- (43) Дата публикации заявки 2023.11.07
- (22) Дата подачи заявки 2021.09.17

- (51) Int. Cl. *C07D 471/04* (2006.01) *C07D 471/14* (2006.01)
  - **C07D 487/04** (2006.01) **A61K 31/4985** (2006.01)
  - **A61K 31/381** (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
  - **A61P 37/00** (2006.01)

#### (54) ГЕТЕРОАРИЛЬНЫЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

- (31) 202010993583.8; 202110175357.3; 202111077860.1
- (32) 2020.09.21; 2021.02.07; 2021.09.15
- (33) CN
- (86) PCT/CN2021/119056
- (87) WO 2022/057894 2022.03.24

- (71) Заявитель: ХАТЧИСОН МЕДИФАРМА ЛИМИТЕД (CN)
- (72) Изобретатель: Дай Гуансю, Сяо Кунь (CN)
- (74) Представитель: **Нилова М.И.** (RU)
- (57) Настоящее изобретение относится к гетероарильным гетероциклическим соединениям формулы (I), фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения, способам их получения и их применению, где переменные являются такими, как определено в описании.

# ГЕТЕРОАРИЛЬНЫЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

### Перекрестная ссылка на родственные заявки

5 Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании заявки CN № 202010993583.8, поданной 21 сентября 2020 года, заявки CN № 202110175357.3, поданной 7 февраля 2021 года, и заявки CN № 202111077860.1, поданной 15 сентября 2021 года, содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

10 Область техники

Настоящее изобретение относится к гетероарильным гетероциклическим соединениям, фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения, способам их получения и их применению.

15 Уровень техники

20

25

30

Тирозинкиназа Брутона (ВТК), член семейства нерецепторных тирозиновых белков Тес (включая ВТК, LТК, ТЕС, ВМХ, ТХК и тому подобные), широко экспрессируется в гемопоэтических клетках, за исключением Т-клеток, NK-клеток и дифференцированных плазматических клеток. ВТК играет важную роль в передаче сигналов, опосредованных рецептором В-клеточного антигена (ВСК) и рецептором Гсү (ГсүР) в В-клетках и миелоидных клетках, соответственно. Это ключевой регулятор развития, активации, передачи сигналов и выживания Вклеток. ВТК может контролировать развитие и дифференцировку В-клеток путем активации положительных регуляторных факторов и факторов дифференцировки клеточного цикла, а также может контролировать выживаемость и пролиферацию В-клеток путем регулирования экспрессии проапоптотических белков и антиапоптотических белков. ВТК также играет важную роль в миграции и адгезии клеток В-лимфомы. Кроме того, ВТК играет роль во многих других гемопоэтических сигнальных путях, таких как опосредованная Toll-подобным рецептором (TLR) и цитокиновым рецептором продукция TNF-α в макрофагах, в передаче сигнала, опосредованного рецептором IgE (FceRI) в тучных клетках, в ингибировании Fas/APO-1-индуцированного апоптотического сигнала в

лимфоидных клетках В-типа и в индуцированной коллагеном агрегации тромбоцитов.

У человека мутация гена ВТК может привести к наследственному иммунодефицитному заболеванию, X-сцепленной агаммаглобулинемии (XLA). Точечная мутация гена ВТК является причиной XLA у пациента-человека, что связано с низким, до необнаруживаемого, уровнем мРНК ВТК и экспрессией белка ВТК, как следствие, почти полным отсутствием созревания и развития В-клеток и иммуноглобулинов, а также значительным ослаблением стойкого кальциевого сигнала в ответ на стимуляцию BCR. Влияние мутации BTK ограничено только на 10 популяции В-клеток, значительных дефектов развития в других иммунных клетках у пациентов с XLA не обнаружено. Спонтанные мутации гена BTK также были обнаружены у мышей с X-сцепленным иммунодефицитом (xid), демонстрируя аналогичный, но менее тяжелый фенотип. У мышей с xid или у мышей с нокаутом гена ВТК, индуцируемым мутацией, дифференцировка В-клеток была частично 15 блокирована на стадии В-клеток, с уменьшением количества зрелых В-клеток в кровотоке, а также резистентностью к моделям коллаген-индуцированного артрита и артрита, индуцированного стафилококком. На это указывает большое количество доказательств того, что ВТК в избытке экспрессируется в циркулирующих Вклетках у пациентов с аутоиммунными заболеваниями, такими как ревматоидный 20 артрит (RA), первичный синдром Шегрена (pSS) и системная красная волчанка (SLE), а также В-клеточный лейкоз и лимфома. Аберрантная активация передачи сигналов BCR была подтверждена при этих аутоиммунных заболеваниях и заболеваниях, связанных с В-клетками. Ингибирование В-клеток, сигнального пути BCR и BTK может в различной степени замедлять прогрессирование заболеваний.

Основываясь на ключевой роли ВТК в развитии и функциях В-клеток, ВТК рассматривается в качестве потенциальной мишени для лечения В-клеточных злокачественных новообразований и аутоиммунных заболеваний. Разрабатываются различные ингибиторы ВТК для клинических исследований гематологических злокачественных новообразований и аутоиммунных заболеваний.

25

30 Низкомолекулярные ингибиторы ВТК (такие как ибрутиниб, акалабрутиниб, занубрутиниб, PRN1008, GDC-0853) продемонстрировали многообещающую терапевтическую эффективность. Например, ибрутиниб, необратимый ингибитор

ВТК, с относительно высокой долгосрочной эффективностью и низкой токсичностью в клинических исследованиях, был одобрен Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) для лечения рецидивирующей мантийноклеточной лимфомы (MCL) в 2013 году, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) в 2014 году, макроглобулинемии 5 Вальденстрема (WM) в 2015 году и рецидивирующей/рефрактерной лимфомы маргинальной зоны (MZL) в 2017 году. В частности, утвержденные показания были распространены на хроническую болезнь «трансплантат против хозяина» (GVHD) в 2017 году, демонстрируя механизм ВТК при лечении хронических аутоиммунных 10 заболеваний. Кроме того, необратимый ингибитор ВТК акалабрутиниб был одобрен для лечения MCL у взрослых в 2017 году и CLL в 2019 году; занубрутиниб был одобрен FDA для лечения MCL в ноябре 2019 года; и продолжается исследование фазы 3 PRN1008 против пузырчатки. Некоторые необратимые ингибиторы ВТК (тирабрутиниб, спебрутиниб и эвобрутиниб) и обратимые 15 ингибиторы BTK (GDC-0853, ARQ-531 и LOXO-305) находились на стадии доклинической и клинической разработки.

Таким образом, ингибиторы ВТК представляют собой привлекательную терапию для лечения связанных заболеваний, особенно аутоиммунных заболеваний, воспалительных заболеваний или рака.

#### Краткое описание изобретения

Предложено соединение формулы (I):

20

или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер, где

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> и X<sub>3</sub> каждый независимо представляет собой CH или N;

U и V каждый независимо представляет собой N или CR<sub>9</sub>;

5

10

15

20

25

Y<sub>1</sub> и Y<sub>2</sub> каждый независимо представляет собой CR<sub>10</sub> или N;

 $R_1$  и  $R_2$  каждый независимо выбран из водорода, дейтерия, галогена, -CN, гидроксила,  $C_{1-6}$  алкила,  $C_{3-6}$  циклоалкила,  $C_{2-6}$  алкинила,  $C_{1-6}$  дейтероалкила и  $C_{1-6}$  галогеналкила; или  $R_1$  и  $R_2$  вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 3-6-членный циклоалкил;

 $R_3$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, -CN или  $C_{1\text{-}6}$  галогеналкил;

 $R_4$  представляет собой водород, галоген, -CN,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{2-6}$  алкинил, - ( $C_{1-3}$  алкил)-OH, -( $C_{1-3}$  алкил)-O-( $C_{1-3}$  алкил), -O-( $C_{1-3}$  алкил), -CHO, -C(O)NH2, - C(O)NHCH3, -C(O)N(CH3)2 или 3-гидроксил-оксетан-3-ил, где  $C_{1-6}$  алкил или  $C_{1-3}$  алкил каждый необязательно замещен одним или более дейтерием или галогеном;

 $R_5$  выбран из водорода,  $C_{1-6}$  алкила и  $C_{3-6}$  циклоалкила, где  $C_{1-6}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием или галогеном;

 $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  каждый независимо представляет собой CH или N, при условии, что по меньшей мере один из  $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  представляет собой N;

R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> каждый независимо выбран из C<sub>1-6</sub> алкила;

 $R_8$  представляет собой водород,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил, где  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-6}$  алкила, трифторметила, -OH, -NH<sub>2</sub>, -O-( $C_{1-6}$  алкил), -NH( $C_{1-6}$  алкил) или -N( $C_{1-6}$  алкил)<sub>2</sub>;

R<sub>9</sub> представляет собой водород, дейтерий или галоген;

 $R_{10}$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, CN,  $C_{1\text{-}6}$  алкил или  $C_{1\text{-}6}$  галогеналкил;

n составляет 0, 1 или 2; при условии, что когда n составляет 1,  $R_3$  не n звляется водородом.

Вышеуказанные соединения и их активные соединения (включая соединения общей структурной формулы и специфические соединения), раскрытые в контексте

настоящего изобретения, включая их фармацевтически приемлемые соли, или их сольваты, рацемические смеси, энантиомеры, диастереомеры или таутомеры, которые охватываются вышеуказанным объемом, в совокупности называются в настоящем документе «соединения согласно настоящему изобретению».

Также предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединения согласно настоящему изобретению и необязательно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

5

10

15

20

30

Также предложен способ ингибирования активности ВТК *in vivo* или *in vitro*, включающий приведение ВТК в контакт с эффективным количеством соединений согласно настоящему изобретению.

Также предложен способ лечения или предотвращения заболевания, опосредованного ВТК или по меньшей мере частично ВТК, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединений согласно настоящему изобретению.

Также предложен способ лечения или предотвращения аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания или рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединений согласно настоящему изобретению.

Также предложено применение соединений согласно настоящему изобретению для лечения или предотвращения заболевания, опосредованного ВТК или по меньшей мере частично ВТК.

Также предложено применение соединений согласно настоящему изобретению для лечения или предотвращения аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания или рака.

25 Также предложено применение соединений согласно настоящему изобретению для получения лекарственного средства для лечения или предотвращения заболевания, опосредованного ВТК или по меньшей мере частично ВТК.

Также предложено применение соединений согласно настоящему изобретению для получения лекарственного средства для лечения или предотвращения аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания или рака.

Также предложены соединения согласно настоящему изобретению для ингибирования активности ВТК *in vivo* или *in vitro*.

Также предложены соединения согласно настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного средства.

5

10

15

20

30

Также предложено применение соединений согласно настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного средства для лечения или предотвращения заболевания, опосредованного ВТК или по меньшей мере частично ВТК, особенно для лечения или предотвращения аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания или рака.

Также предложена фармацевтическая комбинация, содержащая соединения согласно настоящему изобретению и по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент, где терапевтический агент предпочтительно выбран из: противовоспалительного агента, иммуномодулятора или противоопухолевого активного агента, где противоопухолевый активный агент включает химиотерапевтический агент, ингибитор или агонист иммунной контрольной точки и целевой терапевтический агент.

Также предложен набор для лечения или предотвращения заболевания, опосредованного ВТК или по меньшей мере частично ВТК. Набор может содержать фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению и инструкции по применению, и фармацевтическая композиция содержит соединения согласно настоящему изобретению.

#### Краткое описание чертежей

Фигура 1: Ингибирующее действие соединений согласно настоящему 25 изобретению на активацию В-клеток в цельной крови мыши, индуцированную анти-IgD антителами.

Фигура 2: Влияние соединений согласно настоящему изобретению на объем лапы при артрозе у крыс СІА (коллаген-индуцированный артрит) (объем задней лапы измеряли с помощью измерителя объема лапы; данные были представлены как среднее ± стандартное отклонение; и каждая группа, соответственно, представляла собой нормальную группу, контрольную группу, получавшую носитель, группы, получавшие 0,25 мг/кг и 4 мг/кг GDC-0853, и группы,

получавшие соединение 1 QD в различных дозах (нормальная группа: n = 6; другие группы: n = 8)).

Фигура 3: Влияние соединений согласно настоящему изобретению на уровень тромбоцитов в периферической крови мышей ITP (идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, индуцированная антителами против CD41 мыши). Уровень тромбоцитов измеряли с помощью автоматического анализатора крови; данные были представлены как среднее ± стандартное отклонение; и каждая группа, соответственно, представляла собой нормальную группу и модельные группы (т.е. контрольную группу, получавшую носитель, группу, получавшую 40 мг/кг PRN1008, и группы, получавшие соединение 1 в различных дозах, соответственно) (каждая группа: N = 8).

### Подробное описание изобретения

#### Определения

15

20

25

30

В настоящей заявке следующие слова, фразы и символы, как правило, имеют значения, указанные ниже, за исключением случаев, что контекст, в котором они используются, указывает на иное.

Черточка («-»), которая расположена не между двумя буквами или символами, используется для указания места присоединения заместителя. Например, - $OR^3$  относится к присоединению  $R^3$  к остальной части молекулы через атом кислорода.

Термин «алкил» в настоящем документе относится к прямому или разветвленному насыщенному углеводородному радикалу, содержащему 1-18 атомов углерода ( $C_{1-18}$ ), предпочтительно 1-10 атомов углерода ( $C_{1-10}$ ), более предпочтительно 1-6 атомов углерода ( $C_{1-6}$ ) и, еще более предпочтительно 1-4 атомов углерода ( $C_{1-4}$ ) или 1-3 атомов углерода ( $C_{1-3}$ ). Когда к термину «алкил» добавлен префикс «C», он означает количество атомов углерода. Например, « $C_{1-6}$  алкил» относится к алкилу, содержащему 1-6 атомов углерода. « $C_{1-3}$  алкил» относится к алкилу, содержащему 1-3 атомов углерода. Примеры  $C_{1-6}$  алкила включают, но не ограничиваются ими, метил, этил, пропил (например, н-пропил, ипропил), бутил (например, н-бутил, и-бутил, втор-бутил и трет-бутил), пентил (например, н-пентил, и-пентил, нео-пентил) и гексил и тому подобное.

Термин «алкинил», используемый в настоящем документе, относится к прямому или разветвленному ненасыщенному углеводородному радикалу, содержащему одну или более, например, 1, 2 или 3 углерод-углеродных тройных связей (С≡С) и 2-18 атомов углерода (С₂-18), предпочтительно 2-10 атомов углерода (С₂-10), более предпочтительно 2-6 атомов углерода (С₂-6) и еще более предпочтительно 2-4 атомов углерода (С₂-4). Когда к термину «алкинил» добавлен префикс «С», он означает количество атомов углерода. Например, «С₂-6 алкинил» относится к алкинилу, содержащему 2-6 атомов углерода. «С₂-4 алкинил» относится к алкинилу, содержащему 2-4 атома углерода. Примеры С₂-6 алкинила включают, но не ограничиваются ими, этинил, пропинил (например, 2-пропинил) и бутинил (например, 2-бутинил) и тому подобное. Место присоединения для алкинила может быть на или не на тройных связях.

Термин «галоген» или «гало» в настоящем документе означает радикалы фтора, хлора, брома и йода, предпочтительно радикалы фтора, хлора и брома, более предпочтительно радикалы фтора и хлора.

15

20

25

30

Термин «галогеналкил», используемый в настоящем описании, относится к алкильному радикалу, как определено в настоящем описании, в котором один или более, например 1, 2, 3, 4 или 5 атомов водорода заменены атомом галогена, и когда более одного атома водорода заменены атомами галогена, атомы галогена могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга. Согласно одному варианту реализации термин «галогеналкил», используемый в настоящем описании, относится к алкильному радикалу, как определено в настоящем описании, в котором два или более, например, 2, 3, 4, или 5 атомов водорода заменены атомами галогена, где атомы галогена идентичны друг другу. Согласно другому варианту реализации термин «галогеналкил», используемый в настоящем описании, относится к алкильному радикалу, как определено в настоящем описании, в котором два или более атома водорода, например, 2, 3, 4, или 5 атомов водорода заменены атомами галогена, где атомы галогена отличаются друг от друга. Когда к термину «галогеналкил» добавлен префикс «С», он означает количество атомов углерода. Например, «С<sub>1-6</sub> галогеналкил» относится к галогеналкилу, как определено в настоящем документе, содержащему 1-6 атомов углерода. «С<sub>1-4</sub> галогеналкил» относится к галогеналкилу, как определено в настоящем документе,

содержащему 1-4 атома углерода. Примеры  $C_{1-6}$  галогеналкила включают, но не ограничиваются ими, - $CF_3$ , - $CHF_2$ , - $CH_2F$ , - $CH_2CF_3$ , - $CH(CF_3)_2$  и тому подобное.

Термин «циклоалкил», используемый в настоящем описании, относится к насыщенному или частично ненасыщенному циклическому углеводородному радикалу, имеющему 3-12 кольцевых атомов углерода (С<sub>3-12</sub>), например, 3-8 кольцевых атомов углерода ( $C_{3-8}$ ), 5-7 кольцевых атомов углерода ( $C_{5-7}$ ), 4-7 кольцевых атомов углерода ( $C_{4-7}$ ) или 3-6 кольцевых атомов углерода ( $C_{3-6}$ ), которые могут иметь одно или более колец, например, 1, 2 или 3 кольца, предпочтительно 1 или 2 кольца. Когда к термину «циклоалкил» добавлен префикс «С», он означает количество атомов углерода. Например, «С<sub>3-6</sub> циклоалкил» или «3-6 членный циклоалкил» относится к циклоалкилу, содержащему 3-6 кольцевых атомов углерода. Циклоалкил может содержать конденсированное или мостиковое кольцо или спироциклическое кольцо. Кольца циклоалкила могут быть насыщенными или иметь одну или более, например, одну или две двойные связи (т.е. частично ненасыщенные), но не быть полностью сопряженным и не являться арилом, определенным в настоящем документе. Примеры С<sub>3-6</sub> циклоалкила включают, но не ограничиваются ими, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, спиро[2.2] пентил, циклопропенил, циклобутенил, циклопентенил, циклопентадиенил, циклогексенил и т.д.

10

15

20 Термин «гетероциклил» или «гетероциклический», используемый в настоящем документе, может быть использован взаимозаменяемо, и каждый из них относится к насыщенным или частично ненасыщенным циклическим радикалам, содержащим 3-12 атомов в кольце, таким как 3-8 атомов в кольце, 4-8 атомов в кольце, 4-6 атомов в кольце или 4-5 атомов в кольце, и содержащим один или более, например, 25 1, 2 или 3, предпочтительно 1 или 2 гетероатома, независимо выбранных из N, О и S в кольцах, при этом остальные атомы в кольце представляют собой углерод; он может иметь одно или более колец, например, 1, 2 или 3, предпочтительно 1 или 2 кольца. Гетероциклил также включает такие соединения, в которых гетероатом N или S необязательно окислен до различных состояний окисления. Место 30 присоединения гетероциклила может быть на N гетероатоме или углероде. Например, «4-8-членный гетероциклил» представляет собой гетероциклил, содержащий 4-8 (4, 5, 6, 7 или 8) атомов в кольце, содержащих по меньшей мере

один, например, 1, 2 или 3, предпочтительно 1 или 2 гетероатома, независимо выбранных из N, O и S; «4-6-членный гетероциклил» представляет собой гетероциклил, содержащий 4-6 (4, 5 или 6) атомов в кольце, содержащем по меньшей мере один, предпочтительно 1 или 2 гетероатома, независимо выбранных из N, O и S (предпочтительно N и O, более предпочтительно O), который предпочтительно представляет собой моноциклическое кольцо; и «4-5-членный гетероциклил» представляет собой гетероциклил, содержащий 4 или 5 атомов в кольце, содержащем по меньшей мере один, предпочтительно 1 или 2 гетероатома, независимо выбранных из N, O и S (предпочтительно N и O, более 10 предпочтительно О), который представляет собой моноциклическое кольцо. Гетероциклил также включает конденсированное или мостиковое кольцо или спироциклическое кольцо. Кольца гетероциклила могут быть насыщенными или иметь одну или более, например, одну или две двойные связи (т.е. частично ненасыщенные), но не быть полностью сопряженным и не являться гетероарилом, 15 определенным в настоящем документе. Примеры гетероциклила включают, но не ограничиваются ими: 4-8-членный гетероциклил, 4-6-членный гетероциклил, 4-5членный гетероциклил и 4-членный гетероциклил, такие как оксетанил (такой как оксетан-3-ил), азетидинил, пирролидил, тетрагидрофуранил, диоксоланил, тетрагидропиранил, морфолинил, тиоморфолинил, пиперидил, пиперазинил, 20 тетрагидропиридил, пиразинил, пиразолидинил и оксаспиро[3.3] гептанил, предпочтительно оксетанил (например, оксетан-3-ил), азетидинил, тетрагидропиранил, морфолинил (например, морфолино), пиперазинил (например,

Термин «-OH» в настоящем описании относится к гидроксильному радикалу.

Термин «-CN» в настоящем описании относится к цианорадикалу.

пиперазин-1-ил), тетрагидропиридил (например, 1,2,3,6-тетрагидропиридил).

Термин «оксо» в настоящем описании относится  $\kappa = 0$ .

25

30

Любой асимметричный атом (например, углерод и т.д.) соединения формулы (I) может существовать в рацемической или энантиомерной богатой форме, например, в (R) -, (S) - или (RS) - конфигурации. В некоторых вариантах реализации асимметричные атомы имеют по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 90%, по

меньшей мере 95%, по меньшей мере 99% или 100% энантиомерного избытка в (R) - или (S) конфигурациях, соответственно.

Термин «необязательный» или «необязательно», используемый в настоящем описании, означает, что впоследствии описанное событие или обстоятельство может произойти либо не произойти, и настоящее описание включает случаи, когда событие или обстоятельство происходит, и случаи, когда его не происходит. Например, «необязательно замещенный одним или более» включает незамещенные и замещенные 1, 2, 3 или более описанными заместителями. Специалистам в данной области техники будет понятно в отношении к какой-либо группе, содержащей один или более заместителей, что такие группы не предназначены для введения каких-либо заместителей или структуры замещения, которые будут стерически невозможными, химически некорректными, синтетически не осуществимыми и/или нестабильными.

5

10

15

20

25

30

Термин «замещенный» или «замещенный посредством...» в настоящем документе означает, что один или более (например, 1, 2, 3 или 4) водородов на обозначенном атоме или группе замещены одним или более (например, 1, 2, 3 или 4) заместителями, предпочтительно заместителями, выбранными из указанной группы заместителей или радикалов, при условии, что нормальная валентность указанного атома не превышена. Указанные заместители могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга. Термин «замещенный одной или более группами, выбранными из» или «замещенный одной или более» в настоящем документе означает, что один или более водородов на обозначенном атоме или группе независимо замещены одним или более радикалами, выбранными из указанной группы заместителей или радикалов, причем указанные радикалы могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга. Предпочтительно «замещенный одной или более группами, выбранными из» или «замещенный одной или более» означает, что обозначенный атом или группа замещены 1, 2, 3 или 4 радикалами, независимо выбранными из указанной группы заместителей или радикалов, причем указанные радикалы могут быть одинаковыми или отличаться друг от друга. В некоторых вариантах реализации, когда заместитель представляет собой оксо (т.е. =О), тогда два атома водорода на одном атоме заменены оксо. Необязательный заместитель может представлять собой любые радикалы, при условии, что комбинации

заместителей и/или переменных приводят к образованию химически правильного и стабильного соединения. Химически правильное и стабильное соединение означает соединение, которое является достаточно устойчивым, чтобы выдержать достаточное выделение из реакционной смеси для идентификации химической структуры соединения. Предпочтительно заместители представляют собой заместители, приведенные в качестве примеров в соединениях согласно варианту осуществления настоящей заявки.

Если не указано иное, заместители названы в основной структуре. Например, следует понимать, что когда (циклоалкил)алкил перечислен в качестве возможного заместителя, место присоединения указанного заместителя к основной структуре находится в алкильной части.

10

15

20

25

30

Специалистам в данной области техники («person of ordinary skill in the art», далее «POSITA») будет понятно, что, что некоторые из соединений формулы (I) могут содержать один или более хиральных центров и, следовательно, существуют в двух или более стереоизомерных формах. Рацематы указанных изомеров, индивидуальные изомеры и смеси, обогащенные одним энантиомером, а также диастереомеры при наличии двух хиральных центров, а также смеси, частично обогащенные специфическими диастереомерами, включены в объем настоящего изобретения. Далее POSITA будет понятно, что настоящее изобретение включает все индивидуальные стереоизомеры (например, энантиомеры), рацемические смеси или частично разделенные смеси соединений формулы (I) и, в случае необходимости, индивидуальные таутомерные формы.

Рацематы могут быть использованы как таковые или могут быть разделены на индивидуальные изомеры. Разделение может привести к стереохимически чистым соединениям или смесям, обогащенным одним или более изомерами. Способы разделения изомеров хорошо известны (см. Allinger N. L. and Eliel E. L. in "*Topics in Stereochemistry*", Vol.6, Wiley Interscience, 1971) и включают физические методы, такие как хроматография с использованием хирального адсорбента.

Индивидуальные изомеры могут быть получены в хиральной форме из хиральных предшественников. Кроме того, индивидуальные изомеры могут быть химически выделены из смеси посредством образования диастереомерных солей с хиральной кислотой (такой как индивидуальные энантиомеры 10-камфорсульфоновой

кислоты, камфорной кислоты, альфа-бромкамфорной кислоты, винной кислоты, диацетилвинной кислоты, яблочной кислоты, пирролидон-5 карбоновой кислоты и подобных), фракционной кристаллизации солей и последующего выделения одного или обоих разделенных оснований, необязательно повторяя способ таким образом, чтобы получить один или оба изомера, по существу свободных от другого; т.е., в форме, имеющей оптическую чистоту > 95%. Альтернативно, рацематы могут быть ковалентно связаны с хиральным соединением (вспомогательным веществом) для получения диастереомеров, которые могут быть разделены с помощью хроматографии или с помощью фракционной кристаллизации, после чего хиральное вспомогательное вещество химически удаляют с получением чистых энантиомеров, как известно POSITA.

Термин «таутомер», используемый в настоящем описании, относится к конституционным изомерам соединений, полученных в результате быстрого перемещения атома в двух положениях в молекуле. Таутомеры легко взаимодействуют друг с другом, например, енольная форма и кетоновая форма представляют собой типичные таутомеры.

15

20

25

30

«Фармацевтически приемлемая соль» означает соль свободной кислоты или основания соединения формулы (I), которая является нетоксичной, биологически переносимой или иным образом биологически приемлемой для введения субъекту. Например, соль присоединения кислоты включает, например, соль, полученную из неорганической кислоты и органической кислоты. Указанная неорганическая кислота включает, например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, иодистоводородную кислоту, серную кислоту, фосфорную кислоту и азотную кислоту; указанная органическая кислота включает, например, птолуолсульфоновую кислоту, салициловую кислоту, метансульфоновую кислоту, щавелевую кислоту, янтарную кислоту, лимонную кислоту, яблочную кислоту, молочную кислоту, фумаровую кислоту и т.п. Примеры смотри, в целом, в S. М. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66: 1-19, и Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection, and Use, Stahl and Wermuth, Eds., Wiley-VCH and VHCA, Zurich, 2002.

Кроме того, если соединение согласно настоящему изобретению получают в форме соли присоединения кислоты, свободное основание может быть получено

путем подщелачивания раствора соли присоединения кислоты. И наоборот, если продукт является свободным основанием, соль присоединения кислоты, в частности фармацевтически приемлемая соль присоединения кислоты, может быть получена путем растворения свободного основания в подходящем растворителе и обработки раствора кислотой в соответствии с традиционными методиками получения солей присоединения кислоты из основных соединений. POSITA будут понятны различные синтетические методологии, которые могут быть использованы без излишних экспериментов для получения нетоксичных фармацевтически приемлемых солей присоединения кислоты или солей присоединения основания.

Термин «дейтерированное соединение» или «дейтераты» относится к соединению, в котором один или более атомов водорода, таких как 1, 2, 3, 4 или 5 атомов водорода, заменены атомами дейтерия (D).

10

15

20

25

30

Термин «сольваты» означает формы с присоединенным растворителем, которые содержат либо стехиометрические, либо нестехиометрические количества растворителя. Некоторые соединения склоны удерживать фиксированное молярное отношение молекул растворителя в твердом состоянии, образуя тем самым сольват. Если растворитель представляет собой воду, образованный сольват представляет собой гидрат, если растворитель представляет собой спирт, образованный сольват представляет собой алкоголят. Гидраты образуются посредством комбинации одной или более молекул воды или менее одной молекулы воды, с одной молекулой веществ, в которой вода сохраняет свое молекулярное состояние как  $H_2O$ , причем подобная комбинация способна образовывать один или более гидратов, например, полугидрат, моногидрат и дигидрат.

В настоящем документе термины «группа(ы)» и «радикал(ы)» являются синонимами и предназначены для обозначения функциональных групп или фрагментов молекул, присоединяемых к другим фрагментам молекул.

Термин «активный ингредиент» используется для указания химического вещества, обладающего биологической активностью. Согласно некоторым вариантам реализации «активный ингредиент» представляет собой химическое вещество, имеющее фармацевтическое применение.

Термин «фармацевтическая комбинация», используемый в настоящем описании, означает продукт, полученный путем смешивания или объединения двух или более активных ингредиентов, включая фиксированные и нефиксированные комбинации активных ингредиентов, такие как набор, и фармацевтическую композицию. Термин «фиксированная комбинация» означает, что два или более активных ингредиентов (таких как соединения согласно настоящему изобретению и дополнительные терапевтические агенты) вводят одновременно пациенту в форме одной единицы или дозы. Термин «нефиксированная комбинация» означает, что два или более активных ингредиентов (таких как соединения согласно настоящему изобретению и дополнительные терапевтические агенты) вводят одновременно, параллельно или последовательно пациенту в отдельных объектах, причем введение обеспечивает пациенту терапевтически эффективный уровень соединения.

5

10

15

20

25

30

Термины «лечить» или «лечение» или «предотвращение» заболевания или расстройства, в контексте достижения терапевтического эффекта, относятся к введению одного или более фармацевтических веществ, в частности соединения формулы (I), описанных в настоящем описании, субъекту, который имеет заболевание или расстройство, или имеет симптом заболевания или расстройства, или имеет предрасположенность к заболеванию или расстройству, с целью вылечить, лечить, облегчить, ослабить, изменить, поправить, смягчить, улучшить или повлиять на заболевание или расстройство, симптомы заболевания или расстройства, или предрасположенность к заболеванию или нарушению. В некоторых вариантах реализации заболевание или расстройство представляет собой рак, такой как солидные опухоли или гематологические злокачественные новообразования, включая лимфому, лейкоз и миелому. В другом варианте реализации заболевание или расстройство представляет собой воспалительные заболевания или аутоиммунное заболевание.

Термины «лечение», «приведение в контакт» и «реагирующий», в контексте химической реакции, означают добавление или смешивание двух или более реагентов при соответствующих условиях для получения указанного и/или требуемого продукта. Следует понимать, что реакция, которая приводит к указанному и/или требуемому продукту, не обязательно осуществляется

непосредственно после объединения двух реагентов, которые были первоначально добавлены, то есть, может существовать одно или более промежуточных соединений, которые образуются в смеси и , в конечном счете, приводят к образованию указанного и/или требуемого продукта.

5

10

15

20

25

30

Термин «эффективное количество», используемый в настоящем описании, относится к количеству или дозе агента, ингибирующего ВТК, которое достаточно, чтобы в целом обеспечить терапевтический эффект у пациентов, нуждающихся в лечении заболевания или расстройства, опосредованного ВТК, или, по меньшей мере, частично ВТК. Эффективные количества или дозы активного ингредиента согласно настоящему изобретению можно установить с помощью способов, таких как моделирование, исследования эскалации дозы или клинические испытания, а также принимая во внимание факторы, например, режим или способы введения или доставки лекарственных средств, фармакокинетики агента, тяжести и течения заболевания или расстройства, предыдущей или продолжающейся терапии субъекта, состояния здоровья субъекта и реакции на лекарственные средства, а также суждение лечащего врача.

Примерная доза составляет от примерно 0,0001 до примерно 200 мг активного вещества на кг массы тела субъекта в сутки, например, от примерно 0,001 до 100 мг/кг/сутки, или приблизительно от 0,01 до 35 мг/кг/сутки или примерно от 0,1 до 10 мг/кг в сутки в виде одной или раздельных единиц дозировки (например, ВІD, ТІD, QІD). Для 70-килограммового человека, иллюстративный диапазон подходящей дозировки составляет от примерно 0,05 до приблизительно 7 г/ сутки, или примерно от 0,2 до 5 г/сутки. После улучшения заболевания или расстройства пациента доза может быть изменена для поддерживающей терапии. Например, доза или частота приема или и то и другие могут быть уменьшены в зависимости от симптомов, до уровня, при котором обеспечивается требуемый терапевтический эффект. Конечно, если симптомы были облегчены до соответствующего уровня, лечение может быть прекращено. Однако пациентам может потребоваться интермиттирующая терапия на долговременной основе при любом рецидиве симптомов.

Термин «ингибирование» или «ингибирующий» указывает на уменьшение базовой биологической активности или процесса. Термин «ингибирование

активности ВТК» представляет собой практическую фармацевтическую активность для целей данного описания и относится к снижению активности ВТК в виде прямого или косвенного ответа на присутствие соединения согласно настоящему изобретению по отношению к активности ВТК при отсутствии соединения согласно настоящему изобретению. Снижение активности может быть связано с прямым взаимодействием соединения согласно настоящему изобретению с ВТК, или с взаимодействием соединения согласно настоящему изобретению, с одним или более другими факторами, которые в свою очередь влияют на активность ВТК. Например, присутствие соединения согласно настоящему изобретению может снизить активность ВТК путем непосредственного связывания с ВТК, вызывая (прямо или косвенно) снижение активности ВТК, или путем (прямого или косвенного) уменьшения количества ВТК, присутствующей в клетке или организме.

10

15

20

25

30

Термин «субъект» или «пациент» в настоящем документе означает млекопитающее и немлекопитающее. Млекопитающие означает любого члена класса млекопитающих, в том числе, но не ограничиваются ими, человека; приматов, не относящихся к человеку, таких как шимпанзе и другие виды обезьян и мартышек; сельскохозяйственных животных, таких как крупный рогатый скот, лошади, овцы, козы и свиньи; домашних животных, таких как кролики, собаки и кошки; лабораторных животных, включая грызунов, таких как крысы, мыши и морские свинки; и тому подобное. Примеры немлекопитающих включают, но не ограничиваются ими, птиц и тому подобное. Термин «субъект» или «пациент» не указывает на конкретный возраст или пол. Согласно некоторым вариантам реализации субъектом или пациентом является человек.

В целом, термин «примерно» используется в настоящем описании для модификации числового значения, выше или ниже указанного значения посредством 20% отклонения.

Технические и научные термины, используемые в настоящем документе и не определенные конкретно, имеют значения, обычно понимаемые POSITA, к которой настоящее изобретение относится.

Все числовые диапазоны в настоящем документе следует интерпретировать как раскрывающие каждое числовое значение и подмножество числовых значений

в пределах диапазона, независимо от того, раскрыты ли они конкретно иным образом. Например, когда речь идет о любом диапазоне значений, его следует рассматривать как относящийся к каждому значению в пределах диапазона значений, например, к каждому целому числу в пределах диапазона значений.

5 Например, С<sub>1-6</sub>, используемый в настоящем документе, представляет собой включение 1, 2, 3, 4, 5 или 6 С. Настоящее изобретение относится ко всем значениям, находящимся в пределах диапазонов, ко всем меньшим диапазонам и к верхним или нижним границам числового диапазона.

#### 10 Подробное описание вариантов реализации изобретения

15

Вариант реализации 1. Соединение формулы (I):

или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер, где

 $X_1, X_2$  и  $X_3$  каждый независимо представляет собой CH или N;

U и V каждый независимо представляет собой N или CR<sub>9</sub>;

Y<sub>1</sub> и Y<sub>2</sub> каждый независимо представляет собой CR<sub>10</sub> или N;

R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> каждый независимо выбран из водорода, дейтерия, галогена, -CN, гидроксила, C<sub>1-6</sub> алкила, 3-6-членного циклоалкила, C<sub>2-6</sub> алкинила, C<sub>1-6</sub> дейтероалкила и C<sub>1-6</sub> галогеналкила; или R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 3-6-членный циклоалкил;

 $R_3$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, -CN или  $C_{1-6}$  галогеналкил;

 $R_4$  представляет собой водород, галоген, -CN,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{2-6}$  алкинил, - ( $C_{1-3}$  алкил)-OH, -( $C_{1-3}$  алкил)-O-( $C_{1-3}$  алкил), -O-( $C_{1-3}$  алкил), -CHO, -C(O)NH2, - C(O)NHCH3, -C(O)N(CH3)2 или 3-гидроксил-оксетан-3-ил, где  $C_{1-6}$  алкил или  $C_{1-3}$  алкил каждый необязательно замещен одним или более дейтерием или галогеном;

 $R_5$  выбран из водорода,  $C_{1-6}$  алкила и  $C_{3-6}$  циклоалкила, где  $C_{1-6}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием или галогеном;

 $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  каждый независимо представляет собой CH или N, при условии, что по меньшей мере один из  $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  представляет собой N;

R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> каждый независимо выбран из C<sub>1-6</sub> алкила;

5

10

15

25

 $R_8$  представляет собой водород,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил, где  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-6}$  алкила, трифторметила, -OH, -NH<sub>2</sub>, -O-( $C_{1-6}$  алкил), -NH( $C_{1-6}$  алкил) или -N( $C_{1-6}$  алкил)<sub>2</sub>;

R<sub>9</sub> представляет собой водород, дейтерий или галоген;

 $R_{10}$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, CN,  $C_{1\text{-}6}$  алкил или  $C_{1\text{-}6}$  галогеналкил;

n составляет 0, 1 или 2; при условии, что когда n составляет 1,  $R_3$  не является водородом.

Вариант реализации 2. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно варианту реализации 1, отличающееся тем, что  $R_4$  представляет собой  $C_{1-6}$  алкил, -( $C_{1-3}$  алкил)-ОН, -( $C_{1-3}$  дейтероалкил)-ОН, -CHO, -C(O)NH2, -C(O)NHCH3 или -C(O)N(CH3)2;

предпочтительно,  $R_4$  представляет собой  $C_{1\text{--}6}$  алкил, -( $C_{1\text{--}3}$  алкил)-ОН, -( $C_{1\text{--}3}$  дейтероалкил)-ОН или -СНО.

**Вариант реализации 3.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно варианту реализации 1 или 2, отличающееся тем, что

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> и X<sub>3</sub> каждый независимо представляет собой CH или N;
 U и V каждый независимо представляет собой CR<sub>9</sub>;
 Y<sub>1</sub> и Y<sub>2</sub> каждый независимо представляет собой CR<sub>10</sub>;

 $R_1$  и  $R_2$  каждый независимо выбран из водорода, дейтерия, галогена, -CN, гидроксила,  $C_{1-6}$  алкила,  $C_{1-6}$  дейтероалкила и  $C_{1-6}$  галогеналкила;

 $R_3$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, -CN или  $C_{1\text{-}6}$  галогеналкил;

5

15

 $R_4$  представляет собой -( $C_{1-3}$  алкил)-OH, - $C(O)NH_2$ , - $C(O)NHCH_3$  или -  $C(O)N(CH_3)_2$ , где  $C_{1-3}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием;

 $R_5$  выбран из водорода и  $C_{1-6}$  алкила, где  $C_{1-6}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием;

 $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  каждый независимо представляет собой CH или N, при 10 условии, что по меньшей мере один из  $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  представляет собой N;

R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> каждый независимо выбран из C<sub>1-6</sub> алкила;

 $R_8$  представляет собой водород,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил, где  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-6}$  алкила, трифторметила, -OH или -NH<sub>2</sub>,

R<sub>9</sub> представляет собой водород или дейтерий;

R<sub>10</sub> представляет собой водород или дейтерий;

n составляет 0, 1 или 2; при условии, что когда n составляет 1,  $R_3$  не является водородом.

20 **Вариант реализации 4.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-3, отличающееся тем, что

 $X_1, X_2$  и  $X_3$  каждый независимо представляет собой CH или N;

U и V каждый независимо представляет собой CR<sub>9</sub>;

25 У1 и У2 каждый независимо представляет собой СР 10;

 $R_1$  и  $R_2$  каждый независимо выбран из водорода, дейтерия, галогена, -CN, гидроксила,  $C_{1-6}$  алкила,  $C_{1-6}$  дейтероалкила и  $C_{1-6}$  галогеналкила;

 $R_3$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, -CN или  $C_{1\text{-}6}$  галогеналкил;

30  $R_4$  представляет собой -( $C_{1-3}$  алкил)-ОН, где  $C_{1-3}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием;

 $R_5$  выбран из  $C_{1-6}$  алкила, где  $C_{1-6}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием;

 $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  каждый независимо представляет собой CH или N, при условии, что по меньшей мере один из  $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  представляет собой N;

R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> каждый независимо выбран из C<sub>1-6</sub> алкила;

5

10

25

30

 $R_8$  представляет собой водород,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил, где  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-6}$  алкила, трифторметила, -OH или -NH<sub>2</sub>,

R<sub>9</sub> представляет собой водород или дейтерий;

R<sub>10</sub> представляет собой водород или дейтерий;

n составляет 0, 1 или 2; при условии, что когда n составляет 1,  $R_3$  не является водородом.

Вариант реализации 5. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-4, отличающееся тем, что  $X_1$  представляет собой CH или N,  $X_2$  представляет собой CH, и  $X_3$  представляет собой N.

Вариант реализации 6. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-5, отличающееся тем, что  $X_3$  представляет собой N.

**Вариант реализации 7.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-6, отличающееся тем, что как  $X_1$ , так и  $X_2$  представляют собой CH.

**Вариант реализации 8.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-7, отличающееся тем, что как  $Y_1$ , так и  $Y_2$  представляют собой  $CR_{10}$ .

**Вариант реализации 9.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер

согласно варианту реализации 8, отличающееся тем, что  $R_{10}$  представляет собой водород.

**Вариант реализации 10.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-9, отличающееся тем, что  $R_1$  и  $R_2$  каждый независимо выбран из  $C_{1-6}$  алкила;

предпочтительно, каждый из  $R_1$  и  $R_2$  независимо выбран из  $C_{1-3}$  алкила; и более предпочтительно, как  $R_1$ , так и  $R_2$  представляют собой метил.

**Вариант реализации 11.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-10, отличающееся тем, что R<sub>3</sub> представляет собой водород или галоген;

и предпочтительно R<sub>3</sub> представляет собой водород.

5

10

25

Вариант реализации 12. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-11, отличающееся тем, что предпочтительно R<sub>4</sub> представляет собой -(C<sub>1-3</sub> алкил)-ОН или -(C<sub>1-3</sub> дейтероалкил)-ОН:

предпочтительно, R<sub>4</sub> представляет собой гидроксиметил или гидрокси 20 дейтерометил;

и более предпочтительно, R4 представляет собой гидроксиметил.

**Вариант реализации 13.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-12, отличающееся тем, что  $R_3$  представляет собой водород, и  $R_4$  представляет собой -( $C_{1-3}$  алкил)-ОН.

**Вариант реализации 14.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер по любому из вариантов реализации 1-13, где и U, и V представляют собой CH.

Вариант реализации **15.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации **1-14**, отличающееся тем, что **R**<sub>5</sub> представляет собой C<sub>1-6</sub> алкил;

предпочтительно  $R_5$  представляет собой  $C_{1-3}$  алкил; и более предпочтительно,  $R_5$  представляет собой метил.

**Вариант реализации 16.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-15, отличающееся тем, что  $Z_1$  представляет собой N, и  $Z_2$ ,  $Z_3$  и  $Z_4$  все представляют собой CH.

**Вариант реализации 17.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-16, отличающееся тем, что как R<sub>6</sub>, так и R<sub>7</sub> представляют собой метил.

10

15

20

30

Вариант реализации 18. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-17, отличающееся тем, что  $R_8$  представляет собой водород,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил, где  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-5-членный гетероциклил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-6}$  алкила, трифторметила, -OH или -NH<sub>2</sub>,

предпочтительно  $R_8$  представляет собой водород,  $C_{1-6}$  алкил или 4-5-членный гетероциклил, где  $C_{1-6}$  алкил или 4-5-членный гетероциклил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-6}$  алкила, трифторметила, -OH или -NH<sub>2</sub>,

предпочтительно  $R_8$  представляет собой 4-5-членный гетероциклил, необязательно замещенный 1 или 2 группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-3}$  алкила, трифторметила, -OH или -NH<sub>2</sub>;

25 предпочтительно,  $R_8$  представляет собой 4-5-членный гетероциклил; и более предпочтительно,  $R_8$  представляет собой 4-членный гетероциклил.

**Вариант реализации 19.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из вариантов реализации 1-18, отличающееся тем, что  $R_8$  представляет собой оксетанил или тетрагидрофуранил.

**Вариант реализации 20.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер

согласно варианту реализации 19, отличающееся тем, что R<sub>8</sub> представляет собой

$$\Diamond$$

5

10

15

20

**Вариант реализации 21.** Соединение по варианту реализации 1, или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер, выбранное из:

Вариант реализации 22. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение и/или его фармацевтически приемлемую соль согласно любому из вариантов реализации 1-21, и необязательно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

**Вариант реализации 23.** Способ ингибирования активности ВТК *in vivo* или *in vitro*, включающий приведение ВТК в контакт с эффективным количеством соединения и/или его фармацевтически приемлемой соли по любому из вариантов реализации 1-21.

Вариант реализации 24. Применение соединения и/или его фармацевтически приемлемой соли по любому из вариантов реализации 1-21 для получения лекарственного средства для лечения или предотвращения заболевания, опосредованного ВТК, или по меньшей мере частично ВТК, предпочтительно для лечения или предотвращения аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания или рака, отличающееся тем, что воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание предпочтительно выбрано из: системного воспаления и

местного воспаления, артрита, ревматоидного артрита, воспаления, связанного с иммуносупрессией, отторжения трансплантата, аллергического заболевания, язвенного колита, болезни Крона, дерматита, астмы, красной волчанки, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, склеродермии, рассеянного склероза, остеопороза, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, аутоиммунной гемолитической 5 анемии, васкулита, ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами, хронической обструктивной болезни легких, псориаза, синдрома сухого глаза, обыкновенной пузырчатки, и заболеваний, связанных с трансплантацией почки, аутоиммунной болезни щитовидной железы, 10 хронического лимфоцитарного тиреоидита, гипертиреоза, пернициозной анемии с хроническим атрофическим гастритом, синдрома Гудпасчера, пемфигоида, первичного билиарного цирроза, острого идиопатического полиневрита, системной красной волчанки, и смешанного заболевания соединительных тканей; рак предпочтительно представляет собой солидную опухоль или гематологическое 15 злокачественное новообразование, включая лимфому, лейкоз и миелому; и рак более предпочтительно выбран из В-клеточного злокачественного новообразования, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), Вкрупноклеточной лимфомы (LBCL), В-клеточной лимфомы, мантийноклеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, неходжкинской лимфомы, лимфомы 20 Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы Беркитта, В-клеточной лимфомы высокой степени агрессии, не относящейся к группе Беркитта, экстранодальной В-клеточной лимфомы маргинальной зоны, лимфотической лимфомы малого размера (SLL), лимфобластной лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, миелогенного лейкоза, 25 острого миелогенного лейкоза (AML), хронического миелогенного лейкоза (CML), острого моноцитарного лейкоза человека, острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), В-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза (B-ALL), лейкоза ворсистых клеток, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) (такого как CLL высокого риска), миелодиспластического синдрома, острого лимфобластного лейкоза, миеломы

**Вариант реализации 25.** Способ лечения или предотвращения заболевания у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного

(такой как множественная миелома) или болезни «трансплантат против хозяина».

30

количества соединения и/или его фармацевтически приемлемой соли согласно любому из вариантов реализации 1-21, отличающийся тем, что заболевание представляет собой заболевание, опосредованное ВТК, или по меньшей мере частично ВТК, предпочтительно заболевание представляет собой аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание или рак; причем воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание предпочтительно выбрано из: системного воспаления и местного воспаления, артрита, ревматоидного артрита, воспаления, связанного с иммуносупрессией, отторжения трансплантата, аллергического заболевания, язвенного колита, болезни Крона, дерматита, астмы, 10 красной волчанки, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, склеродермии, рассеянного склероза, остеопороза, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, аутоиммунной гемолитической анемии, васкулита, ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами, хронической обструктивной болезни легких, псориаза, синдрома сухого глаза, обыкновенной 15 пузырчатки, и заболеваний, связанных с трансплантацией почки, аутоиммунной болезни щитовидной железы, хронического лимфоцитарного тиреоидита, гипертиреоза, пернициозной анемии с хроническим атрофическим гастритом, синдрома Гудпасчера, пемфигоида, первичного билиарного цирроза, острого идиопатического полиневрита, системной красной волчанки, и смешанного 20 заболевания соединительных тканей; рак предпочтительно представляет собой солидную опухоль или гематологическое злокачественное новообразование, включая лимфому, лейкоз и миелому; и рак более предпочтительно выбран из Вклеточного злокачественного новообразования, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), В-крупноклеточной лимфомы (LBCL), В-клеточной лимфомы, 25 мантийноклеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, неходжкинской лимфомы, лимфомы Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы Беркитта, В-клеточной лимфомы высокой степени агрессии, не относящейся к группе Беркитта, экстранодальной В-клеточной лимфомы маргинальной зоны, лимфотической лимфомы малого размера (SLL), 30 лимфобластной лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, миелогенного лейкоза, острого миелогенного лейкоза (AML), хронического миелогенного лейкоза (CML), острого моноцитарного лейкоза человека, острого лимфоцитарного лейкоза (ALL),

В-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза (B-ALL), лейкоза ворсистых клеток, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) (такого как CLL высокого риска), миелодиспластического синдрома, острого лимфобластного лейкоза, миеломы (такой как множественная миелома) или болезни «трансплантат против хозяина».

**Вариант реализации 26.** Соединение и/или его фармацевтически приемлемая соль по любому из вариантов реализации 1-21 для применения в качестве лекарственного средства.

5

10

15

20

25

30

Вариант реализации 27. Соединение и/или его фармацевтически приемлемая соль по любому из вариантов реализации 1-21 для применения для лечения или предотвращения заболевания, опосредованного ВТК, или по меньшей мере частично ВТК, и предпочтительно для применения для лечения или предотвращения аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания или рака, отличающееся тем, что воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание предпочтительно выбрано из: системного воспаления и местного воспаления, артрита, ревматоидного артрита, воспаления, связанного с иммуносупрессией, отторжения трансплантата, аллергического заболевания, язвенного колита, болезни Крона, дерматита, астмы, красной волчанки, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, склеродермии, рассеянного склероза, остеопороза, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, аутоиммунной гемолитической анемии, васкулита, ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами, хронической обструктивной болезни легких, псориаза, синдрома сухого глаза, обыкновенной пузырчатки, и заболеваний, связанных с трансплантацией почки, аутоиммунной болезни щитовидной железы, хронического лимфоцитарного тиреоидита, гипертиреоза, пернициозной анемии с хроническим атрофическим гастритом, синдрома Гудпасчера, пемфигоида, первичного билиарного цирроза, острого идиопатического полиневрита, системной красной волчанки, и смешанного заболевания соединительных тканей; рак предпочтительно представляет собой солидную опухоль или гематологическое злокачественное новообразование, включая лимфому, лейкоз и миелому; и рак более предпочтительно выбран из В-клеточного злокачественного новообразования, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), Вкрупноклеточной лимфомы (LBCL), В-клеточной лимфомы, мантийноклеточной

лимфомы, фолликулярной лимфомы, неходжкинской лимфомы, лимфомы Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы Беркитта, В-клеточной лимфомы высокой степени агрессии, не относящейся к группе Беркитта, экстранодальной В-клеточной лимфомы маргинальной зоны, лимфотической лимфомы малого размера (SLL), лимфобластной лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, миелогенного лейкоза, острого миелогенного лейкоза (AML), хронического миелогенного лейкоза (CML), острого моноцитарного лейкоза человека, острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), В-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза (B-ALL), лейкоза ворсистых клеток, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) (такого как CLL высокого риска), миелодиспластического синдрома, острого лимфобластного лейкоза, миеломы (такой как множественная миелома) или болезни «трансплантат против хозяина».

Вариант реализации 28. Фармацевтическая комбинация, содержащая соединение и/или его фармацевтически приемлемую соль по любому из вариантов реализации 1-21, и по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент, где терапевтический агент предпочтительно выбран из: противовоспалительного агента, иммуномодулятора или противоопухолевого активного агента, где противоопухолевый активный агент включает химиотерапевтический агент, ингибитор или агонист иммунной контрольной точки и целевой терапевтический агент.

Различные варианты реализации настоящего изобретения (включая следующие примеры) и признаки различных вариантов реализации следует интерпретировать как произвольно объединенные друг с другом, и различные решения, полученные с помощью этих взаимных комбинаций, включены в объем настоящего изобретения, так же, как и решения, полученные путем перечисления этих взаимных комбинаций конкретно и по отдельности в настоящем документе, если в контексте не указано иное.

# Общие способы синтеза

15

20

25

30

Соединение формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемая соль, описанные в настоящем изобретении, могут быть синтезированы с использованием коммерчески доступных исходных материалов, способами, известными в данной

области техники, или способами, описанными в патентной заявке. Пути синтеза, показанные на Схеме 1 - Схеме 2, иллюстрируют общие способы синтеза для получения соединений согласно настоящему изобретению, а пути синтеза, показанные на Схеме 3 - Схеме 6, иллюстрируют общие способы синтеза для получения исходного материала 1-1, используемого на Схеме 1 - Схеме 2.

### Схема 1:

5

$$\begin{array}{c} R_1 \\ R_2 \\ R_3 \\ 1-1 \\ R_3 \\ R_4 \\ R_5 \\ R_5 \\ R_6 \\ R_7 \\ R_8 \\ 1-1 \\$$

где Hal представляет собой галоген, и R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>,  $Z_1, Z_2, Z_3, Z_4, U, V, Y_1, Y_2$  и п являются такими, как определено в настоящем 10 документе.

Как показано на Схеме 1, соединение формулы 1-1 взаимодействует с дигалогенарилальдегидным соединением формулы 1-2 под катализом йодидом меди с получением соединения формулы 1-3. Реакцию связывания углерод-азот, 15 катализируемую йодидом меди, проводят в подходящих условиях. Используемый растворитель может быть выбран из полярного растворителя, такого как 1,4диоксан и ДМФА, а используемое основание может быть выбрано из Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> и т.д. При подходящих условиях соединение формулы 1-4 согласно настоящему изобретению получают путем восстановления соединения формулы 1-20

3. Используемый восстанавливающий агент может быть выбран из борогидрида

натрия, борогидрида калия, борогидрида лития и т.д., а используемый растворитель может быть выбран из полярных растворителей, таких как метанол, этанол или смешанный растворитель метанола и дихлорметана. Соединение формулы 1-5 получают ацетилированием соединения формулы 1-4. Соединение формулы 1-5 подвергают взаимодействию с бис(пинаколато)дибором в подходящих условиях с получением сложного эфира ортоборной кислоты или борной кислоты формулы 1-6. Соединение формулы 1-6 подвергают взаимодействию с галогенидом формулы 1-7 путем реакции сочетания Судзуки в условиях катализа подходящим палладиевым реагентом с получением соединения формулы 1-8. Реакцию 10 сочетания углерод-углерод, катализируемую палладием, проводят в подходящих условиях. Используемый растворитель может быть выбран из полярных растворителей, таких как 1,4-диоксан, ДМФА, ТГФ или смешанный растворитель 1,4-диоксана и воды; используемое основание может быть выбрано из Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> и т. д.; и используемый катализатор может быть выбран из 15 Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd(OAc)<sub>2</sub> и т. д. Соединение формулы (I-1) согласно настоящему изобретению получают путем деацетилирования соединения формулы 1-8 в соответствующих щелочных условиях. Используемое основание может быть выбрано из карбоната калия, карбоната натрия, гидроксида лития и т.д., а используемый растворитель может быть выбран из полярных растворителей, таких 20 как метанол, этанол или смешанный растворитель метанола и воды.

#### Схема 2:

Как показано на Схеме 2, соединение формулы 1-3 взаимодействует с борной кислотой или сложным эфиром борной кислоты формулы 2-1 с помощью реакции сочетания Сузуки в условиях катализа соответствующим палладиевым реагентом с получением соединения формулы 2-2. Реакцию сочетания углерод-углерод,

катализируемую палладием, проводят в подходящих условиях. Используемый растворитель может быть выбран из полярных растворителей, таких как 1,4-диоксан, ДМФА, ТГФ или смешанный растворитель 1,4-диоксана и воды; используемое основание может быть выбрано из Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> и т. д.; и используемый катализатор может быть выбран из Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Pd(OAc)<sub>2</sub> и т. д. При подходящих условиях соединение формулы (I-1) согласно настоящему изобретению получают путем восстановления соединения формулы 2-2. Используемый восстанавливающий агент может быть выбран из борогидрида натрия, борогидрида калия, борогидрида лития и т.д., а используемый растворитель может быть выбран из полярных растворителей, таких как метанол, этанол или смешанный растворитель метанола и дихлорметана.

## Схема 3:

10

15

20

25

Как показано на Схеме 3, соединение формулы 3-1 подвергают реакции замещения с бромацетальдегидом диэтилацеталем в подходящих условиях с получением соединения формулы 3-2. Используемое основание может быть выбрано из карбоната цезия и т.д., а используемый растворитель может быть выбран из полярных растворителей, таких как ДМФА и 1,4-диоксан. Соединение формулы 3-2 гидролизуют в щелочном растворе с получением соединения формулы 3-3. Используемое основание может быть выбрано из гидроксида лития, карбоната калия, карбоната натрия и т.д.; а используемый растворитель может быть выбран из полярных растворителей, таких как метанол, этанол или смешанный растворитель метанола и воды. Соединение формулы 3-3 подвергают реакции конденсации с НАТU и водным аммиаком с получением соединения формулы 3-4.

Соединение формулы 3-4 подвергают замыканию кольца в уксусной кислоте с получением соединения формулы 3-5.

#### Схема 4:

5

10

15

20

25

$$R_1$$
 $R_2$ 
 $R_3$ 
 $R_1$ 
 $R_2$ 
 $R_3$ 
 $R_3$ 
 $R_4$ 
 $R_2$ 
 $R_3$ 
 $R_4$ 
 $R_3$ 
 $R_4$ 
 $R_4$ 
 $R_4$ 
 $R_5$ 
 $R_4$ 
 $R_5$ 
 $R_4$ 
 $R_5$ 
 $R_5$ 
 $R_7$ 
 $R_7$ 
 $R_8$ 
 $R_9$ 
 $R_9$ 
 $R_9$ 
 $R_9$ 
 $R_9$ 
 $R_9$ 
 $R_9$ 
 $R_9$ 

Как показано на Схеме 4, соединение формулы 3-1 подвергают реакции замещения с гидразингидратом с получением соединения формулы 4-1. Соединение формулы 4-1 подвергают реакции замыкания кольца с триэтилортоформиатом в растворе ДМФА с получением соединения формулы 4-2.

Заместители полученных таким образом соединений могут быть дополнительно модифицированы, чтобы получить другие необходимые соединения. Синтетические химические превращения описаны, например, в R.Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); L.Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); L.Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995) и их последующих изданиях.

Перед применением соединение(я) согласно настоящему изобретению могут быть очищены посредством колоночной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, кристаллизации или другими подходящими способами.

#### Фармацевтические композиции и применение

Соединение согласно настоящему изобретению, описанное в настоящем документе (например, соединение по любому из вариантов реализации), применяют, по отдельности или в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, с получением фармацевтических композиций. Фармацевтическая композиция содержит: (а) эффективное количество соединений согласно настоящему изобретению; (b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество (например, один или более фармацевтически

приемлемых носителей); и, необязательно, (с) по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент.

5

10

15

20

25

30

Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество относится к вспомогательному веществу, которое совместимо с активными ингредиентами композиции (и согласно некоторым вариантам реализации, способно стабилизировать активные ингредиенты) и безвредно по отношению к субъекту, подлежащему лечению. Например, солюбилизирующие агенты, такие как циклодекстрины (которые образуют специфические более растворимые комплексы с соединениями согласно настоящему изобретению), можно применять в качестве фармацевтических вспомогательных веществ для доставки активных ингредиентов. Примеры других вспомогательных веществ или носителей включают коллоидный диоксид кремния, стеарат магния, целлюлозу, лаурилсульфат натрия и пигменты, такие как D & C Yellow # 10. Подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences, A.Osol, стандартном справочнике в данной области техники.

Фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно настоящему изобретению, может быть введена различными известными способами, например, перорально, местно, ректально, парентерально, путем ингаляционного спрея или с помощью имплантированного резервуара. Термин «парентеральный», используемый в настоящем описании, включает подкожное, внутрикожное, внутривенное, внутримышечное, внутрисуставное, внутриартериальное, внутрисиновиальное, внутригрудинное, интратекальное, внутриочаговое и внутричерепное введение инъекцией или инфузией.

Фармацевтическая композиция, описанная в настоящем описании, может быть получена в форме таблеток, капсул, саше, драже, порошка, гранул, таблеток для рассасывания, порошка для восстановления, жидкого препарата или суппозиториев. Согласно некоторым вариантам реализации фармацевтическая композиция, содержащая соединение согласно настоящему изобретению, приготовлена для внутривенной инфузии, местного введения или перорального введения.

Композиция для перорального введения может представлять собой любую перорально приемлемой лекарственную форму, включая, но не ограничиваясь ими, таблетки, капсулы, эмульсии и водные суспензии, дисперсии и растворы. Обычно

используемые носители для таблеток включают лактозу и кукурузный крахмал. Смазывающие агенты, такие как стеарат магния, также обычно добавляют в таблетки. Для перорального введения в форме капсулы, походящие разбавители включают лактозу и высушенный кукурузный крахмал. Когда водные суспензии или эмульсии вводят перорально, активный ингредиент может быть суспендирован или растворен в масляной фазе в сочетании с эмульгирующими или суспендирующими агентами. При необходимости, могут быть добавлены определенные подсластители, ароматизаторы или красители.

5

10

15

20

25

30

Согласно некоторым вариантам реализации соединение согласно настоящему изобретению может присутствовать в количестве от 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 400 и 500 мг в таблетке. Согласно некоторым вариантам реализации соединение согласно настоящему изобретению может присутствовать в количестве от 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 400 и 500 мг в капсуле.

Стерильная композиция для инъекций (например, водная или масляная суспензия) может быть получена в соответствии с методиками, известными в данной области техники, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов (например, Tween 80) и суспендирующих агентов. Стерильная инъекционная композиция также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном приемлемом для парентерального применения разбавителе или растворителе, например, в форме раствора в 1,3-бутандиоле. Среди фармацевтически приемлемых носителей и растворителей, которые могут быть использованы, могут быть упомянуты маннит, вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, стерильные нелетучие масла обычно используют в качестве растворителя или суспендирующей среды (например, синтетические моно- или диглицериды). Жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее производные глицеридов, и натуральные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, особенно их полиокси этилированные варианты, могут быть использованы в качестве стерильной инъекционной среды. Указанные масляные растворы или суспензии могут также содержать разбавитель на основе

длинноцепочечного спирта или диспергирующий агент, или карбоксиметилцеллюлозу или аналогичные диспергирующие агенты.

5

10

15

20

25

30

Композиции для ингаляции могут быть получены в соответствии с методиками, хорошо известными в области фармацевтических составов, и могут быть получены в виде растворов в физиологическом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, промоторов абсорбции для повышения биодоступности, фторуглеродов и/или других солюбилизирующих или диспергирующих агентов, известных в данной области техники.

Композиция для местного применения может быть получена в виде масла, крема, лосьона, мази и тому подобного. Подходящие носители для композиции включают растительные или минеральные масла, белый вазелин (белый мягкий парафин), жиры или масла с разветвленной цепью, животные жиры и высокомолекулярные спирты (более С12). Согласно некоторым вариантам реализации фармацевтически приемлемый носитель представляет собой носитель, в котором активный ингредиент является растворимым. Эмульгаторы, стабилизаторы, увлажнители и антиоксиданты также могут быть включены, а также могут быть включены агенты придания окраски или аромата, если это необходимо. Кроме того, агенты, усиливающие трансдермальное проникновение, могут быть использованы в указанных составах для местного применения.

Примеры таких усилителей можно найти в патентах США № 3989816 и 4444762.

Кремы могут быть получены из смеси минерального масла, самоэмульгирующегося пчелиного воска и воды, куда примешивают смесь активного ингредиента, растворенного в небольшом количестве масла, такого как миндальное масло. Примером такого крема является крем, включающий, по массе, примерно 40 частей воды, примерно 20 частей пчелиного воска, примерно 40 частей минерального масла и примерно 1 часть миндального масла. Мази могут быть получены путем смешивания раствора активного ингредиента в растительном масле, таком как миндальное масло, с теплым мягким парафином и выдерживанием смеси для остывания. Примером такой мази является мазь, включающая примерно 30% по массе миндального масла и примерно 70% по массе белого мягкого парафина.

Для оценки влияния соединений согласно настоящему изобретению на ингибирование активности ВТК могут быть использованы подходящие анализы in vitro. Соединения согласно настоящему изобретению также могут быть исследованы на предмет дополнительных эффектов в предотвращении или лечении рака с помощью анализов *in vivo*. Например, соединение согласно настоящему изобретению может быть введено животному (например, мышиной модели), имеющему рак, и его терапевтический эффект может быть оценен. Если предположить, что доклинические результаты прошли успешно, диапазон дозировки и способы введения животным, таким как люди, могут быть предсказаны.

Соединение согласно настоящему изобретению может иметь достаточную доклиническую практическую полезность для начала клинических исследований, в результате которых можно продемонстрировать положительное терапевтического или профилактического действие, например, у пациентов с раком.

10

15

20

25

30

Используемый в настоящем описании термин «рак» относится к клеточному нарушению, характеризующемуся неконтролируемой или разрегулированной пролиферацией клеток, уменьшенной клеточной дифференцировкой, несоответствующей способностью вторгаться в окружающие ткани и/или способностью установить новый рост в эктопических участках. Термин «рак» включает, но не ограничивается ими, солидные опухоли и гематологические злокачественные новообразования, такие как лейкоз, лимфома или миелома. Термин «рак» охватывает заболевания кожи, тканей, органов, костей, хрящей, крови и сосудов. Термин «рак» дополнительно охватывает первичный рак и метастатический рак, рецидивирующий рак и рефрактерный рак.

Неограничивающие примеры солидных опухолей включают рак поджелудочной железы; рак мочевого пузыря; колоректальный рак; рак молочной железы, включая метастатический рак молочной железы; рак предстательной железы, включая андроген-зависимый и андроген-независимый рак предстательной железы; рак яичек; рак почки, включая, например, метастатическую почечно-клеточную карциному; уротелиальную карциному; рак печени; гепатоцеллюлярный рак; рак легкого, включая, например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), бронхиолоальвеолярную карциному (BAC) и аденокарциному

легкого; рак яичников, включая, например, прогрессирующий эпителиальный или первичный перитонеальный рак; рак шейки матки; рак эндометрия; рак желудка; рак пищевода; рак головы и шеи, включая, например, плоскоклеточную карциному головы и шеи; рак кожи, включая, например, меланому и базальную карциному; нейроэндокринный рак, включая метастатические нейроэндокринные опухоли; опухоли головного мозга, включая, например, глиому, анапластическую олигодендроглиому, мультиформную глиобластому у взрослых и анапластическую астроцитому у взрослых; рак костей; саркому, включая, например, саркому Капоши; карциному надпочечников; мезотелиальную карциному; хориокарциному; карциному мышц; карциному соединительной ткани; и карциному щитовидной железы.

5

10

15

20

25

30

Неограничивающие примеры гематологических злокачественных новообразований включают острый миелогенный лейкоз (AML); хронический миелогенный лейкоз (CML), включая ускоренную фазу CML и бластную фазу CML (CML-BP); острый лимфоцитарный лейкоз (ALL); хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), включая CLL высокого риска; острый моноцитарный лейкоз человека (М(5)); ворсисто-клеточный лейкоз; лимфоцитарный лейкоз; хронический лимфоидный лейкоз; миелогенный лейкоз; миелодиспластический синдром или острый лимфобластный лейкоз; мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (SLL), лимфобластную лимфому и лимфому Ходжкина; неходжкинскую лимфому (NHL); фолликулярную лимфому; мантийноклеточную лимфому (MCL); В-клеточную лимфому; Т-клеточную лимфому; диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL); В-крупноклеточную лимфому (LBCL); фолликулярную лимфому, лимфому маргинальной зоны, лимфому Беркитта, В-клеточной злокачественную лимфому высокой степени, не относящуюся к группе Беркитта, экстранодальную В-клеточную лимфому маргинальной зоны; множественную миелому (ММ); макроглобулинемию Вальденстрема; миелодиспластический синдром (MDS), включая рефрактерную анемию (RA), рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами (RARS), рефрактерную анемию с избытком бластов (RAEB) и рефрактерную анемию с избытком бластов в трансформации (RAEB-T); и миелопролиферативный синдром.

Согласно некоторым вариантам реализации гематологическое злокачественное новообразование представляет собой рецидивирующую или рефрактерную диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), рецидивирующую или рефрактерную мантийноклеточную лимфому, рецидивирующую или рефрактерную фолликулярную лимфому, рецидивирующую или рефрактерную СLL, рецидивирующую или рефрактерную SLL и рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому.

Соединение согласно настоящему изобретению может быть использовано для достижения благоприятного терапевтического или профилактического эффекта, например, у пациентов с раком.

10

15

20

25

30

Соединение согласно настоящему изобретению может быть использовано для достижения благоприятного терапевтического или профилактического эффекта, например, у пациентов с аутоиммунным заболеванием или у пациентов с воспалительными заболеваниями.

Термин «аутоиммунное заболевание» относится к заболеванию или расстройству, вытекающему из и/или направленному против собственных тканей или органов индивидуума, или косегрегации или проявлениям, или состоянию в результате указанных проявлений. Примеры аутоиммунных заболеваний включают, но не ограничиваются ими: хроническую обструктивную болезнь легких (СОРД), аллергический ринит, красную волчанку, миастению гравис, синдром Шегрена, множественный склероз (MS), склеродермию (также называемую системным склерозом), множественный склероз, остеопороз, артрит (такой как ревматоидный артрит (RA) и коллаген-индуцированный артрит), псориаз, воспалительное заболевание кишечника (такое как язвенный колит и болезнь Крона), астму, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, аутоиммунную гемолитическую анемию, васкулит, ассоциированный с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами, синдром сухого глаза, обыкновенную пузырчатку, заболевания, связанные с трансплантацией почки и миелопролиферативным заболеванием, такие как миелофиброз, и постполицитемия вера/эссенциальный тромбоцитоз миелофиброз (пост-РV/ЕТ миелофиброз), аутоиммунную болезнь щитовидной железы, хронический лимфоцитарный тиреоидит, гипертиреоз, пернициозную анемию с хроническим атрофическим гастритом, синдром Гудпасчера, пемфигоид,

первичный билиарный цирроз, острый идиопатический полиневрит, системную красную волчанку, смешанное заболевание соединительных тканей и т. д. В некоторых вариантах реализации аутоиммунное заболевание выбрано из артрита, такого как ревматоидный артрит (RA), коллаген-индуцированный артрит и тому подобное.

5

10

15

20

25

30

Термин «воспалительное заболевание» или «воспалительное состояние» относится к патологическому состоянию, которое приводит к воспалению, особенно вследствие хемотаксиса нейтрофилов. Неограничивающие примеры воспалительных заболеваний включают системное воспаление и местное воспаление, воспаление, связанное с иммуносупрессией, отторжение трансплантата, аллергическое заболевание, воспалительное заболевание кожи (включая псориаз и атопический дерматит); системную склеродермию и склероз; реакции, связанные с воспалительными заболеваниями кишечника (IBD, такие как болезнь Крона и язвенный колит); ишемическое реперфузионное повреждение, включая реперфузионное повреждение ткани, вызванное хирургическим вмешательством, ишемию миокарда, такую как инфаркт миокарда, остановку сердца, реперфузию после операции на сердце и аномальную сократительную реакцию коронарного сосуда после чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики, реперфузионное повреждение хирургической ткани при инсульте и аневризме брюшной аорты; отек головного мозга, вызванный инсультом; черепное повреждение и геморрагический шок; асфиксию; респираторный дистресс-синдром у взрослых; острую травму легких; болезнь Бехчета; дерматомиозит; полимиозит; рассеянный склероз (МS); дерматит; менингит; энцефалит; увеит; остеоартрит; волчаночный нефрит; аутоиммунное заболевание, такое как ревматоидный артрит (RA), синдром Шегрена и васкулит; заболевания, включающие лейкопедез; септицемию или воспалительное заболевание центральной нервной системы (ЦНС), вторичное по отношению к травме, и синдром повреждения нескольких органов; алкогольный гепатит; бактериальную пневмонию; опосредованное комплексом антиген-антитело заболевание, в том числе гломерулонефрит; пиемию; саркоидоз; иммунопатологические ответы на трансплантацию ткани/органа; воспаление легких, в том числе плеврит, альвеолит, васкулит, пневмонию, хронический бронхит, бронхоэктазию, диффузный панбронхиолит, гиперчувствительный

пневмонит, идиопатический легочный фиброз (IPF), муковисцидоз и др.
Предпочтительно, чтобы показания включали, но не ограничивались ими,
хроническое воспаление, аутоиммунный диабет, ревматоидный артрит (RA),
ревматоидный спондилит, подагрический артрит и другие артрозные состояния,
множественный склероз (MS), астму, системную красную волчанку,
респираторный дистресс-синдром у взрослых, болезнь Бехчета, псориаз,
хроническое легочное воспалительное заболевание, реакцию «трансплантат против
хозяина», болезнь Крона, язвенный колит, воспалительное заболевание кишечника
(IBD), болезнь Альцгеймера и лихорадку и любые заболевания, связанные с
воспалением и связанными с ним состояниями.

Кроме того, соединения согласно настоящему изобретению (например, соединение по любому из примеров, описанных в настоящем описании) могут быть введены в комбинации с дополнительными терапевтическими агентами для лечения заболеваний или расстройств, описанных в настоящем описании, таких как аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание или рак. Дополнительные активные ингредиенты могут быть введены раздельно с соединением согласно настоящему изобретению или включены с таким ингредиентом в фармацевтическую композицию согласно описанию, например, в виде комбинации лекарственного средства с фиксированной дозой. В некоторых вариантах реализации дополнительные активные ингредиенты представляют собой ингредиенты, которые, как известно или обнаружено, являются эффективными для лечения заболеваний, опосредованных ВТК или, по меньшей мере частично, ВТК, например, другой ингибитор ВТК или соединение, являющееся активным в отношении другой мишени, связанной с конкретным заболеванием. Комбинация может служить для повышения эффективности (например, путем включения в комбинацию соединения, усиливающего активность или эффективность соединения согласно настоящему изобретению), уменьшения одного или более побочных эффектов, или уменьшения требуемой дозы соединения согласно настоящему изобретению.

15

20

25

30

Согласно некоторым вариантам реализации соединения согласно настоящему изобретению (такие как любое соединение согласно настоящему изобретению) можно вводить в комбинации с дополнительными терапевтическими агентами,

такими как противовоспалительные агенты, иммуномодуляторы или противоопухолевые активные агенты включают химиотерапевтические агенты, ингибиторы или агонисты иммунных контрольных точек и целевые терапевтические агенты. В настоящем документе термин «противоопухолевый активный агент» относится к любому агенту, который вводят субъекту, страдающему от рака, с целью лечения рака, такому как химиотерапевтический агент, ингибитор или агонист иммунной контрольной точки и целевой терапевтический агент.

Неограничивающие примеры противовоспалительных агентов и 10 иммуномодуляторов включают иммунодепрессанты (например, такролимус, циклоспорин, рапамицин, метотрексат, циклофосфамид, азатиоприн, меркаптопурин, микофенолат или FTY720), глюкокортикоиды (например, преднизон, кортизона ацетат, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, бетаметазон, триамцинолон, гидроксипреднизолон, беклометазон, 15 флудрокортизона ацетат, дезоксикортикостерона ацетат и альдостерон), нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (например, салицилаты, арилалкановые кислоты, 2-арилпропионовые кислоты, Nарилантраниловые кислоты, оксикамы, коксибы или тиобензанилид), специфические ингибиторы циклооксигеназы 2 (например, вальдекоксиб, 20 целекоксиб или рофекоксиб), лефлуномид, тиоглюкоза золота, тиомалат золота, моклобемид, сульфасалазин, гидроксихлорохин, миноциклин, белки, связывающие  $TNF-\alpha$  (например, инфликсимаб, этанерцепт или адалимумаб), абатацепт, анакинру, интерфероны, интерферон-Ү, интерлейкин-2, интерлейкин-6, интерлейкин-12/23, лекарственные средства на основе антител к интерлейкину-17, вакцины против 25 аллергии, антигистаминные препараты, антилейкотриены, β-агонисты, теофиллин или антихолинергические средства; ингибиторы киназ ЈАКЗ, включая все известные ингибиторы киназ ЈАКЗ, но не ограничиваясь ими, Тофактиниб; ингибиторы IRAK4, ингибиторы RIPK1 и т.д.

Нелимитирующие примеры химиотерапевтических агентов включают ингибиторы топоизомеразы I (например, иринотекан, топотекан, камптотецин и их аналоги или метаболиты и доксорубицин); ингибиторы топоизомеразы II (например, этопозид, тенипозид, митоксантрон, идарубицин и даунорубицин);

алкилирующие агенты (например, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, тиотепа, ифосфамид, кармустин, ломустин, семустин, стрептозоцин, декарбазин, метотрексат, митомицин С и циклофосфамид); Интеркаляторы ДНК (например, цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин); и генераторы свободных радикалов, такие как блеомицин; миметики нуклеозидов (например, 5-фторурацил, капецитабин, гемцитабин, флударабин, цитарабин, азацитидин, меркаптопурин, тиогуанин, пентостатин и гидроксимочевина); паклитаксел, доцетаксел и родственные аналоги; винкристин, винбластин и родственные аналоги; талидомид и родственные аналоги (например, СС-5013 и СС-4047).

Неограничивающие примеры ингибиторов или агонистов иммунных контрольных точек включают ингибиторы PD-1, например, анти-PD-1 антитела, такие как пембролизумаб и ниволумаб; ингибиторы PD-L1, например, анти-PD-L1 антитела, такие как атезолизумаб, дурвалумаб и авелумаб; ингибиторы CTLA-4, такие как ипилимумаб; и ингибиторы BTLA, ингибиторы LAG-3, ингибиторы TIM3, ингибиторы TIGIT, ингибиторы VISTA, агонисты ОX-40 и т.п.

Нацеленные терапевтические агенты включают различные низкомолекулярные или макромолекулярные нацеленные терапевтические агенты, и их неограничивающие примеры включают: ингибиторы протеин-тирозинкиназы (такие как иматиниба мезилат и гефитиниб); ингибиторы протеасом (такие как бортезомиб); ингибиторы NF-кВ, включая ингибиторы IкВ-киназы; ингибиторы PI3Kδ; ингибиторы SYK; ингибиторы Bcl2; антитела, которые связываются с белками, избыточно экспрессируемыми при раке, для подавления репликации клеток, такие как анти-CD20 антитело (такое как ритуксимаб, ибритумомаб тиуксетан и тозитумомаб), моноклональное анти-Her2 антитело (трастузумаб), анти-EGFR антитело (цетуксимаб) и анти-VEGFR (бевацизумаб); антиангиогенные пекарственные средства, такие как леналидомид; и другие белковые или ферментные ингибиторы, причем эти белки или ферменты, как известно, положительно регулируются, экспрессируются или могут быть активированы в ингибиторах, и могут подавлять репликацию клеток.

25

10

15

20

Приведенные ниже примеры предназначены для иллюстрации и не должны рассматриваться как ограничивающие каким-либо образом. Были предприняты усилия для обеспечения точности в отношении используемых чисел (например, количества, температура и т.д.), но специалистам в данной области техники 5 следует понимать, что некоторые экспериментальные ошибки и отклонения следует учитывать. Если не указано иное, части являются частями по массе, температура выражена градусах Цельсия, и давление равно или близко к атмосферному. Все данные масс-спектроскопии (MS) определяли с помощью Agilent 6120 или Agilent 1100. Все данные ЯМР были получены с использованием 10 аппарата Varian 400 MR. Все реагенты и исходные материалы, за исключением синтезированных промежуточных соединений, используемые в настоящем изобретении, являются коммерчески доступными. Положительный контроль GDC-0853 (фенбрутиниб) был приобретен у Shanghai Linkchem Medical Technology Co., Ltd.Все названия соединений, кроме реагентов были получены с помощью 15 Chemdraw 16.0.

Если в любой из структур, описанных в настоящем описании, присутствует какой-либо атом с пустой валентностью (ами), пустой остаток (ки) представляет собой атом (ы) водорода, который (ые) не указан (ы) для удобства.

В настоящей заявке в случае несоответствия названия и структуры соединения, когда оба из которых приведены для соединения, оно подчиняется структуре соединения, если из контекста не следует, что структура соединения является неправильной и название является правильным.

В следующих примерах применяют аббревиатуры:

20

$CD_3OD$	Дейтерированный метанол
ДХМ	Дихлорметан
DIEA	N, N-диизопропилэтил $a$ мин
ДМФА	$N, N$ -диметил $\phi$ ормамид
ДМСО	Диметилсульфоксид
ДМСО $-d_6$	Дейтерированный диметилсульфоксид
Γ	Грамм
HATU	2-(7-азабензотриазол)-N,N,N',N'-тетраметилурония
	гексафторфосфат
ГПМЦ	Гидроксипропилметилцеллюлоза
Л	Литр
M	Моль/литр
МΓ	Миллиграмм
ΜЛ	Миллилитр

ммоль Миллимоль

моль Моль

NBS N-бромсукцинимид

Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> Трис(дибензилиденацетон)дипалладий

Pd(dppf)Cl Комплекс [1,1'-

<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладийдихлорид дихлормета

Н

Xphos 2-дициклогексилфосфин-2',4',6'-триизопропилбифенил

Xant-phos 4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен

#### Пример 1 Синтез соединений

#### Промежуточное соединение I-1

3-((5-((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-

ил)амино)-1-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-

#### 2(1H)-он

### Стадия 1: трет-бутил- (3S,5S)-3,5-диметил-4-(6-нитропиридин-3-ил)пиперазин-1-

#### 10 карбоксилат

5

В атмосфере азота к раствору 5-фтор-2-нитропиридина (4,5 г, 31,7 ммоль) и трет-бутил- (3S,5S)-3,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (5,0 г, 23,3 ммоль) в ДМСО (40 мл) добавляли DIEA (40 мл). Смесь подвергали взаимодействию при 120°С в течение 24 часов, и затем ее охлаждали до комнатной температуры,

15 концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (дихлорметан/этилацетат) с получением целевого продукта (6,0 г, выход 77%). [M+H]<sup>+</sup> 337,1

# Стадия 2: трет-бутил (3S,5S)-4-(6-аминопиридин-3-ил)-3,5-диметилпиперазин-1-карбоксилат

При комнатной температуре в смесь трет-бутил- (3S,5S)-3,5-диметил-4-(6-нитропиридин-3-ил)пиперазин-1-карбоксилата (4,5 г, 13,4 ммоль) и 10% палладий-углерода (с 50% воды, 3,0 г) в метаноле (100 мл) вводили водород, и смесь подвергали взаимодействию при 40 ° С в течение 3 часов. Реакционный раствор фильтровали, и фильтрат собирали и концентрировали в вакууме при пониженном давлении с получением целевого продукта (3,9 г, выход 95%), который непосредственно использовали на следующей стадии. [М+H]+ 307,2

10

25

30

5

# Стадия 3: трет-бутил- (3S,5S)-4-(6-((5-бром-1-метил-2-оксо-1,2дигидропиридин-3-ил)амино)пиридин-3-ил)-3,5-диметилпиперазин-1карбоксилат

В атмосфере азота к раствору трет-бутил (3S,5S)-4-(6-аминопиридин-3-ил)-3,5диметилпиперазин-1-карбоксилата (3,0 г, 9,8 ммоль) и 3,5-дибром-1метилпиридин-2(1*H*)-она (2,0 г, 7,5 ммоль) в 1,4-диоксане (100 мл) добавляли Хаптphos (433 мг, 0,75 ммоль), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (343 мг, 0,375 ммоль) и карбонат цезия (4,9 г,
15,0 ммоль). Смесь подвергали взаимодействию при 90°С в течение 12 часов, и
затем ее охлаждали до комнатной температуры, и фильтровали; фильтрат собирали
и концентрировали; и полученный остаток очищали колоночной хроматографией
на силикагеле (метанол/дихлорметан) с получением целевого продукта (3,0 г,
выход 81%). [М+Н]+ 492,1, 494,1

# Стадия 4: 5-бром-3-((5-((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-1-метилпиридин-2(1H)-он

К раствору трет-бутил (3S,5S)-4-(6-((5-бром-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)амино)пиридин-3-ил)-3,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (3,0 г, 6,1 ммоль) в метаноле (15 мл) добавляли концентрированную хлористоводородную кислоту (8 мл), и смесь перемешивали при  $50^{\circ}$ С в течение 30 минут.

Реакционный раствор концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и к раствору полученного остатка в метаноле (30 мл) добавляли

суспензию хлорида цинка (2,5 г, 18,3 ммоль) и цианоборогидрида натрия (2,3 г, 36,6 ммоль) в метаноле (50 мл). Реакционную смесь перемешивали при 50°С в течение 4 часов, и концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (метанол/вода) с получением целевого продукта (2,0 г, выход 73%). [М+H]+ 448,1, 450,1

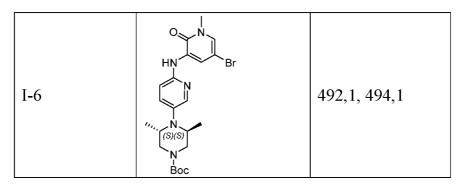
# Стадия 5: 3-((5-((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-1-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2(1H)-он

10

В атмосфере азота к раствору 5-бром-3-((5- ((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-1-метилпиридин-2(1*H*)-она (1,2 г, 2,68 ммоль) и бис(пинаколато)дибора (1,7 г, 6,7 ммоль) в 1,4-диоксане (60 мл) добавляли Xphos (128 мг, 0,27 ммоль), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (247 мг, 0,27 ммоль) и ацетат калия (784 мг, 8,0 ммоль). Смесь подвергали взаимодействию при 65°С в течение 6 часов, и затем ее охлаждали до комнатной температуры, и фильтровали; фильтрат собирали и концентрировали под вакуумом при пониженном давлении; и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (метанол/дихлорметан) с получением целевого соединения (650 мг, чистота 50%, выход 24%). [М+H]<sup>+</sup> 496,3

Промежуточные соединения в таблице ниже были получены с помощью следующих стадий получения промежуточного соединения I-1 из соответствующих исходных материалов и реагентов:

Промежуточ ные соединения	Структурная формула	<b>ЖХ-МС</b> [М+Н] <sup>+</sup>	
I-2	B-O B-O N Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z	496,3	



#### Промежуточное соединение I-3

# 4-хлор-2-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2H-

#### циклопента[4,5]пирроло[1,2-а]пиразин-2-ил)никотинальдегид

Стадия 1: этил 1-(2,2-диэтоксиэтил)-5,5-диметил-1,4,5,6тетрагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоксилат

5

10

15

К раствору этил-5,5-диметил-1,4,5,6-тетрагидроциклопента [b] пиррол-2-карбоксилата (20,0 г, 96 ммоль) в ДМФА (120 мл) добавляли карбонат цезия (80,0 г, 245 ммоль) и бромацетальдегид диэтилацеталь (40,0 г, 203 ммоль), и смесь подвергали взаимодействию при  $100^{\circ}$ С в течение 16 часов. К реакционному раствору добавляли воду (200 мл), и смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл х 2). Органическую фазу собирали и объединяли, и концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат) с получением целевого продукта (31,0 г, выход 100%).  $[M+Na]^+$  324,1

Стадия 2: 1-(2,2-диэтоксиэтил)-5,5-диметил-1,4,5,6тетрагидроциклопента[*b*]пиррол-2-карбоновая кислота

К раствору этил-1-(2,2-диэтоксиэтил)-5,5-диметил-1,4,5,6тетрагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоксилата (31,0 г, 96 ммоль) в этаноле (150 мл) добавляли воду (150 мл) и моногидрат гидроксида лития (14,2 г, 338 ммоль), и смесь подвергали взаимодействию при 80°C в течение 12 часов. Этанол удаляли в вакууме при пониженном давлении, и рН доводили до 5-6 концентрированной соляной кислотой при охлаждении в ледяной бане. Добавляли воду (200 мл), и смесь экстрагировали этилацетатом (200 мл х 3). Органическую фазу собирали и объединяли, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали, и фильтрат концентрировали с получением целевого продукта (26,7 г, выход 94%). [М-Н] 10 294,1

## Стадия 3: 1-(2,2-диэтоксиэтил)-5,5-диметил-1,4,5,6тетрагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоксамид

5

15

20

25

30

При  $0^{\circ}$ C- $5^{\circ}$ C, в атмосфере азота, к раствору 1-(2,2-диэтоксиэтил)-5,5-диметил-1,4,5,6-тетрагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоновой кислоты (26,7 г, 90,5 ммоль) в ДМФА (150 мл) добавляли триэтиламин (25 мл, 181 ммоль), а затем НАТИ (51,6 г, 136 ммоль). После реакции при комнатной температуре в течение 1 часа реакционный раствор выливали в концентрированный водный раствор аммиака (800 мл), перемешивали в течение 10 минут и экстрагировали дихлорметаном (300 мл х 2). Органическую фазу собирали, объединяли и концентрировали с получением целевого продукта (26,6 г, выход 100%), который непосредственно использовали на следующей стадии.

# Стадия 4: 7,7-диметил-7,8-дигидро-2H-циклопента[4,5]пирроло[1,2-a]пиразин-1(6H)-он

1-(2,2-диэтоксиэтил)-5,5-диметил-1,4,5,6-тетрагидроциклопента[b]пиррол-2карбоксамид (26,6 г, 90,5 ммоль) растворяли в уксусной кислоте (100 мл). Смесь подвергали взаимодействию при 100 °C в течение 4 часов (уксусную кислоту удаляли в вакууме при пониженном давлении, и значение рН доводили до 8-9 водным раствором аммиака); добавляли воду (200 мл), и смесь экстрагировали дихлорметаном (200 мл х 3). Органическую фазу собирали и объединяли, и концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (дихлорметан/метанол) с получением целевого продукта (18,3 г, выход 100%). [M+H]<sup>+</sup> 203,1. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>)  $\delta$  10,21 (s, 1H), 6,98 (d, J = 5,6 Гц, 1H), 6,58 (s, 1H), 6,48 (t, J = 5,6 Гц, 1H), 2,62-2,60 (m, 2H), 2,47- 2,46 (m, 2H), 1,19- 1,17 (m, 6H).

5

10

15

# Стадия 5: 4-хлор-2-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2H- циклопента[4,5]пирроло[1,2-a]пиразин-2-ил)никотинальдегид

В атмосфере азота к раствору 7,7-диметил-7,8-дигидро-2H- циклопента[4,5]пирроло[1,2-a]пиразин-1(6H)-она (14,2 г, 70,2 ммоль) и 2-бром-4-хлорникотинальдегида (30,9 г, 141 ммоль) в 1,4-диоксане (500 мл) добавляли йодид меди (13,6 г, 70,2 ммоль), 4,7-диметокси-1,10-фенантролин (1,18 г, 49,2 ммоль) и карбонат цезия (68,6 г, 211 ммоль). Смесь подвергали взаимодействию при 80°C в течение 16 часов, и затем ее охлаждали до комнатной температуры, и фильтровали; фильтрат собирали, и концентрировали под вакуумом при пониженном давлении; и полученный остаток перекристаллизовывали этанолом с получением целевого продукта (13,8 г, выход 58%). [М+H]+ 342,1.  $^{1}$ H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  10,21 (s, 1H), 8,53-8,43 (m, 1H), 7,40-7,31 (m, 1H), 7,10-7,02 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,89-6,81 (m, 1H), 2,68-2,54 (m, 4H), 1,27 (s, 6H).

20

# Промежуточное соединение I-4 4-хлор-2-(10-фтор-1-оксо-6,7,8,9-тетрагидропиразино[1,2-a]индол-2(1H)-

### ил)никотинальдегид

В смесь этил-3-фтор-1*H*-индол-2-карбоксилата (10,5 г, 13,4 ммоль) и диоксида платины (1,57 г, 6,9 ммоль) в уксусной кислоте (210 мл) вводили водород, и смесь подвергали взаимодействию при комнатной температуре в течение 8 часов. Реакционный раствор фильтровали, и фильтрат собирали и доводили до рН 8 концентрированным водным раствором аммиака. Фильтрат затем экстрагировали этилацетатом и концентрировали в вакууме при пониженном давлении, в результате чего получали этил-3-фтор-4,5,6,7-тетрагидро-1*H*-индол-2-карбоксилат

 $(10,5\ \Gamma,$  выход 98%), который непосредственно использовали на следующей стадии.  $[M+H]^+\ 212,0$ 

Промежуточное соединение целевого продукта I-4 было получено с помощью следующих стадий 1-5 для получения промежуточного соединения I-3 из этил-3- фтор-4,5,6,7-тетрагидро-1H-индол-2-карбоксилата и соответствующих исходных материалов и реагентов. [M+H] $^+$  346,1

#### Промежуточное соединение I-5

(3-(ацетоксиметил)-2-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2*H*- циклопента [4,5] пирроло [1,2-*d*] [1,2,4] триазин-2-ил) пиридин-4-ил) бороновая

#### кислота

# Стадия 1: 5,5-диметил-1,4,5,6-тетрагидроциклопента[b]пиррол-2-

#### 15 карбогидразид

20

5

10

К раствору этил-5,5-диметил-1,4,5,6-тетрагидроциклопента [*b*]пиррол-2-карбоксилата (6,50 г, 31,4 ммоль) в этаноле (15 мл) добавляли водный раствор гидразингидрата (45 мл, 36,0 ммоль), и полученную смесь подвергали реакции в микроволновом реакторе при 150°С в течение 2 часов. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и фильтровали, и остаток на фильтре промывали водой, собирали и сушили в вакууме с получением целевого продукта (5,60 г, выход 92%), который сразу применяли на следующей стадии. [M+H]+ 194,1

# Стадия 2: 7,7-диметил-7,8-дигидро-2H-циклопента[4,5]пирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-1(6H)-он

В атмосфере азота к раствору 5,5-диметил-1,4,5,6-тетрагидроциклопента[*b*]пиррол-2-карбогидразида (5,60 г, 29,0 ммоль) в ДМФА (16 мл) добавляли триэтил ортоформиат (3,11 г, 21,0 ммоль), и смесь подвергали взаимодействию при 160°С в течение 16 часов. Реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и фильтровали, и остаток на фильтре промывали небольшим количеством метанола, собирали и сушили в вакууме с получением целевого продукта (3,25 г, выход 55%), который непосредственно использовали на следующей стадии. [М+H]+ 204,1

## Стадия 3: 4-хлор-2-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2Hциклопента[4,5]пирроло[1,2-*d*][1,2,4]триазин-2-ил)никотинальдегид

В атмосфере азота к раствору 7,7-диметил-7,8-дигидро-2 *Н*циклопента[4,5]пирроло[1,2-*d*][1,2,4]триазин-1(6*H*)-она (3,25 г, 16,0 ммоль) и 2бром-4-хлорникотинальдегида в 1,4-диоксане (60 мл) добавляли йодид меди (1,52 г,
8,0 ммоль), 4,7-диметокси-1,10-фенантролин (1,35 г, 5,6 ммоль) и карбонат цезия
(10,4 г, 32,0 ммоль). Смесь подвергали взаимодействию при 80°С в течение 4 часов,
и затем охлаждали до комнатной температуры. Реакционный раствор
концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток
очищали колоночной хроматографией на силикагеле с получением целевого
продукта (3,43 г, выход 63%). [М+Н]<sup>+</sup> 343,1

# Стадия 4: 2-(4-хлор-3-(гидроксиметил)пиридин-2-ил)-7,7-диметил-7,8-дигидро-2H-циклопента[4,5]пирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-1(6H)-он

25

30

При  $0^{\circ}$ С- $5^{\circ}$ С, в атмосфере азота, к раствору 4-хлор-2-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2H-циклопента[4,5] пирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-2-ил)никотинальдегида (3,43 г, 10,0 ммоль) в метаноле (10 мл) и дихлорметане (30 мл) добавляли боргидрид натрия (0,19 г, 5,0 ммоль), и смесь подвергали взаимодействию при этой температуре в течение 10 минут. К реакционному раствору добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония (10 мл), и смесь экстрагировали дихлорметаном (80 мл х 2). Органическую фазу собирали,

объединяли и концентрировали в вакууме при пониженном давлении с получением целевого продукта (3,33 г, выход 97%), который непосредственно использовали на следующей стадии. [M+H]<sup>+</sup> 345,1

5 Стадия 5: (4-хлор-2-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2H- циклопента[4,5]пирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-2-ил)пиридин-3-ил)метил ацетат

При 0°С-5°С, в атмосфере азота, к раствору 2-(4-хлор-3-(гидроксиметил)пиридин-2-ил)-7,7-диметил-7,8-дигидро-2*H*-циклопента[4,5]пирроло[1,2-*d*][1,2,4]триазин-1(6*H*)-она (3,33 г, 9,7 ммоль) и триэтиламина (3,91 г, 38,6 ммоль) в дихлорметане (60 мл) добавляли ацетилхлорид (11,4 г, 145 ммоль), и смесь подвергали взаимодействию при этой температуре в течение 1 часа. Воду (30 мл) и дихлорметан (80 мл) добавляли в реакционный раствор, органическую фазу собирали и объединяли, и концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат) с получением целевого продукта (2,84 г, выход 76%). [М+Н]<sup>+</sup> 387,1

10

15

20

Стадия 6: (3-(ацетоксиметил)-2-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2H- циклопента[4,5]пирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-2-ил)пиридин-4-ил)бороновая кислота

В атмосфере азота к раствору (4-хлор-2-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2*H*-циклопента[4,5]пирроло[1,2-*d*][1,2,4]триазин-2-ил)пиридин-3-ил)метил ацетата (2,84 г, 7,3 ммоль) и бис(пинаколато)дибора (5,59 г, 22,0 ммоль) в 1,4-диоксане (200 мл) добавляли Хрhos (0,35 г, 0,73 ммоль), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,60 г, 0,73 ммоль) и ацетат калия (2,16 г, 22,0 ммоль). Смесь подвергали взаимодействию при 100°С в течение 16 часов, и затем охлаждали до комнатной температуры. Реакционный раствор концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат) с получением целевого продукта (2,55 г, выход 88%). [М+Н]<sup>+</sup> 397,1

Промежуточные соединения в таблице ниже были получены с помощью стадий 4-6 получения промежуточного соединения I-5 из промежуточного соединения I-3 и соответствующих исходных материалов и реагентов:

Промежуточн ые соединения	Структурная формула	ЖХ-МС [М+Н]+
I-7	OH OAG N	396,1

#### Соединение 1

5

10

15

2-(5-((5-((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-3'-(гидроксиметил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-[3,4'-бипиридин]-2'-ил)-7,7-диметил-7,8-дигидро-2H-циклопента[4,5]пирроло[1,2-a]пиразин-1(6H)-

ОН

Стадия 1: 2'-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-тетрагидро-2H- циклопента[4,5]пирроло[1,2-a]пиразин-2-ил)-5-((5-((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-[3,4'-бипиридин]-3'-карбальдегид

В атмосфере азота к раствору промежуточного соединения I-1 (99 мг, 0,20 ммоль) и промежуточного соединения I-3 (68 мг, 0,20 ммоль) в 1,4-диоксане (3 мл) и воде (0,2 мл) добавляли Xphos (9 мг, 0,02 ммоль), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (16 мг, 0,02 ммоль) и карбонат цезия (130 мг, 0,40 ммоль). Смесь подвергали взаимодействию при 90°С в течение 2 часов, и затем охлаждали до комнатной температуры. Реакционный раствор фильтровали, и фильтрат собирали и концентрировали в вакууме при пониженном давлении с получением целевого продукта, который непосредственно использовали на следующей стадии. [М+H]<sup>+</sup> 675,3

10 Стадия 2: 2-(5-((5-((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-3'-(гидроксиметил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-[3,4'-бипиридин]-2'-ил)-7,7-диметил-7,8-дигидро-2*H*-циклопента[4,5]пирроло[1,2-*a*]пиразин-1(6*H*)-он

При  $0^{\circ}$ C- $5^{\circ}$ C, в атмосфере азота, к раствору 2'-(7,7-диметил-1-оксо-1,6,7,8-15 тетрагидро-2H-циклопента[4,5] пирроло[1,2-a]пиразин-2-ил)-5-((5-((2S,6S)-2,6диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-1-метил-6-оксо-1,6дигидро-[3,4'-бипиридин]-3'-карбальдегида, полученного на стадии 1, в метаноле (0,5 мл) и дихлорметане (5 мл) добавляли боргидрид натрия (7 мг, 0,20 ммоль), и смесь подвергали взаимодействию при комнатной температуре в течение 5 минут. 20 В реакционный раствор добавляли воду (0,5 мл), и концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (метанол/вода) и тонкослойной хроматографией (метанол/дихлорметан = 1/20) с получением целевого продукта (74 мг, выход 55%).  $[M+H]^+$  677,4.  $^1H$   $^1H$  7,95-7,91 (m, 1H), 7,60-7,57 (m, 1H), 7,54-7,51 (m, 1H), 7,40-7,36 (m, 1H), 7,23-7,19 25 (m, 1H), 7,03-7,00 (m, 1H), 6,95-6,90 (m, 1H), 6,80-6,75 (m, 1H), 4,70-4,65 (m, 2H), 4,64-4,57 (m, 2H), 4,56-4,52 (m, 1H), 4,50-4,45 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,54-3,46 (m, 2H), 3,46-3,39 (m, 1H), 2,78-2,68 (m, 2H), 2,65-2,58 (m, 2H), 2,57-2,52 (m, 2H), 2,22-2,13 (m, 2H), 1,30-1,26 (m, 6H), 0,98-0,94 (m, 6H).

Соединения в приведенной ниже таблице получали с помощью следующих стадий для получения соединения 1 из соответствующих промежуточных соединений и реагентов:

30

Соеди	Структурная формула	ЖХ- МС [M+H] <sup>+</sup>	¹ <b>Н ЯМР</b>	Проме жуточ ные соедин ения
2		677,4	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD) δ 8,83-8,75 (m, 1H), 8,58-8,53 (m, 1H), 8,03-7,94 (m, 1H), 7,63-7,58 (m, 1H), 7,58-7,52 (m, 2H), 7,26-7,19 (m, 1H), 7,11-7,04 (m, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,82-6,76 (m, 1H), 4,73-4,68 (m, 2H), 4,65-4,58 (m, 3H), 4,52-4,45 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,54-3,46 (m, 1H), 3,16-3,07 (m, 2H), 2,83-2,77 (m, 2H), 2,77-2,69 (m, 2H), 2,66-2,57 (m, 2H), 1,94-1,71 (m, 2H), 1,30-1,27 (m, 6H), 0,79-0,71 (m, 6H).	I-2 I-3
3	OH Z Z Z Z	681,3	<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CD <sub>3</sub> OD) δ 8,72-8,70 (m, 1H), 8,55-8,52 (m, 1H), 7,93 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 7,58 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 7,53-7,51 (m, 1H), 7,41-7,37 (m, 1H), 7,15 (d, J = 6,0 Γц, 1H), 7,02 (d, J = 8,8 Γц, 1H), 6,70 (d, J = 6,0 Γц, 1H), 4,72-4,50 (m, 6H), 3,70 (s, 3H), 3,55-3,39 (m, 3H), 2,75-2,71 (m, 2H), 2,65-2,49 (m, 4H), 2,20-2,16 (m, 2H), 1,97-1,78 (m, 4H), 0,99-0,95 (m, 6H).	I-1 I-4

#### Соединение 4

2-(5-((5-((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-3'-(гидроксиметил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-[3,4'-бипиридин]-2'-ил)-7,7-диметил-7,8-дигидро-2H-циклопента[4,5]пирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-1(6H)-он

В атмосфере азота к раствору 5-бром-3-((5-((2S,6S)-2,6-диметил-4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-1-метилпиридин-2(1*H*)-она (148 мг, 0,33 ммоль) (т.е. продукта стадии 4 способа получения промежуточного соединения I-1) и промежуточного соединения I-5 (130 мг, 0,33 ммоль) в 1,4-диоксане (5,0 мл) и воде (0,5 мл) добавляли Xphos (31 мг, 0,066 ммоль), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (27 мг, 0,033 ммоль) и тригидрат фосфата калия (264 мг, 0,99 ммоль). Смесь подвергали взаимодействию при 100°С в течение 4 часов, и затем охлаждали до комнатной температуры. Реакционный раствор концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (метанол/вода).

5

10

15

20

25

Полученное твердое вещество ([M+H] $^+$  720,3) растворяли в метаноле (3 мл), и добавляли карбонат калия (137 мг, 0,99 ммоль); и смесь подвергали взаимодействию при комнатной температуре в течение 2 часов. Реакционный концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (метанол/вода) и тонкослойной хроматографией (метанол/дихлорметан = 1/20) с получением целевого продукта (30 мг, выход 13%). [M+H] $^+$  678,3.  $^1$ H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8,72-8,86 (m, 1H), 8,58-8,52 (m, 1H), 8,43-8,38 (m, 1H), 7,97-7,92 (m, 1H), 7,63-7,58 (m, 1H), 7,53-7,48 (m, 1H), 7,42-7,36 (m, 1H), 7,08-6,99 (m, 2H), 4,70-4,52 (m, 6H), 3,70 (s, 3H), 3,55-3,41 (m, 3H), 2,87-280 (m, 2H), 2,67-2,61 (m, 2H), 2,60-2,51 (m, 2H), 2,24-2,12 (m, 2H), 1,32-1,29 (m, 6H), 1,00-0,94 (m, 6H).

Соединения в приведенной ниже таблице получали с помощью следующих стадий для получения соединения 4 из соответствующих промежуточных соединений и реагентов:

Соеди	Структурная формула	ЖХ-МС	Проме
-------	---------------------	-------	-------

нения		[M+H] <sup>+</sup>	жуточ ные соедин ения
5a	OH N	721,2	I-6 I-7

#### Соединение 5

2-(5-((5-((2S,6S)-2,6-диметилпиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-3'- (гидроксиметил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-[3,4'-бипиридин]-2'-ил)-7,7- диметил-7,8-дигидро-2H-циклопента[4,5]пирроло[1,2-a]пиразин-1(6H)-он

Соединение 5а (500 мг, 0,69 ммоль) растворяли в трифторуксусной кислоте (5 мл), и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Смесь концентрировали под вакуумом при пониженном давлении, и 10 полученный остаток растворяли в метаноле (5 мл), и добавляли триэтиламин (1 мл). Смесь снова концентрировали под вакуумом при пониженном давлении. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (метанол/вода) с получением целевого продукта (340 мг, выход 79%). [М+H]<sup>+</sup> 621,4. 

1 н ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,78 (s, 1H), 8,60-8,51 (m, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,61-7,56 (m, 1H), 7,56-7,51 (m, 1H), 7,48-7,38 (m, 1H), 7,27-7,18 (m, 1H), 7,09-7,01 (m, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,81-6,75 (m, 1H), 4,64-4,58 (m, 1H), 4,53-4,46 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,69-3,61 (m, 2H), 3,44-3,37 (m, 2H), 3,11-3,02 (m, 2H), 2,79-2,68 (m, 2H), 2,66-2,56 (m, 2H), 1,30-1,26 (m, 6H), 1,09-0,99 (m, 6H).

5

2-(3'-(гидроксиметил)-1-метил-6-оксо-5-((5-((2S,6S)-2,4,6-триметилпиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-1,6-дигидро-[3,4'-бипиридин]-2'-ил)-7,7-диметил-7,8-дигидро-2*H*-циклопента[4,5]пирроло[1,2-*a*]пиразин-1(6*H*)-он

5 К раствору соединения 5 (200 мг, 0,32 ммоль) в метаноле (5 мл) добавляли водный раствор формальдегида (1,2 мл), и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 минут. Добавляли боргидрид натрия (38 мг, 1,0 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Реакционный раствор очищали колоночной хроматографией на силикагеле (метанол/вода) с получением целевого продукта (78 мг, выход 38%). [М+Н]<sup>+</sup> 635,3. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,74-8,69 (m, 1H), 8,58-8,51 (m, 1H), 7,97-7,90 (m, 1H), 7,62-7,56 (m, 1H), 7,55-7,50 (m, 1H), 7,41-7,34 (m, 1H), 7,25-7,19 (m, 1H), 7,05-6,99 (m, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,81-6,75 (m, 1H), 4,62-4,58 (m, 1H), 4,51-4,46 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,53-3,46 (m, 2H), 2,78-2,69 (m, 2H), 2,69-2,58 (m, 4H), 2,36-2,18 (m, 5H), 1,29-15 1,27 (m, 6H), 0,98-0,90 (m, 6H).

#### Пример 2 Определение биохимической ВТК

#### 1. Реагенты и материалы

25

Рекомбинантный белок BTK: Invitrogen, кат. № PV3363;

20 Набор для тестирования киназы Z'-LYTE® kinase test kit-tyrosine 1 peptide: Invitrogen, кат. № PV3190;

384-луночный низкофланцевый черный плоскодонный полистирольный планшет NBS, без крышки, без стерилизации: Corning, кат. № 3575;

96-луночный планшет MicroWell<sup>™</sup> с коническим дном из полистирола, запечатанный крышкой: Thermo Scientific<sup>™</sup> Nunc<sup>™</sup>, кат. № 277143;

Envision многорежимный планшетный считыватель: PerkinElmer; Шейкер Mixmate®: Eppendorf;

Инкубатор встряхивающий TC-2102: TENSUC;

#### 2. Способы

5

10

15

20

25

В биохимическом анализе Z'-LYTE® используется формат связанных ферментов на основе флуоресцентного резонансного переноса энергии (FRET) и основан на дифференциальной чувствительности фосфорилированных и нефосфорилированных пептидов к протеолитическому расщеплению. Оба конца короткого пептидного субстрата мечены двумя флуоресцентными группами с образованием спаренной комбинации FRET. В первичной реакции (киназная реакция) киназа переносит у-фосфат АТФ на один остаток серина или треонина на субстрате короткого пептида. В вторичной реакции (реакции проявления) распознавали нефосфорилированные короткие пептиды, и расщепляли сайтспецифической протеазой (проявляющим реагентом). Фосфорилированные короткие пептиды могут быть устойчивыми к такому расщеплению. Расщепление коротких пептидов может разрушить донора (такого как кумарин) и рецепторные флуорофоры (флуоресцеин) на коротких пептидах, в то время как фосфорилированные короткие пептиды могут поддерживать FRET. Способ расчета соотношения представляет собой, как приведено далее, и рассчитывают соотношение соответствующих сигналов испускания, генерируемых испускающими донорными флуорофорами, (после возбуждения при 400 нм) к рецепторам. Соотношение излучаемого сигнала = свет, излучаемый кумарином (445 нм)/свет, излучаемый флуоресцеином (520 нм). Если короткий пептид FRET фосфорилирован (например, при отсутствии ингибитора киназы), соотношение испускаемого света останется на более низком уровне. Если короткий пептид FRET не фосфорилирован (например, ингибитор киназы), коэффициент испускаемого света будет на более высоком уровне. Таким образом, можно было бы различать ингибирующие эффекты различных ингибиторов соединения на активность киназы BTK.

Эксперимент проводили в соответствии с инструкциями набора для тестирования киназы Z'-LYTE® kinase test kit-tyrosine 1 peptide. Приготовление реагентов: 1,33 × киназный буфер: 5 × киназный буфер разбавляли водой до 1,33 × киназного буфера; раствор фермента: киназу растворяли в 1,33 × киназном буфере

с конечной рабочей концентрацией 3,32 нМ; раствор короткого пептида: маточный раствор короткого пептида (1 мМ, растворенный в ДМСО) растворяли в 1,33 × киназном буфере с конечной рабочей концентрацией 2 мкМ; Z'-LYTE Tyr01 раствор фосфорилированного короткого пептида , 0,6 мкл маточного раствора (1 мМ, растворенный в ДМСО) растворяли в 149,4 мкл 1,33 × киназного буфера; раствор АТФ: исходный раствор АТФ (10 мМ водный раствор) растворяли в 1,33 × киназном буфере с конечной рабочей концентрацией 32 мкМ; раствор для проявления цвета: раствор для проявления цвета В растворяли в буфере для проявления цвета с конечной рабочей концентрацией 1 × раствор для проявления цвета; 4 × препарат соединения: соединение разбавляли в 3-х кратной градиентной концентрации с получением, наконец, 4% водного раствора ДМСО, содержащего различные концентрации соединения, с конечной рабочей концентрацией 3000, 1000, 333,33, 111,11, 37,04, 12,35, 4,12, 1,37 нМ, всего 8 точек концентрации.

Конкретные стадии эксперимента: В эксперименте присутствовали три 15 контрольные группы, каждая из которых имела 8 повторных лунок, которые представляли собой С1 100% группу ингибирования (без АТФ), С2 0% группу ингибирования (с АТФ) и СЗ 100% группу фосфорилирования, соответственно. 2,5 мкл серийно разбавленного соединения добавляли в каждую лунку 384-луночного планшета с двумя повторными лунками, и 4% раствор ДМСО добавляли в лунки С1, С2 и С3. После этого, за исключением лунок С3, в каждую оставшуюся лунку 20 добавляли 2,5 мкл раствора фермента ВТК, который оставляли стоять при 4 °С в течение 30 мин. После этого, за исключением лунок С3, в каждую лунку добавляли по 2,5 мкл раствора короткого пептида и по 5 мкл раствора фосфорилированного короткого пептида в каждую из лунок С3. В каждую из лунок С1 и С3 добавляли 25 по 2,5 мкл 1,33× киназного буфера, а в каждую из оставшихся лунок - по 2,5 мкл раствора АТФ. Лунки временно центрифугировали, и планшет встряхивали при 1000 об/мин в течение 30 секунд для выполнения временного центрифугирования. 384-луночный планшет помещали в встряхивающий инкубатор, защищенный от света, и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. После 30 завершения ферментативной реакции в каждую лунку добавляли по 5 мкл проявляющего раствора, который временно центрифугировали, и планшет встряхивали при 1000 об/мин в течение 30 секунд для выполнения временного

центрифугирования. 384-луночный планшет помещали в встряхивающий инкубатор, защищенный от света, и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа до завершения реакции проявления цвета.

#### 5 3. Обнаружение

После завершения реакции проявления 384-луночный планшет извлекали для выполнения считывания планшета с помощью многорежимного планшетного считывателя Envision, и оптический сигнал обнаруживали при длине волны испускания 405 нм и длине волны возбуждения 460 нм/535 нм. Значение считывания при 460 нм/535 нм каждой лунки использовали в качестве значения сигнала каждой лунки.

#### 4. Расчеты

10

15

20

25

30

Среднее значение сигнала C3 рассматривали как 100% фосфорилирование, среднее значение сигнала C1 рассматривали как 0% фосфорилирование, и среднее значение сигнала C2 использовали для расчета коэффициента фосфорилирования коротких пептидов в присутствии киназы ВТК. В соответствии со значением сигнала в каждой лунке рассчитывали коэффициент ингибирования (%) каждой концентрации соединений и использовали модель 205 в программном обеспечении XL-Fit 5.3 (ID Business Solutions Limited) для получения значения IC<sub>50</sub>.

#### Коэффициент фосфорилирования рассчитывали следующим образом:

Коэффициент фосфорилирования (%) =  $100-100 \times$  [(коэффициент сигнала испускания  $\times$   $F_{100\%}$ )- $C_{100\%}$ ]/{( $C_{0\%}$ - $C_{100\%}$ ) + [коэффициент сигнала испускания  $\times$  ( $F_{100\%}$ - $F_{0\%}$ )]}

где отношение сигналов испускания = сигнал испускания кумарина (460 нм)/сигнал испускания флуоресцеина (535 нм);  $C_{100\%}$  = среднее значение сигнала испускания кумарина в C3;  $C_{0\%}$  = среднее значение сигнала испускания кумарина в C1;  $F_{100\%}$  = среднее значение сигнала испускания флуоресцеина в C3;  $F_{0\%}$  = среднее значение сигнала испускания флуоресцеина в C1.

#### Коэффициент ингибирования рассчитывали следующим образом:

Соотношение ингибирования (%) = 100 × (соотношение фосфорилирования в С2 - соотношение фосфорилирования в тестируемой лунке)/соотношение фосфорилирования в С2

#### 5 5. Результаты испытаний

№ соединения	IC <sub>50</sub> (мкМ)
1	0,010
2	0,007
3	0,003
4	0,005
5	0,008
6	0,007

Пример 3:

#### Определение фосфорилированной BTK в клетках Ramos

#### 1. Реагенты и материалы

10 Клетки Ramos: Клетки Ramos приобретали в банке клеток American Standard Biological Collection Center ATCC Cell Bank, применяли среду PRMI 1640, содержащую L-глутамин, 1,5 г/л бикарбоната натрия, 2,383 г/л раствора HEPES, 0,11 г/л пирувата натрия и 4,5 г/л глюкозы, добавляли 10% FBS фетальной бычьей сыворотки, и помещали в 5% CO<sub>2</sub>, 37°C клеточный инкубатор для нормальной 15

Среда PRMI 1640: GIBCO, кат. № A10491-01;

Фетальная бычья сыворотка (FBS): GIBCO, кат. № 100100-147;

Сбалансированный солевой раствор Хэнка (HBSS): GIBCO, кат. № 14025-092;

Иммуноглобулин M (IgM): Jackson Immuno, кат. № 109-006-129;

20 3% перекись водорода (3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>): Sigma, кат. № 88597-100ML-F;

Набор для обнаружения фосфорилированной BTK HTRF (набор BTK фосфо-Y223 HTRF): Cisbio, кат. № 63ADK017PEH;

Микролуночный планшетный считыватель: Envision, Perkin Elmer;

384-луночный планшет CulturPlateTM384: Perkin Elmer, кат. № 6007680

25 96-луночный планшет: Corning, кат. № 3799.

#### Способы 2.

культуры;

Клетки Ramos подвергали голоданию в среде PRMI 1640 с 1% FBS в течение 2 часов. Клетки Ramos после голодания разбавляли сбалансированным солевым раствором Хэнка до 5,0 х 106 клеток/мл, высевали в 96-луночный планшет по 20 мкл на лунку  $(1.0 \times 10^5 \text{ клеток на лунку})$ , и культивировали в клеточном инкубаторе с 5% CO<sub>2</sub> при 37°C. После культивирования в течение 1 часа, испытуемое соединение разбавляли сбалансированным солевым раствором Хэнка в 4-х кратном градиенте до соответствующих концентраций, и затем 5 мкл/лунку разбавленного испытуемого соединения с различными концентрациями (конечные концентрации испытуемого соединения составляли 3,0, 0,75, 0,188, 0,047, 0,012, 0,0029, 0,0007 и 0,00018 мкМ, и конечная концентрация ДМСО составляла 0,3%, две повторных лунки) или 5 мкл/лунку контрольного раствора (1,5% ДМСО, 8 повторных лунок) добавляли к 20 мкл/лунку системы культивирования клеток, которые инкубировали вместе в течение еще одного часа, затем 5 мкл/лунку смешанного раствора человеческого иммуноглобулина М (конечная концентрация составляла 10 мкг/мл) и пероксида водорода (конечная концентрация составляла 3,3 мМ), разбавленного сбалансированным солевым раствором Хэнка, добавляли к обрабатываемым лункам испытуемого соединения и к контрольным лункам для обработки анти-человеческим иммуноглобулином М, и 5 мкл/лунку сбалансированного солевого раствора Хэнка добавляли в лунки отрицательного контроля. Планшет инкубировали в 5% CO<sub>2</sub>, 37°C клеточном инкубаторе в течение 10 минут.

В каждую лунку 96-луночного планшета добавляли 10 мкл/лунку буфера для лизиса клеток, который хорошо перемешивали и лизировали при комнатной температуре в течение 30 минут. 16 мкл/лунку лизирующего буфера пипетировали на новый 384-луночный планшет, и затем добавляли 4 мкл/лунку фосфорилированного антитела ВТК, центрифугировали (1000 об/мин) в течение 1 минуты, затем встряхивали в течение 1 минуты, дополнительно центрифугировали (1000 об/мин) в течение 1 минуты и, наконец, помещали в инкубатор с постоянной температурой в течение ночи. Обнаружение проводили на следующий день.

30

5

10

15

20

25

#### 3. Обнаружение

384-луночный планшет, инкубированный в течение ночи в инкубаторе с постоянной температурой, извлекали для обнаружения сигнала люминесценции с помощью микролуночного планшетного считывателя Envision при длине волны испускания 320 нм и длине волны возбуждения 665 нм/615 нм. Значение считывания при 665 нм/615 нм каждой лунки, умноженное на 10<sup>4</sup>, использовали в качестве значения сигнала каждой лунки.

#### 4. Расчеты

5

10

15

25

30

Среднее значение сигнала лунок, дополненных смешанным раствором иммуноглобулина М человека (конечная концентрация составляла 10 мкг/мл) и пероксида водорода (конечная концентрация составляла 3,3 мМ) без тестируемого соединения, считалось высоким значением, а среднее значение сигнала лунок без стимуляции иммуноглобулином М и без тестируемого соединения считалось низким значением. В соответствии со значением сигнала в каждой лунке рассчитывали коэффициент ингибирования (%) каждой концентрации соединений и использовали модель 205 в программном обеспечении XL-Fit 5.3 (ID Business Solutions Limited) для получения значения IC<sub>50</sub>.

#### Коэффициент ингибирования рассчитывали следующим образом:

отношение ингибирования (%) = 100% - {(обрабатываемая лунка тестируемого соединения - обрабатываемая лунка отрицательного контроля)/(обрабатываемая лунка контроля анти-человеческого иммуноглобулина М - обрабатываемая лунка отрицательного контроля)} × 100%, где

Обрабатываемая лунка тестируемого соединения: представляет собой значение сигнала клеток Ramos, обработанных анти-человеческим иммуноглобулином М, пероксидом водорода и тестируемым соединением.

Обрабатываемая лунка контроля анти-человеческого иммуноглобулина М: представляет собой значение сигнала клеток Ramos, обработанных анти-человеческим иммуноглобулином М, пероксидом водорода, но без тестируемого соединения.

**Обрабатываемая лунка отрицательного контроля:** представляет собой значение сигнала клеток Ramos без тестируемого соединения и без стимуляции иммуноглобулином.

#### 5 5. Результаты испытаний

№ соединения	IC <sub>50</sub> (мкМ)
1	0,005
2	0,006
3	0,003
4	0,003
5	0,008
6	0,007

#### Пример 4 Определение В-клеточной активности в цельной крови крыс

#### 1. Реагенты и материалы

Периферическая цельная кровь самок крыс Вистар;

10 фосфатный буфер PBS: GIBCO, кат. № C20012500BT;

анти-крысиное антитело В220РЕ (РЕ анти-крысиное антитело В220):

eBioscience, кат. № 12-0460-82;

антитело FITC против CD86 крысы (FITC против CD86 крысы): eBioscience, кат. № 11-0860-82;

15 10-кратный лизисный буфер (10 × лизисный буфер): BD Biosciences, кат. № 555899;

буфер для фиксации (буфер для фиксации IC): Invitrogen, кат. N = 00-8222-49;

96-луночный планшет с U-образным дном: Nunc, кат. № 163320;

96-луночный планшет с V-образным дном: Nunc, кат. № 49952;

20 диметилсульфоксид (ДМСО): Sigma-Aldrich, кат. № 34869-4L;

анти-крысиный иммуноглобулин D (мышиный анти-крысиный IgD): Bio-rad, кат. № MCA190;

проточный цитометр: BD FACS Canto II, BD.

#### **25 2.** Способы

При определении активности соединения собранную периферическую цельную кровь крысы добавляли в 96-луночный планшет по 80 мкл/лунку и

культивировали в клеточном инкубаторе при 5% CO<sub>2</sub>, 37°C. Через полчаса тестируемое соединение разбавляли PBS в 3-кратном градиенте до соответствующих концентраций, и затем разбавленное тестируемое соединение с различными концентрациями добавляли в культуральную систему цельной крови крыс при 10 мкл/лунку (конечная концентрация тестируемого соединения составляла 1,0, 0,33, 0,11, 0,037, 0,012, 0,0041, 0,0014 и 0,0005 мкМ, конечная концентрация ДМСО составляла 0,3%, две повторных лунки), или контрольный раствор (0,3% ДМСО, 6 повторных лунок) добавляли в соответствующую лунку по 10 мкл/лунку, которые инкубировали в клеточном инкубаторе в течение одного часа. Затем 10 мкл/лунку анти-крысиного иммуноглобулина D, разведенного в PBS (конечная концентрация составляла 10 мкг/мл), добавляли к обрабатываемым лункам тестируемого соединения и контрольным лункам анти-крысиного иммуноглобулина D, или 10 мкл/лунку PBS добавляли к лункам отрицательного контроля, которые хорошо перемешивали, чтобы продолжить культивирование в клеточном инкубаторе при 5% CO<sub>2</sub>, 37°C, и инкубировали в течение 18 часов.

На второй день 96-луночные планшеты извлекали, и смесь антител для проточной цитометрии (конечная концентрация антикрысиного антитела В220РЕ составляла 1 мкг/мл, а конечная концентрация антитела FITC против CD86 крысы составляла 1 мкг/мл), разбавляли PBS в каждой лунке планшета, которые инкубировали в течение 30 минут в темноте, а затем 50 мкл крови из каждой лунки пипетировали к свежеприготовленному 500 мкл лизирующего буфера для лизиса эритроцитов. Планшеты встряхивали в течение 20 минут, центрифугировали для удаления надосадочной жидкости, затем промывали, фиксировали, и проводили обнаружение на проточном цитометре.

25

30

20

10

15

#### 3. Обнаружение

Активацию В-клеток в образце определяли способом проточного окрашивания.

#### 4. Расчеты

Среднее значение доли активированных В-клеток в лунках с анти-крысиным иммуноглобулином D, но без тестируемого соединения, использовали в качестве обрабатываемой лунки контроля анти-крысиного иммуноглобулина D, а среднее

значение доли активированных В-клеток в лунках без стимуляции иммуноглобулином D и без тестируемого соединения использовали в качестве обрабатываемой лунки отрицательного контроля. В соответствии с коэффициентом активации В-клеток в каждой лунке рассчитывали коэффициент ингибирования (%) каждой концентрации, и затем получали значение IC<sub>50</sub> с использованием модели 205 в программном обеспечении XL-Fit 5.3 (ID Business Solutions Limited).

#### Коэффициент ингибирования рассчитывали следующим образом:

5

10

15

25

отношение ингибирования (%) = 100% - {(обрабатываемая лунка тестируемого соединения - обрабатываемая лунка отрицательного контроля)/(обрабатываемая лунка контроля анти-крысиного иммуноглобулина D - обрабатываемая лунка отрицательного контроля)}  $\times$  100%, где

**Обрабатываемая лунка тестируемого соединения:** представляет собой коэффициент активации В-клеток в цельной крови крысы, обработанной антикрысиным иммуноглобулином D и тестируемым соединением.

Обрабатываемая лунка контроля анти-крысиного иммуноглобулина **D**: представляет собой коэффициент активации В-клеток в цельной крови крысы, обработанной анти-крысиным иммуноглобулином D, но без тестируемого соединения.

20 **Обрабатываемая лунка отрицательного контроля:** представляет собой коэффициент активации В-клеток в цельной крови крысы без тестируемого соединения и без стимуляции иммуноглобулином.

Согласно вышеупомянутому тесту, соединения согласно настоящему изобретению продемонстрировали хорошую способность ингибировать активацию В-клеток в цельной крови крысы. Значение IC<sub>50</sub> соединения 1 составляет 0,001 мкМ.

#### Пример 5 Испытание на стабильность в микросомах печени

#### 1. Экспериментальные материалы:

Объединенные микросомы печени самцов мышей CD-1 и объединенные 30 микросомы печени самцов крыс SD были приобретены у BioreclamationIVT Corporation, США.

Фенацетин, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (G-6-PDH) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP) были приобретены у Sigma-Aldrich Corporation, США. Глюкозо-6-фосфат (G-6-P) был приобретен у Shanghai Eybridge Chemical Technology Co., Ltd и Carbosynth China Limit.

5

10

#### 2. Приготовление раствора:

10 мМ маточного раствора исходного соединения: определенное количество тестируемого соединения взвешивали и растворяли с соответствующим объемом ДМСО для приготовления исходного раствора с концентрацией 10 мМ для применения.

Раствор для остановки реакции: соответствующее количество внутреннего стандарта соединения фенацетина растворяли в ацетонитриле для приготовления раствора для остановки реакции с концентрацией 1000 нг/мл для использования при комнатной температуре.

15

20

25

30

#### 3. Способ проведения эксперимента:

Маточный раствор испытуемого соединения разбавляли органическим растворителем (обычно смесью ацетонитрила, метанола и воды с различными соотношениями, в зависимости от растворимости соединения, при необходимости добавляли 1 н. соляную кислоту или 1 н. гидроксид натрия для облегчения солюбилизации) до 0,1 мМ (конечная концентрация соединения в реакционной системе составляла 1 мкМ), и процент концентрации органических растворителей в инкубационной системе составлял не более 1% (где процент ДМСО составлял не более 0,1%). Соответствующее количество 100 мМ НАДФ, 500 мМ G-6-Р и 100 Ед/мл G-6-PDH смешивали и разбавляли сверхчистой водой (конечная система содержит 1 мМ НАДФ, 5 мМ G-6-P и 1 Ед/мл G-6-PDH), предварительно инкубировали на водяной бане при 37 °C в течение 10 минут и затем помещали на лед для использования в качестве раствора для регенерации НАДФ. 20 мг/мл раствора микросом печени и 200 мМ фосфатного буфера смешивали и разбавляли сверхчистой водой с получением раствора микросом печени, содержащего 2,5 мг/мл микросом печени (конечная концентрация реакционной системы составляла 0,5 мг/мл) и 50 мМ фосфатного буфера. Разбавленный раствор микросом печени

смешивали с 0,1 мМ раствором соединения, смесью 100 мМ ЭДТА, 300 мМ раствора MgCl<sub>2</sub>, 200 мМ фосфатного буфера (конечная система представляла собой 3 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ ЭДТА и 50 мМ фосфатного буфера) и добавляли воду в соответствующем объеме. Наконец, добавляли раствор для регенерации НАДФН, затем реакционный раствор помещали на водяную баню с температурой 37 °C для начала реакции (время реакции составляло 30 минут), и реакцию останавливали путем добавления ледяного ацетонитрильного останавливающего реакцию раствора, содержащего внутренний стандарт. 0-минутный образец не инкубировали на водяной бане при 37 °C, и его отличие от 30-минутного образца 10 дополнительно заключается в том, что сначала добавляли ледяной раствор для остановки реакции с ацетонитрилом, содержащий внутренний стандарт, и затем добавляли раствор для регенерации НАДФН. Образец, добавленный с останавливающим реакцию внутренним стандартным раствором, встряхивали на вортексе и хорошо перемешивали, а затем центрифугировали при 4400 об/мин в 15 течение 10 минут. Супернатант отбирали и разбавляли десять раз 50% метанолом для анализа ЖХ-МС/МС.

#### 4. Метод анализа:

Для определения концентрации соединения в образце использовали ЖХ20 МС/МС. Процент оставшегося соединения после 30 минут инкубации по сравнению с таковым в 0-минутном образце рассчитывали, используя отношение площади пика соединения к внутреннему стандарту в качестве индикатора, для оценки метаболической стабильности соединения.

Прибор: масс-спектрометр API4500, API4000 или LTQ; жидкая фаза представляет собой систему СВЭЖХ (Shimadzu LC-30 AD, модель Nexra X2), включая блок доставки жидкости, термостат колонки, детектор и автоматический пробоотборник; или бинарный насос Agilent 1200 серии ВЭЖХ и автоматический пробоотборник СТС.

Хроматографическая колонка: Waters XSELECT Hss T3  $C_{18}$  (2,5 мкм, 2,1 × 50 мм) или CAPCELLPAK MG (5 мкм, 2,0 × 50 мм)

Подвижная фаза:

А: вода с 0,1% FA (муравьиная кислота) (с или без 0,1% ACN (ацетонитрил))

В: ацетонитрил с 0,1% FA (муравьиная кислота).

Результаты испытаний показаны в следующей таблице:

№ соединения	RLM*	MLM**
GDC-0853	81,0%	76,3%
1	87,9%	91,6%
2	85,7%	92,6%
4	97,4%	90,9%
5	95,4%	67,5%

<sup>\*</sup>RLM, микросомы печени крыс.

5

### Пример 6 Оценка *in vivo* эффективности ингибирующего действия на мишень ВТК

Задачи: В-клетки в цельной крови мышей индуцировали и активировали антиIgD антителом, и изучали ингибирующее действие соединения согласно
настоящему изобретению на активацию В-клеток in vivo, чтобы определить ингибирующее действие соединения согласно настоящему изобретению на мишень ВТК in vivo.

Способы: Мыши С57BL/6 (самки, 18-20 г, приобретенные у Shanghai Lingchang Biotechnology Co., Ltd.) были сгруппированы в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 Группировка информации о введении *in vivo* 

Групп ы	Доза (мг/кг)	Количе ство животн ых	Носите ль	Режим дозирова ния	Объем введения	Время забора крови после введения	Состав																
Группа, получа вшая носите ль	0	6	0,5%	Перораль ный зонд,		16 ч	-																
GDC- 0853	20	3	HPMC, $pH = 3$	однократ ное	10 мл/кг массы	16 ч	Раствор																
Соедин ение 1	5	3 введени	•												_				3	введение		16 ч	Раствор
Соедин ение 2	20	3				16 ч	Раствор																

<sup>\*\*</sup>MLM, микросомы печени мыши.

Животным каждой группы осуществляли введение, затем помещали в СО2 для анестезии в назначенные моменты времени, образцы крови отбирали у крыс с помощью ретроорбитального кровотечения, а гепарин использовали для антикоагуляции; 90 мкл цельной крови отбирали у мышей каждой группы и добавляли в 96-луночный культуральный планшет, и антитело против IgD мыши (BIO-RAD, кат. № MCA4693) добавляли в каждую лунку до конечной концентрации 0,01 мкг/мкл (соответственно для каждой группы, получавшей лекарственное средство, и группы, получавшей носитель, индуцированной антителом против IgD); кроме того, 90 мкл цельной крови мышей в группе, 10 получавшей носитель, отбирали и добавляли в 96-луночный культуральный планшет, и PBS (фосфатный буфер, GIBCO, кат. № C20012500BT) добавляли в каждую лунку до конечной концентрации 0,01 мкг/мкл (а именно, контрольной группы); каждую группу хорошо перемешивали и инкубировали в инкубаторе с 37°C/5% CO₂ в течение 4 часов. Кроме того, кровь мышей в группе, получавшей 15 лекарственное средство, центрифугировали для отделения плазмы для анализа концентрации в крови.

Культивированную цельную кровь добавляли с флуоресцентно мечеными антителами анти-CD19-APC (BD Biosciences, кат. № 550992) и анти-CD69-PE (BD Biosciences, кат. № 553237), хорошо перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в темноте в течение 30 минут; 50 мкл образца переносили в 96-луночный глубокий V-образный культуральный планшет, содержащий 380 мкл свежего лизирующего буфера (BD Biosciences, кат. № 555899), встряхивали и помещали при комнатной температуре в темноте на 15 минут для удаления эритроцитов; добавляли 400 мкл проточного буфера (2%FBS/PBS, FBS: фетальная бычья сыворотка, GIBCO, кат. № 100100-147; PBS: GIBCO, кат. № C20012500BT), центрифугировали при 1200 об/мин при 4°C в течение 8 минут; супернатант удаляли, клетки дважды промывали буфером FACS и центрифугировали; затем клетки ресуспендировали с 400 мкл буфера FACS, экспрессию CD69+ клетки (CD +) обнаруживали с применением поточного цитометра BD FACS LSRFortessa, и анализировали данные.

Расчет коэффициента активации В-клеток:

20

25

30

Коэффициент активации В-клеток = процент CD69<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> двойных положительных В-клеток/процент CD19<sup>+</sup> единичных положительных В-клеток Расчет коэффициента ингибирования:

Коэффициент ингибирования = (процент коэффициента активации В-клеток в группе, индуцированной анти-IgD антителом, - процент коэффициента активации В-клеток в группе, получавшей лекарственное средство)/(процент коэффициента активации В-клеток в группе, индуцированной анти-IgD антителом, - процент коэффициента активации В-клеток в контрольной группе, получавшей носитель) × 100%

Все данные представлены как среднее ± стандартная ошибка. Для сравнения между каждой группой, получавшей лекарственное средство, и группой, получавшей носитель, индуцированной анти-IgD антителом, значение р рассчитывали с помощью Graphpad Prism с использованием однопараметрического дисперсионного анализа ANOVA и критерия Даннетта, а для сравнения между каждой группой, обработанной лекарственным средством, значение р рассчитывали с использованием непарного t-критерия.

10

15

20

25

Результаты: Результаты эксперимента показаны на фигуре 1 и в таблице 2.

В этом эксперименте после 16 часов введения, соотношение ингибирования GDC-0853 20 мг/кг при активации В-клеток составляет 9%; и соотношение ингибирования соединения 2 согласно настоящему изобретению в дозе 20 мг/кг при активации В-клеток составляет 43%. Коэффициент ингибирования соединения 1 согласно настоящему изобретению в дозе 5 мг/кг при активации В-клеток составляет 60%, что имеет статистически значимое различие по сравнению с группой, получавшей носитель, индуцированной анти-IgD антителом.

Таблица 2 Влияние введения *in vivo* на индуцированную анти-IgD антителом активацию В-клеток в цельной крови мышей

Группы Доза Время (мг/кг) (ч)	Коэффициен т активации В-клеток (популяция активирован ных В-клеток в общем количестве В-клеток)	Коэфф ициент ингиби ровани я (%)	Концентраци я лекарственно го средства в плазме (нг/мл)
----------------------------------	--	--	---

Контрольная					
группа,	/	16	$5.6 \pm 0.6$	100%	/
получавшая	,	10	3,0 ± 0,0		1
носитель					
Группа,					
получавшая					
носитель,	/	16	$31,7\pm2,2$ ####	0%	/
индуцированна	,	10	31,7 ± 2,2	070	,
я анти-IgD					
антителом					
GDC-0853	20	16	$29,3 \pm 6,7$	9%	$5,01 \pm 2,26$
Соединение 1	5	16	$16.0 \pm 3.9^*$	60%	$6,27 \pm 1,68$
Соединение 2	20	16	$20,6 \pm 5,0$	43%	$6,60 \pm 2,51$

#### представляет собой р < 0,0001 по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель;

5

10

15

20

# Пример 7 Терапевтический эффект соединения согласно настоящему изобретению на модель артрита крысы, индуцированного коллагеном типа II 1. Методы исследования

Соответствующее количество бычьего коллагена типа II (CII, Chondrex (Redmond, WA, USA), кат. № 20021) взвешивали и растворяли в 0,1 моль уксусной кислоты (SPGC Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd (Shanghai, P.R. China), кат. №: 10000218.), которую готовили в виде раствора с концентрацией 6 мг/мл, перемешивали при 4°С в течение ночи и добавляли равный объем неполного адъюванта Фрейнда (Sigma-Aldrich.(St. Louis, MO, USA), кат. №: SLBW0366.), полностью эмульгировали для получения эмульсии с концентрацией СII 3 мг/мл.

Самки крыс Льюис были приобретены у Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co., Ltd (номер сертификата 20200928Aazz0619000579, начальная масса тела 110-130 грамм), и 6 крыс были случайным образом выбраны в качестве нормальной группы, а все остальные крысы были иммунизированы. При первой иммунизации в день 0 крыс, за исключением крыс в нормальной группе, анестезировали изофлураном (Hebei Yipin Pharmaceutical Co., Ltd., Lot: C002170601.) и затем дезинфицировали 75% спиртом, и 0,2 мл эмульсии вводили интрадермально в основание хвоста. Второе испытание проводили на 7-й день, и 0,2 мл эмульсии вводили внутрикожно тем же способом. Как только у животных

<sup>\*</sup> представляет собой р <0,05 по сравнению с группой, получавшей носитель, индуцированной анти-IgD антителами.

развились симптомы на 10 день, их условия заболеваемости тщательно контролировали. Иммунизированные животные имели средний объем лапы 1,5-1,7 мл на 13 день, и их группировали случайным образом и осуществляли введение в соответствии с Таблицей 3.

5 Таблица 3 Информация о распределении по группам для модельного введения

Группы	Моделирование	Доза	Режим дозирования	Количество животных	
Нормальная группа	/	/	/	6 крыс	/
Контрольная группа, получавшая носитель GDC-0853-0.25 GDC-0853-4 Соединение 1-0,06 Соединение 1-0,25 Соединение 1-4		0 мг/кг 0,25 мг/кг 4 мг/кг 0,06 мг/кг 0,25 мг/кг	Один раз в день, со дня 13 (объем лапы достигает 1,5 мл) по 19 день	8 крыс в каждой группе	0,5% HPMC, pH 3

После распределения по группам, нормальной группе не вводили, а крысам в других группах вводили контрольный носитель, 0,25 мг/кг и 4 мг/кг эталонного GDC-0853 и каждую дозу соединения 1 перорально один раз в день до конца эксперимента. Распределение по группам и режим дозирования показаны в таблице 3.

Объем лапы измеряли на 10 день после иммунизации, а объемы левой и правой задних лап (V) измеряли каждый день после обнаружения увеличения объема лапы.

10

20

Измеряли объемы лап при артрозе левой и правой задних конечностей каждого животного и рассчитывали средний объем лап (APV) по следующей формуле:

Средний объем лапы 
$$APV = (V_{cneba} + V_{cnpaba})/2$$

Влияние лекарственных средств на средний объем лапы подвергали статистическому анализу с помощью GraphPad с повторной измерением ANOVA с последующим критерием множественного сравнения Даннетта, и рассчитывали значение p, где \*\*\*p < 0.001 указывал на то, что присутствовало статистически чрезвычайно значимое различие по сравнению с нормальной группой, \*p < 0.05 указывал на то, что присутствовало статистически значимое различие по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель, и \*\*p < 0.01 указывал на то, что присутствовало статистически чрезвычайно значимое различие по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель. Средний объем лапы при артрозе у каждого животного перед введением использовали в качестве исходного уровня (или рассматривали как 100% ингибирование воспаления). Средний отек лапы (APS) каждого животного рассчитывали по следующей формуле, где APV<sub>d1</sub> представляет собой средний объем лапы животного, которому осуществляли введение в день 1, а APV<sub>d1</sub> представляет собой средний объем лапы животного, которому осуществляли введение в день t:

Средний отек лапы 
$$APS_{dt} = (APV_{dt} - APV_{d1})$$

Площадь под кривой (AUC) среднего увеличения объема лапы представляет собой площадь под кривой увеличения балла артроза, рассчитанную методом трапеции, и формула расчета представляет собой:

$$AUC_{APS} = 1/2 \times (APS_{d1} + APS_{d2}) \times (d_2 - d_1) + 1/2 \times (APS_{d2} + APS_{d3}) \times (d_3 - d_2) + \dots + 1/2 \times (APS_{dn} + APS_{d(n-1)}) \times (d_n - d_{n-1}).$$

Формула для расчета коэффициента ингибирования площади под кривой 20 (IR<sub>AUC</sub>) выглядит следующим образом:

Коэффициент ингибирования  $IR_{AUC}$ % = (Среднее значение  $AUC_{APS}$  в модельной группе -  $AUC_{APS}$  в группе, получавшей лекарственное средство)/(Среднее значение  $AUC_{APS}$  в модельной группе - Среднее значение  $AUC_{APS}$  в нормальной группе) × 100%.

25 ED<sub>50</sub> рассчитывали с помощью программного обеспечения XLfit в соответствии с коэффициентом ингибирования AUC площади под кривой среднего увеличения объема лапы. Выбранная модель представляет собой "log (inhibitor) vs. response - Variable slope":

$$y = A + \frac{B - A}{1 + \left(\frac{C}{x}\right)^{D}}$$

## 2. Результаты

У крыс Льюис появились симптомы заболевания на 10 день после первой иммунизации коллагеном II типа крупного рогатого скота, а объем лап задней конечности постепенно увеличивался с прогрессированием заболевания. Увеличение объема лапы крысы в контрольной группе, получавшей носитель, сравнивали с таковым в нормальной группе, и наблюдалось статистически значимое различие (###p < 0,001). GDC-0853-0,25 мг/кг не оказывал улучшающего эффекта на увеличение объема лапы крыс, и объем лапы крыс, которым вводили GDC-0853-4 мг/кг, был значительно уменьшен (p < 0.05) по сравнению с таковым в 10 контрольной группе. Пероральное введение 0,06, 0,25 и 4 мг/кг QD раствора соединения 1 один раз в сутки дозозависимым образом ингибировало отек лап, при соотношении ингибирования площади под кривой (AUC IR) 76,2%, 83,1% и 200,2% соответственно; а минимальная эффективная доза составляла 0,06 мг/кг/сут. Присутствовала статистическая разница между 0,25 мг/кг соединения 1 (отношение 15 ингибирования площади под кривой составляло 83,1%) и той же дозой GDC-0853 (отношение ингибирования площади под кривой составляло -6,4%) и между 4 мг/кг соединения 1 (отношение ингибирования площади под кривой составляло 200,2%) и той же дозой GDC-0853 (отношение ингибирования площади под кривой составляло 144,7%). Как 0,25 мг/кг соединения 1, так и 4 мг/кг соединения 1 могут 20 значительно увеличить непрерывное улучшение увеличения объема лапы (p < 0.01, одностороннее повторное измерение ANOVA, испытание с помощью Graphpad).

# Пример 8 Терапевтический эффект соединений согласно настоящему изобретению на идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, индуцированную анти-CD41 антителом

### 1. Методы исследования

25

30

Результаты показаны на фигуре 2.

Самки мышей C57BL/6 были приобретены у Shanghai Lingchang Biotechnology Co., Ltd. (номер сертификата 20180003011079, начальная масса тела 18-20 грамм) и были случайным образом сгруппированы в соответствии с таблицей 4 с 8 мышами в каждой группе. Перед моделированием, как показано в таблице 4, мышам соответственно вводили однократную дозу в разное время: внутрибрюшинную

инъекцию 2000 мг/кг положительного лекарственного средства IVIg (Rongsheng, партия№: 201604В026), пероральное введение 40 мг/кг PRN1008 (рилзабрутиниб) и различные дозы соединения 1. При моделировании каждой мыши внутрибрюшинно вводили 200 мкл раствора PBS, содержащего 2 мкг антител против CD41 мыши (BD, кат. №: 553487, партия№: 7026765).

Таблица 4 Информация о распределении по группам для модельного введения

Группы	Моделиро вание	Доза (мг/кг)	Количес тво животн ых	Режим дозирования	<b>Носител ь</b>
Нормальн ая группа	200 мкл PBS, в/б,	-	8		
Контрольн ая группа, получавша я носитель		-	8	Пероральное введение однократной дозы за 2 часа до моделирования	0,5% HPMC, pH 3
PRN1008	200 мкл раствора PBS, содержаще	40	8	Пероральное введение однократной дозы за 1 час до моделирования	
Соединени е 1	го 2 мкг антител против CD41 мыши, в/б,	0,004	8	Пероральное	
		0,04	8	введение	
		0,4	8	однократной	
		4	8	дозы за 18 минут до моделирования	
IVIg		2000	8	Внутрибрюши нная инъекция однократной дозы за 24 часа до моделирования	

Через восемь часов и двадцать четыре часа после моделирования цельную кровь собирали и помещали в центрифужную пробирку, покрытую 10% цитратфосфат-декстроза-аденином (CPDA), а уровень тромбоцитов (PLT) в цельной крови измеряли с помощью автоматического анализатора крови XT-2000і (SYSMEX) (Shanghai Laboratory Animal Research Centre SIPPR/B & K Lab Animal Ltd).

Средний уровень тромбоцитов в периферической крови анализировали с помощью статистического программного обеспечения Graphpad однофакторным дисперсионным анализом ANOVA со следующим критерием множественного сравнения Fisher LSD, и рассчитывали значение p, где p0,05 указывал на статистически значимое различие по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель, p0,01 указывал на статистически чрезвычайно значимое различие по сравнению с контрольной группой, получавшей носитель, а p0,01 указывал на статистически чрезвычайно значимое различие по сравнению с нормальной группой.

Скорость восстановления (RR) уровня тромбоцитов рассчитывают по следующей формуле:

$$RR\%$$
 =  $(PLT_{\text{обработка}} - PLT_{\text{модель}})/(PLT_{\text{нативный}} - PLT_{\text{модель}}) \times 100\%$ .

# 2. Результаты

10

15

20

25

30

Через восемь часов после внутрибрюшинной инъекции антител против CD41 мыши измеряли уровень тромбоцитов в периферической крови мышей C57BL/6. Наблюдалось статистически чрезвычайно значимое различие среднего уровня тромбоцитов в контрольной группе, получавшей носитель, по сравнению с таковым в нормальной группе (##p < 0,01). По сравнению с контрольной группой, получавшей носитель, внутрибрюшинная инъекция 2 г/кг IVIg показала значительное восстановление уровня тромбоцитов (\*\*p < 0,01), при этом скорость восстановления тромбоцитов составила 54%. По сравнению с контрольной группой, получавшей носитель, пероральное введение 40 мг/кг PRN1008 показало значительное восстановление уровня тромбоцитов (\*\*p < 0,01), при этом скорость восстановления тромбоцитов составляла 40%. Однократное пероральное введение 0,004, 0,04, 0,4 и 4 мг/кг раствора соединения 1 дозозависимым образом восстанавливало снижение количества тромбоцитов, индуцированное антителами против CD41 мыши, со скоростью восстановления тромбоцитов 25%, 37%, 44% и 51%, соответственно; и минимальная эффективная доза составляла 0,04 мг/кг.

Через двадцать четыре часа после внутрибрюшинной инъекции антител против CD41 мыши измеряли уровень тромбоцитов в периферической крови мышей C57BL/6. Наблюдалось статистически чрезвычайно значимое различие

среднего уровня тромбоцитов в контрольной группе, получавшей носитель, по сравнению с таковым в нормальной группе (##, p < 0.01). По сравнению с контрольной группой, получавшей носитель, внутрибрюшинная инъекция 2 г/кг IVIg показала значительное восстановление уровня тромбоцитов (\*\*p < 0.01), при этом скорость восстановления тромбоцитов составила 53%. По сравнению с контрольной группой, получавшей носитель, пероральное введение 40 мг/кг PRN1008 не показало значительного восстановления среднего уровня тромбоцитов, при этом скорость восстановления тромбоцитов составляла всего 16%. Однократное пероральное введение 0,004, 0,04, 0,4 и 4 мг/кг раствора соединения 1 дозозависимым образом восстанавливало снижение тромбоцитов, индуцированное антителами против CD41 мыши, со скоростью восстановления тромбоцитов 5%, 21%, 29% и 29% соответственно. Результаты показаны на фигуре 3.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

## 1. Соединение формулы (I):

5

10

15

20

25

или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер, где

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> и X<sub>3</sub> каждый независимо представляет собой CH или N;

U и V каждый независимо представляет собой N или CR<sub>9</sub>;

Y<sub>1</sub> и Y<sub>2</sub> каждый независимо представляет собой CR<sub>10</sub> или N;

 $R_1$  и  $R_2$  каждый независимо выбран из водорода, дейтерия, галогена, -CN, гидроксила,  $C_{1-6}$  алкила, 3-6-членного циклоалкила,  $C_{2-6}$  алкинила,  $C_{1-6}$  дейтероалкила и  $C_{1-6}$  галогеналкила; или  $R_1$  и  $R_2$  вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 3-6-членный циклоалкил;

 $R_3$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, -CN или  $C_{1\text{-}6}$  галогеналкил;

 $R_4$  представляет собой водород, галоген, -CN,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{2-6}$  алкинил, - ( $C_{1-3}$  алкил)-OH, -( $C_{1-3}$  алкил)-O-( $C_{1-3}$  алкил), -O-( $C_{1-3}$  алкил), -CHO, -C(O)NH2, - C(O)NHCH3, -C(O)N(CH3)2 или 3-гидроксил-оксетан-3-ил, где  $C_{1-6}$  алкил или  $C_{1-3}$  алкил каждый необязательно замещен одним или более дейтерием или галогеном;

 $R_5$  выбран из водорода,  $C_{1-6}$  алкила и  $C_{3-6}$  циклоалкила, где  $C_{1-6}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием или галогеном;

 $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  каждый независимо представляет собой CH или N, при условии, что по меньшей мере один из  $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  представляет собой N;

R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> каждый независимо выбран из C<sub>1-6</sub> алкила;

 $R_8$  представляет собой водород,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил, где  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-6}$  алкила, трифторметила, -OH, -NH<sub>2</sub>, -O-( $C_{1-6}$  алкил), -NH( $C_{1-6}$  алкил) или -N( $C_{1-6}$  алкил)<sub>2</sub>;

R<sub>9</sub> представляет собой водород, дейтерий или галоген;

5

20

25

 $R_{10}$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, CN,  $C_{1\text{-}6}$  алкил или  $C_{1\text{-}6}$  галогеналкил;

 ${\bf n}$  составляет 0, 1 или 2; при условии, что когда  ${\bf n}$  составляет 1,  ${\bf R}_3$  не 10 является водородом.

- **2.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер по п. 1, отличающееся тем, что
- 15  $X_1, X_2$  и  $X_3$  каждый независимо представляет собой CH или N; U и V каждый независимо представляет собой CR<sub>9</sub>;

Y<sub>1</sub> и Y<sub>2</sub> каждый независимо представляет собой CR<sub>10</sub>;

 $R_1$  и  $R_2$  каждый независимо выбран из водорода, дейтерия, галогена, -CN, гидроксила,  $C_{1-6}$  алкила,  $C_{1-6}$  дейтероалкила и  $C_{1-6}$  галогеналкила;

 $R_3$  представляет собой водород, дейтерий, галоген, -CN или  $C_{1\text{-}6}$  галогеналкил;

 $R_4$  представляет собой - $(C_{1-3}$  алкил)-OH, - $C(O)NH_2$ , - $C(O)NHCH_3$  или -  $C(O)N(CH_3)_2$ , где  $C_{1-3}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием;

 $R_5$  выбран из водорода и  $C_{1-6}$  алкила, где  $C_{1-6}$  алкил необязательно замещен одним или более дейтерием;

 $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  каждый независимо представляет собой CH или N, при условии, что по меньшей мере один из  $Z_1, Z_2, Z_3$  и  $Z_4$  представляет собой N;

R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> каждый независимо выбран из C<sub>1-6</sub> алкила;

 $R_8$  представляет собой водород,  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-30 членный гетероциклил, где  $C_{1-6}$  алкил,  $C_{3-6}$  циклоалкил или 4-8-членный гетероциклил необязательно замещен одной или более группами, выбранными из: дейтерия, галогена,  $C_{1-6}$  алкила, трифторметила, -OH или -NH<sub>2</sub>,

R<sub>9</sub> представляет собой водород или дейтерий;

R<sub>10</sub> представляет собой водород или дейтерий;

n составляет 0, 1 или 2; при условии, что когда n составляет 1,  $R_3$  не является водородом.

5

- **3.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер по п. 1 или 2, отличающееся тем, что  $X_3$  представляет собой N.
- 4. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что как  $X_1$ , так и  $X_2$  представляют собой CH.
- **5.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из пп. 1-4, отличающееся тем, что как Y<sub>1</sub>, так и Y<sub>2</sub> представляют собой CR<sub>10</sub>.
  - **6.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер по п. 5, отличающееся тем, что  $R_{10}$  представляет собой водород.
  - 7. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из пп. 1-6, отличающееся тем, что  $R_1$  и  $R_2$  каждый независимо выбран из  $C_{1-6}$  алкила.

25

20

- **8.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из пп. 1-7, отличающееся тем, что  $R_3$  представляет собой водород или галоген.
- 30
- **9.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из

пп. 1-8, отличающееся тем, что  $R_4$  представляет собой - $(C_{1-3}$  алкил)-OH или - $(C_{1-3}$  дейтероалкил)-OH.

- **10.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из пп. 1-9, отличающееся тем, что  $R_3$  представляет собой водород, и  $R_4$  представляет собой -( $C_{1-3}$  алкил)-ОН.
- 11. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват,
   10 рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер по любому из пп. 1 10, отличающееся тем, что и U, и V представляют собой CH.
- 12. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из
   15 пп. 1-11, отличающееся тем, что R₅ представляет собой C₁-6 алкил.
  - 13. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из пп. 1-12, отличающееся тем, что  $Z_1$  представляет собой N, и  $Z_2$ ,  $Z_3$  и  $Z_4$  все представляют собой CH.
  - **14.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из пп. 1-13, отличающееся тем, что как  $R_6$ , так и  $R_7$  представляют собой метил.

15. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер согласно любому из пп. 1-14, отличающееся тем, что R<sub>8</sub> представляет собой оксетанил или тетрагидрофуранил.

20

25

**16.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер по п. 15,

5 **17.** Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, или его сольват, рацемическая смесь, энантиомер, диастереомер или таутомер по п. 1, выбранное из:

- 10 **18.** Фармацевтическая композиция, содержащая соединение и/или его фармацевтически приемлемую соль по любому из пп. 1-17, и необязательно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
- 19. Способ ингибирования активности ВТК *in vivo* или *in vitro*, включающий приведение ВТК в контакт с эффективным количеством соединения и/или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп. 1-17.
- 20. Применение соединения и/или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп. 1-17 для получения лекарственного средства для лечения или
   предотвращения заболевания, опосредованного ВТК, или по меньшей мере частично ВТК, предпочтительно для лечения или предотвращения аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания или рака, отличающееся тем, что

воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание предпочтительно выбрано из: системного воспаления и местного воспаления, артрита, ревматоидного артрита, воспаления, связанного с иммуносупрессией, отторжения трансплантата, аллергического заболевания, язвенного колита, болезни Крона, дерматита, астмы, красной волчанки, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, склеродермии, рассеянного склероза, остеопороза, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, аутоиммунной гемолитической анемии, васкулита, ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами, хронической обструктивной болезни легких, псориаза, синдрома 10 сухого глаза, обыкновенной пузырчатки, и заболеваний, связанных с трансплантацией почки, аутоиммунной болезни щитовидной железы, хронического лимфоцитарного тиреоидита, гипертиреоза, пернициозной анемии с хроническим атрофическим гастритом, синдрома Гудпасчера, пемфигоида, первичного билиарного цирроза, острого идиопатического полиневрита, системной красной 15 волчанки, и смешанного заболевания соединительных тканей; рак предпочтительно представляет собой солидную опухоль или гематологическое злокачественное новообразование, включая лимфому, лейкоз и миелому; и рак более предпочтительно выбран из В-клеточного злокачественного новообразования, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), В-крупноклеточной лимфомы 20 (LBCL), В-клеточной лимфомы, мантийноклеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, неходжкинской лимфомы, лимфомы Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы Беркитта, В-клеточной лимфомы высокой степени агрессии, не относящейся к группе Беркитта, экстранодальной В-клеточной лимфомы маргинальной зоны, лимфотической 25 лимфомы малого размера (SLL), лимфобластной лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, миелогенного лейкоза, острого миелогенного лейкоза (AML), хронического миелогенного лейкоза (CML), острого моноцитарного лейкоза человека, острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), В-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза (B-ALL), лейкоза ворсистых клеток, хронического 30 лимфоцитарного лейкоза (CLL) (такого как CLL высокого риска), миелодиспластического синдрома, острого лимфобластного лейкоза, миеломы (такой как множественная миелома) или болезни «трансплантат против хозяина».

21. Способ лечения или предотвращения заболевания у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения и/или его фармацевтически приемлемой соли согласно любому из пп. 1-17, отличающийся тем, что заболевание представляет собой заболевание, опосредованное ВТК, или по меньшей мере частично ВТК, причем предпочтительно заболевание представляет собой аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание или рак; причем воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание предпочтительно выбрано из: системного воспаления и 10 местного воспаления, артрита, ревматоидного артрита, воспаления, связанного с иммуносупрессией, отторжения трансплантата, аллергического заболевания, язвенного колита, болезни Крона, дерматита, астмы, красной волчанки, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, склеродермии, рассеянного склероза, остеопороза, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, аутоиммунной гемолитической 15 анемии, васкулита, ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами, хронической обструктивной болезни легких, псориаза, синдрома сухого глаза, обыкновенной пузырчатки, и заболеваний, связанных с трансплантацией почки, аутоиммунной болезни щитовидной железы, хронического лимфоцитарного тиреоидита, гипертиреоза, пернициозной анемии с 20 хроническим атрофическим гастритом, синдрома Гудпасчера, пемфигоида, первичного билиарного цирроза, острого идиопатического полиневрита, системной красной волчанки, и смешанного заболевания соединительных тканей; рак предпочтительно представляет собой солидную опухоль или гематологическое злокачественное новообразование, включая лимфому, лейкоз и миелому; и рак 25 более предпочтительно выбран из В-клеточного злокачественного новообразования, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), Вкрупноклеточной лимфомы (LBCL), В-клеточной лимфомы, мантийноклеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, неходжкинской лимфомы, лимфомы Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы маргинальной зоны, 30 лимфомы Беркитта, В-клеточной лимфомы высокой степени агрессии, не относящейся к группе Беркитта, экстранодальной В-клеточной лимфомы

маргинальной зоны, лимфотической лимфомы малого размера (SLL),

лимфобластной лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, миелогенного лейкоза, острого миелогенного лейкоза (AML), хронического миелогенного лейкоза (CML), острого моноцитарного лейкоза человека, острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), В-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза (B-ALL), лейкоза ворсистых клеток, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) (такого как CLL высокого риска), миелодиспластического синдрома, острого лимфобластного лейкоза, миеломы (такой как множественная миелома) или болезни «трансплантат против хозяина».

**22.** Соединение и/или его фармацевтически приемлемая соль по любому из пп. 1-17 для применения в качестве лекарственного средства.

15

20

25

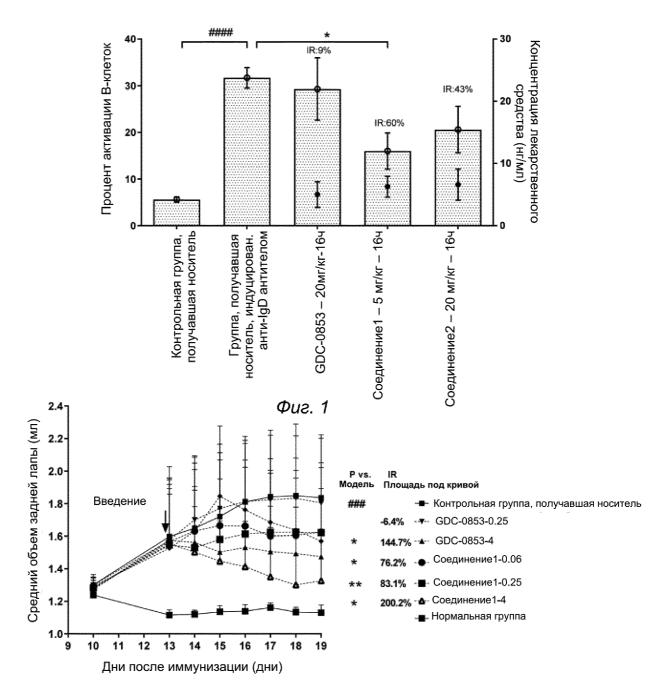
30

23. Соединение и/или его фармацевтически приемлемая соль по любому из пп. 1-17 для применения для лечения или предотвращения заболевания, опосредованного ВТК, или по меньшей мере частично ВТК, и предпочтительно для применения для лечения или предотвращения аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания или рака, отличающееся тем, что воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание предпочтительно выбрано из: системного воспаления и местного воспаления, артрита, ревматоидного артрита, воспаления, связанного с иммуносупрессией, отторжения трансплантата, аллергического заболевания, язвенного колита, болезни Крона, дерматита, астмы, красной волчанки, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, склеродермии, рассеянного склероза, остеопороза, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, аутоиммунной гемолитической анемии, васкулита, ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами, хронической обструктивной болезни легких, псориаза, синдрома сухого глаза, обыкновенной пузырчатки, и заболеваний, связанных с трансплантацией почки, аутоиммунной болезни щитовидной железы, хронического лимфоцитарного тиреоидита, гипертиреоза, пернициозной анемии с хроническим атрофическим гастритом, синдрома Гудпасчера, пемфигоида, первичного билиарного цирроза, острого идиопатического полиневрита, системной красной волчанки, и смешанного заболевания соединительных тканей; рак предпочтительно представляет собой солидную опухоль или гематологическое злокачественное новообразование,

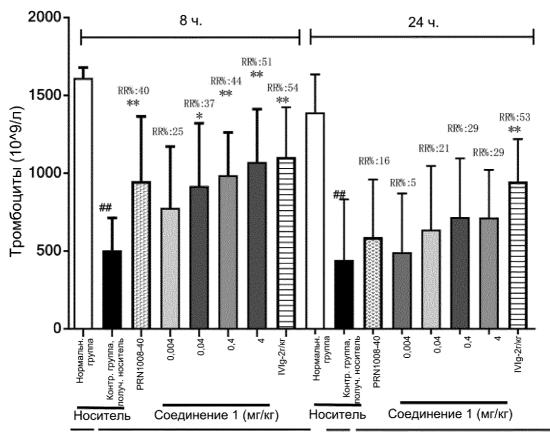
включая лимфому, лейкоз и миелому; и рак более предпочтительно выбран из Вклеточного злокачественного новообразования, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), В-крупноклеточной лимфомы (LBCL), В-клеточной лимфомы, мантийноклеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, неходжкинской лимфомы, лимфомы Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы маргинальной зоны, лимфомы Беркитта, В-клеточной лимфомы высокой степени агрессии, не относящейся к группе Беркитта, экстранодальной В-клеточной лимфомы маргинальной зоны, лимфотической лимфомы малого размера (SLL), лимфобластной лимфомы, лимфоцитарного лейкоза, миелогенного лейкоза, 10 острого миелогенного лейкоза (AML), хронического миелогенного лейкоза (CML), острого моноцитарного лейкоза человека, острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), В-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза (В-ALL), лейкоза ворсистых клеток, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) (такого как CLL высокого риска), миелодиспластического синдрома, острого лимфобластного лейкоза, миеломы 15 (такой как множественная миелома) или болезни «трансплантат против хозяина».

24. Фармацевтическая комбинация, содержащая соединение и/или его фармацевтически приемлемую соль по любому из пп. 1-17, и по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент, где терапевтический агент предпочтительно выбран из: противовоспалительного агента, иммуномодулятора или противоопухолевого активного агента, где противоопухолевый активный агент включает химиотерапевтический агент, ингибитор или агонист иммунной контрольной точки и целевой терапевтический агент.

20



Фиг. 2



PBS Антитело против CD41 мыши (2 мкг/кг) PBS Антитело против CD41 мыши (2 мкг/кг)

Фиг. 3