наведених у даному описі, представлені нижче в Таблиці 1.

[00157]

Таблиця 1

Приклади складів таблеток

Партія #	% мас./мас. (мг)			
	1	2	3	4
Інгредієнти				
Сполука 1 (активний інгредієнт)	10	10	10	10
Маніт (Mannogem EZ)	qs	qs	qs	qs
Мікрокристалічна целюлоза (PH 112)	25	25	25	25
Крохмальгліколят натрію	3	3	3	3
Діоксид кремнію	1	1	1	1
Стеаринова кислота	0,5	0,5	0,5	0,5
динатрій ЕДТА			0,5	0,5
ВНТ		0,4		0,4
Стеарат магнію	0,65	0,65	0,65	0,65
Всього	100	100	100	100
Колір	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий

[00158] Ілюстративні склади Сполуки 2, що можуть використовуватися в способах, описаних у даному документі, наведені нижче в Таблицях 2-5.

5 [00159]

Таблиця 2

Інгредієнти	Кількість	
	мг	% мас./мас.
Сполука 2	20,0	15,38
Моногідрат лактози, NF (Fast Flo 316)	63,98	49,22
Мікрокристалічна целюлоза, NF (Avicel pH 102)	40,30	31,00
Кроскармелоза натрій, NF (Ac-Di-Sol)	3,90	3,00
Стеаринова кислота, NF	0,52	0,40
Стеарат магнію, NF	1,30	1,00
Всього	130,0	100
Опадру жовтий 03K12429	5,2	4,0

[00160]

Таблиця 3

Інгредієнти	Кількість	
	мг	% мас./мас.
Сполука 2	5,0	3,80
Моногідрат лактози, NF (Fast Flo 316)	78,98	60,70
Мікрокристалічна целюлоза, NF (Avicel pH 102)	40,30	31,00
Кроскармелоза натрій, NF (Ac-Di-Sol)	3,90	3,00
Стеаринова кислота, NF	0,52	0,40
Стеарат магнію, NF	1,30	1,00
Всього	130,0	100
Опадру II рожевий 85F94211	5,2	4% збільшення маси

10 [00161]

Таблиця 4

Інгредієнти	Кількість			
	мг			% мас./мас.
Сполука 2	15,0	20,0	30,0	15,38
Моногідрат лактози, NF (Fast Flo 316)	48,37	64,50	96,75	49,62
Мікрокристалічна целюлоза, NF (Avicel pH 112)	30,23	40,30	60,45	31,00
Кроскармелоза натрій, NF (Ac-Di-Sol)	2,925	3,90	5,85	3,00
Стеарат магнію, NF	0,975	1,30	1,95	1,00
Всього	97,50	130,0	195,00	100
Опадру жовтий 03K12429	3,9			4,0
Опадру II рожевий 85F94211		5,2		4,0
Опадру рожевий 03K140004			7,8	4,0

[00162]

Таблиця 5

Інгредієнти	Кількість	
	мг	% мас./мас.
Сполука 2	45,00	15,38
Моногідрат лактози, NF (Fast Flo 316)	143,955	49,22
Мікрокристалічна целюлоза, NF (Avicel pH 102)	90,675	31,00
Кроскармелоза натрій, NF (Ac-Di-Sol)	8,775	3,00
Стеаринова кислота, NF	1,170	0,40
Стеарат магнію, NF	2,925	1,00
Всього	292,50	100
Опадру рожевий 03K140004	11,70	4,0

6.2 Біологічні приклади

6.2.1 Біохімічні аналізи

5 [00163] Аналіз mTOR HTR-FRET. Далі наведений приклад аналізу, що може використовуватися для визначення інгібуючої активності відносно кінази TOR тестованої сполуки. Дигідропіразино-піразинової сполуки розчиняли в DMSO і одержували як 10 mM основні розчини і для експериментів розбавляли відповідним чином. Реагенти одержували в такий спосіб:

10 [00164] «Простий буфер TOR» (використовували для розведення високогліцеринову фракцію TOR): 10 mM Tris pH 7,4, 100 mM NaCl, 0,1% Tween-20, 1 mM DTT. Invitrogen mTOR (кат. № PV4753) розбавляли в цьому буфері для аналізу концентрації 0,200 мкг/мл.

[00165] Розчин АТФ/субстрат: 0,075 mM АТФ, 12,5 mM MnCl₂, 50 mM Hepes, pH 7,4, 50 mM β-GOP, 250 нм мікроцистин LR, 0,25 mM EDTA, 5 mM DTT і 3,5 мкг/мл GST-p70S6.

15 [00166] Розчин реагенту для детекції: 50 mM HEPES, pH 7,4, 0,01% Triton X-100, 0,01% BSA, 0,1 mM EDTA, 12,7 мкг/мл Cy5-αGST Amersham (кат. № PA92002V), 9 нг/мл α-фосфо p70S6 (Thr389) (моноклональне мишине в клітинному сигнальному шляху #9206L), 627 нг/мл α-миша Lance Eu (Perkin Elmer Кат. № AD0077).

20 [00167] До 20 мкл простого буфера mTOR додавали 0,5 мкл тестованої сполуки в DMSO. Для ініціювання реакції до 20 мкл розчину звичайного буфера TOR (контроль) і до розчину сполуки, отриманого вище, додавали 5 мкл розчину АТФ/субстрат. Аналіз зупиняли через 60 хв, додаючи 5 мкл розчину 60 mM EDTA; потім додавали 10 мкл розчину реагенту для детекції, і суміш залишали відстоюватися протягом щонайменше 2 годин перед зчитуванням на рідері для мікропланшетів Perkin-Elmer Envision з установками для детекції LANCE Eu TR-FRET (збудження при 320 нм і випускання при 495/520 нм).

25 [00168] Дигідропіразино-піразинової сполуки тестували в аналізі mTOR HTR-FRET і було виявлено, що вони мають активність, причому деякі сполуки мають IC₅₀ нижче 10 мкМ в аналізі, деякі сполуки мають IC₅₀ між 0,005 нМ і 250 нМ, інші мають IC₅₀ між 250 нМ і 500 нМ, інші мають IC₅₀ між 500 нМ і 1 мкМ, і інші мають IC₅₀ між 1 мкМ і 10 мкМ.

30 [00169] Аналіз ДНК-РК. Аналіз ДНК-РК здійснювали, використовуючи методики, основані на наборі для аналізу ДНК-РК Promega (кат. № V7870). ДНК-РК фермент можна придбати від Promega (Promega кат. № V5811).

35 [00170] Вибрані дигідропіразино-піразинової сполуки, такі як описано в даному документ, мають або очікується, що будуть мати IC₅₀ нижче 10 мкМ у цьому аналізі, при цьому деякі дигідропіразино-піразинової сполуки, такі як описано в даному документі, мають IC₅₀ нижче 1 мкМ, а інші мають IC₅₀ нижче 0,10 мкМ.

6.2.2 Клітинні аналізи

40 [00171] Аналіз інгібування росту мультиформної гліобластоми (GBM), яка відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. Сполука може бути тестована в такий спосіб: Тестовану сполуку (дигідропіразино-піразинової сполуку, описану в даному документі) розчиняють у диметилсульфоксиді (DMSO) з одержанням 10 mM основного розчину. Серійне титрування здійснюють для одержання робочих концентрацій у діапазоні від 1,5 мкМ до 10 мМ. Аліквоти для одержання кінцевих концентрацій від 1,5 нМ до 10 мкМ прокапували за допомогою акустичного диспенсера (EDC ATS-100) у порожню 384-ямкову плашку. Тестовану сполуку прокапували методом 10-точкового серійного розведення (3-кратне розведення) у двох повтореннях у межах плашки. Концентрацію DMSO підтримували постійною для кінцевої аналітичної концентрації 0,1% DMSO. Плашки повторювали для застосування з різними клітинами GBM (наприклад, лінії клітин GBM або зразки, отримані в пацієнта) і тестованих періодів. Після копіювання плашок зі сполукою всі плашки герметизували (Agilent ThermoLoc) і зберігали при -20 °C у період часу до 1 місяця. Коли плашки були готові до тестування, їх

виймали з морозильника, розморожували і відкривали відразу перед додаванням тестованої сполуки. До тестування клітини вирощували, і вони поділялися у флаконах для культивування для забезпечення достатніх кількостей вихідних речовин. Клітини потім розбавляли до придатної густини і безпосередньо додавали в 348-ямкові планшети з розкапаною тестованою сполукою. Клітини залишали рости протягом 72 годин при 37 °C/5% CO₂. У момент додавання тестованих сполук (t₀) кількість ініціюючих клітин оцінювали в аналізі на виживаність (Cell Titer-Glo) шляхом кількісного визначення рівня люмінесценції, генерованої АТФ, що присутня у життєздатних клітинах. Через 72 години життєздатність клітин, оброблених тестованою сполукою, оцінювали Cell Titer-Glo і вимірювали люмінесценцію. Клітинні лінії аналізували на інгібування росту випробуваною сполукою в щонайменше 3-х незалежних випробуваннях. Контрольну клітинну лінію включали в кожен аналіз. Відповідь тестованої сполуки проти контрольної клітинної лінії ретельно контролювали для можливості порівняння даних, отриманих протягом аналізу. Усі дані нормалізували і представляли як відсоток від DMSO-оброблених клітин. Результати потім виражали як значення GI₅₀. Значення GI₅₀ коректували для визначення клітин у нульовий момент часу. Статус метилування промотору MGMT визначається, наприклад, ПЛР, специфічним для метилування, (MSP) і бісульфитним секвенуванням (BiSEQ) 24 сусідніх CpG-сайтів. Крім того, експресія білка MGMT може бути визначена, наприклад, за допомогою імуногістохімії або Вестерн-блотингу.

[00172] В одному з варіантів здійснення дигідропіразино-піразинової сполуки показали інгібування росту клітин GBM, що характеризуються гіпометилуванням промотору MGMT. У ще одному варіанті здійснення дигідропіразино-піразинової сполуки показали інгібування росту клітин GBM, що характеризуються експресією білка MGMT.

[00173] Аналіз апоптозу клітин GBM, що відрізняються експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. Перед тестуванням клітини GBM вирощували і їхню кількість збільшували у флаконах для культивації, для того щоб забезпечити достатню кількість вихідного матеріалу. Клітини потім розбавляли до необхідних концентрацій і додавали безпосередньо в 384-ямкові планшети з прокапаною тестованою сполукою. Клітини культивували протягом 24 годин у 5% CO₂ при 37 °C. Апоптозну відповідь оцінювали по кількісній активності каспази 3 і каспази 7 (Caspase 3/7-Glo) в оброблених клітинах і контрольних клітинах у 24-годинній часовій точці. Усі дані нормалізували і представляли як значення відносно DMSO-оброблених клітин. Результати потім виражали як CalX, що являє собою мінімальну концентрацію тестованої сполуки, необхідну для подвоєння рівнів каспази 3/7 відносно рівнів DMSO-оброблених клітин, у період їхньої обробки.

[00174] Статус метилування промотору MGMT визначали за допомогою, наприклад, ПЛР, специфічним для метилування, (MSP) і бісульфитним секвенуванням (BiSEQ) 24 сусідніх CpG-сайтів. Крім того, експресію білка MGMT визначали за допомогою, наприклад, імуногістохімії або вестерн-блотингу.

[00175] В одному варіанті здійснення дигідропіразино-піразинової сполуки демонстрували апоптоз клітин GBM, що характеризуються гіпометилуванням промотору MGMT. В іншому варіанті здійснення дигідропіразино-піразинової сполуки демонструють апоптоз клітин GBM, що характеризуються експресією білка MGMT.

[00176] Аналіз числа клітин гліомасфери. Зразки пухлини, отримані в пацієнтів з первинної GBM, дисоціювали і поміщали в умови культивування, при яких продукуються гліомасфери (тобто середовище DMEM/F12, доповнене B27, 20 нг/мл bFGF, 50 нг/мл EGF, пеніцилін/стрептоміцин, L-глутамін і 5 мкг/мл гепарину). Клітини висівали при густині 5000 клітин/ямка і залишали акліматизуватися на ніч при 37 °C. Дигідропіразино-піразинової сполуки додавали в культури на День 2 і клітини підтримували в культурі до Дня 9. На День 9 клітини фіксували PFA/метанол і наступного дня оцінювали число клітин, використовуючи, наприклад, SYTO-9 флуоресцентний ДНК-барвник. Плашки зчитували через 48 годин за допомогою візуалізації лазерним скануванням. Результати Сполуки показані в Таблиці 6. Значення IC₅₀ являють собою 50% від числа клітин порівняно з контролем DMSO. Як видно на Таблиці 6, Сполука 1 показала активність відносно клітин GBM, що експресують білок MGMT, і клітин GBM, що мають гіпометильований промотор MGMT.

Таблиця 6

Ефект обробки Сполукою 1 і Сполукою 2 на число клітин

Клітинна лінія	Діагноз	Ампл. EGFR	EGFR viii	Статус PTEN (пухлина)	Статус PTEN (клітинна лінія)	Статус метилування або експресії MGMT	Спол.1 (IC ₅₀ -нМ), Виживання клітин	Спол.2 (IC ₅₀ -нМ), Виживання клітин
248	Рецидивуючий		-	+	+	Трохи підвищений	441,3	
371	Рецидивуючий	+	-	+/-	+	-	367,8	
301	Первинний	+			-	-	312,6	
336	Рецидивуючий				+	+	231,3	866,4
393	Первинний		-			+	178,2	
206	Рецидивуючий			-	+	Невідом./високо-експресований	163	117,6
347	Рецидивуючий	+		+/-	-	-	162,9	172,6
229	Рецидивуючий				-		115,4	
277	Вторинний/ рецидивуючий				+		107,1	106,5
207	Рецидивуючий				+		100	
254	Рецидивуючий				+		99,6	215,7
350	Рецидивуючий				-		99,6	
378	Рецидивуючий	+				-	81,3	156,5
296	Рецидивуючий	+			-	-	74,5	257,0
250	Рецидивуючий	-		-	-	Невідом./високо-експресований	70,6	50,7
217	Первинний			-	-		71,9	96,3
245	Рецидивуючий	+		+	+		68,7	
308	Рецидивуючий	-		-	+	Невідом./високо-експресований	68,2	
390	Первинний	-	-	-	+	-	65,9	
157	Первинний				+	-	46,8	170,7
374	Первинний		+			-	165,0	

[00177] Аналіз утворення гліомасфери. Зразки пухлин, отримані в хворих на GBM, що одержують первинну допомогу, розділяли і поміщали в умови культивування (тобто середовище DMEM/F12 з додаванням B27, 20 нг/мл bFGF, 50 нг/мл EGF, пеніцилін/стрептоміцин, L-глутамін і 5 мкг/мл гепарину), що давало гліомасфери. Клітини висівали з густиною 50 клітин на ямку і залишали акліматизуватися протягом ночі при 37 °C. У культури додавали дигідропіразино-піразинові сполуки на день 2 і поповнювали кожен 7-ий день. Також кожен 7-ий день поповнювали EGF і FGF. Коли найменша сфера ставала більше 60 мікронів, клітини фіксували за допомогою PFA/метанол тоді, звичайно на 3-5 тиждень. Клітини фіксували PFA/метанолом і наступного дня оцінювали кількість клітин, використовуючи, наприклад, флуоресцентний барвник ДНК SYTO-9. Плашки зчитували через 48 годин за допомогою пристрою формування зображення з використанням лазерного сканування. Значення IC₅₀ представляють 50% сфероутворення порівняно з контролем DMSO. Як видно з таблиці 7, Сполука 1 показала активність відносно клітин GBM з експресією білка MGMT.

[00178]

Таблиця 7

Здатність утворювати сфери в присутності Сполуки 1 і Сполуки 2

Клітинна лінія	Діагноз	Ампл. EGFR	EGFR viii	Статус PTEN (пухлина)	Статус PTEN (клітинна лінія)	Статус метилування або експресії MGMT	Сфероутворення, Сполука 1 (IC ₅₀ -нМ)	Сфероутворення, Сполука 2 (IC ₅₀ -нМ)
248	Рецидивуючий		-	+	+	Трохи підвищений		
371	Рецидивуючий	+	-	+/-	+	-		
301	Первинний	+			-	-		
336	Рецидивуючий				+	+		
393	Первинний		-			+		
206	Рецидивуючий			-	+	Невідом./високо-експресований	142,4	
347	Рецидивуючий	+		+/-	-	-		
229	Рецидивуючий				-			
277	Вторинний/ рецидивуючий				+			
207	Рецидивуючий				+			
254	Рецидивуючий				+			
350	Рецидивуючий				-		39,3	243,5
378	Рецидивуючий	+				-		
296	Рецидивуючий	+			-	-	544,3	1700
250	Рецидивуючий	-		-	-	Невідом./високо-експресований	39,6	
217	Первинний			-	-		42,1	68,9
245	Рецидивуючий	+		+	+		22,6	65,1
308	Рецидивуючий	-		-	+	Невідом./високо-експресований		76,7
390	Первинний	-	-	-	+	-		
157	Первинний				+	-		
309	Рецидивуючий					не визначений	159,3	
282	Первинний					не визначений	25,8	

[00179] Аналіз сфероутворення. Лінії клітин, отримані в хворих на GBM і культивовані в культуральних умовах для пухлинного сфероутворення, підтримували у вигляді високогетерогенної популяції клітин, включаючи клітини, що ініціюють сферо утворення, і більш комітовані клітини-попередниці з обмеженою здатністю до проліферації. Для визначення специфічного націлювання Сполуки 1 на популяції сфероутворюючих клітин, автори проводили аналіз повторного сфероутворення після попередньої обробки Сполукою 1. 500000 клітин/10 мл середовища для пухлинного сфероутворення обробляли зазначеною дозою Сполуки 1 протягом 7 днів. Клітини, що виживали на 7-ий день обробки, відмивали від сполуки 1, дисоціювали на одиничні клітини і висівали з густиною клонування аналізу сфероутворення без Сполуки 1. На фігурі 1 показано, що у випадку клітинних ліній 206, 217, 254 і 282, отриманих у хворих на GBM, число сфер, утворених клітинами, що виживали після попередньої обробки різними дозами Сполуки 1, значно не відрізнялося від числа сфер, утворених контрольними необробленими клітинами, що припускає, що відсоток клітин, які ініціюють сфероутворення, у загальній клітинній популяції клітинних ліній, отриманих у пацієнта, не змінювався від обробки Сполукою 1. Сполука 1 може націлюватися як на клітини, що ініціюють сфероутворення, так і на більш комітовані клітини-попередниці, тому відсоток клітин, що ініціюють сфероутворення, у культурі залишався постійним після обробки Сполукою 1. Після обробки клітинної лінії 254 500 нМ Сполуки 1 повторне пухлинне сфероутворення було відсутнє, що припускає, що 500 нМ Сполуки 1 є цитотоксичним для клітин, що ініціюють сфероутворення, у клітинній лінії 254. Лінія клітин 282 не тестувалася при концентрації 100 нМ або 500 нМ сполуки 1.

[00180] Комбінований ефект Сполуки 1 і темезоломід (TMZ) на клітинну лінію, стійку до дії TMZ, і чутливу до дії TMZ, отриману в хворого на GBM. TMZ являє собою алкілюючий засіб, що доставляє метильну групу до пуринової основи ДНК (O⁶-гуанін; N⁷-гуанін і N³-аденін). Цитотоксичне ушкодження, O⁶-метилгуанін (O⁶-MeG), викликане TMZ, може бути безпосередньо відновлене метилгуанінметилтрансферазою (MGMT) за рахунок прямого відновлення і може також активувати механізми репарації помилок спарювання (MMR). Футильні цикли MMR приводять до утворення розривів дволанцюжкової ДНК і активації ДНК-РК-опосередкованих механізмів відновлення дволанцюжкового розриву. Оскільки Сполука 1 інгібує mTORC1 і mTORC2, компоненти PI3-кіназного шляху передачі сигналу, а також ДНК-РК, фермент, що

опосередковує шлях відновлення дволанцюжкової ДНК, NHEJ, то комбіновану обробку Сполукою 1 і TMZ аналізували на посилення нищівного ефекту TMZ на клітинні лінії, отримані в хворих на GBM.

[00181] Пухлинні сфери, які росли в умовах культивування для пухлинного сфероутворення, збирали, дисоціювали на одиничні клітини і висівали при 5000 клітин/ямки в 96-ямкових плашках. TMZ і Сполуку 1 паралельно дозували і 12 ямок з комбінованою дозою обробляли протягом 7 днів перед підрахунком клітин. Коли значення стовпця «% фактичного інгібування» ділили на «% інгібування, розрахований на основі сумування», то значення >1=синергізм, ~1=сумування, <1=антагонізм.

[00182]

Таблиця 8

Розрахунок фракційного продукту для супутніх комбінацій TMZ і Сполуки 1 для клітинної лінії 206, отриманої у хворого на GBM

TMZ [мкМ]	Спол.1 [нМ]	% фактичного інгіб.	% інгіб., розрахованого від сумування	% фактичного інгіб./% інгіб., розрахованого від сумування
25		11,4 %		
50		0,0 %		
100		0,0 %		
200		4,3 %		
	50	10,6 %		
	100	23,1 %		
	500	65,8 %		
25	50	46,0 %	20,8 %	2,21
25	100	41,1 %	31,9 %	1,29
25	500	68,5 %	69,7 %	0,98
50	50	23,7 %	10,6 %	2,24
50	100	35,9 %	23,1 %	1,55
50	500	68,4 %	65,8 %	1,04

[00183] Лінія клітин 206, що має високий рівень експресії мРНК MGMT, є стійкою до дії TMZ, доказом чого служить мінімальна інгібуюча дія 50, 100 і 200 мкМ TMZ на виживання клітин (Таблиця 8). Супутня обробка TMZ, при 25 мкМ або 50 мкМ, разом з низькою дозою Сполуки 1, наприклад, 50 нМ, синергетично інгібувала виживання клітин GBM. При високій дозі Сполуки 1 супутня обробка Сполукою 1 і TMZ давала адитивні ефекти (Таблиця 8). Цей результат дозволяє припустити, що Сполука 1 у комбінації з TMZ має синергічний ефект на стійкість GBM до дії TMZ, що може бути дозозалежним.

[00184]

Таблиця 9

Розрахунок фракційного продукту для супутніх комбінацій TMZ і Сполуки 1 для клітинної лінії 217, отриманої у хворого на GBM

TMZ [мкМ]	Спол.1 [нМ]	% фактичного інгіб.	% інгіб., розрахованого від сумування	фактичного інгіб./% інгіб., розрахованого від сумування
25		69,0 %		
50		73,0 %		
100		77,0 %		
	100	51,0 %		
25	100	78,4 %	85,1 %	0,92
50	100	80,4 %	87,1 %	0,92
100	100	83,7 %	88,7 %	0,94

[00185] Ефект комбінованої обробки Сполукою 1 і TMZ також тестували на клітинній лінії 217, чутливій до дії TMZ. Обробка TMZ при 25, 50 і 100 мкМ інгібувала виживання клітин при 69 %, 73 %, і 77 %, відповідно (Таблиця 9), що показує, що лінія 217 є лінією, чутливою до дії TMZ. У випадку лінії 217 паралельна обробка різними комбінаціями доз Сполуки 1 і TMZ давала адитивний ефект (Таблиця 9), що припускає, що Сполука 1 ні підсилює, ні антагонізує знищення клітин, викликуване TMZ, у клітинній лінії, чутливій до дії TMZ.

6.2.3 Аналізи in vivo:

[00186] Дослідження ксенотрансплантатів проводили на GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору і/або статусом експресії пухлини в миші. Мишам SCID або "голим" мишам інокулювали підшкірно клітини GBM, що відрізняються

експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору і статусом експресії в бічну зону вище правої задньої лапи. Після інокуляції тварин пухлині давали рости до 150-200 мм³ до рандомізації. Випробувану сполуку вводили до складу разом з 0,5 % СМС і 0,25 % Tween 80 у воді (у вигляді суспензії). Тваринам перорально вводили носій (СМС-Tween) або випробувану сполуку один раз у добу (QD) протягом 26-40 днів. Дози випробуваної сполуки можуть змінюватися від 1 до 5 мг/кг. Пухлини вимірювали два рази в тиждень за допомогою кронциркуля й об'єми пухлин розраховували, використовуючи формулу $W^2 \times L/2$ (де "W" являє собою ширину пухлини і "L" являє собою довжину пухлини).

[00187] Дослідження ефективності Сполуки 1 і Сполуки 2 на нейросферах гліобластоми хворих і на ксенотрансплантатних пухлинах. Мишам із порушеним імунітетом ("голі" миші NCRNU-M, TACTONIC) імплантували лінії нейросфер GBM, отриманої зі свіжих хірургічних зразків. Клітинна лінія характеризувалася наступним:

Таблиця 10

Нейросфера GBM	Класифікація	Статус MGMT	Відомі мутації
HF2354	Первинна GBM, проведено лікування Гліадель	–	TP53 V216L

[00188] Обробка ксенотрансплантата, отриманого в хворого (PDX), починалася за чотири тижні до передбачуваної появи симптомів у першої тварини. Сполуку 1 або Сполуку 2 вводили в дозі 5 мг/кг і 10 мг/кг, відповідно, через шлунковий зонд один раз у день, з понеділка по п'ятницю. Тваринам контрольної групи вводили тільки носій. Групу наміченої цілі обробляли однією дозою кожної сполуки й умертвляли через 2 і 24 години (n=3/групу). При необхідності, для зниження втрати ваги давали рідини і додаткову їжу.

[00189] Результати: Монотерапія Сполукою 1 значно підвищувала виживання PDX HF2354. Ефект на виживаність був відсутній для Сполуки 2. (див. Фіг. 2)

6.2.4 Клінічне дослідження

[00190] Фаза 1B, комплексне відкрите дослідження з пошуком дози для оцінки безпеки, переносимості, фармакокінетичних параметрів і попередньої ефективності Сполуки 1, що вводиться перорально індивідуумам з GBM, яка відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору

[00191] Цілі дослідження

[00192] Основними задачами дослідження було визначити: (1) безпеку і переносимість Сполуки 1; (2) непереносиму дозу (NTD) Сполуки 1; (3) максимально переносиму дозу (MTD) Сполуки 1; і (4) фармакокінетичні параметри (PK) Сполуки 1, при пероральному введенні Сполуки 1 хворим на GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору.

[00193] Додатковими цілями дослідження було: (1) оцінити ступінь інгібування фосфорилювання S6RP і/або 4E-BP1 для активності mTORC1 і AKT і/або інших відповідних біомаркерів активності mTORC2 у крові, шкірі і/або в пухлинних біопсіях/аспіратах, при наявності перед і під час лікування Сполукою 1; (2) оцінити інгібування активності ДНК-залежної протеїнкінази (DNA-PK) у зразках шкіри, опромінених УФ-світлом, і/або пухлинних біопсіях/аспіратах, використовуючи S2056 pDNA-PK і/або інші відповідні біомаркери шляхів ушкодження ДНК, перед і під час лікування Сполукою 1; і (3) оцінити ефективність Сполуки 1.

[00194] Пошуковими цілями дослідження були: (1) оцінити гомеостаз глюкози під час лікування Сполукою 1; (2) вивчити взаємозв'язок між присутністю Сполуки 1 у крові й у пухлині і відповіді (інгібування mTOR і біомаркерів ДНК-ПК); (3) вивчити взаємозв'язок між наявністю Сполуки 1 у крові й у пухлині з клінічними і побічними ефектами (АЕ); (4) вивчити вплив Сполуки 1 на біомаркери, включаючи апоптоз і/або інгібування проліферації, перед і під час обробки біопсії пухлини, при наявності; (5) досліджувати, чи можуть відповіді на Сполуку 1 бути пояснені розходженнями в експресії білка або генетичною мінливістю, у тому числі, але ними не обмежуючись, досліджувати компоненти шляхів PI3K/Akt/mTOR, шляхів відповіді на ушкодження ДНК і сімейство генів p53; (6) визначити основні метаболіти Сполуки 1 у плазмі і сечі; і (7) проаналізувати відновлення CTC для молекулярних патологій і зміну в mTOR і біомаркерів ДНК-ПК.

[00195] План дослідження

[00196] У цьому дослідженні Сполуку 1 вводили перорально хворим з GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору.

[00197] Індивіди починали зі Сполуки 1 у дозі 10 мг BID. Індивідів оцінюють на безпеку і протипухлинну активність після кожного другого/третього циклу терапії.

[00198] Досліджувана популяція

[00199] Чоловіки і жінки, від 18 років і більше, з GBM, що відрізняється експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору, і в тому числі індивіди, у яких відзначалося поліпшення при проведенні (або в яких не було стійкості) стандартної протиракової терапії, або для яких не існує схваленої терапії.

[00200] Критерії включення

[00201] Критеріями включення є: (1) здатність зрозуміти і добровільно підписати документ про згоду перед проведенням будь-яких, пов'язаних з дослідженнями, оцінок/процедур; (2) чоловіки і жінки, від 18 років і більше, з гістологічними і цитологічними підтвердженнями GBM, що характеризується експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору; (3) згода на скринінгову біопсію пухлини; (4) ECOG PS, що дорівнює 0 або 1; (5) наступні лабораторні показники: (i) абсолютне число нейтрофілів (ANC) $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$; (ii) гемоглобін (HGB) ≥ 9 г/дл; (iii) тромбоцити (plt) $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$; (IV) калій у межах норми, або коректований добавками; (v) AST/SGOT і ALT/SGPT $\leq 2,5 \times$ верхня межа норми (ULN) або $\leq 5,0 \times \text{ULN}$, якщо є пухлина печінки; (vi) сироватковий загальний білірубін $\leq 1,5 \times \text{ULN}$; (vii) сироватковий креатинін $\leq 1,5 \times \text{ULN}$, або 24-годинний кліренс ≥ 50 мл/хв; і (viii) негативний сироватковий тест на вагітність або негативний сироватковий тест на вагітність у сечі протягом 72 годин до початку дослідження лікування в жінок дітородного віку; (6) можливість вписатися в графік дослідження й в інші вимоги протоколів; (7) згода на одержання пухлинної тканини, фіксованої формалін-парафін (FFPE), для архівування, або зрізів у пухлинних ділянках або секційних/отриманих для аналізу зразків; (8) гістологічно-підтверджена GBM, характеризується експресією білка GBM і/або статусом метилування промотору; (9) одержання попереднього лікування, включаючи радіаційну і/або хіміотерапію, з радіацією, завершеною > за 12 тижнів до Дня 1; (10) запланована хірургічна резекція пухлини на День 15 ± 7 , з очікуваним виходом ≥ 300 мг тканини пухлини. Скринінгова біопсія пухлини не потрібна; (11) відсутність до або в плані імплантата пластини Gliadel®, якщо зона для оцінки і планованої резекції не перебуває за межами зони, де він раніше був імплантований; (12) відсутність інтерстиціальної брахітерапії або стереотаксичної радіохірургії перед аналізом, якщо зона для оцінки і планованої резекції не перебуває за межами зони, де вони раніше були проведені; (13) відсутність лікування ензим-індукуючими протиепілептичними засобами (EIAED), такими як карбамазепін, фенітоїн, фенобарбітал, примідон або протягом 14 днів до Дня 1; (14) наявність стану, при якому можливо пройти повторні магнітно-резонансні томографічні (MPT) сканування. Група може бути розширена, вносячи в список мінімум 5 індивідів із пухлинами, які надекспресують ДНК-РК.

[00202] Тривалість дослідження

[00203] Індивідууми починали прийом Сполуки 1 з дозою 10 мг BID щодоби з циклами 28 днів. Прийом Сполуки 1 може бути припинений при наявності доказів прогресування пухлини, але індивідуум може продовжувати одержувати тестований препарат доти, поки дослідник вбачає одержання вигоди. Терапія припиняється, якщо відзначається неприйнятна токсичність або індивід вирішує вийти з дослідження.

[00204] Реєстрація, як очікується, займе приблизно 30 місяців. Розширене лікування відповідаючих індивідів і додаткові дії можуть продовжуватися ще 3-6 місяців.

[00205] Досліджуване лікування

[00206] Сполуку 1 дають у вигляді капсул для перорального введення або як внутрішньощлунковий/кишковий зонд для штучного годування, якщо це можливо. Більшість індивідуумів починають прийом Сполуки 1 з дозою 10 мг BID.

[00207] Огляд ефективності оцінок

[00208] Всі індивідууми, що одержували лікування, повинні бути включені в аналіз ефективності. Змінна первинної ефективності є відповіддю пухлини, на основі оцінки дослідника, використовуючи оцінку відповіді для робочої групи з нейро-онкології (RANO) для GBM. Також повинні бути проаналізовані додаткові змінні ефективності (наприклад, визначення кількості CTC).

[00209] Огляд оцінки безпеки

[00210] Первинні змінні безпеки і змінні дослідження безпеки для даного дослідження включають АЕ, комплексні панелі клінічних лабораторних змінних (включаючи гематологію, хімію, імунологію і функцію щитовидної залози, і аналіти при оцінці гомеостазу глюкози), централізована потрібна електрокардіограма (ЕКГ) у 12 відведеннях, оцінка фракції викиду лівого шлуночка (LVEF), медичний огляд, статус продуктивності ECOG (ECOG PS) і життєво важливі ознаки.

[00211] Комітетом з безпеки (SRC) визначаються відповідна доза, дози або схема введення. SRC продовжить проводити регулярну оцінку даних і зробить рекомендації про продовження дослідження, при необхідності.

[00212] Огляд фармакокінетичних оцінок

5 [00213] Профілі РК Сполуки 1 і будь-якого значущого метаболіту, що виявляється, визначають із серійного забору крові і сечі, включаючи пухлинну тканину, якщо є, і корелюють з результатами PD, якщо це можливо.

[00214] Огляд фармакодинамічних оцінок

10 [00215] Дослідні кінцеві точки включають інгібування mTOR і біомаркера ДНК-РК у циркулюючих клітинах крові, і інших пухлинних клітинах і/або тканинах і аспіратах, якщо можливо, УФ-стимульована активність ДНК-РК у шкірі, гістопатологічна відповідь і кореляції з фармакогеномними даними. Пару (перед і під час лікування) біопсій пухлини беруть у більшості індивідумів з пухлинними порушеннями, визначеними дослідником як здатну до біопсії. Аналіз повинний містити в собі біомаркери апоптозу і проліферації в крові, шкірі і/або зразках пухлин, якщо можливо.

[00216] Огляд оцінки прогнозованих біомаркерів

[00217] Рівень мутацій і/або білка компонентів у відповідному сигнальному шляху включаючи, але ними не обмежуючись, PI3K/mTOR, відновлення ушкодження ДНК і шлях p53 досліджували для ідентифікації можливих прогнозованих біомаркерів.

20 [00218] У визначених варіантах здійснення хворі на GBM, що проходять лікування по протоколу, як описано в даному документі, показують позитивну пухлинну відповідь, наприклад, інгібування росту пухлини або зменшення розміру пухлини. У визначених варіантах здійснення пацієнти, що проходять лікування по протоколу, як описано в даному документі, показують поліпшення оцінки відповіді для робочої групи з нейро-онкології (RANO). У деяких таких варіантах здійснення хворі на GBM відрізняються експресією білка MGMT і/або статусом метилування промотору. В одному з таких варіантів здійснення промотор MGMT є гіпометильованим. В іншому варіанті здійснення білок MGMT є експресованим.

25 [00219] Був цитований ряд посилань, описи яких наведені в даному документі як посилання в повному обсязі. Варіанти здійснення, описані в даному документі, не повинні обмежуватися до визначених варіантом здійснення, розкритих у прикладах, що призначені як ілюстративні для деяких аспектів розкритих варіантів здійснення, і будь-який варіант здійснення, що є функціонально еквівалентним, входить у рамки даного винаходу. Фактично, різні модифікації варіантів здійснення, описаних у даному документі, наведені на додаток до тих варіантів, що показані і розкриті в даному документі, і будуть очевидні фахівцям у даній галузі і мається на увазі, що вони входять у рамки прикладеної формули винаходу.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 40 1. Спосіб лікування мультиформної гліобластоми, що відрізняється експресією білка MGMT і/або гіпометилуванням промотору MGMT, який включає введення пацієнту ефективної кількості 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру.
- 45 2. Спосіб за п. 1, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активований сигнальний шлях PI3K/mTOR.
3. Спосіб за п. 2, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активація сигнального шляху PI3K/mTOR відбувається в результаті мутації ERBB2, мутації або делеції PTEN, мутації або делеції NF1, мутації PIK3Ca, мутації або надекспресії EGFR, ампліфікації Met, активації або ампліфікації PDGFRa, ампліфікації AKT або їхньої комбінації.
- 50 4. Спосіб за п. 1, де зазначеному пацієнту вводять від приблизно 0,5 мг/добу до приблизно 45 мг/добу 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру.
5. Спосіб за п. 1, де мультиформна гліобластома відрізняється експресією білка MGMT.
6. Спосіб за п. 1, де мультиформна гліобластома відрізняється гіпометилуванням промотору MGMT.
- 55 7. Спосіб одержання оцінки відповіді згідно з висновками робочої групи з нейроонкології (RANO) у випадку повної відповіді, часткової відповіді на лікування мультиформної гліобластоми або у випадку стабільного захворювання у хворого на мультиформну гліобластоми, що відрізняється експресією MGMT і/або гіпометилуванням промотору MGMT, що включає введення зазначеному пацієнту ефективної кількості 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-

іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру.

8. Спосіб за п. 7, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активований сигнальний шлях PI3K/mTOR.

5 9. Спосіб за п. 8, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активація сигнального шляху PI3K/mTOR відбувається в результаті мутації ERBB2, мутації або делеції PTEN, мутації або делеції NF1, мутації PIK3Ca, мутації або надекспресії EGFR, ампліфікації Met, активації або ампліфікації PDGFRa, ампліфікації АКТ або їхньої комбінації.

10. Спосіб за п. 7, де мультиформна гліобластома відрізняється експресією білка MGMT.

10 11. Спосіб за п. 7, де мультиформна гліобластома відрізняється гіпометилуванням промотору MGMT.

12. Спосіб інгібування фосфорилювання S6RP, 4E-BP1 і/або АКТ у пацієнта з мультиформною гліобластою (GBM), що відрізняється експресією білка MGMT або гіпометилуванням промотору MGMT, який включає введення ефективної кількості зазначеному пацієнту 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру.

13. Спосіб за п. 10, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активований сигнальний шлях PI3K/mTOR.

20 14. Спосіб за п. 13, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активація сигнального шляху PI3K/mTOR відбувається в результаті мутації ERBB2, мутації або делеції PTEN, мутації або делеції NF1, мутації PIK3Ca, мутації або надекспресії EGFR, ампліфікації Met, активації або ампліфікації PDGFRa, ампліфікації АКТ або їхньої комбінації.

15. Спосіб за п. 10, де мультиформна гліобластома відрізняється експресією білка MGMT.

25 16. Спосіб за п. 10, де мультиформна гліобластома відрізняється гіпометилуванням промотору MGMT.

17. Спосіб інгібування активності ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-ПК) у пацієнта з мультиформною гліобластою (GBM), що відрізняється експресією білка MGMT або гіпометилуванням промотору MGMT, який включає введення ефективної кількості зазначеному пацієнту 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру.

30 18. Спосіб за п. 17, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активований сигнальний шлях PI3K/mTOR.

35 19. Спосіб за п. 18, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активація сигнального шляху PI3K/mTOR відбувається в результаті мутації ERBB2, мутації або делеції PTEN, мутації або делеції NF1, мутації PIK3Ca, мутації або надекспресії EGFR, ампліфікації Met, активації або ампліфікації PDGFRa, ампліфікації АКТ або їхньої комбінації.

20. Спосіб за п. 17, де мультиформна гліобластома відрізняється експресією білка MGMT.

21. Спосіб за п. 17, де мультиформна гліобластома відрізняється гіпометилуванням промотору MGMT.

40 22. Спосіб вимірювання інгібування фосфорилювання S6RP, 4E-BP1 або АКТ у пацієнта з мультиформною гліобластою (GBM), що відрізняється експресією білка MGMT або гіпометилуванням промотору MGMT, який включає введення ефективної кількості зазначеному пацієнту 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру, вимірювання

45 кількості фосфорилюваного S6RP, 4E-BP1 або АКТ у зазначеного пацієнта і порівняння зазначеної кількості фосфорилюваного S6RP, 4E-BP1 або АКТ з кількістю у зазначеного пацієнта перед введенням ефективної кількості 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру.

50 23. Спосіб за п. 22, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активований сигнальний шлях PI3K/mTOR.

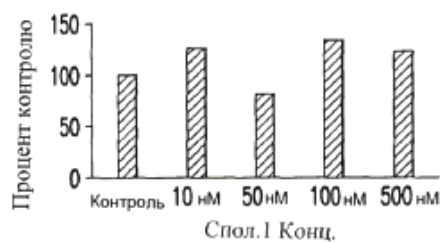
24. Спосіб за п. 23, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активація сигнального шляху PI3K/mTOR відбувається в результаті мутації ERBB2, мутації або делеції PTEN, мутації або делеції NF1, мутації PIK3Ca, мутації або надекспресії EGFR, ампліфікації Met, активації або ампліфікації PDGFRa, ампліфікації АКТ або їхньої комбінації.

55 25. Спосіб за п. 22, де мультиформна гліобластома відрізняється експресією білка MGMT.

26. Спосіб за п. 22, де мультиформна гліобластома відрізняється гіпометилуванням промотору MGMT.

60 27. Спосіб вимірювання інгібування фосфорилювання ДНК-ПК S2056 у шкірному зразку пацієнта з мультиформною гліобластою (GBM), що відрізняється експресією білка MGMT або

- гіпометилуванням промотору MGMT, який включає введення ефективної кількості 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру зазначеному пацієнту, вимірювання кількості фосфорилуваної S2056 ДНК-ПК, що присутня у шкірному зразку, і порівняння
- 5 зазначеної кількості фосфорилуваної S2056 ДНК-ПК з кількістю в шкірному зразку зазначеного пацієнта перед введенням ефективної кількості 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру.
- 10 28. Спосіб за п. 27, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активований сигнальний шлях PI3K/mTOR.
29. Спосіб за п. 28, де мультиформна гліобластома є гліобластою, при якій активація сигнального шляху PI3K/mTOR відбувається в результаті мутації ERBB2, мутації або делеції PTEN, мутації або делеції NF1, мутації PIK3Ca, мутації або надекспресії EGFR, ампліфікації Met, активації або ампліфікації PDGFRa, ампліфікації AKT або їхньої комбінації.
- 15 30. Спосіб за п. 27, де мультиформна гліобластома відрізняється експресією білка MGMT.
31. Спосіб за п. 27, де мультиформна гліобластома відрізняється гіпометилуванням промотору MGMT.
32. Набір, який містить 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-он або його фармацевтично прийнятну сіль або таутомер і
- 20 засоби для моніторингу відповіді пацієнта на введення зазначеного 1-етил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин-3-іл)-3,4-дигідропіразино[2,3-b]піразин-2(1H)-ону або його фармацевтично прийнятної солі або таутомеру, де зазначений пацієнт страждає на мультиформну гліобластому (GBM), що відрізняється експресією білка MGMT або гіпометилуванням промотору MGMT.
- 25 33. Набір за п. 32, де мультиформна гліобластома відрізняється експресією білка MGMT.
34. Набір за п. 32, де мультиформна гліобластома відрізняється гіпометилуванням промотору MGMT.



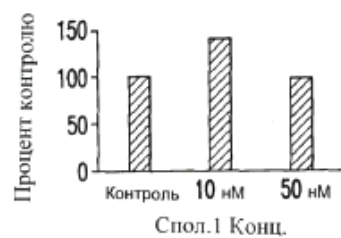
Фіг. 1А



Фіг. 1В



Фіг. 1С



Фіг. 1D

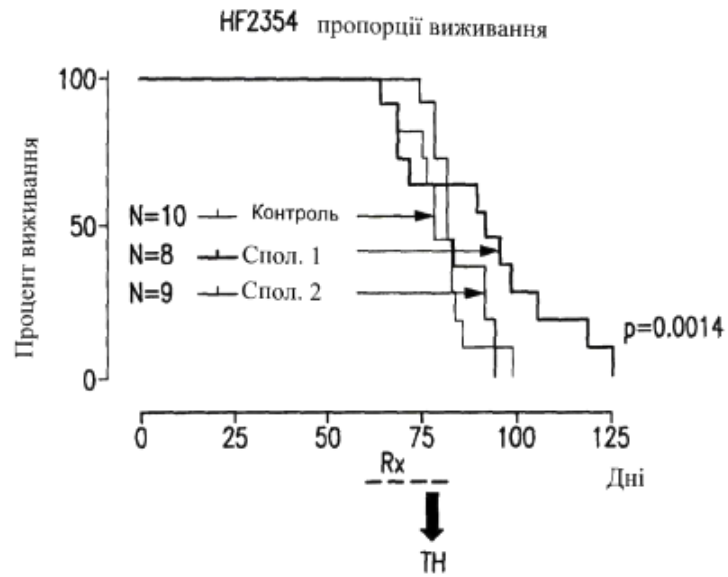


Fig. 2

Комп'ютерна верстка В. Юкін

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601