

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2013.11.29

(21) Номер заявки
201171243

(22) Дата подачи заявки
2010.04.08

(51) Int. Cl. *A61K 31/5517* (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) **ПРОИЗВОДНОЕ БЕНЗОДИАЗЕПИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМАТОПОЭТИЧЕСКИХ НОВООБРАЗОВАНИЙ И ЛЕЙКОЗА**

(31) **61/169,094**

(32) **2009.04.14**

(33) **US**

(43) **2012.03.30**

(86) **PCT/US2010/030315**

(87) **WO 2010/120614 2010.10.21**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Чедид Марсио (US)

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

(56) WANG ZHONG ET AL.: "Glycogen synthase kinase 3 in MLL leukaemia maintenance and targeted therapy". NATURE (LONDON), vol. 455, no. 7217, October 2008 (2008-10), page 1205, XP002584770, ISSN: 0028-0836, cited in the application, the whole document

ENGLER THOMAS A. ET AL.: "Substituted 3-imidazo(1,2-a)pyridin-3-yl-4-(1,2,3,4-tetrahydro-(1,4)diazepino-(6,7,1-hi)indol-7-yl)pyrrole-2,5-diones as highly selective and potent inhibitors of glycogen synthase kinase-3". JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 47, no. 16,

29 July, 2004 (2004-07-29), pages 3934-3937, XP002584771, ISSN: 0022-2623, page 3936, column 22, paragraph 2-4; tables 1, 2; compound 12, page 3934, column 2, paragraph 1

WO-A2-2009006043

WO-A1-03076442

MARTINEZ A.: "Preclinical efficacy on GSK-3 inhibitors: Towards a future generation of powerful drugs". MEDICINAL RESEARCH REVIEWS 200809 US LNKD-DOI:10.1002/MED.20119, vol. 28, no. 5, September 2008 (2008-09), pages 773-796, XP002584772, ISSN: 0198-6325, page 775, paragraph 3, page 776, paragraph 2-4; figure 1; table I

HOLMES T. ET AL.: "The role of glycogen synthase kinase-3[beta] in normal haematopoiesis, angiogenesis and leukaemia". CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY 200806 NL, LNKD-DOI:10.2174/092986708784638834, vol. 15, no. 15, June 2008 (2008-06), pages 1493-1499, XP002584773, ISSN: 0929-8673, the whole document

UGOLKOV ANDREI V. ET AL.: "Inhibition of glycogen synthase kinase-3 activity leads to epigenetic silencing of nuclear factor kappa B target genes and induction of apoptosis in chronic lymphocytic leukemia B cells". BLOOD, vol. 110, no. 2, July 2007 (2007-07), pages 735-742, XP002584774, ISSN: 0006-4971, the whole document

(57) Предложены способ и лекарственное средство для лечения недифференцированного лейкоза; недифференцированного лейкоза с транслокацией; острого миелобластного лейкоза на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией; острого лимфобластного лейкоза на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией; несвязанного с транслокацией гена MLL хронического миелопролиферативного заболевания или несвязанного с транслокацией гена MLL острого лимфобластного лейкоза, где применяемый активный агент представляет собой ингибитор GSK-3 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1H-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепин или фармацевтически приемлемую соль или сольват указанного соединения.

Миелоидные, лимфоидные и недифференцированные лейкозы представляют собой опухоли клонального происхождения, которые возникают в результате по меньшей мере одного хромосомного нарушения. Указанные нарушения приводят к изменению в структуре и функции гена. Схемы лечения в целом включают одновременное или последовательное введение нескольких химиотерапевтических агентов. Недавно открытые соединения, такие как мезилат иматиниба, нилотиниб и дазатиниб, увеличивают время до прогрессирования заболевания и общую выживаемость пациентов, страдающих хроническим миелоидным лейкозом. Несмотря на указанные достижения, терапевтическая эффективность конкретного агента или комбинации агентов часто не удовлетворяет требованиям из-за приобретения пациентом дополнительных генетических и/или эпигенетических нарушений. Существует необходимость в более эффективных химиотерапевтических агентах для лечения хронического миелоидного лейкоза и других злокачественных гематопозитических новообразований.

Киназа-3 гликогенсинтазы (GSK-3) представляет собой серин/треониновую киназу, которая является конститутивно активной в нормальных клетках в состоянии покоя и регулируется путем подавления ее активности. GSK-3 вовлечена в различные пути передачи сигнала, которые, как известно, регулируют разнообразные клеточные функции. Нарушения сигнальных путей, в которых GSK-3 участвует в качестве регулятора, вовлечены в патогенез заболевания, что привело к попыткам разработки специфических ингибиторов GSK-3 для различных терапевтических применений, таких как лечение инсулиннезависимого диабета, болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваний и нарушений развития. В связи с вовлеченностью GSK-3 в различные пути передачи сигнала подходящая эффективность подавления GSK3 является важным фактором при разработке ингибиторов для терапевтического применения.

Недавно был описан специфический ингибитор GSK-3, усиливающий действие специфических химиотерапевтических агентов на определенные типы солидных опухолей, но не обладающий собственной подходящей противоопухолевой активностью (WO 2009/006043).

Также было описано, что GSK-3 играет роль в поддержании генетически обусловленного недифференцированного лейкоза с транслокацией (лейкоза с транслокацией гена MLL). Wang et al., Nature, 455, 1205-1210 (2008). Согласно указанному источнику также описано подавление GSK-3 при генетически обусловленном лейкозе с транслокацией гена MLL с помощью специфических соединений-ингибиторов GSK-3. Ингибитор GSK-3 3-(2,4-дихлорфенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)-1H-пиррол-2,5-дион (SB216763) и ингибитор GSK-3 IX, (2'Z,3'E)-6-броминдирубин-3'-оксим ("GSK3-IX"), как сообщалось, имеют положительный результат.

Существует необходимость в селективных в отношении лейкоза химиотерапевтических агентах, которые проявляют собственную терапевтическую активность и повышенную эффективность при лечении страдающего лейкозом пациента со специфическим типом лейкоза. Ингибитор GSK-3β 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1H-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепин проявляет селективность, собственную терапевтическую активность и повышенную эффективность по сравнению с SB216763 и GSK3-IX в отношении некоторых типов лейкоза.

Согласно первому аспекту изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего недифференцированным лейкозом; недифференцированным лейкозом с транслокацией; острым миелобластным лейкозом на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией; острым лимфобластным лейкозом на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией; не связанным с транслокацией гена MLL хроническим миелопролиферативным расстройством или не связанным с транслокацией гена MLL острым лимфобластным лейкозом, включающий введение страдающему лейкозом пациенту, нуждающемуся в указанном лечении, эффективного количества 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1H-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения.

Согласно второму аспекту изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего недифференцированным лейкозом; недифференцированным лейкозом с транслокацией; острым миелобластным лейкозом на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией или острым лимфобластным лейкозом на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией, включающий введение страдающему лейкозом пациенту, нуждающемуся в указанном лечении, эффективного количества 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1H-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения.

Согласно третьему аспекту изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего недифференцированным лейкозом, включающий введение страдающему лейкозом пациенту, нуждающемуся в указанном лечении, эффективного количества 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1H-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения.

Согласно четвертому аспекту изобретения предложен способ лечения пациента, страдающего недифференцированным лейкозом с транслокацией, включающий введение страдающему лейкозом пациенту, нуждающемуся в указанном лечении, эффективного количества 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-

цией гена MLL острого миелобластного лейкоза.

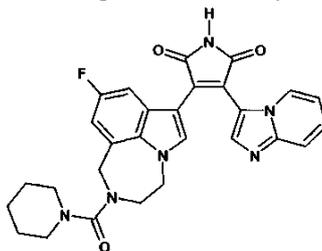
Согласно двадцать шестому аспекту изобретения предложено применение 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения для получения лекарственного средства для лечения не связанного с транслокацией гена MLL JAK2 (+) хронического миелопролиферативного расстройства.

Согласно двадцать седьмому аспекту изобретения предложено применение 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения для получения лекарственного средства для лечения не связанного с транслокацией гена MLL хронического миелобластного лейкоза с филадельфийской хромосомой.

Согласно двадцать восьмому аспекту изобретения предложено применение 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения для получения лекарственного средства для лечения не связанного с транслокацией гена MLL острого лимфобластного лейкоза.

Согласно двадцать девятому аспекту изобретения предложено соединение 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемая соль или сольват указанного соединения для применения в лечении недифференцированного лейкоза; недифференцированного лейкоза с транслокацией; острого миелобластного лейкоза на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией; острого лимфобластного лейкоза на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией; не связанного с транслокацией гена MLL хронического миелопролиферативного расстройства или не связанного с транслокацией гена MLL острого лимфобластного лейкоза. В частности, согласно варианту реализации изобретения лейкоз представляет собой острый миелобластный лейкоз на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией; острый лимфобластный лейкоз на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией; не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное расстройство, выбранное из не связанного с транслокацией гена MLL острого миелобластного лейкоза, эритролейкоза или хронического миелобластного лейкоза; не связанный с транслокацией гена MLL острый миелобластный лейкоз или не связанный с транслокацией гена MLL хронический миелобластный лейкоз.

Соединение 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепин является ингибитором GSK-3 β , как описано в международной заявке на патент WO 03/076442, где указанное соединение называется 3-(9-фтор-6-(пиперидин-1-ил)карбонил)-6,7-дигидро-6Н-[1,4]дiazепин[6,7,1-*hi*]индол-1-ил)-4-(имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)-2,5-диоксопирролом (пример 365, с. 113). Оба приведенных выше названия используются в качестве синонимов для определения следующей структуры:



Соединение 1

Соединение 1 представляет собой основание и, соответственно, может вступать в реакцию с любой из множества неорганических и органических кислот с образованием фармацевтически приемлемых солей присоединения кислоты. Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты соединения согласно настоящему изобретению и общие способы их получения хорошо известны в данной области техники. См., например, P. Stahl, et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, (VCH/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 66, No. 1, January 1977. Предпочтительные фармацевтически приемлемые кислоты включают HCl, HBr, серную кислоту и метансульфоновую кислоту.

Соединение 1 образует сольваты, например, с водой (гидраты и дигидраты), метанолом и этанолом. Предпочтительно сольват представляет собой сольват, образованный с этанолом.

Используемый в настоящем описании термин "пациент" относится к млекопитающему; термин "млекопитающее" относится к классу Mammalia высших позвоночных; термин "млекопитающее" включает, но не ограничивается, человека. Предпочтительно пациент представляет собой человека.

В настоящем описании термины "миелоидный" и "миелогенный" используются взаимозаменяемо. Аналогичным образом, термины "лимфоидный" и "лимфогенный" используются взаимозаменяемо.

Также при использовании в настоящем описании термин "собственная" относится к независимой терапевтической активности. Нет необходимости в совместном введении второго активного противоракового химиотерапевтического агента для достижения или повышения эффективности лечения' лейкоза, хотя указанное совместное введение может быть желаемым.

Для генома раковых клеток характерно большое количество разнообразных хромосомных aberrаций. Некоторые типы рака характеризуются единичными специфическими хромосомными aberrациями, тогда как для других типов характерно множество aberrаций и очень сложные кариотипы. В солидных опухолях, таких как опухоли эпителиального происхождения, с помощью цитогенетического анализа было идентифицировано много структурных хромосомных aberrаций. Напротив, при гематопозитических злокачественных новообразованиях относительно малое количество хромосомных aberrаций является причинно связанными и повторяющимися. Большинство повторяющихся хромосомных aberrаций обнаружено в гематопозитических злокачественных новообразованиях по сравнению с солидными опухолями. Делеции и амплификации более характерны для солидных опухолей, наряду с прогрессирующей генетической нестабильностью и приобретением сложного набора геномных aberrаций, в отличие от гематопозитических злокачественных заболеваний.

"Не связанные с транслокацией гена MLL хронические миелопролиферативные расстройства" представляют собой приобретенные клональные нарушения гематопозитических стволовых клеток и включают истинную полицитемию, миелофиброз, идиопатический тромбоцитоз, хронический миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром и острый миелоидный лейкоз и включают эритролейкоз. Поскольку стволовые клетки дают начало миелоидной, эритроидной и тромбоцитарной линиям, качественные и количественные изменения могут наблюдаться в одной, двух или всех тех клеточных линиях в зависимости от того, в какой момент процесса созревания из плюрипотентной стволовой клетки до стволовой клетки-предшественника определенного клеточного типа происходит нарушение. При некоторых заболеваниях (таких как хронический миелоидный лейкоз) наблюдаются специфические характерные хромосомные изменения. Хронические миелопролиферативные расстройства имеют характерные синдромы с определенными клиническими и лабораторными показателями.

Не связанная с транслокацией гена MLL истинная полицитемия вызывает повышенную пролиферацию всех трех гематопозитических клеточных линий, наиболее значительно клеток эритроидной линии. Пролiferация клеток эритроидной линии происходит независимо от эритропоэтина. Мутация Янускиназы 2 в хромосомном сегменте 9p24, (JAK2 (+)), молекулы сигнальной системы клетки, считается вовлеченной в патогенез и является критерием для диагностики заболевания.

Не связанный с транслокацией гена MLL миелофиброз характеризуется фиброзом костного мозга, спленомегалией и лейкоэритробластной картиной периферической крови с пойкилоцитозом с каплевидными эритроцитами. В ответ на фиброз костного мозга происходит экстрамедуллярный гематопоз в печени, селезенке и лимфатических узлах. Нарушение JAK2 (JAK2 (+)) и ее сигнального пути считается вовлеченным в патогенез.

Не связанный с транслокацией гена MLL идиопатический тромбоцитоз характеризуется значительной пролиферацией мегакариоцитов в костном мозге, приводящей к повышенному содержанию тромбоцитов. Высокая частота мутаций JAK2 (JAK2 (+)) наблюдается у пациентов и считается вовлеченной в патогенез.

Не связанный с транслокацией гена MLL хронический миелоидный лейкоз (СМЛ) характеризуется повышенной пролиферацией миелоидных клеток. Указанные миелоидные клетки сохраняют способность к дифференцировке, и нормальная функция костного мозга сохраняется на ранних стадиях заболевания. СМЛ часто характеризуется специфическим нарушением на хромосомном уровне и специфическим нарушением на молекулярном уровне. Филадельфийская хромосома представляет собой реципрокную транслокацию между длинными плечами хромосом 9 и 22. Большая часть 22q транслоцируется на 9q, и меньшая часть 9q перемещается на 22q. Часть 9q, которая транслоцируется, содержит ген *abl*, протоонкоген, который является клеточным гомологом гена вируса мышинного лейкоза Абельсона. Ген *abl* переносится на специфический сайт на 22q, зону кластеров точечных разрывов (*bcr*). Гибридный ген *bcr/abl* кодирует новый белок, который отличается от нормального транскрипта гена *abl* наличием тирозинкиназной активности. Доказательства того, что гибридный ген *bcr/abl* является патогенным, получены на моделях трансгенных мышей, в которых внесение гена почти всегда приводит к лейкозу. Присутствие указанной транслокации называется филадельфийской хромосомой. При раннем СМЛ (хронической стадии) нормальная функция костного мозга сохраняется, лейкоциты дифференцируются и, несмотря на некоторые качественные нарушения, нейтрофилы способны нормально бороться с инфекцией. Однако СМЛ является нестабильным и в отсутствие лечения прогрессирует до ускоренной стадии и затем острой или бластной стадии, которая морфологически неотличима от обычного острого миелоидного лейкоза. Описанное прогрессирование связывают с приобретением дополнительных генетических и/или эпигенетических нарушений.

Не связанные с транслокацией гена MLL миелодиспластические синдромы представляют собой группу приобретенных клональных нарушений гематопозитических стволовых клеток. Они характеризуются цитопенией, гиперпластическим костным мозгом и рядом морфологических и цитологических на-

рушений. Как правило, морфологические нарушения присутствуют в двух или более гематопозитических клеточных линиях. Указанные нарушения, как правило, являются идиопатическими, но могут наблюдаться после проведения цитотоксической химиотерапии. Несмотря на то что единственного специфического хромосомного нарушения не выявляется при миелодисплазии, часто наблюдаются нарушения, включающие длинное плечо 5 хромосомы, наряду с делециями 5 и 7 хромосом. Не связанная с транслокацией гена MLL миелодисплазия с пролиферативным синдромом называется хроническим миеломоноцитарным лейкозом (CMML).

Не связанный с транслокацией гена MLL острый миелоидный лейкоз (AML) представляет собой злокачественное заболевание одной или более миелоидных гематопозитических клеток-предшественников, не основанное на MLL лейкемогенезе. Указанные клетки пролиферируют неконтролируемым образом и замещают элементы нормального костного мозга. Несмотря на то что в большинстве случаев AML возникает без явных причин, облучение и некоторые токсины являются лейкемогенными. Кроме того, ряд химиотерапевтических агентов может вызывать лейкоз. Лейкозы, наблюдаемые после воздействия токсина или проведения химиотерапии, часто ассоциированы с нарушениями в 5 и 7 хромосомах или 11q23 хромосоме. Наиболее частыми цитогенетическими нарушениями, причинно связанными с не связанным с транслокацией гена MLL AML, являются хромосомная транслокация t(8; 21) (q22; q22) с образованием гибридного гена AML1/ETO; инверсия хромосомы 16 Inv(16) (p13; q22) с образованием гибридного гена CBFβ/МYH11; транслокации t(16; 16) (p13; q22), t(15; 17) (q21; q11), t(11; 17) (q23; q11), t(5; 17) (q35; q12-21), t(11; 17) (q13; q21) и t(17; 17) (q11; q21) с образованием различных гибридных генов, включающих RARα; 5/5q-; -7/7q-; 17p abn или изохромосома i(17q); делеция длинного плеча хромосомы 20 del(20q); двойные минихромосомы (dmin), гомогенно окрашиваемые участки хромосом (hsr); +13; инверсия хромосомы 3 Inv(3) (q21; q26) и транслокация t(3; 3) (q21; q26) с образованием гибридного гена Ribophorin/EVT1. Тельца Ауэра, эозинофильные иглоподобные включения в цитоплазме, являются патогномоничными для не связанного с транслокацией гена MLL острого миелоидного лейкоза (AML). Клетки лейкоза сохраняют свойства линии, из которой они произошли или на основании которой возникли. Клетки AML обычно экспрессируют миелоидные антигены, такие как CD13 или CD33.

Не связанный с транслокацией гена MLL острый лимфобластный лейкоз (ALL) представляет собой злокачественное заболевание лимфоидных гематопозитических клеток-предшественников, не основанное на MLL лейкемогенезе. Как отмечено выше, клетки лейкоза сохраняют свойства линий, из которых они произошли или на основании которых возникли. Клетки не связанного с транслокацией гена MLL ALL линии В-клеток экспрессируют лимфоидные антигены, такие как CD19, общий для всех В-клеток, и в большинстве случаев экспрессируют CD10, также известный как общий антиген для ALL. Клетки не связанного с транслокацией гена MLL ALL линии Т-клеток обычно не экспрессируют маркеры зрелых Т-клеток, такие как CD3, 4 или 8, но экспрессируют некоторые комбинации CD2, 5 и 7 и не экспрессируют поверхностный иммуноглобулин. Клетки не связанного с транслокацией гена MLL ALL часто экспрессируют терминальную дезоксирибонуклеотидилтрансферазу (TdT). Наиболее часто повторяющиеся генетические подтипы включают TEL-AML1; BCR-ABL; E2A/PBX1; IgH/MYC; многочисленные транслокации, вовлекающие локусы TCR ab (7q35) или TCR gd (14q11); делеции 1q; мутации SIL-SCL и NOTCH.

Не связанный с транслокацией гена MLL AML имеет несколько классификаций. Согласно классификации FAB (Франция, США, Великобритания), основанной на морфологии и гистохимии костного мозга, выделяют следующие типы: острый недифференцированный лейкоз (M0), острый миелобластный лейкоз (M1), острый миелобластный лейкоз с дифференцировкой (M2), острый промиелоцитарный лейкоз (APL) (M3), острый миеломоноцитарный лейкоз (M4), острый монобластный лейкоз (M5), эритролейкоз (M6) и мегакариобластный лейкоз (M7). Всемирная организация здравоохранения поддерживала классификацию лейкозов и других гематологических злокачественных заболеваний, которая включала цитогенетические, молекулярные и иммунофенотипические данные (International Classification of Diseases for Oncology, Third edition, Percy et al., 2000).

Не связанный с транслокацией гена MLL ALL можно классифицировать по иммунологическому фенотипу следующим образом: общий, В- и Т-клеточный. Так же как и в случае не связанного с транслокацией гена MLL AML, определенные токсины, облучение и химиотерапевтические агенты могут вызывать не связанный с транслокацией гена MLL ALL.

Недифференцированный лейкоз (миелоидно-лимфоидный лейкоз; MLL) имеет характеристики как не связанного с транслокацией гена MLL AML, так и не связанного с транслокацией гена MLL ALL. Миелоидно-лимфоидный лейкоз определяет особый профиль экспрессии генов по сравнению с не связанным с транслокацией гена MLL ALL и не связанным с транслокацией гена MLL AML; Armstrong et al., Nature Genetics, 30, 41-47 (2002). MLL может являться результатом повторяющихся хромосомных aberrаций в сегменте q23 11 хромосомы (ген MLL), хромосомных слияний, включающих длинное плечо (q) хромосомы 1 в сегменте q23, с геном из другой хромосомной области, который может быть транслоцирован, или же 11q23 может иметь внутренние дубликации. Лейкозы, включающие слияния в области гена MLL, часто являются агрессивными и устойчивыми к химиотерапии. Указанные слитые области

могут транслоцироваться, приводя к перестройке гена MLL. Гибридные гены с транслокацией MLL могут вызывать основанный на транслокации MLL AML или основанный на транслокации MLL ALL. Например, гибридные гены с транслокацией MLL-AF9 часто, но не обязательно, вызывают AML (основанный на транслокации MLL AML). Другие гибридные гены с транслокацией MLL, ассоциированные с основанным на транслокации MLL AML, включают MLL-AF10 и MLL-ELL. Гибридный ген с транслокацией MLL, ассоциированный с основанным на транслокации MLL ALL, представляет собой MLL-AF4.

Обширные перечни цитогенетических изменений при раковых заболеваниях человека составлены и поддерживаются и регулярно обновляются в интерактивном режиме (см. The Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer at the US National Cancer Institute (NCI) Cancer Genome Anatomy Project (CGAP) Интернет-сайт : <http://cgap.nci.nih.gov>). База данных включает хромосомные aberrации для гематопозитических злокачественных новообразований согласно настоящему изобретению. Проект Wellcome Trust Sanger Institute Cancer Genome Project поддерживает в интерактивном режиме базу "Cancer Gene Census" всех генов человека, которые причинно связаны с онкогенезом (см. <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census>), так же как и базу данных COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) соматических мутаций при раковых заболеваниях человека (см. <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic>). Другой источник, включающий обильную информацию о цитогенетических изменениях, причинно связанных с лейкозами, представляет собой Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology (<http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/Anomliste.html#MDS>). Указанные базы данных также включают хромосомные aberrации для гематопозитических злокачественных новообразований согласно настоящему изобретению. Альтернативным базой данных Cancer Gene Census является источник Holland-Frei Cancer Medicine, 7th Ed., (2006), табл. 8-1 (см. также табл. 8-4 для наиболее частых повторяющихся хромосомных нарушений при миелоидных расстройствах и табл. 8-5 для наиболее частых повторяющихся генетических подтипов В- и Т-клеточного ALL), и альтернативным базой данных COSMIC является источник Forbes et al., Br. J. Cancer, 2006, 94(2), 318-22.

Методы диагностики гематопозитических злокачественных новообразований с помощью клинического анализа крови, аспирации и биопсии костного мозга, иммунофенотипирования и других тестов хорошо известны и имеют широкое применение. Кроме высокоразрешающего бэндинга хромосом и усовершенствованных технологий визуализации хромосом, хромосомные aberrации при подозрении на гематопозитические злокачественные заболевания могут выявляться с помощью цитогенетического анализа, такого как флуоресцентная гибридизация in situ (FISH), кариотипирование, спектральное кариотипирование (SKY), множественная FISH (M-FISH), сравнительная геномная гибридизация (CGH), анализ рядов однонуклеотидных полиморфизмов (SNP Chips), и других диагностических и аналитических тестов, известных и используемых специалистами в данной области техники.

Помимо генетических хромосомных aberrаций, перечисленных выше, каждый из типов лейкоза может также включать эпигенетические модификации генома, включая метилирование ДНК, геномный импринтинг и модификации гистонов путем ацетилирования, метилирования или фосфорилирования. Эпигенетические модификации могут играть важную роль в злокачественности заболевания.

Фраза "эффективное количество 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения" используется для обозначения дозы соединения 1 или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения, необходимой либо для направленного разрушения клеток лейкоза, либо для замедления или сдерживания прогрессирования лейкоза у пациента. Предполагаемые дозы соединения 1 или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения составляют от 5 до 600 мг/пациент/день. Предпочтительные предполагаемые дозы составляют от 50 до 400 мг/пациент/день. Наиболее предпочтительные предполагаемые дозы составляют от 100 до 400 мг/пациент/день. Точная доза, необходимая для лечения пациента, определяется врачом с учетом стадии и тяжести заболевания, а также особых потребностей и восприимчивости конкретного пациента.

Следующие исследования in vitro и in vivo демонстрируют собственную терапевтическую активность и повышенную эффективность соединения 1 в отношении различных специфических клеточных линий лейкоза.

Примеры эффективности in vitro.

Апоптоз, или запрограммированная клеточная смерть, характеризуется рядом биохимических реакций, одной из которых является индукция каспаз. Активированные каспазы представляют собой протеазы, которые принимают участие в каскаде реакций расщепления, приводящем к дезактивации ключевых ферментов, ответственных за клеточный гомеостаз и репарацию. Каспазы 3 и 7 играют ключевые эффекторные роли в апоптозе и могут выявляться и измеряться с помощью флуоресцентного биохимического анализа. Повышение активности каспазы-3/7 в клетках непосредственно коррелирует с апоптотической активностью. (D.W. Nicholson, et al., Nature, 376, 37-43 (1995)). Использовали набор для определения каспазы 3/7 (Apo-ONE Homogeneous Caspase-3/7 Assay Kit, каталожный номер #G7791, Promega). Аналити-

ческий буфер состоял из 30 мМ HEPES (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(2-этансульфоновой кислоты), pH 7,4, 150 мМ NaCl, 50 мМ KCl, 10 мМ MgCl₂, 0,4 мМ EGTA (этиленгликольтетрауксусной кислоты), 0,5% Нонидета Р40 (октилфенолполи(этиленгликольэфир)), 0,1% CHAPS (гидрат 3-[(3-холамидопропил)диметиламмоний]-1-пропансульфоната и 10% сахарозы), который лизирует/пермеабилзирует культивируемые клетки, и субстрата каспазы 3/7, Z-DEVD (Z-Asp(OMe)-Glu(OMe)-Val-Asp(OMe)), связанного с родамином 110 с профлуоресцентной меткой. Когда смесь буфер-субстрат добавляли к тестируемому образцу, расщепление и последующее удаление DEVD пептидов, обусловленное активностью каспазы 3/7, приводило к интенсивной флуоресценции уходящей группы родамина 110, которая выявлялась возбуждением при 490 нм. Количество флуоресцентного продукта пропорционально количеству расщепляющей активности каспазы 3/7 в образце.

Для измерения апоптотического эффекта тестируемых соединений опухолевые клетки помещали в концентрации 1×10^4 клеток на лунку в 96-луночные планшеты и инкубировали в течение ночи при 37°C, при 5% CO₂. Опухолевые клетки обрабатывали тестируемым соединением в желаемых концентрациях в трех повторах, включая контрольные необработанные/негативные лунки. Аналитические планшеты снова инкубировали в течение 48 ч. В конце периода инкубации смесь аналитического буфера и субстрата добавляли в каждую тестируемую лунку. Флуоресценцию в каждой лунке измеряли при возбуждающей длине волны 480 ± 20 нм и длине волны излучения 530 ± 25 нм. Процентное повышение активности каспазы в обработанных клетках рассчитывали по сравнению с необработанными контрольными лунками.

Выживаемость клеток определяли с помощью набора для люминесцентного анализа выживаемости клеток CellTiter-Glo®, (Promega, Catalog#G7570), который представляет собой способ оценки количества выживших клеток на основе количественного определения АТФ в метаболически активных клетках. После лизирования клеток монооксигенацию субстрата люцефирина катализировали ферментом люциферазой в присутствии Mg²⁺, АТФ и молекулярного кислорода, приводящим к генерации люминесцентного сигнала, который пропорционален количеству выживших клеток в аналитических лунках.

Для измерения выживаемости клеток после действия соединениями опухолевые клетки высевали в концентрации 2×10^4 клеток на лунку на 96-луночные планшеты и инкубировали в течение ночи при температуре 37°C, при 5% CO₂. Опухолевые клетки обрабатывали тестируемым соединением в желаемых концентрациях в трех повторах, включая контрольные необработанные/негативные клетки. Аналитические планшеты снова инкубировали в течение 48 ч. В конце периода инкубации смесь лизирующего аналитического буфера и субстрата добавляли в каждую тестируемую лунку. Люминесценцию в каждой лунке измеряли с использованием люминометра титрационного микропланшета.

MV4;11 представляет собой линию клеток острого миелоидного лейкоза человека, характеризующуюся присутствием гибридного транскрипта, состоящего из генов MLL и AF4 и с внутренней тандемной дубликацией в околомембранной области гена FLT-3. RS4;11 представляет собой клеточную линию острого лимфоидного лейкоза человека, характеризующуюся присутствием гибридного транскрипта, состоящего из генов MLL и AF4. REN представляет собой клеточную линию острого лимфоидного лейкоза человека (non-T; non-B), характеризующуюся присутствием гибридного транскрипта, состоящего из генов TEL и AML1. Kasumi 1 представляет собой линию острого миелоидного лейкоза человека, характеризующуюся присутствием гибридного транскрипта, состоящего из генов AML1 и ETO. K562 представляет собой клеточную линию хронического миелобластного лейкоза человека, характеризующуюся присутствием гибридного транскрипта, состоящего из генов Bcr и Abl. HEL 92.1.7 представляет собой клеточную линию эритролейкоза человека, характеризующуюся присутствием мутации V617F в гене JAK2. Jurkatt представляет собой клеточную линию острого Т-клеточного лейкоза человека. Каждая из клеточных линий получена из Американской коллекции типовых культур (ATCC).

В следующих таблицах термин "Соединение 1", или "Соед. 1", означает 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепин. Ингибитор GSK-3 3-(2,4-дихлорфенил)-4-(1-метил-1Н-индол-3-ил)-1Н-пиррол-2,5-дион (SB216763), Sigma-Aldrich, используется в качестве положительного сравнительного контроля в некоторых экспериментах. Соединение, являющееся ингибитором GSK-3 IX, (2'Z,3'E)-6-броминдирубин-3'-оксим ("GSK3-IX"), Calbiochem, использовали в качестве положительного контроля в некоторых экспериментах. SB216763 и GSK3-IX согласно публикации Wang et al., Nature, 455, 1205-1210 (2008) имеют положительный результат.

Данные в табл. 1 выражены как процентное повышение активности каспазы 3 по сравнению с необработанными соединением контролями, если иное не указано.

Таблица 1

Активность каспазы 3

Клеточная линия	Повышение активности каспазы 3 при использовании носителя, %	Концентрация Соединения 1 (мкМ)	Повышение активности каспазы 3 после обработки Соединением 1, % (среднее для трех повторов)	Концентрация SB216763 (мкМ)	Повышение активности каспазы 3 после обработки SB216763, % (среднее для трех повторов)
MV4;11	0	0,010	188	30	83
RS4;11	0	0,009	111	20	117
REN	0	0,0007	132	20	113
Kasumi 1	0	0,370	133	10	27
HEL 92.1.7	0	0,120	284	10	250
K562	0	0,0007	1057	20	223
Jurkat	0	0,370	140	10	101

Данные в табл. 1 свидетельствуют о собственной активности соединения 1 в отношении всех тестируемых клеточных линий и, в частности, в отношении не связанного с транслокацией гена MLL AML, CML, эритролейкоза и ALL. Данные также свидетельствуют о повышенной эффективности соединения 1 по сравнению с SB216763 в отношении всех тестируемых клеточных линий.

Данные в табл. 2 представлены в виде расчетных концентраций, необходимых для снижения выживаемости клеток на 50% (EC₅₀) после обработки соединением 1 или SB216763.

Таблица 2

Снижение выживаемости клеток

Клеточная линия	Снижение выживаемости клеток после обработки Соединением 1 EC ₅₀ , мкМ (среднее для трех повторов)	Снижение выживаемости клеток после обработки SB216763 - EC ₅₀ , мкМ (среднее для трех повторов)	Снижение выживаемости клеток после обработки GSK3-IX - EC ₅₀ , мкМ (среднее для трех повторов)
MV4;11	0,082	12,6	0,2
RS4;11	0,005	4,4	0,3
REN	0,006	4,2	1,1
Kasumi	0,016	10	1,2
HEL 92.1.7	0,034	11,3	>3,3
K562	0,046	20	>3,3
Jurkat	0,046	>10	>3,3

Данные, приведенные в табл. 2, также свидетельствуют о собственной активности соединения 1 в отношении всех тестируемых клеточных линий и, в частности, в отношении не связанного с транслокацией гена MLL AML, CML, эритролейкоза и ALL. Данные также свидетельствуют о повышенной эффективности соединения 1 по сравнению с SB216763 и GSK3-IX в отношении всех тестируемых клеточных линий.

Исследование эффективности *in vivo*.

Культивируемые клетки (ATCC) имплантировали подкожно в заднюю часть спины самок мышей линии CD-1 nu/nu, которые акклиматизировались в течение одной недели в виварии после их получения от поставщика. Мышей рандомизировали в группы по 10 мышей на группу и лечение начинали, когда средний объем опухоли достигал ~100 мм³. Соединение 1 вводили внутривенно (IV). Размер опухоли измеряли 2 раза в неделю с помощью электронного циркуля для построения кривых роста. Также наблюдали за колебаниями массы тела животных и их выживаемостью. Животным проводили три цикла введения 5 мг/кг соединения 1 (внутривенно, IV) с 7-дневными интервалами между циклами.

Животным также проводили 6 циклов введения соединения 1 (внутривенно, IV) в дозе 0,1 и 1 мг/кг, с 3,5-дневными интервалами между циклами. Животным вводили 30 мг/кг антиметаболита арабинозилцитозина (внутрибрюшинно, IP) каждый день в течение 14 последовательных дней для сравнительного контроля. р-Значения для каждой лечебной группы определяли путем сравнения с контрольной группой, получающей в качестве носителя каптизол.

Таблица 3
Противоопухолевая эффективность соединения 1 в ксенографах
лейкоза MV4;11

Лечебная группа	Объем опухоли на 33 день Среднее ± стандартная ошибка (мм ³)	р-значение
Носитель каптизол, контроль	233±23,2	-
Соединение 1 (5 мг/кг), введение один раз в неделю	167±11,7	<0,01
Соединение 1 (0,1 мг/кг), введение два раза в неделю	189±22,3	-
Соединение 1 (1 мг/кг), введение два раза в неделю	154±15	<0,01
Арабинозилцитозин (30 мг/кг), введение каждый день в течение 14 дней	129±11,2	<0,001

Данные в табл. 3 свидетельствуют о том, что данные, полученные *in vitro*, демонстрирующие собственную активность и повышенную эффективность соединения 1, подтверждаются *in vivo* в настоящем тесте при сравнении с антиметаболитом арабинозилцитозином (вводимым внутрибрюшинно).

Синтез 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепина и фармацевтически приемлемых солей и сольватов указанного соединения осуществляется фактически в соответствии с международной заявкой на патент WO 2009/006043. Как описано ниже, синтез проводится с помощью стандартных методов органической химии, известных специалистам в данной области техники.

Получение 1.

2-Имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-ацетамид.

Этиловый эфир 4,4-диметокси-бут-2-еновой кислоты.

Карбонат калия (16,5 г, 120 ммоль) добавляли к раствору диметоксиацетальдегида (60%, по массе в воде) (15 мл, 100 ммоль) и триэтилфосфонацетата (20 мл, 100 ммоль) в 210 мл тетрагидрофурана и 30 мл воды. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь выливали в диэтиловый эфир (200 мл) и промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением желаемого соединения в виде желтого масла (15,8 г, 90%).

¹H-ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 6,77 (дд, J=15,9, 4,0 Гц, 1H), 6,13 (дд, J=15,9, 1,4 Гц, 1H), 4,95 (дд, J=4,0, 1,4 Гц, 1H), 4,22 (кв., J=7,1 Гц, 2H), 3,34 (с, 6H), 1,30 (т, J=7,1 Гц, 3H).

Этиловый эфир имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-уксусной кислоты.

Смесь этилового эфира 4,4-диметокси-бут-2-еновой кислоты (43,5 г, 250 ммоль) и п-толуолсульфоновой кислоты (4,75 г, 25 ммоль) в ацетонитриле (240 мл) и воде (15 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 2-аминопиридин (18,8 г, 200 ммоль). Смесь нагревали с обратным холодильником в течение 16 ч, затем охлаждали до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (1200 мл) и промывали последовательно насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (3×600 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (2×600 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением желаемого соединения в виде коричневого масла (30 г, 73%).

¹H-ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 8,06 (д, J=6,6 Гц, 1H), 7,63 (д, J=9,1 Гц, 1H), 7,56 (с, 1H), 7,20 (дд, J=8,9, 6,8 Гц, 1H), 6,84 (т, J=6,7 Гц, 1H), 4,17 (кв., J=7,3 Гц, 2H), 3,93 (с, 2H), 1,25 (т, J=7,3 Гц, 3H).

Образование амида.

Раствор этилового эфира имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-уксусной кислоты (30 г, 147 ммоль) в NH₃/MeOH (7н. раствор, 250 мл) нагревали при 85°C в герметично закрытой пробирке в течение 15 ч.

Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Осадок обрабатывали дихлорметаном, обрабатывали ультразвуком и полученный в результате твердый осадок фильтровали с получением желаемого соединения в виде твердого вещества желтого цвета (8,9 г, 35%).

^1H -ЯМР (300 МГц, DMSO): δ 8,30 (д, J=6,9 Гц, 1H), 7,62 (шир.с, 1H), 7,54 (д, J=9,0 Гц, 1H), 7,42 (с, 1H), 7,21 (дд, J=7,7, 6,7 Гц, 1H), 7,18 (шир.с, 1H), 6,91 (т, J=6,8 Гц, 1H), 3,81 (с, 2H).

Получение 2.

трет-Бутиловый эфир 9-фтор-7-метоксиоксалил-3,4-дигидро-1H-[1,4]дiazепин[6,7,1-hi]индол-2-карбоновой кислоты.

2-Дибутосиметил-4-фтор-1-нитробензол.

Раствор 5-фтор-2-нитробензальдегида (10 г, 59,17 ммоль), бутанола (20 мл, 219 ммоль) и п-толуолсульфоновой кислоты (600 мг, 3,15 ммоль) в толуоле (200 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч в колбе, снабженной насадкой Дина-Старка. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетатом (400 мл) и промывали последовательно насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (3×300 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (2×300 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением желаемого соединения в виде бледно-желтого масла (17 г, 96%).

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 7,91 (дд, J=8,9, 4,9 Гц, 1H), 7,53 (дд, J=9,3, 2,9 Гц, 1H), 7,15-7,09 (м, 1H), 6,04 (с, 1H), 3,67-3,50 (м, 4H), 1,63-1,54 (м, 4H), 1,44-1,32 (м, 4H), 0,92 (т, J=7,3 Гц, 6H).

5-Фтор-1H-индол-7-карбальдегид.

Винилмагнийбромид (1 M в тетрагидрофуране, 85,2 мл, 85,2 ммоль) по капле добавляли к раствору 2-дибутосиметил-4-фтор-1-нитробензола (8,5 г, 28,4 ммоль) в тетрагидрофуране (250 мл) при температуре -78°C. Реакционную смесь нагревали до температуры -(45-50)°C в течение 30 мин, охлаждали до температуры -78°C и добавляли по каплям винилмагнийбромид (1 M в тетрагидрофуране, 85,2 мл, 85,2 ммоль). Реакционную смесь нагревали до температуры -(45-50)°C в течение 20 мин, затем добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония (300 мл). Смесь нагревали до комнатной температуры и экстрагировали диэтиловым эфиром (2×200 мл). Промывали объединенные органические фазы насыщенным водным раствором хлорида натрия (2×400 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Осадок растворяли в тетрагидрофуране (100 мл), добавляли 0,5н. HCl (10 мл) и перемешивали в течение 20 мин. Разбавляли смесь диэтиловым эфиром (200 мл), промывали последовательно насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (3×200 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (2×200 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Осадок хроматографировали на силикагеле при элюировании этилацетатом в гексанах (от 5 до 10%) с получением желаемого соединения в виде твердого вещества бледно-желтого цвета (2,6 г, 56%).

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 10,07 (с, 1H), 10,05 (шир.с, 1H), 7,62 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,42-7,39 (м, 2H), 6,60 (д, J=5,4 Гц, 1H).

2-[(5-Фтор-1H-индол-7-илметил)амино]этанол.

К раствору 5-фтор-1H-индол-7-карбальдегида (2,6 г, 16,0 ммоль) в 1,2-дихлорэтаноле (40 мл) добавляли 2-аминоэтанол (1,93 мл, 32,0 ммоль) с последующим добавлением уксусной кислоты (2,01 мл, 48,0 ммоль). Перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Добавляли порциями триацетоксиборгидрид натрия (4,07 г, 19,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Медленно добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (100 мл) с последующим добавлением 1н. NaOH до достижения значения pH~9. Экстрагировали этилацетатом (3×100 мл). Промывали органическую фазу насыщенным водным раствором хлорида натрия (2×200 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением желаемого соединения в виде твердого вещества бледно-желтого цвета (3,2 г, 96%).

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 9,71 (шир.с, 1H), 7,24 (д, J=2,7 Гц, 1H), 7,19 (дд, J=9,5, 2,3 Гц, 1H), 6,79 (дд, J=9,8, 2,2 Гц, 1H), 6,49 (дд, J=3,1, 2,2 Гц, 1H), 4,15 (с, 2H), 3,77 (т, J=5,2 Гц, 2H), 2,84 (т, J=5,2 Гц, 2H).

трет-Бутиловый эфир (5-фтор-1H-индол-7-илметил)-(2-гидроксиэтил)карбаминовой кислоты.

Раствор ди-трет-бутилдикарбоната (3,63 г, 16,65 ммоль) в тетрагидрофуране (40 мл) добавляли по капле к раствору 2-[(5-фтор-1H-индол-7-илметил)амино]этанола (3,15 г, 15,14 ммоль) в тетрагидрофуране (60 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли этилацетат (200 мл) и промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением желаемого соединения в виде бледно-желтого масла (4,9 г, >100%).

^1H -ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 10,17 (шир.с, 1H), 7,27-7,23 (м, 2H), 6,81 (дд, J=9,4, 2,4 Гц, 1H), 6,50 (дд, J=2,9, 2,2 Гц, 1H), 4,67 (с, 2H), 3,72 (шир.с, 2H), 3,33 (т, J=5,3 Гц, 2H), 1,50 (с, 9H).

2-[трет-Бутоксикарбонил-(5-фтор-1Н-индол-7-илметил)амино]этиловый эфир метансульфоновой кислоты.

Добавляли триэтиламин (4,64 мл, 33,3 ммоль) с последующим добавлением метансульфонилхлорида (1,29 мл, 16,65 ммоль) к раствору трет-бутилового эфира (5-фтор-1Н-индол-7-илметил)-(2-гидроксиэтил)карбаминовой кислоты (4,9 г, предположительно 15,14 ммоль) в дихлорметане (70 мл) при температуре 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 0°C. Разбавляли этилацетатом (200 мл), промывали последовательно насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (3×200 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (2×200 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением желаемого соединения в виде желто-коричневого масла (5,9 г, >100%).

¹Н-ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 10,07 (шир.с, 1Н), 7,28-7,2 (м, 2Н), 6,83 (дд, J=9,3, 2,3 Гц, 1Н), 6,50 (дд, J=2,9, 2,2 Гц, 1Н), 4,67 (с, 2Н), 4,17 (т, J=5,5 Гц, 2Н), 3,51 (т, J=5,6 Гц, 2Н), 2,79 (с, 3Н), 1,51 (с, 9Н).

трет-Бутиловый эфир 9-фтор-3,4-дигидро-1Н-[1,4]дiazепин[6,7,1-hi]индол-2-карбоновой кислоты.

К раствору 2-[трет-бутоксикарбонил-(5-фтор-1Н-индол-7-илметил)амино]этилового эфира метансульфоновой кислоты (5,9 г, предположительно 15,14 ммоль) в диметилформамиде (40 мл) добавляли гидрид натрия (60%) (666 мг, 16,65 ммоль) одной порцией при температуре 0°C. Реакционную смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 10 мин и затем при комнатной температуре в течение 30 мин. Медленно добавляли воду (200 мл). Фильтровали и сушили полученный в результате твердый осадок желтого цвета с получением желаемого соединения (4,14 г, 94%).

¹Н-ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 7,15 (д, J=9,1 Гц, 1Н), 7,07 (с, 1Н), 6,78 (дд, J=14,7, 8,8 Гц, 1Н), 6,49 (д, J=3,1 Гц, 1Н), 4,81 (с, 1Н), 4,76 (с, 1Н), 4,25-4,23 (м, 2Н), 3,94-3,83 (м, 2Н), 1,49 (с, 9Н).

трет-Бутиловый эфир 9-фтор-7-метоксиоксалил-3,4-дигидро-1Н-[1,4]diazепин[6,7,1-hi]индол-2-карбоновой кислоты.

К раствору трет-бутилового эфира 9-фтор-3,4-дигидро-1Н-[1,4]diazепин[6,7,1-hi]индол-2-карбоновой кислоты (4,14 г, 14,28 ммоль) в метил-трет-бутиловом эфире (100 мл) добавляли оксалил хлорид (1,62 мл, 18,56 ммоль) при температуре -5°C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры в течение 1,5 ч и затем охлаждали до -5°C. Добавляли метанол (11,6 мл, 286 ммоль) и перемешивали при температуре -5°C в течение 30 мин. Добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×100 мл). Объединенную органическую фазу последовательно промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (3×200 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (2×200 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и затем концентрировали при пониженном давлении с получением заявленного в заголовке соединения в виде твердого вещества желтого цвета (5,13 г, 93%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 8,38 (с, 1Н), 8,04 (д, J=6,8 Гц, 1Н), 6,89 (дд, J=19,7, 8,6 Гц, 1Н), 4,90 (с, 1Н), 4,81 (с, 1Н), 4,45-4,43 (м, 2Н), 4,05-3,93 (м, 2Н), 3,95 (с, 3Н), 1,42 (с, 9Н).

Получение 3.

Дигидрохлорид 3-(9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро[1,4]diazепин[6,7,1-hi]индол-7-ил)-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-илпиррол-2,5-диона.

К раствору трет-бутилового эфира 9-фтор-7-метоксиоксалил-3,4-дигидро-1Н-[1,4]diazепин[6,7,1-hi]индол-2-карбоновой кислоты (5,13 г, 13,64 ммоль) и 2-имидазо[1,2-а]пиридин-3-илацетамида (2,39 г, 13,64 ммоль) в диметилформамиде (80 мл) добавляли одной порцией трет-бутоксид калия (4,58 г, 40,92 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония (200 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×200 мл). Промывали объединенные органические фазы насыщенным водным раствором хлорида натрия (3×200 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Осадок растворяли в дихлорметане (20 мл) и добавляли по каплям 4н/ HCl в диоксане (40 мл), затем перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Полученный в результате твердый осадок фильтровали и промывали диэтиловым эфиром с получением заявленного в заголовке соединения в виде твердого вещества красного цвета (4,4 г, 68%).

МС (APCI): m/z=402 [C₂₂H₁₆FN₅O₂+H]⁺.

Пример 1.

7-(2,5-Дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепин.

К раствору 3-(9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро[1,4]diazепин[6,7,1-hi]индол-7-ил)-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-илпиррол-2,5-диона (1,42 г, 3,0 ммоль) и триэтиламина (2,09 мл, 15,0 ммоль) в метаноле (80 мл) добавляли пиперидин-1-карбонилхлорид (0,5 мл, 4,0 ммоль). Перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли триэтиламин (1,04 мл, 7,5 ммоль) и пиперидин-1-карбонилхлорид (0,5 мл, 4,0 ммоль). Перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Добавляли этилацетат (500 мл) и промывали последовательно насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (3×300 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Осадок хроматографировали на силикагеле при

элюирования от 0 до 3% метанолом в этилацетате с получением заявленного в заголовке соединения в виде твердого вещества красного цвета (700 мг, 45%).

Точка плавления=188-190°C.

МС (APCI): $m/z=513 [C_{28}H_{25}FN_6O_3+H]^+$.

Пример 2.

Метансульфонат 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина.

Нагревали суспензию 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина (500 мг, 0,976 ммоль) в метаноле (2,5 мл) до 64°C. Добавляли раствор метансульфоновой кислоты (64 мкл, 0,976 ммоль) в метаноле (1,0 мл) в течение 5 мин. Смесь перемешивали при температуре 64°C в течение 15 мин и затем добавляли изопропанол (5,0 мл) в течение 30 мин. Полученную суспензию оставляли охлаждаться до комнатной температуры в течение 1 ч и затем перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Суспензию фильтровали, промывали изопропанолом и сушили при пониженном давлении при температуре 42°C с получением заявленного в заголовке соединения в виде твердого вещества оранжевого цвета (478 мг, 88,5% (с учетом 9,9% летучего вещества в исходном материале и 1,0% летучего вещества в продукте)).

Точка плавления=282,3°C (DSC).

Пример 3.

Этанолат 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина.

Суспензию 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина (2,0 г, 3,9 ммоль) в этаноле (30 мл) нагревали до 70°C. Добавляли 5 М HCl (0,73 мл) одной порцией. Смесь перемешивали при 70°C в течение 10 мин и затем добавляли 1н. NaOH (3,63 мл) в течение 3 мин. Смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Полученную суспензию оставляли охлаждаться до комнатной температуры в течение 1 ч и затем перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 ч. Суспензию фильтровали, промывали этанолом и сушили при пониженном давлении при 42°C с получением заявленного в заголовке соединения в виде твердого вещества оранжевого цвета (1,84 г, 92% (с учетом 7,5% летучего вещества в исходном материале и 7,7% летучего вещества в продукте)).

Точка плавления=179,4°C (DSC).

Главные пики на рентгенограмме порошка (угол рассеяния (градусы 2 θ), интенсивность): 8,989°, 100%; 9,787°, 48,7%; 12,846°, 20% и 7,444°, 17,5%.

Пример 4.

Гидрат I 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина.

Суспензию этанолата 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина (198,5 мг) в воде (10 мл) нагревали до 80°C в течение 2,75 ч. Добавляли 3,11 мл 1н. HCl. Когда температура восстанавливалась до 80°C, быстро добавляли 3,11 мл 1н. NaOH. Температуру поддерживали при 80°C приблизительно в течение 15 мин, затем оставляли суспензию охлаждаться до комнатной температуры. Собирали твердое вещество посредством вакуумной фильтрации через бумажный фильтр Whatman #1 и оставляли высыхать в свободно открытом состоянии в течение ночи.

Главные пики на рентгенограмме порошка (угол рассеяния (градусы 2 θ), интенсивность): 12,089°, 100%; 10,485°, 83,6%; 13,227°, 56% и 7,660°, 8%.

Пример 5.

Гидрат II 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина.

Суспензию этанолата 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина (200,6 мг) в воде (25 мл) нагревали до 75°C в течение 0,5 ч. Добавляли 0,72 мл 1н. HCl и продолжали нагревать в течение 0,75 ч. Быстро добавляли 0,72 мл 1н. NaOH. Оставляли суспензию охлаждаться до комнатной температуры. Собирали твердое вещество посредством вакуумной фильтрации через бумажный фильтр Whatman #1, промывали 20 мл деионизированной воды и оставляли высыхать в свободно открытом состоянии в течение 2 дней.

Главные пики на рентгенограмме порошка (угол рассеяния (градусы 2 θ), интенсивность): 6,878°, 100%; 5,732°, 58,7%; 11,550°, 82,8%; 18,426°, 20,7% и 10,856°, 44,2%.

Пример 6.

Дигидрат 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина.

Суспензию этанолата 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-*jk*]-[1,4]бензодиазепина (200,8 мг) в воде (25 мл) нагревали до 75°C в течение 0,67 ч. Добавляли 0,72 мл 1н. HCl и продолжали нагревать в течение 1,75 ч. Добавляли по 1 мл 0,1н. NaOH каждые 5 мин до тех пор, пока не были добавлены 7,2 мл. После последнего добавления температуру суспензии поддерживали при 75°C в течение 0,67 ч и затем оставляли суспензию охлаждаться до комнатной температуры. Собирали твердое вещество посредством вакуумной фильтрации через бумажный фильтр Whatman #1, промывали 20 мл деионизированной воды и оставляли высыхать в свободно накрытом состоянии в течение 2 дней.

Главные пики на рентгенограмме порошка (угол рассеяния (градусы 2θ), интенсивность): 5,498°, 100%; 22,149°, 100%; 14,921°, 32,9%; 11,399°, 36,7% и 11,019°, 20,5%.

Соединение 1 предпочтительно включается в состав фармацевтической композиции до введения пациенту. Применимые составы включают соединение 1 или фармацевтически приемлемую соль или сольват указанного соединения и SBE7-β-CD. Соединение SBE7-β-CD представляет собой сульфбутиловый эфир β-циклодекстрина, описанный в патенте США № 5134127. Он продается под торговым названием CAPTISOL®. Конкретные составы описаны в следующих примерах состава.

Применимая фармацевтическая композиция может быть получена путем растворения соединения 1 или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения (50 мг/мл) в 2-пирролидоне (SOLUPHOR®-P). Указанный раствор затем разбавляли водным раствором SBE7-β-CD (30%, по объему) и полоксамера 188 (Lutrol®-F 68) (10%, по объему).

Пример состава 1.

Получали первый раствор путем добавления 30,0 г SBE7-β-CD к 71,25 мл воды и перемешивали или взбалтывали до полного растворения. Добавляли 10,0 г полоксамера 188 и продолжали перемешивать до полного растворения. Получали второй раствор путем добавления этанолата соединения 1 к 2-пирролидону согласно следующей формуле:

$$\text{мл 2-пирролидона} = (\text{абсолютная масса этанолата соединения 1 (мг)} / 50 \text{ мг/мл}) \times 0,5.$$

Добавляли первый раствор ко второму раствору. Фильтровали полученный в результате раствор через 0,2 мкм фильтр SUPOR® (гидрофильный полиэфирсульфоновый фильтр, Pall Corporation) в обезпыленную емкость.

Фармацевтическую композицию согласно другому варианту реализации изобретения получали путем комбинации соединения 1 или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения с эквимольным количеством фармацевтически приемлемой кислоты в воде. Полученную смесь затем объединяли по меньшей мере с одним молярным эквивалентом SBE7-β-CD в виде водного раствора. Предпочтительные фармацевтически приемлемые кислоты включают HCl, HBr, серную кислоту и метансульфоновую кислоту. Применение HCl является особо предпочтительным.

Пример состава 2.

Получали первый раствор путем добавления 20,0 г SBE7-β-CD к 80,0 мл воды и перемешивали или взбалтывали до полного растворения. Добавляли указанный раствор к этанолату соединения 1 согласно следующей формуле:

$$\text{количество мл первого раствора} = (\text{абсолютная масса этанолата соединения 1 (мг)} / 20 \text{ мг/мл}) - (\text{абсолютная масса этанолата соединения 1 (мг)} / 1200 \text{ мг/мл}) - (\text{абсолютная масса этанолата соединения 1 (мг)} \times 0,00195107 \text{ мл 1н. HCl/мг этанолата соединения 1}).$$

Добавляли 1н. HCl согласно следующему расчету:

$$\text{количество мл 1н. HCl для добавления} = (\text{абсолютная масса этанолата соединения 1 (мг)} \times 0,00195107 \text{ мл 1н. HCl/мг этанолата соединения 1}).$$

Перемешивали или обрабатывали ультразвуком до полного растворения соединения.

Согласно предпочтительному варианту реализации изобретения фармацевтическую композицию получали путем добавления 1 мол.экв. соединения 1 или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения к водному раствору по меньшей мере 1 мол.экв. SBE7-β-CD при pH ниже 5,5 (pH конечного раствора) возможно в присутствии фармацевтически приемлемого буферного вещества и перемешивания до растворения соединения 1 или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения. Затем доводили pH до значения между 2,5 и 3,5 с помощью фармацевтически приемлемого основания (pH конечного раствора). Полученный в результате раствор состава может непосредственно вводиться пациенту или же раствор предпочтительно может быть лиофилизирован с получением твердого состава, который может восстанавливаться водой.

SBE7-β-CD может присутствовать в количестве от 1 мол.экв. до количества, необходимого для введения пациенту не более чем 13,4 г SBE7-β-CD в день. Предпочтительное количество SBE7-β-CD составляет от 1,0 до 4,0 мол.экв., более предпочтительно составляет от 2,0 до 3,0 мол.экв. и особенно пред-

почтительно составляет от 2,5 до 2,7 мол.экв. соединения 1.

Несмотря на то что любой рН исходного раствора ниже 5,5 является приемлемым, рН исходного раствора ниже 3,0 является предпочтительным, рН исходного раствора в пределах от 1,0 до 2,0 является более предпочтительным и рН исходного раствора между 1,2 и 1,4 является наиболее предпочтительным. Необходимый рН исходного раствора достигается путем добавления любой фармацевтически приемлемой кислоты, способной доводить рН раствора до значения менее чем рН 5,5. Применение соляной кислоты является предпочтительным.

Состав может дополнительно содержать фармацевтически приемлемое буферное вещество. Фармацевтически приемлемые буферные вещества представляют собой такие соединения, которые используются специалистами в области приготовления фармацевтических составов для стабилизации рН конечного раствора в определенном диапазоне рН. Фармацевтически приемлемые буферные вещества включают фосфатные буферы, а также лимонную кислоту, глицин и винную кислоту или их фармацевтически приемлемые соли. Фармацевтически приемлемые соли указанных кислот включают соли натрия и калия. Предпочтительным является присутствие фармацевтически приемлемого буферного вещества в составе. Винная кислота является предпочтительным фармацевтически приемлемым буферным веществом.

Необходимо, чтобы соединение 1 полностью растворялось до момента доведения рН до значения рН конечного раствора. Для облегчения растворения можно использовать любой механический способ или путем изменения температуры раствора, если необходимо или при желании. Предпочтительно перемешивать раствор при комнатной температуре.

рН конечного раствора получали путем добавления любого фармацевтически приемлемого основания, способного доводить рН раствора до значений в диапазоне от 2,5 до 3,5. Предпочтительно применение гидроксида натрия. рН конечного раствора может находиться в пределах от 2,5 до 3,5, предпочтительно в пределах от 2,5 до 3,1. Наиболее предпочтительный рН конечного раствора находится в пределах от 2,7 до 3,1. При достижении значения рН конечного раствора раствор может быть лиофилизирован при необходимости или при желании при стандартных условиях лиофилизации с получением фармацевтической композиции твердого вещества, подходящей для восстановления водой.

Пример состава 3.

Получали раствор 0,15 г винной кислоты и 12 г (5,55 ммоль) SBE7-β-CD в 70 мл воды. Добавляли 5 мл 1н. HCl и смешивали при комнатной температуре. Добавляли 1,1 г (2,15 ммоль) этанолата соединения 1 и перемешивали при комнатной температуре до его растворения. Добавляли 1н. гидроксид натрия до получения значения рН примерно 2,9. Добавляли достаточное количество воды для получения конечного объема 100 мл. Лиофилизировали указанный раствор с получением аморфного твердого вещества оранжево-красного цвета.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения для получения лекарственного средства для лечения недифференцированного лейкоза, недифференцированного лейкоза с транслокацией, острого миелобластного лейкоза на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией, острого лимфобластного лейкоза на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией, не связанного с транслокацией гена MLL хронического миелопролиферативного заболевания или не связанного с транслокацией гена MLL острого лимфобластного лейкоза.

2. Применение по п.1, где лейкоз представляет собой недифференцированный лейкоз, недифференцированный лейкоз с транслокацией, острый миелобластный лейкоз на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией или острый лимфобластный лейкоз на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией.

3. Применение по п.2, где лейкоз представляет собой недифференцированный лейкоз.

4. Применение по п.2, где лейкоз представляет собой недифференцированный лейкоз с транслокацией.

5. Применение по п.2, где лейкоз представляет собой острый миелобластный лейкоз на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией.

6. Применение по п.2, где лейкоз представляет собой острый лимфобластный лейкоз на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией.

7. Применение по п.1, где лейкоз представляет собой не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное заболевание.

8. Применение по п.7, где не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное заболевание представляет собой не связанный с транслокацией гена MLL острый миелобластный лейкоз, эритролейкоз или хронический миелобластный лейкоз.

9. Применение по п.8, где не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное заболевание представляет собой не связанный с транслокацией гена MLL хронический миелобла-

стный лейкоз.

10. Применение по п.8, где не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное заболевание представляет собой не связанный с транслокацией гена MLL острый миелобластный лейкоз.

11. Применение по п.8, где не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное заболевание представляет собой эритролейкоз.

12. Применение по п.1, где лейкоз представляет собой не связанный с транслокацией гена MLL острый лимфобластный лейкоз.

13. Применение по п.7, где не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное заболевание представляет собой JAK2 (+) миелопролиферативное заболевание.

14. Применение по п.7, где не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное заболевание представляет собой хронический миелобластный лейкоз с филадельфийской хромосомой.

15. Применение 7-(2,5-дигидро-4-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил-2,5-диоксо-1Н-пиррол-3-ил)-9-фтор-1,2,3,4-тетрагидро-2-(1-пиперидинилкарбонил)пирроло[3,2,1-jk]-[1,4]бензодиазепина или фармацевтически приемлемой соли или сольвата указанного соединения для лечения недифференцированного лейкоза, недифференцированного лейкоза с транслокацией, острого миелобластного лейкоза на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией, острого лимфобластного лейкоза на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией, не связанного с транслокацией гена MLL хронического миелопролиферативного заболевания или не связанного с транслокацией гена MLL острого лимфобластного лейкоза.

16. Применение по п.15, где лейкоз представляет собой острый миелобластный лейкоз на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией.

17. Применение по п.15, где лейкоз представляет собой острый лимфобластный лейкоз на основе недифференцированного лейкоза с транслокацией.

18. Применение по п.15, где лейкоз представляет собой не связанное с транслокацией гена MLL хроническое миелопролиферативное заболевание, выбранное из не связанного с транслокацией гена MLL острого миелобластного лейкоза; эритролейкоза или хронического миелобластного лейкоза.

19. Применение по п.18, где лейкоз представляет собой не связанный с транслокацией гена MLL острый миелобластный лейкоз.

20. Применение по п.18, где лейкоз представляет собой не связанный с транслокацией гена MLL хронический миелобластный лейкоз.

