

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202290220** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2022.04.12**

(22) Дата подачи заявки  
**2020.07.23**

(51) Int. Cl. *A61K 31/4412* (2006.01)  
*A61K 31/4166* (2006.01)  
*A61K 31/4745* (2006.01)  
*A61K 33/243* (2019.01)  
*A61K 45/06* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

**(54) ИНГИБИРОВАНИЕ EZH2 В КОМБИНИРОВАННЫХ ТЕРАПИЯХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА**

(31) **62/878,021**

(32) **2019.07.24**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/043163**

(87) **WO 2021/016409 2021.01.28**

(71) Заявитель:

**КОНСТЕЛЛЕЙШЕН**

**ФАРМАСЬЮТИКАЛС, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Брэдли Уилльям Д. (US)**

(74) Представитель:

**Костюшенкова М.Ю., Угрюмов В.М.,  
Строкова О.В., Джермакян Р.В.,  
Парамонова К.В., Христофоров А.А.,  
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина Е.М.  
(RU)**

(57) В данном документе предложены способы лечения запущенных рецидивирующих солидных опухолей с применением 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли. В данном документе также предложены способы лечения рака (например, солидных опухолей) с применением 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида; или его фармацевтически приемлемой соли; и второго агента, выбранного из ингибитора топоизомеразы, ДНК-алкилирующего агента и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена.

**A1**

**202290220**

**202290220**

**A1**

# ИНГИБИРОВАНИЕ EZH2 В КОМБИНИРОВАННЫХ ТЕРАПИЯХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

## Родственные заявки

**[0001]** В данной заявке заявлен приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/878021, поданной 24 июля 2019 года, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки.

## УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

**[0002]** EZH2 (энхансер гомолога 2 Zeste) представляет собой лизин-метилтрансферазу гистона, которая участвует в патогенезе гематологических и негематологических злокачественных заболеваний. EZH2 катализирует перенос одной, двух и тех метильных групп на лизин 27 гистона 3 (H3K27). EZH2 является каталитическим компонентом крупного мультипротеинового комплекса, называемого репрессивным комплексом polycomb 2 (PRC2), который обычно участвует в транскрипционной репрессии (Margueron, R., and Reinberg, D. (2011). The Polycomb complex PRC2 and its mark in life. *Nature* 469, 343–349.). Несмотря на то, что во многих случаях транскрипционный сайленсинг под действием PRC2 зависит от каталитической активности EZH2, известно, что физическая ассоциация комплекса PRC2 с некоторыми генами также важна для транскрипционной репрессии. Альтернативно, комплекс PRC2 может содержать близкородственный гомолог EZH2, известный как EZH1. Указанные две каталитические субъединицы комплекса PRC2 являются единственными ферментами, которые, как известно, катализируют метилирование H3K27. Помимо их каталитической активности, EZH1 и EZH2 являются мультидоменными протеинами, которые опосредуют другие биологические эффекты посредством взаимодействий белок-белок и белок-нуклеиновая кислота. Диметилирование и триметилирование H3K27 (H3K27me2 и H3K27me3) хорошо коррелируют с транскрипционно репрессированными генами, но монометилирование H3K27 (H3K27me1) основано на транскрипционно активных генах (Barski, A., et al. (2007). High-resolution profiling of histone methylations in the human genome. *Cell* 129, 823–837; Ferrari, K.J., et al. (2014). Polycomb-dependent H3K27me1 and H3K27me2 regulate active transcription and enhancer fidelity. *Mol. Cell* 53, 49–62). В недавних генетических исследованиях сделано предположение, что EZH1-содержащий PRC2 регулирует уровни H3K27me1 (Hidalgo, I., et al. (2012). Ezh1 is required for hematopoietic stem cell maintenance and prevents senescence-like cell cycle arrest. *Cell Stem Cell* 11, 649–662; Xie, H., et al. (2014). Polycomb repressive complex 2 regulates normal hematopoietic stem cell function in a

developmental-stage-specific manner. Cell Stem Cell 14, 68–80). Это согласуется с предполагаемой ролью EZH1 в транскрипционной элонгации (Mousavi, K., et al. (2012). Polycomb protein Ezh1 promotes RNA polymerase II elongation. Mol. Cell 45, 255–262). Таким образом, активность PRC2-зависимой метилтрансферазы H3K27 участвует и в транскрипционной репрессии, и в активации, в зависимости от состава комплекса.

**[0003]** EZH2 (но не EZH1) часто сверхэкспрессируется в человеческом раке.

Молекулярная основа для сверхэкспрессии EZH2 при раке включает (1) геномную амплификацию *EZH2*-кодирующего генного локуса (Tiffen, J., et al. (2016). Somatic Copy Number Amplification and Hyperactivating Somatic Mutations of EZH2 Correlate With DNA Methylation and Drive Epigenetic Silencing of Genes Involved in Tumor Suppression and Immune Responses in Melanoma. Neoplasia 18(2), 121-132., Ding, L., et al. (2006). Identification of EZH2 as a molecular marker for a precancerous state in morphologically normal breast tissues. Cancer Research 66(8), 4095-4099., Saramaki, O.R., et al. (2006). The gene for polycomb group protein enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) is amplified in late-stage prostate cancer. Genes Chromosomes Cancer 45(7), 639-645.), (2) делецию и эпигенетический сайленсинг микроРНК, которые ослабляют экспрессию *EZH2* (Varambally, S., et al. (2008). Genomic loss of microRNA-101 leads to overexpression of histone methyltransferase EZH2 in cancer. Science 322(5908), 1695-1699) (3) дисрегуляцию контролирования гена, осуществляемого семейством E2F факторов транскрипции (Santos, M., et al. (2014). In vivo disruption of an Rb-E2F-Ezh2 signaling loop causes bladder cancer. Cancer Research 74(22), 6565-6577., Coe, B.P., et al. (2013). Genomic deregulation of the E2F/Rb pathway leads to activation of the oncogene EZH2 in small cell lung cancer. PLoS One 8(8), e71670., Bracken, A.P., et al. (2003). EZH2 is downstream of the pRB-E2F pathway, essential for proliferation and amplified in cancer. EMBO J 22(20), 5323-5335), как, например, в контексте делеции гена *RBI*. Таким образом, при раке существует несколько рекуррентных геномных aberrаций, которые приводят к сверхэкспрессии EZH2, что свидетельствует о том, что повышенные уровни EZH2 ускоряют прогрессирование опухоли. Поэтому EZH2 связывают с многими онкологическими мишенями, такими как гематологические злокачественные образования и солидные опухоли. См., например, WO 2014/124418.

**[0004]** Ингибитор EZH2, привлекающий внимание благодаря своей противоопухолевой активностью и длительному времени пребывания в комплексе PRC2 (~101 день), представляет собой 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид. См., например, PCT/US2019/027932, содержание которого включено в данный документ посредством ссылки. С учетом его

терапевтического потенциала и распространенности таких заболеваний как рак, существует потребность в альтернативном терапевтическом применении указанного соединения, например, в его применении в комбинированных схемах лечения.

#### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

**[0005]** В данном документе предложены способы лечения рака с применением 7-хлор-2-(4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида; или его фармацевтически приемлемой соли; и второго агента, выбранного из ингибитора топоизомеразы, ДНК-алкилирующего агента и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена.

**[0006]** В данном документе также предложены способы лечения запущенных рецидивирующих солидных опухолей с применением 7-хлор-2-(4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида; или его фармацевтически приемлемой соли в качестве монотерапии.

**[0007]** В данном документе также предложены фармацевтические композиции, содержащие 7-хлор-2-(4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид; или его фармацевтически приемлемую соль; и второй агент, выбранный из ингибитора топоизомеразы, ДНК-алкилирующего агента и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена; и необязательно фармацевтически приемлемый носитель.

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

**[0008]** На **Фиг. 1А** представлен фенотипный ответ чувствительных к цисплатину и устойчивых к нему клеточных линий A2780 (рак яичника) и HT1376 (рак мочевого пузыря) на однократное лечение цисплатином. Показанные данные представляют собой среднюю жизнеспособность клетки  $\pm$  стандартная ошибка среднего (СОС),  $n = 2-3$ , и они являются репрезентативными для двух независимых экспериментов.

**[0009]** На **Фиг. 1В** представлен фенотипный ответ чувствительных к цисплатину и устойчивых к нему клеточных линий A2780 (рак яичника) и HT1376 (рак мочевого пузыря) на однократное лечение соединением 1. Показанные данные представляют собой среднюю жизнеспособность клетки  $\pm$  стандартная ошибка среднего (СОС),  $n = 2-3$ , и они являются репрезентативными для двух независимых экспериментов.

**[0010]** На **Фиг. 2А** представлены характерные кривые роста для цисплатина в отдельности и в комбинациях с подбираемой дозой соединения 1 в чувствительных к

цисплатину и устойчивых к нему клеточных линиях рака яичника A2780. Иллюстрация двух независимых экспериментов; показано среднее  $\pm$  СО.

**[0011]** На **Фиг. 2В** показано действие комбинации суб- $GI_{50}$  доз цисплатина и суб- $GI_{50}$  дозы 16 нМ соединения **1** в A2780-P и A2780-CR. Иллюстрация двух независимых экспериментов; показано среднее  $\pm$  СО.

**[0012]** На **Фиг. 3А** представлены характерные кривые роста для цисплатина в отдельности и в комбинациях с подбираемой дозой соединения **1** в чувствительных к цисплатину и устойчивых к нему клеточных линиях рака мочевого пузыря HT1376. Иллюстрация двух независимых экспериментов; показано среднее  $\pm$  СО.

**[0013]** На **Фиг. 3В** показано действие комбинации близких к  $GI_{50}$  доз цисплатина и соединения **1** в HT1376-DMF и HT1376-CR. Иллюстрация двух независимых экспериментов; показано среднее  $\pm$  СО.

**[0014]** На **Фиг. 4** показан противоопухолевый эффект соединения **1**, цисплатина и комбинации обоих агентов в опухолях HT1376 у мышей SCID CB17. Данные представлены как средний размер опухоли  $\pm$  СОС,  $n=6$ . PO = пероральное введение, IV = внутривенное введение, QD = один раз в сутки, QW = один раз в неделю.

**[0015]** На **Фиг. 5** показан противоопухолевый эффект соединения **1**, энзалутамида и комбинации обоих агентов в модели ксенотрансплантата рака предстательной железы CTG-2428, полученного у пациента (PDX). Показанные данные представляют собой средний размер опухоли  $\pm$  СОС,  $n=5$  на группу. Стрелки указывают незапланированную гибель или прекращение участия животного в эксперименте вследствие достижения максимального объема опухоли,  $n$  означает количество оставшихся животных на группу. PO = пероральное введение, QD = один раз в сутки.

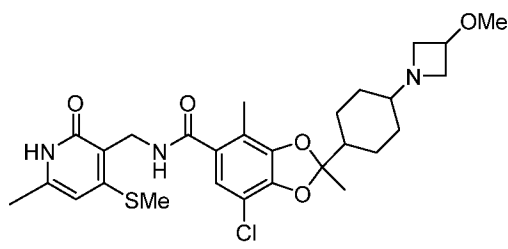
**[0016]** На **Фиг. 6** показан противоопухолевый эффект соединения **1**, энзалутамида и комбинации обоих агентов в PDX модели рака предстательной железы CTG-2440. Показанные данные представляют собой средний размер опухоли  $\pm$  СОС, PO = пероральное введение, QD = один раз в сутки. Стрелки указывают гибель животного в группе введения комбинации, а также исключение отдельного животного из исследования вследствие достижения максимального объема опухоли, приводящее к уменьшению размера группы,  $n$  = количество оставшихся животных в группе.

**[0017]** На **Фиг. 7** показан противоопухолевый эффект соединения **1**, энзалутамида и комбинации обоих агентов в PDX модели рака предстательной железы CTG-2441. Показанные данные представляют собой средний размер опухоли  $\pm$  СОС,  $n=5$ . Стрелки указывают гибель животных, приводящую к уменьшению размера группы,  $n$  = количество оставшихся животных в группе. PO = пероральное введение, QD = один раз в сутки.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**[0018]** В первом варианте реализации предложены способы лечения рака у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида; или его фармацевтически приемлемой соли; и эффективного количества второго агента, выбранного из ингибитора топоизомеразы и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена. Альтернативно, в составе первого варианта реализации предложено применение эффективного количества 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида; или его фармацевтически приемлемой соли; и эффективного количества второго агента, выбранного из ингибитора топоизомеразы и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена, для производства лекарственного средства для лечения рака у субъекта. В качестве другой альтернативы, в составе первого варианта реализации предложено эффективное количество 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида; или его фармацевтически приемлемой соли; и эффективного количества второго агента, выбранного из ингибитора топоизомеразы и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена, для лечения рака у субъекта.

**[0019]** 7-Хлор-2-(4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-(((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет химическую формулу:



и описан в международной заявке № PCT/US2019/027932, содержание которой включено в данный документ посредством ссылки. «Соединение 1» использовано взаимозаменяемо с 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамидом, и каждое название включает стереоизомерные и геометрические формы.

**[0020]** Ингибиторы топоизомеразы согласно предложенным способам относятся к химическим или биологическим агентам, которые блокируют действие топоизомеразы

(включая топоизомеразу I и II). В составе второго варианта реализации, ингибиторы топоизомеразы согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) включают, но не ограничиваясь ими, иринотекан, топотекан, камптотецин, ламелларин, этопозид, тенипозид, доксорубицин, даунорубицин, митоксантрон, амсакрин, эллиптицины, ауринтрикарбоновую кислоту, NU-331, эпирубицин, валрубицин, идарубицин, пиксантрон, тенипозид, белотекан, гиматекан, индотекан, индимитекан. Альтернативно, в составе второго варианта реализации, ингибитор топоизомеразы согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) представляет собой ингибитор топоизомеразы I. В качестве другой альтернативы, в составе второго варианта реализации, ингибитор топоизомеразы согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) представляет собой иринотекан. В качестве другой альтернативы, в составе второго варианта реализации, ингибитор топоизомеразы согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) представляет собой топотекан.

**[0021]** ДНК-алкилирующие агенты согласно предложенным способам относятся к химическим или биологическим агентам, которые действуют посредством предотвращения надлежащего связывания спиралей ДНК. В составе третьего варианта реализации, ДНК-алкилирующий агент согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) выбран из бусульфана, циклофосфамида, бендамустина, карбоплатина, хлорамбуцила, циклофосфамида, цисплатина, темозоломида, мелфалана, кармустина, ломустина, дакарбазина, оксалиплатина, ифосфамида, тиотепа, трабектедина, алтретамина, мехлорэтамину, прокарбазина и стрептозоцина. Альтернативно, в составе третьего варианта реализации, ДНК-алкилирующий агент согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) представляет собой цисплатин.

**[0022]** Ингибиторы передачи сигналов рецептора андрогена согласно предложенным способам относятся к химическим или биологическим агентам, которые блокируют рецептор андрогена (AR) и ингибируют или подавляют выработку андрогена. В составе четвертого варианта реализации ингибиторы передачи сигналов рецептора андрогена согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) выбраны из бикалутамида, энзалутамида, апалутамида, флутамида, нилутамида, даролутамида и ацетата абиратерона (причем ацетат абиратерона может быть включен отдельно или в комбинации с преднизолоном). Альтернативно, в составе четвертого варианта реализации, ингибитор передачи сигналов рецептора андрогена согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) представляет собой энзалутамид. В качестве другой альтернативы, в составе четвертого варианта

реализации ингибитор передачи сигналов рецептора андрогена согласно предложенным способам (например, как в первом варианте реализации) представляет собой ацетат абиратерона (причем ацетат абиратерона может быть включен отдельно или в комбинации с преднизолоном).

**[0023]** В данном контексте термины «лечит», «лечить» и «лечение» относятся к реверсированию, облегчению или замедлению прогрессирования рака или одного или более его симптомов, как описано в данном документе.

**[0024]** При использовании для определения рака, термин «запущенный», как в случае «запущенного рака» или «запущенного рака предстательной железы», означает, что указанный рак является нерезектабельным, т.е. рак определен как рак, который не может быть полностью устранен посредством операции, или что указанный рак является метастатическим, или оба варианта. В одном аспекте «запущенный рак» означает, что рак является нерезектабельным.

**[0025]** Раковые заболевания, описанные в данном документе, также могут быть «рецидивирующими» раковыми заболеваниями. Термин «рецидивирующий рак» относится к раку, который ранее находился в ремиссии и возобновился, или возобновились признаки и симптомы рака. Ремиссия включает и частичную ремиссию (исчезновение некоторых или не всех признаков и симптомов рака), и полную ремиссию (исчезновение всех признаков и симптомов рака, несмотря на то, что рак может все еще сохраняться в организме). Таким образом, рак, который является «запущенным, рецидивирующим», означает, что рак был в состоянии ремиссии и возобновился, и является нерезектабельным.

**[0026]** Примеры типов рака, которые можно лечить предложенными способами (например, как в первом, втором, третьем или четвертом варианте реализации), включают рак надпочечников, ацинозно-клеточную карциному, невриному слухового нерва, акральную лентигинозную меланому, акроспирому, острый эозинофильный лейкоз, острый эритроидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый моноцитарный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз, аденокарциному, аденокистозную карциному, аденому, аденоматоидную одонтогенную опухоль, аденосквамозную карциному, неоплазму жировой ткани, карциному коры надпочечников, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, агрессивный лейкоз НК-клеток, лимфому, связанную со СПИДом, альвеолярную рабдомиосаркому, альвеолярную саркому мягких частей, амелобластную фиброму, анапластическую крупноклеточную лимфому, анапластический рак щитовидной железы, ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому, ангиомиолипому, ангиосаркому, астроцитому, атипичную тератоидную

рабдоидную опухоль, В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз, В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, лимфому В-клеток, базально-клеточную карциному, рака желчных путей, рак мочевого пузыря, бластому, рак костей, опухоль Бреннера, опухоль Брауна, лимфому Беркитта, рак молочной железы, рак мозга, карциному, карциному *in situ*, карциносаркому, опухоль хрящей, цементому, миелоидную саркому, хондрому, хордому, хориокарциному, папиллома сосудистого сплетения, светлоклеточную саркому почек, краниофарингиому, кожную Т-клеточную лимфому, рак шейки матки, колоректальный рак, болезнь Дегоса, десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль, диффузную В-крупноклеточную лимфому, дизэмбриопластическую нейроэпителиальную опухоль, дисгерминому, эмбриональную карциному, опухоль эндокринных желез, опухоль эндодермального синуса, Т-клеточную лимфому, связанную с энтеропатией, рак пищевода, включенного плода, фиброму, фибросаркому, фолликулярную лимфому, фолликулярный рак щитовидной железы, ганглионейрому, желудочно-кишечный рак, опухоль половых клеток, гестационную хориокарциному, гигантоклеточную фибробластому, гигантоклеточную опухоль костей, глиальную опухоль, молтиформную глиобластому, глиому, глиоматоз мозга, глюкагоному, гонадобластому, гранулезоклеточную опухоль, гинандробластому, рак желчного пузыря, рак желудка, лейкоз ворсистых клеток, гемангиобластому, рак головы и шеи, гемангиоперицитому, гематологические злокачественные опухоли, гепатобластому, Т-клеточную лимфому печени и селезенки, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, инвазивную дольковую карциному, рак кишечника, рак почек, рак гортани, злокачественное лентиго, злокачественную срединную карциному лица, лейкоз, опухоль клеток Лейдига, липосаркому, рак легких, лимфангиому, лимфангиосаркому, лимфоэпителиому, лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, рак печени, мелкоклеточный рак легких, немелкоклеточный рак легких, MALT-лимфому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, злокачественную опухоль оболочек периферических нервов, злокачественную тритон-опухоль, лимфому мантийных клеток, В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны, лейкоз мастоцитов, медиастинальную эмбрионально-клеточную опухоль, медуллярную карциному молочной железы, медуллярный рак щитовидной железы, медуллобластому, меланому, менингиому, рак клеток Меркеля, мезотелиому, метастатическую уротелиальную карциному, смешанную муллеровую опухоль, муцинозную опухоль, множественную миелому, неоплазму мышечной ткани, грибовидный микоз, миксоидную липосаркому, миксому, миксосаркому, рак носоглотки, невриному, нейробластому, нейрофиброму, невриному, нодулярную меланому, рак глаз,

олигоастроцитому, олигодендроглиому, онкоцитому, менингиому оболочки оптического нерва, опухоль оптического нерва, рак ротовой полости, остеосаркому, рак яичников, опухоль Панкоста, папиллярный рак щитовидной железы, параганглиому, пинеалобластому, пинеоцитому, питуицитому, аденому гипофиза, опухоль гипофиза, плазмоцитому, полиэмбриому, предшественник Т-лимфобластной лимфомы, первичную лимфому центральной нервной системы, первичную выпотную лимфому, первичный перитонеальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак глотки, псевдомиксому брюшины, почечно-клеточную карциному, медуллярную карциному почек, ретинобластому, рабдомиому, рабдомиосаркому, трансформацию Рихтера, рак прямой кишки, саркому, шванноматоз, семиному, опухоль из клеток Сертоли, опухоль стромы полового тяжа яичников, перстневидно-клеточную карциному, мелкокруглоклеточную опухоль из синих клеток, мелкоклеточную карциному, саркому мягких тканей, соматостатиному, рак трубочистов, рак спинного мозга, лимфому маргинальной зоны селезенки, плоскоклеточную карциному, синовиальную саркому, болезнь Сезари, мелкоклеточный рак кишечника, плоскоклеточный рак, рак желудка, Т-клеточную лимфому, тестикулярный рак, текому, рак щитовидной железы, переходно-клеточный рак, рак горла, рак мочевого протока, мочеполовой рак, уротелиальную карциному, увеальную меланому, метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы, светлоклеточную карциному яичников, рак матки, бородавчатую карциному, глиому зрительного пути, рак вульвы, рак влагалища, макроглобулинемию Вальденстрема, опухоль Уортина и опухоль Вильмса.

**[0027]** В одном аспекте, в составе пятого варианта реализации, рак, который можно лечить предложенными способами (например, как в первом, втором, третьем или четвертом варианте реализации), представляет собой солидную опухоль. В данном контексте солидные опухоли относятся к патологической массе ткани, которая обычно не содержит кисты или жидкие области. Солидные опухоли могут быть доброкачественными или злокачественными, и их классифицируют по типам клеток, которые их образуют. Примеры солидных опухолей включают, например, саркомы, карциномы и лимфомы.

**[0028]** В одном аспекте, в составе шестого варианта реализации, рак, который можно лечить предложенными способами (например, как в первом, втором, третьем или четвертом варианте реализации), представляет собой солидную злокачественную опухоль. Альтернативно, в составе пятого варианта реализации, солидная опухоль, которую можно лечить предложенными способами (например, как в первом, втором, третьем или четвертом варианте реализации), выбрана из рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака шейки матки, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака матки, рака

почки, рака губ, рака полости рта, рака печени, рака кожи, рака легких, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы и рака желудка или желудочно-пищеводного рака. В качестве другой альтернативы, в составе шестого варианта реализации, солидная опухоль, которую можно лечить предложенными способами (например, как в первом, втором или третьем варианте реализации), выбрана из рака предстательной железы, мелкоклеточного рака легких (SCLC), аденокарциномы желудка или желудочно-пищеводного перехода (GEJ) и серозного рака яичника. В качестве другой альтернативы, в составе шестого варианта реализации, солидная опухоль, которую можно лечить предложенными способами (например, как в первом, втором, третьем или четвертом варианте реализации), выбрана из рака мелкоклеточного рака легких (SCLC), аденокарциномы желудка или желудочно-пищеводного перехода (GEJ) и серозного рака яичника. В качестве другой альтернативы, в составе шестого варианта реализации, солидная опухоль, которую можно лечить предложенными способами (например, как в первом, втором, третьем или четвертом варианте реализации), представляет собой рак предстательной железы. В качестве другой альтернативы, в составе шестого варианта реализации, солидная опухоль, которую можно лечить предложенными способами (например, как в первом, втором, третьем или четвертом варианте реализации), выбрана из уротелиальной карциномы, светлоклеточной карциномы яичника и эндометриальной карциномы.

**[0029]** В одном аспекте, в составе седьмого варианта реализации, виды рака, которые можно лечить предложенными способами (например, как в первом–шестом вариантах реализации), представляют собой рецидивирующие виды рака. Таким образом, в составе шестого варианта реализации, виды рака, которые можно лечить предложенными способами (например, как в первом–шестом вариантах реализации), выбраны из рецидивирующих солидных опухолей, таких как рецидивирующий рак предстательной железы, рецидивирующий мелкоклеточный рак легких (SCLC), рецидивирующей аденокарциномы желудка или желудочно-пищеводного перехода (GEJ) и рецидивирующего серозного рака яичника.

**[0030]** В одном аспекте виды рака, описанные в данном документе (например, как в четвертом–седьмом вариантах реализации), представляют собой запущенные виды рака, например, запущенный рак предстательной железы, запущенный мелкоклеточный рак легких (SCLC), запущенную аденокарциному желудка или желудочно-пищеводного перехода (GEJ) и запущенный серозный рак яичника.

**[0031]** Если не указано иное, то введение, описанное в данном документе, включает введение 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-

(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида до, одновременно или после введения описанного ингибитора топоизомеразы и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена, описанного в данном документе (например, как в первом, втором, третьем или четвертом варианте реализации), для лечения указанного рака (например, как в пятом–седьмом вариантах реализации). Таким образом, для терапевтических целей не является необходимым одновременное введение. Однако в одном аспекте 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид вводят одновременно с ингибитором топоизомеразы или с ингибитором передачи сигналов рецептора андрогена.

**[0032]** В восьмом варианте реализации в данном документе предложены способы лечения запущенных рецидивирующих солидных опухолей с применением 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли. Альтернативно, в составе седьмого варианта реализации предложено применение эффективного количества 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли для производства лекарственного средства для лечения запущенных рецидивирующих солидных опухолей у субъекта. В качестве другой альтернативы, в составе восьмого варианта реализации предложено эффективное количество 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли для применения для лечения запущенных рецидивирующих солидных опухолей у субъекта.

**[0033]** Запущенные рецидивирующие солидные опухоли, описанные в данном документе (например, указанные в седьмом варианте реализации), включают, но не ограничиваясь ими, запущенную рецидивирующую уротелиальную карциному, запущенную рецидивирующую светлоклеточную карциному яичника и запущенную рецидивирующую эндометриальную карциному.

**[0034]** В девятом варианте реализации в данном документе предложены фармацевтические композиции, содержащие 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль; и эффективное количество второго агента, выбранного из ингибитора

топоизомеразы и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена; и необязательно фармацевтически приемлемый носитель. Включено также применение фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль; и эффективное количество второго агента, выбранного из ингибитора топоизомеразы и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена; и необязательно фармацевтически приемлемый носитель, для лечения одного или более видов рака, описанных в данном документе (например, как в пятом–седьмом вариантах реализации). Дополнительно предложено применение фармацевтической композиции, содержащей 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения запущенной рецидивирующей солидной опухоли.

**[0035]** В одном аспекте 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся по меньшей мере тремя пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $22,2^\circ$  и  $22,5^\circ$ . Альтернативно, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся по меньшей мере четырьмя пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $22,2^\circ$  и  $22,5^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся по меньшей мере пятью пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $22,2^\circ$  и  $22,5^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся по меньшей мере шестью пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $22,2^\circ$  и  $22,5^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-

ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $22,2^\circ$  и  $22,5^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $10,2^\circ$ ,  $12,3^\circ$ ,  $12,7^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $15,3^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $21,3^\circ$ ,  $22,2^\circ$ ,  $22,5^\circ$  и  $23,8^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $10,2^\circ$ ,  $11,0^\circ$ ,  $11,4^\circ$ ,  $11,8^\circ$ ,  $12,3^\circ$ ,  $12,7^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $15,3^\circ$ ,  $16,1^\circ$ ,  $17,4^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$ ,  $21,3^\circ$ ,  $22,2^\circ$ ,  $22,5^\circ$  и  $23,8^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$  и  $20,8^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$  и  $20,8^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$  и  $22,2^\circ$ . В качестве другой альтернативы, 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид имеет кристаллическую форму **1**, характеризующуюся пиками рентгеновской порошковой дифракции при углах  $2\Theta$ , выбранных из  $10,0^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $14,9^\circ$ ,  $20,2^\circ$ ,  $20,8^\circ$  и  $22,2^\circ$ .

**[0036]** В одном аспекте 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид, описанный в данном документе, представляет собой (2R)-7-хлор-2-(транс-4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-

диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид.

**[0037]** Термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному носителю, адъюванту или среде, которые не оказывают неблагоприятного влияния на фармакологическую активность соединения, с которым они составлены в композицию, и которые также являются безопасными для применения человеком. Фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или среды, которые можно использовать в композициях по данному описанию, включают, но не ограничиваясь, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, стеарат магния, лецитин, белки сыворотки, такие как альбумин сыворотки человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновую кислоту, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы (например, микрокристаллическую целлюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, моногидрат лактозы, лаурилсульфат натрия и кроскармеллозу натрия), полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропиленовые блок-полимеры, полиэтиленгликоль и ланолин.

**[0035]** Соединения, описанные в данном документе, могут быть представлены в форме фармацевтически приемлемых солей. Для применения в медицине соли соединений, описанных в данном документе, относятся к нетоксичным «фармацевтически приемлемым солям». Формы фармацевтически приемлемых солей включают фармацевтически приемлемые кислотные/анионные или основные/катионные соли, при наличии такой возможности.

**[0039]** Композиции и способы введения, описанные в данном документе, могут быть пероральными, парентеральными, для введения ингаляцией спрея, местными, ректальными, назальными, буккальными, вагинальными или для введения через имплантированный резервуар. Термин «парентеральный», используемый в данном документе, включает подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрисуставный, интрасиновиальный, интрастернальный, интратекальный, внутрипеченочный, внутритканевый и внутричерепной способ введения инъекций или инфузий.

**[0040]** Следует также понимать, что конкретная дозировка и схема лечения для любого индивидуального пациента зависит от различных факторов, включая возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, рацион питания, время введения, скорость экскреции,

комбинацию лекарств, решение лечащего врача и тяжесть конкретного заболевания, подлежащего лечению. Количество предложенного соединения в композиции зависит также от конкретного соединения в композиции.

**[0041]** Термины «субъект» и «пациент» могут быть использованы взаимозаменяемо и означают млекопитающее, нуждающееся в лечении, например, домашних животных (например, собак, кошек и т.п.), сельскохозяйственных животных (например, коров, свиней, лошадей, овец, коз и т.п.) и лабораторных животных (например, крыс, мышей, морских свинок и т.п.). Обычно субъектом является человек, нуждающийся в лечении.

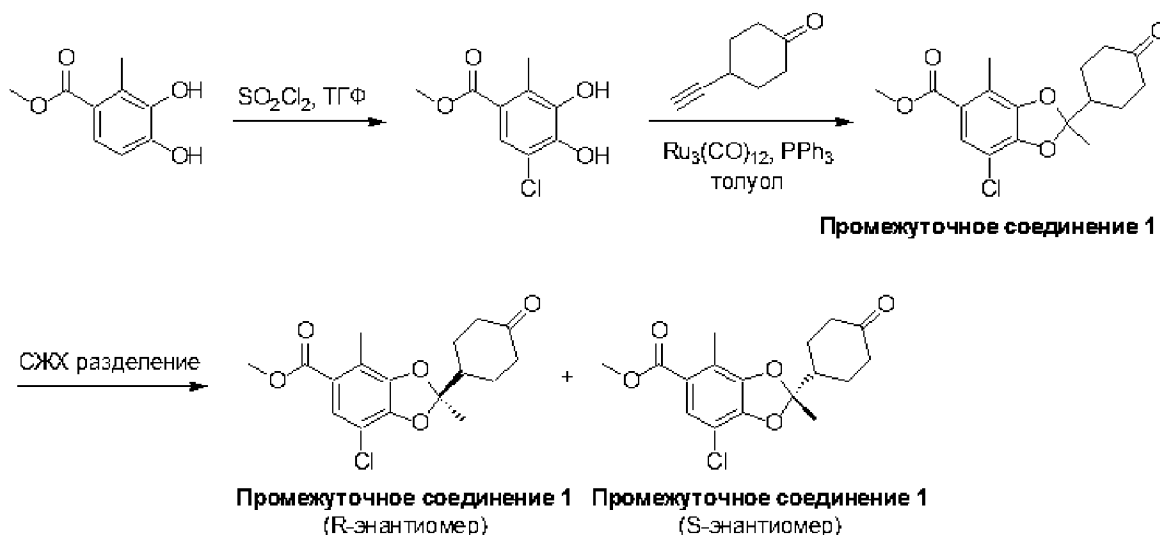
**[0042]** Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству соединения, описанного в данном документе, которое вызывает определенный биологический или медицинский ответ у субъекта, например, к дозе от 0,01 до 100 мг/кг массы тела в сутки. В одном аспекте эффективное количество 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид или его фармацевтически приемлемой соли; и эффективное количество ингибитора топоизомеразы или ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена, описанного в данном документе, является таким, что вместе они вызывают комбинированный эффект для измеримого лечения одного или более видов рака, описанных в данном документе.

## **ПРИМЕРЫ**

**[0043]** Далее данное изобретение будет проиллюстрировано следующими неограничивающими примерами.

**[0044]** Соединение 1 может быть получено в виде одного энантиомера, одного геометрического изомера с применением следующего способа, описанного ниже.

**[0045]** Промежуточное соединение 1: метил-7-хлор-2,4-диметил-2-(4-оксоциклогексил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксилат



**[0046] Стадия 1: Синтез метил-5-хлор-3,4-дигидрокси-2-метилбензоата**

**[0047]** К раствору метил-3,4-дигидрокси-2-метилбензоата (5,11 г, 27,9 ммоль) в тетрагидрофуране (199 мл) при -20 °С по каплям добавляли сульфурилхлорид (2,45 мл, 30,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при -20 °С в течение 3 часов, затем гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония (50 мл). Требуемый продукт экстрагировали этилацетатом (25 мл × 3). Объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором (25 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (силикагель, градиент от 0% до 60% этилацетата в гептане) с получением указанного в заголовке соединения (4,117 г, выход 68%) в виде бежевого твердого вещества. ЖХМС  $[M+H]^+$  m/z: расч. 217,0; найдено 217,1 (профиль изотопа Cl).

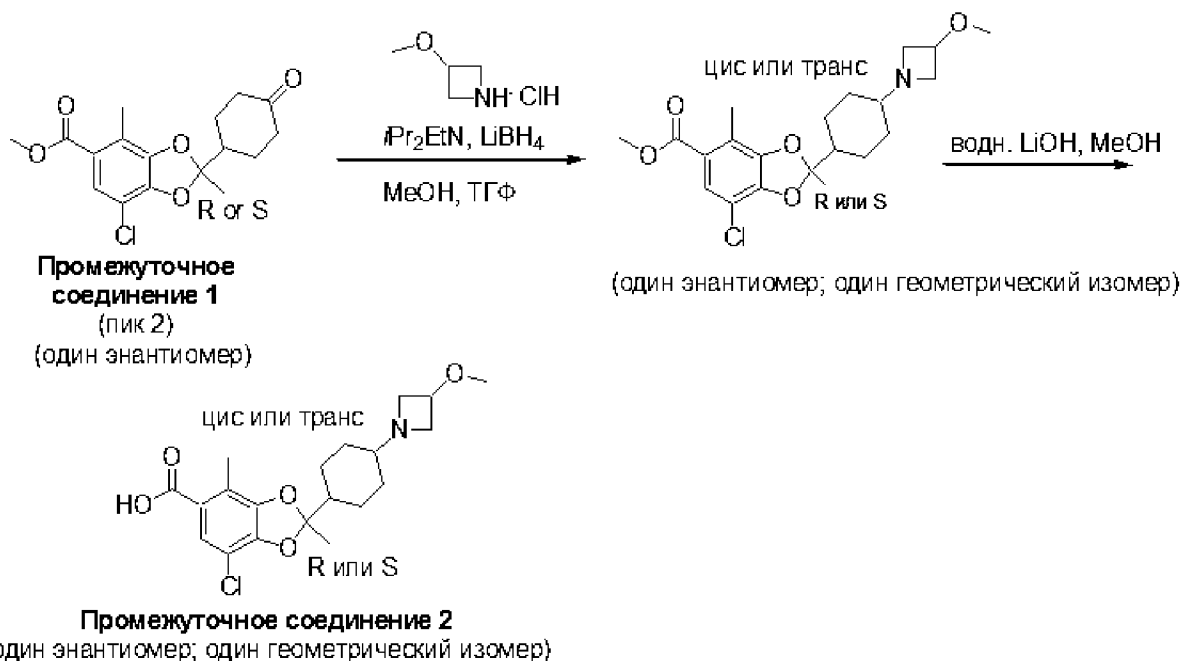
**[0048] Стадия 2: Синтез метил-7-хлор-2,4-диметил-2-(4-оксоциклогексил)-2Н-1,3-бензодиоксол-5-карбоксилата**

**[0049]** Смесь метил-5-хлор-3,4-дигидрокси-2-метилбензоата (1,2 г, 5,53 ммоль), додекакарбонилтрирутения (176 мг, 276 мкмоль) и трифенилфосфина (145 мг, 553 мкмоль) дегазировали под вакуумом и продували азотом (3 цикла). Добавляли толуол (8,1 мл) и нагревали реакционную смесь до кипения с обратным холодильником в течение 30 минут. Затем по каплям добавляли раствор 4-этинилциклогексан-1-она (1,34 г, 11,0 ммоль) в толуоле (17 мл) и перемешивали реакционную смесь в течение 23 часов при кипении с обратным холодильником. Наконец, реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (силикагель, градиент от 0 до 60% этилацетата в гептане) с получением указанного в заголовке соединения (1,327 г, выход 70%) в виде желтого маслянистого вещества. ЖХМС  $[M+Na]^+$  m/z: расч. 361,1; найдено 361,1 (профиль изотопа Cl).

**[0050] Стадия 3: Разделение метил-(R)-7-хлор-2,4-диметил-2-(4-оксоциклогексил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксилата и метил-(S)-7-хлор-2,4-диметил-2-(4-оксоциклогексил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксилата**

**[0051]** Рацемическую смесь метил-7-хлор-2,4-диметил-2-(4-оксоциклогексил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксилата (4,4 г, 13 ммоль) разделяли с помощью препаративной СЖХ [колонок: ChiralPak AY производства компании Daicel Chemical Industries (250 мм × 50 мм внутр. диам., 10 мкм). Подвижная фаза А: CO<sub>2</sub> / подвижная фаза В: 0,1% NH<sub>4</sub>ОН в метаноле. Изократическое элюирование (85% подвижной фазы А и 15% подвижной фазы В). Скорость потока: 80 мл/мин. Температура колонки: 40 °С]. Промежуточное соединение 1 (пик 1) (нежелательный энантиомер/дистомер): Время удерживания = 6,2 мин. Извлечение = 1,4 г, 4,05 ммоль, выход 31%, э.и. 90%, чистота 98% (желтое твердое вещество). <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 7,48 (с, 1Н), 3,78 (с, 3Н), 2,44 - 2,36 (м, 2Н), 2,35 - 2,25 (м, 6Н), 2,19 (тдд, *J* = 2,8, 5,6, 13,1 Гц, 2Н), 1,70 - 1,57 (м, 5Н). Промежуточное соединение 1 (пик 2) (желательный энантиомер/эутомер): Время удерживания = 7,0 мин. Извлечение = 1,1 г, 3,08 ммоль, выход 23,75%, э.и. 99%, чистота 95% (желтое твердое вещество). <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 7,49 (с, 1Н), 3,78 (с, 3Н), 2,44 - 2,36 (м, 2Н), 2,36 - 2,25 (м, 6Н), 2,20 (тдд, *J* = 2,8, 5,6, 13,1 Гц, 2Н), 1,72 - 1,59 (м, 5Н). Аналитический метод СЖХ: [колонок: ChiralPak AY-3 (150 × 4,6 мм внутр. диам., 3 мкм). Подвижная фаза А: CO<sub>2</sub> / подвижная фаза В: 0,05% Et<sub>2</sub>NH в *i*PrОН. Градиент: от 5 до 40% подвижной фазы В (за 5,5 мин). Скорость потока: 2,5 мл/мин. Температура колонки: 40 °С]. Промежуточное соединение 1 (пик 1 – нежелательный энантиомер/дистомер): Время удерживания = 2,853 мин. Промежуточное соединение 1 (пик 2 – желательный энантиомер/эутомер): Время удерживания = 2,979 мин.

**[0052] Промежуточное соединение 2: 7-хлор-2-(4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметилбензо[d][1,3]диоксол-5-карбоновая кислота**



**[0053] Стадия 1: Синтез метил-7-хлор-2-(4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметилбензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксилата**

Раствор гидрохлоридной соли 3-метоксiazетидина (8 г, 64,75 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (12 мл, 68,9 ммоль) в метаноле (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, затем добавляли другой раствор метил-7-хлор-2,4-диметил-2-(4-оксоциклогексил)-1,3-бензодиоксол-5-карбоксилата (промежуточное соединение 1 – пик 2) (4,1 г, 12,10 ммоль) в тетрагидрофуране (30 мл). Перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 1 часа, затем охлаждали до -70 °С. Добавляли боргидрид лития (500 мг, 22,96 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при -70 °С в течение 30 минут [или до полного расходования исходного материала, по данным ТСХ, этилацетат/метанол 5:1]. Затем объединяли две реакционные смеси и гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония (120 мл) при 0 °С, и экстрагировали требуемый продукт дихлорметаном (200 мл × 3). Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (силикагель, градиент от 0 до 14% метанола в дихлорметане) с получением указанного в заголовке соединения (8,05 г, выход 67%, чистота 83%) в виде светло-желтого маслянистого вещества. Образец (50 мг) дополнительно очищали препаративной тонкослойной хроматографией (силикагель, этилацетат:метанол 15:1). ЖХМС  $[M+H]^+$  m/z: расч. 410,2; найдено 410,1.  $^1H$  ЯМР (400 МГц, метанол- $d_4$ )  $\delta$  7,39 (с,

1H), 3,95 - 3,91 (м, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,59 - 3,51 (м, 2H), 3,16 (с, 3H), 2,97 (шдд,  $J = 6,4, 8,0$  Гц, 2H), 2,26 (с, 3H), 2,11 - 2,02 (м, 1H), 1,91 - 1,73 (м, 5H), 1,54 (с, 3H), 1,22 - 1,12 (м, 2H), 0,98 - 0,86 (м, 2H).

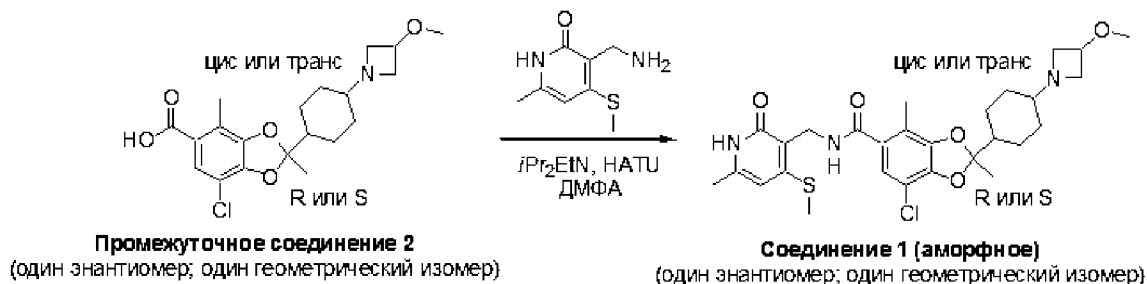
**[0054] Стадия 2: Синтез 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметилбензо[d][1,3]диоксол-5-карбоновой кислоты**

**[0055]** К раствору метил-7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметилбензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксилата (4 г, 9,75 ммоль) в метаноле (48 мл) добавляли раствор гидрата гидроксида лития (4,03 г, 96,06 ммоль) в воде (12 мл).

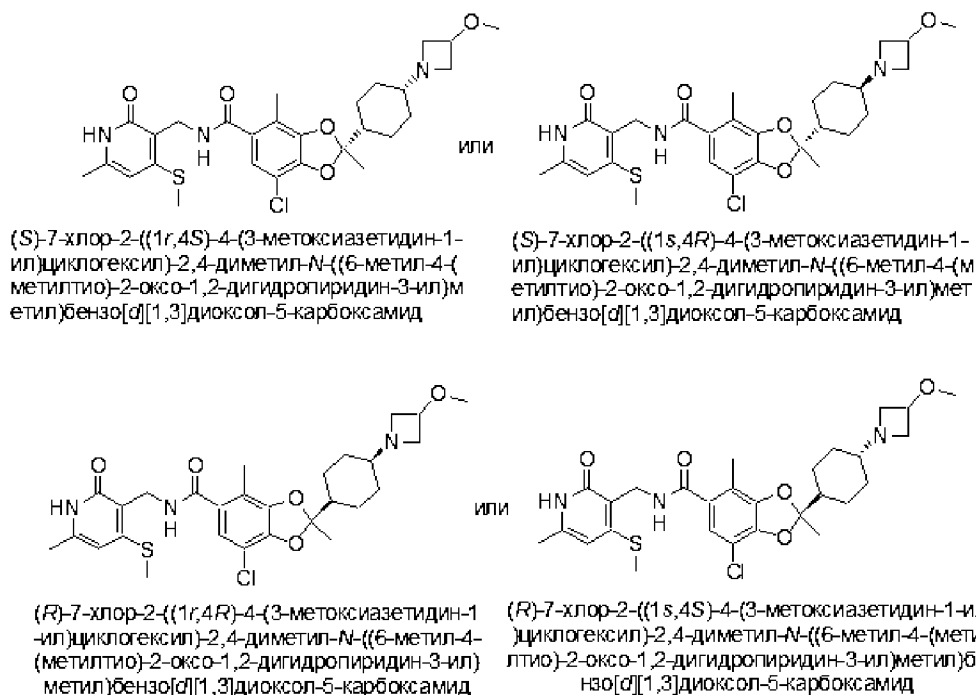
Реакционную смесь перемешивали при 70 °С в течение 2 часов, затем объединяли две партии и концентрировали при пониженном давлении. Добавляли воду (50 мл) и доводили рН до 6 с помощью насыщенного водного раствора лимонной кислоты при 0 °С.

Требуемый продукт экстрагировали 3:1 смесью дихлорметана и изопропанола (300 мл × 5). Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали досуха при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (6,1 г, неочищенное) в виде почти белого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС  $[M+H]^+$   $m/z$ : расч. 396,2; найдено 396,1.  $^1H$  ЯМР (400 МГц, метанол- $d_4$ )  $\delta$  7,07 (с, 1H), 4,05 - 4,10 (м, 2H), 3,76 - 3,88 (м, 1H), 3,67 (шдд,  $J = 10, 3,6$  Гц, 2H), 3,22 (с, 3H), 2,71 - 2,81 (м, 1H), 2,19 (с, 3H), 1,91 - 1,99 (м, 4H), 1,75 - 1,85 (м, 1H), 1,52 (с, 3H), 1,18 - 1,28 (м, 2H), 1,06 - 1,14 (м, 2H).

## Соединение 1



|||



**[0056]** К раствору 7-хлор-2-(4-(3-метоксиазетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметилбензо[d][1,3]диоксол-5-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 2 – один энантиомер и геометрический изомер) (5 г, 12,63 ммоль) в N,N-диметилформамиде (50 мл) добавляли гексафторфосфат O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония (5,7 г, 14,99 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (11 мл, 63,15 ммоль). Перемешивали смесь при 20 °С в течение 30 минут, затем добавляли гидрохлоридную соль 3-(аминометил)-6-метил-4-(метилтио)пиридин-2(1H)-она (промежуточное соединение 1) (4,2 г, 19,03 ммоль). Перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре еще 1,5 часа, затем фильтровали. Очищали фильтрат препаративной ВЭЖХ [колонка: Phenomenex Gemini C18 (250 мм × 50 мм, 10 мкм). Подвижная фаза А: вода (0,04% гидроксида аммония об./об. и 10 mM бикарбоната аммония) / подвижная фаза В: ацетонитрил. Градиент (от 75 до 44% подвижной фазы А / от 25 до 56% подвижной фазы В за 23 мин). Температура колонки: 30 °С] с получением указанного в заголовке соединения (4,4 г, выход 60%, чистота 96%), в виде белого твердого вещества. ЖХМС

[M+H]<sup>+</sup> m/z: расч. 562,2% найдено 562,2. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 6,91 (с, 1H), 6,29 (с, 1H), 4,50 (с, 2H), 4,01 (квин., J = 6 Гц, 1H), 3,58 (дд, J = 8,8, 6,4 Гц, 2H), 3,26 (с, 3H), 2,92 - 3,02 (м, 2H), 2,54 (с, 3H), 2,31 (с, 3H), 2,21 (с, 3H), 2,01 - 2,11 (м, 1H), 1,79 - 2,00 (м, 5H), 1,62 (с, 3H), 1,19 - 1,34 (м, 2H), 0,91 - 1,08 (м, 2H).

**[0057] 1. Основные фармакологические свойства *In Vitro***

**[0058] A. Механизм действия**

**[0059]** В биохимических анализах соединение **1** подавляет каталитическую активность дикого типа и мутанта Y641N EZH2-содержащего комплекса PRC2, а также EZH1-содержащего комплекса PRC2 со значениями полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC<sub>50</sub>) 0,02 и 0,03 нМ для дикого типа и мутанта Y641N EZH2, соответственно, и 0,06 нМ для EZH1. См., например, PCT/US2019/027932. Биохимическая эффективность дает заниженную оценку истинной аффинности соединения **1**, и дополнительная характеристика связывания, полученная в кинетических анализах, позволяет предположить константу ингибирования приблизительно 0,11 пМ для EZH2 и приблизительно 70-кратную селективность в отношении EZH2 по сравнению с EZH1. На основании кинетического анализа установлено, что соединение **1** связывается с PRC2 с продолжительным временем пребывания (приблизительно 101 день). См., например, PCT/US2019/027932.

**[0060] B. Влияние на общие внутриклеточные уровни H3K27me3 и генную экспрессию**

**[0061]** Способность соединения **1** снижать общие внутриклеточные уровни H3K27me3 оценивали в клеточной линии рака шейки матки, содержащей EZH2 дикого типа (HeLa). Через 4 дня обработки соединение **1** было способно снижать общие уровни H3K27me3 со значением EC<sub>50</sub> 0,40 нМ. См., например, PCT/US2019/027932. Соединение **1** было способно демонстрировать аналогичную эффективность в других клеточных линиях солидных опухолей, включая клеточные линии рака мочевого пузыря (639V и HT1197) и рака яичника TOV21G, со значениями EC<sub>50</sub> на 3 день 0,09, 0,14 и 0,26 нМ, соответственно.

**[0062]** Снижение уровня H3K27me3 приводит к изменению генной экспрессии. РНК-секвенирование клеточных линий рака мочевого пузыря после обработки соединением **1** в течение 4 дней показало существенное изменение уровней экспрессии многих генов. Преобладающим изменением было увеличение генной экспрессии, поскольку очень немногие гены были существенно снижены. Увеличение генной экспрессии зависит и от дозы, и от времени, при этом наблюдали увеличение экспрессии при более высоких концентрациях соединения **1** и в более поздние моменты времени. Это контрастирует со

снижением H3K27me3, поскольку изменение метильной метки наблюдали через 1 день обработки соединением **1**. Следует отметить, что одним из значительно активированных генов был CDKN1C, также известный как p57 или Kip2, известный супрессор опухоли и отрицательный регулятор клеточного цикла, который ранее был описан как ген-мишень EZH2. См. Yang X, Karuturi RK, Sun F, et al. CDKN1C (p57) is a direct target of EZH2 and suppressed by multiple epigenetic mechanisms in breast cancer cells. PLoS One.

2009;4(4):e5011. Низкая экспрессия CDKN1C наблюдается при запущенном раке мочевого пузыря и молочной железы, и она коррелирует с неблагоприятным прогнозом. См. публикацию Yang, указанную выше, и Hoffmann MJ, Florl AR, Seifert HH, et al. Multiple mechanisms downregulate CDKN1C in human bladder cancer. Int J Cancer. 2005, 10 апреля;114(3):406-13.

## **[0063] 2. Антипролиферативный эффект**

### **[0064] A. Синергия с соединением 1 и цисплатином (ДНК-алкилирующим агентом)**

**[0065]** Оценивали чувствительных различных клеточных линий рака солидных опухолей к антипролиферативной активности соединения **1** с цисплатином и без него. Сначала было обнаружено, что цисплатин-резистентные варианты клеточной линии рака яичника A2780 (A2780-CR) и клеточной линии рака мочевого пузыря (HT1376-CR) менее восприимчивы к цисплатину, чем исходные (A2780-P) или DMF-контрольные, соответствующие возрасту (HT1376-DMF) клеточные линии (см. **Фиг. 1А**), тогда как цисплатин-резистентные варианты A2780 и HT1376 остаются весьма чувствительными к соединению **1** (**Фиг. 1В**). Однако комбинированное лечение с применением соединения **1** и цисплатина приводит к более чем 50% снижению роста. См. **Фиг. 2А** и **Фиг. 2В**.

**[0066]** Подобные результаты наблюдали в клеточных линиях рака мочевого пузыря HT1376. Например, цисплатин-восприимчивые (-DMF) и резистентные (-CR) клеточные линии HT1376 демонстрировали усиленный эффект на клеточный рост при комбинировании обработки цисплатином с соединением **1**. См. **Фиг. 3А** и **Фиг. 3В**. Кроме того, соединение **1** в отдельности и в комбинации с цисплатином было эффективным для уменьшения роста опухоли. См. **Фиг. 4**. В совокупности, полученные данные свидетельствуют о том, что соединение **1** можно комбинировать с другими химиотерапевтическими агентами для синергетического лечения солидных опухолей, таких как рак мочевого пузыря и яичника.

### **[0067] В. Синергия с соединением 1 и энзалутамидом (ингибитором передачи сигналов рецептора андрогена)**

**[0068]** Оценивали противоопухолевый эффект соединения **1** в отдельности и в комбинации с ингибитором передачи сигналов рецептора андрогена энзалутамидом в

опухолях CTG 2428 PDX у мышей NOG. Как показано на **Фиг. 5**, комбинация соединения **1** и энзалутамида уменьшает абсолютный объем опухоли лучше, чем соединение **1** или энзалутамид по отдельности. Аналогичные результаты наблюдали в опухолях CTG-2440 PDX (**Фиг. 6**) и в опухолях CTG-2441 PDX у мышей NOG (**Фиг. 7**). Полученные данные доказывают, что соединение **1** можно комбинировать с ингибиторами передачи сигналов рецептора андрогена, такими как энзалутамид, для лечения раковых солидных опухолей, таких как рак предстательной железы.

**[0069] 3. Основные фармакологические свойства *In Vivo* (моно- и комбинированная терапия)**

**[0070]** Исследование 1/2 фазы для оценки безопасности, переносимости и предварительной клинической активности монотерапии с применением соединения **1** и его комбинации с иринотеканом в 6 болезнь-специфических когортах на этапе повышения доз будет проведено в соответствии с общими способами, описанными ниже. Фаза 1 будет состоять из монотерапии соединения **1** с повышением дозы и периодов повышения дозы комбинированной терапии (соединение **1** + иринотекан) у пациентов с запущенными рецидивирующими солидными опухолями; фаза 2 будет включать увеличение дозы монотерапии и периоды увеличения дозы комбинированной терапии в 6 болезнь-специфических когортах на этапе повышения доз.

**[0071] A. Эффективность одного агента**

**[0072]** Пациенты, включаемые в следующие когорты, будут принимать пероральную монотерапию с соединением **1**:

- Когорты повышения дозы монотерапии у пациентов с запущенными рецидивирующими солидными опухолями.
- Когорта 1 повышения дозы у пациентов с уротелиальной карциномой.
- Когорта 2 повышения дозы у пациентов со светлоклеточной карциномой яичника.
- Когорта 3 повышения дозы у пациентов с эндометриальной карциномой.

**[0073]** В данное исследование будут включены пригодные для оценки пациенты с запущенными солидными опухолями на протяжении 2 фаз. Пригодность будет включать определенные критерии, например, наличие рецидива после или прогрессирование в ходе стандартного лечения. Фаза 1 предназначена для определения максимально переносимой дозы (MTD) и/или рекомендованной дозы для 2 фазы (RP2D) для соединения **1** в качестве монотерапии для пациентов с запущенными солидными опухолями. Вторичные задачи

включают оценку безопасности и переносимости соединения **1**, фармакокинетического (ФК) и фармакодинамического (ФД) профиля соединения **1**, а также предварительной клинической активности соединения **1**. Фаза 2 предназначена для оценки противоопухолевой активности соединения **1** в качестве монотерапии у пациентов с wybranymi солидными опухолями (например, с уротелиальной карциномой, со светлоклеточной карциномой яичника и с эндометриальной карциномой).

**[0074]** Пациенты, включаемые в группу повышения дозы монотерапии в данном исследовании, будут получать соединение **1** перорально (РО) один раз в сутки (QD) в течение непрерывных 4-недельных (28-дневных) циклов. Исходная доза соединения **1** составляет 50 мг. Доза соединения **1** будет повышаться на  $\leq 100\%$  до появления по меньшей мере неблагоприятного явления 2 степени, связанного с лечением (за исключением анемии или лимфоцитопении), после чего доза соединения **1** может быть повышена на  $\leq 40\%$ . Можно проводить оценку промежуточных или дополнительных уровней доз, если это рекомендовано на основании обзора появляющихся данных о безопасности, ФК или ФД. Уровни доз соединения **1** выше 300 мг QD будут повышаться на  $\leq 25\%$ .

**[0075]** **В. Комбинированная эффективность**

**[0076]** Пациенты, включаемые в следующие когорты, будут принимать пероральную монотерапию с соединением **1**:

- Когорты повышения дозы комбинированной терапии у пациентов с запущенными рецидивирующими солидными опухолями.
- Когорта 4 повышения дозы у пациентов с мелкоклеточным раком легких (SCLC)
- Когорта 5 повышения дозы у пациентов с аденокарциномой желудка или желудочно-пищеводного перехода (GEJ)
- Когорта 6 повышения дозы у пациентов с серозным раком яичника

**[0077]** В данное исследование будут включены пригодные для оценки пациенты с запущенными солидными опухолями на протяжении таких же 2 фаз, как для дозы монотерапии, за исключением того, что выбранные солидные опухоли будут представлять собой мелкоклеточный рак легких, рак желудка или желудочно-пищеводного перехода и серозный рак яичника. Пригодность будет включать определенные критерии, например, наличие рецидива после или прогрессирование в ходе стандартного лечения.

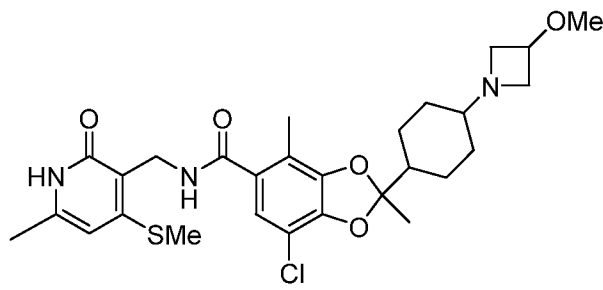
**[0078]** Несмотря на то, что описаны многие варианты реализации данного изобретения, что приведенные базовые примеры можно изменять с получением других вариантов реализации, в которых используют соединения и способы по данному

изобретению. Таким образом, следует понимать, что объем данного изобретения следует определять прилагаемой формулой изобретения, а не конкретными вариантами реализации, которые представлены в качестве примера.

**[0079]** Полное содержание всех ссылок (включая литературные ссылки, выданные патенты, опубликованные патентные заявки и патентные заявки, находящиеся на рассмотрении), цитируемых в данной заявке, в явном виде включено в данный документ посредством ссылки. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют значения, известные специалистам в данной области техники.

### Формула изобретения:

1. Способ лечения солидной опухоли у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу:



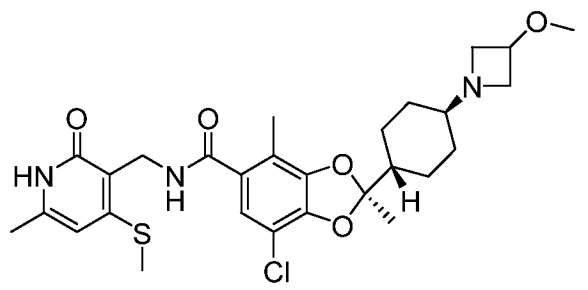
или его фармацевтически приемлемой соли; и эффективного количества второго агента, выбранного из ингибитора топоизомеразы, ДНК-алкилирующего агента и ингибитора передачи сигналов рецептора андрогена.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что второй агент представляет собой ингибитор передачи сигналов рецептора андрогена.
3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что второй агент представляет собой ингибитор передачи сигналов рецептора андрогена, выбранный из бикалутамида, энзалутамида, апалутамида, флутамида, нилутамида, даролутамида и ацетата абиратерона.
4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что второй агент представляет собой энзалутамид.
5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что второй агент представляет собой ДНК-алкилирующий агент.
6. Способ по п. 1 или 5, отличающийся тем, что ДНК-алкилирующий агент выбран из бусульфана, циклофосфамида, бендамустина, карбоплатина, хлорамбуцила, циклофосфамида, цисплатина, темозоломида, мелфалана, кармустина, ломустина, дакарбазина, оксалиплатина, ифосфамида, тиотепа, трабектедина, алтретамина, мехлорэтамину, прокарбазина и стрептозоцина.

7. Способ по п. 1 или 5, отличающийся тем, что ДНК-алкилирующий агент представляет собой цисплатин.
8. Способ по п. 1, отличающийся тем, что второй агент представляет собой ингибитор топоизомеразы.
9. Способ по п. 1 или 8, отличающийся тем, что ингибитор топоизомеразы представляет собой ингибитор топоизомеразы I.
10. Способ по п. 1 или 8, отличающийся тем, что ингибитор топоизомеразы выбран из иринотекана, топотекана, камптотецина, ламелларина, этопозиды, тенипозиды, доксорубицина, даунорубицина, митоксантрона, амсакрина, эллиптицинов, ауринтрикарбоновой кислоты, NU-331, эпирубицина, валрубицина, идарубицина, пиксантрона, тенипозиды, билотекана, гиматекана, индотекана, индимитекана.
11. Способ по любому из пп. 1, 8 и 9, отличающийся тем, что ингибитор топоизомеразы представляет собой иринотекан.
12. Способ по любому из пп. 1-11, отличающийся тем, что солидная опухоль выбрана из рака предстательной железы, мелкоклеточного рака легких (SCLC), аденокарциномы желудка или желудочно-пищеводного перехода (GEJ) и серозного рака яичника.
13. Способ по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что солидная опухоль выбрана из мелкоклеточного рака легких (SCLC), аденокарциномы желудка или желудочно-пищеводного перехода (GEJ) и серозного рака яичника.
14. Способ по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что солидная опухоль представляет собой рак предстательной железы.
15. Способ по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что солидная опухоль характеризуется как запущенная опухоль.
16. Способ по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что солидная опухоль характеризуется как рецидивирующая солидная опухоль.

17. Способ по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что указанное соединение вводят одновременно со вторым агентом.

18. Способ по любому из пп. 1-17, отличающийся тем, что указанное соединение имеет формулу



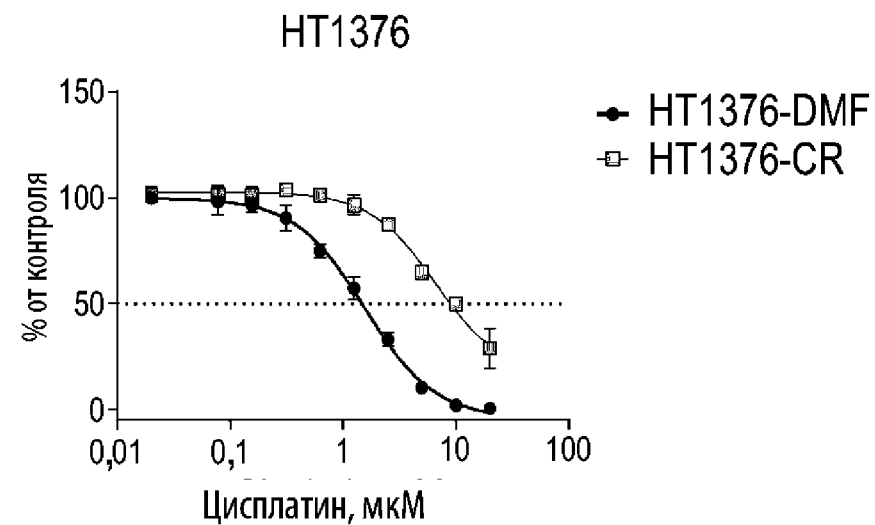
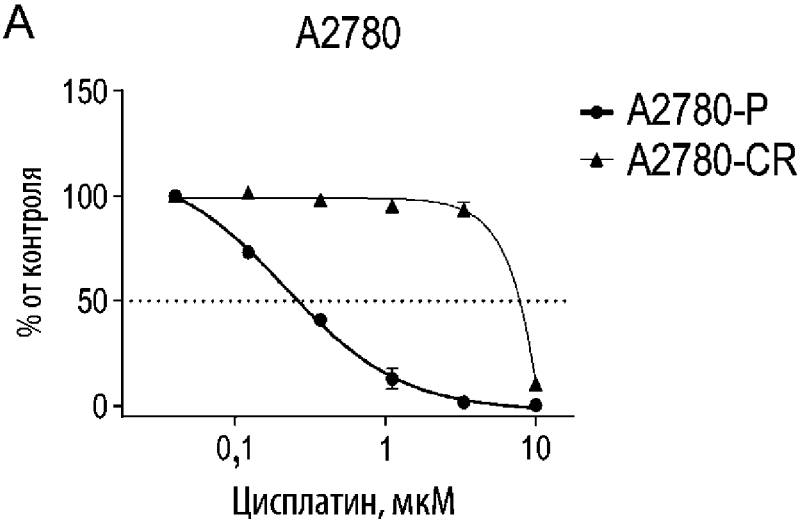
или его фармацевтически приемлемая соль.

19. Способ лечения запущенной рецидивирующей солидной опухоли с применением 7-хлор-2-(4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид или его фармацевтически приемлемой соли.

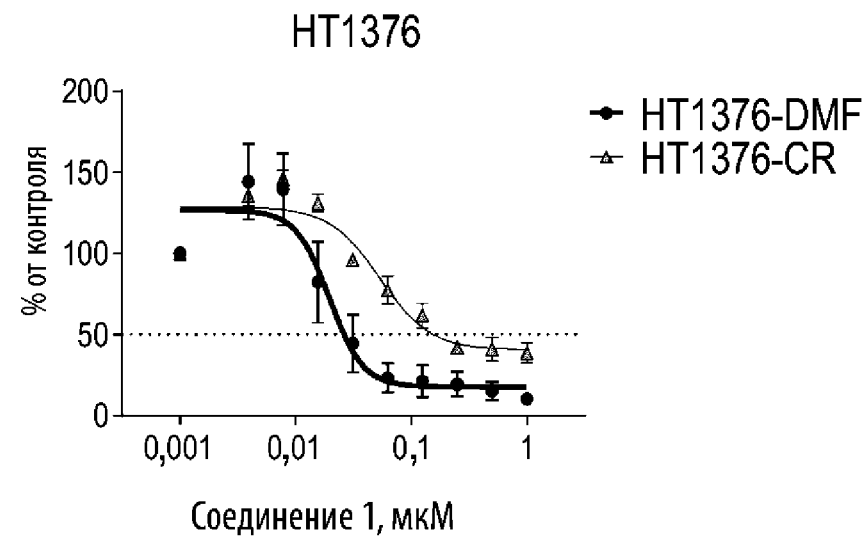
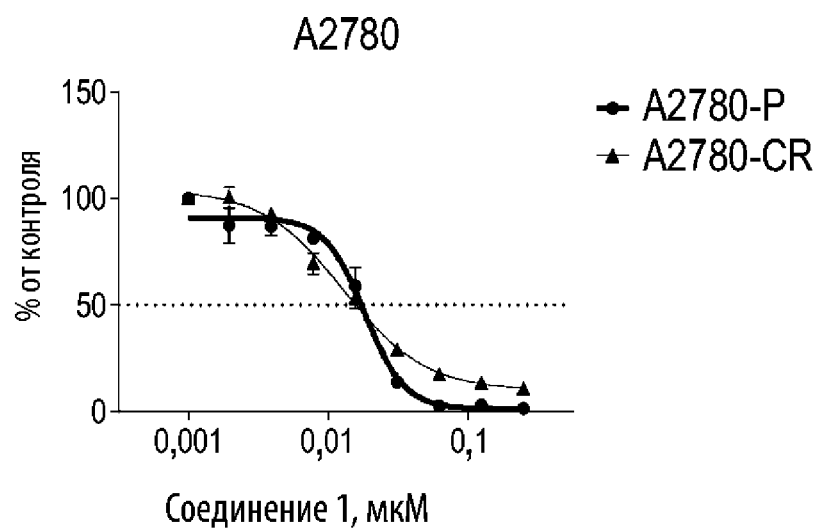
20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что запущенная рецидивирующая солидная опухоль представляет собой запущенную рецидивирующую уротелиальную карциному, запущенную рецидивирующую светлоклеточную карциному яичника или запущенную рецидивирующую эндометриальную карциному.

21. Способ по п. 19 или 20, отличающийся тем, что 7-хлор-2-(4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид представляет собой (2R)-7-хлор-2-(транс-4-(3-метоксiazетидин-1-ил)циклогексил)-2,4-диметил-N-((6-метил-4-(метилтио)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)бензо[d][1,3]диоксол-5-карбоксамид.

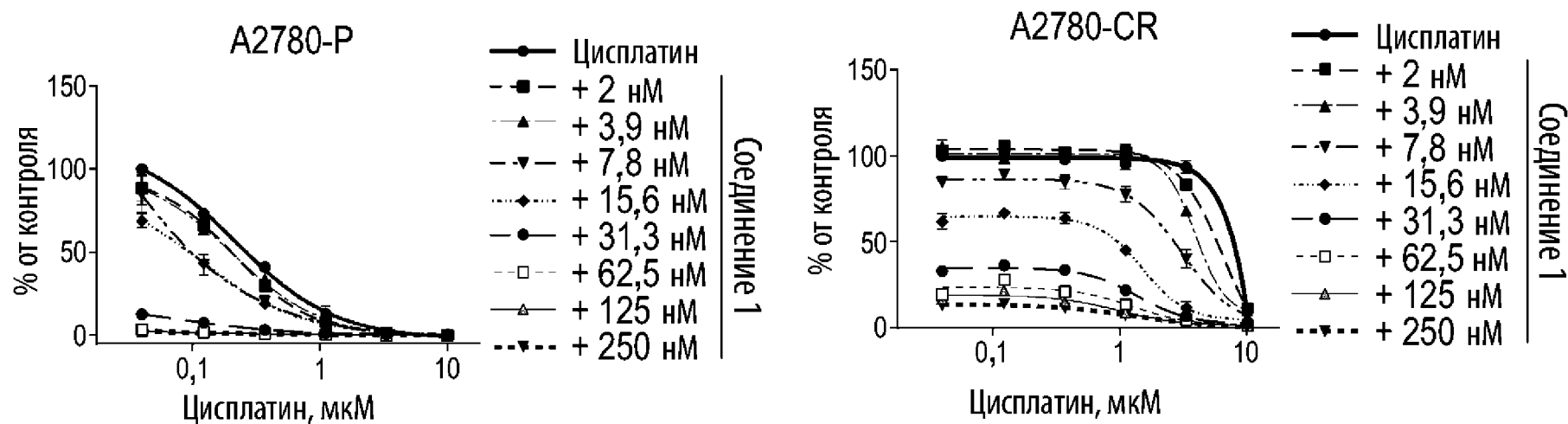
Фиг. 1А



Фиг. 1В



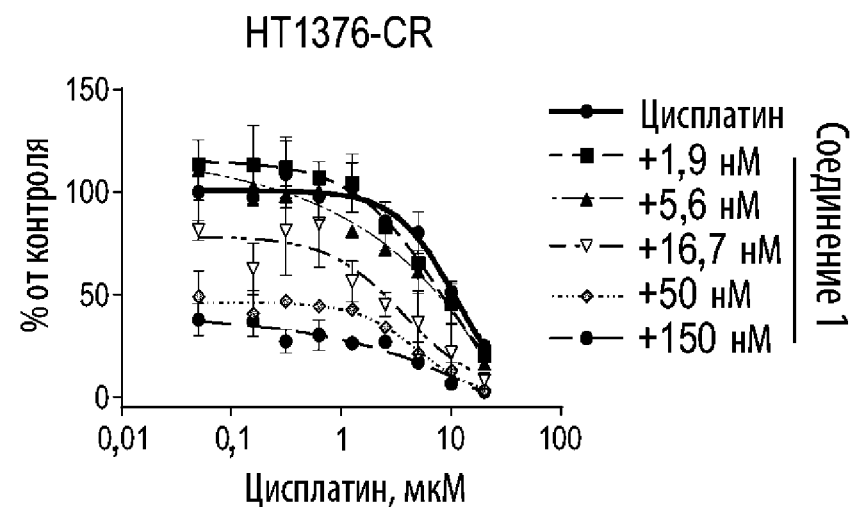
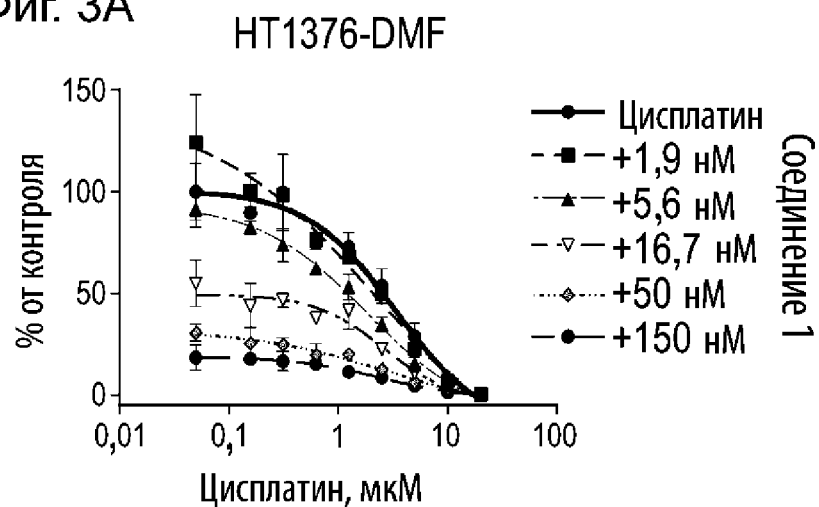
Фиг. 2А



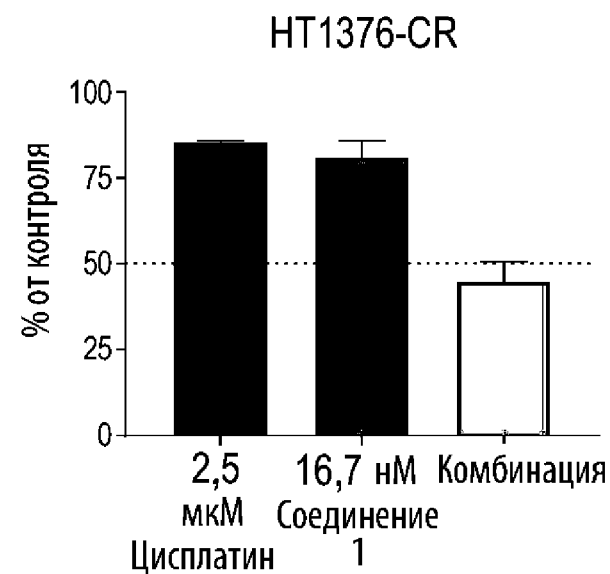
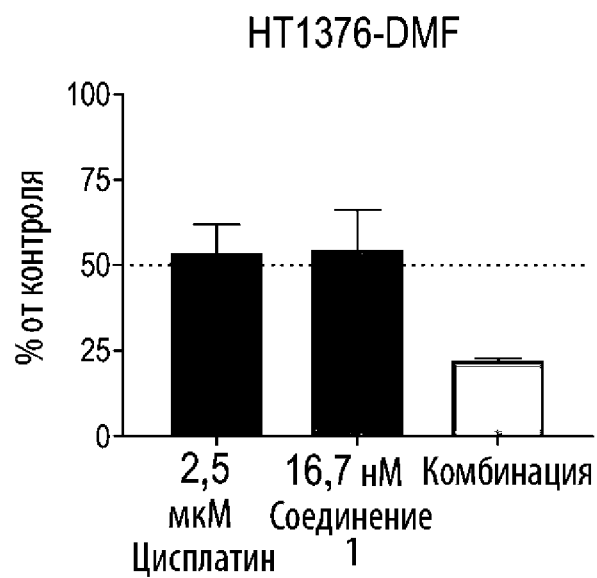
Фиг. 2В



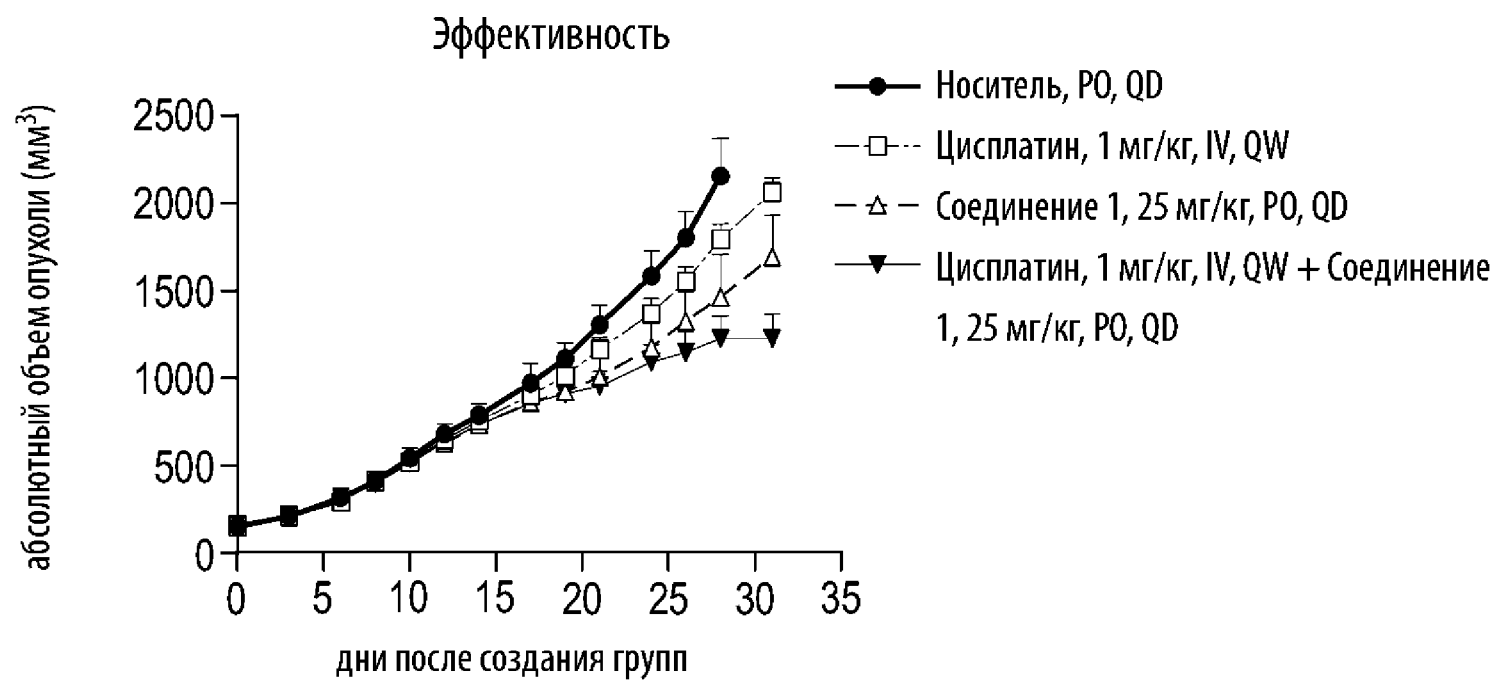
Фиг. 3А



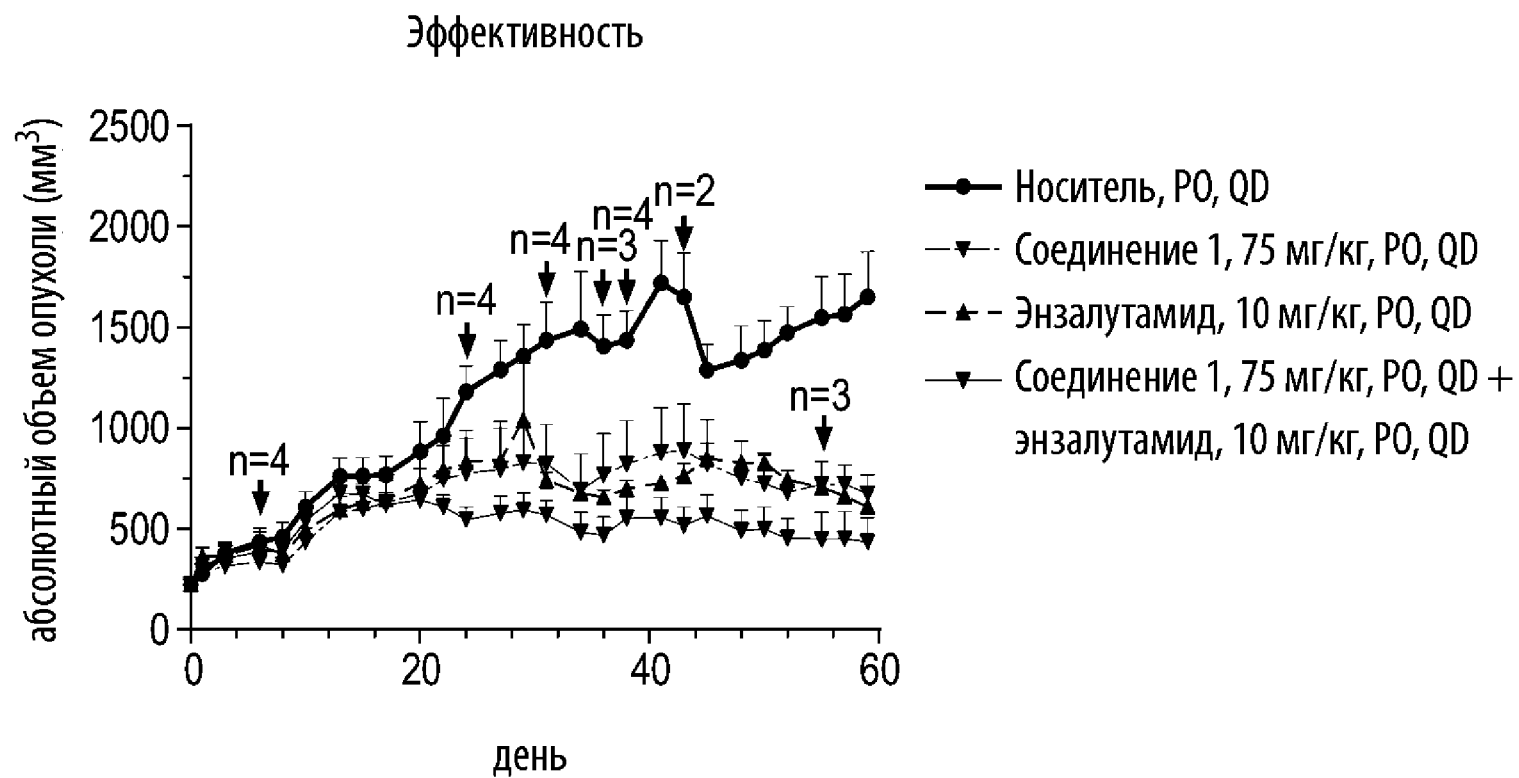
Фиг. 3В



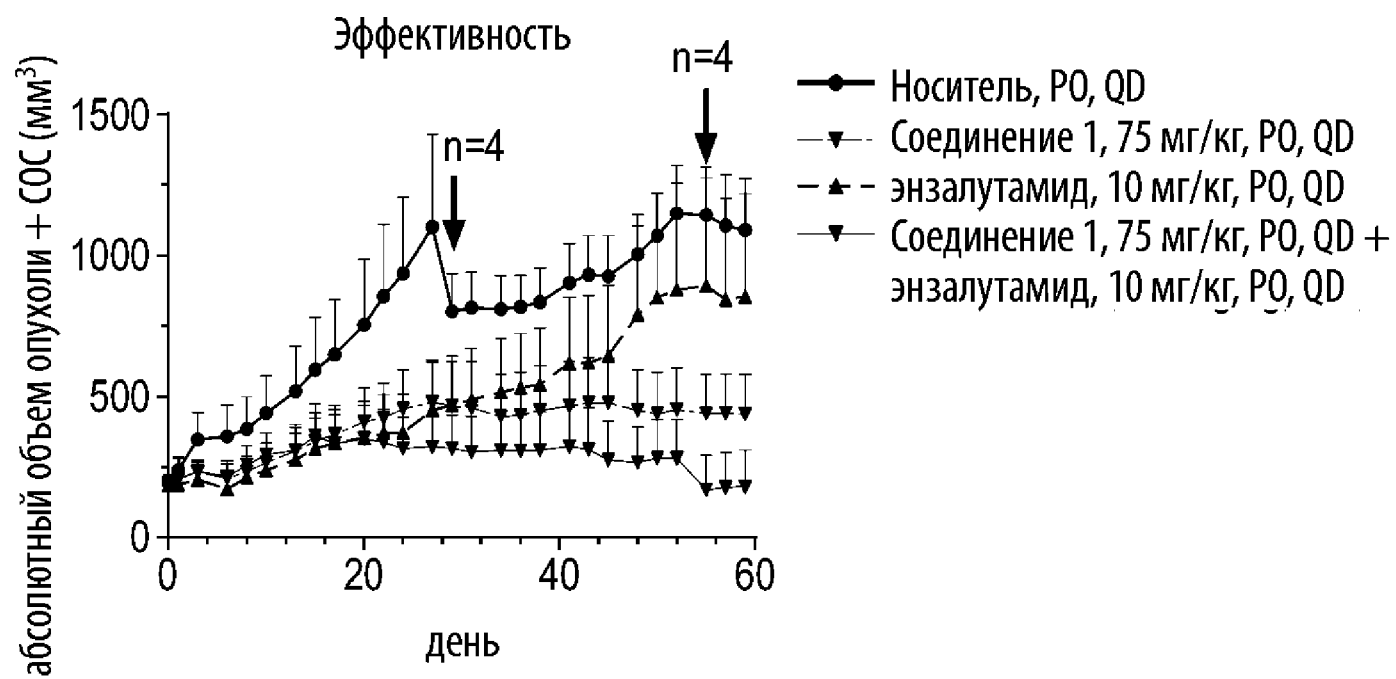
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7

