



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.01.18

(21) Номер заявки
201690980

(22) Дата подачи заявки
2014.11.11

(51) Int. Cl. *A61K 31/437* (2006.01)
A61K 31/451 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ AMG232 В КОМБИНАЦИИ С ЦИТАРАБИНОМ ИЛИ ДЕЦИТАБИНОМ
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО МИЕЛОГЕННОГО ЛЕЙКОЗА

(31) 61/902,717

(32) 2013.11.11

(33) US

(43) 2016.09.30

(86) PCT/US2014/065034

(87) WO 2015/070224 2015.05.14

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭМДЖЕН ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Кэнпил Шон, Кэнон Джуд, Хьюз Пол,
Олинер Джонатан Д., Риклес Ричард
Дж., Саики Анн Й. (US)

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

(56) US-A1-2013245039
US-A1-2011319378

J.I. ZHENYU ET AL.: "Vemurafenib synergizes with nutlin-3 to deplete survivin and suppresses melanoma viability and tumor growth", CLINICAL CANCER RESEARCH: AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH 15 AUG 2013, vol. 19, no. 16, 27 June 2013 (2013-06-27), pages 4383-4391, XP002734225, ISSN: 1078-0432 the whole document

KOJIMA KENSUKE ET AL.: "Mdm2 inhibitor Nutlin-3a induces p53-mediated apoptosis by transcription-dependent and transcription-independent mechanisms and may overcome Atm-mediated resistance to fludarabine in chronic lymphocytic leukemia", BLOOD 1 AUG 2006, vol. 108, no. 3, 1 August 2006 (2006-08-01), pages 993-1000, XP055140017, ISSN: 0006-4971 the whole document

J.G. GREGER ET AL.: "Combinations of BRAF, MEK, and PI3K/mTOR Inhibitors Overcome Acquired Resistance to the BRAF Inhibitor GSK2118436 Dabrafenib, Mediated by NRAS or MEK Mutations", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 11, no. 4, 1 April 2012 (2012-04-01), pages 909-920, XP055057160, ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0989 the whole document

FLAHERTY KEITH T. ET AL.: "Combined BRAF and MEK Inhibition in Melanoma with BRAF V600 Mutations", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, MASSACHUSETTS MEDICAL SOCIETY, US, vol. 367, no. 18 1 November 2012 (2012-11-01), pages 1694-1703, XP002725869, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJM0A1210093

Retrieved from the Internet: URL:<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoal210093> [retrieved on 2012-09-29] the whole document

ZHANG W. ET AL.: "Blockade of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase and murine double minute synergistically induces Apoptosis in acute myeloid leukemia via BH3-only proteins Puma and Bim", CANCER RESEARCH, vol. 70, no. 6, 15 March 2010 (2010-03-15), pages 2424-2434, XP002740443, ISSN: 1538-7445, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0878 page 2425, left-hand column, paragraph 2

Ji Z. ET AL.: "p53 rescue through HDM2 antagonism suppresses melanoma growth and potentiates MEK inhibition", JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, US, vol. 132, no. 2, 1 February 2012 (2012-02-01), pages 356-364, XP002694638, ISSN: 1523-1747, DOI: 10.1038/JID.2011.313 [retrieved on 2011-10-13] page 358, left-hand column, paragraph 2 - page 360, right-hand column, paragraph 2

KOJIMA KENSUKE ET AL.: "Mitogen-activated protein kinase inhibition enhances nuclear proapoptotic function of p53 in acute myelogenous leukemia cells", CANCER RESEARCH 1 APR 2007, vol. 67, no. 7, 1 April 2007 (2007-04-01), pages 3210-3219, XP002740444, ISSN: 0008-5472 page 3212, left-hand column, paragraph 2 - page 3215, right-hand column, line 3

J.M. GOZGIT ET AL.: "Potent Activity of Ponatinib (AP24534) in Models of FLT3-Driven Acute Myeloid Leukemia and Other Hematologic Malignancies", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 10, no. 6, 11 April 2011 (2011-04-11), pages 1028-1035, XP055056925, ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-1044 the whole document

LONG JIANTING ET AL.: "Multiple distinct molecular mechanisms influence sensitivity and resistance to MDM2 inhibitors in adult acute myelogenous leukemia", BLOOD 8 JUL 2010, vol. 116, no. 1, 8 July 2010 (2010-07-08), pages 71-80, XP002740447, ISSN: 1528-0020 the whole document

GILES FRANCIS ET AL.: "MK-0457, a novel aurora kinase and BCR-ABL inhibitor, is active against BCR-ABL T315I mutant chronic myelogenous leukemia (CML)", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 108, no. 11, Part 1, 1 November 2006 (2006-11-01), page 52a, XP009124755, ISSN: 0006-4971 page 116, left-hand column, paragraph 2 - right-hand column, paragraph 1

ZAULI GIORGIO ET AL.: "Dasatinib plus Nutlin-3 shows synergistic antileukemic activity in both p53 wild-type and p53 mutated B chronic lymphocytic leukemias by inhibiting the Akt pathway", CLINICAL CANCER

RESEARCH: AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH 15 FEB 2011, vol. 17, no. 4, 15 February 2011 (2011-02-15), pages 762-770, XP002740448, ISSN: 1078-0432 the whole document

TIANJUN ZHOU ET AL.: "Structural Mechanism of the Pan-BCR-ABL Inhibitor Ponatinib (AP24534): Lessons for Overcoming Kinase Inhibitor Resistance", CHEMICAL BIOLOGY & DRUG DESIGN, vol. 77, no. 1, 30 November 2010 (2010-11-30), pages 1-11, XP055065379, ISSN: 1747-0277, DOI: 10.1111/j.1747-0285.2010.01054.x page 8, right-hand column, paragraph 3

KHOURY H. JEAN ET AL.: "Bosutinib is active in chronic phase chronic myeloid leukemia after imatinib and dasatinib and/or nilotinib therapy failure", BLOOD 12 APR 2012, vol. 119, no. 15, 12 April 2012 (2012-04-12), pages 3403-3412, XP002740449, ISSN: 1528-0020 the whole document

KOJIMA KENSUKE ET AL.: "Concomitant inhibition of MDM2 and Bcl-2 protein function synergistically induce mitochondrial apoptosis in AML", CELL CYCLE (GEORGETOWN, TEX.) DEC 2006, vol. 5, no. 23, December 2006 (2006-12), pages 2778-2786, XP002740450, ISSN: 1551-4005 the whole document

BOSE P. ET AL.: "Mcl-1 as a therapeutic target in acute myelogenous leukemia (AML)", LEUKEMIA RESEARCH REPORTS 2013 ELSEVIER LTD GBR, vol. 2, no. 1, 22 January 2013 (2013-01-22), pages 12-14, XP002740451, ISSN: 2213-0489 page 13, right-hand column, lines 9-13

LU WENGE ET AL.: "Activation of p53 by roscovitine-mediated suppression of MDM2 expression", ONCOGENE, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 20, no. 25, 31 May 2001 (2001-05-31), pages 3206-3216, XP002292792, ISSN: 0950-9232, DOI: 10.1038/SJ.ONC.1204412 the whole document

CHITHRA D. PALANI ET AL.: "Histone deacetylase inhibitors enhance the anticancer activity of nutlin-3 and induce p53 hyperacetylation and downregulation of MDM2 and MDM4 gene expression", INVESTIGATIONAL NEW DRUGS; THE JOURNAL OF NEW ANTICANCER AGENTS, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO, vol. 30, no. 1, 3 August 2010 (2010-08-03), pages 25-36, XP035000732, ISSN: 1573-0646, DOI: 10.1007/S10637-010-9510-7 the whole document

NAGMA KHAN ET AL.: "Determination of the class and isoform selectivity of small-molecule histone

deacetylase inhibitors", BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 409, no. 2, 15 January 2008 (2008-01-15), page 581, XP055074060, ISSN: 0264-6021, DOI: 10.1042/BJ20070779 the whole document

MARTINELLI E. ET AL.: "Antitumor activity of pimasertib, a selective MEK 1/2 inhibitor, in combination with PI3K/mTOR inhibitors or with multi-targeted kinase inhibitors in pimasertib-resistant human lung and colorectal cancer cells", INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER. JOURNAL INTERNATIONAL DU CANCER NOV 2013, vol. 133, no. 9, 30 April 2013 (2013-04-30), pages 2089-2101, XP002740445, ISSN: 1097-0215 the whole document

KAO CHIA-LI ET AL.: "Rapamycin increases the p53/MDM2 protein ratio and p53-dependent apoptosis by translational inhibition of mdm2 in cancer cells", CANCER LETTERS 28 DEC 2009, vol. 286, no. 2, 28 December 2009 (2009-12-28), pages 250-259, XP002740446, ISSN: 1872-7980 the whole document

FALCHOOK G.S. ET AL.: "Activity of the oral MEK inhibitor trametinib in patients with advanced melanoma: a phase 1 dose-escalation trial", LANCET ONCOLOGY, LANCET PUBLISHING GROUP, LONDON, GB, vol. 13, no. 8, 1 August 2012 (2012-08-01), pages 782-789, XP002727794, ISSN: 1470-2045, DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70269-3 [retrieved on 2012-07-16] the whole document

WANG ET AL.: "Clinical experience of MEK inhibitors in cancer therapy", BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. MOLECULAR CELL RESEARCH, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 1773, no. 8, 1 August 2007 (2007-08-01), pages 1248-1255, XP022181677, ISSN: 0167-4889, DOI: 10.1016/J.BBAMCR.2006.11.009 the whole document

LIU DINGXIE ET AL.: "Potent inhibition of thyroid cancer cells by the MEK inhibitor PD0325901 and its potentiation by suppression of the PI3K and NF-kappaB pathways", THYROID: OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN THYROID ASSOCIATION AUG 2008, vol. 18, no. 8, August 2008 (2008-08), pages 853-864, XP002740459, ISSN: 1050-7256 the whole document

FENG JIANHUA ET AL.: "Stabilization of Mdm2 via decreased ubiquitination is mediated by protein kinase B/Akt-dependent phosphorylation", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 20 AUG 2004, vol. 279, no. 34, 20 August 2004 (2004-08-20), pages 35510-35517, XP002740653, ISSN: 0021-9258 the whole document

- (57) В изобретении предлагается комбинированная терапия, включающая введение AMG252 и цитарабина или децитабина для лечения острого миелогенного лейкоза. Кроме того, изобретение относится к фармацевтическим композициям, которые содержат AMG252 и цитарабин или децитабин для лечения острого миелогенного лейкоза.

Приоритет

Настоящая заявка заявляет приоритет предварительной заявки на патент США № 61/902717, поданной 11 ноября 2013 г., которая таким образом включена в данное описание в полном объеме посредством ссылки.

Область техники

В настоящем изобретении предлагается комбинированная терапия, включающая применение AMG232 в комбинации с цитарабином или децитабином для лечения острого миелогенного лейкоза. Кроме того, изобретение относится к фармацевтическим композициям, которые содержат AMG232 и цитарабин или децитабин для лечения острого миелогенного лейкоза.

Уровень техники

p53 представляет собой супрессор опухоли и фактор транскрипции, который отвечает на клеточный стресс активацией транскрипции многочисленных генов, принимающих участие в остановке клеточного цикла, апоптозе, старении и восстановлении ДНК. В отличие от нормальных клеток, в которых редко возникают поводы для активации p53, опухолевые клетки постоянно находятся в условиях клеточного стресса из-за различных повреждающих факторов, включая гипоксию и проапоптотическую активацию онкогена. Таким образом, существует выраженное избирательное преимущество инактивации пути p53 в опухолях, и предполагают, что элиминация функции p53 может быть предпосылкой для выживания опухоли. В поддержку этого тезиса три группы исследователей использовали модели на мышах для демонстрации того, что отсутствие функции p53 является постоянным требованием для поддержания образовавшихся опухолей. Когда исследователи восстанавливали функцию p53 в опухолях с инактивированным p53, происходил регресс опухолей.

p53 инактивируется путем мутации и/или утраты в 50% солидных опухолей и 10% ликворных опухолей. Кроме того, другие ключевые участники пути p53 при раке также генетически или эпигенетически модифицированы. MDM2, онкобелок, ингибирует функцию p53 и активируется амплификацией гена с частотой, которая согласно сообщениям достигает 10%. В свою очередь, MDM2 ингибируется другим супрессором опухоли, p14ARF. Было выдвинуто предположение о том, что модификации в биохимическом пути после p53 могут быть ответственными, по меньшей мере, за частичную инактивацию пути p53 в опухолях p53^{ΔT} (p53 wild type). В поддержку этой гипотезы некоторые опухоли p53^{ΔT} по-видимому, проявляют снижение способности к апоптозу, хотя их способность к остановке клеточного цикла остается интактной. Одна из стратегий лечения рака включает применение молекул небольшого размера, которые связываются с MDM2 и нейтрализуют его взаимодействие с p53. MDM2 ингибирует активность p53 по трем механизмам: 1) способствует разложению p53, действуя как E3 убихитинлигаза; 2) связывается с и блокирует домен транскрипционной активации p53; и 3) экспортируя p53 от ядра в цитоплазму. Все три из указанных механизмов должны быть блокированы нейтрализацией взаимодействия MDM2-p53. Конкретно, данная терапевтическая стратегия может быть применена к опухолям, которые принадлежат к p53^{ΔT}, причем исследования низкомолекулярных ингибиторов MDM2 давали многообещающее замедление роста опухолей как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, у пациентов с p53-инактивированными опухолями стабилизация p53 дикого типа в нормальных тканях под действием ингибирования MDM2 может давать избирательную защиту нормальных тканей от митотических ядов. В данном описании MDM2 обозначает белок MDM2 человека, и p53 обозначает белок p53 человека. Необходимо отметить, что MDM2 человека дополнительно может обозначаться как hMDM2 или hMDM2. Некоторые ингибиторы MDM2 проходят клинические испытания для лечения различных видов рака.

Данное изобретение относится к комбинированной терапии ингибитором MDM2 и одним или более дополнительными фармацевтически активными агентами, причем конкретные комбинации демонстрируют повышенную противораковую активность при некоторых видах рака по сравнению с ожидаемой при монотерапии отдельными компонентами комбинированной терапии.

Краткое описание сущности изобретения

В варианте реализации 1 настоящего изобретения предлагается применение терапевтически эффективного количества ингибитора MDM2 и децитабина для лечения острого миелогенного лейкоза у пациента, который в этом нуждается.

В варианте реализации 2 настоящего изобретения предлагается применение согласно варианту реализации изобретения 1, отличающееся тем, что ингибитор MDM2 представляет собой 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль.

В варианте реализации 3 настоящего изобретения предлагается применение согласно варианту реализации изобретения 1, отличающееся тем, что ингибитор MDM2 представляет собой 4-(2-((3R,5R,6S)-1-((S)-2-(трет-бутилсульфонил)-1-циклопропилэтил)-6-(4-хлор-3-фторфенил)-5-(3-хлорфенил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)ацетамидо)-2-метоксибензойную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль.

В варианте реализации 4 настоящего изобретения предлагается применение согласно любому из вариантов реализации изобретения 1-3, отличающееся тем, что ОМЛ содержит мутацию FLT3 ITD.

В варианте реализации 5 настоящего изобретения предлагается применение терапевтически эффек-

тивного количества ингибитора MDM2 и цитарабина для лечения острого миелогенного лейкоза у пациента, который в этом нуждается.

В варианте реализации 6 настоящего изобретения предлагается применение согласно варианту реализации изобретения 5, отличающееся тем, что ингибитор MDM2 представляет собой 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль.

В варианте реализации 7 настоящего изобретения предлагается применение согласно варианту реализации изобретения 5, отличающееся тем, что ингибитор MDM2 представляет собой 4-(2-((3R,5R,6S)-1-((S)-2-(трет-бутилсульфонил)-1-циклопропилэтил)-6-(4-хлор-3-фторфенил)-5-(3-хлорфенил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)ацетамидо)-2-метоксибензойную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль.

В варианте реализации 8 настоящего изобретения предлагается применение согласно любому из вариантов реализации изобретения 5-7, отличающееся тем, что ОМЛ содержит мутацию FLT3 ITD.

В варианте реализации 9 настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция, содержащая 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль; децитабин, и фармацевтически приемлемый наполнитель.

В варианте реализации 10 настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция, содержащая 4-(2-((3R,5R,6S)-1-((S)-2-(трет-бутилсульфонил)-1-циклопропилэтил)-6-(4-хлор-3-фторфенил)-5-(3-хлорфенил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)ацетамидо)-2-метоксибензойную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль; децитабин, и фармацевтически приемлемый наполнитель.

В варианте реализации 11 настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция, содержащая: 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль; цитарабин; и фармацевтически приемлемый наполнитель.

В варианте реализации 12 настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция, содержащая 4-(2-((3R,5R,6S)-1-((S)-2-(трет-бутилсульфонил)-1-циклопропилэтил)-6-(4-хлор-3-фторфенил)-5-(3-хлорфенил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)ацетамидо)-2-метоксибензойную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль; цитарабин; и фармацевтически приемлемый наполнитель.

Дополнительный вариант реализации изобретения включает способ лечения рака, включающий:

- A) назначение пациенту;
- B) продажу или рекламу с целью продажи;
- C) покупку;
- D) инструктирование относительно самостоятельного введения или
- E) введение комбинации, описанной в данном описании, притом, что комбинация одобрена для лечения рака регуляторным агентством, субъекту, нуждающемуся в лечении рака.

Для целей ясности термин "инструктирование" включает информацию на этикетке, одобренную регуляторным агентством, в дополнение к его общепринятому определению.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 иллюстрирует данные для комбинаций AMG 232 и различных химиотерапевтических соединений.

Фиг. M иллюстрирует данные ксенотрансплантата опухоли для комбинации AMG232 и цитарабина в опухоли MOLM13.

Фиг. N иллюстрирует данные ксенотрансплантата опухоли для комбинации AMG 232 и децитабина в опухоли MOLM13.

Подробное описание изобретения

В настоящем изобретении предлагается комбинированная терапия, включающая ингибитор MDM2 и один или более дополнительных фармацевтически активных агентов, конкретно для лечения различных видов рака. Кроме того, изобретение относится к фармацевтическим композициям, которые содержат ингибитор MDM2 и один или более дополнительных фармацевтически активных агентов для лечения различных видов рака.

Термин "содержащий (включающий)" является неограничивающим, включая указанный компонент, но не исключая других элементов.

Термин "терапевтически эффективное количество" обозначает количество соединения или комбинации соединений, которое облегчает, ослабляет или устраняет один или более симптомов конкретного заболевания или состояния или предупреждает или отодвигает во времени начало одного или более симптомов конкретного заболевания или состояния.

Термины "пациент" и "субъект" могут использоваться взаимозаменяемым образом и обозначают животных, таких как собаки, кошки, коровы, лошади, овцы, и человека. Конкретные пациенты представляют собой млекопитающих. Термин "пациент" включает особей мужского и женского пола.

Термин "фармацевтически приемлемый" означает, что указанное вещество, такое как соединение или соль соединения, или препарат, содержащий соединение или конкретное вспомогательное вещество,

являются пригодными для введения пациенту.

Термины "лечение", "лечить" или "терапия" и т.п. включают превентивное (например, профилактическое) и паллиативное лечение. Термин "лечение" и т.п. в соответствии с настоящим изобретением обозначает уменьшение или элиминацию раковых клеток у пациента.

Термин "вспомогательное вещество" обозначает любую фармацевтически приемлемую добавку, носитель, разбавитель, адъювант или другой ингредиент, кроме активного фармацевтического ингредиента (АФИ), который типично включают для составления препарата и/или введения пациенту.

Выражение "соединение(я) по настоящему изобретению" включает ингибиторы MDM2 и/или один или более дополнительных фармацевтически активных агентов согласно обстоятельствам применения.

"Ингибитор MDM2" определен как соединение с молекулярной массой менее чем около 1000, которое связывается с MDM2, что продемонстрировано тестированием *in vitro* или другими средствами.

Соединения по настоящему изобретению вводят пациенту в терапевтически эффективном количестве. Соединения могут быть введены по отдельности или как часть фармацевтически приемлемой композиции или препарата. Кроме того, соединения или композиции могут быть введены за один раз, например, инъекцией болюса, за несколько раз, например, серия таблеток, или в значительной мере однородно на протяжении периода времени, например, с применением трансдермальной доставки. Кроме того, необходимо отметить, что доза соединения может меняться со временем.

Если пациент должен получить или получает несколько фармацевтически активных соединений, соединения могут быть введены одновременно или последовательно. Например, в случае таблеток активные соединения находятся в одной таблетке или в отдельных таблетках, которые могут быть введены за один раз или последовательно в любом порядке. Кроме того, необходимо понимать, что композиции могут находиться в различных формах. Например, одно или более соединений могут быть доставлены с помощью таблетки, тогда как другое вводят посредством инъекции или перорально в виде сиропа. Включены все комбинации, способы введения и последовательности введения.

Термин "рак" обозначает физиологическое состояние у млекопитающих, которое характеризуется нерегулируемым ростом клеток. Общие классы рака включают карциномы, лимфомы, саркомы и бластомы.

Соединения по настоящему изобретению могут применяться для лечения рака. Способы лечения рака включают введение пациенту, который в этом нуждается, терапевтически эффективного количества одного или более соединений или фармацевтически приемлемых солей любого из соединений.

Соединения по настоящему изобретению могут применяться для лечения опухолей. Способы лечения опухоли включают введение пациенту, который в этом нуждается, терапевтически эффективного количества одного или более соединений по настоящему изобретению или фармацевтически приемлемых солей любого из соединений.

Изобретение также относится к применению соединений в производстве лекарственного средства для лечения состояния, такого как рак.

Виды рака, которые можно лечить соединениями по настоящему изобретению включают, но не ограничиваясь этим, карциномы, такие как рак мочевого пузыря, молочной железы, ободочной кишки, прямой кишки, почки, печени, легкого (мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого), пищевода, желчного пузыря, яичника, поджелудочной железы, желудка, шейки матки, щитовидной железы, предстательной железы и кожи (в том числе плоскоклеточная карцинома); опухоли кроветворной ткани лимфоидной выстилки (в том числе лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, В-клеточная лимфома, Т-клеточная лимфома, ходжкинская лимфома, неходжкинская лимфома, волосатоклеточная лимфома и лимфома Буркитта); опухоли кроветворной ткани миелоидной выстилки (в том числе острый и хронический миелогенный лейкоз, миелодиспластический синдром и промиелоцитарный лейкоз); опухоли мезенхимального происхождения (в том числе фибросаркома и рабдомиосаркома и другие виды саркомы, например, мягких тканей и кости); опухоли центральной и периферической нервной системы (в том числе астроцитомы, нейробластома, глиома и шванномы) и другие опухоли (в том числе меланома, семинома, тератокарцинома, остеосаркома, пигментная ксеродерма, кератоксантома, фолликулярный рак щитовидной железы и саркома Капоши). Другие виды рака, которые можно лечить соединением по настоящему изобретению, включают рак эндометрия, рак головы и шеи, глиобластома, злокачественные асциты и рак кроветворной системы.

Конкретные виды рака, которые можно лечить соединениями по настоящему изобретению, включают саркомы мягких тканей, рак кости, такой как остеосаркома, опухоли молочной железы, рак мочевого пузыря, синдром Ли-Фраумени, опухоли мозга, рабдомиосаркому, карциному коры надпочечников, рак прямой и ободочной кишки, немелкоклеточный рак легкого и острый миелогенный лейкоз (ОМЛ).

В конкретном варианте реализации изобретения, который относится к лечению рака, рак идентифицирован как p53 дикого типа (p53^{ДТ}). В другом конкретном варианте реализации изобретения рак идентифицирован как p53^{ДТ} и мутант CDKN2A. В другом аспекте настоящего изобретения предлагается диагностическое средство для определения пациентов, которым следует вводить соединение по настоящему изобретению. Например, образец раковых клеток пациента может быть отобран и проанализирован для определения статуса раковых клеток с учетом p53 и/или CDKN2A. В одном аспекте пациент с раком,

который представляет собой p53^{ΔT}, будет преимущественно отобран для лечения по сравнению с пациентами, у которых рак представляет собой мутант p53. В другом аспекте будет преимущественно отобран пациент с раком, который представляет собой p53^{ΔT} и содержит мутантный белок CDKN2A, по сравнению с пациентом, у которого отсутствуют эти характеристики. Еще в одном аспекте у пациента присутствует рак, который представляет собой p53^{ΔT} и проявляет амплификацию MDM2. Отбор раковых клеток для анализов хорошо известен специалистам из уровня техники. Термин "p53^{ΔT}" обозначает белок, кодируемый геномной последовательностью ДНК № NC_000017 версия 9 (7512445.7531642) (GenBank); белок, кодируемый последовательностью кДНК № NM_000546 (GenBank); или белок с последовательностью GenBank № NP_000537.3. Термин "мутант CDKN2A" обозначает белок CDKN2A, не принадлежащий к дикому типу. Термин "CDKN2A дикого типа" обозначает белок, кодируемый геномной последовательностью ДНК № 9:21957751-21984490 (Ensembl ID); белок, кодируемый последовательностью кДНК № NM_000077 (GenBank) или NM_058195 9GenBank); или белок с последовательностью GenBank № NP_000068 или NP_478102.

Кроме того, соединения по настоящему изобретению могут применяться для лечения гиперпролиферативных расстройств, таких как гиперплазия щитовидной железы (особенно болезнь Грейвса) и кист (таких как гиперваскуляризация стромы яичника, характерная для синдрома поликистоза яичников (синдром Штейна-Левенталя)).

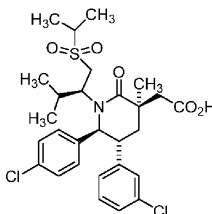
Соединения по настоящему изобретению в заявке и на фигурах могут быть обозначены следующим образом.

Соединение А AMG 232

1009089 или Соединение 3) представляет собой PD0325901.

Ингибиторы MDM2 по настоящему изобретению включают раскрытые в опубликованной заявке РСТ WO 2011/153509. Конкретное соединение, раскрытое в заявке, представляет собой AMG232 (пример 362), структура и название которого приведены ниже.

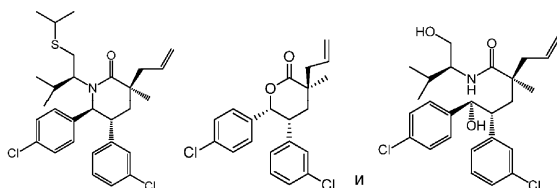
2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусная кислота



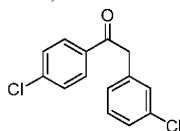
Конкретный синтез AMG232 описан в предварительной заявке на патент США № 61/833196, поданной 10 июня 2013 г.

Методики получения некоторых промежуточных соединений и исходных материалов.

Способ получения

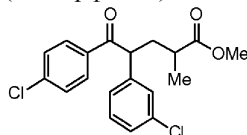


Стадия А. 2-(3-Хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)этанон



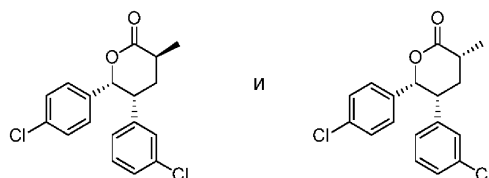
Натрия бис-(триметилсилил)амид (1 М в тетрагидрофуране, 117 мл) при -78°C медленно добавляли к раствору 2-(3-хлорфенил)уксусной кислоты (10 г, 58,6 ммоль) в тетрагидрофуране (58 мл) на протяжении 1 ч. После перемешивания при -78°C в течение 40 мин добавляли раствор метил-4-хлорбензоата (10 г, 58,6 ммоль) в тетрагидрофуране (35 мл) на протяжении 10 мин. Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 3 ч и затем давали нагреться до 25°C. После прохождения двух часов при 25°C реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором аммония хлорида, и большую часть тетрагидрофурана удаляли при сниженном давлении. Остаток экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Объединенные органические фракции промывали насыщенным раствором натрия хлорида, сушили над натрия сульфатом, фильтровали, и фильтрат упаривали. Продукт перекристаллизовывали из эфира/пентана с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆, δ пропромилле): 8,05 (м, 2H), 7,62 (м, 2H), 7,33 (м, 3H), 7,21 (ш д, J=7,3 Гц, 1H), 4,45 (с, 2H). МС (ИЭР)=265,1 [M+H]⁺.

Стадия В. Метил 4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноат



Метилметакрилат (12,65 мл, 119 ммоль) добавляли к раствору 2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)этанола (30 г, 113 ммоль) в тетрагидрофуране (283 мл). Затем добавляли калия трет-бутоксид (1,27 г, 11,3 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Растворитель удаляли под вакуумом и заменяли 300 мл этилацетата. Органическую фракцию промывали раствором натрия хлорида (50 мл), водой (3×50 мл) и раствором натрия хлорида (50 мл). Органическую фракцию сушили над магния сульфатом, фильтровали и упаривали под вакуумом с получением метил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноата в виде смеси диастереоизомеров приблизительно 1:1. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃, δ пропромилле): 7,87 (м, 2H), 7,38 (м, 2H), 7,27-7,14 (серия м, 4H), 4,61 (м, 1H), 3,69 (с, 1,5H), 3,60 (с, 1,5H), 2,45 (м, 1H), 2,34 (м, 1H), 2,10 (ддд, J=13,9, 9,4, 5,5 Гц, 0,5H), 1,96 (ддд, J=13,7, 9,0, 4,3 Гц, 0,5H), 1,22 (д, J=7,0 Гц, 1,5H), 1,16 (д, J=7,0, 1,5H). МС (ИЭР)=387,0 [M+23]⁺.

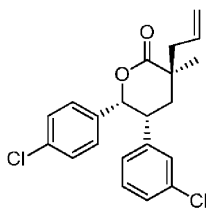
Стадия С. (3S,5R,6R)-5-(3-Хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-он и (3R,5R,6R)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-он



Метил 4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноат (40 г, 104,0 ммоль) растворяли в 200 мл безводного толуола и упаривали под вакуумом. Остаток перед использованием помещали под глубокий вакуум на 2 ч. Соединение делили на 2 партии×20 г и обрабатывали следующим образом: метил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноат (20 г, 52,0 ммоль) в безводном 2-пропаноле (104 мл) обрабатывали калия трет-бутоксидом (2,33 г, 20,8 ммоль) в стеклянной емкости для гидрогенизации объемом 250 мл. Добавляли RuCl₂ (S-xylbinap) (S-DAIPEN) (0,191 г, 0,156 ммоль, Strem Chemicals, Inc., Ньюберипорт, Массачусетс) в 3,8 мл толуола. Через 1,5 ч емкость герметизировали под давлением 50 фунт/кв. дюйм (344,7 кПа), пять раз продували водородом и перемешивали при комнатной температуре. По мере необходимости в реакционную емкость добавляли водород. Через 3 дня реакционные смеси объединяли и распределяли между 50%-ным насыщенным раствором аммония хлорида и этилацетатом. Водную фракцию экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фракции промывали раствором натрия хлорида, сушили над магния сульфатом, фильтровали и упаривали.

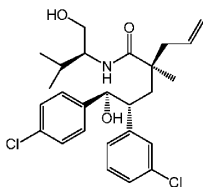
Неочищенный продукт (преимущественно (4R,5R)-изопропил 4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-5-гидрокси-2-метилпентаноат) растворяли в тетрагидрофуране (450 мл) и метаноле (150 мл). Добавляли лития гидроксид (1,4 М, 149 мл, 208 ммоль), и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Смесь упаривали под вакуумом, и остаток снова растворяли в этилацетате. При перемешивании добавляли 1 н. водную хлористоводородную кислоту до тех пор, пока pH водной фракции не составляла около 1. Фракции разделяли, органическую фракцию промывали раствором натрия хлорида, сушили над магния сульфатом, фильтровали и упаривали. Материал растворяли в 200 мл безводного толуола и обрабатывали пиридиния п-толуолсульфонатом (ППТС, 0,784 г, 3,12 ммоль). Реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в условиях Дина-Старка до тех пор, пока секокислота не вступала в реакцию полностью (около 2 ч). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и промывали насыщенным раствором натрия бикарбоната (50 мл) и раствором натрия хлорида (50 мл). Раствор сушили над натрия сульфатом, фильтровали и упаривали. Неочищенный материал очищали флеш-хроматографией на силикагеле (колонка 120 г; элюция 100% дихлорметаном). Указанные в заголовке соединения получали в виде твердого вещества белого цвета с соотношением энантиомеров около 94:6 и смесью метил-диастереомеров 7:3. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃, δ пропромилле): 7,22-6,98 (серия м, 5H), 6,91 (дт, J=7,4, 1,2 Гц, 0,3H), 6,81 (м, 2H), 6,73 (дт, J=7,6, 1,4 Гц, 0,7H), 5,76 (д, J=4,1 Гц, 0,3 H), 5,69 (д, J=4,7 Гц, 0,7H), 3,67 (дт, J=6,6, 4,3 Гц, 0,3H), 3,55 (тд, J=7,8, 4,7 Гц, 0,7 H), 2,96 (д квинтетов, J=13,5, 6,7 Гц, 0,7 H), 2,81 (м, 0,3 H), 2,56 (дт, J=14,3, 8,0 Гц, 0,7H), 2,32 (дт, J=13,69, 7,0 Гц, 0,3 H), 2,06 (ддд, J=13,7, 8,4, 4,1, 0,3 H), 1,85 (ддд, J=14,1, 12,5, 7,4, 0,7 H), 1,42 (д, J=7,0 Гц, 0,9 H), 1,41 (д, J=6,7 Гц, 2,1H). МС (ИЭР)=357,0 [M+23]⁺. [α]_D (22°C, c=1,0, CH₂Cl₂)=-31,9°; Tпл 98-99°C.

Стадия D. (3S,5R,6R)-3-Аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-он



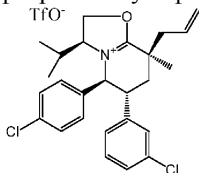
Раствор (3S,5R,6R)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-она, (3R,5S,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-она (4,5 г, 13,4 ммоль) и аллилбромаида (3,48 мл, 40,3 ммоль) в тетрагидрофуране (22 мл) при -35°C (баня с ацетонитрилом/сухим льдом) обрабатывали раствором лития бис-(триметилсилил)амида в тетрагидрофуране (1,0 М, 17,45 мл, 17,45 ммоль). Реакционной смеси давали нагреться до -5°C на протяжении 1 ч и затем гасили 50%-ным насыщенным аммония хлоридом. Реакционную смесь разбавляли 100 мл этилацетата, и фракции разделяли. Органическую фракцию промывали раствором натрия хлорида, сушили над магния сульфатом, фильтровали и упаривали под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета при стоянии под вакуумом. Хиральную СЖХ (92% CO_2 , 8% метанола (20 мМ аммиака), 5 мл/мин, колонка Phenomenex Lux-2 (Phenomenex, Торранс, Калифорния), 100 бар (10000 кПа), 40°C , 5-минутный способ) применяли для определения соотношения энантиомеров соединения, которое составило 96:4 (основной энантиомер - указанное в заголовке соединение, время удерживания=2,45 мин, 96%; минорный энантиомер - структура не показана, время удерживания=2,12 мин, 4%). Названное в заголовке соединение перекристаллизовывали, добавляя его к гептану (4,7 г суспендировали в 40 мл) при кипячении с обратным холодильником, при этом добавляли по каплям 1,5 мл толуола для солюбилизации. Раствор охлаждали до 0°C . Твердое вещество белого цвета отфильтровывали и промывали 20 мл холодного гептана с получением белого порошка. Хиральная СЖХ (92% CO_2 , 8% метанола, колонка Phenomenex Lux-2, такой же способ, как описано выше) показывала соотношение энантиомеров 99,2:0,8 (основной энантиомер - 2,45 мин, 99,2%; минорный энантиомер - 2,12 мин, 0,8%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3 , δ пропромилле): 7,24 (дд, $J=8,0$, 2,0, 1,2 Гц, 1H), 7,20-7,15 (серия м, 3H), 6,91 (т, $J=2,0$ Гц, 1H), 6,78 (ш д, $J=7,6$ Гц, 1H), 6,60 (м, 2H), 5,84 (ддт, $J=17,6$, 10,2, 7,4 Гц, 1H), 5,70 (д, $J=5,3$ Гц, 1H), 5,21-5,13 (серия м, 2H), 3,82 (дт, $J=11,7$, 4,5 Гц, 1H), 2,62 (ABX $J_{AB}=13,7$ Гц, $J_{AX}=7,6$ Гц, 1H), 2,53 (ABX, $J_{AB}=13,9$ Гц, $J_{BX}=7,2$ Гц, 1H), 1,99 (дд, $J=14,1$, 11,9 Гц, 1H), 1,92 (ддд, $J=13,9$, 3,9, 1,2 Гц, 1H). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 100 МГц, δ пропромилле): 175,9, 140,2, 134,5, 134,3, 134,0, 132,2, 129,8, 128,6, 128,0, 127,9, 127,8, 126,4, 119,9, 83,9, 44,5, 42,4, 40,7, 31,8, 26,1. МС (ИЭР)=375,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ИК=1730 cm^{-1} . $[\alpha]_D^{24}$ (24°C , $c=1,0$, CH_2Cl_2)=-191°. Тпл 111-114 $^{\circ}\text{C}$.

Стадия Е. (S)-2-((2R, 3R)-2-(3-Хлорфенил)-3-(4-хлорфенил)-3-гидроксипропил)-N-((S)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил)-2-метилпент-4-енамид



(3S,5R,6R)-3-Аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-он (113 г, 300,0 ммоль) объединяли с (S)-2-амино-3-метилбутан-1-олом (93 г, 900,0 ммоль), и суспензию нагревали до 100°C , выдерживая при этой температуре в течение 5 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли этилацетатом (1000 мл) и промывали 1 н. хлористоводородной кислотой (2X), водой и раствором натрия хлорида. Органическую фракцию сушили над магния сульфатом и упаривали под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

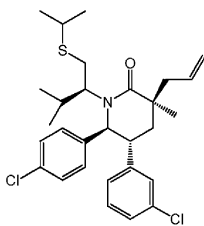
Стадия F. (3S,5S,6R,8S)-8-Аллил-6-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-3-изопропил-8-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидрооксазо[3,2-а]пиридин-4-ия трифторметансульфонат



Трифторметансульфоновый ангидрид (57 мл, 339 ммоль) на протяжении 60 мин добавляли по каплям с помощью воронки для добавления к раствору (S)-2-((2R,3R)-2-(3-хлорфенил)-3-(4-хлорфенил)-3-гидроксипропил)-N-((S)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил)-2-метилпент-4-енамида (73,7 г, 154 ммоль) и 2,6-диметилпиридина (78 мл, 678 ммоль) в дихлорметане (700 мл) при -50°C . Реакционную смесь перемешивали при -50°C еще в течение часа и упаривали под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения в виде красноватого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без до-

полнительной очистки.

Стадия G. (3S,5R,6S)-3-Аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилтио)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-он

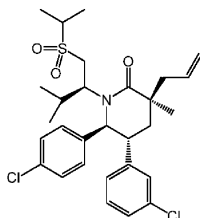


Навеску (3S,5S,6R,8S)-8-аллил-6-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-3-изопропил-8-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидрооксазоло[3,2-а]пиридин-4-ия трифторметансульфоната (736 мг, 1,242 ммоль) переносили в высушенную в печи колбу с грушевидным дном емкостью 50 мл и растворяли в 20 мл сухого толуола. Тoluол удаляли под вакуумом для удаления из твердого вещества следов воды. Процесс повторяли дважды, и полученный остаток сушили под глубоким вакуумом.

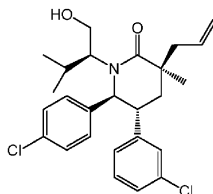
Раствор натрия изопропилсульфида готовили добавлением калия 2-метилпропан-2-олята (3,0 мл, 3,00 ммоль, 1 М раствор в тетрагидрофуране) к раствору пропан-2-тиола (331 мг, 4,35 ммоль) в 8 мл диметилформамида, подготовленного в атмосфере азота, и охлаждали до 0°C. Раствор сульфида перемешивали при комнатной температуре в течение пяти минут и охлаждали до 0°C. Сухой (3S,5S,6R,8S)-8-аллил-6-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-3-изопропил-8-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидрооксазоло[3,2-а]пиридин-4-ия трифторметансульфонат (736 мг, 1,242 ммоль) растворяли в диметилформамиде (всего 8 мл) и переносили с помощью шприца (в 3 приема) к раствору сульфида на протяжении 5 мин. Через 5 мин ледяную баню удаляли, и раствору бледно-оранжевого цвета давали нагреться до комнатной температуры.

После перемешивания в течение ночи смесь распределяли между этилацетатом и насыщенным раствором аммония хлорида. Водную фракцию насыщали натрия хлоридом и трижды осуществляли обратную экстракцию. Объединенные органические фракции дважды промывали насыщенным раствором натрия бикарбоната, дважды раствором натрия хлорида, сушили над натрия сульфатом, фильтровали и упаривали под вакуумом с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (колонка 80 г, элюация с градиентом 0-50% этилацетата в гексане).

Способ получения

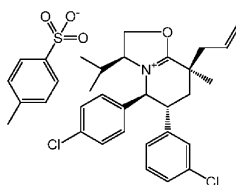


Стадия A. (3S,5R,6S)-3-Аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-он



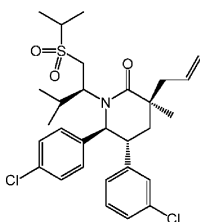
Лития гидроксида гидрат (64,6 г, 1540 ммоль) на протяжении 5 мин добавляли порциями к раствору (3S,5S,6R,8S)-8-аллил-6-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-3-изопропил-8-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидрооксазоло[3,2-а]пиридин-4-ия трифторметансульфоната (стадия F выше), растворенному в тетрагидрофуране (500 мл) и воде (300 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и упаривали под вакуумом. Остаток растворяли в этилацетате (около 1,3 л), и фракции разделяли. Органическую фракцию промывали 1 н. хлористоводородной кислотой (охлажденной на льду и содержащей достаточно хлористоводородной кислоты для протонирования и удаления остаточного 2,6-диметилпиридина (300 мл×2)), водой и раствором натрия хлорида. Растворитель удаляли под вакуумом с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (колонка 1500 г, элюация с градиентом 0-50% этилацетата в гексане). Продукт также кристаллизовали из циклогексана.

Стадия B. (3S,5S,6R,8S)-8-Аллил-6-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-3-изопропил-8-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидрооксазоло[3,2-а]пиридин-4-ия 4-метилбензолсульфонат



(3S,5R,6S)-3-Аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-он (49,77 г, 98 ммоль) переносили в колбу емкостью 1000 мл, содержащую 4-метилбензолсульфоновой кислоты гидрат (19,27 г, 101 ммоль) и оборудованную мешалкой. Реагенты суспендировали в толуоле (230 мл). На колбу устанавливали ловушку Дина-Старка и обратный холодильник, и смесь кипятили с обратным холодильником при перемешивании на предварительно нагретой бане. Через 1 ч растворитель осторожно удаляли под вакуумом, и полученный остаток дополнительно сушили под глубоким вакуумом. Названное в заголовке соединение переносили на следующую стадию без очистки.

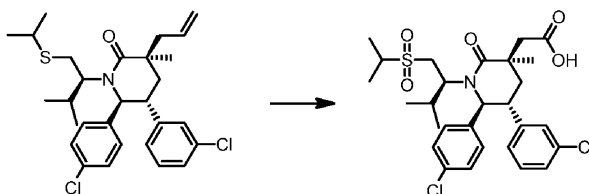
Стадия С. (3S,5R,6S)-3-Аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-он



(3S,5S,6R,8S)-8-Аллил-6-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-3-изопропил-8-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидрооксазола[3,2-а]пиридин-4-ия 4-метилбензолсульфонат, сухой калия карбонат в порошке (26,9 г, 195 ммоль) и пропан-2-тиол (14 мл, 150 ммоль) объединяли с 200 мл свежеперегнанного диметилформамида. Смесь нагревали в атмосфере аргона при 50°C. Приблизительно через 21 ч раствор метахлорпербензойной кислоты (68,2 г, чистота 77 мас.% в 100 мл диметилформамида) переносили в капельную воронку и быстро добавляли при перемешивании к реакционной смеси, держа колбу погруженной в ледяную баню. Через 5 мин полученному раствору желтого цвета давали нагреться до комнатной температуры. Через 10 мин добавляли дополнительное количество метахлорпербензойной кислоты (12 г, 77 мас.%) в виде твердого вещества, и смесь перемешивали при комнатной температуре. По окончании смесь выливали в этилацетат и промывали 1 М натрия гидроксидом (500 мл), который выливали на лед. Трижды осуществляли обратную экстракцию водной фракции и промывали дополнительным количеством 1 М NaOH ((500 мл, также выливали на лед). Водную фракцию промывали один раз этилацетатом, и органические фракции объединяли. Натрия тиосульфат (1 М в воде, 250 мл) добавляли к органическим фракциям в большой колбе Эрленмейера, и смесь перемешивали в течение 20 мин. Органическую фракцию снова промывали натрия тиосульфатом (1 М в воде, 250 мл) и смеси давали постоять на протяжении уик-энда. Органические фракции упаривали до около 500 мл, затем последовательно промывали 10%-ной водной лимонной кислотой, 1 М натрия гидроксидом и раствором натрия хлорида. Органические фракции сушили над натрия сульфатом, фильтровали и упаривали с получением неочищенного продукта. Остаток очищали флеш-колоночной хроматографией (колонокка с силикагелем 1,5 кг, элюация с градиентом 0-50% этилацетата в гексане) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

Синтез соединения AMG232 (альтернативный способ 1).

2-((3R,5R,6S)-5-(3-Хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусная кислота



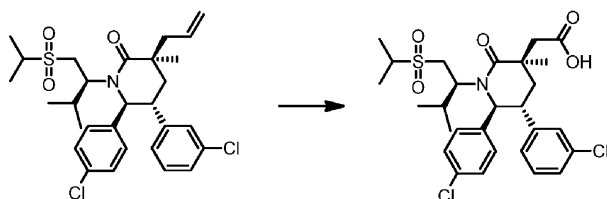
Рутения (III) хлорида тригидрат (22 мг, 0,084 ммоль) и натрия периодат (1,12 г, 5,24 ммоль) добавляли к смеси (3S,5R,6S)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилтио)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-она (390 мг, 0,752 ммоль) в ацетонитриле (4,0 мл), углерода тетрагидриде (4,0 мл) и воде (6,0 мл). Полученную смесь темно-коричневого цвета энергично перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь фильтровали сквозь слой диатомовой земли, промывая этилацетатом. Фильтрат распределяли между 2 М HCl и этилацетатом. Дважды осуществляли обратную экстракцию водной фракции этилацетатом, и объединенные органические фракции промывали

раствором натрия хлорида, сушили над натрия сульфатом, фильтровали и упаривали под вакуумом с получением остатка, который очищали флеш-хроматографией (колонка с силикагелем 40 г, элюация с градиентом 0-15% изопропанола в гексане). Фракции, содержащие целевой продукт, объединяли, растворитель отгоняли, остаток повторно растворяли в минимальном количестве ACN/воды, замораживали и лиофилизировали с получением белого порошка.

Далее, смесь (3S,5R,6S)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилтио)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-она (388 мг, 0,748 ммоль), рутения (III) хлорида тригидрата (19,56 мг, 0,075 ммоль) и натрия перйодата (1,15 г, 5,38 ммоль) в ацетонитриле (4 мл), углерода тетра-хлориде (4,00 мл) и воде (4,00 мл) энергично перемешивали при комнатной температуре. Через 4 ч смесь фильтровали сквозь слой диатомовой земли, и фильтрат распределяли между этилацетатом и 2 М HCl. Дважды осуществляли экстракцию водной фракции этилацетатом, объединенные органические фракции промывали раствором натрия хлорида, сушили над натрия сульфатом, фильтровали и упаривали под вакуумом с получением остатка. Остаток очищали флеш-хроматографией (колонка с силикагелем 40 г, элюация с градиентом 0-15% изопропанола в гексане). Фракции, содержащие продукт, упаривали и объединяли с твердым веществом, полученным в ходе предыдущего эксперимента. Объединенный материал растворяли в минимальном количестве ацетонитрила/воды, замораживали и лиофилизировали на протяжении ночи с получением твердого вещества белого цвета.

Синтез AMG232 (альтернативный способ 2).

2-((3R,5R,6S)-5-(3-Хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусная кислота



Натрия перйодат (2,85 г, 13,32 ммоль) и рутения (III) хлорида тригидрат (0,049 г, 0,189 ммоль) добавляли к смеси (3S,5R,6S)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-она (1,73 г, 3,14 ммоль) в ацетонитриле (18 мл), углерода тетра-хлориде (18 мл) и воды (27 мл). Смесь энергично перемешивали при комнатной температуре в течение 25 ч. Смесь разбавляли 2 М HCl, фильтровали сквозь слой диатомовой земли и промывали этилацетатом. Органическую фракцию отделяли, промывали раствором натрия хлорида, сушили над натрия сульфатом, фильтровали и упаривали под вакуумом. Материал дважды очищали флеш-хроматографией (120 г силикагеля, элюация с градиентом 0-20% изопропанола в гексане; колонка 120 г, элюация с градиентом 0-15% изопропанола в гексане). Затем еще раз очищали флеш-хроматографией (220 г силикагеля; элюация с градиентом 0-20% изопропанола в гексане, 45 мин) с применением способа, отличающегося тем, что наиболее чистые фракции упаривали и отставляли, а смешанные фракции объединяли и снова обрабатывали хроматографией.

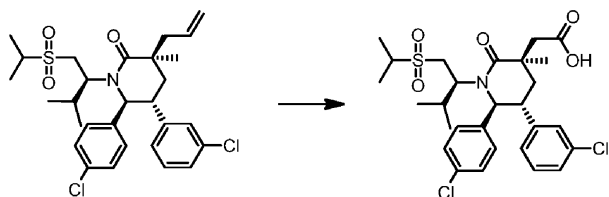
Далее, смесь (3S,5R,6S)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-она (4,1 г, 7,45 ммоль), рутения (III) хлорида тригидрата (0,120 г, 0,459 ммоль) и натрия перйодата (6,73 г, 31,5 ммоль) в ацетонитриле (40 мл), углерода тетрахлориде (40 мл) и воде (60 мл) энергично перемешивали при комнатной температуре в течение 23 ч. Далее реакционную смесь разбавляли 2 М водной HCl и фильтровали сквозь слой диатомовой земли, промывая большим количеством этилацетата. Большую часть органических растворителей удаляли под вакуумом. Неочищенный продукт экстрагировали этилацетатом, промывали раствором натрия хлорида, сушили над натрия сульфатом, фильтровали и упаривали с получением остатка, который дважды очищали флеш-хроматографией (колонка с силикагелем 330 г, элюация с градиентом 0-20% изопропанола в гексане; колонка с силикагелем 330 г, элюация с градиентом 0-20% изопропанола в гексане) с получением практически белой пены. Материал еще трижды очищали флеш-хроматографией дополнительно (колонка с силикагелем 220 г; элюация с градиентом 0-20% изопропанола в гексане, 45 мин) с применением способа, отличающегося тем, что наиболее чистые фракции упаривали и отставляли, а смешанные фракции объединяли и снова обрабатывали хроматографией.

Смешанные фракции из обоих экспериментов объединяли, еще дважды очищали флеш-хроматографией (колонка с силикагелем 220 г; элюация с градиентом 0-20% изопропанола в гексане, 45 мин) и чистые фракции снова отставляли.

Все чистые фракции объединяли, упаривали под вакуумом, растворяли в минимальном количестве ацетонитрила/воды и лиофилизировали.

Синтез AMG232 (альтернативный способ 3).

2-((3R,5R,6S)-5-(3-Хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусная кислота



Навеску (3*S*,5*R*,6*S*)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((*S*)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-она (5,05 г, 9,17 ммоль) переносили в круглодонную колбу емкостью 500 мл, содержащую большую мешалку и 2,04 г натрия периодата (2,04 г). Смесь разбавляли тетрагидрофураном (52 мл), ацетонитрилом, (52 мл) и водой (78 мл). Колбу погружали в водяную баню комнатной температуры, и внутреннюю температуру контролировали с помощью цифровой термопары.

Рутения хлорида гидрат (около 50 мг) добавляли в виде одной порции. Внутренняя температура повышалась до 22°C, затем в баню добавляли лед для охлаждения смеси. Через 3 мин добавляли дополнительное количество рутения хлорида гидрата (25 мг). После перемешивания общей продолжительностью 30 мин медленно добавляли три порции натрия периодата (2,08, 2,07 и 2,08 г) с промежутками 15 мин. Температуру поддерживали ниже 19°C, и если внутренняя температура начинала повышаться, в баню быстро добавляли лед. Смесь перемешивали при комнатной температуре на протяжении ночи. Смесь фильтровали сквозь слой диатомовой земли, и остаток на фильтре промывали большим количеством этилацетата. Фильтрат упаривали под вакуумом и распределяли между 2 М HCl (100 мл) и этилацетатом (200 мл).

Два цикла флеш-колоночной хроматографии (330 г силикагеля, затем 220 г силикагеля, элюация с градиентом 0-20% изопропанола в гексане) давали указанное в заголовке соединение. Порцию полученного материала лиофилизировали из ацетонитрила и воды. Менее чистые фракции очищали двумя дополнительными циклами флеш-колоночной хроматографии (колонки с силикагелем 220 г, затем 330 г, элюация с градиентом 0-20% изопропанола в гексане). Самые чистые фракции из обоих циклов объединяли, упаривали под вакуумом и лиофилизировали из ацетонитрила и воды с получением указанного в заголовке соединения.

Дополнительно, предпочтительным является соединение формулы Па.

Соединения, которые можно применять в комбинации с ингибиторами MDM2 в комбинациях по настоящему изобретению, включают соединения платины, такие как нуклеозидные аналоги, такие как цитарабин и децитабин.

Дополнительно, соединение по настоящему изобретению может применяться в комбинации с радиотерапией, гормональной терапией, хирургическим вмешательством и иммунотерапией, которые хорошо известны специалистам из уровня техники.

Поскольку один из аспектов настоящего изобретения охватывает лечение заболевания/состояний комбинацией фармацевтически активных соединений, которые могут вводиться по отдельности, изобретение дополнительно относится к сочетанию отдельных фармацевтических композиций в форме набора. Набор содержит две отдельных фармацевтических композиции: соединение по настоящему изобретению и второе фармацевтическое соединение. Набор содержит емкость, содержащую две отдельных композиции, такую как бутылка с перегородкой или упаковка из фольги с перегородкой. Дополнительные примеры емкостей включают шприцы, коробки и пакеты. Обычно набор содержит указания по применению отдельных компонентов. Форма набора является особенно предпочтительной в случаях, когда отдельные компоненты предпочтительно вводить в различных лекарственных формах (например, пероральной и парентеральной), вводить с различными промежутками или в случаях, когда лечащий врач или ветеринар считает желательным титрование дозы отдельных компонентов комбинации.

Примером такого набора является так называемая блистерная упаковка. Блистерные упаковки хорошо известны в упаковочной промышленности и широко применяются для упаковки фармацевтических дозированных лекарственных форм (таблетки, капсулы и т.п.). Блистерные упаковки в основном состоят из листа относительно жесткого материала, покрытого фольгой, предпочтительно из прозрачного пластического материала. В ходе процесса упаковки в пластиковой фольге формируются углубления. Углубления соответствуют размеру и форме таблеток или капсул, подлежащих упаковке. Далее, таблетки или капсулы помещают в углубления, и листом относительно жесткого материала герметизируют пластиковую фольгу со стороны, противоположной направлению формирования углублений. В результате таблетки или капсулы оказываются герметично запечатанными в углублениях между пластиковой фольгой и листом. Предпочтительно прочность листа является такой, что таблетки или капсулы могут быть извлечены из блистерной упаковки вручную при приложении давления на углубления с образованием отверстия в листе против углубления. Далее таблетка или капсула извлекается сквозь указанное отверстие.

Может быть желательным обеспечить средство напоминания на наборе, например, в форме номеров после таблеток или капсул, где номера будут соответствовать дням схемы лечения, в которые следует принимать указанные таблетки или капсулы, обозначенные таким образом. Другой пример такого

средства напоминания представляет собой календарь, напечатанный на карточке, например, следующим образом "Первая Неделя, Понедельник, Вторник, ... и т.д.... Вторая Неделя, Понедельник, Вторник,... " и т.д. Другие вариации средств напоминания будут очевидными. "Суточная доза" может представлять собой одну таблетку или капсулу или несколько таблеток или капсул для приема в конкретный день. Кроме того, суточная доза соединения по настоящему изобретению может состоять из одной таблетки или капсулы, тогда как суточная доза второго соединения может состоять из нескольких таблеток или капсул, и наоборот. Это должно отображаться в средстве напоминания и способствовать правильному введению активных агентов.

В другом конкретном варианте реализации изобретения предлагается диспенсер, сконструированный для отпуска суточных доз во время и в порядке их предусмотренного применения. Предпочтительно диспенсер оборудован средством напоминания, чтобы дополнительно облегчить соблюдение схемы пациентом. Примером такого средства напоминания является механический счетчик, который показывает количество отпущенных суточных доз. Другой пример такого средства напоминания представляет собой питающееся от батареи средство напоминания в форме микрочипа, соединенной с жидкокристаллическим экраном или звуковым сигналом напоминания, который, например, считывает дату отпуска предыдущей суточной дозы и/или напоминает о времени приема следующей дозы.

Соединения по настоящему изобретению и другие фармацевтически активные соединения, при желании, можно вводить пациенту перорально, ректально, парентерально (например, внутривенно, внутримышечно или подкожно), в мочевого пузырь, интравагинально, интраперитонеально, интравезикулярно, местно (например, порошки, мази или капли) или в виде буккального или назального спрея. Включены все способы, которые применяются специалистами в данной области для введения фармацевтически активного агента.

Композиции, пригодные для парентеральной инъекции, могут включать физиологически приемлемые, стерильные водные или неводные растворы, дисперсии, суспензии или эмульсии и стерильные порошки для разведения с получением стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Примеры подходящих водных и неводных носителей, разбавителей, растворителей или носителей включают воду, этанол, полиолы (пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, глицерин и т. п.), подходящие их смеси, растительные масла (такие как оливковое масло) и инъекционные органические эфиры, такие как этилолеат. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, с помощью покрытия, такого как лецитин, сохраняя требуемый размер частиц в случае дисперсий, и с помощью сурфактантов.

Указанные композиции дополнительно могут содержать адьюванты, такие как консерванты, увлажняющие, эмульгирующие и диспергирующие агенты. Микробное загрязнение может быть предупреждено добавлением различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например парабенов, хлорбутанола, фенола, сорбиновой кислоты и т. п. Кроме того, может быть желательным введение агентов для поддержания изотоничности, например сахаров, натрия хлорида и т.п. Пролонгированную абсорбцию инъекционных фармацевтических композиций можно обеспечить применением агентов, замедляющих абсорбцию, например алюминия моностеарата и желатина.

Твердые лекарственные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, порошки и гранулы. В таких твердых лекарственных формах активное соединение предварительно смешано по меньшей мере с одним традиционным инертным вспомогательным веществом (или носителем), таким как натрия цитрат или дикальция фосфат, или (a) наполнителями или разбавителями, такими как различные виды крахмала, лактоза, сахароза, маннит и кремниевая кислота; (b) связующими агентами, такими как карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и акация; (c) увлажняющими агентами, такими как глицерин; (d) дезинтегрантами, такими как агар-агар, кальция карбонат, картофельный крахмал или крахмал тапиоки, альгиновая кислота, некоторые сложные силикаты и натрия карбонат; (e) добавками-замедлителями для растворов, такими как парафин; (f) ускорителями всасывания, такими как соединения четвертичного аммония; (g) увлажнителями, такими как цетиловый спирт и глицерин моностеарат; (h) адсорбентами, такими как каолин и бентонит; и (i) смазывающими агентами, такими как тальк, кальция стеарат, магния стеарат, твердые полиэтиленгликоли, натрия лаурилсульфат или их смеси. В случае капсул и таблеток лекарственная форма может дополнительно содержать буферизующие агенты.

Дополнительно, твердые композиции подобного типа могут применяться в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с применением таких вспомогательных веществ, как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и т.п.

Твердые лекарственные формы, такие как таблетки, драже, капсулы, пилюли и гранулы, могут быть приготовлены с покрытием и оболочками, такими как кишечнорастворимые покрытие и другие, хорошо известные из уровня техники. Кроме того, они могут содержать замутнители, а также представлять собой такие композиции, которые высвобождают активное соединение или соединения в определенной части кишечного тракта замедленным способом. Примерами помещенных в матрицу композиций, которые можно применять, являются полимерные субстанции и воски. Дополнительно, активное соединение может находиться в микроинкапсулированной форме, если это уместно, с одним или более из вышеупомянутых вспомогательных веществ.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к активным соединениям жидкая лекарственная форма может содержать инертные разбавители, обычно применяемые в уровне техники, такие как вода или другие растворители, солубилизирующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла, в частности хлопковое масло, арахисовое масло, кукурузное масло, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли и жирнокислотные эфиры сорбитана или смеси указанных веществ и т.п.

Помимо таких инертных разбавителей, композиция может дополнительно содержать вспомогательные вещества, такие увлажняющие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подсластители, вкусовые добавки и ароматизаторы. Суспензии в дополнение к активному соединению могут содержать суспендирующие агенты, такие как этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбит и эфиры сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, алюминия метагидроксид, бентонит, агар-агар и трагакант или смеси указанных веществ и т.п.

Композиции для ректального введения предпочтительно представляют собой суппозитории, которые могут быть получены смешиванием соединения по настоящему изобретению с подходящими нераздражающими вспомогательными веществами или носителями, такими как масло какао, полиэтиленгликоль или суппозиторный воск, которые являются твердыми при обычной комнатной температуре, но жидкими при температуре тела и, таким образом, плавятся в прямой кишке или полости влагалища и высвобождают активный компонент.

Лекарственные формы для местного применения соединения по настоящему изобретению включают мази, порошки, спреи и ингаляционные формы. Активное соединение или соединения предварительно смешивают в стерильных условиях с физиологически приемлемым носителем и любыми консервантами, буферными веществами или пропеллентами, которые могут потребоваться. Глазные препараты, глазные мази, порошки и растворы также включены в настоящее изобретение.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить пациенту с уровнем доз, находящимся в диапазоне от около 0,1 до около 3000 мг в сутки. Для нормального взрослого человека с массой тела около 70 кг обычно будут достаточными дозы в диапазоне от около 0,01 до около 100 мг на килограмм массы тела. Конкретные дозы и диапазон доз, которые можно применять, зависят от множества факторов, в том числе потребностей пациента, тяжести подлежащего лечению состояния или заболевания и фармакологической активности вводимого соединения. Конкретные дозы соединения по настоящему изобретению представляют собой дозы, одобренные Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA), если соединение зарегистрировано.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить в виде фармацевтически приемлемых солей, эфиров, амидов или пролекарств. Термин "соли" обозначает неорганические и органические соли соединений по настоящему изобретению. Соли могут быть получены *in situ* в процессе окончательного выделения и очистки соединения или отдельным введением очищенного соединения, в форме свободного основания или кислоты, в реакцию с подходящим органическим или неорганическим основанием или кислотой и выделения полученной таким образом соли. Характерные соли включают соли гидробромид, гидрохлорид, сульфат, бисульфат, нитрат, ацетат, оксалат, пальмитат, стеарат, лаурат, борат, бензоат, лактат, фосфат, тозилат, цитрат, малеат, фумарат, сукцинат, тартрат, нафтиллат, мезилат, глюкогептонат, лактобионат и лаурилсульфонат и т.п. Соли могут содержать катионы щелочных и щелочноземельных металлов, таких как натрий, литий, калий, кальций, магний и т.п., а также нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и аминные, в том числе, но не ограничиваясь этим, аммоний, тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний, метиламин, диметиламин, триметиламин, триэтиламин, этиламин и т.п. (см., например, S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," J Pharm Sci, 66: 1-19 (1977)).

Примеры фармацевтически приемлемых эфиров соединения по настоящему изобретению включают C₁-C₈-алкиловые эфиры. Дополнительно, приемлемые эфиры включают C₅-C₇-циклоалкиловые эфиры, а также арилкалиловые эфиры, такие как бензиловый. Обычно применяют C₁-C₄-алкиловые эфиры. Сложные эфиры соединений по настоящему изобретению могут быть получены согласно способам, хорошо известным из уровня техники.

Примеры фармацевтически приемлемых амидов соединения по настоящему изобретению включают амиды, полученные с аммиаком, первичными C₁-C₈-алкиламинами и вторичными C₁-C₈-диалкиламинами. В случае вторичных аминов амин дополнительно может иметь форму 5- или 6-членной гетероциклоалкильной группы, содержащей по меньшей мере один атом азота. Обычно применяют амиды, полученные с аммиаком, C₁-C₃-первичными алкиламинами и вторичными C₁-C₂-диалкиламинами. Амиды соединения по настоящему изобретению могут быть получены согласно способам, хорошо известным специалистам из уровня техники.

Термин "пролекарство" обозначает соединения, которые превращаются *in vivo* с образованием соединения по настоящему изобретению. Превращение может осуществляться по различным механизмам, например, посредством гидролиза в крови. Обсуждение применения пролекарств приведено в T. Higuchi

and W. Stella, "Prodrugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 A.C.S. Symposium Series, и в *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

Для иллюстрации, поскольку соединение по изобретению содержит функциональную группу карбоновой кислоты, пролекарство может включать эфир, образованный путем замены атома водорода кислотной группы такой группой, как (C₁-C₈-алкил, (C₂-C₁₂)алканоилоксиметил, 1-(алканоилокси)этил, содержащий от 4 до 9 атомов углерода, 1-метил-1-(алканоилокси)этил, содержащий от 5 до 10 атомов углерода, алкоксикарбонилоксиметил, содержащий от 3 до 6 атомов углерода, 1-(алкоксикарбонилокси)этил, содержащий от 4 до 7 атомов углерода, 1-метил-1-(алкоксикарбонилокси)этил, содержащий от 5 до 8 атомов углерода, N-(алкоксикарбонил)аминометил, содержащий от 3 до 9 атомов углерода, 1-(N-(алкоксикарбонил)аминометил, содержащий от 4 до 10 атомов углерода, 3-фталидил, 4-кртонолактонил, гамма-бутиролактон-4-ил, ди-N,N-(C₁-C₂)алкиламино(C₂-C₃)алкил (такой как β-диметиламиноэтил), карбамоил-(C₁-C₂)алкил, N,N-ди(C₁-C₂)алкилкарбамоил-(C₁-C₂)алкил и пиперидин-, пирролидино- или морфолино(C_{2,3})алкил.

Соединения по настоящему изобретению могут содержать асимметрические или хиральные центры и, таким образом, существовать в различных стереоизомерных формах. Предусматривается, что все стереоизомерные формы соединения, а также их смеси, в том числе рацемические смеси, образуют часть настоящего изобретения. Кроме того, настоящее изобретение охватывает все геометрические изомеры и изомеры положения. Например, если соединение содержит двойную связь, включены цис-и трансформы (обозначенные как Z и E соответственно), а также смеси.

Смесь стереоизомеров, например диастереомерные смеси, может быть разделена на индивидуальные стереохимические компоненты на основании их физико-химических отличий известными способами, такими как хроматография и/или фракционная кристаллизация. Энантиомеры могут быть также разделены путем превращения энантиомерной смеси в диастереомерную смесь введением в реакцию с применением соответствующего оптически активного соединения (например, спирта), разделения диастереомеров и превращения (например, гидролизом) индивидуальных диастереомеров в соответствующие чистые энантиомеры. Кроме того, некоторые соединения могут представлять собой атропизомеры (например, замещенные биарилы).

Соединения по настоящему изобретению могут существовать в несольватированной, а также сольватированной формах с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода (гидрат), этанол и т.п. Настоящее изобретение включает и охватывает как сольватированные, так и несольватированные формы.

Кроме того, соединения по настоящему изобретению могут существовать в различных таутомерных формах. Все таутомеры соединения по настоящему изобретению включены. Например, все таутомерные формы тетразольного фрагмента включены в настоящее изобретение. Кроме того, например, все кетонольные или иминоенаминные формы соединений включены в настоящее изобретение.

Специалистам в данной области будет понятно, что названия и структуры соединений, содержащиеся в данном описании, могут основываться на конкретном таутомере соединения. Хотя может использоваться название или структура только конкретного таутомера, подразумевается, что все таутомеры охватываются настоящим изобретением, если не заявлено иное.

Кроме того, предусматривается, что настоящее изобретение включает соединения, синтезированные *in vitro* с применением лабораторных методик, например, хорошо известных химикам, которые осуществляют синтез; или синтезированные с применением *in vivo* методик, например, посредством метаболизма, ферментации, переваривания и т.п. Дополнительно предусматривается, что соединения по настоящему изобретению могут быть синтезированы с применением комбинации методик *in vitro* и *in vivo*.

Настоящее изобретение также включает меченные изотопами соединения, идентичные приведенным в данном описании, за исключением того факта, что один или более атомов заменены атомом с атомной массой или массовым числом, отличными от атомной массы или массового числа, обычно найденных в природе. Примеры изотопов, которые могут быть введены в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁶O, ¹⁷O, ¹⁸O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F и ³⁶Cl. В одном аспекте настоящее изобретение относится к соединениям, где один или более атомов водорода заменены атомами дейтерия (²H).

Соединения по настоящему изобретению, которые содержат вышеупомянутые изотопы и/или другие изотопы других атомов, находятся в пределах настоящего изобретения. Включены некоторые меченные изотопами соединения по настоящему изобретению, например соединения с радиоактивными изотопами, такими как ³H и ¹⁴C, пригодны для анализов распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях. Содержащие тритий, т.е. ³H, и углерод-14, т.е. ¹⁴C, изотопы особенно предпочтительны вследствие простоты их получения и обнаружения. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, т.е. ²H, может обеспечивать некоторые терапевтические преимущества в результате более высокой метаболической устойчивости, например увеличение периода полувыведения *in vivo* или снижение необходимых доз, и, таким образом, может быть предпочтительным в некоторых ситуациях. Меченные изотопами соединения по настоящему изобретению в основном могут быть получены путем замены немеченного изотопами реагента легко доступным меченым изотопами реагентом.

Соединения по настоящему изобретению могут существовать в различных твердых состояниях, включая кристаллические состояния и аморфное состояние. Различные кристаллические состояния, также называемые полиморфами, и аморфные состояния представленных соединений являются частью настоящего изобретения.

При синтезе соединений по настоящему изобретению может быть желательным использование некоторых уходящих групп. Термин "уходящие группы" ("LG") в общем обозначает группы, которые могут быть вытеснены нуклеофилом. Такие уходящие группы известны из уровня техники. Примеры уходящих групп включают, но не ограничиваясь этим, галогениды (например, I, Br, F, Cl), сульфонаты (например, мезилат, тозилат), сульфиды (например, SCH₃), N-гидроксисукцинимид, N-гидроксисбензотриазол и т.п. Примеры нуклеофилов включают, но не ограничиваясь этим, амины, тиолы, спирты, реактивы Гриньяра, анионные формы (например, алкоксиды, амиды, карбанионы) и т.п.

Все патенты, патентные заявки и другие документы, процитированные в данном описании, таким образом включены в полном объеме посредством ссылки.

Представленные ниже примеры иллюстрируют конкретные варианты реализации настоящего изобретения. Указанные примеры предназначены для целей иллюстрации и никоим образом не ограничивают объема формулы изобретения.

Следующие сокращения могут использоваться в данном описании:

932 или 2705932	AMG 232
АДД	аддитивность
ОМЛ	острый миелогенный лейкоз
АТФ	аденозинтрифосфат
Циспл	цисплатин
ХМЛ	хронический миелогенный лейкоз
СРТ-11	иринотекан
ЛВК	лекарственное средство в капсулах
ДКВКЛ	диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома
Докс	доксорубин
ГБМ	глиобластома
ГПВЦД	гидроксипропил-бета-циклодекстрин
ГПМЦ	гидроксипропилметилцеллюлоза
МДС	миелодиспластический синдром
мг/кг	миллиграммы на килограмм
НХЛ	неходжкинская лимфома
ЯМР	ядерный магнитный резонанс
НМКРЛ	немелкоклеточный рак легкого
PBS	фосфатно-солевой буфер
РСТ	договор о патентной кооперации
РТК	рецепторная тирозинкиназа
ПРО	подавление роста опухоли
Tx начинается	лечение начинается

Реактивы для клеточных культур

Tween® 80	полиоксиэтилен (20) сорбитан моноолеат (Uniqema Americas, Inc., Уилмингтон, Делавэр)
Pluronic® F68	полиоксиэтилен-полиоксипропилен блок-сополимер (BASF Corp., Маунт-Олив, Северная Каролина)

Примеры

Клеточные исследования комбинаций *in vitro*.

Клеточные линии были приобретены в Американской Коллекции Типовых Культур (ATCC), Немецкой Коллекции Микроорганизмов и Клеточных культур (DSMZ) и Японской Коллекции Исследовательских Биоресурсов (JCRB). Каждую линию выращивали в рекомендованной питательной среде. Клеточная линия A375sq2 была получена в соответствии с методикой, описанной в J. Med. Chem. 2009, 52, 6189-6192, сноска 13.

Клетки высевали на 384-луночные планшеты для культуры клеток с начальной плотностью, варьирующей от 300 до 7500 клеток на лунку, в объеме 30 мкл в зависимости от скорости роста клеточной линии, таким образом, чтобы плотность прикрепленных клеток оставалась на субконфлюэнтном уровне к концу 72-часового периода обработки. С целью определения подходящего диапазона концентрации для последующего тестирования в экспериментах с комбинацией через 16 ч после высевания к клеткам до-

бавляли 10 мкл 19-точечного, двукратного серийного титрования соединения, начиная с высокой конечной концентрации 20 мкМ, а также 0,25% диметилсульфоксида (ДМСО) в качестве контроля. Люминесцентный анализ жизнеспособности клеток CellTiter-Glo® (Promega; Мэдисон, Висконсин) применяли для определения количества жизнеспособных клеток, на основании количественного определения присутствующего АТФ, индикатора метаболически активных клеток. Люминесценцию измеряли с помощью многозначного устройства для считывания Envision® (Perkin Elmer; Уолтхэм, Массачусетс) для каждой клеточной линии в нулевой точке времени (V_0) перед добавлением соединений, а также через 72 ч обработки соединениями (T_{72}). Подавление роста (ПР) вычисляли в соответствии со следующими уравнениями, где V_{72} обозначает люминесценцию контроля ДМСО в точке 72 ч, и T_{72} обозначает люминесценцию обработанного образца соединением: если $T_{72} \geq V_0$, то $GI = 100 \times (1 - ((T_{72} - V_0) / (V_{72} - V_0)))$; если $T_{72} < V_0$, то $GI = 100 \times (1 - ((T_{72} - V_0) / V_0))$. Эта формула получена из уравнения подавления роста, применяемого в высокопроизводительном скрининге Национального Института Рака NCI-60. На шкале процентного подавления роста 0-200 значение 0 представляет отсутствие подавления роста (т.е. контроль ДМСО), 100 обычно представляет стазис (сигнал, эквивалентный показанию в нулевой точке), и 200 представляет полную гибель клеток. Сигмоидальные кривые "доза-реакция" строили с применением 4-параметрической логистической модели. Для всех протестированных комбинаций в любой заданной клеточной линии начальную высокую концентрацию и фактор разведения для каждого соединения выбирают таким образом, чтобы хорошо определялся максимум кривой, минимум кривой и наклон в диапазоне 9 доз.

Двусторонние эксперименты с комбинацией осуществляли в существенной мере таким же способом, как описано выше, за исключением следующего. В каждой лунке к клеткам добавляли 5 мкл 9-точечного серийного титрования первого соединения (начиная с конечной концентрации и фактора разведения, определенных, как было описано ранее), вместе с контролем ДМСО в 10 идентичных рядах (ось x) 384-луночного планшета. Далее, к клеткам добавляли 5 мкл 9-точечного серийного разведения второго соединения (начиная с конечной концентрации и фактора разведения, определенных, как было описано ранее), вместе с контролем ДМСО в 10 идентичных колонках (ось y). Конечная концентрация ДМСО в каждой лунке составляла 0,25%. На каждом 384-луночном планшете анализировали 100-луночные (10×10) матрицы в двух экземплярах. Подавление роста в каждой лунке матрицы вычисляли, как было описано ранее, и данные анализировали для синергетических взаимодействий с применением программного обеспечения для анализатора Chalice™ (Zalicy; Кембридж, Массачусетс), генерирующего баллы синергии на основании модели аддитивности Лоу (Lehár, J., et al. (2009). "Synergistic drug combinations tend to improve therapeutically relevant selectivity." *Nat Biotech* 27(7): 659-666) и Rickles, et al. (2012) "Adenosine A2A and Beta-2 Adrenergic Receptor Agonists: Novel Selective and Synergistic Multiple Myeloma Targets Discovered through Systematic Combination Screening" *Mol Cancer Therapeutics* 11 (7): 1432.

В модели АДД (аддитивности) Лоу количественно определяют эффекты комбинации. Изначально комбинации ранжируют по избыточному объему аддитивности, который определяют как АДД $\text{Объем} = \sum C_X, C_Y (I_{\text{данных}} - I_{\text{Лоу}})$, где $I_{\text{Лоу}}(C_X/C_Y)$ представляет собой подавление, которое удовлетворяет $(C_X/EC_X) + (C_Y/EC_Y) = 1$, и $EC_{X,Y}$ представляет собой эффективную концентрацию при $I_{\text{Лоу}}$ для кривых одного агента. Кроме того, использовали "баллы синергии", где Балл синергии $S = \log f_x \log f_y \sum I_{\text{данных}} (I_{\text{данных}} - I_{\text{Лоу}})$, суммированный для всех пар концентрации, не относящихся к одному агенту, и где $\log f_{X,Y}$ представляет собой натуральный логарифм факторов разведения, применяемых для каждого отдельного агента. Это позволяет эффективно вычислить объем между измеренной поверхностью и поверхностью аддитивного ответа Лоу, взвешенные относительно высокой степени подавления для различных факторов разведения. Неопределенность σ_S вычисляют для каждого балла синергии на основании измеренных ошибок для значения $I_{\text{данных}}$ и распространения стандартной ошибки.

В примерах показано, что матрицы подавления роста (%) содержат консенсусные значения подавления роста, вычисленные на основе данных люминесценции с применением описанных выше формул; Матрицы ДЦД модели подавления роста (%) содержат предсказанные значения подавления роста, основанные на модели аддитивности Лоу, которые получены из смоделированных кривых подавления роста для одного агента; и матрицы ДЦД избыточного подавления роста (%) содержат значения подавления роста в избытке относительно модели аддитивности. Модель аддитивности служит "нулевой гипотезой" и допускает отсутствие синергетического взаимодействия между двумя агентами. Любая активность, наблюдаемая после вычитания ДЦД модели из матрицы подавления роста "доза-реакция" (=ДЦЦ избыточное подавление роста), является показательной для синергии.

Двусторонние эксперименты с комбинацией осуществляли подобно тому, как описано выше, но с применением формата высокопроизводительного скрининга. Клетки размораживали после консервации в жидком азоте. Скрининг начинали после того, как клетки расширялись и начинали делиться с ожидаемым периодом удвоения. Клетки высевали в питательную среду в черных 1536-луночных или 384-луночных обработанных планшетах для культуры тканей с плотностью клеток, приведенной в таблице ниже.

Линия клеток	Формат планшета	Плотность клеток
RT4	384	500
SJSA-1	1536	100
KS-1	1536	100
MCF7	384	500
RKO	1536	100
SNG-M	1536	100
RPMI-2650	1536	200
G-401	1536	100
CML-T1	1536	100
EOL-1	384	500
MOLM-13	384	500
SK-HEP-1	1536	100
A427	1536	100
DOHH-2	1536	100
22RV1	1536	100
A375	1536	100
C32	384	500
MKN45	1536	100
NOI-SNJ-1	1536	100
SW982	1536	100
HT-29	1536	100
PC-3	1536	100

Клетки уравнивали на планшетах для анализа путем центрифугирования и помещали в инкубаторы, присоединенные к дозирующим модулям при 37°C, выдерживая при этой температуре в течение 24 ч перед обработкой. На момент обработки отбирали необработанные планшеты для анализа и уровни АТФ измеряли путем добавления реагента 1-стадийного анализа люминесценции ATPLite (Perkin Elmer; Уолтхэм, Массачусетс). Указанные планшеты T₀ считывали с применением ультрачувствительной люминесценции на многозначном устройстве для считывания планшетов Envision® (Perkin Elmer; Уолтхэм, Массачусетс). Обработанные планшеты для анализа инкубировали с соединением в течение 72 ч и анализировали в конечной точке на предмет количества жизнеспособных клеток. Данные во всех точках получали с помощью автоматизированных процессов; качество контролировали и анализировали с применением программного обеспечения для анализатора Chalice™ (Zalicyus; Кембридж, Массачусетс), генерирующего баллы синергии на основании модели аддитивности Лоу (Lehár et al., выше). Анализируемые планшеты анализа пропускали, если они соответствовали стандартам последующего контроля качества: согласованные относительные значения люциферазы на протяжении всего эксперимента, баллы фактора Z выше 0,6 и систематическое поведение необработанного контроля/растворителя на планшете. Синергическое взаимодействия для каждой экспериментальной комбинации оценивали на предмет статистической значимости. Баллы синергии, вычисленные для отдельных экземпляров гетерологичных комбинаций (A×B), сравнивали с баллами синергии для отдельных экземпляров самоперекрестных значений компонента (A×A и B×B) с применением t-теста Стьюдента с неравной вариацией для двух образцов. Только те комбинации, для которых балл синергии A×B был статистически значимым (значение p<0,05) по сравнению с обеими A×A и B×B, считались синергичными.

Трехсторонние эксперименты с комбинацией проводили в существенной мере таким же способом, как описано выше, за исключением следующего. Получали 10 идентичных 384-луночных планшетов, каждый из которых содержал двусторонние 100-луночные комбинации в двух экземплярах, как описано выше, за исключением того, что добавляли 3,3 мкл 3-конечной концентрации каждого соединения. Далее, 3,3 мкл одинарной фиксированной концентрации третьего соединения добавляли во все лунки матрицы на конкретном планшете. Таким образом, 10 планшетов содержали 9-точечное серийное титрование третьего соединения (ось z; начиная с высокой конечной концентрации и фактора разведения, определенных, как было описано ранее), вместе с контролем ДМСО (т.е. без добавления соединения 3) на планшете. Подавление роста для каждой лунки матрицы вычисляли, как было описано ранее. Примеры клеточных линий, используемых в идентифицированных выше экспериментах, приведены в таблице ниже. Колонка ткани в таблице указывает на тип ткани, из которой получены клетки, и колонка мутации указывает на определенные мутации, идентифицированные в конкретной клеточной линии.

Линия клеток	Ткань	Мутация
HT-1197	Мочевой пузырь	NRAS, PI3K
RT4	Мочевой пузырь	TSC1
KNS-81-FD	Мозг; ЦНС	EGFR
CAL-51	Молочная железа	PI3K
MCF7	Молочная железа	PI3K
MDA-MB-175-VII	Молочная железа	Аутокринная петля HER2
UACC-812	Молочная железа	Аmplифицированный HER2
HCT116	Ободочная кишка	KRAS, PI3K
LS 174T	Ободочная кишка	KRAS, PI3K
RKO	Ободочная кишка	BRAF, PI3K
SW48	Ободочная кишка	EGFR
BV-173	Кроветворная и лимфоидная (ХМЛ)	BCR-ABL
CML-T1	Кроветворная и лимфоидная (ХМЛ)	BCR-ABL
GDM-1	Кроветворная и лимфоидная (ОМЛ)	Не идентифицирована
ML-2	Кроветворная и лимфоидная (ОМЛ)	KRAS
MOLM-13	Кроветворная и лимфоидная (ОМЛ)	FLT3 ITD
OCI-AML3	Кроветворная и лимфоидная (ОМЛ)	Неизвестна
CAL-54	Почка	Аmplифицированный MET
SK-HEP-1	Печень	BRAF
A427	Легкое (НМКРЛ)	KRAS
A549	Легкое	KRAS
NCI-H1666	Легкое (НМКРЛ)	BRAF (не V600E)
NCI-H460	Легкое (НМКРЛ)	KRAS, PI3K
A2780	Яичник	PTEN
A375sq2	Кожа (меланома)	BRAF
A375	Кожа (меланома)	BRAF
C32	Кожа (меланома)	BRAF, PTEN
G-361	Кожа (меланома)	BRAF
SH-4	Кожа (меланома)	BRAF
A204	Мягкая ткань (рабдомиосаркома)	Не идентифицирована
G-401	Мягкая ткань (почка)	Не идентифицирована
MKN45	Желудок	Аmplифицированный MET

Результаты клеточных исследований комбинаций *in vitro* проиллюстрированы на фиг. 1.

На фиг. M и N первая метка на оси Y указывает на целевые соединения, протестированные в комбинации с конкретным ингибитором MDM2. Следующая секция на оси Y указывает на точную комбинацию. На оси X, в верхней части сетки, показана протестированная линия раковых клеток. Выше линии раковых клеток указан статус мутации. Необходимо отметить, что клеточные линии, использованные в данных экспериментах, известны специалистам из уровня техники, и различные мутации, связанные с этими линиями, могут быть легко определены специалистом в данной области. Кроме того, TP53 указывает на то, что обозначенные клеточные линии содержат мутацию в TP53. Как упомянуто выше, ингибиторы MDM2 демонстрируют активность при раке с TP53 дикого типа. Затемнение каждого прямоугольника сетки указывает на идентифицированный уровень синергии, причем более темный цвет указывает на более высокий уровень синергии. Число в прямоугольнике представляет балл синергии, и если число подчеркнуто, это указывает, что эксперимент продемонстрировал статистическую значимость.

In vivo исследования комбинаций на ксенотрансплантате опухоли.

Исследования на ксенотрансплантате опухоли *in vivo* проводили в соответствии со следующими общими методиками:

Опухолевые клетки (табл. 1) выращивали, собирали и подкожно имплантировали в правый бок самки бестимусных мышей. По достижении опухолями около 200 мм³ мышей рандомизировали в группы лечения (n=10/группу) и начинали лечение (в дни, указанные на графиках). Названия соединений, часто-

та введения и способы введения приведены в табл. 2. Размер опухолей и массу тела измеряли 2-3 раза в неделю. Объем опухоли измеряли с помощью электронных штангенциркулей, вычисляли как $L \times W \times H$ и выражали в мм^3 . Статистическую значимость наблюдаемых отличий между кривыми роста оценивали с помощью дисперсионного анализа результатов повторных измерений (RMANOVA) данных логарифмически трансформированного объема опухоли со скорректированными по Дуннетту множественными сравнениями показателей контрольной группы с группами лечения. В случае исследований комбинации RMANOVA выполняли, сравнивая группу комбинации 1:1 с каждой группой лечения одним агентом.

Мембранная матрица на подложке BD Matrigel™ представляет собой солиобилизованный мембранный препарат на подложке, экстрагированный из саркомы мышей Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) (BD Biosciences, Сан-Хосе, Калифорния).

Все исследования проводили вслепую.

Таблица 1

Линия клеток	Тип опухоли	Клетки/мышь	Источник №	Matrigel (клетки: matrigel)
RKO	Ободочная кишка	5×10^6	(ATCC) CRL-2577	1:1
SJSA-1	Остеосаркома	5×10^6	(ATCC) CRL-2098	2:1
HCT116	Ободочная и прямая кишка	2×10^6	(ATCC) CCL-247	2:1
A375sq2	Меланома	5×10^6	См. ссылку выше	2:1
NCI-H460	Немелкоклеточная, легкое	5×10^6	(ATCC) HTB-177	нет
U87	Глиобластома	5×10^6	(ATCC) HTB-14	нет
Molm13	Острый миелогенный лейкоз	$2,5 \times 10^6$	(DSMZ) AC-554	1:1

Таблица 2

Лечение	Способ введения	Частота
AMG 232	п/о	1С
цитарабин	в/б	5 дней вводится, 2 дня не вводится
децитабин	в/б	3х/нед

Определение сокращений: п/о - пероральный зонд, в/б - внутривенно, в/в - внутривенно, 1С - 1 раз в сутки, нед - неделя.

Исследования комбинаций *in vivo* проведены:

1. AMG232+цитарабин (Molm-13).
2. AMG232+децитабин (Molm-13).

Результаты исследования комбинаций на ксенотрансплантате опухоли *in vivo* проиллюстрированы на фиг. М и N.

В табл. А ниже проиллюстрированы конкретные комбинации ингибитора MDM2 с одним или более дополнительными фармацевтически активными агентами при конкретном виде рака. Полученные и резюмированные на фигурах данные показывают, что комбинации, приведенные в табл. А, демонстрируют повышенную противораковую активность, по сравнению с ожидаемой для применения компонентов комбинированной терапии по отдельности. Необходимо отметить, что масштаб терапевтической синергии может варьировать в зависимости от вида подлежащего лечению рака и применяемого агента.

Таблица А

Ингибитор MDM2	Дополнительный фармацевтически активный агент	Тип рака
AMG 232	цитарабин	ОМЛ
AMG 232	децитабин	ОМЛ

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусной кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли в комбинации с децитабином для лечения острого миелогенного лейкоза.

2. Применение 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-

метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусной кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли в комбинации с цитарабином для лечения острого миелогенного лейкоза.

3. Применение по п.1 или 2, где острый миелогенный лейкоз содержит мутацию FLT3-ITD.

4. Набор фармацевтических композиций для применения для лечения острого миелогенного лейкоза, где указанный набор содержит отдельные фармацевтические композиции, одна композиция содержит 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль и другая фармацевтическая композиция содержит децитабин.

5. Набор фармацевтических композиций для применения для лечения острого миелогенного лейкоза, где указанный набор содержит отдельные фармацевтические композиции, одна композиция содержит 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль и другая фармацевтическая композиция содержит цитарабин.

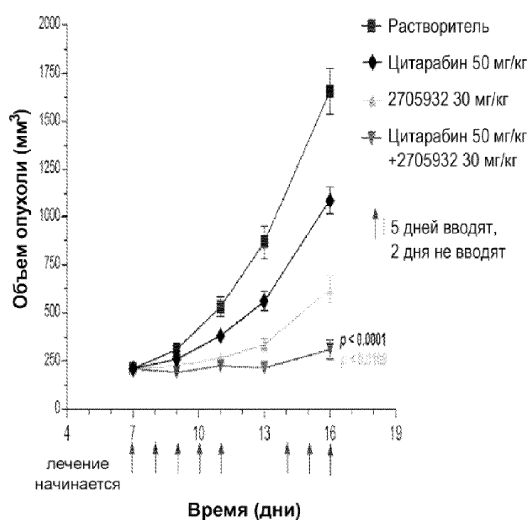
AMG232 - химиотерапевтические комбинации

TP53

		MCF7 (Молочная железа)	RKO (Ободочная кишка)	KS-1 (ГБМ)	A427 (НМКРП)	SJSA-1 (Саркома)	SW982 (Саркома)	MKN45 (Желудок)	NCI-SNU-1 (Желудок)	EOL-1 (ОМЛ)	MOLM-13 (ОМЛ)	HT-29 (Ободочная кишка)	PC-3 (Предстательная железа)
Производные платины	AMG 232 x Цисплатин				0,70							0,19	0,48
	AMG 232 x Оксалиплатин		0,85									0,08	0,18
Топоизомераза II	AMG 232 x Доксорубин	4,63							4,37	0,63	1,14	2,14	
	AMG 232 x Этопозид					2,16	0,18	2,86	1,88			1,02	0,52
Топоизомераза I	AMG 232 x Иринотекан		1,69									0,95	0,67
Алкилирование ДНК	AMG 232 x Темозоломид			2,61								0,04	0,10
Нуклеозидные аналоги	AMG 232 x Цитарабин									6,50	0,70	0,56	1,33
	AMG 232 x Децитабин									12,49	1,37	0,07	0,86

Фиг. 1

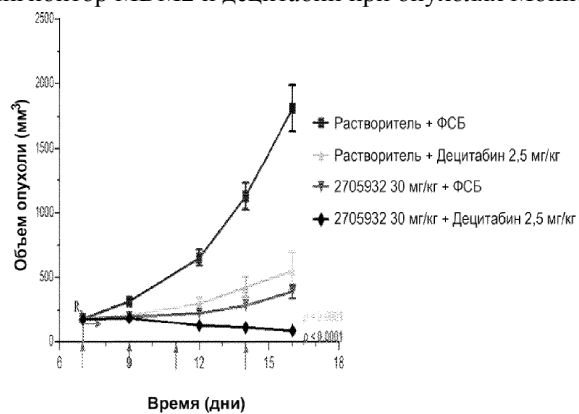
Ингибитор MDM2 и цитарабин при опухолях Molm13



Растворитель: 15% ГПВЦД, 1% Pluronic F68, pH 9,4 и Раствор натрия хлорида

Фиг. М

Ингибитор MDM2 и децитабин при опухолях Molm13



Растворитель (2705932): 15% ГПВЦД, 1% Pluronic F68, pH 9,4

Фиг. N

