

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291916 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.11.21

(51) Int. Cl. A61K 31/444 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.01.29

(54) СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/967,359

(32) 2020.01.29

(33) US

(86) PCT/US2021/015876

(87) WO 2021/155262 2021.08.05

(71) Заявитель:
ФОГХОРН ТЕРАПЬЮТИКС ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Васвани Риши Г., Хуан Дэвид С. (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В настоящем изобретении представлены соединения, применимые для лечения нарушений, связанных с комплексом BAF.

A1

202291916

202291916

A1

СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Уровень техники

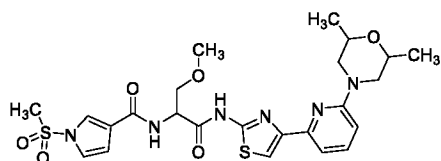
Настоящее изобретение относится к соединениям, применимым для модуляции комплексов BRG1- или BRM-ассоциированных факторов (BAF). В частности, настоящее изобретение относится к соединениям, применимым для лечения нарушений, ассоциированных с функцией комплекса BAF.

Регуляция хроматина важна для экспрессии генов, и АТФ-зависимое ремоделирование хроматина является механизмом, с помощью которого происходит такая экспрессия генов. Комплекс ремоделирования неферментируемого хроматина переключателя/сахарозы человека (SWI/SNF), также известный как комплекс BAF, содержит две SWI2-подобные АТФазы, известные как BRG1 (Brahma-родственный ген-1) и BRM (Brahma). Активатор транскрипции BRG1, также известный как АТФ-зависимый ремодельер хроматина SMARCA4, кодируется геном SMARCA4 на хромосоме 19. BRG1 сверхэкспрессируется в некоторых раковых опухолях и необходим для пролиферации раковых клеток. BRM, также известный как вероятный глобальный активатор транскрипции SNF2L2 и/или АТФ-зависимый ремодельер хроматина SMARCA2, кодируется геном SMARCA2 на хромосоме 9 и, как было проиллюстрировано, необходим для роста опухолевых клеток в клетках, характеризующихся мутациями потери функции BRG1. Деактивация BRG и/или BRM приводит к последующим эффектам в клетках, включая остановку клеточного цикла и подавление опухоли.

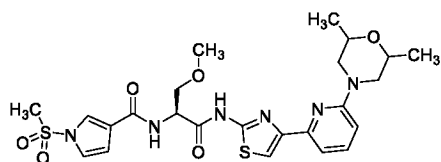
Краткое описание сущности изобретения

В настоящем изобретении представлены соединения, применимые для модуляции комплекса BAF. В некоторых вариантах осуществления соединения применимы для лечения нарушений, ассоциированных с изменением комплекса BAF, например, нарушения, ассоциированного с изменением одного или обоих белков BRG1 и BRM. Соединения по настоящему изобретению, отдельно или в комбинации с другими фармацевтически активными средствами, можно применять для лечения таких нарушений.

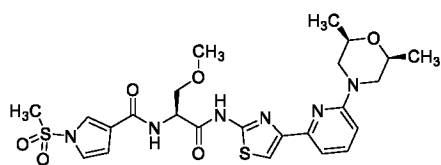
В одном аспекте в настоящем изобретении представлено соединение N-(1-((4-(6-(2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксoproпан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль, характеризующиеся структурой:



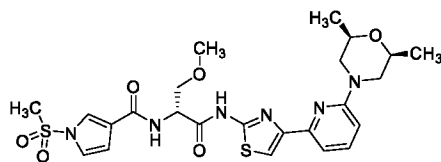
В некоторых вариантах осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль характеризуются структурой:



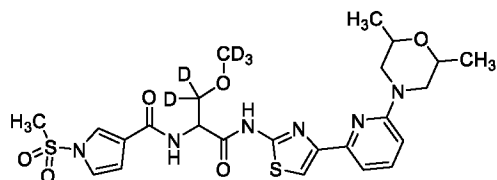
В некоторых вариантах осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль характеризуются структурой:



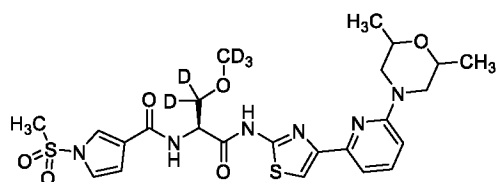
В некоторых вариантах осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль характеризуются структурой:



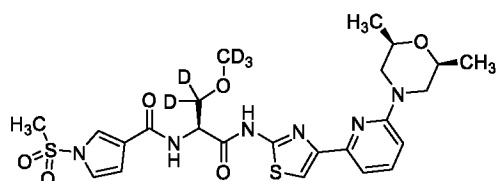
- 5 В другом аспекте в настоящем изобретении представлено соединение N-(1-((4-(6-(2,6-диметилморфино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-(метокси-d3)-1-оксопропан-2-ил-3,3-d2)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль, характеризующиеся структурой:



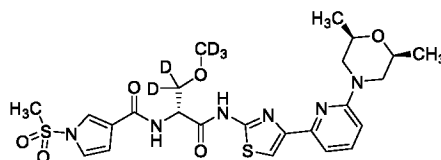
- 10 В некоторых вариантах осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль характеризуются структурой:



В некоторых вариантах осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль характеризуются структурой:



- 15 В некоторых вариантах осуществления соединение или его фармацевтически приемлемая соль характеризуются структурой:



- 20 В другом аспекте в настоящем изобретении представлена фармацевтическая композиция, содержащая любое из вышеуказанных соединений и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ снижения активности комплекса BAF в клетке или у субъекта. Этот способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством

любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций или введение его субъекту.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ ингибирования BRM в клетке или у субъекта. Этот способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций или введение его субъекту.

5 В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ ингибирования BRG1 в клетке или у субъекта. Этот способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций или введение его субъекту.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ ингибирования BRM и BRG1 в клетке или у субъекта. Этот способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством любого из
10 вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций или введение его субъекту.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ индукции апоптоза в клетке или у субъекта. Этот способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций или введение его субъекту.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов клетка представляет собой раковую клетку и/или у субъекта имеется рак.
15

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ лечения нарушения, связанного с комплексом BAF, у субъекта, нуждающегося в этом. Этот способ включает введение субъекту эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ лечения нарушения, связанного с мутацией потери функции BRG1 у субъекта, нуждающегося в этом. Этот способ включает введение субъекту эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций. В некоторых вариантах у установлено, что у субъекта имеется нарушение потери функции BRG1 (например, было установлено, что при нарушении и/или у субъекта имеются клетки с мутацией потери функции BRG1).
20

В некоторых вариантах осуществления вышеуказанных способов нарушение, связанное с комплексом BAF, или нарушение, связанное с мутацией потери функции BRG1, представляет собой рак, вирусную инфекцию, синдром Коффина-Сириса, нейрофиброматоз (например, NF-1, NF-2 или шванноматоз) или множественную менингиому.
25

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом. Этот способ включает введение субъекту эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций.
30

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ снижения опухолевого роста у субъекта, нуждающегося в этом. Этот способ включает введение субъекту эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ подавления метастатического прогрессирования рака у субъекта, нуждающегося в этом. Этот способ включает введение эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций.
35

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ подавления метастатической колонизации (например, метастатической колонизации легкого и/или головного мозга) при раке у субъекта, нуждающегося в этом. Этот способ включает введение эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций.
40

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ снижения уровня и/или активности BRG1 и/или BRM при раке в клетке или у субъекта, нуждающегося в этом. Этот способ включает приведение

клетки в контакт с эффективным количеством любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций или введение его субъекту.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, рак неизвестного происхождения, глиому, рак молочной железы, меланому, немеланомный рак кожи, рак эндометрия, рак пищевода и желудка, рак пищевода, рак поджелудочной железы, гепатобилиарный рак, саркому мягких тканей, рак яичников, рак головы и шеи, почечно-клеточную карциному, рак кости, неходжкинскую лимфому, мелкоклеточный рак легкого, рак предстательной железы, эмбриональную опухоль, опухоль половых клеток, рак шейки матки, рак щитовидной железы, рак слюнной железы, нейроэндокринную опухоль желудочно-кишечного тракта, саркому матки, стромальную опухоль желудочно-кишечного тракта, рак ЦНС, опухоль тимуса, адренокортикальную карциному, рак аппендикса, рак тонкой кишки, рак полового члена или гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак представляет собой рак пищевода.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, первичный рак неизвестного происхождения, глиому, рак молочной железы, меланому, немеланомный рак кожи, рак эндометрия, рак полового члена, рак кости, почечно-клеточную карциному, рак предстательной железы или гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак представляет собой меланому, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак кости, почечно-клеточную карциному или гематологический рак.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому (например, увеальную меланому, меланому слизистых оболочек или кожную меланому). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологический рак (например, множественную миелому, крупноклеточную лимфому, острый Т-клеточный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, иммуноглобулин А ламбда-миелому, диффузную смешанную гистиоцитарную и лимфоцитарную лимфому, В-клеточную лимфому, острую лимфобластную лимфому (например, Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз или В-клеточный острый лимфобластный лейкоз), диффузную крупноклеточную лимфому или неходжкинскую лимфому). В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы (например, ER-позитивный рак молочной железы, ER-негативный рак молочной железы, трижды позитивный рак молочной железы или трижды негативный рак молочной железы). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак кости (например, саркома Юинга). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой почечно-клеточную карциному (например, почечно-клеточную карциному с транслокацией из семейства фактора транскрипции, ассоциированного с микрофталмией (MITF) (tRCC)).

В некоторых вариантах осуществления рак экспрессирует белок BRG1 и/или BRM, и/или клетка или субъект были идентифицированы как экспрессирующие BRG1 и/или BRM. В некоторых вариантах осуществления рак экспрессирует белок BRG1 и/или клетка или субъект были идентифицированы как экспрессирующие BRG1. В некоторых вариантах осуществления рак экспрессирует белок BRM и/или клетка или субъект были идентифицированы как экспрессирующие BRM. В некоторых вариантах осуществления субъект или рак идентифицированы и/или были идентифицированы как имеющие мутацию потери функции

BRG1. В некоторых вариантах осуществления субъект или рак идентифицированы и/или были идентифицированы как имеющие мутацию потери функции BRM.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов определено или было определено, что рак характеризуется одной или более мутациями BRG1 (например, гомозиготными мутациями). В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций BRG1 включают мутацию в каталитическом домене АТФазы белка. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций BRG1 включают делецию на С-конце BRG1.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов определено, что рак не характеризуется или не характеризовался драйверной мутацией киназы анапластической лимфомы (ALK). В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией KRAS.

В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией в GNAQ. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией в GNA11. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией в PLCB4. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией в CYSLTR2. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией в BAP1. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией в SF3B1. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией в EIF1AX. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался транслокацией TFE3. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался транслокацией TFEB. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался транслокацией MTF. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией EZH2. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией SUZ12. В некоторых вариантах осуществления определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией EED.

В некоторых вариантах осуществления рак является метастатическим. Например, рак включает клетки, демонстрирующие миграцию и/или инвазию мигрирующих клеток, и/или включает клетки, демонстрирующие рекрутинг эндотелия и/или ангиогенез. Метастатический рак может распространяться через засевание поверхности перитонеального, плеврального, перикардального или субарахноидального пространств. В качестве альтернативы метастатический рак может распространяться через лимфатическую систему или распространяться гематогенно. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак с миграцией клеток (например, неметастатический рак с миграцией клеток).

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак устойчив к лекарственным средствам (например, определено, что рак устойчив или может быть устойчивым к химиотерапевтическим или цитотоксическим средствам, таким как генетические маркеры, или, вероятно, устойчив к химиотерапевтическим или цитотоксическим средствам, таким как рак, который не ответил на химиотерапевтическое или цитотоксическое средство) и/или не ответил на предшествующую терапию (например, химиотерапевтическое или цитотоксическое средство, иммунотерапию, хирургическое

вмешательство, лучевую терапию, термотерапию или фотокоагуляцию, или их комбинацию).

В некоторых вариантах осуществления рак устойчив к вемурафенибу, дакарбазину, ингибитору CTLA4, ингибитору PD1, терапии интерфероном, ингибитору BRAF, ингибитору MEK, лучевой терапии, темозоломиду, иринотекану, CAR-T терапии, герцептину, перджете, тамоксифену, кселуде, доцетаксолу, средствам на основе платины, таким как карбоплатин, таксанам, таким как паклитаксел и доцетаксел, ингибиторам ALK, ингибиторам MET, алимте, абраксану, доксорубицину, гемцитабину, авастину, галавену, нератинибу, ингибитору PARP, бриланестранту, ингибитору mTOR, топотекану, гемзару, ингибитору VEGFR2, антагонисту фолатных рецепторов, демцизумабу, фосбретабулину или ингибитору PDL1, или их комбинациям, и/или не отвечал на них.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак устойчив к дакарбазину, темозоломиду, цисплатину, треосульфату, фотемустину, IMCgp100, ингибитору CTLA-4 (например, ипилимумабу), ингибитору PD-1 (например, ниволумабу или пембролизумабу), ингибитору PD-L1 (например, атезолизумабу, авелумабу или дурвалумабу), ингибитору митоген-активируемой протеинкиназы (MEK) (например, селуметинибу, биниметинибу или таметинибу) и/или ингибитору протеинкиназы C (PKC) (например, сотрастурину или IDE196), и/или не отвечал на них.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак устойчив на ранее введенное терапевтическое средство, применяемое для лечения увеальной меланомы, например, ингибитор MEK или ингибитор PKC, и/или не отвечал на него. Например, в некоторых вариантах осуществления рак устойчив на ингибитор митоген-активируемой протеинкиназы (MEK) (например, селуметиниб, биниметиниб или таметиниб) и/или ингибитор протеинкиназы C (PKC) (например, сотрастурилин или IDE196), и/или не отвечал на них.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту противораковой терапии, например, химиотерапевтического или цитотоксического средства, иммунотерапии, осуществление хирургического вмешательства, лучевой терапией, термотерапией или фотокоагуляции, или их комбинаций, или приведение в контакт клетки с ними. В некоторых вариантах осуществления противораковая терапия представляет собой химиотерапевтическое или цитотоксическое средство, например, антиметаболит, антимитотик, противоопухолевый антибиотик, аспарагинспецифический фермент, бисфосфонаты, противоопухолевое средство, алкилирующее средство, ингибитор фермента репарации ДНК, ингибитор гистондеацетилазы, кортикостероид, деметилирующее средство, иммуномодулятор, ингибитор Janus-ассоциированный киназы, ингибитор фосфинозитид-3-киназы, ингибитор протеасом или ингибитор тирозинкиназы, или их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления соединение по настоящему изобретению применяется в комбинации с другой противораковой терапией, применяемой для лечения увеальной меланомы, такой как хирургическое вмешательство, ингибитор MEK и/или ингибитор PKC, или их комбинации. Например, в некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выполнение хирургического вмешательства до, после или одновременно с введением соединения по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора MEK (например, селуметиниба, биниметиниба или таметиниба) и/или ингибитора PKC (например, сотрастурина или IDE196) до, после или одновременно с введением соединения по настоящему изобретению.

В некоторых вариантах осуществления противораковую терапию и соединение по настоящему изобретению вводят в течение 28 дней (например, в течение 21 дня, в течение 14 дней или в течение 7 дней) друг за другом, и каждое в количестве, которое совместно является эффективным для лечения субъекта.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен способ лечения вирусной инфекции у субъекта, нуждающегося в этом. Этот способ включает введение субъекту эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций. В некоторых вариантах осуществления вирусная инфекция представляет собой инфекцию, вызванную вирусом семейства Retroviridae, таким как лентивирусы (например, вирус иммунодефицита человека (HIV) и дельтаретровирусы (например, вирус Т-клеточного лейкоза человека I (HTLV-I), вирус Т-клеточного лейкоза человека II (HTLV-II)); вирусом семейства Hepadnaviridae (например, вирусом гепатита В (HBV)); вирусом семейства Flaviviridae (например, вирусом гепатита С (HCV)); вирусом семейства Adenoviridae (например, аденовирусом человека), вирусом семейства Herpesviridae (например, цитомегаловирусом человека (HCMV), вирусом Эпштейна-Барра, вирусом простого герпеса 1 (HSV-1), вирусом простого герпеса 2 (HSV-2), вирус герпеса человека 6 (HHV-6), вирусом герпеса К*, CMV, вирусом ветряной оспы); вирусом семейства Papillomaviridae (например, папилломавирусом человека (HPV, HPV E1)); вирусом семейства Parvoviridae (например, Parvovirus B19); вирусом семейства Polyomaviridae (например, вирусом JC и вирусом BK); вирусом семейства Paramyxoviridae (например, вирусом кори) или вирусом семейства Togaviridae (например, вирусом краснухи).

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов эффективное количество соединения снижает уровень и/или активность BRG1 на по меньшей мере 5% (например, на по меньшей мере 6%, на по меньшей мере 7%, на по меньшей мере 8%, на по меньшей мере 9%, на по меньшей мере 10%, на по меньшей мере 15%, на по меньшей мере 20%, на по меньшей мере 25%, на по меньшей мере 30%, на по меньшей мере 35%, на по меньшей мере 40%, на по меньшей мере 45%, на по меньшей мере 50%, на по меньшей мере 55 %, на по меньшей мере 60%, на по меньшей мере 65%, на по меньшей мере 70%, на по меньшей мере 75%, на по меньшей мере 80%, на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, на по меньшей мере 95% или на по меньшей мере 99%) по сравнению с эталоном.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов эффективное количество соединения снижает уровень и/или активность BRG1 на по меньшей мере 5% (например, на по меньшей мере 6%, на по меньшей мере 7%, на по меньшей мере 8%, на по меньшей мере 9%, на по меньшей мере 10%, на по меньшей мере 15%, на по меньшей мере 20%, на по меньшей мере 25%, на по меньшей мере 30%, на по меньшей мере 35%, на по меньшей мере 40%, на по меньшей мере 45%, на по меньшей мере 50%, на по меньшей мере 55 %, на по меньшей мере 60%, на по меньшей мере 65%, на по меньшей мере 70%, на по меньшей мере 75%, на по меньшей мере 80%, на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, на по меньшей мере 95% или на по меньшей мере 99%) по сравнению с эталоном в течение по меньшей мере 12 часов (например, по меньшей мере 14 часов, по меньшей мере 16 часов, по меньшей мере 18 часов, по меньшей мере 20 часов, по меньшей мере 22 часов, по меньшей мере 24 часов, по меньшей мере 30 часов, по меньшей мере 36 часов, по меньшей мере 48 часов, по меньшей мере 72 часов, по меньшей мере 4 дней, по меньшей мере 5 дней, по меньшей мере 6 дней, по меньшей мере 7 дней, по меньшей мере 14 дней, по меньшей мере 21 дня, по меньшей мере 28 дней и больше).

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов эффективное количество соединения снижает уровень и/или активность BRM на по меньшей мере 5% (например, на по меньшей мере 6%, на по меньшей мере 7%, на по меньшей мере 8%, на по меньшей мере 9%, на по меньшей мере 10%, на по меньшей мере 15%, на по меньшей мере 20%, на по меньшей мере 25%, на по меньшей мере 30%, на по меньшей мере 35%, на по меньшей мере 40%, на по меньшей мере 45%, на по меньшей мере 50%, на по меньшей мере 55 %, на по меньшей мере 60%, на по меньшей мере 65%, на по меньшей мере 70%, на по меньшей мере 75%, на по меньшей мере 80%, на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, на по

меньшей мере 95% или на по меньшей мере 99%) по сравнению с эталоном.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов эффективное количество соединения снижает уровень и/или активность BRM на по меньшей мере 5% (например, на по меньшей мере 6%, на по меньшей мере 7%, на по меньшей мере 8%, на по меньшей мере 9%, на по меньшей мере 10%, на по меньшей мере 15%, на по меньшей мере 20%, на по меньшей мере 25%, на по меньшей мере 30%, на по меньшей мере 35%, на по меньшей мере 40%, на по меньшей мере 45%, на по меньшей мере 50%, на по меньшей мере 55 %, на по меньшей мере 60%, на по меньшей мере 65%, на по меньшей мере 70%, на по меньшей мере 75%, на по меньшей мере 80%, на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, на по меньшей мере 95% или на по меньшей мере 99%) по сравнению с эталоном в течение по меньшей мере 12 часов (например, по меньшей мере 14 часов, по меньшей мере 16 часов, по меньшей мере 18 часов, по меньшей мере 20 часов, по меньшей мере 22 часов, по меньшей мере 24 часов, по меньшей мере 30 часов, по меньшей мере 36 часов, по меньшей мере 48 часов, по меньшей мере 72 часов, по меньшей мере 4 дней, по меньшей мере 5 дней, по меньшей мере 6 дней, по меньшей мере 7 дней, по меньшей мере 14 дней, по меньшей мере 21 дня, по меньшей мере 28 дней и больше).

В некоторых вариантах осуществления эффективное количество соединения по настоящему изобретению представляет собой количество, эффективное для ингибирования метастатической колонизации при раке в печень и/или головной мозг.

Химические термины

Соединения по настоящему изобретению могут иметь один или более асимметрических атомов углерода и могут существовать в форме оптически чистых энантиомеров, смесей энантиомеров, таких как, например, рацематы, оптически чистые диастереоизомеры, смеси диастереоизомеров, диастереоизомерные рацематы или смеси диастереоизомерных рацематов. Оптически активные формы можно получить, например, разделением рацематов, асимметричным синтезом или асимметричной хроматографией (хроматография с хиральными адсорбентами или элюентом). То есть некоторые из раскрытых соединений могут существовать в различных стереоизомерных формах. Стереоизомеры представляют собой соединения, которые различаются только своим пространственным расположением. Энантиомеры представляют собой пары стереоизомеров, зеркальные изображения которых не накладываются друг на друга, чаще всего потому, что они содержат асимметрично замещенный атом углерода, который выступает в качестве хирального центра. «Энантиомер» означает одну из пары молекул, которые являются зеркальным отображением друг друга и не могут совмещаться при наложении друг на друга. Диастереомеры представляют собой стереоизомеры, которые не связаны как зеркальные изображения, чаще всего потому, что они содержат два или более асимметрично замещенных атома углерода и представляют собой конфигурацию заместителей вокруг одного или более хиральных атомов углерода. Энантиомеры соединения могут быть получены, например, путем отделения энантиомера от рацемата с использованием одной или более хорошо известных методик и методов, таких как, например, хиральная хроматография и основанные на ней методы разделения. Соответствующая методика и/или метод отделения энантиомера соединения, описанного в данном документе, от рацемической смеси может быть легко определен специалистами в данной области техники. «Рацемат» или «рацемическая смесь» означает соединение, содержащее два энантиомера, при этом такие смеси не проявляют оптической активности; т.е. они не вращают плоскость поляризованного света. «Геометрический изомер» означает изомеры, которые различаются ориентацией атомов-заместителей по отношению к двойной углерод-углеродной связи, циклоалкильному кольцу или мостиковой бициклической

системе. Атомы (кроме Н) на каждой стороне двойной углерод-углеродной связи могут находиться в E- (заместители находятся на противоположных сторонах двойной углерод-углеродной связи) или Z- (заместители ориентированы с одной стороны) конфигурации. «R», «S», «S*», «R*», «E», «Z», «цис» и «транс» обозначают конфигурации относительно ядра молекулы. Некоторые из раскрытых соединений могут существовать в атропоизомерных формах. Атропоизомеры представляют собой стереоизомеры, являющиеся следствием затрудненного вращения вокруг одинарных связей, где стерический деформационный барьер для вращения достаточно высок, чтобы сделать возможным выделение конформеров. Соединения по настоящему изобретению могут быть получены в виде индивидуальных изомеров либо путем изомер-специфического синтеза, либо выделены из смеси изомеров. Обычные методики разделения включают образование соли свободного основания каждого изомера изомерной пары с использованием оптически активной кислоты (с последующей фракционной кристаллизацией и регенерацией свободного основания), образование соли кислотной формы каждого изомера изомерной пары с использованием оптически активного амина (с последующей фракционной кристаллизацией и регенерацией свободной кислоты), образование сложного эфира или амида каждого из изомеров изомерной пары с использованием оптически чистой кислоты, амина или спирта (с последующим хроматографическим разделением и удалением хирального вспомогательного), или разделение изомерной смеси либо исходного материала, либо конечного продукта с использованием различных хорошо известных хроматографических методов. Когда стереохимия раскрытого соединения названа или изображена структурой, названный или изображенный стереоизомер составляет по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по весу относительно других стереоизомеров. Когда один энантиомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный энантиомер является оптически чистым на по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по весу. Когда один диастереомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный диастереомер является оптически чистым на по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по весу. Процентная оптическая чистота представляет собой отношение веса энантиомера или веса энантиомера к весу его оптического изомера. Диастереомерная чистота по весу представляет собой отношение веса одного диастереомера к весу всех диастереомеров. Когда стереохимия раскрытого соединения названа или изображена структурой, названный или изображенный стереоизомер на по меньшей мере чистый 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, или 99,9% по мольной доли относительно других стереоизомеров. Когда один энантиомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный энантиомер является оптически чистым на по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, или 99,9% по мольной доле. Когда один диастереомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный диастереомер является оптически чистым на по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, или 99,9% по мольной доле. Процент чистоты по мольной доле представляет собой соотношение молей энантиомера или количества молей энантиомера плюс молей его оптического изомера. Аналогично процентная чистота по мольной доле представляет собой соотношение молей диастереомера или молей диастереомера плюс молей его изомера. Когда раскрытое соединение названо или изображено структурой без указания стереохимии, и соединение содержит по меньшей мере один хиральный центр, следует понимать, что название или структура охватывает либо энантиомер соединения, не содержащего соответствующего оптического изомера, рацемическая смесь соединения или смесей, обогащены одним энантиомером относительно его соответствующего оптического изомера. Когда раскрытое соединение названо или изображено структурой без указания стереохимии и имеет два или более хиральных центра, следует понимать, что название или структура охватывает диастереомер, не содержащий других диастереомеров, ряд диастереомеров, не содержащих других диастереомерных пар, смеси диастереомеров,

смеси диастереомерных пар, смеси диастереомеров, в которых один диастереомер обогащен по отношению к другому (другим) диастереомеру (диастереомерам), или смеси диастереомеров, в которых один или более диастереомеров обогащены по отношению к другим диастереомерам. Настоящее изобретение охватывает все эти формы.

Если не указано иное, структуры, изображенные в данном документе, также включают соединения, которые отличаются только наличием одного или нескольких атомов, обогащенных изотопами. Иллюстративные изотопы, которые могут быть включены в соединения по настоящему изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора, хлора и иода, такие как ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I и ^{125}I . Изотопно-меченые соединения (например, те, которые мечены ^3H и ^{14}C) могут быть применимы в анализах распределения соединения или субстрата в тканях. Изотопы трития (т.е., ^3H) и углерода-14 (т.е., ^{14}C) могут быть применимы из-за простоты их приготовления и обнаружения. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (т.е. ^2H), может обеспечить определенные терапевтические преимущества в результате большей метаболической стабильности (например, повышения периода полужизни *in vivo* или снижения необходимой дозировки). В некоторых вариантах осуществления один или более атомов водорода заменяют на ^2H или ^3H или один или более атомов углерода заменяют на ^{13}C - или ^{14}C -обогащенный углерод. Изотопы, испускающие позитроны, такие как ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C и ^{18}F , применимы в исследованиях методом позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для определения занятости рецепторов субстрата. Получение изотопно-меченых соединений известно специалистам в данной области техники. Например, изотопно-меченые соединения обычно можно получить с помощью следующих процедур, аналогичных тем, которые описаны для соединений по настоящему изобретению, описанных в данном документе, путем замены реагента, меченного изотопами, на реагент, не меченный изотопами.

Если не указано иное, все технические и научные термины, употребляемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевается рядовым специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. В данном документе описаны способы и материалы для применения в настоящем изобретении; также могут быть использованы другие подходящие способы и материалы, известные из уровня техники. Материалы, способы и примеры являются исключительно иллюстративными и не имеют ограничительного характера. Все публикации, заявки на патенты, патенты, последовательности, записи в базе данных и другие ссылки, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки в полном объеме. В случае конфликта, данное описание, включая определения, является превалирующим.

Определения

В настоящей заявке, если иное не ясно из контекста, (i) под термином в единственном числе может быть подразумеваться «по меньшей мере один»; (ii) под термином «или» может подразумеваться «и/или»; и (iii) термины «содержащий» и «включающий» можно понимать как включающие перечисленные компоненты или стадии, представленные сами по себе или вместе с одним или более дополнительными компонентами или стадиями.

В контексте данного документа термины «около» и «приблизительно» относятся к значению, которое в пределах 10% выше или ниже описываемого значения. Например, термин «около 5 нМ» обозначает диапазон от 4,5 нМ до 5,5 нМ.

В контексте данного документа термин «введение» относится к введению композиции (например, соединения или препарата, который включает соединение, как описано в данном документе) субъекту или

системе. Введение животному (например, человеку) может осуществляться любым подходящим путем. Например, в некоторых вариантах осуществления введение может быть бронхиальным (в том числе путем инстилляций бронхов), буккальным, энтеральным, межкожным, внутриартериальным, внутрикожным, внутрижелудочным, интрамедуллярным, внутримышечным, интраназальным, внутрибрюшинным, интратекальным, внутриопухолевым, внутривенным, внутрижелудочковым, слизистым, назальным, пероральным, ректальным, подкожным, сублингвальным, местным, трахеальным (в том числе путем интратрахеальной инстилляций), трансдермальным, вагинальным и витреальным.

В контексте данного документа термин «комплекс BAF» относится к комплексу BRG1- или HBRM-ассоциированных факторов в клетке человека.

В контексте данного документа термин «нарушение, связанное с комплексом BAF» относится к нарушению, которое вызвано уровнем активности комплекса BAF или находится под его влиянием.

В контексте данного документа термин «мутация потери функции BRG1» относится к мутации в BRG1, которая приводит к снижению активности белка (например, на по меньшей мере 1% снижение активности BRG1, например, снижение активности BRG1 на 2%, 5%, 10%, 25%, 50% или 100%).

Иллюстративные мутации потери функции BRG1 включают без ограничения гомозиготную мутацию BRG1 и делецию на С-конце BRG1.

В контексте данного документа термин «нарушение функции потери функции BRG1» относится к нарушению (например, раку), которое проявляет снижение активности BRG1 (например, снижение активности BRG1 на по меньшей мере 1%, например, снижение активности BRG1 на 2%, 5%, 10%, 25%, 50% или 100%).

Термин «рак» относится к патологическому состоянию, вызванному пролиферацией злокачественных неопластических клеток, такому как опухоли, новообразования, карциномы, саркомы, лейкозы и лимфомы.

В контексте данного документа «комбинированная терапия» или «вводимая в комбинации» означает, что два (или более) разных средства или средств лечения вводят субъекту как часть определенной схемы

лечения для конкретного заболевания или состояния. Схема лечения определяет дозы и периодичность введения каждого средства, так что эффекты отдельных средств на субъекта перекрываются. В некоторых вариантах осуществления доставка двух или более средств является одновременной или сопутствующей, и средства могут быть составлены совместно. В некоторых вариантах осуществления два или более средств

не составлены совместно и вводятся последовательно как часть предписанной схемы. В некоторых вариантах осуществления введение двух или более средств или средств лечения в комбинации таково, что уменьшение

симптома или другого параметра, связанного с нарушением, больше, чем то, что наблюдалось бы с одним средством или средством лечения, доставляемым отдельно или в отсутствие другого. Эффект двух средств лечения может быть частично аддитивным, полностью аддитивным или более сильным, чем аддитивный (например, синергическим). Последовательное или по сути одновременное введение каждого

терапевтического средства осуществляется любым подходящим путем, включая без ограничения пероральные пути, внутривенные пути, внутримышечные пути и прямое всасывание через ткани слизистой оболочки. Терапевтические средства можно вводить одним и тем же путем или разными путями. Например, первое терапевтическое средство комбинации может вводиться путем внутривенной инъекции, тогда как второе терапевтическое средство комбинации может вводиться перорально.

Термин «ингибитор CTLA-4» в контексте данного документа относится к соединению, такому как антителу, способному ингибировать активность белка, который у человека кодируется геном CTLA4. Известные ингибиторы CTLA-4 включают ипилимумаб.

Под «определением уровня» белка или РНК подразумевается обнаружение белка или РНК методами, известными из уровня техники, прямо или косвенно. «Прямое определение» означает выполнение процесса (например, выполнение анализа или теста на образце или «анализ образца», как этот термин определен в данном документе) для получения физического объекта или значения. «Косвенное определение» относится к получению физического объекта или значения от другой стороны или источника (например, сторонней лаборатории, которая напрямую получила физический объект или значение). Методы измерения уровня белка обычно включают без ограничения вестерн-блоттинг, иммуноблоттинг, иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммуноанализ (RIA), иммунопреципитацию, иммунофлуоресценцию, поверхностный плазмонный резонанс, хемилюминесценцию, флуоресцентную поляризацию, фосфоресценцию, иммуногистохимический анализ, масс-спектрометрия с матричной лазерной десорбцией/ионизацией по времени пролета (MALDI-TOF), жидкостную хроматографию (LC), масс-спектрометрию, микроцитометрию, микроскопию, сортировку клеток с активацией флуоресценции (FACS) и проточную цитометрию, а также анализы, основанные на свойствах белка, включая без ограничения ферментативную активность или взаимодействие с другими белками-партнерами. Способы измерения уровней РНК известны из уровня техники и включают без ограничения количественную полимеразную цепную реакцию (qPCR) и нозерн-блоттинг.

Под «сниженным уровнем» или «повышенным уровнем» белка или РНК подразумевается снижение или повышение соответственно уровня белка или РНК по сравнению с эталоном (например, снижение или повышение на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 100%, около 150%, около 200%, около 300%, около 400%, около 500% или больше; снижение или повышение на более чем около 10%, около 15%, около 20%, около 50%, около 75%, около 100% или около 200% по сравнению с эталоном; снижение или повышение менее чем в около 0,01 раза, в около 0,02 раза, в около 0,1 раза, в около 0,3 раза, в около 0,5 раза, в около 0,8 раза или менее; или повышение более чем в около 1,2 раза, в около 1,4 раза, в около 1,5 раза, в около 1,8 раза, в около 2,0 раза, в около 3,0 раза, в около 3,5 раза, в около 4,5 раза, в около 5,0 раз, в около 10 раз, в около 15 раз, в около 20 раз, в около 30 раз, в около 40 раз, в около 50 раз, в около 100 раз, в около 1000 раз или больше). Уровень белка может быть выражен в массе/объеме (например, г/дл, мг/мл, мкг/мл, нг/мл) или в процентах по отношению к общему содержанию белка в образце.

Под «снижением активности комплекса BAF» подразумевается снижение уровня активности, связанной с комплексом BAF, или связанного с ним последующего эффекта. Неограничивающий пример снижения активности комплекса BAF представляет собой активацию Sox2. Уровень активности комплекса BAF можно измерить с использованием любого способа, известного из уровня техники, например, способов, описанных в Kadoch et al. Cell, 2013, 153, 71-85, способы которых включены в данный документ посредством ссылки.

В контексте данного документа термин «производное» относится к природным, синтетическим и полусинтетическим аналогам соединения, пептида, белка или другого вещества, описанного в данном документе. Производное соединения, пептида, белка или другого вещества, описанного в данном документе, может сохранять или улучшать биологическую активность исходного материала.

Рак, «определенный как устойчивый к лекарственным средствам» в контексте данного документа, относится к раку, который является устойчивым к лекарственным средствам на основании невосприимчивости или сниженной чувствительности к химиотерапевтическому средству, или который

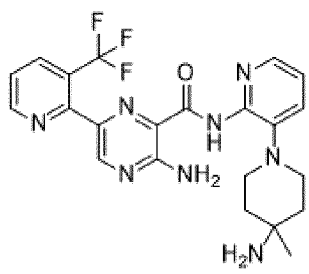
прогнозируется как устойчивый к лекарственным средствам на основании прогностического анализа (например, анализ экспрессии генов).

Под «устойчивым к лекарственным средствам» подразумевается рак, который не отвечает или проявляет сниженный ответ на один или несколько химиотерапевтических средств (например, любое средство, описанное в данном документе).

В контексте данного документа термин «не отвечающий на предшествующую терапию» или «рефрактерный к предшествующей терапии» относится к раку, который прогрессировал, несмотря на лечение с помощью средства терапии.

В контексте данного документа термин «ингибирование BRM» и/или «ингибирование BRG1» относится к блокированию или снижению уровня или активности каталитического связывающего домена АТФазы или бромодомена белка. Ингибирование BRM и/или BRG1 может быть определено с использованием способов, известных из уровня техники, например, анализа BRM- и/или BRG1-АТФазы, анализа Nano DSF или люциферазного клеточного анализа BRM и/или BRG1.

В контексте данного документа термин «LXS196», также известный как IDE196, относится к ингибитору PKC, характеризующемуся структурой:



или его фармацевтически приемлемой соли.

В контексте данного документа термин «метастатический узел» относится к скоплению опухолевых клеток в организме в участке, отличном от участка исходной опухоли.

В контексте данного документа термин «метастатический рак» относится к опухоли или раку, при которых раковые клетки, образующие опухоль, имеют высокий потенциал метастазирования или уже начали метастазировать или распространяться из одного места в другое место или места внутри субъекта через лимфатическую систему или путем гематогенного распространения, например, создавая вторичные опухоли в организме субъекта. Такое метастатическое поведение может свидетельствовать о злокачественных опухолях. В некоторых случаях метастатическое поведение может быть ассоциировано с усилением клеточной миграции и/или инвазивным поведением опухолевых клеток.

Примеры видов рака, которые могут быть определены как метастатические, включают без ограничения рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого), рак молочной железы, рак яичников, колоректальный рак, рак желчных путей, рак мочевого пузыря, рак головного мозга, включая глиобластомы и медуллобластомы, рак шейки матки, хориокарциному, рак эндометрия, рак пищевода, рак желудка, гематологические новообразования, множественную миелому, лейкоз, интраэпителиальные новообразования, рак печени, лимфомы, нейробластомы, рак ротовой полости, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, саркому, рак кожи, включая меланому, базоцеллюлярный рак, плоскоклеточный рак, рак яичка, стромальные опухоли, опухоли половых клеток, рак щитовидной железы и рак почки.

«Неметастатический рак с миграцией клеток» в контексте данного документа относится к видам рака, которые не мигрируют через лимфатическую систему или не распространяются гематогенным путем.

Термин «ингибитор PD-1» в контексте данного документа относится к соединению, такому как

антитело, способному ингибировать активность белка, который у человека кодируется геном PDCD1. Известные ингибиторы PD-1 включают ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, BMS 936559 и атезолизумаб.

Термин «ингибитор PD-L1» в контексте данного документа относится к соединению, такому как антитело, способному ингибировать активность белка, который у человека кодируется геном CD274. Известные ингибиторы PD-L1 включают атезолизумаб и дурвалумаб.

Термин «фармацевтическая композиция» в контексте данного документа представляет собой композицию, содержащую соединение, описанное в данном документе, составленное с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, и подходящее для введения млекопитающему, например, человеку. Обычно фармацевтическая композиция производится или продается с одобрения государственного регулирующего органа как часть терапевтической схемы лечения заболевания у млекопитающего. Фармацевтические композиции могут быть составлены, например, для перорального введения в единичной лекарственной форме (например, таблетке, капсуле, капсуловидной таблетке, желатиновой капсуле или сиропе); для местного применения (например, в виде крема, геля, лосьона или мази); для внутривенного введения (например, в виде стерильного раствора, не содержащего механических включений, и в виде системы растворителей, подходящих для внутривенного применения); или в любом другом фармацевтически приемлемом составе.

«Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество» в контексте данного документа относится к любому ингредиенту, отличному от соединений, описанных в данном документе (например, несущая среда, способная суспендировать или растворять активное соединение) и характеризующемуся свойствами, по сути нетоксичными и невоспалительными у пациента. Вспомогательные вещества могут включать, например: антиадгезивы, антиоксиданты, связывающие вещества, покрытия, добавки для прессования, разрыхлители, красящие вещества (красители), смягчительные средства, эмульгаторы, наполнители (разбавители), пленкообразователи или покрытия, вкусоароматические добавки, ароматизаторы, вещества, способствующие скольжению (усилители сыпучести), смазывающие вещества, консерванты, печатные краски, сорбенты, суспендирующие или диспергирующие средства, подсластители и гидратационную воду.

В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемая соль» означает любую фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в данном документе. Фармацевтически приемлемые соли любого из соединений, описанных в данном документе, могут включать те, которые находятся в пределах разумного медицинского заключения, являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и соизмеримы с разумными соотношения польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны из уровня техники. Например, фармацевтически приемлемые соли описаны в: Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977 и в Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Соли могут быть получены *in situ* во время окончательного выделения и очистки соединений, описанных в данном документе, или по отдельности путем введения группы свободного основания в реакцию с подходящей органической кислотой.

Соединения по настоящему изобретению могут иметь ионизируемые группы, чтобы их можно было получать в виде фармацевтически приемлемых солей. Эти соли могут, например, являться кислотно-аддитивными солями с участием неорганических или органических кислот, или в случае кислотных форм соединений по настоящему изобретению соли могут быть получены из неорганических или органических

оснований. Часто соединения получают или применяют в виде фармацевтически приемлемых солей, полученных в виде продуктов присоединения фармацевтически приемлемых кислот или оснований. Подходящие фармацевтически приемлемые кислоты и основания и способы получения соответствующих солей хорошо известны из уровня техники. Соли могут быть получены из фармацевтически приемлемых нетоксичных кислот и оснований, включая неорганические и органические кислоты и основания.

«Выживаемость без прогрессирования» в контексте данного документа относится к продолжительности времени во время и после введения лекарственного препарата или средства лечения, в течение которого заболевание, подлежащее лечению (например, рак), не усугубляется.

Термин «пролиферация» в контексте настоящей заявки включает воспроизводство или размножение сходных форм (клеток) благодаря составляющим (клеточным) элементам.

Под «эталоном» подразумевается любой подходящий эталон, используемый для сравнения уровней белка или РНК. Эталон может быть любой образец, стандарт, стандартная кривая или уровень, который используется для целей сравнения. Эталон может быть нормальный эталонный образец или эталонный стандарт или уровень. «Эталонный образец» может быть, например, контролем, например, заранее определенным значением отрицательного контроля, таким как «нормальный контроль» или предыдущим образцом, взятым у того же субъекта; образцом от нормального здорового субъекта, такого как нормальная клетка или нормальная ткань; образцом (например, клеткой или тканью) от субъекта, не страдающего заболеванием; образцом от субъекта, у которого диагностировано заболевание, но которого еще не лечили соединением по настоящему изобретению; образцом от субъекта, которого лечили соединением по настоящему изобретению; или образцом очищенного белка или РНК (например, любого описанного в данном документе) в известной нормальной концентрации. Под «эталонным стандартом или уровнем» подразумевается значение или число, полученное из эталонного образца. «Нормальное контрольное значение» представляет собой заранее определенное значение, указывающее на состояние, не связанное с заболеванием, например, значение, ожидаемое у здорового контрольного субъекта. Обычно нормальное контрольное значение выражается как диапазон («между X и Y»), высокий порог («не выше X») или низкий порог («не ниже X»). Субъекта, имеющего измеренное значение в пределах нормального контрольного значения для конкретного биомаркера, обычно называют «в пределах нормы» для этого биомаркера. Нормальный эталонный стандарт или уровень может быть значением или числом, полученным от нормального субъекта, не страдающего заболеванием или нарушением (например, раком); субъекта, которого лечили соединением по настоящему изобретению. В предпочтительных вариантах осуществления эталонный образец, стандарт или уровень сопоставлен с образцом исследуемого образца по меньшей мере по одному из следующих критериев: возраст, вес, пол, стадия заболевания и общее состояние здоровья. Стандартная кривая уровней очищенного белка или РНК, например, любого описанного в данном документе, в пределах нормального эталонного диапазона также может использоваться в качестве эталонного значения.

В контексте данного документа термин «замедление распространения метастазов» относится к уменьшению или остановке образования новых очагов; или уменьшению, прекращению или обращению опухолевой нагрузки.

В контексте данного документа термин «субъект» относится к любому организму, которому можно вводить композицию в соответствии с настоящим изобретением, например, для экспериментальных, диагностических, профилактических и/или терапевтических целей. Типичные субъекты включают любое животное (например, млекопитающие, такие как мыши, крысы, кролики, отличные от человека приматы и люди). Субъект может искать лечение или нуждаться в нем, требовать лечения, получать лечение, получать

лечение в будущем или быть человеком или животным, находящимся под наблюдением квалифицированного специалиста по поводу определенного заболевания или патологического состояния.

В контексте данного документа термины «лечить», «получающий лечение» или «осуществление лечения» означают терапевтическое лечение или любые меры, цель которых состоит в том, чтобы замедлить (уменьшить) нежелательное физиологическое патологическое состояние, нарушение или заболевание или получить благоприятные или требуемые клинические результаты. Благоприятные или требуемые клинические результаты включают без ограничения облегчение симптомов; уменьшение степени патологического состояния, нарушения или заболевания; стабилизированное (т.е. не ухудшающееся) состояние патологического состояния, нарушения или заболевания; задержку начала или замедления патологического состояния, нарушения или прогрессирования заболевания; улучшение патологического состояния, нарушения или болезненного состояния или ремиссию (частичную или полную); улучшение по меньшей мере одного измеримого физического параметра, не обязательно различимого пациентом; или улучшение или улучшение патологического состояния, нарушения или заболевания. Лечение включает получение клинически значимого ответа без чрезмерных побочных эффектов. Лечение также включает продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью, если лечение не проводится. Соединения по настоящему изобретению также можно использовать для «профилактического лечения» или «предупреждения» нарушения, например, у субъекта с повышенным риском развития нарушения.

Если не указано иное, все технические и научные термины, употребляемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевается рядовым специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. В данном документе описаны способы и материалы для применения в настоящем изобретении; также могут быть использованы другие подходящие способы и материалы, известные из уровня техники. Материалы, способы и примеры являются исключительно иллюстративными и не имеют ограничительного характера. Все публикации, заявки на патенты, патенты, последовательности, записи в базе данных и другие ссылки, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки в полном объеме. В случае конфликта, данное описание, включая определения, является превалирующим.

Подробности одного или более вариантов осуществления настоящего изобретения изложены в описании ниже. Другие признаки, объекты и преимущества настоящего изобретения станут очевидны из описания и из формулы изобретения.

Краткое описание графических материалов

На Фиг. 1 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации нескольких линий раковых клеток ингибитором BRG1/BRM (соединение А).

На Фиг. 2 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации клеток клеточной линии 92-1 увеальной меланомы ингибитором BRG1/BRM (соединение А), ингибитором MEK (селуметиниб) и ингибитором PKC (LXS196).

На Фиг. 3 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации клеток клеточной линии MP41 увеальной меланомы ингибитором BRG1/BRM (соединение А), ингибитором MEK (селуметиниб) и ингибитором PKC (LXS196).

На Фиг. 4 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации нескольких линий раковых клеток ингибитором BRG1/BRM (соединение В).

На Фиг. 5 представлен график, иллюстрирующий площадь под кривыми (AUC), вычисленную из кривых доза-ответ для линий раковых клеток, обработанных ингибитором BRG1/BRM (соединение В).

На Фиг. 6 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации клеток увеальной меланомы и клеточных линий немелкоклеточного рака легкого ингибитором BRG1/BRM (соединение В).

На Фиг. 7 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации клеток клеточной линии 92-1 увеальной меланомы ингибитором BRG1/BRM (соединение В), ингибитором MEK (селуметиниб) и ингибитором PKC (LXS196).

На Фиг. 8 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации клеток клеточной линии MP41 увеальной меланомы ингибитором BRG1/BRM (соединение В), ингибитором MEK (селуметиниб) и ингибитором PKC (LXS196).

На Фиг. 9 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации клеток родительских и устойчивых к ингибитору PKC клеточных линий увеальной меланомы ингибитором PKC (LXS196).

На Фиг. 10 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации клеток родительских и устойчивых к ингибитору PKC клеточных линий увеальной меланомы ингибитором BRG1/BRM (соединение В).

На Фиг. 11 представлен график, иллюстрирующий ингибирование ингибитором BRG1/BRM роста опухоли у мышей, которым привили клеточные линии увеальной меланомы (соединение С).

На Фиг. 12 представлена иллюстрация размера опухолей у мышей, которым привили клеточные линии увеальной меланомы и которым вводили дозу ингибитора BRG1/BRM (соединение С).

На Фиг. 13 представлен график, иллюстрирующий изменение веса тела мышей, которым привили клеточные линии увеальной меланомы и которым вводили ингибитор BRG1/BRM (соединение С).

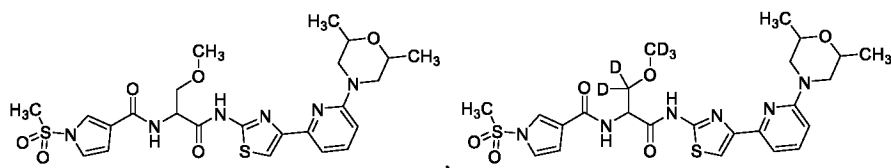
На Фиг. 14 представлен график, иллюстрирующий ингибирование пролиферации клеток нескольких клеточных линий увеальной меланомы с помощью N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоксамида.

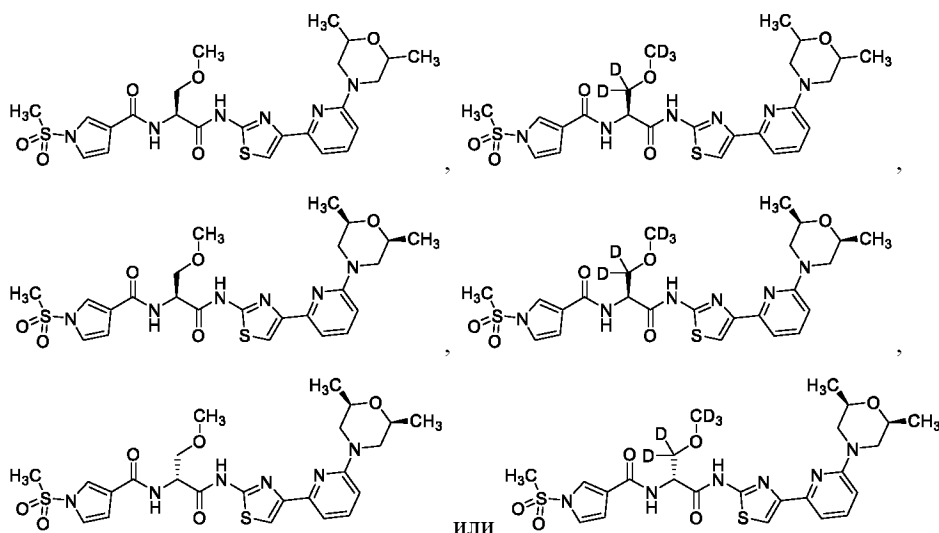
На Фиг. 15 представлен график, иллюстрирующий ингибирование N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоксамида роста опухоли у мышей, которым привили несколько клеточных линий увеальной меланомы.

На Фиг. 16 представлен график, иллюстрирующий изменение веса тела у мышей, которым привили клеточные линии увеальной меланомы и вводили N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид.

Подробное описание сущности изобретения

В настоящем изобретении представлены соединения, применимые для ингибирования BRG1 и/или BRM. Данные соединения можно применять для модуляции активности комплекса BAF, например, для лечения нарушения, связанного с BAF, такого как рак. Иллюстративные соединения или их фармацевтически приемлемые соли, описанные в данном документе, включают соединения, характеризующиеся структурой:





В данном документе описаны другие варианты осуществления настоящего изобретения, а также иллюстративные способы синтеза или получения данных соединений.

Варианты фармацевтического применения

Соединения, описанные в данном документе, применимы в способах по настоящему изобретению и, не ограничиваясь теорией, полагают, что они проявляют свою способность модулировать уровень, статус и/или активность комплекса BAF, т.е. путем ингибирования активности комплекса белков BRG1 и/или BRM в комплексе BAF у млекопитающего. Нарушения, связанные с комплексом BAF, включают без ограничения нарушения, связанные с потерей функции BRG1 и мутациями.

Аспект настоящего изобретения относится к способам лечения нарушений, связанных с мутациями потери функции BRG1, такими как рак (например, немелкоклеточный рак легкого, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, первичный рак неизвестного происхождения, глиома, рак молочной железы, меланома, немеланомный рак кожи, рак эндометрия или рак полового члена) у субъекта, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения меланомы (например, увеальной меланомы), рака предстательной железы, рака молочной железы, рака кости, почечно-клеточной карциномы или гематологического рака.

В некоторых вариантах осуществления соединение вводят в количестве и в течение времени, эффективных для достижения одного или более (например, двух или более, трех или более, четырех или более) из: (a) уменьшения размера опухоли, (b) снижения скорости роста опухоли, (c) увеличенной гибели опухолевых клеток (d) уменьшения прогрессирования опухоли, (e) уменьшения количества метастазов, (f) снижения скорости метастазирования, (g) уменьшения рецидива опухоли (h) увеличения выживаемости субъекта, (i) повышения прогрессирования свободного выживания субъекта.

Лечение рака может привести к уменьшению размера или объема опухоли. Например, после лечения размер опухоли уменьшается на 5% или больше (например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше) по сравнению с его размером до лечения. Размер опухоли можно измерить любыми воспроизводимыми способами измерения. Например, размер опухоли можно измерить как диаметр опухоли.

Лечение рака может в дальнейшем привести к уменьшению количества опухолей. Например, после лечения количество опухолей уменьшается на 5% или больше (например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше) по сравнению с количеством до лечения. Количество опухолей можно измерить любыми воспроизводимыми способами измерения, например, количество опухолей можно измерить путем

подсчета опухолей, видимых невооруженным глазом, или при определенном увеличении (например, 2х, 3х, 4х, 5х, 10х или 50х).

Лечение рака может привести к уменьшению количества метастатических узелков в других тканях или органах, удаленных от места первичной опухоли. Например, после лечения количество метастатических узелков уменьшается на 5% или больше (например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше) относительно количества до лечения. Количество метастатических узелков можно измерить любыми воспроизводимыми средствами измерения. Например, количество метастатических узелков можно измерить путем подсчета метастатических узелков, видимых невооруженным глазом или при определенном увеличении (например, 2х, 10х или 50х).

Лечение рака может привести к увеличению средней продолжительности жизни популяции субъектов, получавших лечение в соответствии с настоящим изобретением, по сравнению с популяцией субъектов, не получавших лечение. Например, среднее время выживания увеличивается более чем на 30 дней (более чем на 60 дней, 90 дней или 120 дней). Увеличение среднего времени выживания популяции можно измерить любыми воспроизводимыми средствами. Увеличение среднего времени выживания популяции можно измерить, например, путем расчета для популяции средней продолжительности выживания после начала лечения соединением по данному изобретению. Увеличение среднего времени выживания популяции также можно измерить, например, путем расчета для популяции средней продолжительности выживания после завершения первого цикла лечения фармацевтически приемлемой солью соединения по настоящему изобретению.

Лечение рака также может привести к снижению уровня смертности в популяции получавших лечение субъектов по сравнению с популяцией, не получавшей лечение. Например, уровень смертности снижается более чем на 2% (например, более чем на 5%, 10% или 25%). Снижение уровня смертности в популяции получавших лечение субъектов может быть измерено любыми воспроизводимыми средствами, например, путем расчета для популяции среднего числа смертей, связанных с заболеванием, в единицу времени после начала лечения фармацевтически приемлемой солью соединения по настоящему изобретению. Снижение уровня смертности популяции также может быть измерено, например, путем расчета для популяции среднего числа смертей, связанных с заболеванием, в единицу времени после завершения первого цикла лечения фармацевтически приемлемой солью соединения по настоящему изобретению.

Иллюстративные виды рака, которые можно лечить с помощью настоящего изобретения, включают без ограничения немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, глиому, рак молочной железы, меланому, немеланомный рак кожи, рак эндометрия, рак пищевода и желудка, рак пищевода, рак поджелудочной железы, рак гепатобилиарной системы, саркому мягких тканей, рак яичников, рак головы и шеи, почечно-клеточную карциному, рак кости, неходжкинскую лимфому, рак предстательной железы, эмбриональную опухоль, опухоль половых клеток, рак шейки матки, рак щитовидной железы, рак слюнных желез, нейроэндокринную опухоль желудочно-кишечного тракта, саркому матки, опухоль стромы желудочно-кишечного тракта, рак ЦНС, опухоль тимуса, карциному надпочечников, рак аппендикса, рак тонкой кишки, гематологический рак и рак полового члена.

Комбинированные составы и варианты их применения

Соединения по настоящему изобретению можно комбинировать с одним или более терапевтическими средствами. В частности, терапевтическое средство может представлять собой средство для лечения или

профилактического лечения любого рака, описанного в данном документе.

Комбинированные виды терапии

Соединение по настоящему изобретению можно использовать отдельно или в комбинации с дополнительным терапевтическим средством, например, другими средствами, которые лечат рак или симптомы, ассоциированные с ним, или в комбинации с другими типами лечения для лечения рака. При комбинированном лечении дозировки одного или более терапевтических соединений могут быть уменьшены по сравнению со стандартными дозировками при введении отдельно. Например, дозы могут быть определены эмпирически из комбинаций и перестановок лекарственных средств или могут быть выведены с помощью изоболографического анализа (например, Black et al., Neurology 65:S3-S6, 2005). В этом случае дозировки соединений при комбинировании должны обеспечивать терапевтический эффект.

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство (например, цитотоксическое средство или другое химическое соединение, применимое в лечении рака). Они включают алкилирующие средства, антиметаболиты, аналоги фолиевой кислоты, аналоги пиримидина, аналоги пурина и родственные ингибиторы, алкалоиды барвинка, эпиподофиллотоксины, антибиотики, L-аспарагиназу, ингибиторы топоизомеразы, интерфероны, координационные комплексы платины, антрацендион-замещенную мочевины, производные метилгидразина, супрессорное в отношении надпочечников средство, адренокортикостероиды, прогестины, эстрогены, антиэстрогены, андрогены, антиандрогены и аналог гонадотропин-рилизинг-гормона. Также включены 5-фторурацил (5-FU), лейковорин (LV), ирентекан, оксалиплатин, капецитабин, паклитаксел и доксетаксел. Неограничивающие примеры химиотерапевтических средств включают алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтреамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (особенно буллатин и буллатинон); камптотексин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; CC-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезина, карзелезина и бизелезина); криптофицины (в частности криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлоретамин, гидрохлорид мехлоретаминоксида, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацил-иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как эндиновые антибиотики (например, калихеамицин, особенно калихеамицин гаммалл и калихеамицин омегалл (см., например, Agnew, Chem. Intl. Ed Engl. 33:183-186 (1994))); динемидин, включая динемидин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также хромофор неокарзиностатины и родственные антибиотические хромофоры на основе хромопротеина сндиина), аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, каминомицин, карзинофилин, хромомицин, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, Adriamycin® (доксорубицин, включая морфолино-доксорубицин, цианоморфолино-доксорубицин, 2-пирролино-доксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзрубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиромидин, пуромицин, келамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин,

зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоклотеимид, митотан, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновую кислоту; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрон; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльфомитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраерин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK® полисахаридный комплекс (JHS Natural Products, Юджин, Орегон); разоксан; ризоксин; сизофуран; спирогерманий; теназоновая кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ara-C»); циклофосфамид; тиотепу; таксоиды, например Taxol® (паклитаксел; Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, Нью-Джерси), ABraxane®, состав паклитаксела в виде наночастиц без кремофоров, созданный с использованием альбумина (American Pharmaceutical Partners, Шаумбург, Иллинойс), и Taxotere® доксетаксел (Rhône-Poulenc Rorer, Антони, Франция); хлорамбуцил; Gemzar® гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; координационные комплексы платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; Navelbine® винорелбин; новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоклотеимид; кселоду; ибандронат; иринотекан (например, СРТ-11); ингибиторы топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (ДМФАО); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных. Два или более химиотерапевтических средства можно использовать в коктейле для введения в комбинации с первым терапевтическим средством, описанным в данном документе. Подходящие схемы дозирования комбинированной химиотерапии известны из уровня техники и описаны, например, в Saltz et al. (1999) Proc ASCO 18:233a, и Douillard et al. (2000) Lancet 355:1041-7.

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой терапевтическое средство, которое представляет собой биологический препарат, такой как цитокин (например, интерферон или интерлейкин (например, IL-2)), применяемый в лечении рака. В некоторых вариантах осуществления биологический препарат представляет собой антиангиогенное средство, такое как средство, направленное против VEGF, например, бевацизумаб (Avastin®). В некоторых вариантах осуществления биологический препарат представляет собой биологический препарат на основе иммуноглобулина, например, моноклональное антитело (например, гуманизированное антитело, полностью человеческое антитело, слитый белок Fc или его функциональный фрагмент), которое агонизирует мишень для стимуляции противоракового ответа или противодействует антигену, важному для рака. Такие средства включают ритуксан (ритуксимаб); зенапакс (даклизумаб); симулект (базиликсимаб); синагис (паливизумаб); ремикейд (инфликсимаб); герцептин (трастузумаб); милотарг (гемтузумаб озогамидин); кампат (алемтузумаб); зевалин (ибритумомаб труксетан); хумиру (адалимумаб); ксолаир (омализумаб); бексар (тозитумомаб-I-131); раптиву (эфализумаб); эрбитукс (цетуксимаб); авастин (бевацизумаб); тисабри (натализумаб); актемру (тоцилизумаб); вектибикс (панитумумаб); луцентис (ранибизумаб); солирис

(экулизумаб); цимзию (цертолизумаб пегол); симпони (голимумаб); иларис (канакинумаб); стелару (устекинумаб); арзерру (офатумумаб); пролиа (деносумаб); нумакс (мотавизумаб); АВThrax (раксипакумаб); бенлисту (белимумаб); ервой (ипилимумаб); адцетрис (брентуксимаб ведотин); перьета (пертузумаб); кадсилу (адо-трастузумаб эмтанзин); и газиву (обинутузумаб). Также включены конъюгаты антитело-лекарственное средство.

Второе средство может представлять собой терапевтическое средство, которое не является лекарственным средством. Например, вторым терапевтическим средством является лучевая терапия, криотерапия, гипертермия и/или хирургическое удаление опухолевой ткани.

Второе средство может представлять собой ингибитор контрольной точки. В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибирующее антитело (например, моноспецифическое антитело, такое как моноклональное антитело). Антитело может быть, например, гуманизированным или полностью человеческим. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой слитый белок, например, слитый белок Fc-рецептора. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой средство, такое как антитело, которое взаимодействует с белком контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой средство, такое как антитело, которое взаимодействует с лигандом белка контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или низкомолекулярный ингибитор) CTLA-4 (например, антитело к CTLA4, такое как ипилимумаб/ервой или тремелиумаб). В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или низкомолекулярный ингибитор) PD-1 (например, ниволумаб/Opdivo®; пембролизумаб/Keytruda®; пидилизумаб/CT-011). В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или низкомолекулярный ингибитор) PDL1 (например, MPDL3280A/RG7446; MEDI4736; MSB0010718C; BMS 936559). В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или слитый продукт Fc или низкомолекулярный ингибитор) PDL2 (например, слитый белок PDL2/Ig, такой как AMP 224). В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или низкомолекулярный ингибитор) семейства лигандов B7-H3 (например, MGA271), B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, B-7 или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления соединение по настоящему изобретению применяется в комбинации с другой противораковой терапией, применяемой для лечения увеальной меланомы, такой как хирургическое вмешательство, ингибитор MEK и/или ингибитор PKC, или их комбинации. Например, в некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выполнение хирургического вмешательства до, после или одновременно с введением соединения по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора MEK (например, селуметиниба, биниметиниба или таметиниба) и/или ингибитора PKC (например, сотрастурина или IDE196) до, после или одновременно с введением соединения по настоящему изобретению.

В любой из комбинаций вариантов осуществления, описанных в данном документе, первый и второй терапевтические средства вводят одновременно или последовательно в любом порядке. Первое терапевтическое средство может быть введено незамедлительно, за 1 час, за 2 часа, за 3 часа, за 4 часа, за 5 часов, за 6 часов, за 7 часов, за 8 часов, за 9 часов, за 10 часов, за 11 часов, за 12 часов, за 13 часов, 14 часов,

за часов 16, за 17 часов, за 18 часов, за 19 часов за 20 часов, за 21 час, за 22 часа, за 23 часа, за 24 часа или за 1-7, 1-14, 1-21 или 1-30 дней до или после второго терапевтического средства.

Фармацевтические композиции

5 Соединения по настоящему изобретению предпочтительно составлены в фармацевтических композициях для введения млекопитающим, предпочтительно людям, в биологически совместимой форме, подходящей для введения *in vivo*. Соответственно, в одном аспекте в настоящем изобретении представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение по настоящему изобретению в смеси с подходящим разбавителем, носителем или вспомогательным веществом.

10 Соединения по настоящему изобретению можно применять в форме свободного основания, в форме солей, сольватов и в качестве пролекарств. Все формы входят в объем настоящего изобретения. В соответствии со способами по настоящему изобретению описанные соединения или их соли, сольваты или пролекарства могут вводиться пациенту в различных формах в зависимости от выбранного пути введения, как будет понятно специалистам в данной области техники. Соединения по настоящему изобретению можно
15 вводить, например, пероральным, парентеральным, трансбуккальным, сублингвальным, назальным, ректальным, с помощью пластыря, насоса, или трансдермальным путем введения, и фармацевтические композиции соответственно составлены. Парентеральное введение включает внутривенный, внутрибрюшинный, подкожный, внутримышечный, трансэпителиальный, назальный, внутрилегочный, интратекальный, ректальный и местный способы введения. Парентеральное введение может осуществляться
20 путем непрерывной инфузии в течение выбранного периода времени.

Соединение по настоящему изобретению можно вводить перорально, например, с инертным разбавителем или с ассимилируемым съедобным носителем, или оно может быть заключено в желатиновые капсулы с твердой или мягкой оболочкой, или оно может быть спрессовано в таблетки, или оно может быть непосредственно включено в пищевой продукт в рационе питания. Для перорального терапевтического
25 введения соединение по настоящему изобретению может быть включено с вспомогательным веществом и применяться в форме таблеток для приема внутрь, буккальных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов и капсул-имплантатов.

Соединение по настоящему изобретению также можно вводить парентерально. Растворы соединения по настоящему изобретению могут быть приготовлены в воде, подходящей для смешивания с поверхностно-
30 активным веществом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Также можно приготовить дисперсии в глицерине, жидких полиэтиленгликолях, DMSO и их смесях со спиртом или без него, а также в маслах. В обычных условиях хранения и применения эти препараты могут содержать консервант для предупреждения роста микроорганизмов. Стандартные процедуры и ингредиенты для выбора и приготовления подходящих составов описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (2003, 20-е изд.) и в The United States
35 Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19), опубликованной в 1999 году. Фармацевтически приемлемые формы, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для лекарственных форм немедленного приема, стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть жидкой до такой степени, чтобы ее можно было легко ввести с помощью шприца.

40 Соединение, описанное в данном документе, можно вводить внутриопухолево, например, в виде внутриопухоловой инъекции. Внутриопухоловая инъекция представляет собой инъекцию непосредственно в сосудистую сеть опухоли и специально предназначена для дискретных, твердых, доступных опухолей. Также

может быть целесообразным местное, региональное или системное введение. С соединением, описанным в данном документе, можно преимущественно вступать в контакт, путем введения инъекции или нескольких инъекций в опухоль, например, с интервалом примерно в 1 см. В случае хирургического вмешательства настоящее изобретение можно использовать до операции, например, чтобы подвергнуть неоперабельную опухоль резекции. При необходимости также может применяться непрерывное введение, например, путем имплантации катетера в опухоль или в сосудистую сеть опухоли.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить животному, например, человеку, отдельно или в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителями, как указано в данном документе, пропорция которых определяется растворимостью и химической природой соединения, выбранным путем введения, и стандартной фармацевтической практикой.

Дозировки

Дозировка соединений по настоящему изобретению и/или композиций, содержащих соединение по настоящему изобретению, может варьироваться в зависимости от многих факторов, таких как фармакодинамические свойства соединения; схема введения; возраст, состояние здоровья и вес реципиента; характер и степень симптомов; частота лечения и тип сопутствующего лечения, если таковое имеется; и скорость клиренса соединения у животного, подлежащего лечению. Специалист в данной области техники может определить подходящую дозировку на основе вышеуказанных факторов. Соединения по настоящему изобретению можно вводить первоначально в подходящей дозировке, которую можно регулировать по мере необходимости, в зависимости от клинического ответа. В общем, удовлетворительные результаты могут быть получены, когда соединения по настоящему изобретению вводят человеку в суточной дозе, например, от 0,05 мг до 3000 мг (измеряется в виде твердой формы).

В качестве альтернативы количество дозировки можно рассчитать, используя вес тела пациента. Например, доза соединения или его фармацевтической композиции, вводимая пациенту, может находиться в диапазоне 0,1-50 мг/кг.

Примеры

Во всем разделе примеров используются сокращения, приведенные ниже:

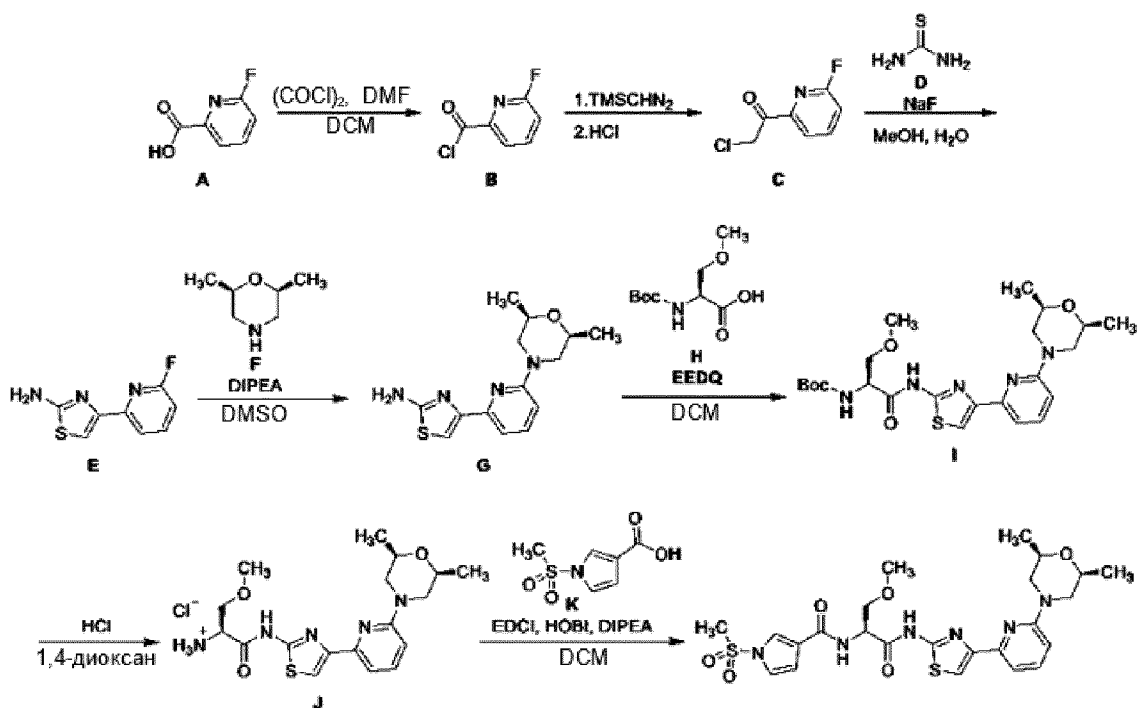
Boc	трет-бутоксикарбонил
DCM	дихлорметан
DIPEA или DIEA	N,N-диизопропилэтиламин
DMF	N,N-диметилформамид
DMSO	диметилсульфоксид
EDCI	N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодимида гидрохлорид
EEDQ	2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидрохинолин
EtOH	этиловый спирт
ч	час
HOBT или HOBT	1-гидроксibenзотриазола гидрат
MeOH	метиловый спирт
MsCl	метансульфонилхлорид
NaHMDS	бис(триметилсилил)амид натрия

$\text{PdCl}_2(\text{dtbpf})$	дихлор[1,1'-бис(ди- <i>t</i> -бутилфосфино)ферроцен]палладий(II)
THF	тетрагидрофуран
TMSCHN_2	(диазометил)триметилсилан

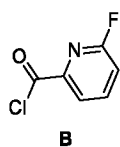
Пример 1. Получение N-((S)-1-((4-(6-(*цис*-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоксамида

N-((S)-1-((4-(6-(*цис*-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоксамида синтезировали, как показано на схеме 1 ниже.

Схема 1.

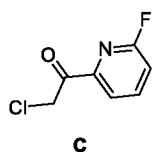


Стадия 1: Получение 6-фторпиридин-2-карбонилхлорида (промежуточное соединение В)



К охлажденному (0 °C) раствору 6-фторпиридин-2-карбоновой кислоты (50,0 г, 354 ммоль) в дихлорметане (500 мл) и N,N-диметилформамиде (0,26 мл, 3,54 ммоль) добавляли оксалилхлорид (155 мл, 1,77 моль). После завершения добавления оксалилхлорида, реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. Через 0,5 часа смесь концентрировали под вакуумом с получением **промежуточного соединения В** (56,50 г) в виде белого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

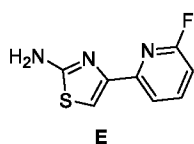
Стадия 2: Получение 2-хлор-1-(6-фтор-2-пиридил)этенона (промежуточное соединение С)



К охлажденной (0 °C) смеси **промежуточного соединения В** (56,0 г, 351 ммоль) в 1,4-диоксане (800 мл) по каплям добавляли раствор 2 М триметилсилилдиазометана в смеси гексанов (351 мл, 702 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали при 25 °C в течение 10 ч. Реакционную смесь последовательно гасили раствором 4 М HCl в 1,4-диоксане (500 мл, 2,0 моль). После перемешивания в течение 2 ч реакционный раствор концентрировали под вакуумом с получением масла. Остаток разбавляли насыщенным водным раствором NaHCO₃ и трижды экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **промежуточного соединения С** (35,5 г) в виде белого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии непосредственно.

LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺ = 173,8.

Стадия 3: Получение 4-(6-фтор-2-пиридил)тиазол-2-амин (промежуточное соединение E)

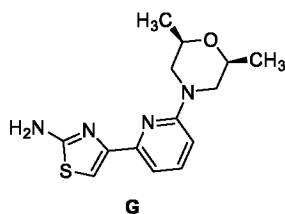


К раствору **промежуточного соединения С** (35,5 г, 205 ммоль) и тиомочевин (14,0 г, 184 ммоль) в смеси метанола (250 мл) и воды (250 мл) при комнатной температуре добавляли NaF (3,56 г, 84,8 ммоль). После перемешивания в течение 0,5 ч реакционную смесь частично концентрировали под вакуумом с удалением MeOH, и полученный раствор подкисляли до pH ~3 2 М водным раствором HCl. Через 15 минут раствор трижды экстрагировали этилацетатом. Органические слои отбрасывали, а водную фазу подщелачивали насыщенным водным раствором NaHCO₃, перемешивали в течение 30 минут и экстрагировали трижды этилацетатом. Объединенные органические слои трижды промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растирали с петролейным эфиром, перемешивали при 25 °C в течение 10 минут и фильтровали. Полученные твердые вещества сушили под вакуумом с получением **промежуточного соединения E** (28,0 г, 143 ммоль, выход 70,1%, чистота 100%) в виде белого твердого вещества.

LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺ = 195,8.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,00 - 7,96 (m, 1H), 7,72 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,16 (s, 2H), 7,02 (d, J = 8,0 Гц, 1H).

Стадия 4: Получение 4-[6-(цис-2,6-диметилморфолин-4-ил)-2-пиридил]тиазол-2-амин (промежуточное соединение G)



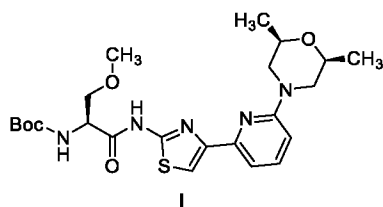
Десять отдельных смесей **промежуточного соединения E** (2,00 г, 10,3 ммоль), цис-2,6-диметилморфолина (3,54 г, 30,7 ммоль) и DIPEA (5,35 мл, 30,7 ммоль) в диметилсульфоксиде (10 мл) перемешивали параллельно при 120 °C под атмосферой N₂. Через 36 ч реакционные смеси объединяли и по каплям добавляли к воде. Полученную суспензию фильтровали и осадок на фильтре трижды промывали

водой и один раз петролевым эфиром, затем сушили при пониженном давлении с получением промежуточного соединения **G** (25,5 г, 87,8 ммоль, выход 95,2%) в виде твердого вещества желтого цвета.

LCMS (ESI) m/z : $[M+H]^+ = 291,2$.

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,56 - 7,54 (m, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,13 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,01 (s, 2H), 6,72 (d, $J = 8,8$ Гц, 1H), 4,26 - 4,15 (m, 2H), 3,67 - 3,55 (m, 2H), 2,38 - 2,34 (m, 2H), 1,17 (d, $J = 6,4$ Гц, 6H).

Стадия 5: Получение трет-бутил-N-[(1S)-2-[[4-[6-(цис-2,6-диметилморфолин-4-ил)-2-пиридил]тиазол-2-ил]амино]-1-(метоксиметил)-2-оксо-этил]карбамата (промежуточное соединение I)

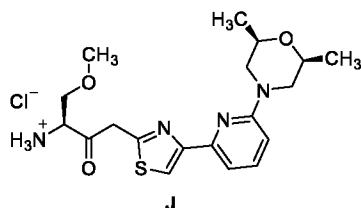


К раствору промежуточного соединения **G** (12,0 г, 41,3 ммоль) и (2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метоксипропановой кислоты (10,9 г, 49,6 ммоль) в дихлорметане (60 мл) добавляли EEDQ (12,3 г, 49,6 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 16 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат = от 2:1 до 3:2) с получением промежуточного соединения **I** (20,0 г, 40,7 ммоль, выход 98,5%) в виде желтого смолистого вещества.

LCMS (ESI) m/z : $[M+H]^+ = 492,2$.

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,37 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,64 - 7,60 (m, 1H), 7,25 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 7,16 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 6,79 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 4,50 - 4,48 (m, 1H), 4,25 (d, $J = 11,6$ Гц, 2H), 3,70 - 3,51 (m, 4H), 3,26 (s, 3H), 2,44 - 2,40 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,18 (d, $J = 6,4$ Гц, 6H).

Стадия 6: Получение (S)-4-(4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)-1-метокси-3-оксобутан-2-аминия хлорида (промежуточный продукт J)



К раствору 4 М HCl в 1,4-диоксане (200 мл, 800 ммоль) добавляли раствор промежуточного соединения **I** (20,0 г, 40,7 ммоль) в дихлорметане (50 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 ч смесь разбавляли метил-трет-бутиловым эфиром, в результате чего получали суспензию. Твердое вещество собирали фильтрованием, дважды промывали метил-трет-бутиловым эфиром и сушили под вакуумом с получением промежуточного соединения **J** (19,0 г) в виде твердого вещества желтого цвета, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

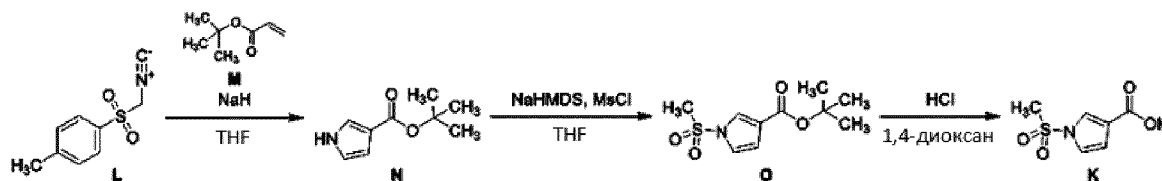
LCMS (ESI) m/z : $[M+H]^+ = 392,3$.

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 13,44 - 12,30 (m, 1H), 8,65 (d, $J = 4,4$ Гц, 3H), 7,87 (s, 1H), 7,66 - 7,64 (m, 1H), 7,25 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 6,83 (d, $J = 8,8$ Гц, 1H), 4,39 - 4,30 (m, 1H), 4,25 (d, $J = 11,6$ Гц, 2H), 3,94 - 3,86 (m, 1H), 3,85 - 3,77 (m, 1H), 3,69 - 3,57 (m, 2H), 3,31 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 1,18 (d, $J = 6,4$ Гц, 6H).

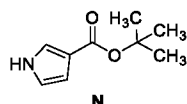
Получение 1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоновой кислоты (промежуточное соединение К)

1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоновую кислоту синтезировали, как показано на схеме 2 ниже.

Схема 2



5 Стадия А: Получение трет-бутил-1Н-пиррол-3-карбоксилата (промежуточное соединение N)

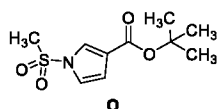


К смеси трет-бутилпроп-2-еноата (78,6 мл, 542 ммоль) и 1-(изоцианометилсульфонил)-4-метилбензола (106 г, 542 ммоль) в THF (1300 мл) добавляли 60% NaH в минеральном масле (25,97 г, 649 ммоль) медленно при 30 °С в течение 1 часа, а затем нагревали до 70 °С. Через 2 ч реакционную смесь выливали в насыщенный водный раствор NH_4Cl и трижды экстрагировали этилацетатом. Объединенную органическую фазу дважды промывали солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат = от 20:1 до 3:1) с получением **промежуточного соединения N** (41,5 г, 236 ммоль, выход 43%) в виде твердого вещества желтого цвета.

LCMS (ESI) m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 180,4$.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,36 (br s, 1H), 7,35 - 7,25 (m, 1H), 6,71 - 6,62 (m, 1H), 6,59 - 6,49 (m, 1H), 1,48 (s, 9H).

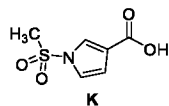
20 Стадия В: Получение трет-бутил-1-метилсульфонилпиррол-3-карбоксилата (промежуточное соединение О)



К охлажденному раствору (0 °С) **промежуточного соединения N** (40,5 г, 242 ммоль) в THF (1500 мл) добавляли 1 М раствор NaHMDS (484 мл, 484 ммоль). После перемешивания при 0 °С в течение 30 мин. медленно добавляли метансульфонилхлорид (28,1 мл, 363 ммоль) и смесь нагревали до 30 °С. Через 16 ч реакционную смесь медленно выливали в насыщенный водный раствор NH_4Cl и трижды экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои дважды промывали солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат = 10:1) с получением твердого вещества желтого цвета. Желтое твердое вещество растирали с метил-трет-бутиловым эфиром при комнатной температуре, перемешивали в течение 20 минут, фильтровали и сушили под вакуумом с получением **промежуточного соединения О** (25,7 г, 105 ммоль, выход 43%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,66-7,64 (m, 1H), 7,10 - 7,08 (m, 1H), 6,73-6,71 (m, 1H), 3,21 (s, 3H), 1,56 (s, 9H).

Стадия С: Получение 1-метилсульфонилпиррол-3-карбоновой кислоты (промежуточное соединение К)

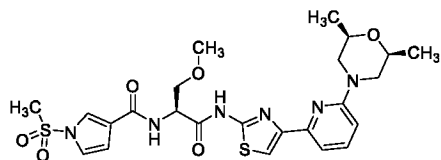


К смеси **промежуточного соединения О** (25,7 г, 105 ммоль) в 1,4-диоксане (100 мл) добавляли 4 М раствор HCl в 1,4-диоксане (400 мл, 1,6 моль) при 15 °С. После перемешивания при 15 °С в течение 14 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток растирали с метил-трет-бутиловым эфиром при 15 °С в течение 16 ч. Смесь фильтровали и сушили под вакуумом с получением **промежуточного соединения К** (18,7 г, 98,8 ммоль, выход 94%) в виде белого твердого вещества.

LCMS (ESI) m/z $[M+H]^+ = 189,8$.

^1H ЯМР (400 МГц, метанол- d_4) δ 7,78 - 7,77 (m, 1H), 7,25 - 7,23 (m, 1H), 6,72 - 6,70 (m, 1H), 3,37 (s, 3H).

Стадия 7: Получение N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамида

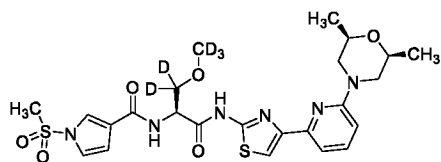


К раствору 1-метилсульфонилпиррол-3-карбоновой кислоты (**промежуточное соединение К**) (2,43 г, 12,9 ммоль), EDCI (2,69 г, 14,0 ммоль), HOBT (1,89 г, 14,0 ммоль) и DIPEA (10,2 мл, 58,4 ммоль) в дихлорметане (50 мл) добавляли **промежуточное соединение J** (5,00 г, 11,7 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 4 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли водой и трижды экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои трижды промывали насыщенным водным раствором NH_4Cl , один раз соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир:этилацетат = от 1:1 до 1:2). Остаток растирали с метил-трет-бутиловым эфиром. Через 0,5 ч суспензию фильтровали, осадок на фильтре промывали метил-трет-бутиловым эфиром и сушили под вакуумом. Твердое вещество растворяли в диметилсульфоксиде (12 мл) и по каплям добавляли к воде (800 мл). Суспензию фильтровали с получением влажного осадка на фильтре. Осадок на фильтре суспендировали в воде и перемешивали при комнатной температуре. Через 1 час твердое вещество собирали фильтрованием, трижды промывали водой и сушили под вакуумом с получением **N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамида** (3,9 г, 6,93 ммоль, выход 59,3%) в виде белого твердого вещества.

LCMS (ESI) m/z : $[M+H]^+ = 563,1$.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,49 (br s, 1H), 8,51 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 7,98 - 7,97 (m, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,67 - 7,57 (m, 1H), 7,29 - 7,27 (m, 1H), 7,26 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 6,88 - 6,74 (m, 2H), 4,94 - 4,91 (m, 1H), 4,25 (d, $J = 11,6$ Гц, 2H), 3,77 - 3,67 (m, 2H), 3,63 - 3,62 (m, 2H), 3,57 (s, 3H), 3,31 (s, 3H), 2,44 - 2,38 (m, 2H), 1,18 (d, $J = 6,0$ Гц, 6H).

Пример 2. Получение N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3(метокси- d_3)-1-оксопропан-2-ил-3,3- d_2)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамида



N-((S)-1-((4-(6-(cis-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-(метокси-d₃)-1-оксопропан-2-ил-3,3-d₂)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамида получали в соответствии с протоколом синтеза, описанным в Примере 1, с заменой промежуточного соединения Н на N-(трет-бутоксикарбонил)-O-(метил-d₃)-L-серин-3,3-d₂. N-(трет-бутоксикарбонил)-O-(метил-d₃)-L-серин-3,3-d₂ получали из изотопно-обогащенного материала в соответствии с процедурами синтеза, описанными в A. Yang et al, *Org. Process Res. Dev.* **2019**, 23, 818-824.

LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺ = 568,2.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,45 (s, 1H), 8,47 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,98 (dd, J = 2,3, 1,7 Гц, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,62 (dd, J = 8,5, 7,4 Гц, 1H), 7,29 (dd, J = 3,2, 2,3 Гц, 1H), 7,26 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 6,84 – 6,75 (m, 2H), 4,91 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 4,25 (dd, J = 13,1, 2,3 Гц, 2H), 3,69 – 3,59 (m, 2H), 3,56 (s, 3H), 2,42 (dd, J = 12,8, 10,5 Гц, 2H), 1,18 (d, J = 6,2 Гц, 6H).

Пример 3. Получение N-((R)-1-((4-(6-(cis-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-(метокси)-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамида

N-((R)-1-((4-(6-(cis-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-(метокси)-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамида получали в соответствии с протоколом синтеза, описанным в Примере 1, с заменой промежуточного соединения Н на (2R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метоксипропановую кислоту.

LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺ = 563,1.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,5 (s, 1H), 8,50 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,98 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,62 (dd, J = 7,2, 8,4 Гц, 1H), 7,29 (dd, J = 2,0, 3,2 Гц, 1H), 7,26 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 6,79 - 6,81 (m, 2H), 4,92 (q, J = 6,4, 12,8 Гц, 1H), 4,25 (d, J = 11,2 Гц, 2H), 3,69 - 3,75 (m, 2H), 3,59 - 3,66 (m, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,31 (s, 3H), 2,41 (dd, J = 10,8, 12,8 Гц, 2H), 1,18 (d, J = 6,0 Гц, 6H).

Пример 4. Получение N-((R)-1-((4-(6-(cis-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-(метокси-d₃)-1-оксопропан-2-ил-3,3-d₂)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамида

N-((R)-1-((4-(6-(cis-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-(метокси-d₃)-1-оксопропан-2-ил-3,3-d₂)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамида получали в соответствии с протоколом синтеза, описанным в Примере 1, с заменой промежуточного соединения Н на N-(трет-бутоксикарбонил)-O-(метил-d₃)-D-серин-3,3-d₂. N-(трет-бутоксикарбонил)-O-(метил-d₃)-D-серин-3,3-d₂ получали из изотопно-обогащенного материала в соответствии с процедурами синтеза, описанными в A. Yang et al, *Org. Process Res. Dev.* **2019**, 23, 818-824.

LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺ = 568,3.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,46 (s, 1H), 8,52 – 8,38 (m, 1H), 7,97 (t, J = 1,9 Гц, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,62 (dd, J = 8,5, 7,3 Гц, 1H), 7,29 (dd, J = 3,3, 2,3 Гц, 1H), 7,26 (d, J = 7,4 Гц, 1H), 6,79 (dt, J = 5,1, 1,8 Гц, 2H), 4,89 (d, J = 5,2 Гц, 1H), 4,31 – 4,20 (m, 2H), 3,63 (ddd, J = 10,5, 6,2, 2,5 Гц, 2H), 3,56 (s, 3H), 2,41 (dd, J = 12,8, 10,5 Гц,

2H), 1,18 (d, $J = 6,2$ Гц, 6H).

Пример 5. Анализ каталитической активности BRM- и BRG-1-АТФазы

Каталитическую активность BRM или BRG-1-АТФазы измеряли биохимическим анализом *in vitro* с использованием ADP-Glo™ (Promega, V9102). Анализ киназы ADP-Glo™ выполняли в две стадии после завершения реакции. Первая стадия состояла в исчерпании всего неиспользованного АТФ в реакции. Вторая стадия представляла собой преобразование продукта реакции АДФ в АТФ, который будет использоваться люциферазой для генерации люминесценции и обнаруживаться устройством для считывания люминесценции, например, Envision.

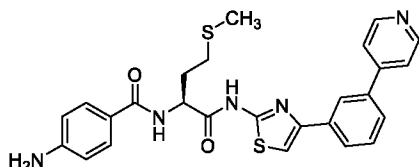
Анализируемая реакционная смесь (10 мкл) содержала 30 нМ BRM или BRG-1, 20 нМ ДНК спермы лосося (от Invitrogen, раствор ДНК спермы лосося UltraPure™, кат. № 15632011) и 400 мкМ АТФ в буфере для анализа АТФазы, который содержит 20 мМ Tris, pH 8, 20 мМ MgCl₂, 50 мМ NaCl, 0,1% Твин-20 и 1 мМ свежий DTT (Pierce™ DTT (дитиотреитол), кат. № 20290). Реакцию инициировали добавлением 2,5 мкл раствора АТФазы к 2,5 мкл раствора АТФ/ДНК на белом планшете Proxiplate-384 plus малого объема (PerkinElmer, кат. № 6008280) и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем последовательно добавляли 5 мкл реагента ADP-Glo™, входящего в набор, реакционную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 40 минут. Затем 10 мкл реагента для определения киназы, входящего в комплект, добавляли для преобразования АДФ в АТФ, и реакционную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 60 минут. Наконец, измерение люминесценции выполняли с помощью люминометра для считывания планшетов, такого как Envision.

BRM и BRG-1 синтезировали из пяти клеточных линий насекомых с чистотой более 90%.

Было обнаружено, что N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамид характеризовался IP₅₀, составляющей 3,9 нМ против BRM и 5,2 нМ против BRG1 в анализе. Было обнаружено, что N-((R)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-(метокси-d₃)-1-оксопропан-2-ил-3,3-d₂)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамид характеризовался IP₅₀, составляющей 443 нМ против BRM и 777 нМ против BRG1 в анализе. Было обнаружено, что N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-(метокси-d₃)-1-оксопропан-2-ил-3,3-d₂)-1-(метилсульфонил)-1H-пиррол-3-карбоксамид характеризовался IP₅₀, составляющей 4,6 нМ против BRM и 7,4 нМ против BRG1 в анализе.

Пример 6. Синтез соединения А

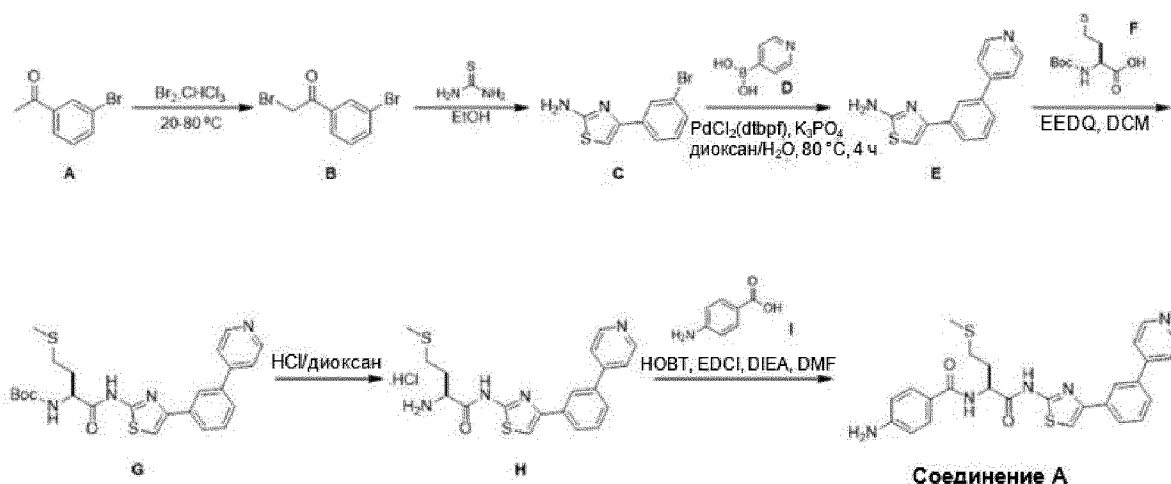
Соединение А-ингибитор BRG1/BRM характеризуется структурой:



А

Соединение А синтезировали, как изображено на схеме 3 ниже.

Схема 3. Синтез соединения А



Каталитическую активность BRM- или BRG1-АТФазы в присутствии соединения А измеряли биохимическим анализом *in vitro* с использованием ADP-Glo™ (Promega, V9102), описанным выше. Было обнаружено, что соединение А характеризуется IP_{50} , равной 10,4 нМ против BRM и 19,3 нМ против BRG1 в данном анализе.

Пример 7. Влияние ингибирования BRG1/BRM-АТФазы на рост увеальной меланомы и линий гематологических раковых клеток

Процедура: Линии клеток увеальной меланомы (92-1, MP41, MP38, MP46), линии клеток рака предстательной железы (LNCAP), линии клеток рака легкого (NCI-H1299) и immortalized линии эмбриональной почки (HEK293T) помещали в 96-луночные планшеты в среду для роста (см. Табл. 1). Ингибитор BRG1/BRM-АТФазы, соединение А, растворяли в DMSO и добавляли к клеткам в градиенте концентрации от 0 до 10 мкМ во время посева. Клетки инкубировали при 37 °C в течение 3 дней. После трех дней обработки среду из клеток удаляли и к клеткам добавляли 30 мкл TrypLE (Gibco) на 10 минут. Клетки отделяли от планшетов и ресуспендировали с добавлением 170 мкл питательной среды. Клетки из двух контрольных лунок, обработанных DMSO, подсчитывали, и исходное количество клеток, высеванных в начале эксперимента, повторно высевали в планшеты, содержащие свежее соединение, еще на четыре дня при 37 °C. В день 7 клетки собирали, как описано выше. В день 3 и день 7 измеряли относительный рост клеток путем добавления Cell-titer glo (Promega) и измеряли люминесценцию с помощью планшет-ридера Envision (Perkin Elmer). Концентрацию соединения, при которой рост каждой клеточной линии ингибировали на 50% (GI_{50}), рассчитывали с использованием Graphpad Prism и откладывали на графике ниже. Для линий клеток множественной миеломы (OPM2, MM1S, LP1), линий клеток ALL (TALL1, JURKAT, RS411), линий клеток DLBCL (SUDHL6, SUDHL4, DB, WSUDLCL2, PFEIFFER), линий клеток AML (OCIAML5), линий клеток MDS (SKM1), линий клеток рака яичников (OV7, TYKNU), линий клеток рака пищевода (KYSE150), линий рабдоидных опухолей (RD, G402, G401, HS729, A204), линий клеток рака печени (HLF, HLE, PLCRPF5) и линий клеток рака легкого (SW1573, NCIH2444), вышеуказанные способы применяли со следующими модификациями: клетки помещали в 96-луночные планшеты, а на следующий день ингибитор BRG1/BRM-АТФазы, соединение А, растворяли в DMSO и добавляли к клеткам в градиенте концентрации от 0 до 10 мкМ. Во время деления клеток в дни 3 и 7 клетки разделяли на новые 96-луночные планшеты и через четыре часа после повторного посева добавляли свежее соединение. В Табл. 1 перечислены тестируемые клеточные

линии и использованные питательные среды.

Таблица 1. Клеточные линии и питательные среды

Клеточная линия	Источ- ник	Питательная среда
92-1	SIGMA	RPMI1640 + 20% FBS
A204	ATCC	Среда МакКоя 5A +10% FBS
DB	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
G401	ATCC	Среда МакКоя 5A +10% FBS
G402	ATCC	Среда МакКоя 5A +10% FBS
HEK293T	ATCC	DMEM + 10% FBS
HLE	JCRB	DMEM + 10% FBS
HLF	JCRB	DMEM + 10% FBS
HS729	ATCC	DMEM + 10% FBS
JURKAT	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
KYSE150	DSMZ	RPMI1640/среда Хэма F12 + 10% FBS
LNCAP	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
LP1	DSMZ	IMDM + 20% FBS
MM1S	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
MP38	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS
MP41	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS
MP46	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS
NCIH1299	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
NCIH2444	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS
OCIAML5	DSMZ	альфа-MEM + 20% FBS +10 нг/мл GM-CSF
OPM2	DSMZ	RPMI1640 + 10% FBS
OV7	ECACC	DMEM/среда Хэма F12 (1:1) + 2 mM глутамина + 10% FBS + 0,5 мкг/мл гидрокортизона + 10 мкг/мл инсулина
PFEIFFER	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
PLCPRF5	ATCC	EMEM + 10% FBS
RD	ATCC	DMEM + 10% FBS
RS411	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
SKM1	JCRB	RPMI1640 + 10% FBS
SUDHL4	DSMZ	RPMI1640 + 10% FBS
SUDHL6	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS
SW1573	ATCC	DMEM + 10% FBS
TALL1	JCRB	RPMI1640 + 10% FBS
TYKNU	JCRB	EMEM + 20% FBS
WSUDLCL2	DSMZ	RPMI1640 + 10% FBS

Результаты: Как показано на Фиг. 1, клеточные линии увеальной меланомы и гематологического рака были более чувствительны к ингибированию BRG1/BRM, чем другие тестируемые клеточные линии.

5 Ингибирование клеточных линий увеальной меланомы и гематологического рака сохранялось до дня 7.

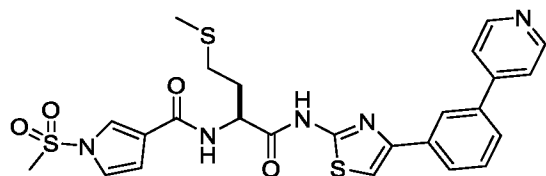
Пример 8. Сравнение ингибиторов BRG1/BRM с клиническими ингибиторами PKC и MEK в клеточных линиях увеальной меланомы

Процедура: Клеточные линии увеальной меланомы, 92-1 или MP41, высевали в 96-луночные планшеты в присутствии питательной среды (см. Табл. 1). Ингибиторы BAF-АТФазы (соединение А), ингибитор PKC (LXS196; MedChemExpress) или ингибитор MEK (селуметиниб; Selleck Chemicals) растворяли в DMSO и добавляли к клеткам в градиенте концентрации от 0 до 10 мкМ во время посева. Клетки инкубировали при 37 °С в течение 3 дней. Через три дня после обработки рост клеток измеряли с помощью Cell-titer Glow (Promega) и люминесценцию считывали с помощью планшет-ридера Envision (Perkin Elmer).

Результаты: Как показано на Фиг. 2 и Фиг. 3, соединение А показало сопоставимое ингибирование роста клеток увеальной меланомы с клиническими ингибиторами PKC и MEK. Кроме того, было обнаружено, что соединение А приводит к более быстрому началу ингибирования, чем клинические ингибиторы PKC и MEK.

Пример 9. Синтез соединения В.

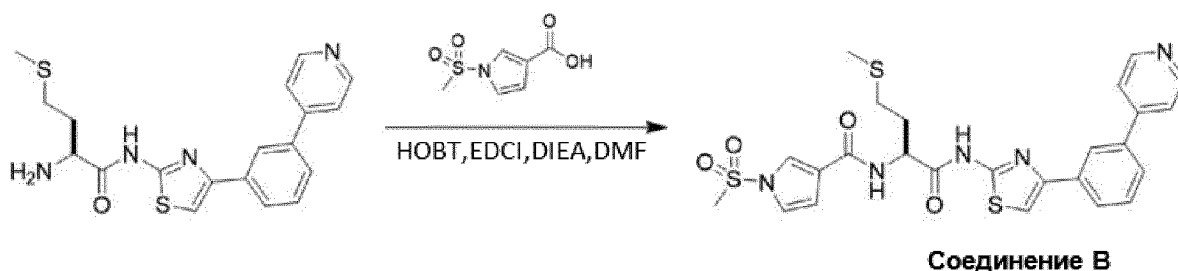
Соединение В-ингибитор BRG1/BRM характеризуется структурой:



Соединение В

Соединение В синтезировали, как изображено на схеме 4 ниже.

Схема 4. Синтез соединения В



К смеси (2S)-2-амино-4-метилсульфанил-N-[4-[3-(4-пиридил)фенил]тиазол-2-ил]бутанамида (2 г, 4,75 ммоль, соль HCl) и 1-метилсульфонилпиррол-3-карбоновой кислоты (898,81 мг, 4,75 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляли EDCI (1,37 г, 7,13 ммоль), HOBT (962,92 мг, 7,13 ммоль) и DIEA (2,46 г, 19,00 ммоль, 3,31 мл) и смесь перемешивали при 25 °С в течение 3 ч. Смесь выливали в H₂O (100 мл) и осадок собирали фильтрацией. Твердое вещество растирали в MeOH (20 мл) и осадок собирали фильтрацией. Твердое вещество растворяли в DMSO (10 мл), затем смесь выливали в MeOH (50 мл) и образовавшийся осадок собирали фильтрацией и лиофилизировали с получением соединения В (2,05 г, 3,66 ммоль, выход 77,01%) в виде белого твердого вещества.

LCMS (ESI) m/z [M+H]⁺=555,9.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,49 (s, 1H), 8,68 - 8,66 (m, 2H), 8,46 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,31 - 8,30 (m, 1H), 8,02 - 8,00 (m, 1H), 7,94 - 7,96 (m, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,73 - 7,74 (m, 3H), 7,61 - 7,57 (m, 1H), 7,31 - 7,29 (m, 1H), 6,79 -

6,77 (m, 1H), 4,74 - 4,69 (m, 1H), 3,57 (s, 3H), 2,67-2,53 (m, 2H), 2,13 - 2,01 (m, 5H). $\epsilon\epsilon\epsilon\epsilon=100\%$.

Было обнаружено, что соединение В характеризуется IP_{50} , составляющей 3,6 нМ против BRM и 5,7 нМ против BRG1 в описанном анализе АТФазы.

5 Пример 10. Влияние ингибирования BRG1/BRM-АТФазы на рост клеточных линий увеальной меланомы, гематологического рака, рака предстательной железы, рака молочной железы и саркомы Юинга

Процедура: Все клеточные линии, описанные выше в Примере 7, также тестировали, как описано выше, с соединением В. Кроме того, следующие клеточные линии также тестировали следующим образом.

- 10 Вкратце, для линий клеток саркомы Юинга (CADOES1, RDES, SKES1), линий клеток ретинобластомы (WERIRB1), линий клеток ALL (REH), линий клеток AML (KASUMI1), линий клеток рака предстательной железы (PC3, DU145, 22RV1), линий клеток меланомы (SH4, SKMEL28, WM115, COLO829, SKMEL3, A375),
- 15 линий клеток рака молочной железы (MDAMB415, CAMA1, MCF7, BT474, HCC1419, DU4475, BT549), линий клеток B-ALL (SUPB15), линий клеток CML (K562, MEG01), линий клеток лимфомы Беркитта (RAMOS2G64C10, DAUDI), линий клеток мантийно-клеточной лимфомы (JEKO1, REC1), линий клеток рака мочевого пузыря (HT1197) и линий клеток рака легкого (SBC5), вышеуказанные способы были применяли со
- 20 следующими модификациями. клетки помещали в 96-луночные планшеты, а на следующий день ингибитор BRG1/BRM-АТФазы, соединение В, растворяли в DMSO и добавляли к клеткам в градиенте концентрации от 0 до 10 мкМ. Во время деления клеток в дни 3 и 7 клетки разделяли на новые 96-луночные планшеты и через
- четыре часа после повторного посева добавляли свежее соединение. В Табл. 2 перечислены тестируемые клеточные линии и использованные питательные среды.

Таблица 2. Клеточные линии и питательные среды

Клеточная линия	Источник	Питательная среда
22RV1	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
A375	ATCC	DMEM + 10% FBS
BT474	ATCC	Среда HybriCare + 1,5 г/л натрия бикарбоната + 10% FBS
BT549	ATCC	RPMI1640 + 0,023 МЕ/мл инсулина + 10% FBS
CADOES1	DSMZ	RPMI1640 + 10% FBS
CAMA1	ATCC	EMEM + 10% FBS
COLO829	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
DAUDI	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
DU145	ATCC	EMEM + 10% FBS
DU4475	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
HCC1419	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
HT1197	ATCC	EMEM + 10% FBS
JEKO1	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS
K562	ATCC	IMDM + 10% FBS
KASUMI1	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
MCF7	ATCC	EMEM + 0,01 мг/мл бычьего инсулина + 10% FBS
MDAMB415	ATCC	Среда Лейбовица L-15 + 2 мМ L-глутамин + 10 мкг/мл инсулина

		+ 10 мкг/мл глутатиона + 15% FBS
MEG01	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
PC3	ATCC	F-12K + 10% FBS
RAMOS2G64C10	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
RDES	ATCC	RPMI1640 + 15% FBS
REC1	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
REH	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
SBC5	JCRB	EMEM + 10% FBS
SH4	ATCC	DMEM + 10% FBS
SKES1	ATCC	Среда МакКоя 5А + 15% FBS
SKMEL28	ATCC	EMEM + 10% FBS
SKMEL3	ATCC	Среда МакКоя 5А + 15% FBS
SUPB15	ATCC	IMDM + 4 мМ L-глутамин + 1,5 г/л натрия бикарбоната + 0,05 мМ 2-меркаптоэтанол + 20% FBS
WERIRB1	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS
WM115	ATCC	EMEM + 10% FBS

Результаты: Как показано на Фиг. 4, клеточные линии увеальной меланомы, гематологического рака, рака предстательной железы, рака молочной железы и саркомы Юинга были более чувствительны к ингибированию BRG1/BRM, чем другие тестируемые клеточные линии. Ингибирование клеточных линий увеальной меланомы, гематологического рака, рака предстательной железы, рака молочной железы и саркомы Юинга сохранялось до дня 7.

Пример 11. Влияние ингибирования BRG1/BRM-АТФазы на рост линий раковых клеток.

Процедура: Анализ жизнеспособности объединенных клеток проводили с использованием PRISM (Profiling Relative Inhibition Simultaneously in Mixtures), как описано ранее (“High-throughput identification of genotype-specific cancer vulnerabilities in mixtures of barcoded tumor cell lines”, Yu et al, Nature Biotechnology 34, 419-423, 2016), со следующими модификациями. Клеточные линии получали из коллекции Энциклопедии раковых клеточных линий (CCLE) и адаптированы к среде RPMI-1640 без фенолового красного, с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной телячьей сыворотки (FBS) для применения уникального протокола инфицирования и объединения к такому большому компендиуму клеточных линий. Выполняли протокол определения лентивирусной инфекции с помощью центрифугирования для введения баркода из 24 нуклеотидов в каждую клеточную линию с предполагаемой множественностью заражения (MOI) 1 для всех клеточных линий с использованием бластицидина в качестве селективируемого маркера. Затем более 750 линий раковых клеток PRISM со стабильным баркодом объединяли вместе в соответствии со временем удвоения в пулах из 25. Для проведения скрининга вместо посева пула из 25 клеточных линий в каждую лунку, как описано ранее (Yu et al.), все прикрепившиеся или все пулы суспензионные клеточные линии высевали вместе с использованием колб T25 (100000 клеток/колба) или 6-луночных планшетов (50000 клеток/лунка) соответственно. Клетки обрабатывали либо DMSO, либо соединением в 8-точечной 3-кратной дозозависимой реакции в трех повторностях, начиная с максимальной концентрации 10 мкМ. В качестве контроля надежности анализа клетки обрабатывали параллельно двумя ранее проверенными соединениями, ингибитором всех видов Raf AZ-628 и ингибитором протеасом бортезомибом, используя максимальную

концентрацию 2,5 мкМ и 0,039 мкМ соответственно.

Через 3 дня после обработки соединениями клетки лизировали, выделяли геномную ДНК, бакоды амплифицировали с помощью ПЦР и обнаруживали с помощью секвенирования следующего поколения. Жизнеспособность клеток определяли путем сравнения количества специфических для клеточной линии баркодов в обработанных образцах с таковыми в контроле DMSO и контроле в день 0. Кривые доза-ответ подгоняли для каждой клеточной линии, и соответствующую площадь под кривыми (AUC) рассчитывали и сравнивали со средним значением AUC для всех клеточных линий (Фиг. 5).

Результаты: Наиболее чувствительными считались клеточные линии с AUC ниже медианы.

Пример 12. Влияние ингибиторов BRG1/BRM-АТФазы на рост клеточных линий увеальной меланомы.

Процедура: Клеточные линии увеальной меланомы (92-1, MP41, MP38, MP46) и клетки немелкоклеточного рака легкого (NCIH1299) высевали в 96-луночные планшеты с питательной средой (см. Табл. 2). Ингибитор BRG1/BRM-АТФазы, соединение В, растворяли в DMSO и добавляли к клеткам в градиенте концентрации от 0 до 10 мкМ во время посева. Клетки инкубировали при 37 °С в течение 3 дней. Через три дня после обработки рост клеток измеряли с помощью Cell-titer Glow (Promega) и люминесценцию считывали с помощью планшет-ридера Envision (Perkin Elmer).

Результаты: Как показано на Фиг. 6, соединение В приводило к сильному ингибированию роста клеточных линий.

Пример 13. Сравнение ингибиторов BRG1/BRM с клиническими ингибиторами PKC и MEK в клеточных линиях увеальной меланомы

Процедура: Клеточные линии увеальной меланомы, 92-1 или MP41, высевали в 96-луночные планшеты в присутствии питательной среды (см. Табл. 2). Ингибиторы BAF-АТФазы (соединение В), ингибитор PKC (LXS196; MedChemExpress) или ингибитор MEK (селуметиниб; Selleck Chemicals) растворяли в DMSO и добавляли к клеткам в градиенте концентрации от 0 до 10 мкМ во время посева. Клетки инкубировали при 37 °С в течение 3 дней. Через три дня после обработки рост клеток измеряли с помощью Cell-titer Glow (Promega) и люминесценцию считывали с помощью планшет-ридера Envision (Perkin Elmer).

Результаты: Как показано на Фиг. 7 и Фиг. 8, соединение В показало более сильные эффекты на ингибирование роста клеток увеальной меланомы по сравнению с клиническими ингибиторами PKC и MEK. Кроме того, было обнаружено, что соединение В приводит к более быстрому началу ингибирования роста, чем клинические ингибиторы PKC и MEK.

Пример 14. Ингибиторы BRG1/BRM-АТФазы эффективны в ингибировании роста клеток, устойчивых к ингибиторам PKC.

Процедура: Клетки увеальной меланомы MP41 делали устойчивыми к ингибитору PKC (LXS196; MedChemExpress) путем длительного культивирования в питательной среде (см. Табл. 2), содержащей возрастающие концентрации соединения, вплоть до 1 мкМ. Через 3 месяца чувствительность исходных клеток MP41 и клеток, устойчивых к ингибитору PKC (PKCi), ингибитору PKC (LXS196) или ингибитору BRG1/BRM-АТФазы (соединение В) тестировали в 7-дневном анализе ингибирования роста, как описано выше в Примере 6.

Результаты: В то время как PKCi-устойчивые клетки могли переносить рост при более высоких концентрациях LXS196, чем исходная клеточная линия MP41 (Фиг. 9), ингибитор BRG1/BRM-АТФазы

Пример 17. Эффекты ингибирования BRG1/BRM-АТФазы на рост клеточных линий увеальной меланомы и гематологического рака.

Процедура: Клеточные линии увеальной меланомы (92-1, MEL202, MP41, MP38, MP46), клетки рака предстательной железы (22RV1), клетки острого лейкоза (EOL1, THP1) и клетки гистiocитарной лимфомы (U937) высевали в 96-луночные планшеты с питательными средами (см. Табл. 2). Ингибитор BRG1/BRM-АТФазы, N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид, растворяли в DMSO и добавляли к клеткам в градиенте концентрации от 0 до 2 мкМ (для клеточных линий увеальной меланомы), или от 0 до 1 мкМ (для других клеточных линий) во время посева. Клетки инкубировали при 37 °С в течение 3 дней. Через три дня после обработки рост клеток измеряли с помощью Cell-titer Glow (Promega) и люминесценцию считывали с помощью планшет-ридера Envision (Perkin Elmer).

Результаты: Как показано на Фиг. 14, N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид приводил к сильному ингибированию роста во всех клеточных линиях. Как показано в Табл. 3, измеренные абсолютные значения IC₅₀ составляли ниже 350 нмоль для всех тестируемых клеточных линий.

В Табл. 3 перечислены тестируемые клеточные линии, использованные питательные среды и абсолютные значения IC₅₀ (нМ) через 3 дня после обработки соединением.

Таблица 3. Клеточные линии, питательные среды и абсолютные значения IC₅₀

Клеточная линия	Источник	Питательная среда	Тип рака	Абсолютное значение IC ₅₀ (нМ)
22RV1	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS	Предстательная железа	29,7
92-1	SIGMA	RPMI1640 + 10% FBS	Увеальная меланома	0,3
EOL1	DSMZ	RPMI1640 + 10% FBS	Острый миелоидный лейкоз	75,5
MEL202	SIGMA	RPMI1640 + 10% FBS	Увеальная меланома	62,3
MP38	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS	Увеальная меланома	31,5
MP41	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS	Увеальная меланома	11,8
MP46	ATCC	RPMI1640 + 20% FBS	Увеальная меланома	112,6
THP1	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS	Острый моноцитарный лейкоз	344,9
U937	ATCC	RPMI1640 + 10% FBS	Гистiocитарная лимфома	14,8

Пример 18. Ингибитор BRG1/BRM-АТФазы вызывает ингибирование роста опухоли увеальной меланомы *in vivo*.

Процедура: Бестимусным мышам (Envigo) подкожно в подмышечную область прививали 5 x 10⁶ клеток увеальной меланомы 92-1 в 50% Matrigel. Опухоли выращивали в среднем до ~200 мм³, после чего мышей объединяли в группы и начинали введение доз. Мышам один раз в день через желудочный зонд вводили носитель (20% 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин) или возрастающие дозы N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-1Н-пиррол-3-карбоксамид. Объемы опухолей и вес тела измеряли в течение 3 недель, а дозы корректировали по весу тела для достижения надлежащей дозы в мг/кг.

Результаты: Как показано на Фиг. 15, обработка N-((S)-1-((4-(6-(цис-2,6-диметилморфолино)пиридин-2-ил)тиазол-2-ил)амино)-3-метокси-1-оксопропан-2-ил)-1-(метилсульфонил)-

1Н-пиррол-3-карбоксамидом приводила к дозозависимому ингибированию опухолевого роста с регрессией опухоли, наблюдаемой при наиболее высокой дозе (1,5 мг/кг). Как показано на Фиг. 16, все виды обработок хорошо переносились на основании наблюдаемого % изменения веса тела.

5 Другие варианты осуществления

Хотя настоящее изобретение было описано в связи с его конкретными вариантами осуществления, будет

понятно, что настоящее изобретение допускает дальнейшие модификации, и настоящая заявка предназначена для охвата любых вариаций, вариантов применения или адаптации настоящего изобретения, следуя, в целом,

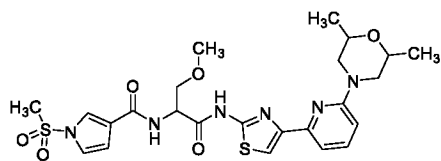
10 принципам настоящего изобретения и включая такие отклонения от настоящего изобретения, которые входят в известную или обычную практику в области техники, к которой относится настоящее изобретение и может быть применено к существенным признакам, изложенным в данном документе выше, и следует в объеме формулы настоящего изобретения.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения указаны в формуле изобретения.

15

Формула изобретения

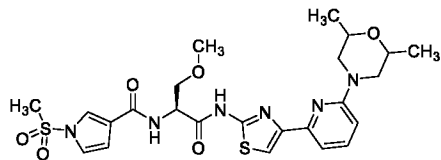
1. Соединение, имеющее структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

5

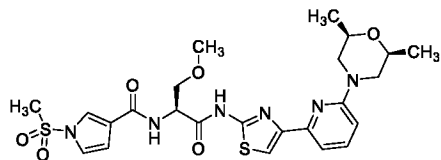
2. Соединение по п. 1, причем соединение имеет структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

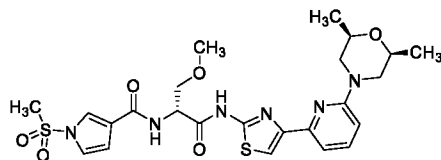
10

3. Соединение по п. 2, причем соединение имеет структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

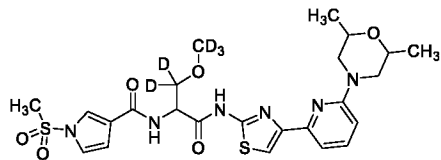
4. Соединение по п. 1, причем соединение имеет структуру:



15

или его фармацевтически приемлемая соль.

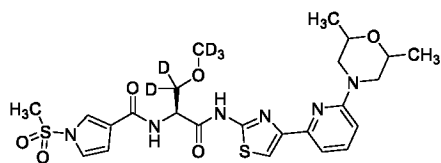
5. Соединение, имеющее структуру:



20

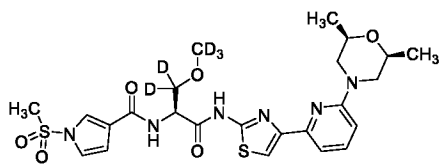
или его фармацевтически приемлемая соль.

6. Соединение по п. 5, причем соединение имеет структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

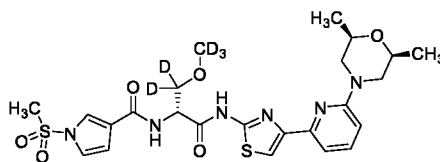
7. Соединение по п. 6, причем соединение имеет структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

5

8. Соединение по п. 5, причем соединение имеет структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

10 9. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-8 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

15 10. Способ снижения активности комплекса BAF в клетке или у субъекта, причем способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композицией по п. 9, или введение его субъекту.

20 11. Способ ингибирования BRM в клетке или у субъекта, причем способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9, или введение его субъекту.

12. Способ ингибирования BRG1 в клетке или у субъекта, причем способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композицией по п. 9, или введение его субъекту.

25 13. Способ ингибирования BRM и BRG1 в клетке или у субъекта, причем способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9, или введение его субъекту.

30 14. Способ индукции апоптоза в клетке или у субъекта, причем способ включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композицией по п. 9, или введение его субъекту.

35 15. Способ по любому из пп. 10-14, причем клетка представляет собой раковую клетку и/или у субъекта имеется рак.

16. Способ лечения нарушения, связанного с комплексом BAF, у нуждающегося в этом субъекта,

причем способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9.

17. Способ лечения нарушения, связанного с мутацией потери функции BRG1, у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9.

18. Способ по пп. 16 или 17, причем установлено, что у субъекта имеется нарушение с потерей функции BRG1.

19. Способ по любому из пп. 16-18, причем нарушение, связанное с комплексом BAF, или нарушение, связанное с мутацией потери функции BRG1, представляет собой рак, вирусную инфекцию, синдром Коффина-Сириса, нейрофиброматоз (например, NF-1, NF-2 или шванноматоз) или множественные менингиомы.

20. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9.

21. Способ снижения опухолевого роста при раке у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9.

22. Способ подавления метастатического прогрессирования рака у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9.

23. Способ подавления метастатической колонизации при раке у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9.

24. Способ снижения уровня и/или активности BRG1 и/или BRM при раке у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9.

25. Способ по любому из пп. 20-24, причем рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, рак неизвестной первичной локализации, глиому, рак молочной железы, меланому, немеланомный рак кожи, рак эндометрия, рак пищевода и желудка, рак пищевода, рак поджелудочной железы, гепатобилиарный рак, саркому мягких тканей, рак яичников, рак головы и шеи, почечно-клеточную карциному, рак кости, неходжкинскую лимфому, мелкоклеточный рак легкого, рак предстательной железы, эмбриональную опухоль, опухоль половых клеток, рак шейки матки, рак щитовидной железы, рак слюнной железы, нейроэндокринную опухоль желудочно-кишечного тракта, саркому матки,

стромальную опухоль желудочно-кишечного тракта, рак ЦНС, опухоль тимуса, аденокортикальную карциному, рак аппендикса, рак тонкой кишки, рак полового члена, рак кости или гематологический рак.

26. Способ по п. 25, причем рак представляет собой рак пищевода.

27. Способ по п. 25, причем рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, рак неизвестной первичной локализации, глиому, рак молочной железы, меланому, немеланомный рак кожи, рак эндометрия, рак полового члена, рак кости, почечно-клеточную карциному, рак предстательной железы или гематологический рак.

28. Способ по п. 25, причем рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

29. Способ по п. 27, причем рак представляет собой меланому, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак кости, почечно-клеточную карциному или гематологический рак.

30. Способ по п. 29, причем рак представляет собой меланому.

31. Способ по п. 30, причем меланома представляет собой увеальную меланому, меланому слизистых оболочек или кожную меланому.

32. Способ по п. 31, причем меланома представляет собой увеальную меланому.

33. Способ по п. 29, причем рак представляет собой рак предстательной железы.

34. Способ по п. 29, причем рак представляет собой гематологический рак.

35. Способ по п. 34, причем гематологический рак представляет собой множественную миелому, крупноклеточную лимфому, острый Т-клеточный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, миелому с повышенной продукцией лямбда-цепей иммуноглобулина А, диффузную смешанную гистиоцитарную и лимфоцитарную лимфому, В-клеточную лимфому, острый лимфобластный лейкоз, диффузную крупноклеточную лимфому или неходжкинскую лимфому.

36. Способ по п. 29, причем рак представляет собой рак молочной железы.

37. Способ по п. 36, причем рак молочной железы представляет собой ER-положительный рак молочной железы, ER-негативный рак молочной железы, трижды положительный рак молочной железы или трижды негативный рак молочной железы.

38. Способ по п. 27, причем рак представляет собой рак кости.

39. Способ по п. 38, причем рак кости представляет собой саркому Юинга.

40. Способ по п. 27, причем рак представляет собой почечно-клеточную карциному.

41. Способ по п. 40, причем почечно-клеточная карцинома представляет собой почечно-клеточную карциному с транслокацией из семейства фактора транскрипции, ассоциированного с микрофталмией.

5

42. Способ по любому из пп. 20-41, причем рак экспрессирует белок BRG1 и/или BRM.

43. Способ по любому из пп. 20-42, причем субъект или рак имеют мутацию потери функции BRG1.

10 44. Способ по п. 43, причем мутация потери функции BRG1 находится в каталитическом домене АТФазы белка.

45. Способ по п. 43, причем мутация потери функции BRG1 представляет собой делецию на С-конце BRG1.

15

46. Способ по любому из пп. 20-45, причем определено, что рак не характеризуется или не характеризовался мутацией рецептора эпидермального фактора роста и/или драйверной мутацией киназы анапластической лимфомы.

20 47. Способ по любому из пп. 20-46, причем определено, что рак характеризуется или характеризовался мутацией KRAS, мутацией в GNAQ, мутацией в GNA11, мутацией в PLCB4, мутацией в CYSLTR2, мутацией в BAP1, мутацией в SF3B1, мутацией в EIF1AX, транслокацией TFE3, транслокацией TFEF, транслокацией MITF, мутацией EZH2, мутацией SUZ12 и/или мутацией EED.

25 48. Способ по любому из пп. 20-47, причем рак является метастатическим.

49. Способ по любому из пп. 20-48, причем рак устойчив к предшествующему лечению противораковой терапией или не отвечал на него.

30 50. Способ по п. 49, причем противораковая терапия представляет собой химиотерапевтическое или цитотоксическое средство, иммунотерапию, хирургическое вмешательство, лучевую терапию, термотерапию или фотокоагуляцию или их комбинацию.

35 51. Способ по п. 50, причем противораковая терапия представляет собой химиотерапевтическое или цитотоксическое средство.

52. Способ по п. 51, причем химиотерапевтическое или цитотоксическое средство представляет собой ингибитор митоген-активируемой протеинкиназы (МЕК) и/или ингибитор протеинкиназы С (РКС).

40 53. Способ по любому из пп. 20-52, причем рак устойчив к предшествующему лечению ингибитором РКС или не отвечал на него.

54. Способ по любому из пп. 20-53, причем способ дополнительно включает проведение субъекту противораковой терапии.

55. Способ по п. 54, причем противораковая терапия представляет собой химиотерапевтическое или цитотоксическое средство, иммунотерапию, хирургическое вмешательство, лучевую терапию, термотерапию или фотокоагуляцию или их комбинацию.

56. Способ по пп. 54 или 55, причем противораковая терапия представляет собой хирургическое вмешательство, ингибитор MEK и/или ингибитор PKC или их комбинацию.

57. Способ по п. 56, причем ингибитор MEK представляет собой селуметиниб, биниметиниб или таметиниб.

58. Способ по п. 56, причем ингибитор PKC представляет собой сотрастурин или IDE196.

59. Способ лечения вирусной инфекции у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп. 1-8 или фармацевтической композиции по п. 9.

60. Способ по п. 59, причем вирусная инфекция представляет собой инфекцию, вызванную вирусом семейства Retroviridae, вирусом семейства Hepadnaviridae, вирусом семейства Flaviviridae, вирусом семейства Adenoviridae, вирусом семейства Herpesviridae, вирусом семейства Papillomaviridae, вирусом семейства Parvoviridae, вирусом семейства Polyomaviridae, вирусом семейства Paramyxoviridae или вирусом семейства Togaviridae.

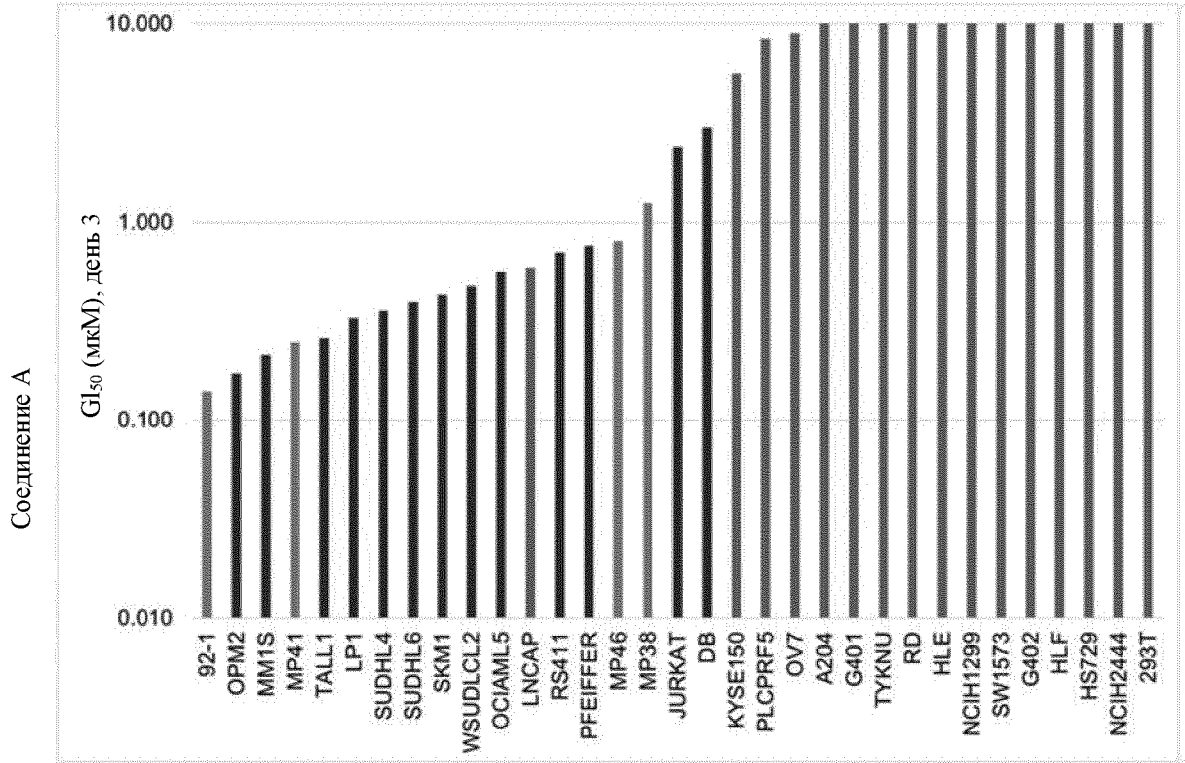
61. Способ по любому из пп. 10-60, причем эффективное количество соединения снижает уровень и/или активность BRG1 на по меньшей мере 5% по сравнению с эталоном.

62. Способ по п. 61, причем эффективное количество соединения снижает уровень и/или активность BRG1 на по меньшей мере 5% по сравнению с эталоном в течение по меньшей мере 12 часов.

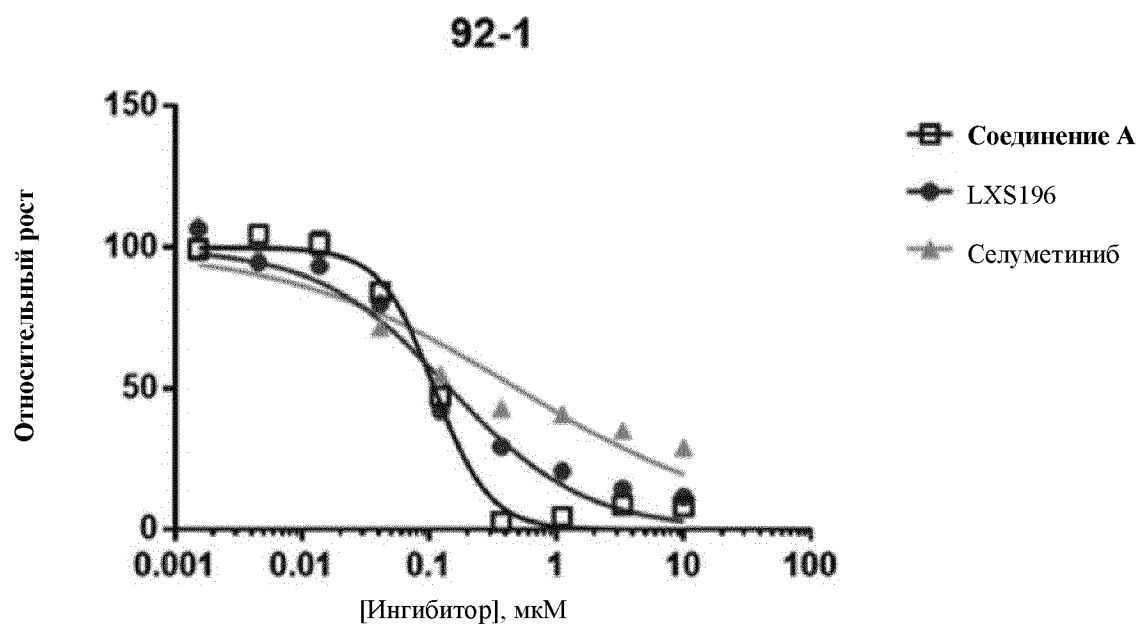
63. Способ по любому из пп. 10-62, причем эффективное количество соединения снижает уровень и/или активность BRM на по меньшей мере 5% по сравнению с эталоном.

64. Способ по п. 63, причем эффективное количество соединения снижает уровень и/или активность BRM на по меньшей мере 5% по сравнению с эталоном в течение по меньшей мере 12 часов.

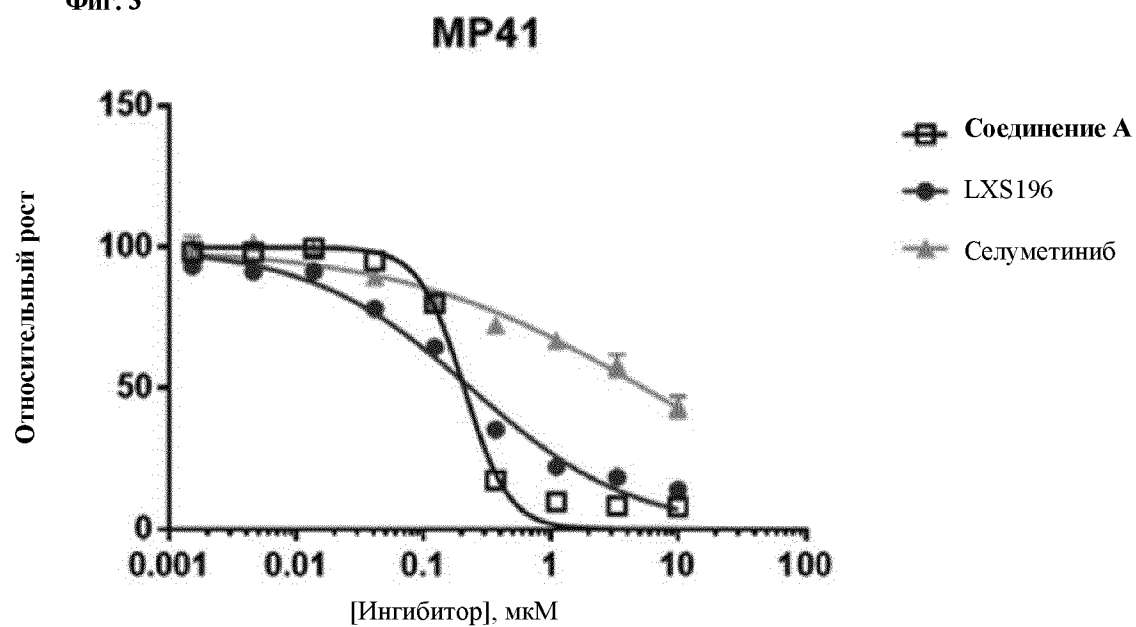
Фиг. 1



Фиг. 2



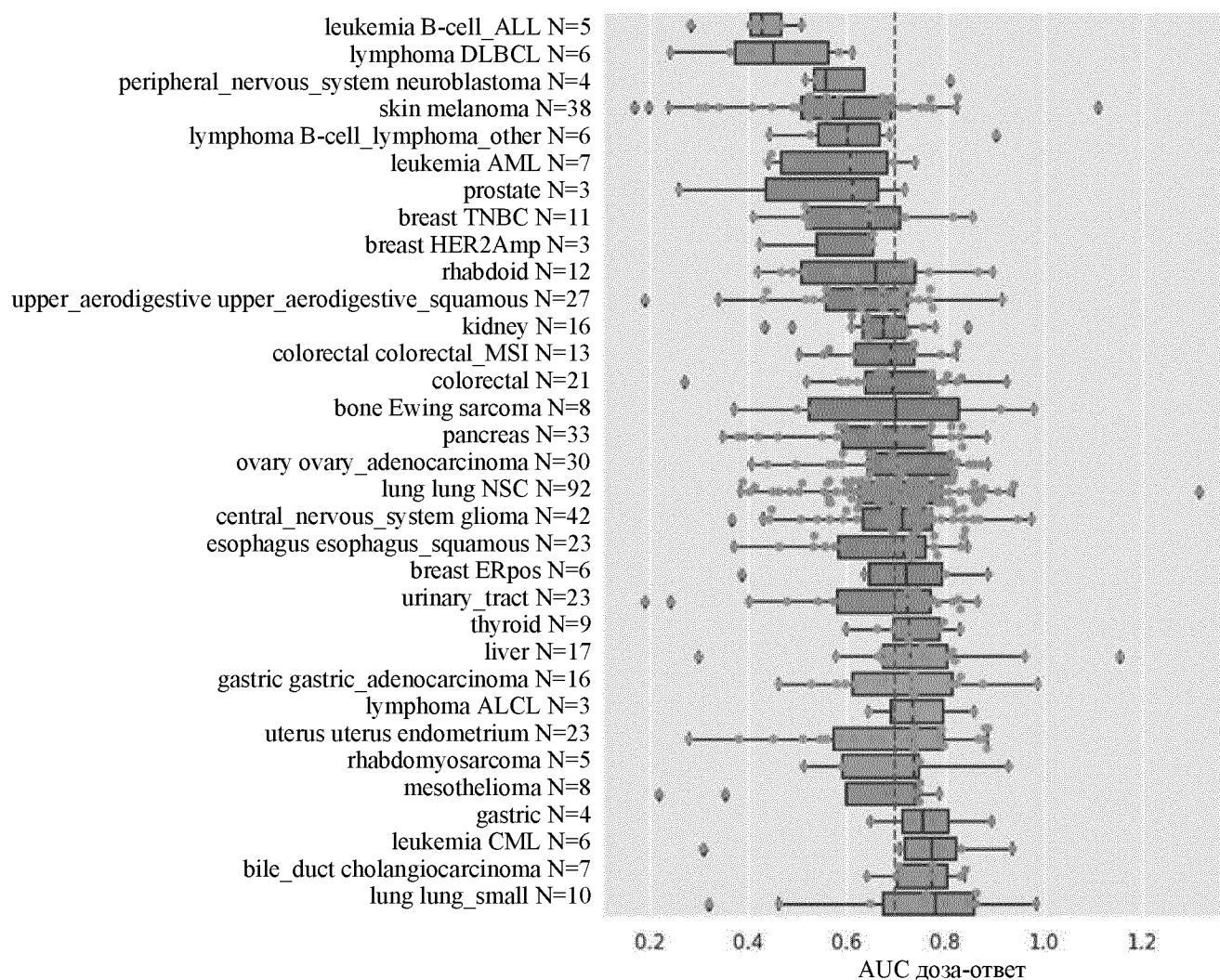
Фиг. 3



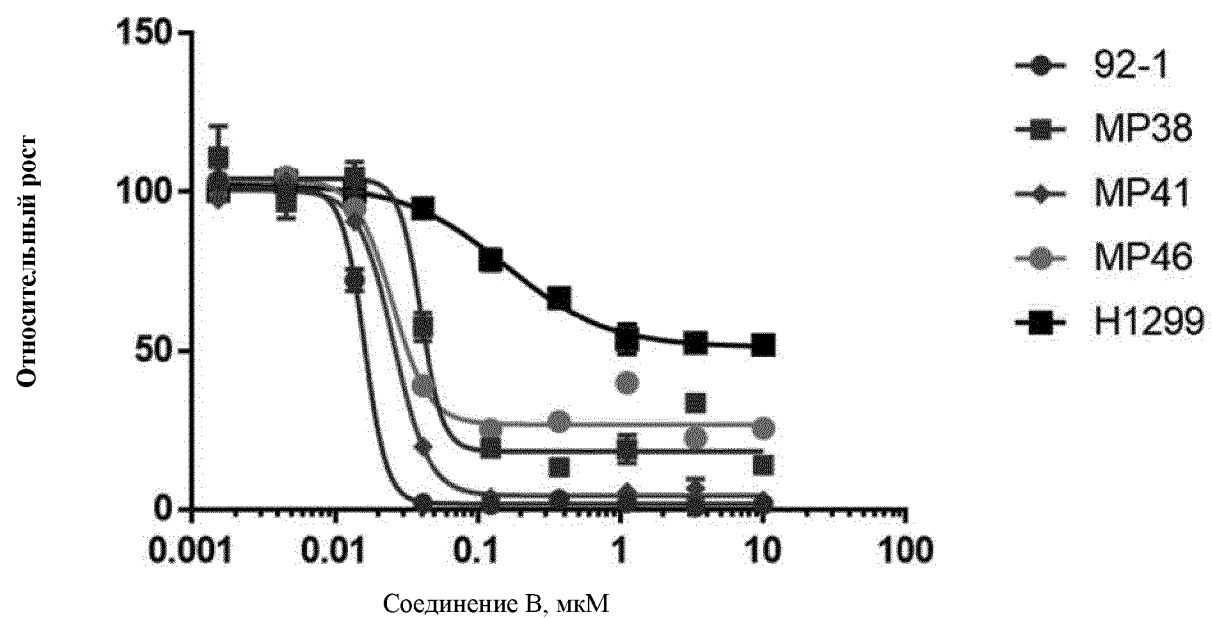
GI50 соединения В, мкМ (день 3)



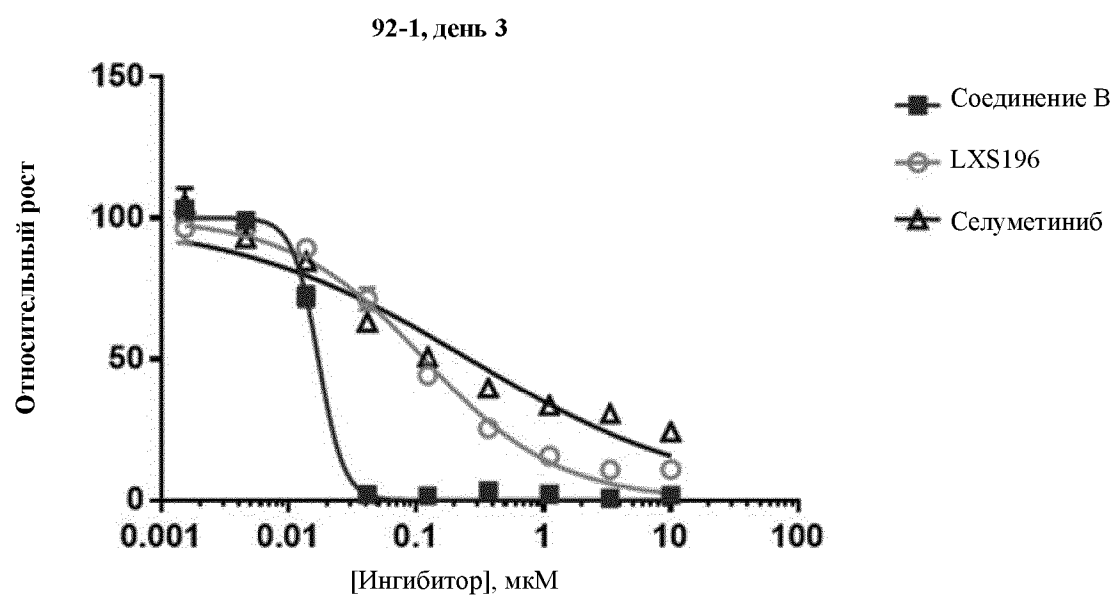
Фиг. 5



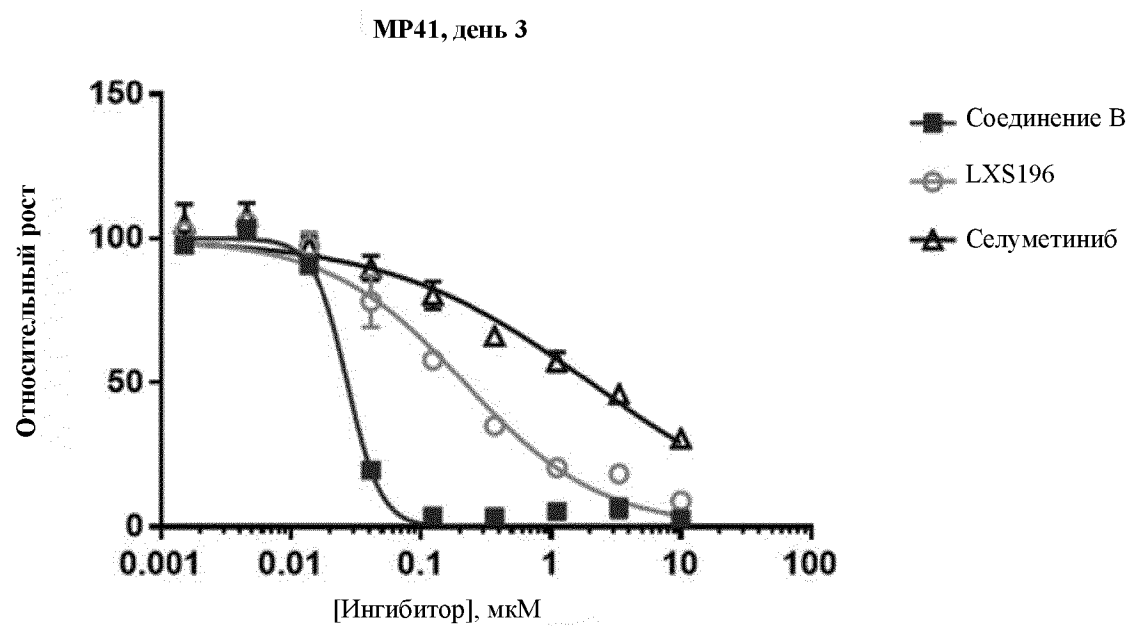
Фиг. 6



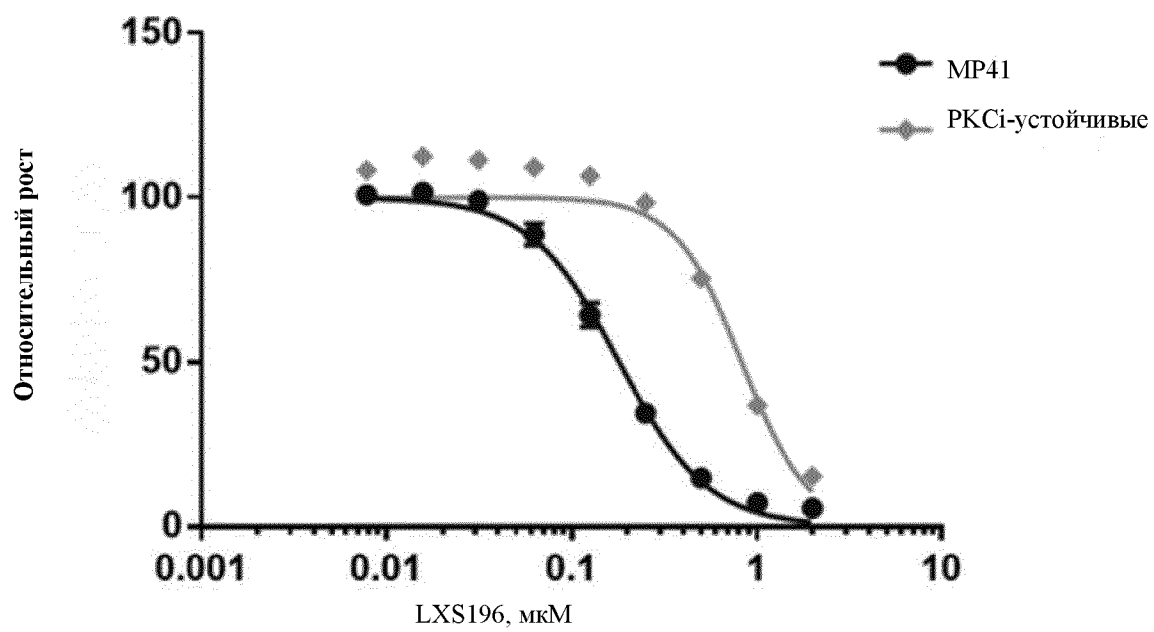
Фиг. 7



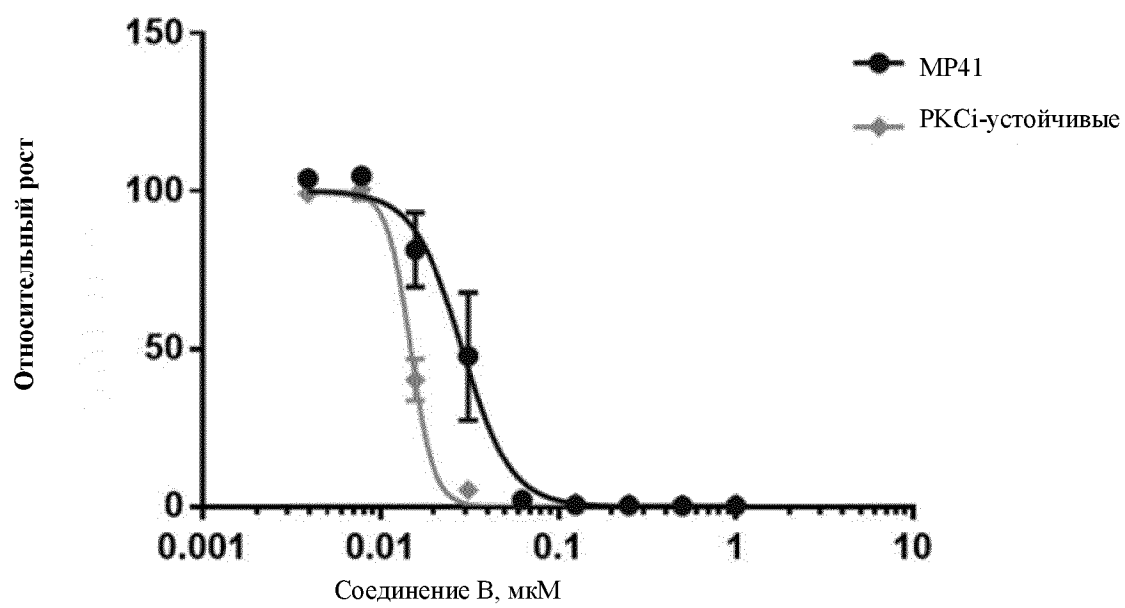
Фиг. 8



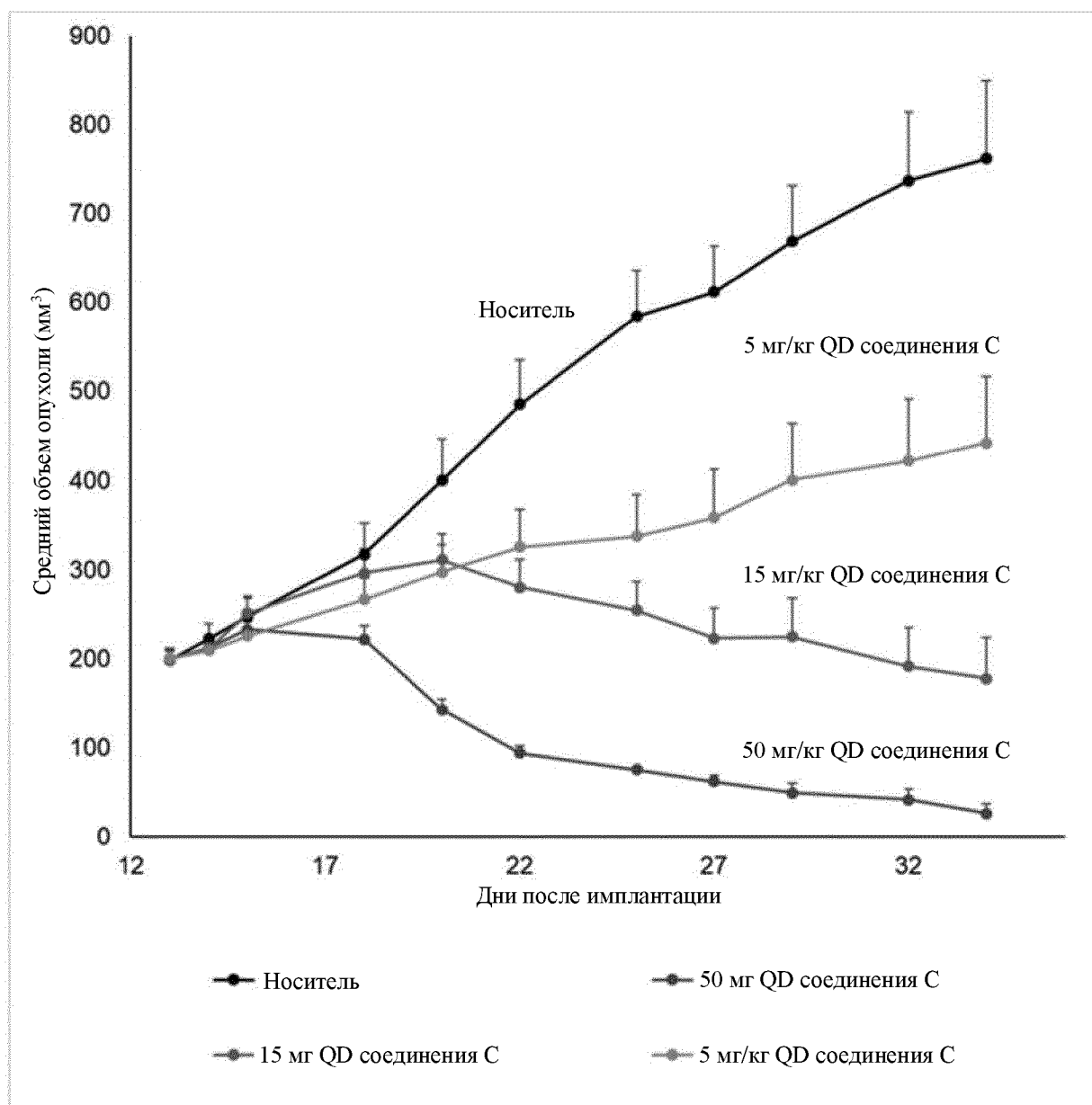
Фиг. 9



Фиг. 10

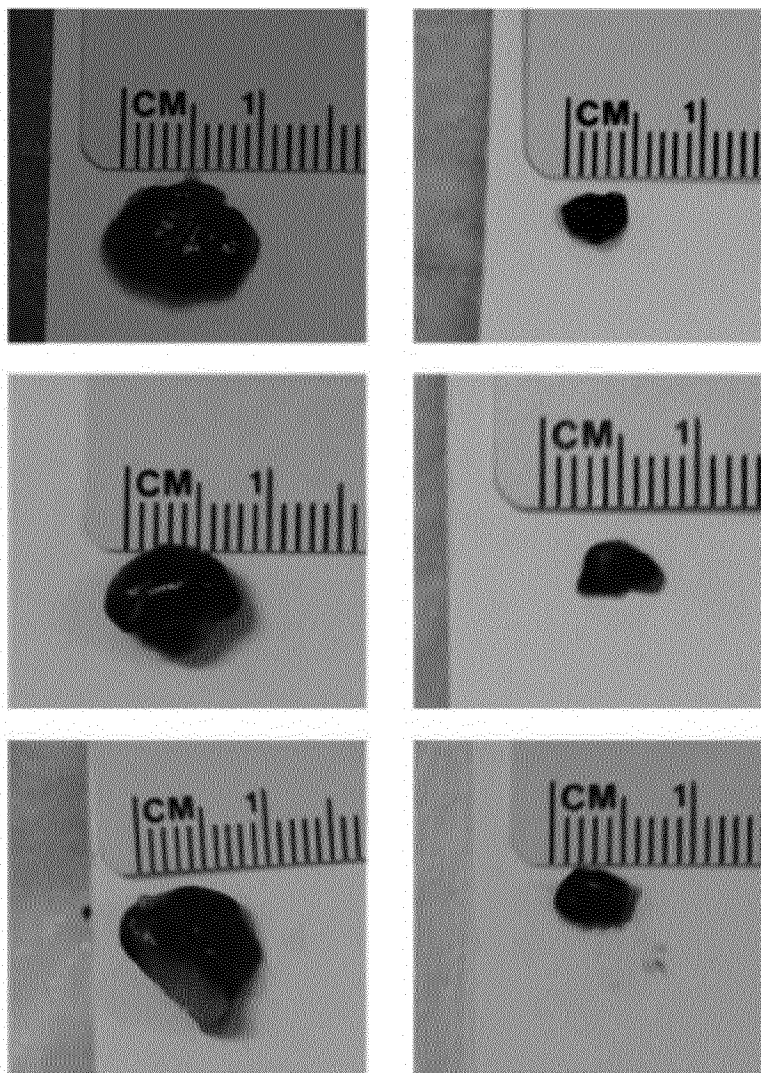


Фиг. 11

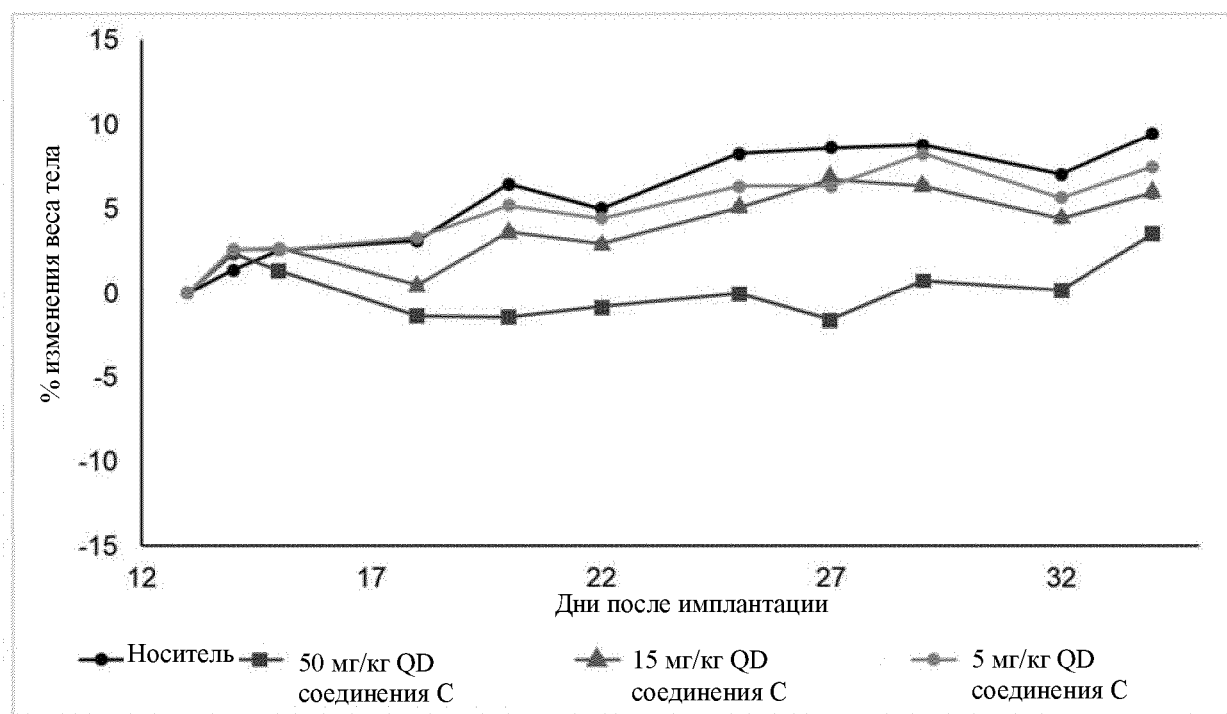


Фиг. 12

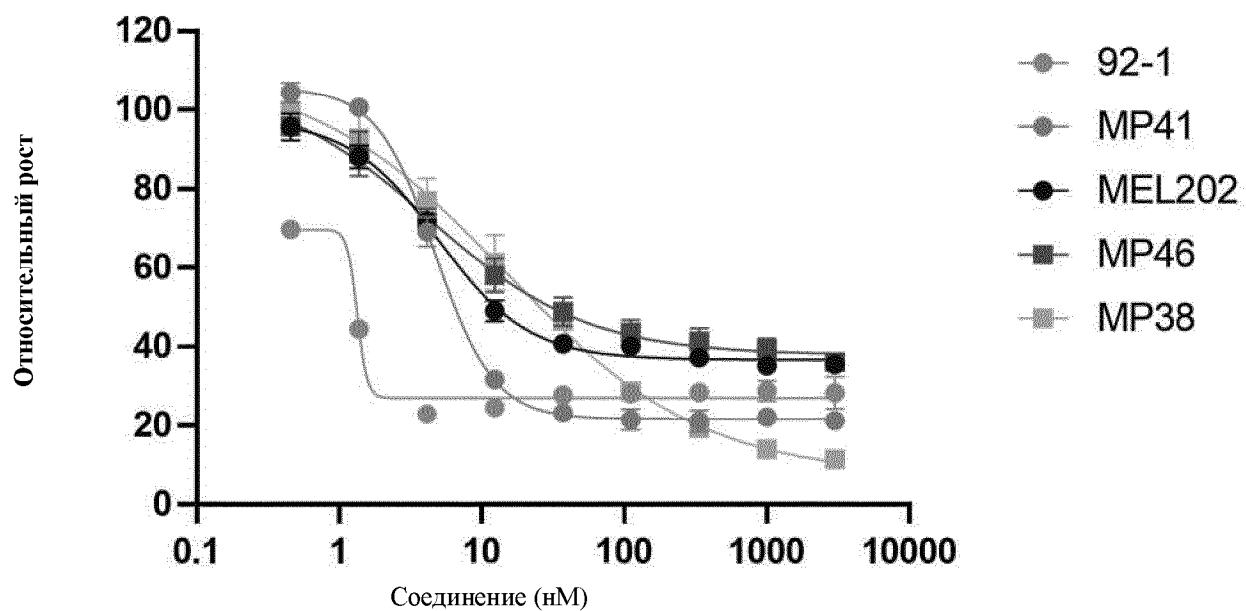
Носитель

Соединение С
50 мг/кг, QD

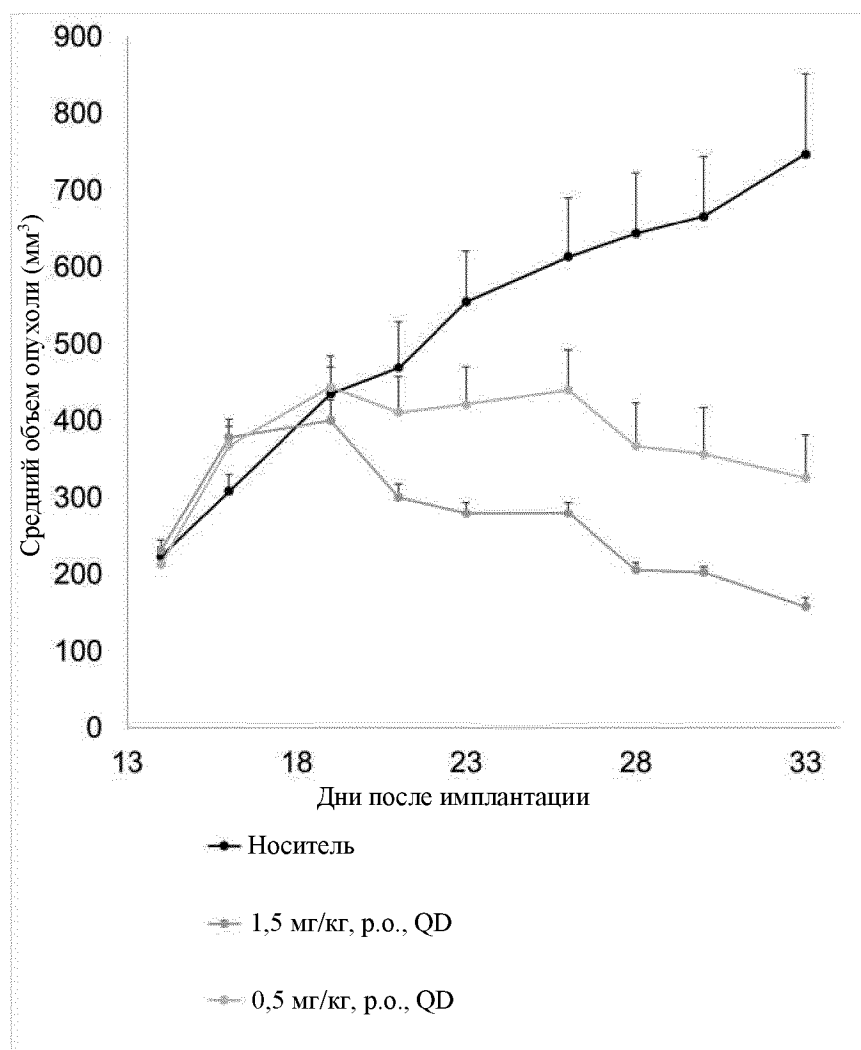
Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16

