

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044198**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.07.28

(21) Номер заявки
202190600

(22) Дата подачи заявки
2019.09.13

(51) Int. Cl. *A61K 31/41* (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01)
C07D 413/04 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)

(54) **КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

(31) **62/730,869; 62/737,612; 62/778,185**

(32) **2018.09.13; 2018.09.27; 2018.12.11**

(33) **US**

(43) **2021.08.06**

(86) **PCT/US2019/050970**

(87) **WO 2020/056232 2020.03.19**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЗЕНИТ ЭПИДЖЕНЕТИКС ЛТД. (СА)

(72) Изобретатель:
**Атгвелл Сара Кристина, Кампо Эрик
(СА), Лахотиа Санджей (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) US-A1-20180153867
US-A1-20160159801
US-A1-20120208814

(57) В изобретении предусмотрены способы лечения рака предстательной железы, в том числе метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы, включающие введение нуждающемуся в этом субъекту ингибитора бромодомена BET-белков в комбинации со вторым средством.

044198

B1

044198

B1

Изобретение относится к комбинированной терапии для лечения рака предстательной железы.

Уровень техники

Метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы ("mCRPC") зачастую характеризуется постоянной передачей сигнала от андрогенового рецептора ("AR"), что запускает пролиферацию раковых клеток, инвазию опухоли и метастазирование (Wyatt & Gleave, 2015). Виды начальной терапии рака предстательной железы включают либо хирургическую, либо химическую кастрацию, за которой следует андрогендепривационная терапия. Во многих случаях наблюдают дальнейшее прогрессирование рака и образование метастазов, отсюда и термин метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы. Стандартная терапия первой линии в случае mCRPC включает энзалутамид, являющийся антагонистом AR, ингибиторы синтеза андрогенов, такие как абиратерон, являющийся ингибитором 17-альфа-гидроксилазы/17,20-лиазы (CYP17A1), цитохрома, вовлеченного в биосинтез стероидов, и в некоторых случаях химиотерапию. Однако последние исследования показали, что со временем субъекты становятся резистентными к данным видам терапии первой линии и требуют дополнительного медикаментозного лечения (Wyatt & Gleave, 2015). В настоящее время не существует стандарта лечения второй линии для mCRPC, поскольку эффективность модуляторов AR или химиотерапии в условиях второй линии терапии является умеренной. Кроме того, было высказано предположение, что механизмы резистентности к абиратерону и энзалутамиду перекрываются (Azad et al, 2015b; Bianchini et al, 2014; Lorient et al, 2013; Noonan et al, 2013; Schrader et al, 2014).

Механизмы резистентности к энзалутамиду и абиратерону включают альтернативный сплайсинг AR, приводящий к утрате лиганд-связывающего домена и постоянно активной андроген-опосредованной передаче сигнала (Nakazawa et al, 2014), стимуляцию альтернативных путей, таких как пути передачи сигнала, опосредованные глюкокортикоидным рецептором (GR) (Aroga et al, 2013; Isikbay et al, 2014), ядерным фактором-энхансером легкой каппа-цепи иммуноглобулина в активированных В-клетках (NF-κB) (Jin et al, 2013; Nadiminty et al, 2013) или MYC (Lamb et al, 2014; Nadiminty et al, 2013; Zeng et al, 2015), а также нейроэндокринную дифференцировку (Aggarwal et al, 2014; Beltran et al, 2014; Dang et al, 2015). Было показано, что некоторые из данных механизмов резистентности регулируются BET-белками при раке предстательной железы (MYC-опосредованная экспрессия: (Gao et al, 2013); сплайс-варианты AR: (Chan et al, 2015; Welti et al, 2018); GR: (Asangani et al, 2016; Shah et al, 2017)) или других видах рака (NF-κB: (Ceribelli et al, 2014; Gallagher et al, 2014; Zou et al, 2014)), что позволяет предположить, что ингибирование BET-белков могло бы быть полезным для субъектов с mCRPC, которые являются резистентными к энзалутамиду и абиратерону. В частности, недавно было высказано предположение, что сплайс-вариант 7 андрогенового рецептора (AR-V7) вовлечен в резистентность к энзалутамиду и абиратерону (Antonarakis et al, 2014); при этом клеточные линии, экспрессирующие данные варианты, являются зависимыми от BET-белков и чувствительны к BETi в культуре и в ксенотрансплантатах (Asangani et al, 2014; Asangani et al, 2016; Chan et al, 2015; Gao et al, 2013; Wyce et al, 2013). Одним из предложенных механизмов действия ингибитора BET-белков (BETi) является предотвращение взаимодействия BET-белков с N-концом AR и активации опосредованных андрогенами нисходящих путей передачи сигнала (Asangani et al, 2014).

Однако на данный момент является неясным, какие из ингибиторов BET-белков, если вообще таковые имеются, приведут к значительному клиническому результату при введении субъектам с раком предстательной железы, в частности mCRPC. Также является неясным, какие ингибиторы BET-белков, если вообще таковые имеются, будут синергически комбинироваться с другими лекарственными средствами, такими как антагонист андрогеновых рецепторов или ингибитор синтеза андрогенов, при лечении рака предстательной железы; какой уровень синергии необходим и какое второе терапевтическое средство будет лучшим партнером по комбинации для каждого ингибитора BET-белков, приводящим к клиническому результату при введении пациентам с раком предстательной железы. В дополнение к клиническому результату комбинация также должна быть безопасной и хорошо переноситься при эффективных дозах. В настоящее время невозможно предсказать, какая комбинация будет демонстрировать наилучший общий профиль.

Краткое описание

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения рака предстательной железы путем совместного введения ингибитора бромодомена BET-белков или фармацевтически приемлемой соли или сокристалла ингибитора бромодомена BET-белков и второго терапевтического средства нуждающемуся в этом субъекту.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков вводят одновременно со вторым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков вводят последовательно со вторым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков вводят в одной фармацевтической композиции со вторым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков и второе терапевтическое средство вводят как отдельные композиции.

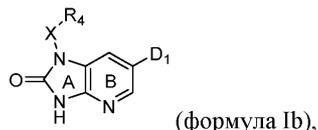
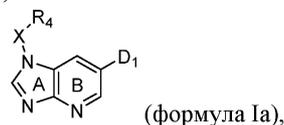
В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой сред-

ство, эффективное при лечении рака предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой средство андрогендепривационной терапии. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой антагонист андрогенового рецептора. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор синтеза андрогенов.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы представляет собой метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы (mCRPC).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков представляет собой соединение формулы Ia или формулы Ib,

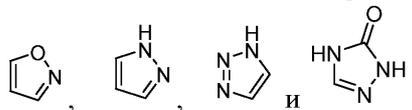


или его стереоизомер, таутомер, фармацевтически приемлемую соль, или сокристалл, или гидрат, где кольцо A и кольцо B могут быть необязательно замещены группами, независимо выбранными из водорода, дейтерия, -NH₂, amino, (C₄-C₆)гетероцикла, (C₄-C₆)карбоцикла, галогена, -CN, -OH, -CF₃, (C₁-C₆)алкила, (C₁-C₆)тиоалкила, (C₂-C₆)алкенила и (C₁-C₆)алкокси;

X выбран из -NH-, -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH₂O-, -CH₂CH₂NH-, -CH₂CH₂S-, -C(O)-, -C(O)CH₂-, -C(O)CH₂CH₂-, -CH₂C(O)-, -CH₂CH₂C(O)-, -C(O)NH-, -C(O)O-, -C(O)S-, -C(O)NHCH₂-, -C(O)OCH₂-, -C(O)SCH₂-, где один или несколько атомов водорода могут быть независимо заменены на дейтерий, гидроксил, метил, галоген, -CF₃, кетон, и где атом S может быть окислен до сульфоксида или сульфона;

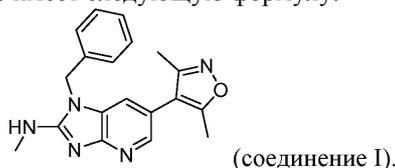
R₄ выбран из необязательно замещенных 3-7-членных карбоциклов или гетероциклов; и

D₁ выбран из следующих 5-членных моноциклических гетероциклов:



которые необязательно замещены водородом, дейтерием, (C₁-C₄)алкилом, (C₁-C₄)алкокси, amino, галогеном, амидом, -CF₃, -CN, -N₃, (C₁-C₄)кетонном, -S(O)-(C₁-C₄)алкилом, -SO₂-(C₁-C₄)алкилом, -(C₁-C₄)тиоалкилом, -COOH и/или сложным эфиром, каждый из которых может быть необязательно замещен водородом, F, Cl, Br, -OH, -NH₂, -NHMe, -OMe, -SMe, оксо и/или тио-оксо.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков представляет собой 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, в данном документе называемый соединением I, которое имеет следующую формулу:



В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков представляет собой соединение I или его фармацевтически приемлемую соль или сокристалл. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков представляет собой мезилатную соль/сокристалл соединения I в кристаллической форме I.

В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению демонстрирует неожиданно превосходный профиль безопасности, поскольку она не приводит к дозозаменяющей токсичности, обусловленной тромбоцитопенией. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению демонстрирует синергические терапевтические эффекты.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показан эффект (ингибирование) соединения I, энзалутамида и комбинации соединения I и энзалутамида на пролиферацию клеток VCaP (AR-положительные, амплификация гена AR, слияние TMPRSS2-ERG).

На фиг. 2 показан эффект (ингибирование) соединения I, апалутамида (ARN-509) и комбинации соединения I и апалутамида на пролиферацию клеток VCaP (AR-положительные, амплификация гена AR, слияние TMPRSS2-ERG).

На фиг. 3 показан эффект (ингибирование) соединения I, абиратерона и комбинации соединения I и

абиратерона на пролиферацию клеток LAPC4.

На фиг. 4 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) мезилатной соли/сокристалла соединения I.

На фиг. 5 показана термограмма, полученная с помощью дифференциального сканирующего калориметра (DSC), для мезилатной соли/сокристалла соединения I.

На фиг. 6 показан термогравиметрический анализ (TGA) мезилатной соли/сокристалла соединения I.

На фиг. 7 показаны кривые выживаемости Каплана-Мейера для пациентов, подвергнутых лечению с помощью соединения I и энзалутамида, которые ранее демонстрировали прогрессирование заболевания при применении либо абиратерона, либо энзалутамида, и для всех пациентов. Число пациентов, событий и медианное значение выживаемости без прогрессирования (PFS) приведены в таблице ниже.

На фиг. 8 показаны кривые Каплана-Мейера для пациентов, подвергнутых лечению с помощью соединения I и энзалутамида, которые имели либо PSA-ответ, либо скачок уровня PSA, либо ни то, ни другое (без модуляции уровня PSA) после 12 недель лечения. Число пациентов, событий и медианное значение выживаемости без прогрессирования (PFS) приведены в таблице ниже.

На фиг. 9 показан пример четырех пациентов с mCRPC, подвергнутых лечению с QD соединения I в комбинации с энзалутамидом, которые имели скачок уровня PSA либо на неделе 4, либо на неделе 8.

На фиг. 10 показано распределение по мутациям или продуктам слияния ETS у пациентов с mCRPC, подвергнутых лечению с помощью QD соединения I в комбинации с энзалутамидом, и то, отвечали ли они на лечение (>24 недель без клинического или радиографического прогрессирования) или не отвечали (≤24 недель до клинического или радиографического прогрессирования).

На фиг. 11 показано распределение по мутациям или продуктам слияния ETS у пациентов с mCRPC, подвергнутых лечению с помощью QD соединения I в комбинации с энзалутамидом, и то, имели ли они скачок уровня PSA или PSA-ответ либо на неделе 4, либо на неделе 8. Пациентов, отвечающих на лечение, определяют по отсутствию клинического или радиографического прогрессирования через >24 недель после введения дозы соединения I, а пациентов, не отвечающих на лечение, определяют по радиографическому или клиническому прогрессированию до ≤24 недель.

На фиг. 12A показана индукция иммунного ответа в опухоли в ответ на комбинацию соединения I с энзалутамидом у пациентов с mCRPC. Оба образца до введения соединения I и после введения соединения I получены в условиях постоянного введения энзалутамида. На фиг. 12B показаны некоторые из генов иммунного ответа, уровни экспрессии которых повышены в опухоли.

Определения

Применяемые в данном документе "лечение" или "осуществление лечения" относятся к уменьшению интенсивности заболевания или нарушения или по меньшей мере одного их заметного симптома. В другом варианте осуществления "лечение" или "осуществление лечения" относятся к уменьшению интенсивности по меньшей мере одного измеряемого физического параметра, не обязательно заметного субъекту. В еще одном варианте осуществления "лечение" или "осуществление лечения" относятся к замедлению прогрессировать заболевания или нарушения, как физическому, например стабилизации заметного симптома, так и физиологическому, например стабилизации физического параметра, или к ним обоим. В еще одном варианте осуществления "лечение" или "осуществление лечения" относятся к отсрочке проявления заболевания или нарушения.

Под "необязательный" или "необязательно" подразумевается, что событие или условие, описанные далее, могут произойти или нет, и что описание включает случаи, при которых событие или условие происходят, и случаи, при которых они не происходят. Например, "необязательно замещенный арил" охватывает как "арил", так и "замещенный арил", определенные ниже. Специалистам в данной области техники будет понятно, что применительно к любой группе, содержащей один или несколько заместителей, не подразумевается, что в такие группы вводятся какие-либо замещения или паттерны замещений, которые являются пространственно неосуществимыми, невыполнимыми с точки зрения химического синтеза и/или нестабильными по своей природе.

Применяемый в данном документе термин "гидрат" относится к кристаллической форме с водой, включенной в кристаллическую структуру в стехиометрическом или нестехиометрическом количестве.

Применяемый в данном документе термин "алкенил" относится к ненасыщенному углеводороду с неразветвленной или разветвленной цепью, имеющему по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь, такому как группа из 2-8 атомов углерода с неразветвленной или разветвленной цепью, обозначаемая в данном документе как (C₂-C₈)алкенил. Иллюстративные алкенильные группы включают без ограничения винил, аллил, бутенил, пентенил, гексенил, бутаденил, пентаденил, гексаденил, 2-этилгексенил, 2-пропил-2-бутенил и 4-(2-метил-3-бутен)пентенил.

Применяемый в данном документе термин "алкокси" относится к алкильной группе, присоединенной к атому кислорода (-O-алкил-). Группы "алкокси" также включают алкенильную группу, присоединенную к атому кислорода (группа "алкенилокси"), или алкинильную группу, присоединенную к атому кислорода (группа "алкинилокси"). Иллюстративные группы алкокси включают без ограничения группы

с алкильной, алкенильной или алкинильной группой из 1-8 атомов углерода, обозначаемые в данном документе как (C₁-C₈)алкокси. Иллюстративные группы алкокси включают без ограничения метокси и этокси.

Применяемый в данном документе термин "алкил" относится к насыщенному углеводороду с неразветвленной или разветвленной цепью, такому как группа из 1-8 атомов углерода с неразветвленной или разветвленной цепью, обозначаемая в данном документе как (C₁-C₈)алкил. Иллюстративные алкильные группы включают без ограничения метил, этил, пропил, изопропил, 2-метил-1-пропил, 2-метил-2-пропил, 2-метил-1-бутил, 3-метил-1-бутил, 2-метил-3-бутил, 2,2-диметил-1-пропил, 2-метил-1-пентил, 3-метил-1-пентил, 4-метил-1-пентил, 2-метил-2-пентил, 3-метил-2-пентил, 4-метил-2-пентил, 2,2-диметил-1-бутил, 3,3-диметил-1-бутил, 2-этил-1-бутил, бутил, изобутил, трет-бутил, пентил, изопентил, неопентил, гексил, гептил и октил.

Применяемый в данном документе термин "амид" относится к -NRaC(O)(Rb) или -C(O)NRbRc, где каждый из Ra, Rb и Rc независимо выбран из алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, циклоалкила, галогеналкила, гетероарила, гетероциклила и водорода. Амид может быть присоединен к другой группе через атом углерода, атом азота, Ra, Rb или Rc. Амид также может быть циклическим, например, Rb и Rc могут быть соединены с образованием 3-8-членного кольца, такого как 5- или 6-членное кольцо. Термин "амид" охватывает такие группы, как сульфонамид, мочевины, уреиды, карбамат, карбаминовая кислота и их циклические варианты. Термин "амид" также охватывает амидную группу, присоединенную к карбоксильной группе, например, -амид-СООН или соли, такие как -амид-СООNa, аминогруппу, присоединенную к карбоксильной группе (например, -амино-СООН или соли, такие как -амино-СООNa).

Применяемый в данном документе термин "амин" или "амино" относится к структуре -NRdRe или -N(Rd)Re-, где Rd и Re независимо выбраны из алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, карбамата, циклоалкила, галогеналкила, гетероарила, гетероцикла и водорода. Аминогруппа может быть присоединена к группе исходной молекулы через атом азота. Аминогруппа также может быть циклической, например, любые два из Rd и Re могут быть соединены вместе или с N с образованием 3-12-членного кольца (например, морфолино или пиперидинила). Термин амина также включает соответствующую соль четвертичного аммония любой аминогруппы. Иллюстративные аминогруппы включают алкиламиногруппы, где по меньшей мере один из Rd или Re представляет собой алкильную группу. В некоторых вариантах осуществления каждый из Rd и Re может быть необязательно замещен гидроксильной группой, галогеном, алкокси, сложным эфиром или амином.

Применяемый в данном документе термин "арил" относится к ароматической системе из одного, двух или нескольких карбоциклических колец. Арильная группа может быть необязательно конденсирована с одним или несколькими кольцами, выбранными из арилов, циклоалкилов и гетероциклических. Арильные группы по настоящему изобретению могут быть замещены группами, выбранными из алкокси, арилокси, алкила, алкенила, алкинила, амида, амина, арила, арилалкила, карбамата, карбокси, пиано, циклоалкила, сложного эфира, простого эфира, формила, галогена, галогеналкила, гетероарила, гетероциклила, гидроксила, кетона, нитро, фосфата, сульфида, сульфенила, сульфонила, сульфоновой кислоты, сульфонамида и тиокетона. Иллюстративные арильные группы включают без ограничения фенил, толил, антраценил, флуоренил, инденил, азуленил и нафтил, а также карбоциклические фрагменты с конденсированными бензолами, такие как 5,6,7,8-тетрагидронафтил. Иллюстративные арильные группы также включают без ограничения моноциклическую кольцевую ароматическую систему, в которой кольцо содержит 6 атомов углерода, обозначаемую в данном документе как "(C₆)арил".

Применяемый в данном документе термин "арилалкил" относится к алкильной группе, имеющей по меньшей мере один арильный заместитель (например, -арил-алкил-). Иллюстративные арилалкильные группы включают без ограничения арилалкилы, имеющие моноциклическую кольцевую ароматическую систему, в которой кольцо содержит 6 атомов углерода, обозначаемую в данном документе как "(C₆)арилалкил".

Применяемый в данном документе термин "карбамат" относится к структуре -RgOC(O)N(Rh)-, -RgOC(O)N(Rh)Ri- или -OC(O)NRhRi, в которой каждый из Rg, Rh и Ri независимо выбран из алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, циклоалкила, галогеналкила, гетероарила, гетероциклила и водорода. Иллюстративные карбаматы включают без ограничения арилкарбаматы или гетероарилкарбаматы (например, в которых по меньшей мере один из Rg, Rh и Ri независимо выбран из арила или гетероарила, такого как пиридин, пиридазин, пиримидин и пиазин).

Применяемый в данном документе термин "карбоцикл" относится к арильной или циклоалкильной группе.

Применяемый в данном документе термин "карбокси" относится к -СООН или к соответствующим солям карбоновых кислот (например, -СООNa). Термин "карбокси" также включает "карбоксикарбонил", например карбоксигруппу, присоединенную к карбонильной группе, например -C(O)-СООН, или соли, такие как -C(O)-СООNa.

Применяемый в данном документе термин "циклоалкокси" относится к циклоалкильной группе, присоединенной к атому кислорода.

Применяемый в данном документе термин "циклоалкил" относится к насыщенным или ненасыщен-

ным циклическим, бициклическим углеводородным группам или бициклическим группам с мостиковой связью из 3-12 атомов углерода или 3-8 атомов углерода, обозначаемым в данном документе как "(C₃-C₈)циклоалкил", происходящим из циклоалкана. Иллюстративные циклоалкильные группы включают без ограничения циклогексаны, циклогексены, циклопентаны и циклопентены. Циклоалкильные группы могут быть замещены алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амино, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, циклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклилом, гидроксилом, кетоном, нитро, фосфатом, сульфидом, сульфинилом, сульфонилом, сульфоновой кислотой, сульфонамидом или тиокетоном. Циклоалкильные группы могут быть конденсированы с другими насыщенными или ненасыщенными циклоалкильными, арильными или гетероциклильными группами.

Применяемый в данном документе термин "дикарбоновая кислота" относится к группе, содержащей по меньшей мере две карбоксильные группы, как, например, дикарбоновым кислотам на основе насыщенных и ненасыщенных углеводородов и их солям. Иллюстративные дикарбоновые кислоты включают алкилдикарбоновые кислоты. Дикарбоновые кислоты могут быть замещены алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амино, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, циклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклилом, водородом, гидроксилом, кетоном, нитро, фосфатом, сульфидом, сульфинилом, сульфонилом, сульфоновой кислотой, сульфонамидом или тиокетоном. Дикарбоновые кислоты включают без ограничения янтарную кислоту, глутаровую кислоту, адипиновую кислоту, субериновую кислоту, себациновую кислоту, азелаиновую кислоту, малеиновую кислоту, фталевую кислоту, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, малоновую кислоту, фумаровую кислоту, (+)/(-)-яблочную кислоту, (+)/(-) винную кислоту, изофталевую кислоту и терефталевую кислоту. Дикарбоновые кислоты дополнительно включают производные соответствующих карбоновых кислот, такие как ангидриды, имиды, гидразиды (например, ангидрид янтарной кислоты и сукцинимид).

Термин "сложный эфир" относится к структуре -C(O)O-, -C(O)O-Rj-, -RkC(O)O-Rj- или -RkC(O)O-, где атом O не соединен с водородом, а Rj и Rk независимо могут быть выбраны из алкокси, арилокси, алкила, алкенила, алкинила, амида, амино, арила, арилалкила, циклоалкила, простого эфира, галогеналкила, гетероарила и гетероциклила. Rk может представлять собой водород, но Rj не может представлять собой водород. Сложный эфир может быть циклическим, например, атом углерода и Rj, атом кислорода и Rk или Rj и Rk могут быть соединены с образованием 3-12-членного кольца. Иллюстративные сложные эфиры включают без ограничения алкиловые сложные эфиры, где по меньшей мере один из Rj или Rk представляет собой алкил, такие как -O-C(O)-алкил, -C(O)-O-алкил- и -алкил-C(O)-O-алкил-. Иллюстративные сложные эфиры также включают ариловые или гетероарильные сложные эфиры, например, где по меньшей мере один из Rj или Rk представляет собой гетероарильную группу, такую как пиридин, пиридазин, пиримидин и пиразин, как, например, никотинатный сложный эфир. Иллюстративные сложные эфиры также включают обратные сложные эфиры, имеющие структуру -RkC(O)O-, где атом кислорода связан с исходной молекулой. Иллюстративные обратные сложные эфиры включают сукцинат, D-аргининат, L-аргининат, L-лизинат и D-лизинат. Сложные эфиры также включают ангидриды карбоновых кислот и галоидангидриды кислот.

Применяемые в данном документе термины "галогено" или "галоген" относятся к F, Cl, Br или I.

Применяемый в данном документе термин "галогеналкил" относится к алкильной группе, замещенной одним или несколькими атомами галогена. "Галогеналкилы" также охватывают алкенильные или алкинильные группы, замещенные одним или несколькими атомами галогена.

Применяемый в данном документе термин "гетероарил" относится к ароматической системе из одного, двух или нескольких колец, содержащих один или несколько гетероатомов, например 1-3 гетероатома, таких как атом азота, кислорода и серы. Гетероарилы могут быть замещены одним или несколькими заместителями, в том числе алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амино, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, циклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклилом, гидроксилом, кетоном, нитро, фосфатом, сульфидом, сульфинилом, сульфонилом, сульфоновой кислотой, сульфонамидом или тиокетоном. Гетероарилы также могут быть конденсированы с неароматическими кольцами. Иллюстративные примеры гетероарильных групп включают без ограничения пиридинил, пиридазинил, пиримидин, пиразил, триазинил, пирролил, пирозолил, имидазолил, (1,2,3)- и (1,2,4)-триазолил, пиазинил, пирамидилил, тетразолил, фурил, тиенил, изоксазолил, тиазолил, фурил, фенил, изоксазолил и оксазолил. Иллюстративные гетероарильные группы включают без ограничения моноциклическое ароматическое кольцо, где кольцо содержит 2-5 атомов углерода и 1-3 гетероатома, обозначаемое в данном документе как "(C₂-C₅)гетероарил".

Применяемые в данном документе термины "гетеропикл", "гетероциклил" или "гетероциклический" относятся к насыщенным или ненасыщенным 3-, 4-, 5-, 6- или 7-членным кольцам, содержащим один, два или три гетероатома, независимо выбранные из атома азота, кислорода и серы. Гетероциклы могут быть ароматическими (гетероарилы) или неароматическими. Гетероциклы могут быть замещены одним или несколькими заместителями, в том числе алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, ами-

дом, амина, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, циклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклом, гидроксилом, кетоном, нитро, фосфатом, сульфидом, сульфенилом, сульфонилем, сульфоновой кислотой, сульфонамидом или тиокетоном. Гетероциклы также включают бициклические, трициклические и тетрациклические группы, в которых любое из вышеупомянутых гетероциклических колец конденсировано с одним или двумя кольцами, независимо выбранными из арилов, циклоалкилов и гетероциклов. Иллюстративные гетероциклы включают акридинил, бензимидазолил, бензофурил, бензотиазолил, бензотиенил, бензоксазолил, биотинил, циннолинил, дигидрофурил, дигидроиндолил, дигидропиранил, дигидротиенил, дитиазолил, фурил, гомопиперидинил, имидазолидинил, имидазолинил, имидазолил, индолил, изохинолил, изотиазолидинил, изотиазолил, изоксазолидинил, изоксазолил, морфолинил, оксадиазолил, оксазолидинил, оксазолил, пиперазинил, пиперидинил, пиранилил, пиразолидинил, пиразинил, пиразолил, пиразолинил, пиридазинил, пиридил, пиримидинил, пиримидин, пирролидинил, пирролидин-2-онил, пирролинил, пирролил, хинолинил, хиноксалоил, тетрагидрофурил, тетрагидроизохинолил, тетрагидропиранил, тетрагидрохинолил, тетразолил, тиадиазолил, тиазолидинил, тиазолил, тиенил, тиоморфолинил, тиопиранилил и триазолил.

Применяемые в данном документе термины "гидрокси" и "гидроксил" относятся к -ОН.

Применяемый в данном документе термин "гидроксиалкил" относится к гидроксильной группе, присоединенной к алкильной группе.

Применяемый в данном документе термин "гидроксиарил" относится к гидроксильной группе, присоединенной к арильной группе.

Применяемый в данном документе термин "кетон" относится к структуре $-C(O)-R_n$ (такой как ацетил, $-C(O)CH_3$) или $-R_n-C(O)-R_o$. Кетон может быть присоединен к другой группе через R_n или R_o . R_n или R_o могут представлять собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклил или арил, или R_n или R_o могут быть соединены с образованием 3-12-членного кольца.

Применяемый в данном документе термин "фенил" относится к 6-членному карбоциклическому ароматическому кольцу. Фенильная группа также может быть конденсирована с циклогексановым или циклопентановым кольцом. Фенил может быть замещен одним или несколькими заместителями, в том числе алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амина, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, циклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклом, гидроксилом, кетоном, фосфатом, сульфидом, сульфенилом, сульфонилем, сульфоновой кислотой, сульфонамидом и тиокетоном.

Применяемый в данном документе термин "тиоалкил" относится к алкильной группе, присоединенной к атому серы (-S-алкил-).

"Алкильные", "алкенильные", "алкинильные", "алкокси", "амино" и "амидные" группы могут быть необязательно замещены по меньшей мере одной группой, выбранной из алкокси, арилокси, алкила, алкенила, алкинила, амида, амина, арила, арилалкила, карбамата, карбонила, карбокси, пиано, циклоалкила, сложного эфира, простого эфира, формула, галогена, галогеналкила, гетероарила, гетероциклила, гидроксила, кетона, фосфата, сульфида, сульфенила, сульфонилем, сульфоновой кислоты, сульфонамида, тиокетона, уреида и N, или прерываться ею или разветвляться с помощью нее. Заместители могут быть разветвленными с образованием замещенных или незамещенных гетероцикла или циклоалкила.

Как применяется в данном документе, подходящее замещение на необязательно замещенном заместителе относится к группе, которая не приводит к исчезновению синтетической или фармацевтической применимости соединений по настоящему изобретению или промежуточных соединений, применимых при их получении. Примеры подходящих замещений включают без ограничения: C_{1-8} алкил, алкенил или алкинил; C_{1-6} арил, C_{2-5} гетероарил; C_{3-7} циклоалкил; C_{1-8} алкокси; C_6 арилокси; -CN; -ОН; оксо; галоген, карбокси; амина, такую как -NH(C_{1-8} алкил), -N(C_{1-8} алкил)₂, -NH(C_6 арил) или -N((C_6 арил)₂); формил; кетоны, такие как -CO(C_{1-8} алкил), -CO(C_6 арил)-сложные эфиры, такие как -CO₂(C_{1-8} алкил) и -CO₂(C_6 арил). Специалист в данной области техники сможет легко выбрать подходящее замещение, исходя из стабильности, а также фармакологической и синтетической активности соединения по настоящему изобретению.

Применяемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемая композиция" относится к композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение, раскрытое в данном документе, которое составлено с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

Применяемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится ко всевозможным растворителям, дисперсионным средам, покрытиям, изотоническим и замедляющим всасывание средствам и т. п., которые являются совместимыми с фармацевтическим введением. Применение таких сред и средств для фармацевтически активных веществ широко известно в данной области техники. Композиции также могут содержать другие активные соединения, обеспечивающие вспомогательные, дополнительные или расширенные терапевтические функции.

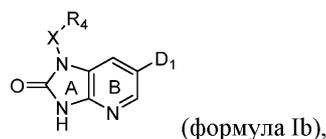
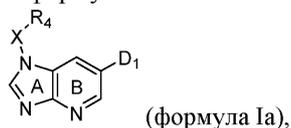
Применяемый в данном документе термин "прогрессирование заболевания" относится к повышению содержания специфического антигена простаты ("PSA") и/или к прогрессированию метастазирования. В некоторых вариантах осуществления прогрессирование заболевания определяется согласно описанию в руководствах Рабочей группы по раку предстательной железы (PCWG)2 (Scher et al. 2008). В

некоторых вариантах осуществления прогрессирование заболевания происходит у субъектов, которые ранее получали андрогендепривационную терапию.

Иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения

Как обобщено выше, в настоящем изобретении предусмотрены способы лечения рака предстательной железы путем одновременного введения ингибитора бромодомена ВЕТ-белков или его фармацевтически приемлемой соли или сокристаллов ингибитора бромодомена ВЕТ-белков и второго терапевтического средства нуждающемуся в этом субъекту.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ лечения рака предстательной железы, включающий одновременное введение нуждающемуся в этом субъекту ингибитора бромодомена ВЕТ-белков формулы Ia или формулы Ib:



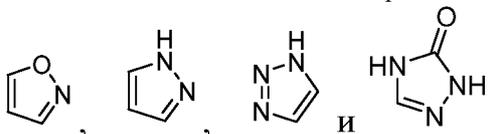
или его стереоизомера, таутомера, фармацевтически приемлемой соли, или сокристалла, или гидрата и второго терапевтического средства, где:

кольцо А и кольцо В могут быть необязательно замещены группами, независимо выбранными из водорода, дейтерия, $-NH_2$, амина, (C_4-C_6) гетероцикла, (C_4-C_6) карбоцикла, галогена, $-CN$, $-OH$, $-CF_3$, (C_1-C_6) алкила, (C_1-C_6) гиоалкила, (C_1-C_6) алкенила и (C_1-C_6) алкокси;

X выбран из $-NH-$, $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2O-$, $-CH_2CH_2NH-$, $-CH_2CH_2S-$, $-C(O)-$, $-C(O)CH_2-$, $-C(O)CH_2CH_2-$, $-CH_2C(O)-$, $-CH_2CH_2C(O)-$, $-C(O)NH-$, $-C(O)O-$, $-C(O)S-$, $-C(O)NHCH_2-$, $-C(O)OCH_2-$, $-C(O)SCH_2-$, где один или несколько атомов водорода могут быть независимо заменены на дейтерий, гидроксил, метил, галоген, $-CF_3$, кетон, и где атом S может быть окислен до сульфоксида или сульфона;

R_4 выбран из необязательно замещенных 3-7-членных карбоциклов или гетероциклов; и

D_1 выбран из следующих 5-членных моноциклических гетероциклов:



которые необязательно замещены водородом, дейтерием, (C_1-C_4) алкилом, (C_1-C_4) алкокси, амино, галогеном, амидом, $-CF_3$, $-CN$, $-N_3$, (C_1-C_4) кетонном, $-S(O)-(C_1-C_4)$ алкилом, $-SO_2-(C_1-C_4)$ алкилом, $-(C_1-C_4)$ гиоалкилом, $-COOH$ и/или сложным эфиром, каждый из которых может быть необязательно замещен водородом, F, Cl, Br, $-OH$, $-NH_2$, $-NHMe$, $-OMe$, $-SMe$, оксо и/или тио-оксо.

Соединения формул Ia и Ib, в том числе соединение I, были описаны ранее в международной патентной публикации WO 2015/002754, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, и в частности для описания соединений формулы Ia и формулы Ib, в том числе соединения I, их синтеза и демонстрации их активности как ингибитора бромодомена ВЕТ-белков.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков формулы Ia или формулы Ib выбран из:

- 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-этил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин;
- 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин;
- N,1-добензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин;
- 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-(пиридин-3-илметил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин;
- 4-(1-бензил-2-(пирролидин-1-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил)-3,5-диметилизоксазола;
- 4-(2-(азетидин-1-ил)-1-(циклопентилметил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил)-3,5-диметилизоксазола;
- 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин;
- 1-(циклопентилметил)-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин;
- 4-амино-1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она;
- 4-амино-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1-(4-метоксибензил)-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она;
- 4-амино-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1-(1-фенилэтил)-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она;
- 4-амино-1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-3-метил-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она или их фармацевтически приемлемой соли или сокристалла.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ лечения рака предстательной железы, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту соединения, выбранного из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I) и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов, одновременно с другим терапевтическим средством.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрен способ лечения рака предстательной железы, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту соединения, выбранного из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I) и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов, одновременно как с другим терапевтическим средством, так и с ингибитором иммунных контрольных точек.

В одном варианте осуществления второе средство представляет собой антагонист андрогенового рецептора.

В одном варианте осуществления второе средство представляет собой ингибитор синтеза андрогенов.

В одном варианте осуществления второе средство представляет собой энзалутамид.

В одном варианте осуществления второе средство представляет собой апалутамид.

В одном варианте осуществления второе средство представляет собой даролутамид.

В одном варианте осуществления второе средство представляет собой абиратерон.

В одном варианте осуществления второе средство представляет собой антагонист андрогенового рецептора, и его вводят в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек.

В одном варианте осуществления второе средство представляет собой ингибитор синтеза андрогенов, и его вводят в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунных контрольных точек представляет собой ингибитор PD-1, PD-L1 или ингибитор CTL-4.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунных контрольных точек представляет собой ипилимумаб, ниволумаб, пембролизумаб PD-1, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб или цемиплимаб.

В одном варианте осуществления рак предстательной железы представляет собой кастрационно-резистентный рак предстательной железы или метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью средства терапии рака предстательной железы.

В одном варианте осуществления средство терапии рака предстательной железы представляет собой средство андрогендепривационной терапии.

В одном варианте осуществления у субъекта ранее наблюдалось прогрессирование заболевания при применении андрогендепривационной терапии.

В одном варианте осуществления пациент все еще продолжает отвечать на андрогендепривационную терапию.

В одном варианте осуществления субъект ранее не подвергался лечению с помощью андрогендепривационной терапии.

В одном варианте осуществления средство андрогендепривационной терапии представляет собой энзалутамид, апалутамид или абиратерон.

В одном варианте осуществления фармацевтически приемлемая соль или сокристалл представляют собой мезилатную соль или сокристалл.

В одном варианте осуществления у субъекта имеется бессимптомное заболевание без метастазирования с ростом уровня PSA и рентгенограммами, отрицательными по измеряемому заболеванию.

В одном варианте осуществления у субъекта имеется метастатическое заболевание с ростом уровня PSA и рентгенограммами, положительными по измеряемому заболеванию, и он не подвергался лечению с помощью андрогендепривационной терапии или химиотерапии (предварительному введению таксана).

В одном варианте осуществления у субъекта имеется метастатическое заболевание с ростом уровня PSA и рентгенограммами, положительными по измеряемому заболеванию, и он не подвергался лечению с помощью абиратерона, энзалутамида или апалутамида или химиотерапии (предварительному введению таксана).

В одном варианте осуществления у субъекта имеется бессимптомное заболевание без метастазирования с рентгенограммами, отрицательными по измеряемому заболеванию, и без роста уровня PSA.

В одном варианте осуществления у субъекта имеется метастатическое заболевание с рентгенограммами, положительными по метастатическому заболеванию, но без роста уровня PSA, и он не подвергался лечению с помощью андрогендепривационной терапии или химиотерапии (предварительному введению таксана).

В одном варианте осуществления у субъекта имеется метастатическое заболевание с рентгенограммами, положительными по метастатическому заболеванию, но без роста уровня PSA, и он не подвергался

лечению с помощью абиратерона, энзалутамида или апалутамида или химиотерапии (предварительному введению таксана).

В одном варианте осуществления у субъекта имеется метастатическое заболевание, и он подвергался лечению с помощью абиратерона, энзалутамида или апалутамида, но не получал химиотерапию (предварительное введение таксана).

В одном варианте осуществления одновременное лечение с помощью андрогендепривационной терапии с соединением, выбранным из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I) и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов, субъекта, который ранее не получал химиотерапию (предварительное введение таксана), демонстрирует неожиданно превосходный профиль безопасности за счет отсутствия тромбоцитопении в качестве дозолIMITИРУЮЩЕЙ токсичности.

В одном варианте осуществления у субъекта имеется метастатическое заболевание, и он подвергался лечению с помощью абиратерона, энзалутамида или апалутамида, но не получал химиотерапию (предварительное введение таксана), при этом его лечение с помощью другой андрогендепривационной терапии не рекомендовано.

В одном варианте осуществления у субъекта имеется метастатическое заболевание, и он подвергался лечению с помощью андрогендепривационной терапии и химиотерапии.

В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков, описанный в данном документе, вводят одновременно с другим терапевтическим средством и необязательно дополнительно в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек. Применяемое в данном документе "одновременно" означает, что ингибитор бромодомена ВЕТ-белков и другое терапевтическое средство вводят с временным интервалом в несколько секунд (например, 15 с, 30 с, 45 с, 60 с или менее), в несколько минут (например, 1 мин, 2 мин, 5 мин или менее, 10 мин или менее, 15 мин или менее) или 1-8 часов. При одновременном введении ингибитор бромодомена ВЕТ-белков и другое терапевтическое средство можно вводить в виде двух или более введений, и они содержатся в отдельных композициях или лекарственных формах, которые могут содержаться в одной и той же или другой упаковке или упаковках.

В определенных вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков, вводимый в комбинированной терапии по настоящему изобретению, выбран из: соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, и он вводится субъекту в дозе, составляющей 25-200 мг/день. В некоторых вариантах осуществления соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, вводят субъекту в дозе, составляющей 36-144 мг/день. В некоторых вариантах осуществления соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, для применения в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению вводят субъекту в дозе, составляющей 48 мг - 120 мг/день. В некоторых вариантах осуществления соединения, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, для применения в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению вводят субъекту в дозе, составляющей в 48 мг, 60 мг, 72 мг, 96 мг или 120 мг/день. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в комбинации с 80-160 мг энзалутамида. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в комбинации с 80 мг, 120 мг или 160 мг энзалутамида. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в комбинации с 500-1000 мг абиратерона. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в комбинации с 500 мг, 750 мг или 1000 мг абиратерона. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить комбинации с 120-240 мг апалутамида. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить комбинации с 120 мг, или 180 мг, или 240 мг апалутамида. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединение, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить комбинации с 100-300 мг даролутамида два раза в день. В некоторых вариантах осуществления 36-144 мг соединения I вводят в комбинации с 80-160 мг энзалутамида, 500-1000 мг абиратерона, 120-240 мг апалутамида или 100-300 мг даролутамида два раза в день.

В определенных вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков, вводимый в комбинированной терапии по настоящему изобретению, выбран из фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, и его вводят субъекту при уровне дозировки, который обеспечивает воздействие на человека, ана-

логичное количеству, составляющему 25-200 мг/день соответствующего свободного основания. В определенных вариантах осуществления соединения, выбранное из фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению при уровне дозировки, который обеспечивает воздействие на человека, аналогичное количеству, составляющему 36-144 мг/день соответствующего свободного основания. В определенных вариантах осуществления соединения, выбранное из фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению при уровне дозировки, который обеспечивает воздействие на человека, аналогичное количеству, составляющему 48 мг - 96 мг/день соответствующего свободного основания. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединения, выбранное из фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в комбинации с 80-160 мг энзалутамида, 500-1000 мг абиратерона или 120-240 мг апалутамида.

В определенных вариантах осуществления субъект характеризуется активацией факторов транскрипции семейства ETS, обусловленной или активирующими мутациями и/или транслокациями, в том числе TMPRSS2-ERG, SLC45A3-ERG, NDRG1-ERG, DUX4-ERG, ELF4-ERG, ELK4-ERG, BZW2-ERG, CIDEC-ERG, DYRK1A-ERG, EWSR1-ERG, FUS-ERG, GMPR-ERG, HERPUD1-ERG, KCNJ6-ERG, ZNRF3-ERG, ETS2-ERG, ETV1-ERG, HNRNPH1-ERG, PAK1-ERG, PRKAB2-ERG, SMG6-ERG, SLC45A3-FLI1, TMPRSS2-ETV1, SLC45A3-ETV1, FOXP1-ETV1, EST14-ETV1, HERVKi7-ETV1, ERVK-24-ETV1, C15ORF21-ETV1, HNRPA2B1-ETV1, ACSL3-ETV1, OR51E2-ETV1, ETV1 S100R, RBM25-ETV1, ACPP-ETV1, BMPR1B-ETV1, CANT1-ETV1, ERO1A-ETV1, CPED1-ETV1, HMGN2P46-ETV1, HNRNPA2B1-ETV1, SMG6-ETV1, FUBP1-ETV1, KLK2-ETV1, MIPOL1-ETV1, SLC30A4-ETV1, EWSR1-ETV1, TMPRSS2-ETV4, KLK2-ETV4, CANT1-ETV4, DDX5-ETV4, UBTF-ETV4, DHX8-ETV4, CCL16-ETV4, EDIL3-ETV4, EWSR1-ETV4, SLC45A3-ETV4, UBTF-ETV4, XPO7-ETV4, TMPRSS2-ETV5, SLC45A3-ETV5, ACTN4-ETV5, EPG5-ETV5, LOC284889-ETV5, RNF213-ETV5, SLC45A3-ELK4.

В определенных вариантах осуществления субъект характеризуется активацией факторов транскрипции семейства ETS, обусловленной или активирующими мутациями и/или транслокациями, в том числе в некоторых вариантах осуществления субъект характеризуется активацией TMPRSS2-ERG, представителя факторов транскрипции семейства ETS, обусловленной или активирующими мутациями и/или транслокациями.

В определенных вариантах осуществления субъекта характеризуется менее чем 2,5-кратным повышением уровня PSA через 12 недель лечения.

В определенных вариантах осуществления субъекта характеризуется по меньшей мере 2-кратным снижением уровня PSA через 12 недель лечения.

В определенных вариантах осуществления субъект характеризуется скачком уровня PSA либо через 4 недели, либо через 8 недель лечения. Скачок через 4 недели определяется как повышение уровня PSA через 4 недели лечения по сравнению с началом лечения соединением I (неделя 0) с последующим снижением уровня PSA от недели 4 до недели 8 лечения. Скачок через 8 недель определяется как повышение уровня PSA через 8 недель лечения по сравнению с 4 неделями лечения (неделя 4) с последующим снижением уровня PSA от недели 8 до недели 12 лечения.

Список литературы

- Aggarwal, R., Zhang, T., Small, E. J. & Armstrong, A. J. (2014) Neuroendocrine prostate cancer: subtypes, biology, and clinical outcomes. *J Natl Compr Canc Netw*, 12(5), 719-26.
- Antonarakis, E. S., Lu, C., Wang, H., Luber, B., Nakazawa, M., Roeser, J. C., Chen, Y., Mohammad, T. A., Chen, Y., Федили, H. L., Lotan, T. L., Zheng, Q., De Marzo, A. M., Isaacs, J. T., Isaacs, W. B., Nadal, R., Paller, C. J., Denmeade, S. R., Carducci, M. A., Eisenberger, M. A. & Luo, J. (2014) AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med*, 371(11), 1028-38.
- Arora, V. K., Schenkein, E., Murali, R., Subudhi, S. K., Wongvipat, J., Balbas, M. D., Shah, N., Cai, L., Efstathiou, E., Logothetis, C., Zheng, D. & Sawyers, C. L. (2013) Glucocorticoid receptor confers resistance to antiandrogens by bypassing androgen receptor blockade. *Cell*, 155(6), 1309-22.
- Asangani, I. A., Dommeti, V. L., Wang, X., Malik, R., Cieslik, M., Yang, R., Escara-Wilke, J., Дикого типаer-Romans, K., Dhanireddy, S., Engelke, C., Iyer, M. K., Jing, X., Wu, Y. M., Cao, X., Qin, Z. S., Wang, S., Feng, F. Y. & Chinnaiyan, A. M. (2014) Therapeutic targeting of BET bromodomain proteins in castration-resistant prostate cancer. *Nature*, 510(7504), 278-82.
- Asangani, I. A., Wilder-Romans, K., Dommeti, V. L., Krishnamurthy, P. M., Apel, I. J., Escara-Wilke, J., Plymate, S. R., Navone, N. M., Wang, S., Feng, F. Y. & Chinnaiyan, A. M. (2016) BET Bromodomain Inhibitors Enhance Efficacy and Disrupt Resistance to AR Antagonists in the Treatment of Prostate Cancer. *Mol Pak Res*, 14(4), 324-31.
- Azad, A. A., Volik, S. V., Wyatt, A. W., Haegert, A., Le Bihan, S., Bell, R. H., Anderson, S. A., McConeghy, B., Shukin, R., Bazov, J., Youngren, J., Paris, P., Thomas, G., Small, E. J., Wang, Y., Gleave, M. E., Collins, C. C. & Chi, K. N. (2015b) Androgen receptor gene aberrations in circulating cell-free DNA: biomarkers of therapeutic resistance in castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 21(10), 2315-24.
- Beltran, H., Tomlins, S., Aparicio, A., Arora, V., Rickman, D., Ayala, G., Huang, J., True, L., Gleave, M. E., Soule, H., Logothetis, C. & Rubin, M. A. (2014) Aggressive variants of castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 20(11), 2846-50.

Bianchini, D., Lилиенте, D., Rodriguez-Vida, A., Omlin, A., Pezaro, C., Ferraldeschi, R., Zivi, A., Attard, G., Chowdhury, S. & de Bono, J. S. (2014) Antitumour activity of enzalutamide (MDV3100) in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (CRPC) pre-treated with docetaxel and abiraterone. *Eur J Cancer*, 50(1), 78-84.

Ceribelli, M., Kelly, P. N., Shaffer, A. I., Wright, G. W., Xiao, W., Yang, Y., Mathews Griner, L. A., Guha, R., Shinn, P., Keller, J. M., Liu, D., Patel, P. R., Ferrer, M., Joshi, S., Nerle, S., Sandy, P., Нилимант, E., Thomas, C. J. & Staudt, L. M. (2014) Blockade of oncogenic IkarappaB kinase activity in diffuse large B-cell lymphoma by bromodomain and extraterminal domain protein inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111(31), 11365-70.

Chan, S. C., Selth, L. A., Li, Y., Nyquist, M. D., Miao, L., Bradner, J. E., Raj, G. V., Tilley, W. D. & Dehm, S. M. (2015) Targeting chromatin binding regulation of constitutively active AR variants to overcome prostate cancer resistance to endocrine-based therapies. *Nucleic Acids Res*, 43(12), 5880-97.

Chou, T.C. and Talalay, P., (1984) Quantitative analysis of dose-effect relationships: The combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors, *Advances in Enzyme Regulation* 22, 27-55.

Dang, Q., Li, L., Xie, H., He, D., Chen, J., Song, W., Chang, L. S., Chang, H. C., Yeh, S. & Chang, C. (2015) Anti-androgen enzalutamide enhances prostate cancer neuroendocrine (NE) differentiation via altering the infiltrated mast cells --> androgen receptor (AR) --> miRNA32 signals. *Mol Oncol*, 9(7), 1241-51.

Gallagher, S. J., Mijatov, B., Gunatilake, D., Gowrishankar, K., Tiffen, J., James, W., Jin, L., Pupo, G., Cullinane, C., McArthur, G. A., Tummino, P. J., Rizos, H. & Hersey, P. (2014) Control of NF-kB activity in human melanoma by bromodomain and extra-terminal protein inhibitor I-BET151. *Pigment Cell Melanoma Res*, 27(6), 1126-37.

Gao, L., Schwartzman, J., Gibbs, A., Lisac, R., Kleinschmidt, R., Wilmot, B., Bottomly, D., Coleman, I., Nelson, P., McWeeney, S. & Alumkal, J. (2013) Androgen receptor promotes ligand-independent prostate cancer progression through c-Myc upregulation. *PLoS one*, 8(5), e63563.

Isikbay, M., Otto, K., Kregel, S., Kach, J., Cai, Y., Vander Griend, D. J., Conzen, S. D. & Szmulewitz, R. Z. (2014) Glucocorticoid receptor activity contributes to resistance to androgen-targeted therapy in prostate cancer. *Horm Cancer*, 5(2), 72-89.

Jin, R., Sterling, J. A., Edwards, J. R., DeGraff, D. J., Lee, C., Park, S. I. & Matusik, R. J. (2013) Activation of NF-kappa B signaling promotes growth of prostate cancer cells in bone. *PLoS one*, 8(4), e60983.

Lamb, A. D., Massie, C. E. & Neal, D. E. (2014) The transcriptional programme of the androgen receptor (AR) in prostate cancer. *BJU Int*, 113(3), 358-66.

Loriot, Y., Bianchini, D., Ileana, E., Sandhu, S., Patrikidou, A., Pezaro, C., Albiges, L., Attard, G., Fizazi, K., De Bono, J. S. & Massard, C. (2013) Antitumour activity of abiraterone acetate against metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel and enzalutamide (MDV3100). *Ann Oncol*, 24(7), 1807-12.

Nadiminty, N., Tummala, R., Liu, C., Yang, J., Lou, W., Evans, C. P. & Gao, A. C. (2013) NF-kappaB2/p52 induces resistance to enzalutamide in prostate cancer: role of androgen receptor and its variants. *Mol Cancer Ther*, 12(8), 1629-37.

Nakazawa, M., Antonarakis, E. S. & Luo, J. (2014) Androgen receptor splice variants in the era of enzalutamide and abiraterone. *Horm Cancer*, 5(5), 265-73.

Noonan, K. L., North, S., Bitting, R. L., Armstrong, A. J., Ellard, S. L. & Chi, K. N. (2013) Clinical activity of abiraterone acetate in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after enzalutamide. *Ann Oncol*, 24(7), 1802-7.

Schrader, A. J., Boegemann, M., Ohlmann, C. H., Schnoeller, T. J., Krabbe, L. M., Hajili, T., Jentzmik, F., Stoeckle, M., Schrader, M., Herrmann, E. & Cronauer, M. V. (2014) Enzalutamide in castration-resistant prostate cancer patients progressing after docetaxel and abiraterone. *Eur Urol*, 65(1), 30-6.

Scher, H.I., Halabi, S., Tannock, I., Morris, M., Sternberg, C.N., Carducci, M.A., Eisenberger, M.A., Higano, C., Bubley, G.J., Dreicer, R., Petrylak, D., Kantoff, P., Basch, E., Kelly, W.K., Figg, W.D., Small, E.J., Beer, T.M., Wilding, G., Martin, A., Hussain, M. (2008) Design and End Point of Clinical Trials for Patients with Progressive Prostate Cancer and Castrate Levels of Testosterone: Recommendations of the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group. *J. Clin. Onco.* 26, 1148-1159.

Shah, N., Wang, P., Wongvipat, J., Karthaus, W. R., Abida, W., Armenia, J., Rockowitz, S., Drier, Y., Bernstein, B. E., Long, H. W., Freedman, M. L., Arora, V. K., Zheng, D. & Sawyers, C. L. (2017) Regulation of the glucocorticoid receptor via a BET-dependent enhancer drives antiandrogen resistance in prostate cancer. *Elife*, 6.

Welti, J., Sharp, A., Yuan, W., Dolling, D., Nava Rodrigues, D., Figueiredo, I., Gil, V., Neeb, A., Clarke, M., Seed, G., et al. (2018) Targeting Bromodomain and Extra-Terminal (BET) Family Proteins in Castration-Resistant Prostate Cancer (CRPC). *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 24, 3149-3162.

Wyatt, A. W. & Gleave, M. E. (2015) Targeting the adaptive molecular landscape of castration-resistant prostate cancer. *EMBO Mol Med*, 7(7), 878-94.

Wyce, A., Degenhardt, Y., Bai, Y., Le, B., Korenchuk, S., Crouthame, M. C., McHugh, C. F., Vessella, R., Creasy, C. L., Tummino, P. J. & Barbash, O. (2013) Inhibition of BET bromodomain proteins as a therapeutic approach in prostate cancer. *Oncotarget*, 4(12), 2419-29.

Zeng, W., Sun, H., Meng, F., Liu, Z., Xiong, J., Zhou, S., Li, F., Hu, J., Hu, Z. & Liu, Z. (2015) Nuclear C-MYC expression level is associated with disease progression and potentially predictive of two year overall survival in prostate cancer. *Int J Clin Exp Pathol*, 8(2), 1878-88.

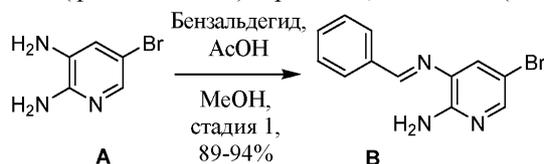
Zou, Z., Huang, B., Wu, X., Zhang, H., Qi, J., Bradner, J., Nair, S. & Chen, L. F. (2014) Brd4 maintains constitutively active NF-kappaB in cancer cells by binding to acetylated RelA. *Oncogene*, 33(18), 2395-404.

Примеры

Среду для культивирования тканей и реагенты получали от ThermoFisher Scientific. Энзалутамид, апалутамид, ацетат абиратерона и даролутамид получали от Selleck Chemicals. Метриболон (R1881) от Toronto Research Chemicals.

Пример 1. Синтез соединения I.

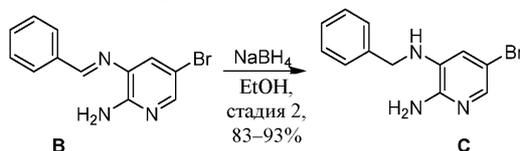
Стадия А. Синтез 5-бром-N³-(фенилметил)пиридин-2,3-диамина (соединение В)



Исходный материал А растворяли в метаноле и уксусной кислоте.

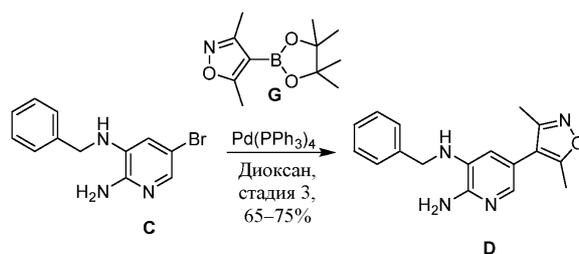
Раствор охлаждали до 0-5°C и по каплям добавляли бензальдегид. Сразу после завершения реакции по каплям добавляли техническую воду и раствор NaHCO₃, поддерживая низкую температуру (0-5°C). Твердое вещество отфильтровывали и промывали смесью метанол/вода 1:1, а затем сушили с получением соединения В при выходе 94% и чистоте +99%, как определено с помощью HPLC. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 8,75 (1H), 8,04 (2H), 7,93 (1H), 7,65 (1H), 7,50-7,60 (3H).

Стадия В. Синтез N³-бензил-5-бромпиридин-2,3-диамина (соединение С)



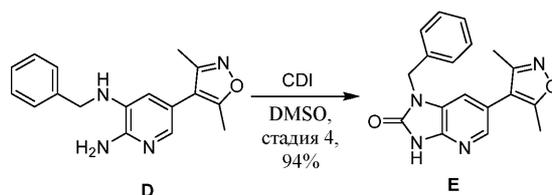
Соединение В растворяли в этаноле и порциями добавляли NaBH₄, поддерживая температуру в диапазоне, составляющем 15-25°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 8-15 ч до завершения реакции, что отслеживали с помощью HPLC. Добавляли раствор HCl, доводя pH до 6-7, а затем техническую воду, поддерживая температуру в диапазоне, составляющем 15-25°C. Смесь перемешивали в течение 1-5 ч, фильтровали и промывали смесью этанол/вода. После сушки при ~60°C в течение 15-20 ч получили соединение С. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 7,2-7,4 (6H), 6,55 (1H), 5,70-5,83 (3H), 4,30 (2H).

Стадия С. Синтез N³-бензил-5-(3,5-диметил-1,2-оксазол-4-ил)пиридин-2,3-диамина (соединение D)



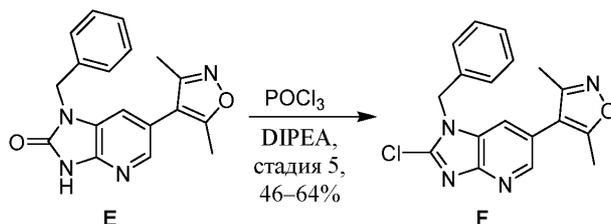
Соединение С, соединение G и тригидрат трехосновного фосфата калия смешивали, а затем добавляли 1,4-диоксан и техническую воду. Полученную смесь тщательно продували азотом. Добавляли тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) и смесь нагревали до $>90^\circ\text{C}$ до тех пор, пока отношение соединения С к соединению D не составило не более 1%. После охлаждения реакционную смесь фильтровали, твердое вещество промывали 1,4-диоксаном и затем концентрировали. Добавляли техническую воду и смесь перемешивали до тех пор, пока количество соединения D, остающееся в маточных растворах, не составило не более 0,5%. Соединение D выделяли посредством фильтрации и последовательно промывали смесью 1,4-диоксан/вода и трет-бутилметиловым эфиром. Влажный осадок на фильтре перемешивали в метиленхлориде и силикагеле. После перемешивания смесь фильтровали, затем концентрировали. Смесь охлаждали и добавляли трет-бутилметилового эфира. Продукт выделяли посредством фильтрации и сушили до тех пор, пока уровни метиленхлорида, трет-бутилметилового эфира и влаги не составили не более 0,5%. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 7,30-7,45 (4H), 7,20-7,25 (2H), 6,35 (1H), 5,65-5,80 (3H), 4,30-4,40 (2H), 2,15 (3H), 1,95 (3H).

Стадия D. Синтез 1-бензил-6-(3,5-диметил-1,2-оксазол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-она (соединение E)



Карбонилдиимидазол в виде твердого вещества добавляли к перемешиваемой смеси соединения D и диметилсульфоксида. Смесь нагревали до тех пор, пока отношение соединения D к соединению E не составило не более 0,5%. Смесь охлаждали и добавляли техническую воду на протяжении нескольких часов. Полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение по меньшей мере 2 ч. Продукт выделяли посредством фильтрации и промывали технической водой. Перед сушкой с применением нагревания и вакуума проверяли, чтобы содержание диметилсульфоксида составляло не более 0,5%. Сушку завершали, когда уровень влаги составлял не более 0,5%, с получением соединения E. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 11,85 (1H), 7,90 (1H), 7,20-7,45 (6H), 5,05 (2H), 3,57 (3H), 2,35 (3H), 2,15 (3H).

Стадия E. Синтез 4-[1-бензил-2-хлор-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил]-3,5-диметил-1,2-оксазола (соединение F)

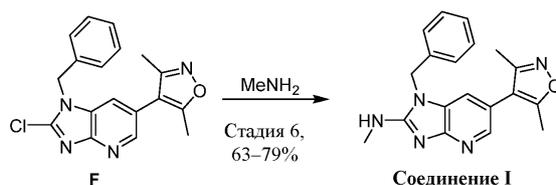


Соединение E и оксихлорид фосфора смешивали, а затем обрабатывали диизопропилэтиламино (DIPEA), который можно добавлять по каплям. Полученную смесь нагревали в течение нескольких часов, охлаждали и отбирали образцы для проверки завершения реакции. Если отношение соединения E к соединению F составляло не более 0,5%, то реакция завершалась. В ином случае реакционную смесь нагревали в течение дополнительного времени и отбирали образцы для проверки, как указано выше. После завершения реакции смесь концентрировали, затем охлаждали. Добавляли этилацетат и смесь концентрировали под вакуумом несколько раз. К концентрату добавляли этилацетат (EtOAc), смесь охлаждали и затем добавляли в водный раствор бикарбоната натрия. Органическую фазу отделяли и органический слой промывали водным раствором бикарбоната натрия, а затем водой. Органическую фазу концентрировали, добавляли этилацетат и смесь концентрировали, чтобы гарантировать, что уровень влаги составляет не более 0,2%. Смесь в этилацетате обесцвечивали активированным углем. Смесь концентрировали и добавляли н-гептан.

Продукт выделяли посредством фильтрации и сушили под вакуумом. Сушку завершали, когда содержание остаточной влаги, этилацетата и н-гептана составляло не более 0,5%. $^1\text{H-NMR}$ (MeOH- d_4): δ

8,40 (1H), 7,90 (1H), 7,25-7,45 (5H), 5,65 (2H), 2,37 (3H), 2,22 (3H).

Стадия F. Синтез 1-бензил-6-(3,5-диметил-1,2-оксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I)



Соединение F смешивали с метиламином в тетрагидрофуране (THF) и перемешивали при температуре окружающей среды до тех пор, пока отношение соединения F к соединению I не составило не более 0,1%, как определено с помощью HPLC. После завершения реакции смесь концентрировали под вакуумом, добавляли техническую воду и продукт выделяли посредством фильтрации. Осадок на фильтре промывали технической водой. Влажный осадок на фильтре растворяли в хлористоводородной кислоте и полученный раствор промывали метиленхлоридом для удаления примесей. Водный раствор нейтрализовали раствором гидроксида натрия и соединение I выделяли посредством фильтрации, промывали технической водой и сушили под вакуумом. При необходимости удаления любого количества оставшейся хлористоводородной кислоты высушенный материал можно растворить в этаноле, обработать раствором гидроксида натрия в этаноле, а затем добавить техническую воду для осаждения продукта. Соединение I выделяли посредством фильтрации, промывали технической водой и сушили. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 7,96 (d, 1H, J=2,0 Гц), 7,42 (d, 1H, J=2,0 Гц), 7,37 (q, 1H, J=4,2 Гц), 7,32 (m, 2H), 7,26 (m, 1H), 7,24 (m, 2H), 5,30 (s, 2H), 3,00 (d, 3H, 4,5 Гц), 2,34 (s, 3H), 2,16 (s, 3H). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 5 164,8, 158,4, 157,7, 156,0, 141,1, 136,4, 128,6 (2C), 127,5, 127,4, 127,2 (2C), 115,8, 114,2 (2C), 44,5, 29,3, 11,2, 10,3.

Пример 2. Кристаллическая форма мезилата соединения I.

Приблизительно 5 г соединения I растворяли в этаноле (115 мл) и добавляли раствор метансульфоновой кислоты в этаноле (10 мл, 158,7 мг/мл) при молярном соотношении 1:1. Смесь встряхивали при 50°C в течение 2 ч перед концентрированием до половины объема и перемешивали в течение ночи. Образованное твердое вещество (мезилатная соль/сокристалл формы I соединения I) выделяли, сушили и определяли его характеристики.

Мезилатную соль/сокристалл формы I соединения I также получали с применением других растворителей и смесей растворителей, включая ацетон и ацетонитрил.

Мезилатная соль/сокристалл формы I соединения I характеризовались XRPD, содержащей следующие пики в единицах 2-тета при 8,4 ± 0,2, 10,6 ± 0,2, 11,7 ± 0,2, 14,5 ± 0,2, 15,3 ± 0,2, 16,9 ± 0,2, 18,2 ± 0,2, 19,0 ± 0,2, 19,9 ± 0,2, 20,5 ± 0,2, 22,6 ± 0,2, 23,8 ± 0,2, 24,5 ± 0,2 и 27,6 ± 0,2 градуса, как определено с помощью дифрактометра с применением трубки излучения Cu-K_α (Фиг. 4).

Мезилатная соль/сокристалл формы I соединения.

Характеризовались кривой DSC, содержащей эндотермический пик при температуре, составляющей приблизительно 207°C (Фиг. 5).

Характеристики мезилатной соли/сокристалла формы I соединения I определяли с помощью TGA с получением показанной на фиг. 6 термограммы, подтверждающей, что форма I соединения I представляет собой безводную форму.

Пример 3. Синергическое подавление жизнеспособности клеток VCaP с помощью комбинации соединения I с энзалутамидом.

Клетки VCaP (CRL-2876) высевали при плотности 10000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде D-MEM, содержащей 10% очищенной на активированном угле FBS и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 часов при 37°C, 5% CO₂. Среду заменяли на D-MEM, содержащую 10% очищенной на активированном угле FBS с 0,1 нМ R1881, клетки обрабатывали при постоянных соотношениях либо соединением I, либо энзалутамидом в качестве монотерапии, либо комбинацией обоих лекарственных средств при четырех разных концентрациях (2X IC₅₀, 1X IC₅₀, 0,5X IC₅₀, 0,25X IC₅₀) и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение 3-7 дней. Если клетки инкубировали в течение 7 дней, их повторно обрабатывали как описано выше на 3^{-ий} или 4^{-ий} день. Если клетки инкубировали в течение 7 дней, их повторно обрабатывали как описано выше на 3^{-ий} или 4^{-ий} день. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение дополнительных 30-90 минут. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала пустой лунки. Значения IC₅₀ для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением

программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 1, добавление соединения I к энзалутамиду приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,5.

Пример 4. Синергическое подавление жизнеспособности клеток VCaP с помощью комбинации соединения I с апалутамидом (ARN-509).

Клетки VCaP (CRL-2876) высевали при плотности 10000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде D-MEM, содержащей 10% очищенной на активированном угле FBS и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 часов при 37°C, 5% CO₂. Среду заменяли на D-MEM, содержащую 10% очищенной на активированном угле FBS с 0,1 нМ R1881, клетки обрабатывали при постоянных соотношениях либо соединением I, либо апалутамидом в качестве монотерапии, либо комбинацией обоих лекарственных средств при четырех разных концентрациях (2X IC₅₀, 1X IC₅₀, 0,5X IC₅₀, 0,25X IC₅₀) и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение 3-7 дней. Если клетки инкубировали в течение 7 дней, их повторно обрабатывали как описано выше на 3^{-й} или 4^{-й} день. Если клетки инкубировали в течение 7 дней, их повторно обрабатывали как описано выше на 3^{-й} или 4^{-й} день. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение дополнительных 30-90 минут. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала пустой лунки. Значения IC₅₀ для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 2, добавление соединения I к апалутамиду приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,4.

Пример 5. Синергическое подавление жизнеспособности клеток LAPC-4 с помощью комбинации соединения I с ацетатом абиратерона.

Клетки LAPC-4 (CRL-13009) высевали при плотности 5000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде IMDM, содержащей 10% очищенной на активированном угле FBS и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 часов при 37°C, 5% CO₂. Среду заменяли на IMDM, содержащую 10% очищенной на активированном угле FBS с 1 нМ R1881, клетки обрабатывали при постоянных соотношениях либо соединением I, либо ацетатом абиратерона в качестве монотерапии, либо комбинацией обоих лекарственных средств при четырех разных концентрациях (2X IC₅₀, 1X IC₅₀, 0,5X IC₅₀, 0,25X IC₅₀) и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение 3-7 дней. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение дополнительных 30-90 минут. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала пустой лунки. Значения IC₅₀ для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 3, добавление соединения I к ацетату абиратерона приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,09.

Пример 6. Клинические испытания.

Соединение I было протестировано в качестве монотерапии и в комбинации с энзалутамидом на людях с CRPC. Фармацевтически приемлемые соли соединения I или его сокристалл, в частности мезилатную соль/сокристалл формы I соединения I, а также другие терапевтические средства, такие как абиратерон, апалутамид и даролутамид можно тестировать таким же образом.

В исследовании с увеличением дозы фазы 1b (схема 3+3) были оценены фармакокинетика, безопасность, переносимость и связывание с мишенью для соединения I + энзалутамид. Увеличение дозы тестировали вплоть до дозы 144 мг без достижения максимальной переносимой дозы. Для дальнейшего определения максимальной терапевтической эффективности можно исследовать дополнительные уровни доз и схемы введения доз. Связывание с мишенью измеряли с помощью анализа крови, а изменения уровней мРНК определяли для ряда маркеров, включая MYC, CCR1, IL1RN, GPR183, HEXIM1, PD-L1, IL-8,

A2AR, TIM-3.

В исследовании для подтверждения дозы фазы 2a оценивали соединение I при дозах 48 мг и 96 мг в комбинации с энзалутамидом у субъектов, которые не подвергались химиотерапии и у которых наблюдалось прогрессирование заболевания при применении энзалутамида и/или абиратерона. Фармакокинетику, безопасность, переносимость и связывание с мишенью, PSA-ответ, а также время до радиографического прогрессирования при хорошо переносимой дозе применяли для определения рекомендуемой дозы в фазе 2b. Образцы крови и ткани опухоли субъекта подвергали молекулярному профилированию для определения субъектов, восприимчивых и невосприимчивых к комбинированной терапии, и получения доказательств механизма действия.

Как показано на фиг. 7 и в таблице ниже, данные, полученные в исследовании фазы 2a, демонстрируют продолжительный благоприятный эффект на rPFS для пациентов с mCRPC, подвергавшихся лечению с помощью соединения I + энзалутамида в качестве терапии 2-й линии, при этом общая rPFS составляла 44,6 недели в сравнении с ожидаемым периодом 24-28 недель в случае применения только энзалутамида. Пациенты с прогрессированием заболевания при применении абиратерона и энзалутамида демонстрировали аналогичный благоприятный эффект при применении комбинации соединения I с энзалутамидом. Также выявляли продленную rPFS у пациентов с высокой и низкой опухолевой нагрузкой, включая два частичных ответа, один у пациента, ранее демонстрировавшего прогрессирование заболевания при применении абиратерона, и один у пациента, демонстрировавшего прогрессирование заболевания при предшествующем применении энзалутамида. Два пациента с прогрессированием заболевания при применении абиратерона характеризовались уровнем PSA₉₀ >117 недель, и 7 пациентов, ранее демонстрировавших прогрессирование заболевания при применении энзалутамида, получали соединение I + энзалутамид в течение >52 недель.

гPFS (только по результатам радиографического исследования)	Пациенты с прогрессированием при применении абиратерона	Пациенты с прогрессированием при применении энзалутамида	Все пациенты
Число пациентов	30	45	75
Число событий	11	14	24
Медианное значение PFS (недели)	44,6	43,9	44,6

Как показано на фиг. 8 и в таблице ниже, пациенты, имеющие PSA-ответ, характеризовались медианным значением выживаемости без радиографического прогрессирования, которое все еще не достигалось через 120 недель, а пациенты, которые имели скачок уровня PSA либо на неделе 4, либо на неделе 8, характеризовались медианным значением выживаемости без радиографического прогрессирования, составляющим 45,9 недели, в сравнении с пациентами, которые не демонстрировали такое повышение уровня или PSA-ответа, которые характеризовались выживаемостью без радиографического прогрессирования, составляющей 31,3 недели. PSA-ответ определяли как снижение уровня PSA на >50% через 12 недель по сравнению со значением при скрининге. Скачки уровня PSA определены в примере 7.

гPFS (только по результатам радиографического исследования)	Скачок уровня PSA	PSA-ответ	Без модуляции уровня PSA
Число пациентов	21	5	21
Число событий	11	0	11
Медианное значение PFS (недели)	45,9	Еще не достигнуто	31,3

Рандомизированное исследование фазы 2b будет применяться для подтверждения дозы фазы 2 на большей популяции, а также идентификации субпопуляций, демонстрирующих надлежащий ответ на комбинированную терапию. Можно проводить исследование ряда комбинаций соединения I и другого терапевтического средства.

Исследование фазы 3 будет представлять собой двойное слепое рандомизированное исследование соединения I или его фармацевтически приемлемой соли или сокристалла и другого терапевтического средства (абиратерон, энзалутамид, даролутамид или апалутамид) в сравнении с плацебо у субъектов с CRPC. Первичной конечной точкой может быть общая выживаемость или время до радиографического прогрессирования.

Пример 7. Скачок уровня PSA через 4 недели или 8 недель при лечении с помощью соединения I и энзалутамида.

Пациентам с mCRPC, ранее демонстрировавшим прогрессирование заболевания при применении абиратерона и/или энзалутамида, вводили QD дозы комбинации соединения I и энзалутамида. Несколько пациентов характеризовались скачком уровня PSA либо через 4 недели, либо через 8 недель после QD введения дозы соединения I. На фиг. 9 показан пример 2 пациентов со скачком уровня PSA на неделе 4 и 2 пациентов со скачком уровня PSA на неделе 8. Скачок через 4 недели определяется как повышение уровня PSA через 4 недели лечения по сравнению с началом лечения (неделя 0) с последующим снижением уровня PSA от недели 4 до недели 8 лечения. Скачок через 8 недель определяется как повышение уровня PSA через 8 недель лечения по сравнению с 4 неделями лечения (неделя 4) с последующим снижением уровня PSA от недели 8 до недели 12 лечения. Как показано на фиг. 8, субъекты со скачками уровня PSA характеризовались более длительной выживаемостью без прогрессирования по сравнению с пациентами, которые не имели скачка уровня PSA (45,9 по сравнению с 31,3 недели).

Пример 8. Распределение мутаций/продуктов слияния ETS и ответ на комбинацию соединения I с энзалутамидом у пациентов с mCRPC.

Пациентам с mCRPC, ранее демонстрировавшим прогрессирование заболевания при применении абиратерона и/или энзалутамида, вводили QD дозы комбинации соединения I и энзалутамида. Пациенты с охарактеризованными мутациями или продуктами слияния с участием представителя семейства ETS или отсутствием таких продуктов слияния или мутаций и их ответ на комбинацию изображены на фиг. 10. Пациентов, отвечающих на лечение, определяют по отсутствию клинического или радиографического прогрессирования через >24 недель после введения дозы соединения I, а пациентов, не отвечающих на лечение, определяют по радиографическому или клиническому прогрессированию до ≤ 24 недель. Пациенты с мутациями или продуктами слияния ETS сходным образом распределялись между пациентами, отвечающими на лечение, и пациентами, не отвечающими на лечение, при этом среди пациентов, которые не имели мутацию или продукт слияния ETS, не было пациентов, отвечающих на лечение.

Пример 9. Распределение по мутациям/продуктам слияния ETS, PSA-ответам или скачкам уровня PSA и ответ на комбинацию соединения I с энзалутамидом у пациентов с mCRPC.

Пациентам с mCRPC, ранее демонстрировавшим прогрессирование заболевания при применении абиратерона и/или энзалутамида, вводили QD дозы комбинации соединения I и энзалутамида. Пациенты с охарактеризованными мутациями или продуктами слияния с участием представителя семейства ETS или отсутствием таких продуктов слияния или мутаций и их ответ на комбинацию, а также присутствие или отсутствие PSA-ответа или скачка уровня PSA через 4 или 8 недель изображены на фиг. 11. Пациентов, отвечающих на лечение, определяют по отсутствию клинического или радиографического прогрессирования через >24 недель после введения дозы соединения I, а пациентов, не отвечающих на лечение, определяют по радиографическому или клиническому прогрессированию до ≤ 24 недель. PSA-ответ определяется по снижению уровня PSA на $\geq 50\%$ через 12 недель после начала введения дозы соединения I. Больше число пациентов с мутациями или продуктами слияния ETS наблюдали в группе пациентов с PSA-ответом или скачком уровня PSA через 4 или 8 недель.

Пример 10. Индукция иммунного ответа и передачи сигналов от интерферона гамма в опухоли в ответ на комбинацию соединения I с энзалутамидом у пациентов с mCRPC.

Пациентам с mCRPC, ранее демонстрировавшим прогрессирование заболевания при применении энзалутамида, вводили QD дозы соединения I при продолжении приема энзалутамида. Биоптат опухоли получали при скрининге (применение энзалутамида) и после 8 недель (применение энзалутамида и соединения I) введения дозы соединения I. Полнотранскриптомный (RNA-Seq) анализ осуществляли на двух биоптатах и выравнивание осуществляли с применением программного обеспечения STAR, а также осуществляли анализ дифференциальной экспрессии генов с Cufflinks с применением параметров по умолчанию BaseSpace™ Sequence Hub с декабря 2018 года по август 2019 года. Дополнительный независимый анализ осуществляли с применением программного обеспечения для выравнивания SALMON и BioConductor. Идентификацию сигнатур дифференциальной экспрессии генов осуществляли с применением анализа представленности групп генов (GSEA) с применением сигнатур генов из Базы данных молекулярных сигнатур (Subramanian A, Tamayo P, et al. (2005, PNAS 102, 15545-15550); Liberzon A, et al. (2011, Bionformatics 27, 1739-1740); Liberzon A, et al. (2015, Cell Systems 1, 417-425). Как показано на фиг. 12A, для нескольких связанных с иммунной системой сигнатур отмечено значительное повышение уровня экспрессии в биоптате, полученном во время лечения. Релевантные группы генов указаны на фигуре, а гены, входящие в состав каждой группы генов, можно загрузить из MSigDB. На фиг. 12B некоторые из генов, обнаруженных в данных группах генов, показаны в виде графика для демонстрации степени повышения уровня экспрессии. Повышение уровня экспрессии групп генов, вовлеченных в адаптивный иммунный ответ, презентацию антигена и передачу сигнала от интерферона-гамма, может предполагать то, что комбинация соединения I и энзалутамида индуцировала иммунореактивный фенотип и, таким образом, что такие пациенты будут отвечать на тройную комбинацию соединения I, энзалутамида и ингибитора контрольных точек иммунного ответа.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака предстательной железы, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту ингибитора бромодомена ВЕТ-белков, выбранного из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I), 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов, со вторым терапевтическим средством, где второе терапевтическое средство представляет собой антагонист андрогенового рецептора или ингибитор синтеза андрогенов.

2. Способ по п.1, где ингибитор бромодомена ВЕТ-белков представляет собой соединение I.

3. Способ по любому из пп.1, 2, где второе терапевтическое средство представляет собой энзалутамид.

4. Способ по любому из пп.1, 2, где второе терапевтическое средство представляет собой апалутамид.

5. Способ по любому из пп.1, 2, где второе терапевтическое средство представляет собой абиратерон.

6. Способ по любому из пп.1-5, где рак предстательной железы представляет собой кастрационно-резистентный рак предстательной железы или метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

7. Способ по любому из пп.1-6, где субъект ранее подвергался лечению с помощью средства терапии рака предстательной железы.

8. Способ по п.7, где средство терапии рака предстательной железы представляет собой средство андрогендепривационной терапии.

9. Способ по любому из пп.1-8, где у субъекта ранее наблюдалось прогрессирование заболевания при применении андрогендепривационной терапии.

10. Способ по любому из пп.1-7, где субъект ранее не подвергался лечению с помощью андрогендепривационной терапии.

11. Способ по п.8 или 9, где средство андрогендепривационной терапии представляет собой энзалутамид, апалутамид или абиратерон.

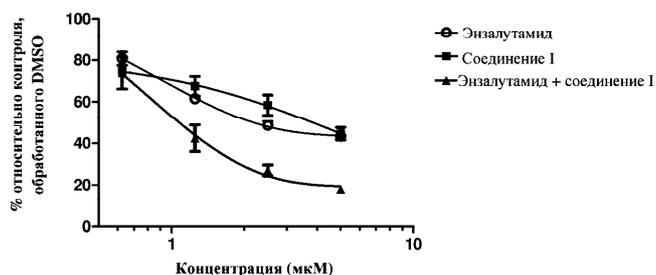
12. Способ по п.1, где соединение, выбранное из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I) и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов, вводят дозой вместе со средством андрогендепривационной терапии, что не приводит к тромбоцитопении в качестве дозозамещающей токсичности.

13. Способ по п.12, где средство андрогендепривационной терапии представляет собой энзалутамид, апалутамид, даролутамид или абиратерон.

14. Способ по любому из пп.1-7, где субъект характеризуется активацией факторов транскрипции семейства ETS, обусловленной или активирующими мутациями и/или транслокациями, в том числе TMPRSS2-ERG, SLC45A3-ERG, NDRG1-ERG, DUX4-ERG, ELF4-ERG, ELK4-ERG, BZW2-ERG, CIDEA-ERG, DYRK1A-ERG, EWSR1-ERG, FUS-ERG, GMPR-ERG, HERPUD1-ERG, KCNJ6-ERG, ZNRF3-ERG, ETS2-ERG, ETV1-ERG, HNRNP1-ERG, PAK1-ERG, PRKAB2-ERG, SMG6-ERG, SLC45A3-FLI1, TMPRSS2-ETV1, SLC45A3-ETV1, FOXP1-ETV1, EST14-ETV1, HERVK17-ETV1, ERVK-24-ETV1, C15ORF21-ETV1, HNRPA2B1-ETV1, ACSL3-ETV1, OR51E2-ETV1, ETV1 S100R, RBM25-ETV1, ACPP-ETV1, BMP1B-ETV1, CANT1-ETV1, ERO1A-ETV1, CPED1-ETV1, HMGN2P46-ETV1, HNRNPA2B1-ETV1, SMG6-ETV1, FUBP1-ETV1, KLK2-ETV1, MIPOL1-ETV1, SLC30A4-ETV1, EWSR1-ETV1, TMPRSS2-ETV4, KLK2-ETV4, CANT1-ETV4, DDX5-ETV4, UBTX-ETV4, DHX8-ETV4, CCL16-ETV4, EDIL3-ETV4, EWSR1-ETV4, SLC45A3-ETV4, UBTX-ETV4, XPO7-ETV4, TMPRSS2-ETV5, SLC45A3-ETV5, ACTN4-ETV5, EPG5-ETV5, LOC284889-ETV5, RNF213-ETV5 и SLC45A3-ELK4.

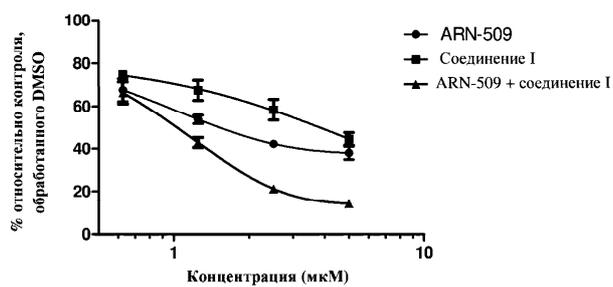
15. Способ по любому из пп.1-7, где субъект характеризуется повышением уровня PSA либо через 4 недели, либо через 8 недель лечения.

Комбинация энзалутамида и соединения I в клетках VCAP
(0,1 нМ R1881)



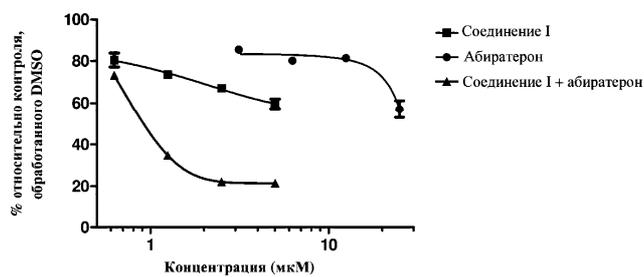
Фиг. 1

Комбинация ARN-509 и соединения I в клетках VCAP
(0,1 нМ R1881)



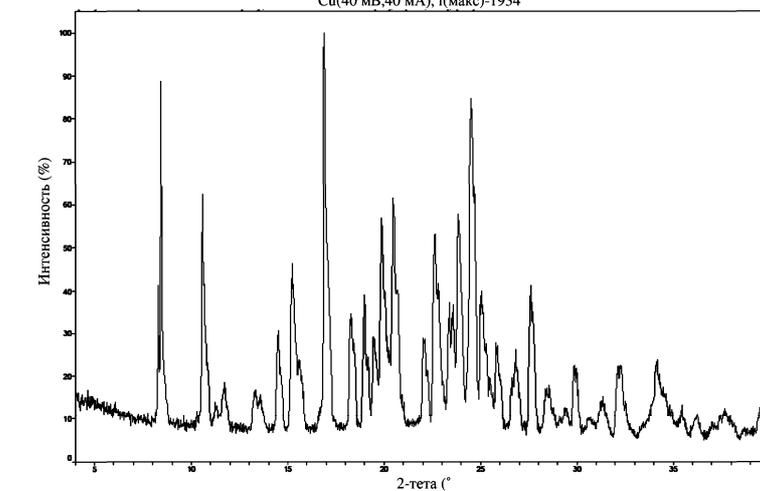
Фиг. 2

Комбинация абиратерона с соединением I в клетках LAPC-4
(0,1 нМ R1881)



Фиг. 3

[мезилатная форма I (партия № YF12608-002-160630-03).raw], сканограмма: 4,0/39,983/0,01975/18,6(с),
Cu(40 мВ,40 мА), I(макс)-1934



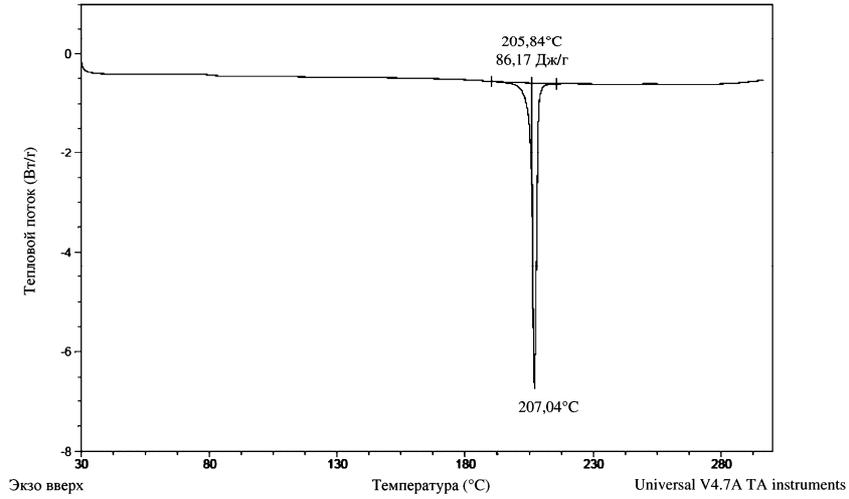
Materials Data, Inc.

Фиг. 4

044198

Образец: API-CH3SO3H_сухой_DSC
Размер: 0,9950 мг
Метод: RT-300C, 10°C/мин

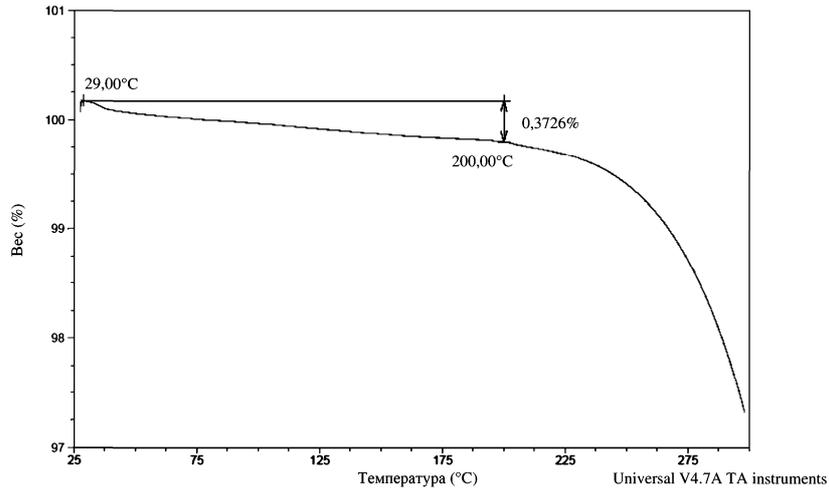
DSC Файл: (мезилатная форма I) API-CH3SO3H_сухой_DSC...
Дата выполнения: 11 июля 2016 г. 13:57
Инструмент: DSC Q200C V24.8 сборка 120



Фиг. 5

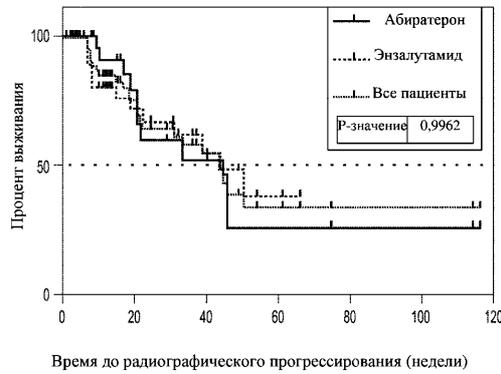
Образец: Мезилаг_TGA-ms
Размер: 4,3680 мг
Метод: RT-300C, 10°C/мин

TGA Файл: (мезилатная форма I) Мезилаг_TGA-ms.001
Дата выполнения: 14 июля 2016 г. 16:29
Инструмент: ЕПФ Q5000C V3.15 сборка 263



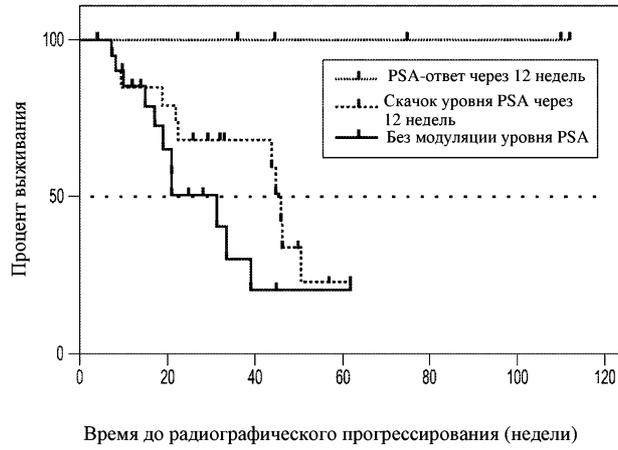
Фиг. 6

гPFS (по радиографическому прогрессированию)



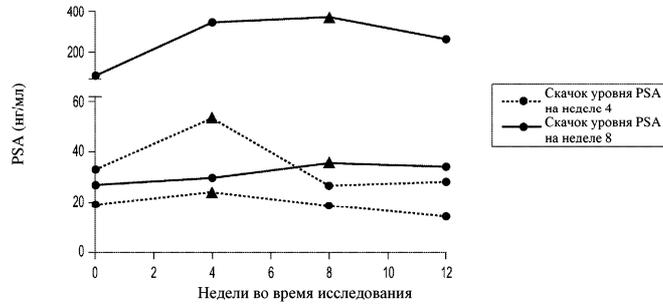
Фиг. 7

Модуляция уровня PSA при rPFS



Фиг. 8

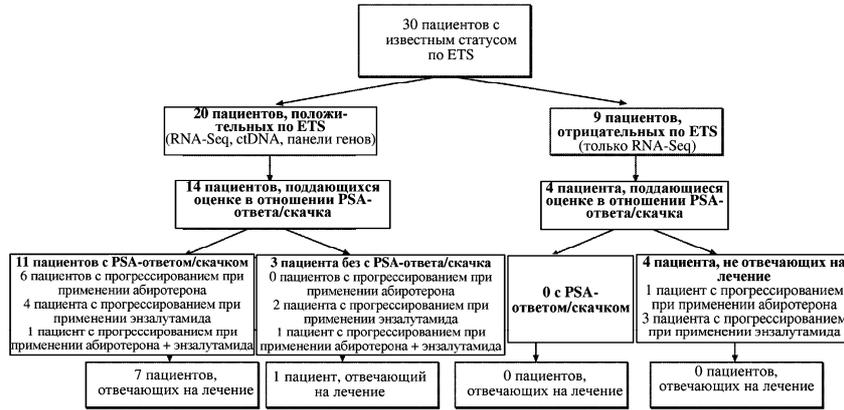
Пациенты с mCRPC, подвергнутые лечению с помощью соединения I + энзалутамида (QD) со скачком уровня PSA либо на неделе 4, либо на неделе 8



Фиг. 9

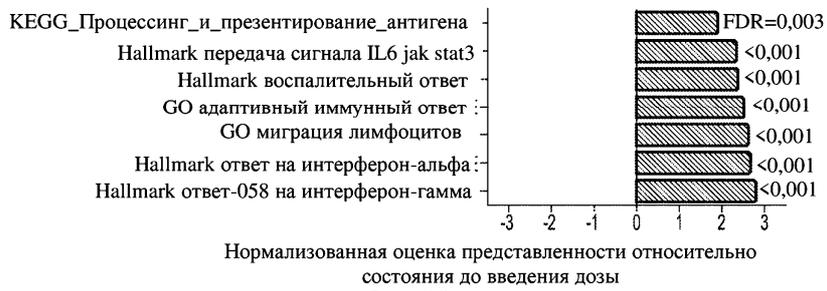


Фиг. 10

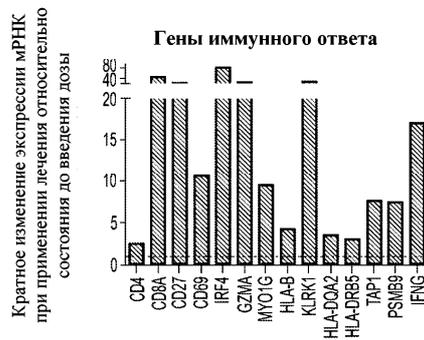


Фиг. 11

Повышение уровня экспрессии генов иммунного ответа при применении лечения с помощью соединения I + энзалутамида у пациентов с mCRPC



Фиг. 12А



Фиг. 12В

