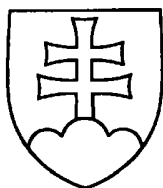


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ  
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA**

- (22) Dátum podania prihlášky: **23. 9. 1999**  
(31) Číslo priority: **60/109 065**  
(32) Dátum podania priority: **19. 11. 1998**  
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority **US**  
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **5. 2. 2002**  
Vestník ÚPV SR č.: **2/2002**  
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:  
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/US99/22116**  
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO00/31048**

(11), (21) Číslo dokumentu:

**657-2001**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.7 :

**C07D239/94,  
A61K 31/517**

(71) Prihlasovateľ: **WARNER-LAMBERT COMPANY, Morris Plains, NJ, US;**

(72) Pôvodca: **Bridges Alexander James, Saline, MI, US;**  
**Driscoll Denise, Ann Arbor, MI, US;**  
**Klohs Wayne Daniel, Ypsilanti, MI, US;**

(74) Zástupca: **Bušová Eva, JUDr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **N-[4-(3-Chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolin-4-yl-propoxy)-chinazolin-6-yl]-akrylamid, ireverzibilný inhibítor tyrozín-kináz**

(57) Anotácia:  
Opísaná je zlúčenina N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolin-4-yl-propoxy)-china-zolin-6-yl]-akrylamidu, ktorá je ireverzibilným inhibítorom tyrozín-kináz, farmaceutické prostriedky s jej obsahom a jej použitie na výrobu liečiva na liečenie aterosklerózy, restenózy, endometriózy a psoriázy

**SK 657-2001 A3**

N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamid, ireverzibilný inhibítor tyrozín-kináz

### Oblasť techniky

Predkladaný vynález se týka zlúčeniny N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu, ktorá je ireverzibilným inhibítorom tyrozín-kináz. Predkládaný vynález sa tiež týka spôsobov liečby nádorov, aterosklerózy, restenózy, endometriózy a psoriázy za použitia zlúčeniny N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu a farmaceutických prostriedkov obsahujúcich zlúčeninu N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamid.

### Doterajší stav techniky

Nádory sa považujú za ochorenia vznikajúci v dôsledku intracelulárnej signalizácie alebo mechanizmu prenosu signálu. Bunky dostávajú príkazy z veľa extracelulárnych zdrojov, a tieto príkazy určujú to, či budú alebo nebudú bunky proliferovať. Účelom systémov prenosu signálu je získať tieto a iné signály na povrchu buniek, preniesť je do buniek a potom do jadra, cytoskeletu, transportných systémov a systémov pre syntézu proteínov.

Najčastejšou príčinou nádorov je séria defektov, buď v týchto proteínoch, ak sú mutované, alebo v regulácii množstva proteínu v bunkách tak, že je nadmerne alebo nedostatečne produkovaný. Najčastejšie existujú kľúčové lézie

v bunkách, ktoré vedú k trvalému stavu, pri ktorom dostávajú bunéčné jadrá signál k proliferácii, aj keď nie je v skutočnosti tento signál prítomný. Toto môže prebehnúť veľa mechanizmy. Niekedy môže bunka začať produkovať skutočný rastový faktor pre svoje vlastné receptory, keď by v skutočnosti nemala, čo sa označuje ako mechanizmus autokrínnej smyčky. Mutácie receptorov bunéčného povrchu, ktoré používajú zvyčajne k signalizácii do buniek tyrozín-kináz, môžu viesť k aktivácii kinázy za neprítomnosti ligandu a k prenosu signálu, ktorý v skutočnosti neexistuje. Alternatívne môže byť veľa povrchových kináz nadmerne exprimované na povrchu buniek, čo vedie k neprimerane silnej odpovedi na slabý signál. V bunke existuje veľa úrovní, na ktorých môžu mutácie alebo nadmerná expresia viesť k rovnakému chybnému signálu v bunke, a na nádoroch sa účastní veľa druhov defektov signalizácie. Predkládaný vynález sa týka nádorov, na ktorých sa účastnia tri práve popísané mechanizmy a ktoré nesú povrchové receptory pre tyrozín-kinázovou rodinu receptorov pre epidermálny rastový faktor (EGFR). Táto rodina sa skladá z EGF receptoru (tiež označovaného ako erbB1), erbB2 receptoru a ich konštitutívne aktivovaných mutantných onkoproteínov Neu, erbB3 receptoru a erbB4 receptoru. Ďalej, iné biologické procesy riadené prostredníctvom členov EGF rodiny receptorov môžu byť tiež liečené zlúčeninami podľa predkladaného vynálezu popísanými ďalej.

Nejdôležitejšími ligandmi pre EGFR sú epidermálny rastový faktor (EGF) a transformujúci rastový faktor  $\alpha$  (TGT $\alpha$ ). Zdá sa, že tieto receptory majú iba minimálny význam u dospelých ľudí, ale jednoznačne sa účastnia chorobných procesov, ako je veľké množstvo nádorov, najmä nádorov tlstého čreva a prsu. Hlavnými ligandmi pre blízke príbuzné erbB2 (HER2), erbB3 (HER3) a erbB4 (HER4) receptory je rodina Heregulínov, a nadmerné

expresie a mutácie receptoru boli preukázané ako hlavný rizikový faktor pre zlú prognózu karcinómu prsu. Ďalej bolo preukázané, že všetky štyri členovia tejto rodiny receptorov môžu tvoriť heterodimerické signalizačné komplexy s inými členmi rodiny, a že toto môže viesť pri nadmernej expresii viacej ako jedného člena rodiny u malignity k synergnej transformačnej kapacite. Bolo preukázané, že nadmerná expresia viacej ako jedného člena rodiny je u ľudských malignít relatívne bežná.

Okrem nádorov je restenóza tiež ochorením, pri ktorom dochádza k nežiadúcej proliferácii buniek. Restenóza vzniká v dôsledku proliferácie buniek hladkého svalu ciev. Restenóza je hlavným klinickým problémom spojeným s koronárnou angioplastikou a inými lekárskymi zákrokmi. Restenóza sa zvyčajne vyskytuje počas približne 0 až 6 mesiacov u približne 30% až 50% pacientov, ktorí predelali balónkovú angioplastiku pre spriechodnenie upchatých koronárných artérií pri liečbe ochorenia srdca spôsobeného zúženými artériami. Vzniklá restenóza spôsobuje značnú morbiditu pacienta a zvyšuje náklady na zdravotnú péču.

Proces restenózy je iniciovaný poranením ciev, vrátane tepien a žíl, s nasledným uvoľnením trombogenných, vazoaktívnych a mitogenných faktorov. Poranenie endotelu a hlbších vrstiev cievy vedie k agregácii trombocytov, tvorbe trombu, zápalu a aktiváciu makrofágov a buniek hladkého svalu. Tieto deje indukujú produkciu a uvoľňovanie rastových faktorov a cytokínov, ktoré potom môžu podporovať svoju vlastnú syntézu a uvoľňovanie z cieľových buniek. Tak je zahájený proces, ktorý sa sám udržuje a ktorý zahŕňa rastové faktory ako je EGF, trombocytárny rastový faktor (PDGF) alebo fibroblastový rastový faktor (FGF). Preto je výhodné mať ireverzibilný

inhibitory drah prenosu signálu, najmä tyrozín-kináz ako je EGF, PDGF, FGF alebo src tyrozín-kináza.

Pre proliferatívne ochorenie kože psoriázu nie je v súčasnosti žiadna dobrá liečba. Toto ochorenie sa často lieči protinádorovými činidlami, ako je methothrexat, ktoré majú výrazné vedľajšie účinky a ktoré nemajú - pri dávkach limitovaných toxicitou - prílišnú účinnosť. Predpokladá sa, že TGF $\alpha$  je hlavným rastovým faktorom nadprodukovaným u psoriázy, pretože u 50% transgenných myši, ktoré nadmerne exprimujú TGF $\alpha$ , vznikne psoriáza. Toto naznačuje, že dobrý inhibítor EGFR signalizácie môže byť použitý ako antipsoriatické činidlo, výhodne, ale ne nezbytné, za lokálnej aplikácie.

V zrovnaní s reverzibilnými inhibítormi tyrozín-kináz sú ireversibilné inhibítory najmä výhodné, pretože môžu byť použité pre predĺženú inhibíciu tyrozín-kináz, ktorá je obmedzená iba normálnou rýchlosťou resyntézy receptorov, ktorá sa označuje tiež ako obrat.

Informácie o úlohe src tyrozín-kináz v biologických procesoch, ktoré súvisia s nádormi a restenózou sú uvedené v nasledujúcich dokumentoch, ktoré sú tu všetky inkorporované ako odkazy.

Benjamin, C.W. and Jones, D.A., Platelet-Derived Growth Factor Stimulates Growth Factor Receptor Binding Protein-2 Association with Src In Vascular Smooth Muscle Cells, JBC, 1994, 269: 30911-30916;

Kovalenko, M. et al., Selective Platelet-Derived Growth Factor Receptor Kinase Blockers Reverse Cis-transformation, Cancer Res., 1994, 54: 6106-6114;

Schwartz R.S., et al., The Restenosis Paradigm Revisted: An Altemative Proposal for Cellular Mechanisms, J. Am. Coll. Cardiol, 1992;20:1284-1293;

Libby P. et al., Cascade Model for Restenosis - A Special Case of Atherosclerosis Progression, Circulation, 1992;86:47-52.

Ďalšie informácie o úlohe EGF tyrozín-kináz v biologických procesoch, ktoré súvisia s nádormi a restenózou sú uvedené v nasledujúcich dokumentoch, ktoré sú tu všetky inkorporované ako odkazy.

Jonathan Blay and Morley D. Hollenberg, Heterologous Regulation Of EGF Receptor Function In Cultured Aortic Smooth Muscle Cells, Eur. J. Pharmacol., Mol. Pharmacol. Sect., 1989;172(1):17.

Informácie o tom, že protilátky k EGF alebo EGFR majú protinádorovú aktivitu, sú uvedené v nasledujúcich dokumentoch, ktoré sú tu všetky inkorporované ako odkazy.

Modjahedi H., Eccles S., Box G., Styles J., Dean C., Immunotherapy Of Human Tumour Xenografts Overexpressing The EGF Receptor With Rat Antibodies That Block Growth Factor-Receptor Interaction, Br. J. Cancer, 1993;67:254-261.

Kurachi H., Morishige K.I., Amemiya K., Adachi H., Hirota K., Miyake A., Tanizawa O., Importance Of Transfonning Growth Factor Alpha/Epidermal Growth Factor Receptor Autocrine Growth Mechanism In An Ovarian Cancer Cell Line In Vivo, Cancer Res., 1991;51:5956-5959.

Masui H., Moroyama T., Mendelsohn J., Mechanism Of Antitumor Activity In Mice For Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibodies With Different Isotypes, *Cancer Res.*, 1986;46:5592-5598.

Rodeck U., Herlyn M., Herlyn D., Molthoff C., Atkinson B., Varello M., Steplewski Z., Koprowski H., Tumor Growth Modulation By A Monoclonal Antibody To The Epidermal Growth Factor Receptor: Immunologically Mediated And Effector Cell-Independent Effects, *Cancer Res.*, 1987;47:3692-3696.

Guan E., Zhou T., Wang J., Huang P., Tang W., Zhao M., Chen Y., Sun Y., Growth Inhibition Of Human Nasopharyngeal Carcinoma In Athymic Mice By Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibodies, *Internat. J. Cell Clon.*, 1989;7:242-256.

Masui H., Kawamoto T., Sato J.D., Wolf B., Sato G., Mendelsohn J., Growth Inhibition Of Human Tumor Cells In Athymic Mice By Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibodies, *Cancer Res.* 1984;44:10021007.

Ďalej, nasledujúce dokumenty uvádzajú protinádorovú aktivitu inhibítorov proteín tyrozín-kináz. Tieto dokumenty sú tu uvedené ako odkazy.

Buchdunger E., Trinks U., Mett H., Regenass U., Muller M., Meyer T., McGlynn E., Pinna L.A., Traxler P., Lydon N.B. 4,5-Dianilinophthalimide: A Protein Tyrosine Kinase Inhibitor With Selectivity For The Epidermal Growth Factor Receptor Signal Transduction Pathway And Potent In Vivo Antitumor Activity" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994;91 :2334-2338.

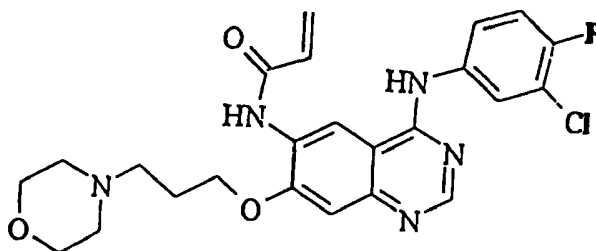
Buchdunger E., Mett H., Trinks U., Regenass U., Muller M., Meyer T., Beilstein P., Wirz B., Schneider P., Traxler P., Lydon N., 4,5-Bis(4-Fluoroanilino)Phthalimide: A Selective Inhibitor Of The Epidermal Growth Factor Receptor Signal Transduction Pathway With Potent In Vivo Mdd Antitumor Activity, *Clinical Cancer Research*, 1995;1:813-821.

Zlúčeniny, ktoré sú ireverzibilnými inhibítormi tyrozín-kináz, boli popísané v US patentoch č. 5,457,105, 5,475,001, a 5,409,930 a v PCT prihláškach č. WO 9519774 a WO 9519970. Zlúčenina podľa predkladaného vynálezu, ktorá je štrukturálne odlišná od inhibítorov tyrozín-kináz popísaných vo vyššie uvedených dokumentoch, je ireverzibilným inhibítorm tyrozín-kináz.

PCT prihláška č. PCT/US97/05778 (prihláška č. WO 97/38983), ktorá je tu uvedená ako odkaz, popisuje zlúčeniny, ktoré sú ireverzibilnými inhibítormi tyrozín-kináz.

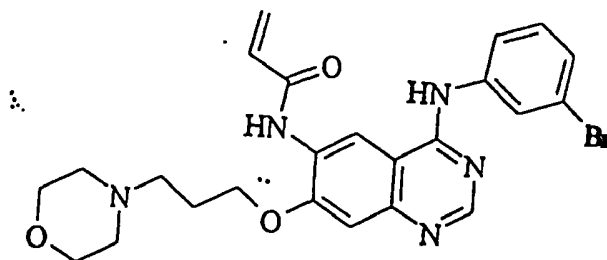
Generický vzorec uvedený v PCT prihláške zahŕňa zlúčeninu N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-chinazolín-6-yl)]-akrylamid (tu "zlúčeninu 1"), ale zlúčenina 1 nie je v PCT prihláške špecificky uvedená.

Zlúčenina 1 má nasledujúcu chemickú štruktúru:



Zlúčenina 1

PCT prihláška popisuje v príklade 21 zlúčeninu N-[4-(3-brómfenyl)amino]-7-[3-(4-morfolín)-propoxy]chinazolín-6-yl]-akrylamid, ktorá má nasledujúci chemický vzorec:



Príklad 21

Zlúčenina 1 sa liší od zlúčeniny príkladu 21 v substitúcii fenylového kruhu, ktorý je naviazaný na chinolínovú skupinu prostredníctvom atómu dusíka. Fenylový kruh zlúčeniny 1 je substituovaný v 3-pozícii chlóróm a v 4-pozícii fluórom. Naopak, fenylový kruh zlúčeniny príkladu 21 PCT prihlášky (tu "príklad 21") je substituovaný iba v 3-pozícii brómóm. Ačkoľvek majú tieto dve zlúčeniny podobnú štruktúru, vykazuje zlúčenina 1 prekvapivé a neočakávané vlastnosti *in vivo* v srovnaní so zlúčeninou príkladu 21 PCT prihlášky.

v niektorých testoch, ale majú výrazne odlišnú aktivitu in vivo.

### Podstata vynálezu

Predkládaný vynález poskytuje zlúčeninu N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamid, alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ.

Vynález tiež poskytuje farmaceuticky prijateľný prostriedok, ktorý obsahuje N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamid.

Vynález tiež zahrnuje spôsob pre liečbu nádorov, pri ktorom je pacientovi s nádorovým ochorením podané terapeuticky účinné množstvo N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu.

Ve výhodnom prevedení spôsobu liečby nádorov je nádorom karcinóm prsu.

Ve výhodnom prevedení spôsobu liečby nádorov je nádorom karcinóm tlstého čreva.

Vynález tiež zahrnuje spôsob pre liečbu alebo prevenciu restenózy, pri ktorom je pacientovi s restenózou alebo rizikom restenózy podané terapeuticky účinné množstvo N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu.

Vynález tiež zahrnuje spôsob pre ireversibilnú inhibíciu tyrozín-kináz, pri ktorom je pacientovi, ktorý potrebuje inhibíciu tyrozín-kináz, podané množstvo N-[4-(3-chlór-4-

fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu inhibujúci tyrozín-kinázy.

Ve výhodnom prevedení spôsobu pre ireverzibilnú inhibíciu tyrozín-kináz je tyrozín-kinázou EGFR.

Ve výhodnom prevedení spôsobu pre ireverzibilnú inhibíciu tyrozín-kináz je tyrozín-kinázou erbB2.

Ve výhodnom prevedení spôsobu pre ireverzibilnú inhibíciu tyrozín-kináz je tyrozín-kinázou erbB4.

Vynález tiež zahrnuje spôsob pre liečbu psoriázy, pri ktorom je pacientovi s psoriázou podané terapeuticky účinné množstvo N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu.

Vynález tiež zahrnuje spôsob pre aterosklerózy, pri ktorom je pacientovi s aterosklerózou podané terapeuticky účinné množstvo N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu.

Vynález tiež zahrnuje spôsob pre liečbu endometriózy, pri ktorom je pacientovi s endometriózou podané terapeuticky účinné množstvo N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu.

Vynález tiež zahrnuje spôsob pre inhibíciu sekrecie VEGF, pri ktorom je pacientovi, ktorý potrebuje inhibíciu sekrecie VEGF, podané terapeuticky účinné množstvo N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu.

Vynález tiež zahrnuje spôsob pre inhibíciu fosforylácie tyrozínu erbB3, pri ktorom je pacientovi, ktorý potrebuje inhibíciu fosforylácie tyrozínu erbB3, podané terapeuticky účinné množstvo N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu.

Podrobný popis vynálezu

Predkládaný vynález poskytuje zlúčeninu N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamid (zlúčeninu 1), alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ.

Zlúčenina 1 je ireverzibilný inhibítor tyrozín-kináz, konkrétne EGFR tyrozín-kinázy. Medzi ďalšie tyrozín-kinázy, ktoré môžu byť inhibované zlúčeninou 1, patria FGFR, PDGFR, c-src, erbB2 a erbB4. Terapeuticky účinné množstvo zlúčeniny 1 môže byť podané pacientovi s nádorom, pacientovi s restenózou alebo s rizikom restenózy, pacientovi s psoriázou, aterosklerózou alebo rizikom aterosklerózy, alebo s endometriózou. Odborníci v obore ľahko identifikujú pacientov s nádorom, restenózou, psoriázou, aterosklerózou alebo endometriózou, alebo pacientov s rizikom restenózy alebo aterosklerózy. Napríklad, pacienti s rizikom restenózy sú pacienti po angioplastike, by-passu alebo transplantácii. Obdobne, medzi pacientov s rizikom vzniku aterosklerózy patria pacienti, ktorí sú obézni, jedia veľa tukov, majú vysoké hladiny cholesterolu alebo majú hypertenziu. Termín "pacient" označuje zvieratá, ako sú psi, mačky, kravy, ovce, a tiež zahrnuje ľudí.

Termín "nádorové ochorenie" zahŕňa, napríklad, nasledujúce nádory: prsu, vaječníkov, čipku deložného, prostaty, varlat, jícnu, glioblastóm, neuroblastóm, žalúdka, kože (keratoakantóm), pľúc (epidermoidný karcinóm, veľkobunečný karcinóm, adenokarcinóm), kosti, tlstého čreva (adenokarcinóm, adenóm), štítnej žľazy (folikulárny karcinóm, nediferencovaný karcinóm, papilárny karcinóm), seminóm, melanóm, sarkóm, karcinóm močového mechúra, karcinóm pečene a žlčových ciest, karcinóm ľadvín, nádorové ochorenia myeloídneho radu, nádorové ochorenia lymfoídneho radu (Hodgkinova choroba, vlasatobunečná leukémia), nádory dutiny ústnej, pery, jazyka, úst, hltanu, tenkého čreva, tlstého čreva - rekta, mozgu a centrálného nervového systému a leukémie.

Medzi výhodné nádory, ktoré môžu byť liečené zlúčeninou 1, patrí karcinóm prsu, tlstého čreva, rekta a vaječníkov.

Ďalej, zlúčenina 1 môže byť použitá pre liečbu pacientov, ktorí potrebujú inhibíciu sekrecie vaskulárneho endotelového rastového faktoru (VEGF). Medzi pacienty, ktorí potrebujú inhibíciu sekrecie VEGF patria pacienti s nádormi, diabetickou retinopatiou, reumatoídnu artritídou, psoriázou, restenózou, aterosklerózou, osteoporózou, endometriózou, pacienti pri implantácii embrya alebo pacienti s iným ochorením, pri ktorom hraje úlohu angiogenézia alebo neovaskularizácia.

Zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu môžu byť použité pre inhibíciu fosforylácie tyrozínu erbB3. Pacienti, ktorí potrebujú inhibíciu fosforylácie tyrozínu erbB3 sú pacienti, ktorí majú alebo sú rizikovní z hľadiska ochorení uvedených v súvislosti s inhibíciou EGFR a inhibíciou sekrecie VEGF.

Zlúčenina 1 môže byť podaná ľuďom alebo zvieratom orálne, rektálne, parenterálne (intravenózne, intramuskulárne alebo podkožne), intracisternálne, intrarvaginálne, intraperitoneálne, intravezikálne, lokálne (prášky, masti a alebo kvapky) alebo vo forme bukálnych alebo nasálnych sprejov. Zlúčenina môže byť podaná samostatne alebo ako súčasť farmaceuticky prijateľného prostriedku, ktorý obsahuje farmaceuticky prijateľné prísady.

Prostriedky vhodné pre parenterálne injekcie môžu obsahovať fyziologicky prijateľné sterilné vodné alebo nevodné roztoky, disperzie, suspenzie alebo emulzie, a sterilné prášky pre rekonštitúciu do sterilných injekčných roztokov alebo disperzií. Príklady vhodných vodných a nevodných nosičov, riedidel, rozpúšťadiel alebo vehikúl zahŕňujú vodu, etanol, polyoly (propylénglykol, polyetylénglykol, glycerol a podobne), ich zmesi, rastlinné oleje (ako je olivový olej) a injekčné organické estery, ako je etyloléát. Správna tekutosť môže byť udržiavaná, napríklad, použitím poťahov ako je lecitín, udržiavanie vhodnej veľkosti častíc v prípade disperzie a použitím surfaktantov.

Tieto prostriedky môžu tiež obsahovať pomocné činidlá, ako sú konzervačné činidlá, zmáčavé činidlá, emulgačné činidlá a dávkovacie činidlá. Prevencia pôsobenia mikroorganizmov môže byť zaistená rôznymi antibakteriálnymi a antimykotickými činidlami, ako sú napríklad parabény, chlórbutanol, fenol, kyselina sorbová a podobne. Môže byť žiadúce použitie činidiel upravujúcich izotonicitu, ako sú napríklad cukry, chlorid sodný a podobne. Predĺžené absorpcie injekčných farmaceutických foriem môže byť dosiahnuté za použitia činidiel oddalujúcich absorpciu, ako je napríklad monostearan hlinitý a želatína.

Medzi pevné dávkové formy pre orálne podanie patria kapsle, tablety, pilulky, prášky a granule. V takých pevných dávkových formách je aktívna zlúčenina zmiešaná s aspoň jednou bežnou prísadou (alebo nosičom), ako je citrát sodný alebo fosforečnan vápenatý alebo (a) plnivami alebo činidlami zvyšujúcimi objem, ako sú napríklad škroby, laktóza, sacharóza, glukóza, manitol a kyselina kremičitá; (b) pojivami, ako je napríklad karboxymetylcelulóza, algináty, želatína, polyvinylpyrrolidón, sacharóza a arabská klovatína; (c) zvlhčovacími činidlami, ako je napríklad glycerol; (d) činidlami podporujúcimi rozpadavosť, ako je napríklad agár-agár, uhličitan vápenatý, zemiakový alebo tapiokový škrob, kyselina alginová, niektoré komplexné kremičitany a uhličitan sodný; (e) činidlami spomalujúcimi rozpúšťanie, ako je napríklad parafín; (f) činidlami zrychlujúcimi absorpciu, ako sú napríklad kvartérne amóniové zlúčeniny; (g) zmáčavými činidlami, ako je napríklad cetyl alkohol a glycetrolmonostearát; (h) adsorbenty, ako je napríklad kaolín alebo bentonit; a (i) kĺznymi činidlami, ako je napríklad talk, stearan horečnatý, pevné polyetylénglykoly, lauryl síran sodný alebo ich zmesi. V prípade kapslí, tabliet a piluliek môžu tieto dávkové formy obsahovať tiež pufrovacie činidla.

Pevné prostriedky podobného typu môžu byť použité tiež ako náplne kapslí z tuhej alebo mäkkej želatíny, za použitia prísad ako je laktóza alebo mliečny cukor, rovnako ako polyetylénglykoly s vysokou molekulovou hmotnosťou a podobne.

Pevné dávkové formy, ako sú tablety, dražé, kapsle, pilulky a granule môžu byť pripravené s potahmi alebo obalmi, ako sú enterálne potahy a iné potahy známe v obore. Tieto potahy môžu obsahovať činidla nepriepustná pre svetlo a môžu mať také

zloženie, že uvoľňujú aktívnu zlúčeninu v niektorej časti črevného traktu. Príklady prostriedkov pre inkorporáciu aktívnej zložky sú polymerické substancie a vosky. Aktívna zlúčenina môže byť tiež v mikroenkapsulovanej forme, pokiaľ je to vhodné, tak s jednou alebo viacej z vyššie uvedených prísad.

Kvapalnú dávkovú formu pre orálne podanie zahŕňujú farmaceuticky prijateľné emulzie, roztoky, suspenzie, sirupy a elixíry. Kvapalnú dávkovú formu môžu okrem aktívnej zlúčeniny obsahovať inertné riedidlá bežne používané v obore, ako je voda a iné rozpúšťadlá, solubilizačné činidlá a emulgačné činidlá, ako je napríklad etylalkohol, izopropylalkohol, etylkarbonát, etylacetát, benzylalkohol, benzylbenzoát, propylénglykol, 1,3-butylénglykol, dimetylformamid, oleje, konkrétne olej z bavlníkových semien, podzemnicový olej, kukuričný olej, olivový olej, ricínový olej a sezamový olej, glycerol, tetrahydrofurfurylalkohol, polyetylénglykoly a sorbitanové estery mastných kyselín alebo zmesi týchto substancií, a podobne.

Okrem inertných riedidiel môže prostriedok tiež obsahovať pomocné činidlá, ako sú zmáčavé činidlá, emulgačné alebo suspenzačné činidlá, sladidlá, chuťové korigens a činidlá upravujúca vôňu prostriedku.

Suspenzia môže okrem aktívnej zlúčeniny obsahovať suspenzačné činidlá, ako sú napríklad etoxylované izostearylalkoholy, polyoxyetylensorbitan a sorbitanové estery, mikrokryštalická celulóza, metahydroxid hlinitý, bentonit, agár-agár a tragant, alebo zmesi týchto substancií a podobne.

Prostriedky pre rektálne podanie sú výhodne čípky, ktoré môžu byť pripravené zmiešaním zlúčenín podľa predkladaného vynálezu s vhodnými nedráždivými priesadami alebo nosičmi, ako je kakaové maslo, polyetylén glykol alebo čípkový vosk, ktoré sú pevné pri teplote miestnosti, ale kvapalné pri telesnej teplote a preto sa topia v rekte alebo vagíne a uvoľňujú aktívnu zložku.

Medzi dávkové formy pre lokálne podanie patria masti, prášky, spreje a inhalačné prostriedky. Aktívna zložka sa zmieša za sterilných podmienok s fyziologicky prijateľným nosičom a akýmkoľvek konzervačným činidlom, pufrom alebo hnacím plynom, ktoré sú potrebné. Oftalmologické prostriedky, očné masti, prášky a roztoky tiež spadajú do rozsahu predkladaného vynálezu.

Termín "farmaceuticky prijateľné soli, estery, amidy a proliečiva", ako je tu použitý, označuje tie karboxylátové soli, adičné soli s aminokyselinami, estery, amidy a proliečiva zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu, ktoré sú podľa lekárskeho znalosti vhodné pre použitie v kontakte s tkanivami pacienta bez nežiadúcej toxicity, dráždenia, alergické reakcie a podobne, s prijateľným pomerom prínos/riziko, a účinné pre požadované použitie, rovnako ako formy zlúčenín podľa predkladaného vynálezu tvorené obojetnými iónmi. Termín "soli" označuje relatívne netoxické adičné soli zlúčenín podľa predkladaného vynálezu s organickými a anorganickými kyselinami. Tieto soli môžu byť pripravené in situ počas konečnej izolácie a prečistenie zlúčeniny alebo samostatne reakciou prečistené zlúčeniny vo forme voľnej bázy s vhodnou organickou alebo anorganickou kyselinou a izoláciou takto vzniklej soli. Príklady soli je hydrochlorid, hydrobromid, síran, kyselý síran, dusičnan, octan, šťavelan,

valerát, oleát, palmitát, stearát, laurát, boritan, benzoát, laktát, fosforečnan, tosylát, citrát, maleinan, fumarát, jantaran, vinan, naftylát, mesylát, glukohexanoát, laktobionát a laurysíran a podobne. Tieto soli môžu obsahovať kationy alkalických kovov a kovov alkalických zemin, ako je sodík, lítium, draslík, vápnik, horčík a podobne, rovnako ako netoxické amóniové, kvartérne amóniové a aminové kationy vrátane napríklad amónia, tetrametylamónia, tetraetylamónia, metylamínu, dimetylamínu, trimetylamínu, trietylamínu, etylamínu a podobne (viď napríklad S.M. Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 1977; 66: 1-19, ktorá je tu uvedená ako odkaz).

Príklady farmaceuticky prijateľných, netoxických esterov zlúčenín podľa predkladaného vynálezu zahŕňujú  $C_1$ - $C_6$ alkyl estery, kde alkylová skupina má priamy alebo rozvetvený reťazec. Prijateľnými esterami sú tiež  $C_6$ - $C_7$ cykloalkyl estery, rovnako ako arylalkyl estery, ako napríklad benzyl estery. Výhodné sú  $C_1$ - $C_6$ alkyl estery. Estery zlúčenín podľa predkladaného vynálezu môžu byť pripravené bežnými technikami.

Príklady farmaceuticky prijateľných, netoxických amidových zlúčenín podľa predkladaného vynálezu zahŕňujú amidy odvodené od amoniaku, primárnych  $C_1$ - $C_6$ alkylamínov a sekundárnych  $C_1$ - $C_6$ dialkylamínov, kde alkylová skupina má priamy alebo rozvetvený reťazec. V prípade sekundárnych amínov môže byť amín tiež vo forme 5- alebo 6-článkového heterocyklu obsahujúceho jeden atóm dusíka. Výhodné sú amidy odvodené od amoniaku, primárnych  $C_1$ - $C_6$ alkylamínov a sekundárnych  $C_1$ - $C_6$ dialkylamínov. Amidy zlúčenín podľa predkladaného vynálezu môžu byť pripravené bežnými metódami.

Termín "proliečivo" označuje zlúčeniny, ktoré sú rýchlo transformované in vivo za vzniku pôvodnej zlúčeniny vyššie uvedeného vzorca, napríklad hydrolýzou v krvi. Podrobnosti týkajúce sa proliečiv sú uvedené v T. Higuchi and V. Stella, "Prodrugs as Novel Delivery Systems", zväzok 14 A.C.S. Symposium Series, a v Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward, B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, ktoré sú tu uvedené ako odkazy.

Zlúčenina podľa predkládaného vynálezu môže byť podaná pacientovi v dávke v rozmedzí od približne 0,1 do približne 1000 mg na deň. Pre normálneho ľudského dospelého jedinca o telesnej hmotnosti približne 70 kg je dostatočná dávka v rozmedzí od približne 0,01 do približne 100 mg na kg telesnej hmotnosti na deň. Presná použitá dávka môže byť, ale však, rôzna. Dávka závisí na rôznych faktoroch, ako sú požiadavky pacienta, závažnosť liečeného ochorenia a farmakologická aktivita použitej zlúčeniny. Stanovenie optimálnych dávok pre jednotlivé pacienty je dobre známe odborníkom v obore.

Zlúčeniny podľa predkládaného vynálezu môžu existovať ako nerozpustené formy, rovnako ako formy rozpustené vo farmaceuticky prijateľných rozpúšťadloch, ako je voda, etanol a podobne. Obecne, rozpustené formy sú pre účely predkládaného vynálezu považované za rovnocenné nerozpusteným formám.

Predpokladá sa, že zlúčenina 1 môže byť produkovaná synteticky rovnako ako biologicky, napríklad metabolicky.

Nasledujúce príklady ilustrujú jednotlivé prevedenia vynálezu a nijako neobmedzujú predkladaný vynález, vrátane patentových nárokov.

Príklady prevedenia vynálezu

Zlúčenina 1 môže byť syntetizovaná nasledujúcim spôsobom:

N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-  
-chinazolín-6-yl]-akrylamid

Stupeň A: N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenyl)amino]-7-fluór-6-  
-nitrochinazolín

Práškový 4-chlór-7-fluór-6-nitrochinazolín (J. Med. Chem. 1996; 39: 918) (82,77 g, 363,7 mmol) sa pridá po dávkach počas 10 minút k mechanicky miešanému roztoku 3-chlór-4-fluoranolínu (53,183 g, 365,3 mmol) a N,N-dimetylanilínu (88,5 g, 730 mmol) v izopropanolu (1,09 l) pod atmosférou dusíka v ľadovej lázni. Ľadová lázeň sa odstráni na konci pridávania a zmes sa mieša pri teplote 25°C po dobu 6 hodín. Zmes sa potom znovu ochladí na ľadovej lázni a po kvapkách sa za miešania pridá voda (200 ml) a potom vodný roztok Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10% hmot./obj., 200 ml). Po ďalších 10 minútach sa zmes prefiltruje cez Buchnerovov lievnik a reziduálna pevná látka sa vypláchne riedeným roztokom NaHCO<sub>3</sub> (nasyteným/5, 2 x 100 ml), vodou (2 x 100 ml) a izopropanolom (2 x 100 ml). Zmes sa suší vzduchom a potom sa suší vo vákuovej peci cez P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pri 75 °C po dobu 12 hodín za zisku 4-[(3-chlór-4-fluorofenyl)amino]-7-fluór-6-nitrochinazolínu (110,71 g, 90,4%) vo forme horčicovo žltej pevnej substancie. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10,44 (s, 1 H, NH), 9,51 (d, J= 8,0 Hz, 1 H, H-5), 8,67 (s, 1 H, H-2), 8,07 (dd, J= 2,7, 6,8 Hz, 1 H, H-2'), 7,79 (d, J= 12,4 Hz, 1 H, H-8), 7,74 (ddd, J= 2,7, 4,2, 9,0 Hz, 1 H, H-6'), 7,43 (t, J= 9,2 Hz, 1 H, H-5').

Stupeň B: 4-[(3-chlór-4-fluórfenyl)amino]-7-[3-(4-

## -morfolín)propoxy]-6-nitrochinazolín

Roztok trimetylsilanolátu draselného (57,73 g, 0,45 mol) v dimetylsulfoxidu (DMSO) (150 ml) sa po kvapkách pridá počas 50 minút do svetlo žltej kaše 4-[(3-chlór-4-fluorofenyl)amino]-7-fluór-6-nitrochinazolínu (50,503 g, 150 mmol) a 3-(4-morfolín)propán-1-olu (32,67 g, 225 mmol) v DMSO (250 ml), miešanej dôkladne pod N pri 25 °C vo vodnej lázni. Ihneď vznikne tmavo červené sfarbenie a na konci adície vznikne tmavo červeno-čierna viskozna zmes. Po 6 hodinách sa reakčná zmes pomalu naleje na miešaný ľad-vodu (4 l) obsahujúci nasýtený roztok Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (150 ml). Po stániu po dobu 13 hodín sa oranžovo-červená kaša získa Buchnerovou filtráciou. Zrazenina sa vypláchne riedeným roztokom NaOH (0,05 M, 500 ml; 0,02 M, 500 ml), riedeným roztokom NaHCO<sub>3</sub> (nasýteným/5, 500 ml) a vodou (2 x 500 ml) a suší sa vzduchom a potom sa suší vo vákuovej piecke cez P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pri 50 °C po dobu 12 hodín za zisku 4-[(3-chlór-4-fluórfenyl)amino]-7-[3-(4-morfolín)propoxy]-6-nitrochinazolínu

(62,47 g, 89% korigovaný) vo forme svetiel oranžovo-žltej pevnej látky. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10,11 (s, 1 H, NH), 9,18 (s, 1 H, H-5), 8,65 (s, 1 H, H-2), 8,15 (dd, J = 2,4, 6,8 Hz, 1 H, H-2'), 7,79 (ddd, J = 2,7, 4,3, 9,0 Hz, 1 H, H-6'), 7,45 (t, J = 9,0 Hz, 1 H, H-5'), 7,44 (s, 1 H, H-8), 4,32 (t, J = 6,1 Hz, ArOCH<sub>2</sub>), 3,57 (J = 4,5 Hz, 4 H, H-2 morfolín), 2,45 (t, J = 6,5 Hz, 2 H, NCH<sub>2</sub>), 2,34 (brs, 4 H, H-3 morfolín), 1,93 (pentet, J = 6,5 Hz, 2 H, H-2 propoxy).

Stupeň C: 6-amino-4-[(3-chlór-4-fluórfenyl)amino]-7-[3-(4-morfolín)propoxy]chinazolín

Roztok 4-[(3-chlór-4-fluórfenyl)amino]-7-[3-(4-morfolín)propoxy]-6-nitrochinazolínu (62,9 g, 136,2 mmol) v

tetrahydrofuráne (THF) (1200 ml) sa hydrogenuje cez Raneyho nikel (20 g) pri 50 psi a 23°C po dobu 17,67 hodín. Pridá sa ďalší Raneyho nikel (20 g) a zmes sa hydrogenuje po dobu ďalších 4,33 hodín za rovnakých podmienok. Reakčná zmes sa prefiltruje cez celit a rozpúšťadlo sa odparí za redukovaného tlaku za zisku 6-amino-4-[(3-chlór-4-fluórfenyl)-amino]-7-[3-(4-morfolín)propoxy]chinazolínu (57,81 g, 97,6% korigovaný) vo forme svetlo zeleného pevného materiálu.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9,40 (s, 1 H, NH), 8,38 (s, 1 H, H-2), 8,20 (dd,  $J = 2,5, 7,0$  Hz, 1 H, H-2'), 7,79 (ddd,  $J = 2,5, 4,5, 9,0$  Hz, 1 H, H-6'), 7,40 (s, 1 H, H-5), 7,40 (t,  $J = 9,1$  Hz, 1 H, H-5'), 7,08 (s, 1 H, H-8), 5,38 (brs, NH), 4,19 (t,  $J = 6,1$  Hz, ArOCH), 3,58 (t,  $J = 4,4$  Hz, 4 H, H-2 morfolín), 2,49 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2 H, NCH), 2,36 (brs, 4 H, H-3 morfolín), 1,97 (pentet,  $J = 6,5$  Hz, 2 H, H-2 propoxy).

Stupeň D: N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamid

Izobutylchlorformiát (27,2 g, 0,20 mol) sa po kvapkách pridá počas 10 minút do roztoku kyseliny akrylovej (14,40 g, 0,20 mol) a trietylamínu (40,48 g, 0,40 mol) v THF (800 ml) miešaného pod dusíkom pri 0°C. Po ďalších 10 minútach sa biela kaša prenesie do chladiacej lázne o teplote -25°C a mieša sa pod dusíkom po dobu 20 minút. Po kvapkách sa počas 1,33 hodiny pridá 6-amino-[(3-chlór-4-fluórfenyl)amino]-7-[3-(4-morfolín)propoxy]chinazolín (43,19 g, 0,100 mol) v THF (500 ml). Teplota chladiacej lázne sa upraví na -20°C, a po ďalších 2,33 hodinách sa reakcia utlí pridaním vody (100 ml) v jednom podiele. Po 20 minútach sa reakčná zmes vnesie na drčaný ľad (2 kg), vieri sa a postupne sa riedi vodou (5 l). Zmes se nechá odstáť po dobu 16 hodín a potom sa filtruje cez Buchnerov lievnik. Zrazenina sa vypláchne vodou (2 x 1 l), suší

sa vzduchom po dobu 18 hodín a potom sa suší ve vákuovej piecke cez P-O<sub>2</sub> pri 60 °C po dobu 16 hodín za zisku surového N-[4-[(3-chlór-4-fluórfenyl)-amino]-7-[3-(4-morfolín)propoxy]-chinazolín-6-yl]-akrylamidu (35,76 g, 73% nekorigovaný) vo forme zeleno-žltého pevného materiálu. Z pôvodnej kvapaliny sa vyzráža ďalší pevný materiál, ktorý sa filtruje cez Buchnerov lievnik, premyje sa vodou (1 l) a suší se vzduchom po dobu 14 hodín za zisku ďalšieho surového materiálu (4,73 g, 10% nekorigovaný) vo forme zeleno-žltého pevného materiálu. Rekryštalizáciou tohto materiálu z DMSO sa získa naspäť 55% tohto materiálu vo forme svetlo žltého - khaki čiastočného hydrátu. t.t. 186,5-188,5 °C. Vypočítané pre C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>ClF<sub>2</sub>.0,85 H<sub>2</sub>O: C, 57,61; H, 5,37; N, 13,97%. Zistené: C, 57,51; H, 5,26; N, 13,88%. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 9,81 (s, 1 H, NH), 9,63 (s, 1 H, NH), 8,87 (s, 1 H, H-S), 8,54 (s, 1 H, H-2), 8,15 (dd, J= 2,5, 7,0, 1 H, H-2'), 7,81 (ddd, J= 2,7, 4,4, 9,0 Hz, 1 H, H-6'), 7,43 (t, J= 9,1 Hz, 1 H, H-5'), 7,30 (s, 1 H, H-8), 6,72 (dd, J= 10,1, 17,0 Hz, 1 H, H-2 akryloyl), 6,32 (d, J= 9, 17,0 Hz, 1 H, H-3 akryloyl), 5,83 (dd, J= 1,9, 10,1, Hz, 1 H, H-3 akryloyl), 4,27 (t, J= 6,2 Hz, ArOCH<sub>2</sub>), 3,58 (t, J= 4,4 Hz, 4 H, H-2 morfolín), 2,48 (t, J= 7,1 Hz, 2 H, NCH<sub>2</sub>), 2,36 (brs, 4 H, H-3 morfolín), 2,00 (pentet, J = 6,5 Hz, 2 H, H-2 propoxy). Hmotnostné spektrum APCI 489,2 (9), 488,2 (35), 487,2 (26), 486,2 (100).

Zlúčenina príkladu 21 PCT prihlášky č. PCT/US97/05778 môže byť syntetizovaná nasledujúcim spôsobom:

Zlúčenina príkladu 21: N-[4-(3-brómfenyl)amino]-7-[3-(4-morfolín)propoxy]chinazolín-6-yl]akrylamid

Sodík (27,6 mmol, 0,63 g) sa pridá do roztoku 3-morfolínpropán-1-olu (22,0 mmol, 3,20 g) v THF (60 ml) pod

atmosférou N<sub>2</sub>. Vzniklá suspenzia sa mieša pri 20 °C a potom sa kanylou pridá do roztoku 4-[(3-brómfenyl)amino]-7-fluór-6-nitro-chinazolínu (J. Med. Chem.. 1996(39):918) (2.0 g, 5,51 mmol) v THF (50 ml) pod atmosférou N<sub>2</sub>. Roztok sa potom zohrieva pri teplote spätného toku po dobu 24 hodín a potom sa nariedi vodou a extrahuje sa EtOAc. Kombinované organické extrakty sa sušia cez bezvodný Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, zahustia sa za redukovaného tlaku a spracujú sa chromatografiou na oxidu hlinitom za elúcie EtOAc/hexánom (1:1) až MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (2:3:5) za zisku 4-[(3-brómfenyl)-amino]-7-[(3-morfolín)propoxy]-6-nitrochinazolínu 1,75 g, 65%) vo forme svetlo žltého prášku, t.t. (MeOH) 216-220°C. <sup>1</sup>H NMR [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO]: δ 10,12 (s, 1H, NH), 9,24 (s~ 1H, aromatický), 8,69 (s, 1H, aromatický), 8,19 (t, J = 1,8 Hz, 1 H, H-2'), 7,88 (dt, 1d = 7,8 Hz, J = 1,4 Hz, 1H, H-6'), 7,49 (s, 1H, aromatický), 7,38 (t, J = 8,0 Hz, 1H, H-5'), 7,34 (dt, J<sub>d</sub> = 8,1 Hz, J<sub>r</sub> = 1,4 Hz, 1 H, H-4'), 4,35 (t, J = 6,2 Hz, 2H, CH-CH-CH-O), 3,58 (t, J = 4,6 Hz, 4H, morfolínmetylén), 2,45 (t, J = 7,0 Hz, 2H, NCH-CH-CH-), 2,37 (br s, 4H, morfolínmetylén), 1,94 (kvintet, J = 6,6 Hz, 2H, CH-CH-CH-). <sup>13</sup>C NMR: δ 157,76, 157,26, 153,76, 153,21, 140,32, 138,86, 130,37, 126,38, 124,26, 121,70, 121,13, 120,72, 110,11, 107,88, 67,87, 66,13 (x2), 54,42, 53,28 (x2), 25,30.

Analýza vypočítaná pre C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>·0,75 H<sub>2</sub>O vyžaduje:

C, 50,3; H, 4,7; N, 14,0%.

Zistené: C, 50,3; H, 4,4; N, 13,8%.

Čerstvo premytý (1N HCl a potom destilovaná H<sub>2</sub>O) železný prášok (12 mmol, 0,686 g) sa po častiach pridá do refluxujúceho roztoku vyššie uvedeného nitrochinazolínu (1,50 g, 3,07 mmol) v EtOH/H<sub>2</sub>O (2:1, 80 ml), ktorý obsahuje ľadovú kyselinu octovú. Vzniklá suspenzia sa zohrieva pri teplote spätného toku za dôkladného miešania po dobu 20 minút a potom sa ochladí, alkalizuje sa pridaním koncentrovaného NH<sub>3</sub> a

prefiltruje sa cez vrstvu celitu. Celitová vrstva sa premyje EtOH a potom sa filtrát zahustí za redukovaného tlaku, riedi sa vodou a extrahuje sa EtOAc. Kombinované organické extrakty sa sušia cez bezvodný Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, zahustia sa za redukovaného tlaku a spracujú sa chromatografiou na oxidu hlinitom grade III za elúcie CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (1:1) až MeOH/EtOAc (2:98) za zisku 6-amino-4-[(3-brómfenyl)-amino]-7-[(3-morfolín)propyloxy]chinazolínu (1,08 g, 77%) ve forme svetlo hnedého prášku, t.t. (EtOAc/hexán) 158-160 °C.

<sup>1</sup>H NMR [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO], (400 MHz): δ 9,37 (s, 1H, NH), 8,40 (s, 1H, aromatický), 8,24 (t, J = 1,9 Hz, 1H, H-2'), 7,86 (ddd, J = 8,2, 0,8, 1,8 Hz, 1H, H-6'), 7,42 (s, 1H, aromatický), 7,30 (t, J = 8,1 Hz, 1H, H-5'), 7,21 (ddd, J = 8,2, 1,0, 1,9 Hz, 1H, H-4'), 7,09 (s, 1H, aromatický), 5,36 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4,20 (t, J = 6,2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3,59 (t, J = 4,6 Hz, 4H, morfolín-metylén), 2,50 (t, J = 7,3 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2,39 (br s, 4H, morfolínmetylén), 1,99 (kvintet, J = 6,7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR: δ 154,88, 151,94, 150,19, 144,84, 141,94, 138,50, 130,16, 124,66, 123,02, 121,09, 119,65, 110,42, 106,37, 100,81, 66,45, 66,14 (x2), 54,77, 53,29(x2), 25,50.

Analýza vypočítaná pre C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·0,25 H<sub>2</sub>O vyžaduje:

C, 54,5; H, 5,3; N, 15,1%.

Zistené: C, 54,6; H, 5,5; N, 15,0%.

Do miešaného roztoku vyššie uvedeného 6-amino-chinazolínu (0,50 g, 1,09 mmol), kyseliny akrylovej (6 mol, 6,54 mmol, 449 μl) a Et<sub>3</sub>N (nadbytku, 2,0 ml) v DMF (20 ml) pod atmosférou N<sub>2</sub> sa pridá 1-(3-dimetyl-aminopropyl)-3-etylkarbodiimid, hydrochlorid (EDCl.HCl) (3 mol, 3,27 mmol, 627 mg). Reakčná zmes sa mieša pri 0 °C po dobu 15 minút a potom sa nechá zahriať na teplotu miestnosti a mieša sa po dobu ďalších 2 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni za redukovaného tlaku a získaný

zvyšok sa nariedi nasýteným roztokom NaHCO<sub>3</sub> a opakovane sa extrahuje EtOAc. Kombinované organické extrakty sa premyjú solankou, sušia sa cez bezvodný Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a zahustia sa za redukovaného tlaku. Po chromatografii na oxidu hlinitém grade III za elúcie EtOAc/hexán (9:1) až MeOH/EtOAc (2:98) sa získa N-[4-[(3-brómfenyl)amino]-7-[(3-morfolín)propyloxy]-chinazolín-6-yl]akrylamid (329 mg, 59%) vo forme krémovo sfarbeného prášku, t.t. (EtOAc/Et<sub>2</sub>O/hexán) 170-172°C.

<sup>1</sup>H NMR [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO]: δ 9,78 (s, 1H, CONH), 9,62 (s, 1H, NH), 8,89 (s, 1H, aromatický), 8,56 (s, 1H, aromatický), 8,18 (t, J = 1,9 Hz, 1H, H-2'), 7,88 (br d, J = 8,2 Hz, 1H, H-6'), 7,34 (t, J = 8,1 Hz, 1H, H-5'), 7,30 (s, 1H, aromatický), 7,27 (ddd, J = 7,9, 1,4, 0,8 Hz, 1H, H-4'), 6,72 (dd, J = 17,0, 10,2 Hz, 1H, CH·CHCO), 6,33 (dd, J = 17,0, 1,9 Hz, 1H, CH·CHCO), 5,83 (dd, J = 10,2, 1,9 Hz, 1H, CH·CHCO), 4,27 (t, J = 6,3 Hz; 2H, CH·CH·CH·O), 3,58 (t, J = 4,6 Hz, 4H, morfolínmetylén), 2,48 (t, J = 7,1 Hz, 2H, NCH·CH·CH·), 2,38 (br s, 4H, morfolínmetylén), 1,99 (kvintet, J = 6,7 Hz, 2H, CH·CH·CH·).

<sup>13</sup>C NMR: δ 163,49, 156,68, 154,96, 153,92, 149,19, 141,20, 131,58, 130,19, 127,16, 126,95, 125,52, 123,97, 121,03, 120,52, 116,78, 108,80, 107,28, 66,96, 66,14 (x2), 54,54, 53,28 (x2), 25,31.

Analýza vypočítaná pre C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>BrN<sub>2</sub>O·0,5 H<sub>2</sub>O vyžaduje:

C, 55,3; H, 5,2; N, 13,4%.

Zistené: C, 55,3; H, 4,9; N, 13,3%.

Srovnávacie testy

Tkanivová kultúra

A431 ľudské bunky epidermoidného karcinómu a MDA-MB-453 bunky boli získané z American Type Culture Collection, Rockville, MD a boli uchovávané ako monovrstvy v DMEM (Dulbeccove modifikovanom Eaglove médiu)/F12, 50:50 (Gibco/BRL, Bethesda, MD) obsahujúcim 10% fetálne hovädzie sérum. Bunky boli kultivované pri 37 °C vo zvlhčenej atmosfére obsahujúcej 5% CO<sub>2</sub> vo vzduchu.

Prečistenie tyrozín-kinázy receptora pre epidermálny rastový faktor

Ľudská tyrozín-kináza receptora pre EGF (EGFR) bola izolovaná z A431 buniek ľudského epidermoidného karcinómu nasledujúcim spôsobom. Bunky boli kultivované ve valcovitých skúmavkách v DMEM/F12 médiu (Gibco/BRL, Bethesda, MD) obsahujúcim 10% fetálne telacie sérum. Približne 10<sup>9</sup> buniek bolo lyzované v 2 objemoch pufru obsahujúceho 20 mM HEPES, pH 7,4, 5 mM EGTA, 1% Tritónu X-100, 10% glycerolu, 0,1 mM ortovanadatanu sodného, 5 mM fluoridu sodného, 4 mM pyrofosforečnanu, 4mM benzamidu, 1 mM DTT, 80 µg/ml aprotinínu, 40 µg/ml leupeptidu a 1 mM fenylmetylsulfonylfluoridu (PMSF). Po odstredení pri 25000 x g po dobu 10 minút sa supernatant aplikoval do fast Q sepharózovej kolóny (Pharmacia Biotech, Inc., Piscataway, NJ) a eluoval sa lineárnym gradientom od 0,1 M NaCl do 0,4 M NaCl v 50 mM HEPES, 10% glycerolu, pH 7,4. Enzymaticky aktívne frakcie sa zhromaždili, rozdelili sa do podielov a uskladnili sa pri -100 °C. Tyrozín-kinázy receptora pre fibroblastový rastový faktor (FGFR), trombocytárny rastový faktor (PDGF), inzulín a c-src sa získali spôsobmi dobre známymi odborníkom v obore. Vid' napríklad Fry et al., "Strategies For The Discovery Of Novel Tyrosine Kinase Inhibitors With Anticancer Activity, Anticancer Drug Design, 1994; 9: 331-351, ktorá je tu uvedená ako odkaz.

## Tyrozín-kinázové testy

Enzýmové testy pre stanovenie  $IC_{50}$  boli prevedené v 96-jamkových filtračných platňách (Millipore MADVN6550, Millipore, Bedford, MA). Celkový objem bol 0,1 ml a obsahoval 20 mM Hepes, pH 7,4, 50  $\mu$ M vanadatu sodného, 40 mM chloridu horečnatého, 10  $\mu$ M ATP obsahujúci 0,5  $\mu$ Ci [ $^{32}$ P]ATP, 20  $\mu$ g kyseliny polyglutamovej/tyrozínu (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), 10 ng tyrozín kinázy receptora pre EGF, a vhodné riedenie inhibítora. Všetky zložky okrem ATP sa pridali do jamky a platňa sa inkubovala za trasenia po dobu 10 minút pri 25  $^{\circ}$ C. Reakcia sa zahájila pridaním [ $^{32}$ P]ATP a platňa sa inkubovala pri 25  $^{\circ}$ C po dobu 10 minút. Reakcia sa ukončila pridaním 0,1 ml 20% kyseliny trichlóroctovej (TCA). Platňa sa ponechala pri teplote 4  $^{\circ}$ C po dobu aspoň 15 minút, aby sa umožnilo vyzrážanie substrátu. Jamky sa potom premyli 5-krát 0,2 ml 10% TCA a inkorporácia  $^{32}$ P sa určila  $\beta$ -čítačkou platien (Wallac). Testy využívajúce intracelulárnych kinázových domén PDGF, FGF a inzulínových receptorov, rovnako ako c-src, boli prevedené rovnako ako pre EGF receptor s tou výnimkou, že reakcie sa účastnil chlorid manganatý.

## Testy fosforylácie tyrozínu závislé na Heregulínu a EGF

A431 bunky ľudského epidermoidného karcinómu alebo MDA-MB-453 bunky sa kultivovali v 6-jamkových platňách do približne 80% konfluencie a potom sa inkubovali v bezsérovom médiu po dobu 18 hodín. Bunky sa vystavili pôsobeniu rôznych koncentrácií buď zlúčeniny 1 alebo zlúčeniny príkladu 21 po dobu 2 hodín a potom sa stimulovali buď 100 ng/ml EGF (A431) alebo 10 ng/ml heregulínu (MDA-MB-453) po dobu 5 minút. Pripravili sa bunečné extrakty a westernovým prenosom sa

určila redukcia fosfotyrozínu.

#### Westernový prenos

Extrakt sa pripravili lýzou monovrstiev vo 0,2 ml variaceho Laemliho pufre (2% dodecylsírán sodný, 5%  $\beta$ -merkaptoetanol, 10% glycerol a 50 mM Tris, pH 6,8) a lyzáty sa zahrievajú po dobu 5 minút pri teplote 100 °C. Proteíny v lyzátu sa separovali elektroforézou na polyakrylamidovom géle a elektroforeticky sa preniesli na nitrocelulózu. Membrána sa premyla jednou v (10 mM Tris, pH 7,2, 150 mM NaCl, 0,01% azid sodný) (TNA) a blokovala sa cez noc v TNA obsahujúcom 5% hovädzi sérový albumín a 1% ovalbumín. Membrána sa spracovávala po dobu 2 hodín antifosfotyrozínovou protilátkou (UBI, Lake Placid, NY, 1  $\mu$ g/ml v blokovačom pufre) a potom sa dvakrát premyla v TNA, jednou v TNA obsahujúcom 0,05% Tween-20 a 0,05% nonidet P-40 a dvakrát v TNA. Membrány sa potom inkubovali po dobu 2 hodín v blokovačom pufre obsahujúcom 0,1  $\mu$ Ci/ml [<sup>125</sup>I]proteínu A a potom sa znovu premyli rovnakým spôsobom ako skoršie. Potom, čo škvrny uschli, sa vložili do filmovej kazety a exponovali sa na X-AR-röntgenovom filme po dobu 1 až 7 dní. Intenzity pásov sa určili laserovým denzitometrom.

Dáta v tabuľke 1 ukazujú, že zlúčenina príkladu 21 a zlúčenina 1 sú približne rovnako aktívne oproti prečistenej tyrozín-kináze EGF receptoru, autofosforylácii receptora sprostredkovanej EGF a fosforylácii tyrozínu sprostredkovanej heregulínom in vitro.

Zlúčenina	IC <sub>50</sub> (nM) Tyrozín-kinázy receptora pre	IC <sub>50</sub> (nM) auto- fosforylácia receptora	IC <sub>50</sub> (nM) fosforylácia tyrozínu

	EGF	sprostredkovaná EGF	sprostredkovaná heregulínom
Priklad 21	3,6	5,3	6,4
Zlúčenina 1	2,0	2,9	9,0

### Test inhibície nádorov in vivo

Ludský epidermoidný karcinóm A431 bol prepagovaný in vivo sériovou transplantáciou. Tento nádorový model bol vybraný pre tieto štúdie pre známu závislosť rastu na EGF receptore a pre svoju reaktivitu v časnom štádiu na terapii monoklonálnymi protilátkami in vivo. V tomto pokuse boli holým myšiam o hmotnosti 18-22 g implantované podkožne 30 mg fragmenty A431 nádoru do oblasti pravej axily v den 0. Nádory sa nechali narásť do hmotnosti 100-150 mg a v túto dobu sa zvieratá s nádormi náhodne rozdelila a umiestnila sa do liečebných boxov. Zvieratá sa liečila perorálne po dobu 15 nasledujúcich dní izetionátovou soľou zlúčeniny príkladu 21 a zlúčeniny 1 vo vode. Izetionátové soli môžu byť pripravené titráciou zlúčeniny do roztoku sa 2 ekvivalentmi kyseliny izetiónovej. Liečba bola založená na priemernej hmotnosti skupiny. Kontrolným zviratom bola podaná voda. Pokus sa hodnotil podľa spomalenia rastu nádoru, T-C, ktorý je definovaný ako rozdiel, v dňoch, v dosiahnutí hmotnosti 750 mg pre liečené a kontrolné nádory. Dáta môžu byť tiež uvedené ako percento inhibície rastu nádorov, ktoré je definované ako spomalenie rastu nádorov delené počtom liečebných dávok x 100%. Väčšie spomalenie rastu nádorov a vyššia inhibícia rastu nádoru ukazujú na aktívnejšie zlúčeniny. Statistická analýza bola prevedená za použitia JMP pre Macintosh (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

Testovaná zložčenina	Dávka (mg/kg)	Spomalenie rastu nádoru (dni)	Inhibícia rastu nádoru (%)
Príklad 21	18	18,4	123
Príklad 21	5	25,7	171
Zložčenina 1	18	41,3	275
Zložčenina 1	5	53,2	355

Hodnoty pre zložčeninu 1 sú statisticky významne odlišné od hodnôt pre zložčeninu príkladu 21 v čase nutnom pre to, aby jednotlivé nádory dosiahli hmotnosti 750 mg.  $P < 0,05$ , študent t-test.

#### Test na sekreciu VEGF

Predpokladá se, že vaskulárny endotelový rastový faktor (VEGF), ktorý je tiež známy ako faktor cévnej permeability (VPF), je hlavným stimulátorom angiogenézie u väčšiny typov nádorov. Existuje veľa induktorov sekrecie VEGF a dvomi najúčinnjšími sú epidermálny rastový faktor (EGF) a transformujúci rastový faktor  $\alpha$ , ktoré sú obaja ligandmi pre EGF receptor (EGFR).

Inhibícia sekrecie VEGF vedie k antiangiogénnemu účinku a môže viesť k regresii nádoru, pretože aj čiastočná inhibícia sekrecie VEGF môže viesť k deštrukcii novo vytvorených nezrelých ciev v nádoroch (Benjamin, L.E. and Keshel, E., Conditional switching of VEGF expression in tumors: induction of endotelial cell shedding and regresion of hemangioma-like vessels by VEGF withdrawal. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997; 94: 8761-8766).

Zrovnávali sme dva inhibitory EGFR tyrozín-kinázy,

zlúčeninu 1 a zlúčeninu príkladu 21, z hľadiska ich účinku na A431 nádorovej bunky. Proti A431 nádorom in vivo má zlúčenina 1 neočakávane vyššiu protinádorovú účinnosť (T-C = 53 dní) ako zlúčenina príkladu 21 (T-C = 26 dní). Viď test popísaný vyššie. Potom sme hodnotili efekty oboch zlúčenín na sekreciu VEGF v A431. K nášmu prekvapeniu bola zlúčenina 1 lepšia v inhibícii sekrecie VEGF v A431 bunkách in vitro. Pri 0,5  $\mu\text{M}$  blokovala zlúčenina 1 sekreciu VEGF stimulovanú EGF alebo TGF- $\alpha$ . Naopak, 0,5  $\mu\text{M}$  zlúčeniny príkladu 21 inhibovalo sekreciu VEGF takmer rovnako, ako 0,1  $\mu\text{M}$  zlúčeniny 1. 0,1  $\mu\text{M}$  zlúčeniny 1 inhibovalo sekreciu VEGF stimulovanú EGF o 63% a 0,5  $\mu\text{M}$  inhibovalo túto sekreciu VEGF stimulovanú EGF o 86%. Naopak, 0,1  $\mu\text{M}$  Zlúčeniny príkladu 21 inhibovalo sekreciu VEGF stimulovanú EGF o 48% a 0,5  $\mu\text{M}$  zlúčeniny príkladu 21 inhibovalo túto sekreciu VEGF stimulovanú EGF o 57%. Podobné výsledky boli získané za použitia TGF $\alpha$  miesto EGF pre stimuláciu sekrecie VEGF. 0,5  $\mu\text{M}$  zlúčeniny 1 inhibovalo sekreciu VEGF stimulovanú TGF $\alpha$  o viac ako 80%, zatiaľ čo rovnaká koncentrácia zlúčeniny príkladu 21 inhibovala sekreciu VEGF o 57%. Tiež sa zdá, že zlúčenina 1 inhibuje bazálnu sekreciu VEGF v A431 bunkách, zatiaľ čo zlúčenina príkladu 21 nikoľvek.

## Metódy

A431 ľudské bunky epidermoidného karcinómu, získané z American Type Culture Collection, Rockville, MD, boli kultivované DMEM/F12 médiu doplnenom 10% fetálnym hovädzím sérom. Pred pridaním lieku a rastového faktoru sa bunky premyli trikrát v bezsérovom DMEM/F12. Bunky sa ošetrovali po dobu 2 hodín uvedenou koncentráciou zlúčeniny 1 alebo zlúčeniny príkladu 1 a potom sa pridalo 10 ng/ml buď EGF, alebo TGF $\alpha$ . Po 48 hodinovej inkubácii pri 37 °C sa médium

odstranilo a skladovalo sa zmrazené pri  $-70^{\circ}\text{C}$ . VEGF ELISA testy (Intergen, Co., Purchase, NY) sa previedli na vzorkách média podľa návodu výrobcu. Výsledky tohto testu sú uvedené nasledujúcej tabuľke.

Ošetrenie	Sekrecia VEGF (pg/ $10^5$ buniek $\pm$ SE)	% Inhi- bícia
Bezsérové médium (SF)	490 $\pm$ 32	
SF + 0,1 $\mu\text{M}$ zlúčeniny 1	280 $\pm$ 41	43
SF + 0,5 $\mu\text{M}$ zlúčeniny 1	250 $\pm$ 46	49
SF + 0,1 $\mu\text{M}$ zlúčeniny príkladu 21	600 $\pm$ 37	0
SF + 0,5 $\mu\text{M}$ zlúčeniny príkladu 21	440 $\pm$ 110	10
SF + 10 ng/ml EGF	3980 $\pm$ 85	
SF + EGF + 0,1 $\mu\text{M}$ zlúčeniny 1	1490 $\pm$ 180	63
SF + EGF + 0,5 $\mu\text{M}$ zlúčeniny 1	560 $\pm$ 29	86
SF + EGF + 0,1 $\mu\text{M}$ sl. príkladu 21	2070 $\pm$ 160	48
SF + EGF + 0,5 $\mu\text{M}$ sl. príkladu 21	1710 $\pm$ 65	57
SF + TGF $\alpha$	4034 $\pm$ 190	
SF + TGF + 0,1 $\mu\text{M}$ zlúčeniny 1	1976 $\pm$ 37	51
SF + TGF + 0,5 $\mu\text{M}$ zlúčeniny 1	766 $\pm$ 75	81
SF + TGF + 0,1 $\mu\text{M}$ sl. príkladu 21	3065 $\pm$ 161	24
SF + TGF + 0,5 $\mu\text{M}$ sl. príkladu 21	1734 $\pm$ 21	57

## P a t e n t o v é n á r o k y

1. Zlúčenina N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamid, alebo jej farmaceuticky prijateľné soli.
2. Farmaceuticky prijateľný prostriedok v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1.
3. Spôsob liečby nádorov v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa podanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny podľa nároku 1 pacientovi s nádorom.
4. Spôsob podľa nároku 3 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že nádorom je nádor prsu.
5. Spôsob podľa nároku 3 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že nádorom je nádor tlstého čreva.
6. Spôsob liečby alebo prevencie restenózy v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa podanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny podľa nároku 1 pacientovi s restenózou alebo rizikom restenózy.
7. Spôsob pre ireverzibilnú inhibíciu tyrozín-kináz v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa podanie množstva zlúčeniny podľa nároku 1 inhibujúceho tyrozín-kinázy pacientovi s potrebou inhibície tyrozín-kináz.
8. Spôsob podľa nároku 7 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že tyrozín-kinázou je EGFR.

9. Spôsob podľa nároku 7 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že tyrozín-kinázou je erbB2.

10. Spôsob podľa nároku 7 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že tyrozín-kinázou je erbB4.

11. Spôsob pre pro inhibíciu fosforylácie tyrozínu erbB3 v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že pacientovi, ktorý potrebuje inhibíciu fosforylácie tyrozínu erbB3, je podané terapeuticky účinné množstvo N-[4-(3-chlór-4-fluór-fenylamino)-7-(3-morfolín-4-yl-propoxy)-chinazolín-6-yl]-akrylamidu.

12 Spôsob liečby psoriázy v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahrnuje podanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny podľa nároku 1 pacientovi s psoriázou.

13. Spôsob liečby alebo prevencie aterosklerózy v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahrnuje podanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny podľa nároku 1 pacientovi s aterosklerózou alebo rizikom aterosklerózy.

14. Spôsob liečby endometriózy v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahrnuje podanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny podľa nároku 1 pacientovi s endometriózou.

15. Spôsob pre inhibíciu sekrecie VEGF v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahrnuje podanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny podľa nároku 1 pacientovi s potrebou inhibície sekrecie VEGF.