

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 034972

(13) B1

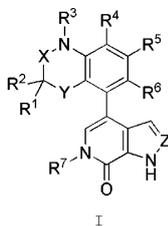
(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

- | | |
|--|---|
| <p>(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.04.13</p> <p>(21) Номер заявки
201692134</p> <p>(22) Дата подачи заявки
2015.04.22</p> | <p>(51) Int. Cl. C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)</p> |
|--|---|

(54) 1Н-ПИРРОЛО[2,3-С]ПИРИДИН-7(6Н)-ОНЫ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ БЕЛКОВ ВЕТ

- | | |
|--|---|
| <p>(31) 61/983,289</p> <p>(32) 2014.04.23</p> <p>(33) US</p> <p>(43) 2017.02.28</p> <p>(86) PCT/US2015/027047</p> <p>(87) WO 2015/164480 2015.10.29</p> <p>(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН (US)</p> <p>(72) Изобретатель:
Комбс Эндрю П., Мадускуи Томас П.,
мл., Фалахатпишех Нику (US)</p> <p>(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)</p> | <p>(56) WO-A1-2013097601
WO-A1-2013097052
DANIEL GALLENKAMP ET AL.:
"Bromodomains and Their Pharmacological
Inhibitors", CHEMMEDCHEM, vol. 9, no. 3, 4 March
2014 (2014-03-04), pages 438-464, XP55124420,
ISSN: 1860-7179, DOI: 10.1002/cmdc.201300434,
compounds 17,109-113,116
JEAN-MARC GARNIER ET AL.: "BET
bromodomain inhibitors: a patent review", EXPERT
OPINION ON THERAPEUTIC PATENTS, vol.
24, no. 2, 1 February 2014 (2014-02-01),
pages 185-199, XP55121821, ISSN: 1354-3776,
DOI: 10.1517/13543776.2014.859244, compounds
44,45,47</p> |
|--|---|

- (57) Данное изобретение относится к замещенным пирролопиридинонам и замещенным пиразолопиридинонам формулы (I), которые представляют собой ингибиторы белков BET, таких как BRD2, BRD3, BRD4 и BRD-t, и являются применимыми при лечении таких заболеваний, как рак.



B1

034972

034972 B1

Область изобретения

Данное изобретение относится к замещенным пирролопиридинонам, которые представляют собой ингибиторы белков BET, таких как BRD2, BRD3, BRD4 и BRD-t, и являются применимыми при лечении таких заболеваний, как рак.

Уровень техники

Геномы эукариотических организмов в пределах ядра клетки являются высокоорганизованными. ДНК упакована в хроматин путем обертывания вокруг ядра гистоновых белков, для образования нуклеосомы. Эти нуклеосомы дополнительно уплотняются с помощью агрегации и складываются для образования высококонденсированной структуры хроматина. Возможен диапазон различных состояний конденсации, а плотность этой структуре изменяется во время клеточного цикла, будучи наиболее компактной в процессе клеточного деления. Структура хроматина играет важную роль в регуляции транскрипции генов путем регулирования доступа белков к ДНК. Структура хроматина управляется серией посттрансляционных модификаций гистоновых белков, главным образом, в пределах хвостов гистонов H3 и H4, выходящих за рамки структуры ядра нуклеосомы. Данные обратимые модификации включают ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, убиквитинирование и СУМОилирование. Эти эпигенетические маркеры записываются и стираются специфическими ферментами, которые изменяют специфические остатки в пределах хвоста гистона, тем самым формируя эпигенетический код. Другие ядерные белки связываются с этими маркерами и влияют на продукты, предусмотренные этой информацией, посредством регулирования структуры хроматина и транскрипции генов. Накапливаемые данные связывают генетические изменения в генах, кодирующих эпигенетические модификаторы и регуляторы, ведущие к аномальным маркерам гистонов при таких заболеваниях, как нейродегенеративные расстройства, заболевания обмена веществ, воспаление и рак.

Ацетилирование гистонов, как правило, связано с активацией транскрипции генов, тогда как модификация ослабляет взаимодействие между ДНК и гистоновыми белками, что открывает более широкий доступ к ДНК посредством транскрипционного аппарата. Специфические белки связываются с ацетилированными остатками лизина в пределах гистонов для "считывания" эпигенетического кода. Высококонсервативный модуль белка, называемый бромодомен, связывается с ацетилированными остатками лизина в гистоне и других белков. Существует более чем 60 содержащих бромодомен белков в геноме человека.

Семейство BET (бромодомен и экстра) бромодомена, содержащее белки, включает 4 белка (BRD2, BRD3, BRD4 и BRD-t), которые разделяют консервативную структурную организацию, содержащую тандемные N-концевые бромодомены, способные связываться с ацетилированными остатками лизина гистонов и других белков. BRD2, BRD3 и BRD4 экспрессируются повсеместно, тогда как BRD-t ограничен половыми клетками. Белки BRD играют существенные, но не пересекающиеся роли в регуляции транскрипции генов и контроле роста клеток. Белки BET связаны с большими белковыми комплексами, в том числе медиатором, PAFc и комплексом суперэлонгации, которые регулируют многие аспекты генной транскрипции. Белки BRD2 и BRD4, как было показано, остаются в комплексе с хромосомами во время митоза и являются необходимыми для промотирования транскрипции важнейших генов, в том числе циклина D и c-Myc, которые инициируют клеточный цикл (Mochizuki J Biol. Chem. 2008, 283:9040-9048). BRD4 имеет важное значение для рекрутинга комплекса транскрипционного фактора элонгации В белка к промотерам индуцибельных генов, что приводит к фосфорилированию РНК-полимеразы II и стимулирует продуктивную транскрипцию и элонгацию гена (Jang et al., Mol. Cell 2005 19:523-534). В некоторых случаях активность киназы BRD4 может непосредственно фосфорилировать и активировать РНК-полимеразу II (Devaiah et al. PNAS 2012 109:6927-6932). Клетки, лишённые BRD4, демонстрируют нарушенное развитие клеточного цикла. BRD2 и BRD3, как сообщается, ассоциируются с гистонами, наряду с активно транскрибируемыми генами, и могут быть вовлечены в содействие элонгации транскрипции (Leroy et al., Mol. Cell. 2008 30:51-60). В дополнение к ацетилированным гистонам белки BET, как было показано, избирательно связываются с ацетилированными транскрипционными факторами, в том числе субъединицей RelA NF-κB и GATA1, таким образом непосредственно регулируя транскрипционную активность этих белков контролировать экспрессию генов, участвующих в воспалении и гемопоэтической дифференциации (Huang et al., Mol. Cell. Biol. 2009 29:1375-1387; Lamonica Proc. Nat. Acad. Sci. 2011 108:E159-168).

Рекуррентная транслокация с участием NUT (ядерный белок в яичках) с BRD3 или BRD4, для того, чтобы образовать новый гибридный онкоген, BRD-NUT, обнаружена в крайне злокачественной форме эпителиального новообразования (French et al., Cancer Research 2003 63:304-307; French et al., Journal of Clinical Oncology 2004, 22:4135-4139). Селективная абляция указанного онкогена восстанавливает нормальную клеточную дифференциацию и полностью изменяет онкогенный фенотип (Filippakopoulos et al., Nature 2010 468:1068-1073). Генетический нокадаун BRD2, BRD3 и BRD4, как было показано, ухудшает рост и жизнеспособность широкого диапазона гематологических и солидных опухолевых клеток (Zuber et al., Nature 2011 478:524-528; Delmore et al., Cell 2011 146:904-917). Помимо роли в раке, белки BET регулируют воспалительные реакции на бактериальный вызов, а мышечная модель гипоморфа BRD2 продемонстрировала значительно более низкие уровни цитокинов и защиту от ожирения, индуцированного

диабетом (Wang et al Biochem J., 2009 425:71-83; Belkina et al. J. Immunol 2013). Кроме того, некоторые вирусы применяют эти белки BET для связывания их геномов с хроматином клетки-хозяина, как часть процесса репликации вируса или применения белков BET для облегчения транскрипции и репрессии вирусного гена (You et al., Cell 2004 117:349-60; Zhu et al., Cell Reports 2012 2:807-816).

Соответственно, существует потребность в соединениях, которые модулируют активность семейства белков BET, в том числе BRD2 BRD3 и BRD4, которые могут быть применены для лечения связанных с белками BET заболеваний, таких как рак. Соединения в соответствии с данным изобретением помогают удовлетворить эту потребность.

Сущность изобретения

Данное изобретение относится, кроме прочего, к ингибитору белка BET, причем ингибитор представляет собой соединение, представляющее собой 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(пиперидин-1-илсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он (соединение (I)) или его фармацевтически приемлемую соль.

Данное изобретение дополнительно относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение (I) или его фармацевтически приемлемую соль, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

Данное изобретение дополнительно относится к способу лечения заболевания или состояния, который связан с белком BET, включающий введение пациенту, нуждающемуся в подобном лечении, терапевтически эффективного количества соединения (I) или его фармацевтически приемлемой соли.

Подробное описание сущности изобретения

Данное изобретение относится к, кроме прочего, ингибитору белка BET, причем ингибитор представляет собой соединение, представляющее собой 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(пиперидин-1-илсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он (соединение (I)) или его фармацевтически приемлемую соль.

Фраза "фармацевтически приемлемый" применяют в данном документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые, в рамках обоснованного медицинского заключения, пригодны для применения в контакте с тканями человеческого существа и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соразмерного разумному соотношению "польза/риск".

Выражения "температура окружающей среды" и "комнатная температура", как применяют в данном документе, известны в данной области техники, и, в целом, соответствует температуре, например температуре реакции, то есть около температуры в помещении, в котором проводят реакцию, например при температуре от около 20 до около 30°C.

Данное изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли соединения, описанного в данном документе. Как применяют в данном документе, "фармацевтически приемлемые соли" соответствуют производному раскрытого соединения, причем исходное соединение модифицируют с помощью преобразования существующей кислотой или основной функциональной группы в ее форму соли. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но без ограничения ими, соли минеральных или органических кислот основных остатков, таких как амины; щелочи или органические соли кислых остатков, таких как карбоновые кислоты; и тому подобное. Фармацевтически приемлемые соли по данному изобретению включают обычные нетоксичные соли исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли по данному изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную функциональную группу обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены путем реакции свободных кислых или основных форм указанных соединений со стехиометрическим количеством приемлемого основания или кислоты в воде или в органическом растворителе, или в смеси двух; как правило, неводные среды, такие как эфир, этилацетат, спирты (например, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (MeCN) являются предпочтительными. Списки подходящих солей приведены в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), p. 1418, Berge et al., J. Pharm. Sci., 1977, 66(1), 1-19, and in Stahl et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Wiley, 2002).

В данном документе могут быть применены следующие аббревиатуры:

AcOH - (уксусная кислота);

Ac₂O - (уксусный ангидрид);

водн. - (водный);

атм - (атмосферный(ые));

Woc - (трет-бутоксикарбонил);

WOP - ((бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат);

уш - (уширенный);

Cbz - (карбоксибензил);

рассч. - (рассчитанный);

д - (дублет);

дд - (дублет дублетов);
 DBU - (1,8-диазабидцикло[5.4.0]ундек-7-ен);
 ДХМ - (дихлорметан);
 DIAD - (N,N'-диизопропилазидокарбоксилат);
 DIEA - (N,N'-диизопропилэтиламин);
 DIPEA - (N,N'-диизопропилэтиламин);
 DIBAL - (гидрид диизобутилалюминия);
 ДМФА - (N,N'-диметилформамид);
 Et - (этил);
 EtOAc - (этилацетат);
 КФХ - (колоночная флэш-хроматография);
 г - (грамм(ы));
 ч - (час(ы));
 НАТУ - (гексафторфосфат N,N,N',N'-тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-ил)урония);
 HCl - (соляная кислота);
 ВЭЖХ - (высокоэффективная жидкостная хроматография);
 Гц - (герц);
 J - (константа взаимодействия);
 ЖХМС - (жидкостная хроматография - масс-спектрометрия);
 LDA - (диизопропиламид лития);
 м - (мультиплет);
 М - (молярный);
 mCPBA - (3-хлорпероксибензойная кислота);
 MS - (масс-спектрометрия);
 Me - (метил);
 MeCN - (ацетонитрил);
 MeOH - (метанол);
 мг - (миллиграмм(ы));
 мин - минута(ы);
 мл - (миллилитр(ы));
 ммоль - (миллимоль(и));
 н - (нормальный);
 нМ - (нанолярный);
 ЯМР - (спектроскопия ядерного магнитного резонанса);
 Otf - (трифторметансульфонат);
 Ph - (фенил);
 пМ - (пиколярный);
 RP-ВЭЖХ - (обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография);
 с - (синглет);
 т - (триплет или третичный);
 TBS - (трет-бутилдиметилсилил);
 трет - (третичный);
 тт - (триплет триплетов);
 ТФК - (трифторуксусная кислота);
 ТГФ - (тетрагидрофуран);
 мкг - (микрограмм(ы));
 мкл - (микролитр(ы));
 мкМ - (микролярный);
 мас.% - (массовый процент).

Синтез

Соединение в соответствии с данным изобретением, в том числе его соли, может быть получено с применением известных способов органического синтеза и могут быть синтезировано в соответствии с любым из многочисленных возможных путей синтеза.

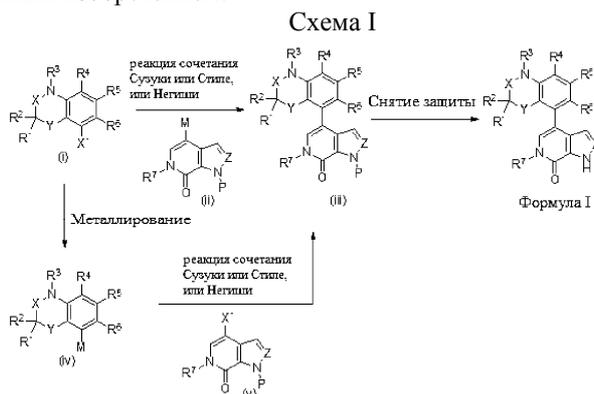
Реакции получения соединения в соответствии с данным изобретением могут быть осуществлены в подходящих растворителях, которые могут быть легко выбраны специалистом в данной области техники органического синтеза. Подходящие растворители могут быть, по существу, инертными к исходным материалам (реагентам), промежуточным продуктам или при температурах, при которых реакции проводят, например, при температурах, которые могут варьироваться от температуры замерзания растворителя до температуры кипения растворителя. Данная реакция может быть осуществлена в одном растворителе или смеси из более чем одного растворителя. В зависимости от конкретной стадии реакции, специалистом в данной области могут быть выбраны подходящие для конкретной стадии реакции растворители.

Получение соединения в соответствии с данным изобретением может включать защиту и снятие

защиты различных химических групп. Необходимость защиты и снятия защиты и выбор соответствующей защитной группы могут быть легко определены специалистом в данной области техники. Химия защитных групп приведена, например, в P. G. M. Wuts and T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (2006), которая включена в данный документ в качестве ссылки во всей своей полноте.

Соединение в соответствии с данным изобретением может быть получено, как показано на схеме I. Промежуточное соединение (i), где X¹ представляет собой галоген, может быть соединено с (ii), где M представляет собой борную кислоту, борный эфир или соответствующим образом замещенный металл, такой как Sn(Bu)₄ или Zn, при стандартных условиях Сузуки или стандартных условиях Стилле (например, в присутствии палладиевого(0) катализатора, такого как тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0), и основания (например, бикарбонатного или карбонатного основания) или стандартных условиях Негиши (например, в присутствии палладиевого(0) катализатора, такого как тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0), для получения защищенного производного (iii). Защитная группа (например, Р) представляет собой тозил или SEM) могут быть удалены при стандартных условиях (например, NaOH для снятия защитной тозильной группы и ТФК для снятия SEM) с получением соединений в соответствии с данным изобретением.

В альтернативном варианте, X¹ галогенсодержащая группа соединения (i) может быть преобразована в соответствующим образом замещенный металл (iv) (например, M представляет собой B(OH)₂, Sn(Bu)₄ или Zn), а затем соединена с гетероциклическим галогенидом (v) (X¹ представляет собой галоген) при стандартных условиях Сузуки или стандартных условиях Стилле (например, в присутствии палладиевого(0) катализатора, такого как тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) и основания (например, бикарбонатного или карбонатного основания) или стандартных условиях Негиши (например, в присутствии палладиевого(0) катализатора, такого как тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0), для получения защищенного производного (iii), с которого может быть удалена защитная группа для получения соединений в соответствии с данным изобретением.



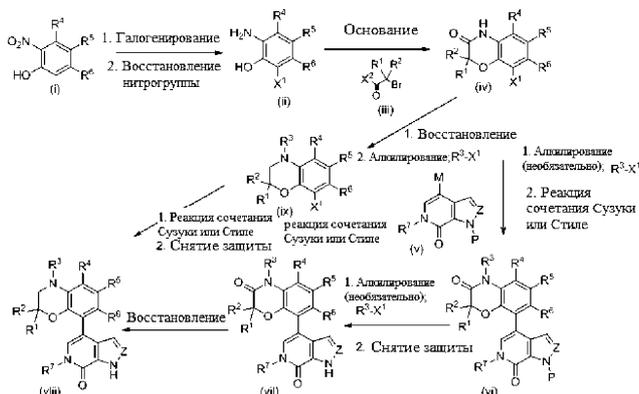
Соединение в соответствии с настоящим изобретением может быть получено, как показано на схеме II. Нитрофенол (i) может быть галогенирован с помощью подходящих реагентов, таких как N-хлорсукцинимид, N-бромсукцинимид, Br₂ или N-йодсукцинимид для получения галогенида, где X¹=Cl, Br или I, и последующее восстановление нитрогруппы в стандартных условиях (например, Fe или Zn) может привести к промежуточному амину (ii).

Алкилирование (ii) с помощью X²C(=O)C(R¹R²)-Br (iii), где X² is C₁₋₄алкокси, такой как этокси, с применением стандартных условий алкилирования может давать простой эфир, который может циклизироваться in situ или при нагревании, с получением бициклического производного (iv). В альтернативном варианте ацилирование амина (ii) с помощью BrC(=O)R¹R²-Br (iii) при стандартных условиях ацилирования может давать амид, который может циклизироваться in situ или при нагревании, с получением бициклического производного (iv). После дополнительной стадии N-алкилирования для введения R³ соединения (IV) могут быть соединены с промежуточными соединениями (v), где M представляет собой борную кислоту, борный эфир или соответствующим образом замещенный металл, такой как Sn(Bu)₄ или Zn, при стандартных условиях Сузуки или стандартных условиях Стилле, как уже упоминалось выше, с получением защищенного производного (vi). В альтернативном варианте введение R³ с помощью алкилирования может быть выполнено после образования производного (vi). Например, пиридон (vi) может быть алкилирован приведением в контакт с R³-X¹, где X¹=галоген (Br, Cl или I) и основанием, таким как триэтиламин, NaH или Na₂CO₃, а затем проводят снятие защиты в стандартных условиях (например, NaOH для снятия защитной тозильной группы и ТФК для снятия SEM) с получением соединений в соответствии с данным изобретением (vii).

Необязательно восстановление карбонила (iv) с помощью восстанавливающего агента, такого как боран, с последующим алкилированием с помощью R³-X¹ и основания может давать соединения в соответствии с данным изобретением (ix). Данные соединения могут быть соединены с (v) при стандартных условиях Сузуки или стандартных условиях Стилле для получения защищенного производного, с кото-

рого может быть впоследствии снята защитная группа в стандартных условиях с получением соединений в соответствии с данным изобретением (viii).

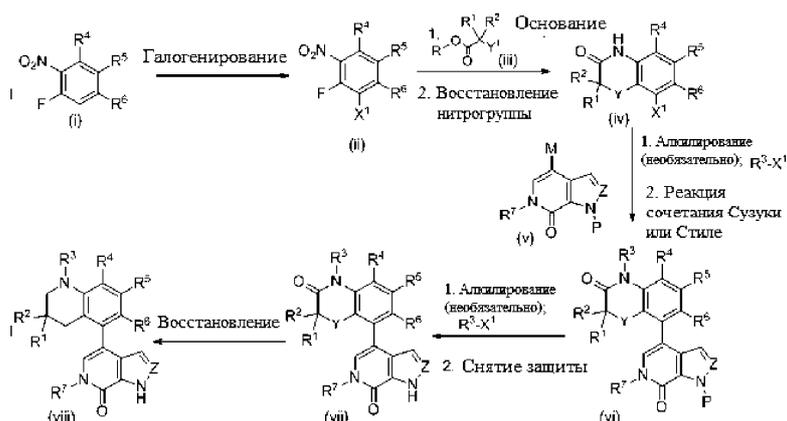
Схема II



Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть образованы таким образом, как показано на схеме III. Нитросоединение (i) может быть галогенировано с помощью подходящих реагентов, таких как N-хлорсукцинимид, N-бромсукцинимид или Br₂ или N-йодсукцинимид для получения галогенида, где X¹=Cl, Br или I. Приведение в контакт нитрогалогенида (ii) со сложным эфиром (iii), таким как RO₂CCR¹R²-Y¹ (где R представляет собой C₁₋₄ алкил и Y¹ представляет собой OH или NR¹⁰), может давать промежуточное нитропроизводное, которое при восстановлении нитрогруппы в стандартных условиях (например, Fe или Zn) может давать соответствующий амин, который может затем циклизироваться *in situ* или при нагревании, с получением бициклического производного (iv). Промежуточное соединение (iv) может быть соединено с (v), где M представляет собой борную кислоту, борный эфир или соответствующим образом замещенный металл, такой как Sn(Bu)₄ или Zn, при стандартных условиях Сузуки или стандартных условиях Стилле с получением защищенного производного (vi). Пиридон (vi) может быть алкилирован приведением в контакт с R³-X¹ где X¹=Br, Cl или I и основанием, таким как триэтиламин, NaN или Na₂CO₃. Затем удаление защитной группы может быть проведено в стандартных условиях с получением соединений в соответствии с данным изобретением (vii).

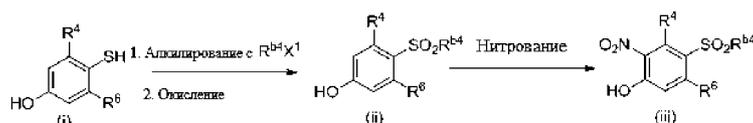
Необязательно, соединение (iv) может быть сперва алкилировано с помощью R³-X¹, затем соединено с (v), при стандартных условиях Сузуки или стандартных условиях Стилле, с получением защищенного производного (vi). Затем удаление защитной группы может быть проведено в стандартных условиях с получением соединений в соответствии с данным изобретением (vii). Восстановление карбонильной группы (vii) с помощью восстанавливающего агента, такого как боран, может давать соединения в соответствии с данным изобретением (viii).

Схема III



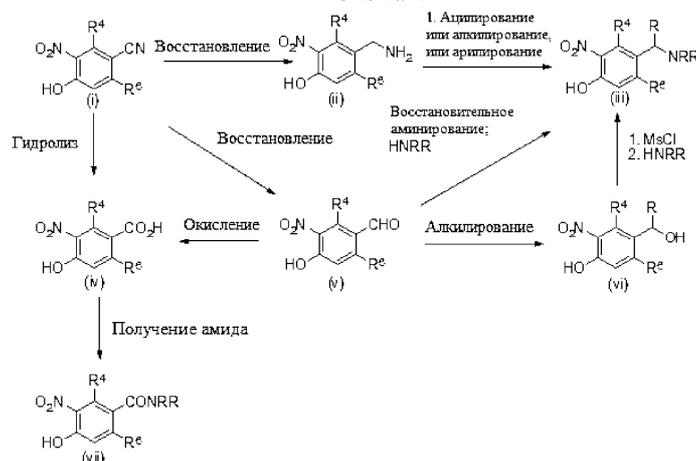
Промежуточные соединения для получения соединений в соответствии с настоящим изобретением могут быть получены, как показано на схеме IV. Тиофенол (i) может быть алкилирован с помощью R¹R² (где X¹=Br, Cl или I) и основание, такое как триэтиламин, NaN или Na₂CO₃ с получением тиоэфира, который может быть окислен с помощью подходящего реагента, такого как mCPBA или H₂O₂, или диоксирана, для получения сульфоксида, который может быть дополнительно окислен с помощью окислителя, такого как mCPBA или H₂O₂ или диоксирана, для получения сульфона (ii). Сульфон (ii) может быть нитрован в стандартных условиях (например, HNO₃ с или без катализатора Fe или H₂SO₄) для получения нитрофенола (iii). Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть синтезированы из промежуточных соединений (iii) с использованием способов, описанных в схеме II.

Схема IV



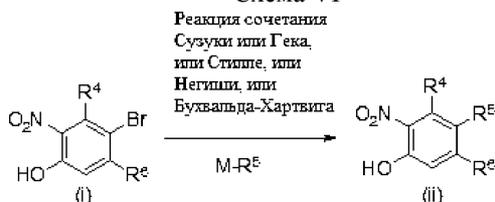
Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть получены, как показано на схеме V. Цианофенол (i) может быть восстановлен с помощью подходящих реагентов (например, LiBH_4 или боран) для получения аминов (ii), которые могут быть ацилированы, арилированы или алкилированы при стандартных условиях. В альтернативном варианте цианофенол (i) может быть восстановлен до альдегида (v) с помощью восстанавливающих реагентов, таких как DIBAL, а затем восстановительного аминирования в стандартных условиях (например, NaCNBH_3 , HNRR , где каждый R независимо представляет собой, например, C_{1-6} -алкил, $-\text{C}(=\text{O})(\text{C}_{1-6}\text{алкил})$, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил, гетероарил или их замещенные производные и тому подобное), что давало аминопроизводное (iii). Альдегид (v) может также быть алкилирован в стандартных условиях (например, реактив Гриньяра формулы R-MgX^1 ($\text{X}^1=\text{галоген}$)) для получения спирта (vi), который может быть превращен в уходящую группу, такую как мезилат, и замещен амином, HNRR , для получения производного (iii). Дополнительно, цианофенол (i) может быть гидролизован до его карбоновой кислоты (iv) и затем соединен с амином, HNRR , используя стандартные амидные связующие агенты (например, HBTU , HATU или EDC) для получения амида (vii). Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть синтезированы из данных производных нитрофенола (i-vii), с использованием способов, описанных в схеме II.

Схема V



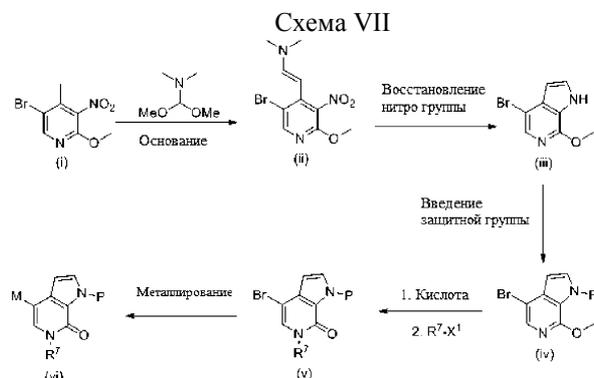
Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть получены, как показано на схеме VI. Галогенидсодержащее производное (i) может быть соединено с M-R^5 , где M представляет собой борную кислоту, борный эфир или соответствующим образом замещенный металл $\text{Sn}(\text{Bu})_4$ или Zn-R^5 при стандартных условиях Сузуки или стандартных условиях Стилле с получением производного (ii). M-R^5 может также быть аминосодержащим гетероциклом (где M представляет собой N и присоединен к азоту амина гетероцикла R^5) с присоединением к галогениду (i), которое осуществляют с помощью нагревания с основанием или при условиях Бухвальда-Хартвига (например, в присутствии палладиевого(0) катализатора, такого как тетраис(трифенилфосфин)палладий(0), и основания (например, алкоксидного основания)) для получения производного (ii). Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть синтезированы из (ii) с использованием способов, описанных в схеме II.

Схема VI

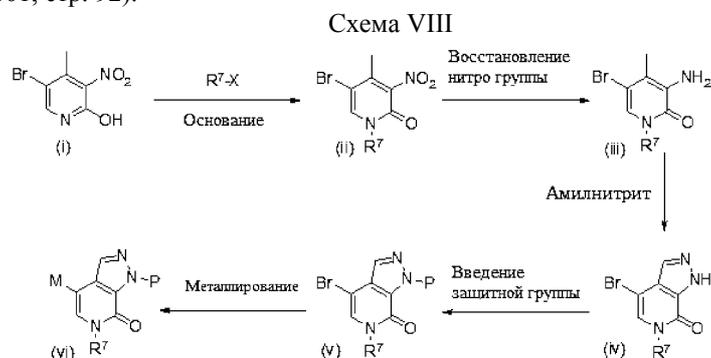


Промежуточные соединения для получения соединений в соответствии с настоящим изобретением могут быть получены, как показано на схеме VII. Производное пиридила (i) может быть приведено в контакт с 1,1-диметокси-N,N-диметилметанмином для получения олефина (ii). Восстановление нитрогруппы в стандартных условиях (например, Fe или Zn) дает аминосоединение, которое может циклизироваться *in situ* или при нагревании, с получением бициклического производного (iii). Аминогруппа (iii) может быть защищена подходящей защитной группой P, где, например, P представляет собой тозил или SEM, в стандартных условиях (например, тозил-Cl или SEM-Cl) для получения защищенного гетероцик-

ла (iv). Кислотный гидролиз эфира и алкилирование амида с помощью R^7-X^1 в стандартных условиях (где X^1 =галоген) и основания, такого как триэтиламин, NaH или Na_2CO_3 , может дать пиридон (v). Превращение бромида (v) в металл (например, M представляет собой $B(OR)_2$, SnR_3 , Zn) в стандартных условиях может давать промежуточные соединения (vi). Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть синтезированы из (vi) с использованием способов, описанных в схеме I-III (также см. WO 2013/097601, стр. 92).



Промежуточные соединения для получения соединений в соответствии с данным изобретением могут быть получены, как показано на схеме VIII. Производное пиридила (i) может быть алкилировано с помощью R^7-X^1 в стандартных условиях (где X^1 =Br, Cl или I) и основания, такого как триэтиламин, NaH или Na_2CO_3) для получения пиридона (ii). Восстановление нитрогруппы (ii) в стандартных условиях (например, Fe или Zn) может давать аминосоединение, которое в условиях реакции с амилнитритом может циклизироваться *in situ* или при нагревании, с получением бициклического производного (iv). Гетероциклический амин (iv) может быть защищен подходящей защитной группой в стандартных условиях (например, тозил-Cl или SEM-Cl) для получения защищенного гетероцикла (v). Превращение бромида (v) в металл M (например, M представляет собой $B(OR)_2$, SnR_3 , Zn) в стандартных условиях может давать промежуточные соединения (vi). Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть синтезированы из промежуточного соединения (vi) с использованием способов, описанных в схеме I-III. (также см., WO 2013/097601, стр. 92).



Для синтеза конкретных соединений общие схемы, описанные выше, могут быть изменены. Например, продукты или интермедиаты могут быть изменены, для того, чтобы ввести определенные функциональные группы. В альтернативном варианте заместители могут быть изменены на любом этапе общего синтеза с помощью способов, известных специалисту в данной области техники, например, как описано в Larock, *Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations* (Wiley, 1999); и Katritzky et al. (Ed.), *Comprehensive Organic Functional Group Transformations* (Pergamon Press 1996).

Исходные материалы, реагенты и интермедиаты, синтез которых не описан в данном документе, являются либо коммерчески доступными, известными из литературы, либо могут быть получены с помощью способов, известных специалисту в данной области техники.

Специалист в данной области техники должен понимать, что описанные способы не являются исчерпывающими способами, с помощью которых могут быть синтезированы соединения по настоящему изобретению, и что широкий выбор синтетических органических реакций доступен для потенциально применения в синтезе соединений в соответствии с данным изобретением. Специалист в данной области техники знает, каким образом выбрать и осуществить соответствующие синтетические способы. Подходящие способы синтеза исходных материалов, интермедиатов и продуктов могут быть идентифицированы посредством ссылки на литературу, в том числе справочные материалы, такие как: *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Vols. 1-107 (Elsevier, 1963-2012); *Journal of Heterocyclic Chemistry* Vols. 1-49 (Journal of Heterocyclic Chemistry, 1964-2012); Carreira, et al. (Ed.) *Science of Synthesis*, Vols. 1-48 (2001-2010) and *Knowledge Updates KU2010/1-4; 2011/1-4; 2012/1-2* (Thieme, 2001-2012); Katritzky, et al. (Ed.) *Comprehen-*

sive Organic Functional Group Transformations, (Pergamon Press, 1996); Katritzky et al. (Ed.); Comprehensive Organic Functional Group Transformations II (Elsevier, 2nd Edition, 2004); Katritzky et al. (Ed.), Comprehensive Heterocyclic Chemistry (Pergamon Press, 1984); Katritzky et al., Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, (Pergamon Press, 1996); Smith et al., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 6th Ed. (Wiley, 2007); Trost et al. (Ed.), Comprehensive Organic Synthesis (Pergamon Press, 1991).

Способы применения

Соединение в соответствии с данным изобретением представляет собой ингибиторы белков BET и, таким образом, является применимым при лечении заболеваний и расстройств, связанных с активностью белков BET. Соединение в соответствии с данным изобретением может ингибировать один или более белков BET BRD2, BRD3, BRD4 и BRD-t. В некоторых вариантах реализации изобретения соединение в соответствии с данным изобретением выборочно ингибирует один или более белков BET, по сравнению с другим вариантом. "Селективный" означает, что соединение связывается с или ингибирует белок BET с более высоким средством или эффективностью, соответственно, по сравнению с контролем, таким как другой белок BET. Например, соединения могут быть селективными по отношению к BRD2 больше, чем к BRD3, BRD4 и BRD-t, селективными по отношению к BRD3 больше, чем к BRD2, BRD4 и BRD-t, селективными по отношению к BRD4 больше, чем к BRD2, BRD3 и BRD-t или селективными по отношению к BRD-t больше, чем к BRD2, BRD3 и BRD4. В некоторых вариантах реализации изобретения соединения ингибируют два или более белков BET или все белки BET. В общем, селективность может быть по меньшей мере около 5-кратной, по меньшей мере около 10-кратной, по меньшей мере около 20-кратной, по меньшей мере около 50-кратной, по меньшей мере около 100-кратной, по меньшей мере около 200-кратной, по меньшей мере около 500-кратной или по меньшей мере около 1000-кратной.

Соединение в соответствии с данным изобретением поэтому является применимым для лечения расстройств, опосредованных белком BET. Термин "BET-опосредованное" соответствует любому заболеванию или расстройству, при котором один или более белков BET, таких как BRD2, BRD3, BRD4 и/или BRD-t или их мутант, играет роль, или при условии, что заболевание или состояние связано с экспрессией или активностью одного или более белков BET. Поэтому соединение в соответствии с данным изобретением может быть применено для лечения или уменьшения тяжести заболеваний и состояний, при которых белки BET, такие как BRD2, BRD3, BRD4 и/или BRD-t или их мутант, как известно, играют важную роль.

Заболевания и состояния, которые поддаются лечению с применением соединений в соответствии с данным изобретением, включают рак и другие пролиферативные заболевания, аутоиммунное заболевание, хронические воспалительные заболевания, острые воспалительные заболевания, сепсис и вирусную инфекцию. Заболевания могут быть вылечены с помощью введения индивидууму (например, пациенту), нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества или дозы соединения в соответствии с данным изобретением или любого из их вариантов реализации, или их фармакологической композиции. Данное описание также предлагает соединение в соответствии с данным изобретением, любой из их вариантов реализации или их фармакологическую композицию для применения при лечении BET-опосредованного заболевания или расстройства. Также предложено применение соединения в соответствии с данным изобретением, любого из их вариантов реализации или их фармакологической композиции в производстве лекарственного средства для лечения BET-опосредованного заболевания или расстройства.

Заболевания, которые могут быть вылечены с помощью соединений в соответствии с данным изобретением, включают виды рака. Виды рака могут включать рак надпочечников, ацинозную клеточную карциному, неврому слухового нерва, акральную лентицинозную меланому, акроспирому, острый эозинофильный лейкоз, острый эритроидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый моноцитарный лейкоз, острый промиелолейкоз, аденокарциному, аденокистозную карциному, аденому, аденоматоидную одонтогенную опухоль, аденоквамозную карциному, новообразование в жировой ткани, карциному коры надпочечников, лейкемию взрослых Т-клеток/лимфому, агрессивную лейкемию НК-клеток, связанную со СПИДом лимфому, альвеолярную рабдомиосаркому, альвеолярную мягкую саркому, амелобластическую фиброму, анапластическую крупноклеточную лимфому, анапластический рак щитовидной железы, ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому, ангиомиолипому, ангиосаркому, астроцитому, атипичную тератоидную палочковидную опухоль, хронический В-клеточный лимфолейкоз, В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, В-клеточную лимфому, базально-клеточную карциному, рак желчных путей, рак мочевого пузыря, бластому, рак кости, опухоль Бреннера, опухоль Брауна, лимфому Беркитта, рак молочной железы, рак мозга, карциному, карциному *in situ*, карциносаркому, опухоль хряща, цементому, миелоидную саркому, хондрому, хордому, хориокарциному, папиллому хороидального сплетения, светлоклеточный рак почки, краниофарингиому, кожную Т-клеточную лимфому, рак шейки матки, колоректальный рак, болезнь Дегоса, десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль, диффузную В-крупноклеточную лимфому, дизэмбриопластическую нейроэпителиальную опухоль, дисгерминому, эмбриональный рак, новообразование эндокринных желез, опухоль эндодермального синуса, связанную с энтеропатией Т-клеточную лимфому, рак пищевода, включенный плод, фиброму, фибросаркому, фолликулярную лимфому, фолликулярный рак щитовидной

железы, ганглионеврому, рак двенадцатиперстной кишки, опухоль половых клеток, гестационную хориокарциному, гигантоклеточную фибробластому, гигантоклеточную опухоль клеток кости, глиальную опухоль, мультиформную глиобластому, глиому, глиоматоз головного мозга, глюкогамому, гонадобластому, гранулезоклеточную опухоль, гинандробластому, рак желчного пузыря, рак желудка, лейкоз ворсистых клеток, гемангиобластому, рак головы и шеи, гемангиоперицитому, гематологические злокачественные новообразования, гепатобластому, Т-клеточную лимфому печени и селезенки, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, инвазивную очаговую карциному, рак кишечника, рак почки, рак гортани, злокачественное лентиго, смертельную срединную карциному, лейкоз, опухоль клеток Лейдига, липосаркому, рак легкого, лимфангиому, лимфангиосаркому, лимфоэпителиому, лимфому, острый лимфолейкоз, острый миелобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, рак печени, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, лимфому MALT-типа, злокачественную фиброзную гистиоцитому, злокачественную периферическую опухоль нервных оболочек, злокачественную тритон-опухоль, лимфому мантийных клеток, лимфому из В-клеток маргинальной зоны, лейкоз тучных клеток, медиастинальную опухоль половых клеток, медуллярный рак молочной железы, медуллярный рак щитовидной железы, медуллобластому, меланому, менингиому, рак клеток Меркеля, мезотелиому, метастатическую уротелиальную карциному, смешанную опухоль Мюллера, коллоидную опухоль, множественную миелому, новообразование в мышечной ткани, грибовидный микоз, миксоидную липосаркому, миксому, миксосаркому, карциному носоглотки, невриному, нейробластому, нейрофиброму, невриному, нодулярную меланому, рак глаза, олигоастроцитому, олигодендроглиому, онкоцитому, менингиому оболочки зрительного нерва, опухоль глазного нерва, рак полости рта, остеосаркому, рак яичников, опухоль Панкоста, папиллярный рак щитовидной железы, парагангиому, пинеалобластому, пинеоцитому, питуцитому, аденому гипофиза, опухоль гипофиза, плазмоцитому, полиэмбриому, лимфому предшественников Т-лимфоцитов, первичную лимфому центральной нервной системы, лимфому полостей тела, первичный перитонеальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак глотки, псевдомиксому брюшины, рак почки, почечный медуллярный рак, ретинобластому, рабдомиому, рабдомиосаркому, преобразование Рихтера, рак прямой кишки, саркому, шванноматоз, семиному, опухоль клеток Сертоли, опухоль стромы полового тяжа яичников, рак из перстневидных клеток, рак кожи, синие мелкоклеточные опухоли, мелкоклеточный рак, саркому мягких тканей, соматостатиному, эпителиому мошонки, опухоль спины, лимфому маргинальной зоны селезенки, плоскоклеточную карциному, синовиальную саркому, болезнь Сезари, мелкоклеточный рак кишечника, плоскоклеточный рак, рак желудка, Т-клеточную лимфому, рак яичка, текому, рак щитовидной железы, карциному переходных клеток, рак горла, рак мочевого протока, мочеполовой рак, уротелиальную карциному, увеальную меланому, рак матки, бородавчатый рак, глиому зрительного пути, рак вульвы, вагинальный рак, макроглобулинемия Вальденстрема, опухоль Уртина и опухоль Вильмса. В некоторых вариантах реализации изобретения рак может представлять собой аденокарциному, лейкемию взрослых Т-клеток/лимфому, рак мочевого пузыря, бластому, рак кости, рак молочной железы, рак мозга, карциному, миелоидную саркому, рак шейки матки, колоректальный рак, рак пищевода, рак двенадцатиперстной кишки, мультиформную глиобластому, глиому, рак желчного пузыря, рак желудка, рак головы и шеи, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, рак кишечника, рак почки, рак гортани, лейкоз, рак легкого, лимфому, рак печени, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, мезотелиому, множественную миелому, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДККЛ), рак глаза, опухоль оптического нерва, рак полости рта, рак яичника, опухоль гипофиза, первичную лимфому центральной нервной системы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак глотки, рак почки, рак прямой кишки, саркому, рак кожи, опухоль спины, мелкоклеточный рак кишечника, рак желудка, Т-клеточную лимфому, рак яичка, рак щитовидной железы, рак горла, мочеполовой рак, уротелиальную карциному, рак матки, вагинальный рак или опухоль Вильмса.

В некоторых вариантах реализации изобретения рак представляет собой гематологический рак.

В некоторых вариантах реализации изобретения рак представляет собой множественную миелому, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) или диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДККЛ).

Заболевания, которые могут быть вылечены с применением соединений в соответствии с данным изобретением, также включают МҮС-зависимые виды рака, причем рак связан с по меньшей мере одной экспрессией РНК тус или экспрессией белка МҮС. Пациент может быть идентифицирован для такого лечения с помощью определения экспрессии РНК тус или экспрессии белка МҮС в раковой ткани или клетках.

Заболевания, которые могут быть вылечены с помощью соединений в соответствии с данным изобретением, также включают незлокачественные пролиферативные расстройства. Примеры пролиферативных расстройств, которые могут быть вылечены, включают, но без ограничения ими, доброкачественные опухоли мягких тканей, опухоли кости, мозга и опухоли позвоночника, опухоли века и орбитальные опухоли, гранулему, липому, менингиомы, множественную эндокринную неоплазию, носовые полипы, опухоли гипофиза, пролактиному, доброкачественную внутричерепную гипертензию, себорейный кератоз, полипы желудка, узловой зоб, кистозные новообразования поджелудочной железы, гемангиомы, узелки на голосовых связках, полипы и кисты, болезнь Кастлемена, хроническую пилонидальную бо-

лезнь, дерматофиброму, волосяная кисту, пиогенная гранулема и синдром юношеского полипоза.

Заболевания и состояния, которые могут быть вылечены с помощью соединений в соответствии с данным изобретением, также включают хронические аутоиммунные и воспалительные состояния. Примеры аутоиммунных и воспалительных состояний, которые могут быть вылечены, включают острое, сверхострое или хроническое отторжение трансплантированных органов, острую подагру, острые воспалительные реакции (такие как острый респираторный дистресс-синдром и ишемию/реперфузионное повреждение), болезнь Аддисона, агаммаглобулинемия, аллергический ринит, аллергию, алопецию, болезнь Альцгеймера, аппендицит, атеросклероз, астму, остеоартрит, ювенильный артрит, псориаз, псориатический артрит, ревматоидный артрит, атопический дерматит, аутоиммунную алопецию, аутоиммунные гемолитические и тромбоцитопенические состояния, аутоиммунный гипопитуитаризм, аутоиммунное полигландулярное заболевание, болезнь Бехчета, буллезные заболевания кожи, холецистит, хроническую идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), цирроз печени, дегенеративное заболевание суставов, депрессию, дерматит, дерматомиозит, экзему, энтерит, энцефалит, гастритный гломерулонефрит, гигантоклеточный артериит, синдром Гудпасчера, синдром Гийена-Барре, гингивит, болезнь Грейвса, тиреоидит Хашимото, гепатит, гипопитuitarизм, воспалительное заболевание кишечника (болезнь Крона и неспецифический язвенный колит), воспалительное заболевание таза, синдром раздраженного кишечника, болезнь Кавасаки, ЛПС-индуцированный эндотоксический шок, менингит, рассеянный склероз, миокардит, миастению, грибовидный микоз, миозит, нефрит, остеомиелит, панкреатит, болезнь Паркинсона, перикардит, пернициозную анемию, пневмонию, первичный билиарный склерозирующий холангит, узелковый полиартериит, псориаз, ретинит, склерит, склераденит, склеродермию, синусит, болезнь Шегрена, сепсис, септический шок, солнечный ожог, системную красную волчанку, отторжение ткани трансплантата, тиреоидит, сахарный диабет I типа, синдром Такаясу, уретрит, увеит, васкулит, васкулит, включающий гигантоклеточный артериит, васкулит с поражением органов, такой как гломерулонефрит, витилиго, гранулематоз Вальденстрема и макроглобулинемию Вегенера.

Заболевания и состояния, которые могут быть вылечены с помощью соединений в соответствии с данным изобретением, также включают заболевания и состояния, которые вовлекают воспалительные реакции к инфекциям с бактериями, вирусами, грибами, паразитами или их токсинами, такие как сепсис, септический синдром, септический шок, эндотоксикоз, синдром системного воспалительного ответа (ССВО), синдром мультиорганной дисфункции, синдром токсического шока, острое повреждение легких, РДСВ (синдром расстройств дыхания у взрослых), острую почечную недостаточность, молниеносный гепатит, ожоги, острый панкреатит, послеоперационные синдромы, саркоидоз, реакции Герксгеймера, энцефалит, миелит, менингит, малярия, господа, ССВО, связанные с вирусными инфекциями, такими как грипп, опоясывающий лишай, простой герпес и коронавирус.

Другие заболевания, которые могут быть вылечены с помощью соединений в соответствии с данным изобретением, включают вирусные инфекции. Примеры вирусных инфекций, которые могут быть вылечены, включают вирус Эпштейна-Барр, вирус гепатита В, вирус гепатита С, вирус герпеса, вирус иммунодефицита человека, вирус папилломы человека, аденовирус, поксвирус и другие ДНК вирусы на основе эписом. Поэтому соединения могут быть применены для лечения заболеваний и состояний, таких как инфекции и реактивации простого герпеса, герпесы губ, инфекции и реактивации опоясывающего герпеса, ветряная оспа, опоясывающий лишай, вирус папилломы человека, неоплазия шейки матки, аденовирусные инфекции, в том числе острое респираторное заболевание и поксвирусные инфекции, такие как коровья оспа, натуральная оспа и вирус африканской лихорадки свиней. В одном конкретном варианте реализации соединения в соответствии с данным изобретением показаны для лечения вирусных инфекций папилломы человека кожи или эпителия шейки матки.

Заболевания и состояния, которые могут быть вылечены с помощью соединений в соответствии с данным изобретением, также включают состояния, которые связаны с ишемически-реперфузионным повреждением. Примеры подобных состояний включают, но без ограничения ими, состояния, такие как инфаркт миокарда, цереброваскулярную ишемию (инсульт), острые коронарные синдромы, почечное реперфузионное повреждение, трансплантацию органов, шунтирование коронарной артерии, процедуры в условиях искусственного кровообращения и эмболию легкого, почек, печени, желудочно-кишечного тракта или периферической конечностей.

Соединение в соответствии с данным изобретением также применимо при лечении расстройств липидного обмена путем регулирования АРО-А1, таких как гиперхолестеринемия, атеросклероз и болезнь Альцгеймера.

Как применяют в данном документе, термин "приведение в контакт" соответствует объединению вместе указанных функциональных групп в *in vitro* системе или *in vivo* системе. Например, "приведение в контакт" белка ВЕТ с соединением в соответствии с данным изобретением включает введение соединения по данному изобретению индивидууму или пациенту, такому как человек, имеющему белок ВЕТ, таким же образом, как, например, вводят соединение в соответствии с данным изобретением в образец, который содержит клеточный или очищенный препарат, содержащий белок ВЕТ.

Как применяют в данном документе, термин "индивидуум" или "пациент", применяемые взаимоза-

меняемо, соответствуют любому животному, в том числе млекопитающим, предпочтительно мыши, крысе, другим грызунам, кроликам, собакам, кошкам, свинье, крупному рогатому скоту, овце, лошадям или приматам и наиболее предпочтительно людям.

Как применяют в данном документе, фраза "терапевтически эффективное количество" соответствует количеству активного соединения или фармацевтического средства, вызывающему биологический или медицинский ответ, которое обнаруживается в ткани, системе, животном, у индивидууму или человека исследователем, ветеринаром, врачом или другим клиницистом.

Как применяют в данном документе, термин "лечить" или "лечение" соответствует ингибированию заболевания; например, ингибированию заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который испытывает или свидетельствует о патологии или симптоматике заболевания, состояния или расстройства (т.е., угнетая дальнейшее развитие патологии и/или симптоматики); и уменьшению интенсивности заболевания; например уменьшению интенсивности заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который испытывает или демонстрирует патологию или симптоматику заболевания, состояния или расстройства (т.е., купирование патологии и/или симптоматики), такую как уменьшение тяжести заболевания.

Как применяют в данном документе, термин "предотвращать" или "предотвращение" соответствует предотвращению заболевания; например, предотвращению заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который может быть предрасположен к заболеванию, состоянию или расстройству, но еще не испытывает или свидетельствует о патологии или симптоматике заболевания.

Состав, лекарственные формы и введение

При применении в качестве фармацевтических средств соединения в соответствии с настоящим изобретением может быть введено в форме фармацевтических композиций. Эти композиции могут быть получены способом, хорошо известным в фармацевтической области техники, и могут быть введены различными путями, в зависимости от того, является ли необходимое лечение местным или системным, и от площади, которая подлежит обработке. Введение может быть наружным (в том числе трансдермальным, эпидермальным, офтальмологическим и на слизистые оболочки, включая интраназальный, вагинальный и ректальный отпуск), ингаляционным (например, с помощью вдыхания или вдувания порошков или аэрозолей, в том числе с помощью распылителя; внутритрахеальным или интраназальным), пероральным или парентеральным. Парентеральное введение включают внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутривнутрибрюшинное, внутримышечное или инъекцию или инфузию; или внутричерепное, например, интратекальное или интравентрикулярное введение. Парентеральное введение может быть осуществлено в форме единичной болюсной дозы, или может быть осуществлено, например, путем непрерывного перфузионного насоса. Фармацевтические композиции и составы для местного введения могут включать трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, аэрозоли, растворы и порошки. Обычные фармацевтические носители на водной, порошковой или масляной основах, загустители и тому подобное могут быть необходимыми или желательными.

Изобретение также включает фармацевтические композиции, которые содержат, в качестве активного ингредиента, соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль, в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (вспомогательными средствами). В некоторых вариантах реализации изобретения композиция является подходящей для наружного применения. При изготовлении композиций в соответствии с данным изобретением, активный ингредиент обычно смешивают со вспомогательным средством, разбавляют вспомогательным средством или заключают в подобный носитель, в форме, например, капсулы, саше, в бумагу или другой контейнер. При условии, что вспомогательное средство служит разбавителем, оно может быть твердым, полутвердым или жидким материалом, который действует как наполнитель, носитель или среда для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут быть в форме таблеток, пилюль, порошков, лепешек, саше, облаток, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в виде твердого вещества или в жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10 мас.% активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиториях, стерильных растворов для инъекций и стерильно упакованных порошков.

При получении композиции активное соединение может быть измельчено для обеспечения соответствующего размера частиц перед объединением с другими ингредиентами. Если активное соединение является, по существу, нерастворимым, оно может быть измельчено до размера частиц менее чем 200 меш. Если активное соединение является, по существу, растворимым в воде, размер частиц может регулироваться путем измельчения для обеспечения, по существу, равномерного распределения в композиции, например, около 40 меш.

Соединение в соответствии с данным изобретением может быть измельчено с применением известных процедур помола, таких как влажный размол с получением размера частиц, подходящих для формирования таблеток и для других типов препаратов. Мелкодисперсные (в форме наночастиц) препараты соединений в соответствии с данным изобретением могут быть получены способами, известными в данной области техники, например, см. международную заявку № WO 2002/000196.

Некоторые примеры подходящих вспомогательных средств включают лактозу, декстрозу, сахарозу,

сорбит, маннит, крахмалы, акацию аравийскую, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Составы могут дополнительно включать смазывающие средства, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие средства; эмульгирующие и суспендирующие средства; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты; подсластители; и ароматизаторы. Композиции в соответствии с данным изобретением могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить быстрое, длительное или замедленное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с применением процедур, известных в данной области техники.

Композиции могут быть составлены в стандартной лекарственной форме, каждая дозировка содержит от около 5 до около 1000 мг (1 г), чаще от около 100 до около 500 мг активного ингредиента. Термин "стандартные лекарственные формы" соответствует физически дискретным единицам, пригодным в качестве единичной дозировки для человека и других млекопитающих, причем каждая стандартная лекарственная форма содержит заранее определенное количество активного материала, рассчитанное на получение желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с подходящим фармацевтическим вспомогательным средством.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне дозировок и его, как правило, вводят в фармацевтически эффективном количестве. Следует понимать, однако, что фактически вводимое количество соединения обычно будет определяться лечащим врачом в соответствии с соответствующими обстоятельствами, в том числе состоянием, подлежащим лечению, выбранным способом введения, конкретным вводимым соединением, возрастом, массой и реакцией индивидуального пациента, тяжестью симптомов у пациента и тому подобным.

Для получения твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим вспомогательным средством для образования твердой композиции до придания ей лекарственной формы, которая содержит однородную смесь соединения по данному изобретению. При ссылке на указанные композиции до придания им лекарственной формы как гомогенные, активный ингредиент обычно рассредоточен равномерно по всей композиции таким образом, что композиция может быть легко разделена на одинаково эффективные стандартные лекарственные формы, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Указанную твердую композицию до придания ей лекарственной формы затем разделяют на стандартные лекарственные формы описанного выше типа, которые содержат от, например, около 0,1 до около 1000 мг активного ингредиента по данному изобретению.

Таблетки или пилюли по данному изобретению могут быть покрыты или составлены иным способом для того, чтобы обеспечить лекарственную форму, получая преимущество пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля может содержать внутренний и внешний компонент дозировки, причем последний имеет форму оболочки над первым. Два компонента могут быть разделены энтеросолюбильным слоем, который служит для того, чтобы противостоять разрушению в желудке и позволить внутреннему компоненту проходить интактным в двенадцатиперстную кишку или задержаться при высвобождении. Для таких кишечных слоев или покрытий может быть применено множество материалов, такие материалы включают ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которых соединения и композиции по данному изобретению могут быть включены для введения перорально или с помощью инъекции, включают водные растворы, соответствующим образом ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и аналогичные фармацевтические наполнители.

Композиции для ингаляции или инсуффляции включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых, водных или органических растворителях или их смеси и порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные средства, как описано выше. В некоторых вариантах реализации изобретения композиции вводят через ротовой или носовой дыхательный путь для местного или системного эффекта. Композиции могут быть распылены с применением инертных газов. Распыленные растворы можно вдыхать непосредственно из распыляющего устройства или распыляющее устройство может быть присоединено к тампону лицевой маски или дыхательному аппарату с перемежающимся положительным давлением. Композиции в виде раствора, суспензии или порошка могут быть введены перорально или интраназально из устройств, которые доставляют композиции соответствующим способом.

Композиции для местного применения могут содержать один или более обычных носителей. В некоторых вариантах реализации изобретения мази могут содержать воду и один или более гидрофобных носителей, выбранных из, например, жидкого парафина, простого алкилового эфира полиоксиэтилена, пропиленгликоля, белого вазелина и тому подобного. Композиции носителей кремов могут быть основаны на воде в комбинации с глицерином и одним или более других компонентов, например, глицеринмоностеаратом, PEG-глицеринмоностеаратом и цетиластеариловым спиртом. Гели могут быть составлены с применением изопропилового спирта и воды, соответственно в комбинации с другими компонентами, такими как, например, глицерин, гидроксиэтилцеллюлоза и тому подобное. В некоторых вариантах ре-

лизации изобретения составы для наружного применения содержат по меньшей мере около 0,1, по меньшей мере около 0,25, по меньшей мере около 0,5, по меньшей мере около 1, по меньшей мере около 2 или по меньшей мере около 5 мас.% соединения в соответствии с данным изобретением. Составы для наружного применения могут быть соответствующим образом упакованы в тубах, например 100 г, которые являются необязательно связанными с инструкциями для лечения отдельного симптома, например псориаза или другого кожного заболевания.

Количество соединения или композиции, вводимое пациенту, будет меняться в зависимости от того, что вводят, от цели введения, такой как профилактика или лечение, состояния пациента, способа введения и тому подобного. При терапевтических применениях композиции могут быть введены пациенту, уже страдающему от заболевания, в количестве, достаточном для лечения, или, по меньшей мере, для того, чтобы частично остановить симптомы заболевания и его осложнения. Эффективные дозы будут зависеть от заболевания, состояния, которое лечат, а также решения лечащего врача, в зависимости от таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст, масса, общее состояние пациента и тому подобное.

Композиции, вводимые пациенту, могут быть в форме фармацевтических композиций, описанных выше. Указанные композиции могут быть стерилизованы с помощью способов обычной стерилизации или могут подвергаться стерилизующему фильтрованию. Водные растворы могут быть упакованы для применения без изменений, или лиофилизированы, лиофилизированный препарат перед введением объединяют со стерильным водным носителем. pH препаратов с соединением обычно составляет между 3 и 11, более предпочтительно, от 5 до 9 и, наиболее предпочтительно, от 7 до 8. Следует понимать, что применение некоторых из вышеописанных вспомогательных средств, носителей или стабилизаторов приведет к образованию фармацевтических солей.

Терапевтическая дозировка соединения по данному изобретению может варьироваться в зависимости, например, от конкретного применения, при котором осуществляют лечение, способа введения соединения, здоровья и состояния пациента и решения лечащего врача. Пропорция или концентрация соединения в соответствии с данным изобретением в фармацевтической композиции может варьироваться в зависимости от целого ряда факторов, в том числе дозировки, химических характеристик (например, гидрофобности) и пути введения. Например, соединения в соответствии с данным изобретением могут быть предложены в водном буферном физиологическом растворе, содержащем от около 0,1 до около 10% мас./об. соединения для парентерального введения. Некоторые типичные диапазоны доз представляют собой от около 1 мкг/кг до около 1 г/кг массы тела в день. В некоторых вариантах реализации изобретения диапазон доз составляют от около 0,01 до около 100 мг/кг массы тела в день. Дозировка, вероятно, зависит от таких переменных, как тип и степень прогрессирования заболевания или расстройства, общего состояние здоровья конкретного пациента, относительной биологической эффективности выбранного соединения, состава вспомогательного средства и его пути введения. Эффективные дозы могут быть экстраполированы из кривых доза-ответ, полученных от *in vitro* тест-систем или тест-систем животной модели.

Композиции в соответствии с данным изобретением могут дополнительно включать один или более дополнительных фармацевтических средств, таких как химиотерапевтическое средство, стероид, противовоспалительное соединение или иммунодепрессант, примеры которых приведены выше.

Меченые соединения и способы анализа

В другом аспекте данного изобретения предлагаются меченые соединения в соответствии с данным изобретением (радиоизотопно-меченые, люминесцентно-меченые и т.д.), которые могут быть применимы не только в способах формирования изображения, но также и в анализах, и *in vitro*, и *in vivo*, с целью локализации и количественного анализа белков ВЕТ в образцах тканей, в том числе человека, и для идентификации лигандов белка ВЕТ путем подавления связывания меченого соединения. Соответственно, настоящее изобретение включает анализы белков ВЕТ, которые содержат подобные меченые соединения.

Данное изобретение дополнительно включает изотопно-меченые соединения в соответствии с данным изобретением. "Изотопно" или "радиоизотопно-меченое" соединение представляет собой соединение в соответствии с данным изобретением, где один или более атомов заменены или замещены атомом, имеющим массовое число или атомную массу, отличную от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе (т.е., природного происхождения). Подходящие радионуклиды, которые могут быть включены в соединения по данному изобретению включают, но не ограничиваясь ими, ^3H (также описываемый как Т в случае трития), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I и ^{131}I . Радионуклид, который содержится в данных радиоизотопно-меченых соединениях, будет зависеть от конкретного применения этого радиоизотопно-меченого соединения. Например, в случае *in vitro* мечения белка ВЕТ и конкурентных анализов, соединения, которые содержат ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I или ^{35}S как правило, будут наиболее применимыми. В случае применений для формирования изображения с помощью радиоизотопа ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br или ^{77}Br , как правило, будут наиболее применимыми.

Следует понимать, что "радиоизотопно-меченое" или "меченое соединение" представляет собой соединение, которое содержит по меньшей мере один радионуклид. В некоторых вариантах реализации

изобретения радионуклид выбран из группы, состоящей из ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S и ^{82}Br . В некоторых вариантах реализации изобретения соединение содержит 1, 2 или 3 атома дейтерия.

Данное изобретение могут дополнительно включать синтетические способы для включения радиоизотопов в соединения в соответствии с данным изобретением. Синтетические способы включения радиоизотопов в органические соединения известны в данной области техники, а специалист в данной области техники легко определит способы, применимые в случае соединений в соответствии с данным изобретением.

Меченое соединение в соответствии с данным изобретением может быть применено в скрининговом исследовании для идентификации/исследования соединений. Например, только что синтезированное или идентифицированное соединение (т.е., исследуемое соединение) которое является помеченным, можно оценивать по его способности связывать белок ВЕТ путем мониторинга изменения его концентрации при приведении в контакт с белком ВЕТ, посредством отслеживания метки. Например, исследуемое соединение (меченое) может быть оценено по его способности снижать связывание другого соединения, которое, как известно, связывается с белком ВЕТ (т.е., стандартное соединение). Соответственно способность исследуемого соединения конкурировать со стандартным соединением в связывании с белком ВЕТ прямо коррелируется с его аффинностью связывания. И наоборот, в каких-то других скрининговых исследованиях стандартное соединение является меченым, а исследуемые соединения являются немечеными. Соответственно концентрацию меченого стандартного соединения контролировали для того, чтобы оценить конкуренцию между стандартным соединением и исследуемым соединением, и, таким образом, устанавливают относительную аффинность связывания исследуемого соединения.

Изобретение далее будет описано более подробно посредством конкретных примеров. Следующие примеры предлагаются для иллюстративных целей и не предназначены для ограничения изобретения каким-либо образом. Специалист в данной области техники легко определит различные некритические параметры, которые могут быть изменены или модифицированы, для того, чтобы получить, по существу, те же результаты. Соединения Примеров, как было обнаружено, являются ингибиторами одного или более белков ВЕТ, как описано ниже.

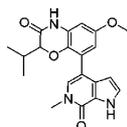
Примеры

Методики синтеза соединений изобретения приведены ниже. Очистку некоторых полученных соединений выполняли с помощью ЖХ/МС в режиме свободного доступа на системах фракционирования Waters с масс-спектрометрическим детектором. Основное оборудование, протоколы и управляющее программное обеспечение для эксплуатации этих систем подробно описаны в литературе. См., например, "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, J. Combi. Chem., 4, 295 (2002); "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, J. Combi. Chem., 5, 670 (2003); и "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Combi. Chem., 6, 874-883 (2004).

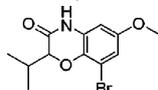
Выделенные соединения обычно подвергали аналитической жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ/МС) для чистоты при следующих условиях: Прибор: серия Agilent 1100, ЖХ/МСД, Колонка: Waters Sunfire™ C₁₈ 5 мкм, 2,1×50 мм, буферы: подвижная фаза А: 0,025% ТФК в воде и подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент от 2-80% В в 3 мин со скоростью потока 2,0 мл/мин.

Некоторые полученные соединения также разделяли в препаративном масштабе с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) с масс-спектрометрическим детектором или флэш-хроматографией (силикагель) как указано в примерах. Обычные условия препаративной колоночной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) были следующими: очистка при pH=2: Колонка Waters Sunfire™ C₁₈ 5 мкм, 19×100 мм, элюирование подвижной фазой А: 0,1% ТФК (трифторуксусная кислота) в воде и подвижной фазой В: ацетонитрил; скорость потока была 30 мл/мин, разделительный градиент оптимизировали для каждого соединения, используя протокол оптимизации метода для конкретного соединения, описанный в литературе [см. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]. Как правило, используемая скорость потока с колонкой 30×100 мм составляла 60 мл/мин, очистка при pH=10 Waters XBridge C₁₈ 5 мкм, 19×100 мм, элюирование подвижной фазой А: 0,15% NH₄OH в воде и подвижной фазой В: в ацетонитриле; скорость потока составила 30 мл/мин, разделительный градиент оптимизировали для каждого соединения, используя протокол оптимизации метода для конкретного соединения, описанный в литературе [см. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]. Как правило, используемая скорость потока с колонкой 30×100 мм составляла 60 мл/мин.

Ссылочный пример. 2-Изопропил-6-метокси-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он

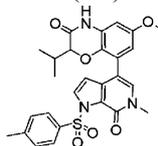


Стадия 1: 8-бром-2-изопропил-6-метокси-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он



2-амино-6-бром-4-метоксифенол (0,1 г, 0,4 ммоль) (Aldrich, кат. № 653705) и этил-2-бром-3-метилбутаноат (0,11 мл, 0,69 ммоль) (Alpha, № кат. B22525) объединяли в N-метилпирролидоне (1,0 мл) с 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундек-7-еном (0,14 мл, 0,92 ммоль) в запаянной трубке. Реакционную смесь нагревали до 140°C в микроволновой печи в течение 15 мин. Затем реакционную смесь охлаждали и распределяли между этилацетатом и 1 н раствором HCl. Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом магния и упаривали для получения темного масла. Продукт очищали с помощью КФХ на силикагеле, элюируя с градиентом гексан: этилацетат с получением 8-бром-2-изопропил-6-метокси-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она в виде полутвердого вещества (0,03 г, 30%). ЖХМС рассчитано для C₁₂H₁₅BrNO₃ (M+H)⁺: m/z=300,1, 302,1; найдено=300,0, 302,0.

Стадия 2: 2-изопропил-6-метокси-8-{6-метил-1-[(4-метилфенил)сульфонил]-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил}-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он



8-бром-2-изопропил-6-метокси-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он (0,03 г, 0,1 ммоль) объединяли с 6-метил-1-[(4-метилфенил)сульфонил]-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,6-дигидро-7H-пирроло[2,3-с]пиридин-7-оном (0,043 г, 0,10 ммоль) в 1,4-диоксане (2,5 мл) и карбонатом калия (0,031 г, 0,22 ммоль) в воде (0,84 мл). Реакционную смесь дегазировали азотом и добавили [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) комплекс с дихлорметаном (1:1) (0,009 г, 0,01 ммоль). Реакционную смесь нагревали в запаянной трубке до 100°C в течение 2 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и распределяли между этилацетатом и водой. Органический слой промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом магния и упаривали с получением 2-изопропил-6-метокси-8-{6-метил-1-[(4-метилфенил)сульфонил]-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил}-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она в виде темного масла (0,03 г, 60%). ЖХМС рассчитано для C₂₇H₂₈N₃O₆S (M+H)⁺: m/z=522,1; найдено=522,1.

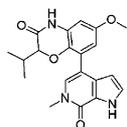
Стадия 3: 2-изопропил-6-метокси-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он

2-изопропил-6-метокси-8-{6-метил-1-[(4-метилфенил)сульфонил]-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил}-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он (0,03 г, 0,06 моль) растворяли в смеси этанола (5,1 мл) и 1,0 M гидроксида натрия в воде (1,7 мл) и нагревали до 80°C в масляной бане в течение 1 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и подкисляли ТФК. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с применением колонки C-18 элюируя с градиентом вода:ацетонитрил, забуференным до pH 2 с помощью ТФК с получением указанного в заголовке соединения в виде белого аморфного твердого вещества (0,02 г, 50%). ЖХМС рассчитано для C₂₀H₂₂N₃O₄ (M+H)⁺: m/z=368,1; найдено=368,1.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 12,01 (с, 1H), 10,61 (с, 1H), 7,35-7,20 (м, 2H), 6,57 (д, J=2,9 Гц, 1H), 6,45 (д, J=2,9 Гц, 1H), 6,20 (д, J=2,1 Гц, 1H), 4,30 (д, J=4,3 Гц, 1H), 3,70 (с, 3H), 3,53 (с, 3H), 2,28-2,09 (м, 1H), 0,80 (дд, J=11,7, 6,8 Гц, 6H).

Пример А. 2-Изопропил-6-метокси-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он (Энантиомер 1)

Пример В. 2-Изопропил-6-метокси-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он (Энантиомер 2)



Энантиомеры из примеров разделяли с помощью преп. хроматографии на хиральной колонке с применением следующих условий:

Колонка: Chiralpak IA C-25 мкм, 21, 2×250 мм;

Подвижная фаза: 30% EtOH/смесь изомеров гексана;
 Градиентное состояние: изократическое при 14 мл/мин;
 Загрузка: 1,0 мг в 900 мкл;
 Время удержания: 17 мин;
 Время пика: 11,0 и 14,4 мин.

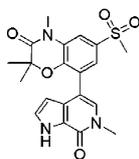
Пример А, Пик 1 в виде твердого осадка (11,0 мин)

ЖХМС рассчитано для $C_{20}H_{22}N_3O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=368,1$; найдено=368,1. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,01 (с, 1H), 10,61 (с, 1H), 7,35-7,20 (м, 2H), 6,57 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 6,45 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 6,20 (д, $J=2,1$ Гц, 1H), 4,30 (д, $J=4,3$ Гц, 1H), 3,70 (с, 3H), 3,53 (с, 3H), 2,28-2,09 (м, 1H), 0,80 (дд, $J=11,7, 6,8$ Гц, 6H).

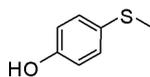
Пример В, Пик 2 в виде твердого осадка (14,4). ЖХМС рассчитано для $C_{20}H_{22}N_3O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z=368,1$; найдено=368,1.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,01 (с, 1H), 10,61 (с, 1H), 7,35-7,20 (м, 2H), 6,57 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 6,45 (д, $J=2,9$ Гц, 1H), 6,20 (д, $J=2,1$ Гц, 1H), 4,30 (д, $J=4,3$ Гц, 1H), 3,70 (с, 3H), 3,53 (с, 3H), 2,28-2,09 (м, 1H), 0,80 (дд, $J=11,7, 6,8$ Гц, 6H).

Пример 1. 2,2,4-Триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он

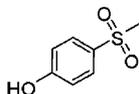


Стадия 1: 4-(метилтио)фенол



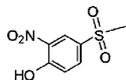
4-Меркаптофенол (0,5 г, 4 ммоль) (Aldrich, кат. № 559938-5) растворяли в ацетоне (10,0 мл), затем добавляли калий карбонат (0,684 г, 4,95 ммоль) и йодметан (0,396 мл, 4,95 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, разбавляли этилацетатом и фильтровали. Органический слой концентрировали *in vacuo* для получения желтого масла. Продукт очищали с помощью КФХ на силикагеле, элюируя с градиентом гексан: этилацетат с получением 4-(метилтио)фенола в виде прозрачного масла, которое кристаллизовали при насыщении (0,55 г, 80%).

Стадия 2: 4-(метилсульфонил)фенол



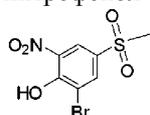
Порциями добавляли оксон (0,99 г, 6,5 ммоль) (Aldrich, кат. №22803-6) к раствору 4-(метилтио)фенола (0,50 г, 3,2 ммоль) в этаноле (10,0 мл) и воде (10,0 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч, затем распределяли между этилацетатом и водой. Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом магния, и упаривали *in vacuo* с получением 4-(метилсульфонил)фенола в виде полутвердого вещества (0,60 г, 96%). ЖХМС рассчитано для $C_7H_9O_3S$ ($M+H$)⁺: $m/z=173,0$; найдено: 173,0.

Стадия 3: 4-(метилсульфонил)-2-нитрофенол



Азотную кислоту (0,1 мл, 3 ммоль) добавляли к смеси 4-(метилсульфонил)фенола (0,5 г, 3 ммоль) в уксусной кислоте (9 мл) при комнатной температуре. Смесь нагревали до 80°C в течение 3 ч, затем охлаждали до комнатной температуры и распределяли между этилацетатом и водой. Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над $MgSO_4$, фильтровали и упаривали для получения неочищенного продукта. Продукт кристаллизовали из этилацетата с получением 4-(метилсульфонил)-2-нитрофенола в виде бледно-желтого твердого вещества (0,59 г, 100%). ЖХМС рассчитано для $C_7H_8NO_5S$ ($M+H$)⁺: $m/z=218,1$; найдено: 218,0.

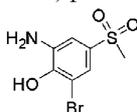
Стадия 4: 2-бром-4-(метилсульфонил)-6-нитрофенол



Бром (0,41 г, 2,6 ммоль) в уксусной кислоте (5 мл) добавляли к раствору 4-(метилсульфонил)-2-нитрофенола (0,63 г, 2 ммоль) в уксусной кислоте (20 мл) и хлорида железа (0,08 г, 0,5 ммоль) в воде (0,3 мл) при комнатной температуре и полученную смесь перемешивали в течение 4 ч. Данную смесь затем разбавляли водой (70 мл), формируя суспензию. Твердые вещества собирали, промывали водой и сушили

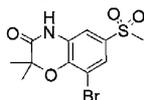
с получением 2-бром-4-(метилсульфонил)-6-нитрофенола в виде почти белого порошка (0,75 мг, 80%). ЖХМС рассчитано для $C_7H_7BrNO_3S$ (M+H)⁺: m/z=295,9, 297,9; найдено: 296,0, 298,0.

Стадия 5: 2-амино-6-бром-4-(метилсульфонил)фенол



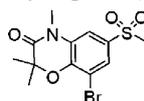
2-бром-4-(метилсульфонил)-6-нитрофенол (0,20 г, 0,64 ммоль) растворяли в этаноле (7,0 мл, 120 ммоль), дегазировали азотом и добавляли никель Ренеля (75 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 2 ч. Смесь декантировали от твердых веществ и упаривали in vacuo с получением 2-амино-6-бром-4-(метилсульфонил)фенола в виде твердого аморфного вещества (0,19 г, 95%). ЖХМС рассчитано для $C_7H_7BrNO_3S$ (M+H)⁺: m/z=266,1, 268,1; найдено: 266,0, 268,0.

Стадия 6: 8-бром-2,2-диметил-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он



2-бром-2-метилпропаноил бромид (0,41 мл, 3,4 ммоль) (Aldrich, кат. №252271) медленно добавляли к раствору 2-амино-6-бром-4-(метилсульфонил)фенола (0,75 г, 2,8 ммоль) в ацетонитриле (49,7 мл) и карбоната калия (1,6 г, 11 ммоль) в воде (16 мл) при кт. Реакцию перемешивали в течение 1 ч и нагревали до 80°C в масляной бане для циклизации. Реакционную смесь нагревали в течение 18 ч и охлаждали до кт. Реакцию распределяли между этилацетатом и водой. Объединенный органический слой промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом магния и упаривали для получения темного масла. Продукт очищали помощью КФХ на силикагеле, элюируя градиентом гексан:этилацетат для получения 8-бром-2,2-диметил-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она в виде твердого вещества (0,84 г, 89%). ЖХМС рассчитано для $C_{11}H_{13}BrNO_4S$ (M+H)⁺: m/z=334,1, 336,1; найдено: 334,0, 336,0.

Стадия 7: 8-бром-2,2,4-триметил-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он



Гидрид натрия (0,12 г, 2,9 ммоль) добавляли к раствору 8-бром-2,2-диметил-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она (0,82 г, 2,4 ммоль) в N,N-диметилформамиде (23,4 мл) в атмосфере азота при кт. Реакцию перемешивали в течение 30 мин и добавляли метилйодид (0,30 мл, 4,9 ммоль). После перемешивания в течение 1 ч реакционную смесь распределяли между этилацетатом и водой. Органический слой промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом магния и упаривали для получения 8-бром-2,2,4-триметил-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она в виде твердого остатка (0,83 г, 97%). ЖХМС рассчитано для $C_{12}H_{15}BrNO_4S$ (M+H)⁺: m/z=348,1, 350,1; найдено: 348,0, 350,0.

Стадия 8: 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он

Используя способы, аналогичные условиям в ссыльном примере, но используя 8-бром-2,2,4-триметил-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он из стадии 7, получают неочищенный продукт. Продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с применением колонки С-18, элюируя с градиентом вода:ацетонитрил, забуференным до pH 10 с получением указанного в заголовке соединения в виде белого аморфного твердого вещества (25 мг, 30%). ЖХМС рассчитано для $C_{20}H_{22}N_3O_5S$ (M+H)⁺: m/z=416,1; найдено 416,1.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 12,11 (с, 1H), 7,63 (д, J=1,7 Гц, 1H), 7,59 (д, J=1,9 Гц, 1H), 7,30 (д, J=2,7 Гц, 2H), 6,15 (д, J=2,1 Гц, 1H), 3,56 (с, 3H), 3,40 (с, 3H), 3,28 (с, 3H), 1,38 (с, 6H).

Аналитические данные

Данные ЯМР ¹H (спектрометр Varian Inova 500, спектрометр Mercury 400 или спектрометр Varian (или Mercury) 300) и масс-спектральные данные ЖХМС (МС) соединения примера 1 приведены ниже в табл. 12.

Таблица 12

Пр. №	МС [M+H] ⁺	Спектр ЯМР ¹ H
1	416,1	¹ H ЯМР (300 МГц, DMSO-d ₆) δ 12,11 (с, 1H), 7,63 (д, J=1,7 Гц, 1H), 7,59 (д, J=1,9 Гц, 1H), 7,30 (д, J=2,7 Гц, 2H), 6,15 (д, J=2,1 Гц, 1H), 3,56 (с, 3H), 3,40 (с, 3H), 3,28 (с, 3H), 1,38 (с, 6H).

Пример А1. Анализ BRD4 AlphaScreen™
Анализ BRD4 AlphaScreen™

Анализы BRD4-BD1 и BRD4-BD2 осуществляли на белом 384-луночном полистирольном планшете в конечном объеме 40 мкл в случае BD1 и 60 мкл в случае BD2. Ингибиторы сначала серийно разбавляли в ДМСО и добавляли в лунки планшета перед добавлением других компонентов реакции. Итоговая концентрация ДМСО в анализе составляла 1,25% (BD1) и 0,83% (BD2). Анализ осуществляли при комнатной температуре в буфере для анализа (50 мМ Tris-HCl, pH 7,5, 0,01% Tween-20, 0,01% BSA, 5 мМ DTT), содержит 50 нМ меченого биотином пептида тетраацетилированного гистона H4 (H4Ac4) и белка BRD4-BD1 или BRD4-BD2 при концентрации менее чем 1 нМ. Инкубирование в течение 75 мин, после добавления 20 мкл буфера для анализа, дополняли крупинками донора стрептавидина (PerkinElmer 6760002) и крупинками акцептора GSH (PerkinElmer-AL109C) в конечной концентрации 2-4 мкг/мл при пониженной освещенности. После герметизации планшета, планшет инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 75 мин перед считыванием на планшет-ридере PHERAstar FS (BMG Labtech). Определение IC₅₀ осуществляли путем подгонки кривой процентной активности контроля по отношению к логарифму концентрации ингибитора с применением программного обеспечения GraphPad Prism 5,0.

Данные IC₅₀, как определено с помощью Анализа А1, представлены в табл. 13 (символ столбцов: + относится к ≤ 100 нМ).

Таблица 13

Пр. №	BRD4-BD1	BRD4-BD2
	IC ₅₀ (нМ)	IC ₅₀ (нМ)
1	+	+

Пример В1. Анализ жизнеспособности клетки KMS.12.BM

Клеточную линию KMS.12.BM (миелома человека) приобретали у JCRB (Осака, Япония) и поддерживали в RPMI с культуральной средой с 10% FBS. Для измерения цитотоксической активности соединений посредством количественного определения АТФ, клетки KMS.12.BM высевали в культуральную среду RPMI при 5000 клеток/лунку/на 100 мкл в 96-луночной полистирольной абсолютно черной тест-плашке (Greiner-bio-one от VWR, Нью-Джерси), в, или вне, диапазона концентраций исследуемых соединений. Спустя 3 дня, 100 мкл культурального средства Cell Titer-GLO Luminescent (Promega, Мэдисон, Висконсин) добавляли в каждую лунку в течение 10 мин при комнатной температуре, для того, чтобы стабилизировать люминесцентный сигнал. Это определяет количество жизнеспособных клеток в культуре, на основе количественного определения АТФ, которое сигнализирует о наличии метаболически активных клеток. Люминесценцию измеряли с помощью Top Count 384 (Packard Bioscience от Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Ингибирование соединения определяли по отношению к клеткам, культивируемым без лекарственного средства, а IC₅₀ приведена как концентрация соединения, необходимая для гибели 50% клеток. Данные IC₅₀, как определено с помощью анализа В1, представлены в табл. 14 (символы столбцов: + относится к ≤ 1000 нМ).

Таблица 14

Пр. №	KMS.12.BM
	IC ₅₀ (нМ)
1	+

Пример С1. Анализ ELISA С-мус KMS.12.BM

Клеточную линию KMS.12.BM (миелома человека) приобретали у JCRB (Осака, Япония) и поддерживали в RPMI с культуральной средой с 10% FBS. Для измерения ингибирующей активности С-мус соединений, клетки KMS.12.BM высевали в культуральную среду RPMI при 75000 клеток/лунку/на 200 мкл в 96-луночной полистирольной тест-плашке с плоским дном (Corning от VWR, Нью-Джерси), в, или вне, диапазона концентраций исследуемых соединений. Спустя 2 ч клетки осаждали и лизировали с помощью Cell Extraction Buffer (BioSource, Карлсбад, Калифорния) в присутствии ингибиторов протеазы (Life Technologies, Гранд-Айленд, Нью-Йорк и Sigma, Сент-Луис, Миссури). Очищенные лизаты исследовали с помощью коммерческого ELISA С-мус (Life Technologies, Гранд-Айленд, Нью-Йорк). Ингибирование соединения определяли по отношению к клеткам, культивируемым без лекарственного средства, а IC₅₀ приведена как концентрация соединения, необходимая для ингибирования 50% С-мус.

Различные модификации в соответствии с данным изобретением, в дополнение к тем, которые описаны в данном документе, будут очевидны для специалистов в данной области техники из вышеприведенного описания. Подобные модификации также находятся в пределах объема прилагаемой формулы изобретения. Каждая ссылка, процитированная в настоящем описании, включая все патенты, патентные заявки и публикации, включена в данный документ в качестве ссылки во всей своей полноте.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, представляющее собой 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(пиперидин-1-илсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он, или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, представляющее собой 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-е]пиридин-4-ил)-6-(пиперидин-1-илсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он.

3. Фармацевтическая композиция для лечения заболевания, опосредованного активностью белка ВЕТ, содержащая соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

4. Фармацевтическая композиция для лечения заболевания, опосредованного активностью белка ВЕТ, содержащая соединение по п.2 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

5. Способ ингибирования белка ВЕТ, включающий контактирование соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли с указанным белком ВЕТ.

6. Способ лечения заболевания или состояния, которое связано с белком ВЕТ, включающий введение пациенту, нуждающемуся в подобном лечении, терапевтически эффективного количества соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли.

7. Способ лечения пролиферативного расстройства, включающий введение пациенту, нуждающемуся в подобном лечении, терапевтически эффективного количества соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли.

8. Способ по п.7, отличающийся тем, что пролиферативное расстройство представляет собой рак.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что рак представляет собой гематологический рак.

10. Способ по п.8, отличающийся тем, что рак представляет собой аденокарциному, рак мочевого пузыря, бластому, рак кости, рак молочной железы, рак мозга, карциному, миелоидную саркому, рак шейки матки, колоректальный рак, рак пищевода, рак желудочно-кишечного тракта, мультиформную глиобластому, глиому, рак желчного пузыря, рак желудка, рак головы и шеи, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, рак кишечника, рак почки, рак гортани, лейкоз, рак легкого, лимфому, рак печени, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, мезотелиому, множественную миелому, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДККЛ), рак глаза, опухоль оптического нерва, рак полости рта, рак яичника, опухоль гипофиза, первичную лимфому центральной нервной системы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак глотки, рак почки, рак прямой кишки, саркому, рак кожи, опухоль спины, мелкоклеточный рак кишечника, рак желудка, Т-клеточную лейкемию, Т-клеточную лимфому, рак яичка, рак щитовидной железы, рак горла, мочеполовой рак, уротелиальную карциному, рак матки, вагинальный рак или опухоль Вильмса.

11. Способ по п.8, отличающийся тем, что рак представляет собой множественную миелому.

12. Способ по п.8, отличающийся тем, что рак представляет собой острый миелоидный лейкоз (ОМЛ).

13. Способ по п.8, отличающийся тем, что рак представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДККЛ).

