

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392244

(13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.12.07

(51) Int. Cl. *A61K 31/53* (2006.01)
C07D 251/18 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.02.10

(54) ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/149,075; 63/217,843

(32) 2021.02.12; 2021.07.02

(33) US

(86) PCT/US2022/015994

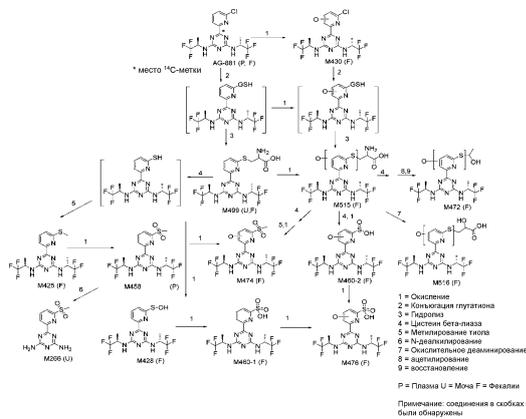
(87) WO 2022/173961 2022.08.18

(71) Заявитель:
ЛЕ ЛАБОРАТУАР СЕРВЬЕ (FR)

(72) Изобретатель:
Пракаш Чандра Агарвал (US)

(74) Представитель:
Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Изобретение относится к соединениям, применимым для лечения рака, и к способам лечения рака, включающим в себя введение нуждающемуся в этом пациенту соединения, описанного в настоящем изобретении.



202392244

A1

A1

202392244

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ
ПРИМЕНЕНИЯ

5

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[0001] В настоящей заявке испрашивается преимущество и приоритет предварительной заявки на патент США № 63/149 075, поданной 12 февраля 2021 г., и предварительной заявки на патент США № 63/217 843, поданной 10 2 июля 2021 г., содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Предпосылки создания изобретения

[0002] Изоцитратдегидрогеназы (ИДГ) катализируют окислительное декарбоксилирование изоцитрата до 2-оксоглутарата (т.е. α -кетоглутарата). Эти ферменты принадлежат к двум различным подклассам, один из которых 15 использует НАД(+) в качестве акцептора электронов, а другой – НАДФ(+). Было сообщено о пяти изоцитратдегидрогеназах: трех НАД(+)-зависимых изоцитратдегидрогеназах, локализующихся в митохондриальном матриксе, и двух НАДФ(+)-зависимых изоцитратдегидрогеназах, одна из которых является 20 митохондриальной, а другая преимущественно цитозольной. Каждый НАДФ(+)-зависимый изофермент является гомодимером.

[0003] IDH1 (изоцитратдегидрогеназа 1 (НАДФ+), цитозольная) также известна как IDH; IDP; IDCD; IDPC или PICD. Белок, кодируемый этим геном, представляет собой НАДФ(+)-зависимую изоцитратдегидрогеназу, 25 обнаруженную в цитоплазме и пероксисомах. Она содержит сигнальную последовательность пероксисомального нацеливания PTS-1. Присутствие этого фермента в пероксисомах предполагает роль в регенерации НАДФН для интрапероксисомального восстановления, такого как превращение 2,4-диеноил-КоА в 3-еноил-КоА, а также в пероксисомальных реакциях, в которых 30 расходуется 2-оксоглутарат, а именно альфа-гидроксилирование фитановой кислоты. Цитоплазматический фермент играет важную роль в цитоплазматической продукции НАДФН.

[0004] Ген IDH1 человека кодирует белок из 414 аминокислот. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности IDH1 человека можно

найти как записи GenBank NM_005896.2 и NP_005887.2 соответственно.

Нуклеотидные и аминокислотные последовательности для IDH1 также описаны, например, в Nekrutenko *и соавт.*, Mol. Biol. Evol. 15:1674-1684(1998); Geisbrecht *и соавт.*, J. Biol. Chem. 274:30527-30533(1999); Wiemann *и соавт.*, Genome Res. 11:422-435(2001); Команда проекта MGC, Genome Res. 14:2121-2127(2004); Lubec *и соавт.*, Представлено (декабрь 2008 г.) в UniProtKB; Kullmann *и соавт.*, представлено (июнь 1996 г.) в базы данных EMBL/GenBank/DDBJ; и Sjoebloom *и соавт.*, Science 314:268-274(2006).

[0005] Немутантный, например, дикий тип, IDH1 катализирует окислительное декарбоксилирование изоцитрата до α -кетоглутарата, тем самым восстанавливая НАД⁺ (НАДФ⁺) до НАДН (НАДФН), например, в прямой реакции:

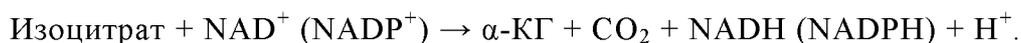


[0006] Было обнаружено, что мутации IDH1, присутствующие в некоторых раковых клетках, приводят к новой способности фермента катализировать НАДФ-зависимое восстановление α -кетоглутарата до R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG). Считают, что продукция R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) способствует образованию и прогрессированию рака (Dang, L *и соавт.*, Nature 2009, 462:739-44).

[0007] IDH2 (изоцитратдегидрогеназа 2 (NADP⁺), митохондриальная), также известная как IDH; IDP; IDHM; IDPM; ICD-M; или mNADP-IDH. Белок, кодируемый этим геном, представляет собой НАДФ(+)-зависимую изоцитратдегидрогеназу, обнаруженную в митохондриях. Он играет роль в промежуточном метаболизме и производстве энергии. Этот белок может тесно связываться или взаимодействовать с комплексом пируватдегидрогеназы. Ген человека IDH2 кодирует белок из 452 аминокислот. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности для IDH2 можно найти как записи GenBank NM_002168.2 и NP_002159.2 соответственно. Нуклеотидная и аминокислотная последовательность IDH2 человека также описана, например, в Huh *и соавт.*, представленном (ноябрь 1992) в базы данных EMBL/GenBank/DDBJ; и The MGC Project Team, Genome Res. 14:2121-2127(2004).

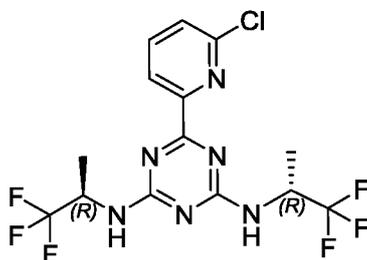
[0008] Немутантный, например, IDH2 дикого типа катализирует окислительное декарбоксилирование изоцитрата до α -кетоглутарата (α КГ), тем

самым восстанавливая НАД⁺ (НАДФ⁺) до НАД (НАДФ), например, в прямой реакции:



[0009] Было обнаружено, что мутации IDH2, присутствующие в
5 некоторых раковых клетках, приводят к новой способности фермента катализировать НАДФ-зависимое восстановление α -кетоглутарата до R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG). R(-)-2-гидроксиглутарат (2HG) не образуется с помощью IDH2 дикого типа. Считают, что производство R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) способствует образованию и прогрессированию рака
10 (Dang, L и соавт, Nature 2009, 462:739-44). Таким образом, ингибирование мутантной IDH1 и/или мутантной IDH2 и их неактивности является потенциальным терапевтическим средством для лечения рака.

[0010] Ворасидениб (AG-881) Ворасидениб (AG-881) представляет собой пероральный проникающий в головной мозг двойной мутантный
15 ингибитор изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 (mIDH1/2) второго поколения, который в настоящее время проходит клинические испытания для лечения глиомы, включая глиому низкой степени злокачественности.

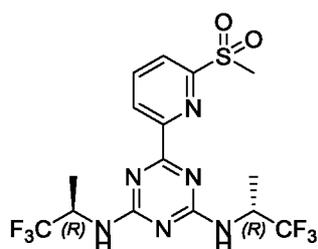
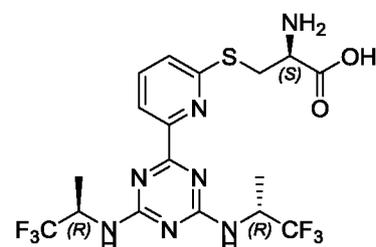
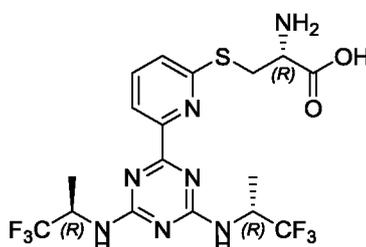
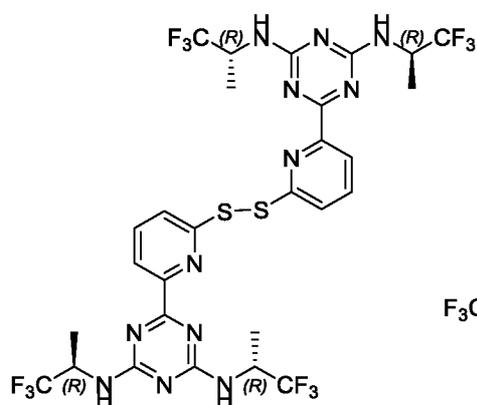
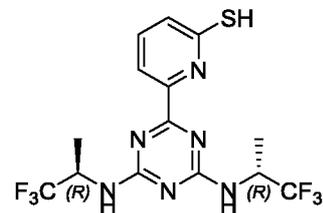
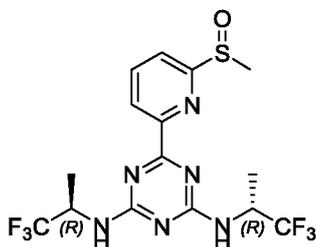
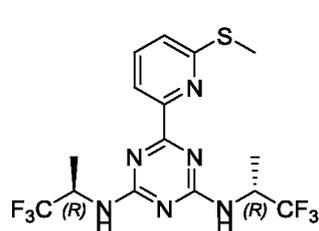


Ворасидениб (AG-881)

[0011] Ворасидениб (AG-881) описан в патенте США № 9,579,324,
20 который включен в настоящую заявку посредством ссылки, как если бы он был изложен полностью. Необходимо идентифицировать потенциальные биологически активные метаболиты ворасидениба, которые сохраняются в организме человека при дозировании ворасидениба, чтобы лучше понять клиническую активность ворасидениба и предоставить потенциальные новые
25 ингибиторы мутантных IDH1/IDH2.

Краткое изложение сути изобретения

[0012] В настоящей заявке описаны соединения 1 - 7 (например, Соединение 1, Соединение 2, Соединение 3, Соединение 4, Соединение 5, Соединение 6 и Соединение 7) и их фармацевтически приемлемые соли:



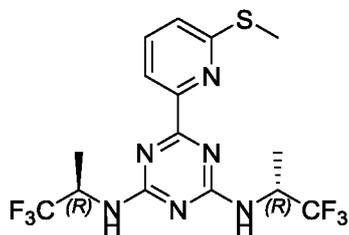
5

[0013] Соединения, выбранные из соединений 1-7, или их фармацевтических солей, или как описано в любом из вариантов осуществления в настоящей заявке, ингибируют по меньшей мере один из мутантных IDH1 или мутантных IDH2. Также в настоящей заявке описаны фармацевтические композиции, содержащие соединение, выбранное из соединений 1-7, или его фармацевтическая соль, и способы применения таких композиций для лечения

10

рака, характеризующегося присутствием по меньшей мере одного из мутантного IDH1 или мутантного IDH2.

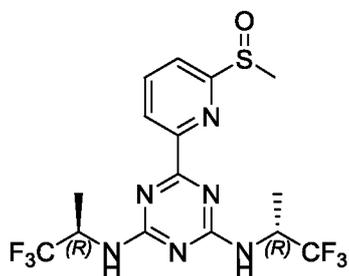
[0014] В одном варианте осуществления соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль в

5 очищенном виде.

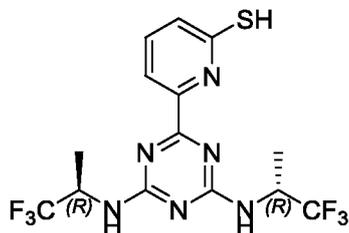
[0015] В одном варианте осуществления соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль в

очищенном виде.

[0016] В одном варианте осуществления соединение представляет собой

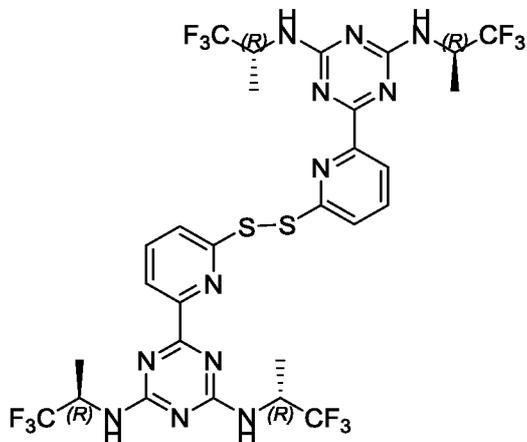


или его фармацевтически приемлемую соль в

10

очищенном виде.

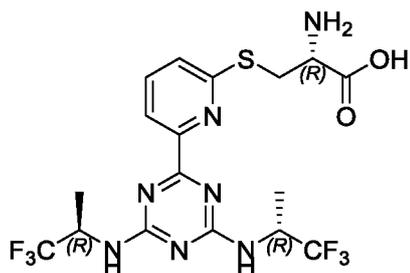
[0017] В одном варианте осуществления соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую

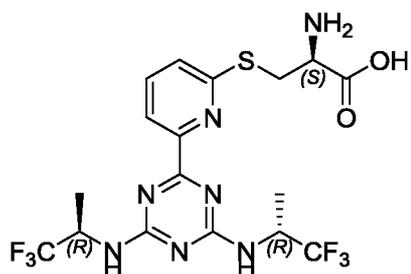
соль в очищенном виде.

[0018] В одном варианте осуществления соединение представляет собой



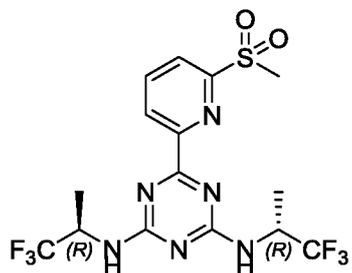
или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

[0019] В одном варианте осуществления соединение представляет собой



5 или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

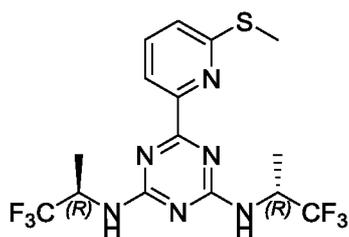
[0020] В одном варианте осуществления соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

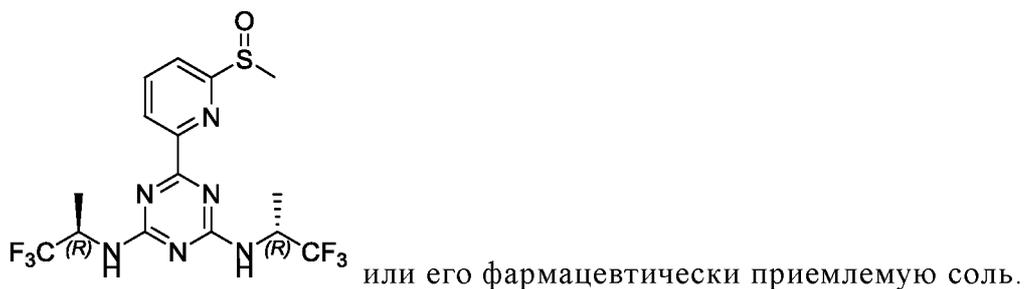
10 [0021] В одном аспекте изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую одно или большее количество соединений, выбранных из соединений 1 - 7, или их фармацевтически приемлемую соль, и один или несколько фармацевтически приемлемых веществ.

15 [0022] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит

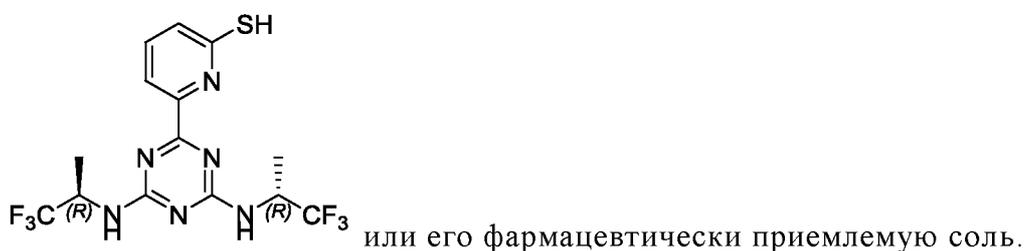


или его фармацевтически приемлемую соль.

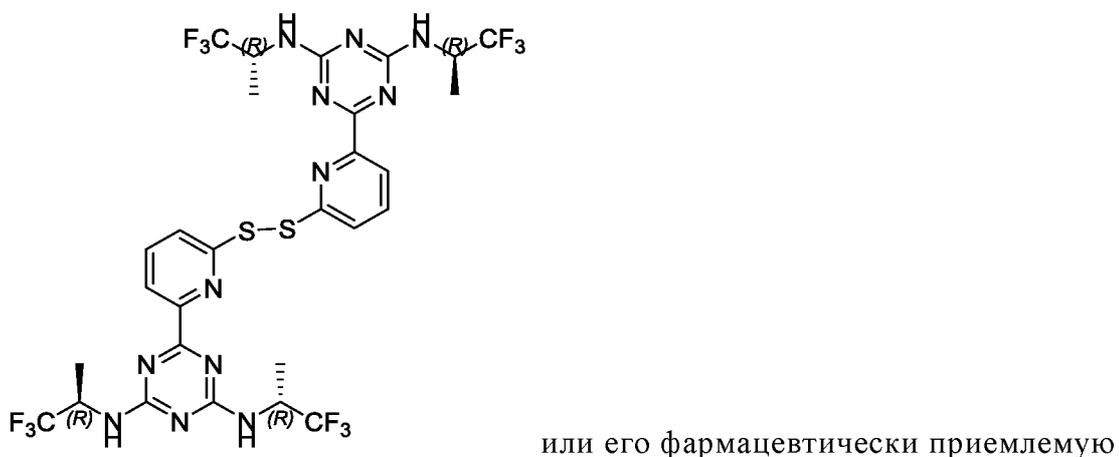
[0023] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит



5 [0024] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит

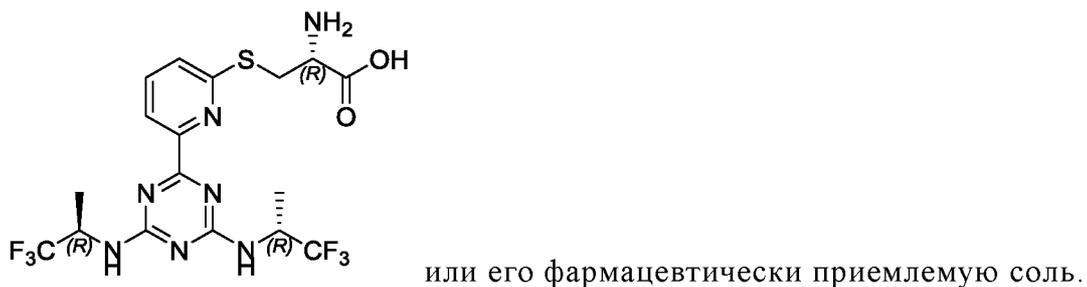


[0025] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит

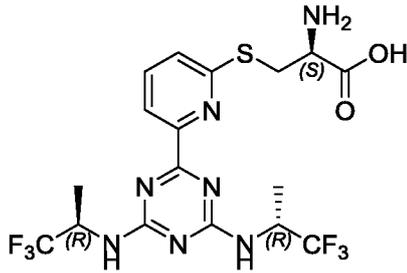


10 соль.

[0026] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит

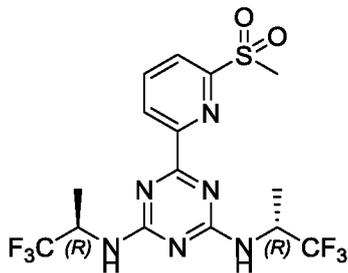


[0027] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит



или его фармацевтически приемлемую соль.

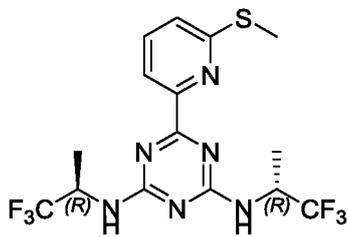
5 [0028] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит



или его фармацевтически приемлемую соль.

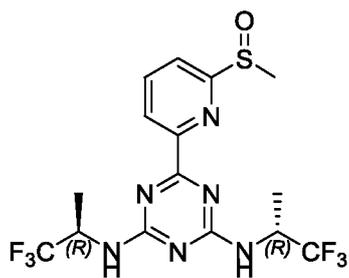
10 [0029] В одном аспекте изобретение относится к способу лечения рака, включающему в себя введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества одного или нескольких соединений, выбранных из очищенных соединений 1-7 или их фармацевтически приемлемой соли, при этом рак характеризуется наличием по меньшей мере одной мутации, выбранной из мутации IDH1 или мутации IDH2.

[0030] В одном варианте осуществления способ включает в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества очищенного



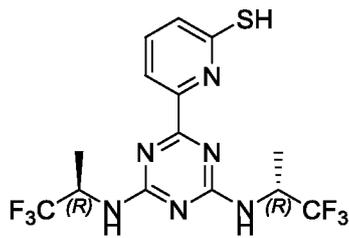
15 или его фармацевтически приемлемой соли.

[0031] В одном варианте осуществления способ включает в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества очищенного



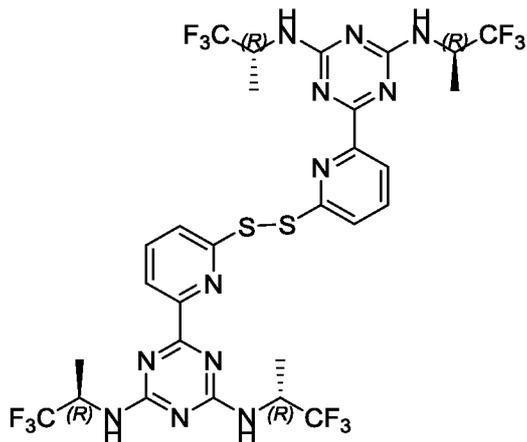
или его фармацевтически приемлемой соли.

[0032] В одном варианте осуществления способ включает в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества очищенного



или его фармацевтически приемлемой соли.

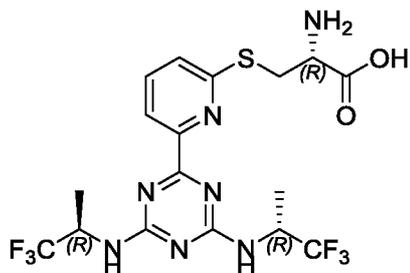
5 [0033] В одном варианте осуществления способ включает в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества очищенного



или его фармацевтически приемлемой

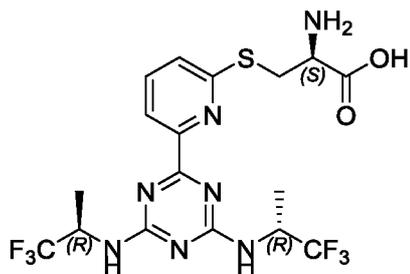
соли.

10 [0034] В одном варианте осуществления способ включает в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества очищенного



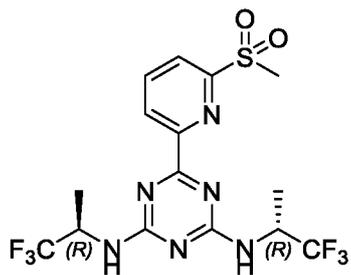
или его фармацевтически приемлемой соли.

[0035] В одном варианте осуществления способ включает в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества очищенного



или его фармацевтически приемлемой соли.

[0036] В одном варианте осуществления способ включает в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества очищенного



или его фармацевтически приемлемой соли.

5 **[0037]** В одном аспекте изобретение относится к способу лечения рака, включающему в себя введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей одно или несколько соединений, выбранных из очищенных соединений 1-7, или их фармацевтически приемлемой соли, при этом рак характеризуется наличием по меньшей мере
10 одной мутации, выбранной из мутации IDH1 или мутации IDH2.

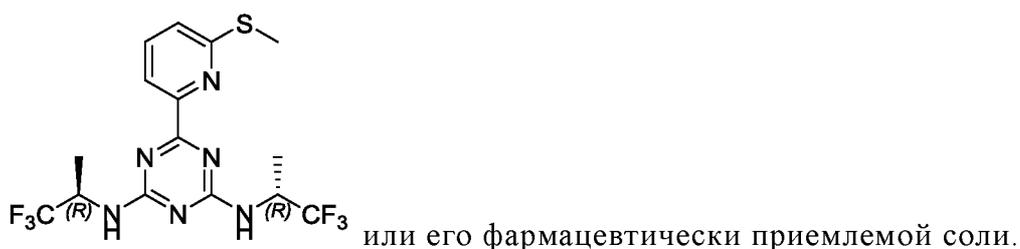
[0038] В одном варианте осуществления способов, описанных в настоящей заявке, рак выбирают из глиомы (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластомы (включая вторичную глиобластому), астроцитомы степени II или III, олигодендроглиомы степени II или III, острого
15 миелогенного лейкоза (ОМЛ), саркомы, меланомы, немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), холангиокарциномы, хондросаркомы, миелодиспластических синдромов (МДС), миелопролиферативного новообразования (МПН), рака толстой кишки и ангиоиммунобластной неходжкинской лимфомы (НХЛ) у пациента.

20 **[0039]** В одном варианте осуществления описанных в настоящей заявке способов рак представляет собой глиому. В другом варианте осуществления глиома представляет собой глиому низкой степени злокачественности или глиому высокой степени злокачественности.

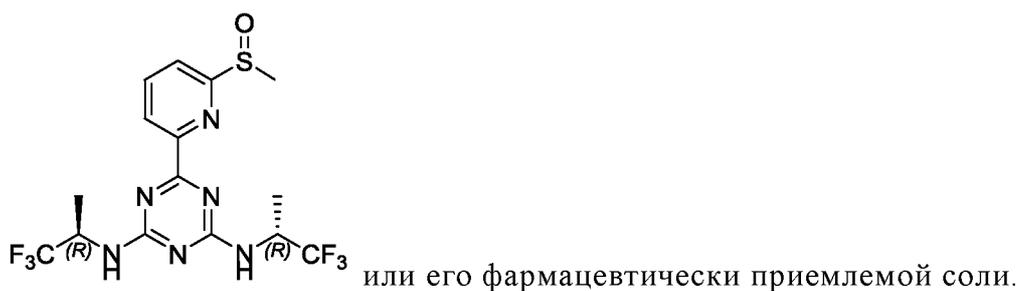
[0040] В одном варианте осуществления предложен способ лечения
25 глиомы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий в себя введение

субъекту терапевтически эффективного количества одного или нескольких соединений, выбранных из очищенных соединений 1-7, или его фармацевтически приемлемой соли.

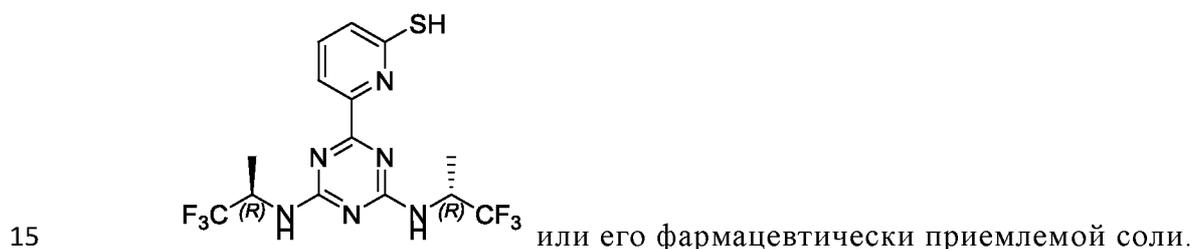
5 [0041] В одном варианте осуществления способ лечения глиомы включает в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества очищенного:



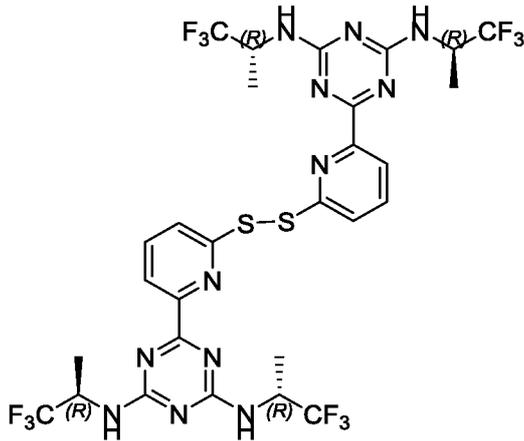
10 [0042] В одном варианте осуществления способ лечения глиомы включает в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества очищенного:



[0043] В одном варианте осуществления способ лечения глиомы включает в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества очищенного:



[0044] В одном варианте осуществления способ лечения глиомы включает в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества очищенного:

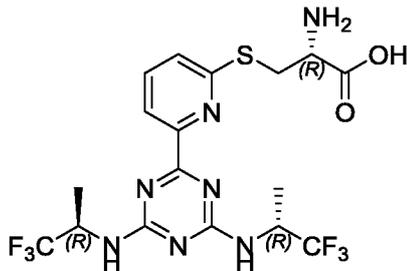


или его фармацевтически приемлемой

соли.

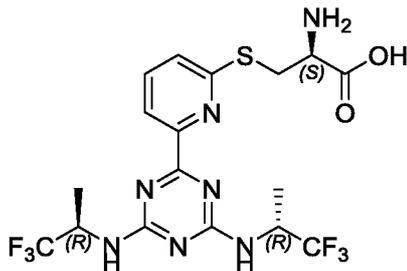
[0045] В одном варианте осуществления способ лечения глиомы включает в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества очищенного:

5



или его фармацевтически приемлемой соли.

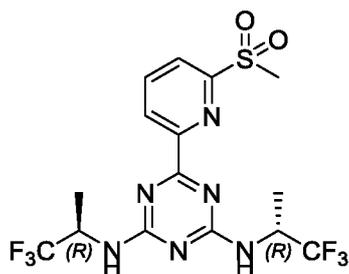
[0046] В одном варианте осуществления способ лечения глиомы включает в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества очищенного:



или его фармацевтически приемлемой соли.

10

[0047] В одном варианте осуществления способ лечения глиомы включает в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества очищенного:



или его фармацевтически приемлемой соли.

[0048] В одном варианте осуществления предложен способ лечения глиомы, включающий в себя введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей одно или несколько соединений, выбранных из соединений 1-7, или его фармацевтически приемлемую соль, при этом глиома характеризуется наличием по меньшей мере одной мутации, выбранной из мутации IDH1 или мутации IDH2.

[0049] В одном варианте осуществления предложен способ лечения глиомы низкой степени злокачественности, включающий в себя введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества композиции, содержащей одно или несколько соединений, выбранных из соединений 1-7, или его фармацевтически приемлемой соли, при этом глиома характеризуется наличием по меньшей мере одной мутации, выбранной из мутации IDH1 или мутации IDH2.

[0050] В одном варианте осуществления из способов лечения глиомы, описанных в настоящей заявке, глиома характеризуется наличием по меньшей мере одной мутации, выбранной из мутации IDH1 и мутации IDH2.

[0051] В конкретных вариантах осуществления мутация представляет собой мутацию IDH1. В некоторых вариантах осуществления мутация IDH1 представляет собой мутацию R132X. В других вариантах осуществления мутация IDH1 представляет собой мутацию R132H или R132C.

[0052] В некоторых вариантах осуществления мутация представляет собой мутацию IDH2. В других вариантах осуществления мутация представляет собой мутацию R140X или R172X. В конкретных вариантах осуществления мутация представляет собой мутацию R140Q, R140W или R140L. В других вариантах осуществления мутация представляет собой мутацию R172K или R172G.

[0053] В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в настоящей заявке, количество соединения или его фармацевтически приемлемой

соли, вводимого пациенту, составляет от 1 до 5000 мг/сутки. В конкретных вариантах осуществления количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли, вводимого пациенту, составляет от 1 до 2000 мг/сутки. В конкретных вариантах осуществления, количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли, вводимого пациенту, составляет от 1 до 1000 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли, вводимого пациенту, составляет от 1 до 500 мг/сутки.

[0054] В конкретных вариантах осуществления способов, описанных в настоящей заявке, соединение или композицию вводят перорально.

[0055] В конкретных вариантах осуществления способов, описанных в настоящей заявке, соединение или композицию вводят в сочетании с дополнительным терапевтическим методом. В конкретных вариантах осуществления дополнительный терапевтический метод выбирают из облучения, хирургической резекции, противораковых лекарственных средств, противозепилептических лекарственных средств, противосудорожных лекарственных средств и противорвотных лекарственных средств.

[0056] В некоторых вариантах осуществления противораковые лекарственные средства выбирают из химиотерапии цитотоксическими или цитостатическими средствами, таргетных лекарственных средств, терапии антителами, иммунотерапии и гормональной терапии.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 представлен ряд предполагаемых теоретических путей биотрансформации AG-881 (ивосидениба) в организме человека.

Подробное описание

[0057] Детали конструкции и расположение компонентов, изложенные в последующем описании или проиллюстрированные на чертеже, не предназначены для ограничения. Явно включены другие варианты осуществления и различные способы практического применения объекта настоящей заявки. Кроме того, фразеология и терминология, используемые в настоящей заявке, предназначены для целей описания и не должны рассматриваться как ограничение. Использование терминов «включающий в себя», «содержащий» или «имеющий», «охватывающий», «с привлечением» и их

вариации в данном документе подразумевает охват элементов, перечисленных после этого, и их эквивалентов, а также дополнительных элементов.

Определения

5 [0058] Термин «жидкость организма» включает в себя одну или несколько амниотических жидкостей, окружающих плод, водянистую влагу, кровь (например, цельную кровь или плазму крови), спинномозговую жидкость, ушную серу, химус, жидкость Купера, фекалии, женский эякулят, интерстициальную жидкость, лимфу, грудное молоко, слизь (например, выделения из носа или мокроту), плевральную жидкость, гной, слюну, кожное сало, сперму, сыворотку, пот, слезы, мочу, вагинальный секрет или рвотные массы.

15 [0059] Используемые в настоящей заявке термины «ингибировать» или «предотвращать» включают в себя как полное, так и частичное ингибирование и предотвращение. Ингибитор может полностью или частично ингибировать предполагаемую мишень.

20 [0060] Термин «лечить» означает снижение, подавление, ослабление, уменьшение, остановку или стабилизацию развития или прогрессирования заболевания/нарушения (например, рака), уменьшение тяжести заболевания/нарушения (например, рака) или улучшение симптомов, связанных с заболеванием/расстройством (например, раком).

25 [0061] Используемый в настоящей заявке термин «суточная доза» представляет собой общее количество терапевтического средства, которое должно быть введено в течение любого 24-часового периода, и используется взаимозаменяемо с термином «количество/сутки». К примеру, «суточная доза 100 мг», или «доза 100 мг/сутки», или «количество 100 мг 100 мг/сутки» относятся к введению пациенту в общем 100 мг терапевтического средства в любой 24-часовой период. Суточную дозу можно вводить один раз в сутки (т.е. QD, или один раз в день, или каждые 24 часа) или фракционировать на несколько доз для введения в разное время в течение 24 часов (например, два 30 раза в день, или два раза в день или каждые 12 часов; TD или три раза в день или каждые 8 часов; QID или четыре раза в день или каждые 6 часов и т.д.). Каждая из доз (например, суточная доза или фракционированные дозы) может быть введена в виде разовой лекарственной формы (например, одна таблетка или капсула) или в виде множественных лекарственных форм (например, две или

более таблеток или капсул). К примеру, суточная доза 1000 мг (т.е. доза 1000 мг/сутки), вводимая два раза в день (т.е. два раза в сутки), может быть введена, например, в виде двух лекарственных форм (например, капсул или таблеток), каждая из которых содержит 250 мг терапевтического агента (например, соединения, выбранного из очищенных соединений 1-7 или его фармацевтически приемлемой соли) каждые 12 часов.

[0062] Используемый в настоящей заявке термин «количество соединения, эффективное для лечения расстройства» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству соединения, которое эффективно при однократном или многократном введении дозы субъекту, при лечении клетки или при излечении, облегчении, смягчении или улучшении состояния субъекта с расстройством, превышающим ожидаемое в отсутствие такого лечения.

[0063] Используемый в настоящей заявке термин «субъект» предназначен для обозначения человека и животных, отличных от человека. Типичные субъекты-люди включают пациента-человека (называемого пациентом), имеющего расстройство, например, расстройство, описанное в настоящей заявке, или нормального субъекта. В некоторых вариантах осуществления пациент-человек представляет собой ребенка (определяемого как лицо моложе 18 лет). В других вариантах осуществления пациент-человек является взрослым (определяемым как лицо, возраст которого равен или превышает 18 лет). Термин «животные, отличные от человека» в одном аспекте изобретения включает в себя всех позвоночных, например, не млекопитающих (таких как куры, амфибии, рептилии) и млекопитающих, таких как приматы, кроме человека, домашних и/или пригодных для сельского хозяйства животных, например, овца, собака, кошка, корова, свинья и т.д.

[0064] Используемые в настоящей заявке термины «очищенный», «в очищенной форме» или «в выделенной и очищенной форме» в связи с соединением относятся к физическому состоянию указанного соединения после физического выделения из синтетического процесса (например, из реакции смеси), природного источника, или из телесной жидкости, или их комбинации, и/или подвергаясь процессу или процессам очистки. «Процесс или процессы очистки», упомянутые выше, либо описаны в настоящей заявке, либо хорошо известны специалистам в данной области (например, хроматография,

перекристаллизация и т.п.), а чистота соединений, полученных с помощью такого процесса или процессов очистки, определяется стандартом аналитических методик, описанных в настоящей заявке или хорошо известных специалисту в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления очищенное

5 соединение не обязательно физически отделять от реакционной смеси или жидкости организма перед очисткой, например, реакционную смесь или жидкость организма подвергают процессу очистки, и желаемое соединение выделяют в очищенной форме после завершения процесса очистки. В

10 дополнительных вариантах осуществления соединение может быть необязательно подвергнуто нескольким процессам очистки. В качестве примера, методы очистки, раскрытые в данном документе, приводят к выделенным и очищенным формам рассматриваемых соединений 1 - 7. Ожидают, что такие методы выделения и очистки приведут к чистоте соединения около 90 мас. % или выше (например, более 90 мас. %, более 95 мас. %, более 97 мас. %, более 98

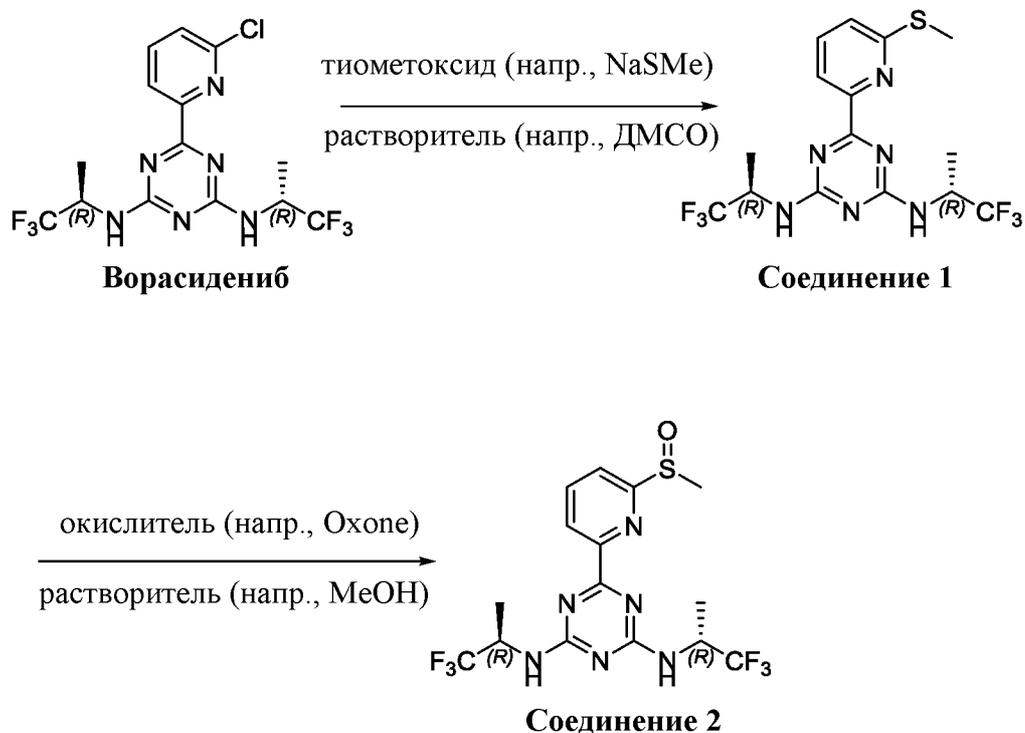
15 мас. % или более 99 мас. % чистоты).

Соединения

[0065] Предложены соединения 1 - 7 или их фармацевтически приемлемые соли или гидраты:

[0068] Например, соединение 1 и соединение 2 получить из 6-(6-хорпиридин-2-ил)-N2, N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина (ворасидениб, AG-881) в соответствии в соответствии со схемой 1.

Схема 1



5

[0069] Обработка ворасидениба тиометоксидом (например, тиометоксидом натрия) в подходящем органическом растворителе (например, полярном апротонном органическом растворителе, например, диметилсульфоксиде) приводит к образованию соединения 1. Реакция может проходить при температуре от 0 до 30 °С и необязательно может проводиться в инертной атмосфере (например, в атмосфере азота).

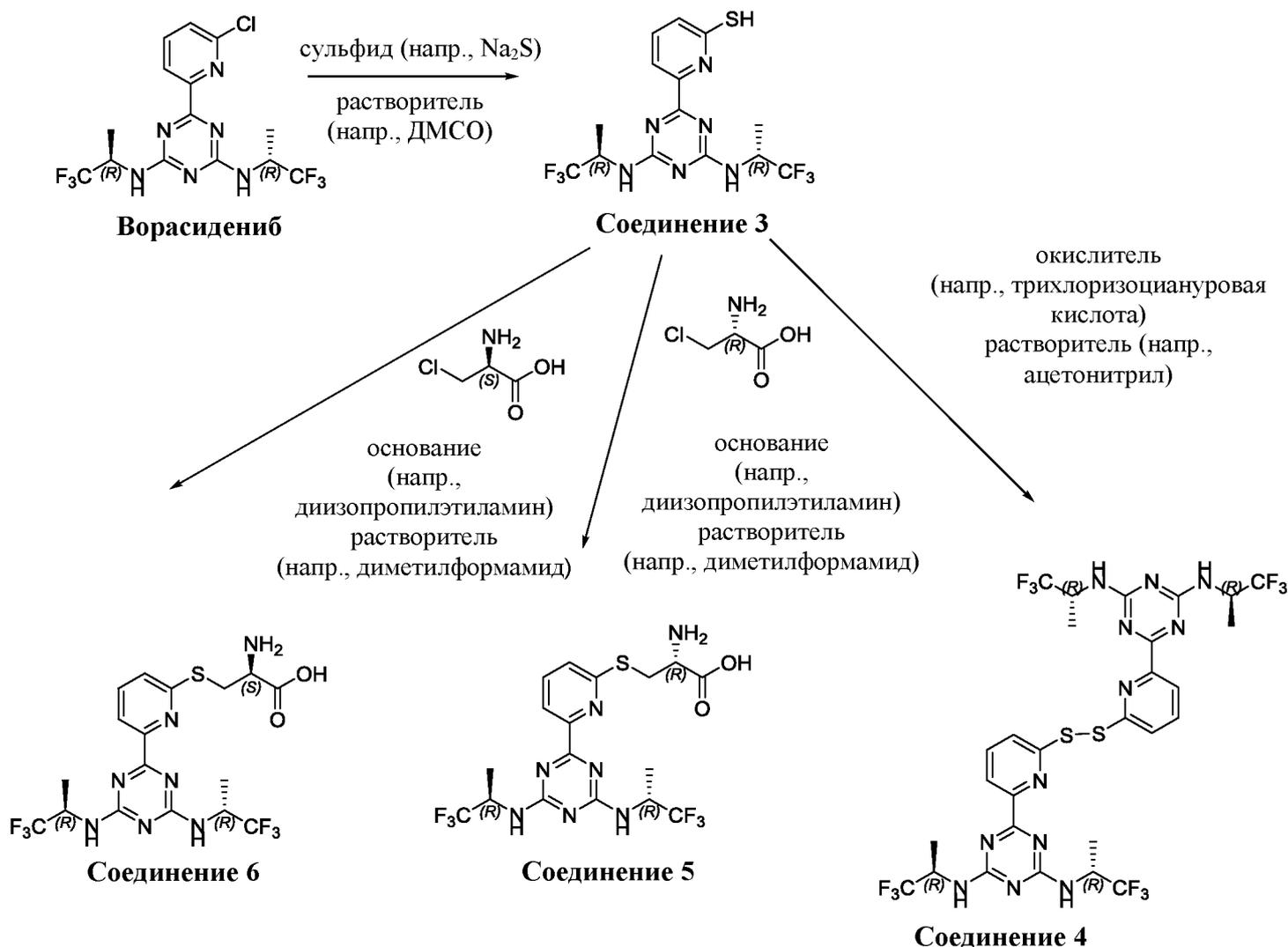
10

[0070] Кроме того, соединение 2 может быть получено синтетическим путем из соединения 1 путем окисления окислителем (например, Oxone) в подходящем органическом растворителе (например, полярном органическом растворителе, например, полярном протонном органическом растворителе, например, метаноле).

15

[0071] Соединения 3, 4, 5 и 6 могут быть получены из ворасидениба (AG-881) способами, в целом представленными на схеме 2

Схема 2

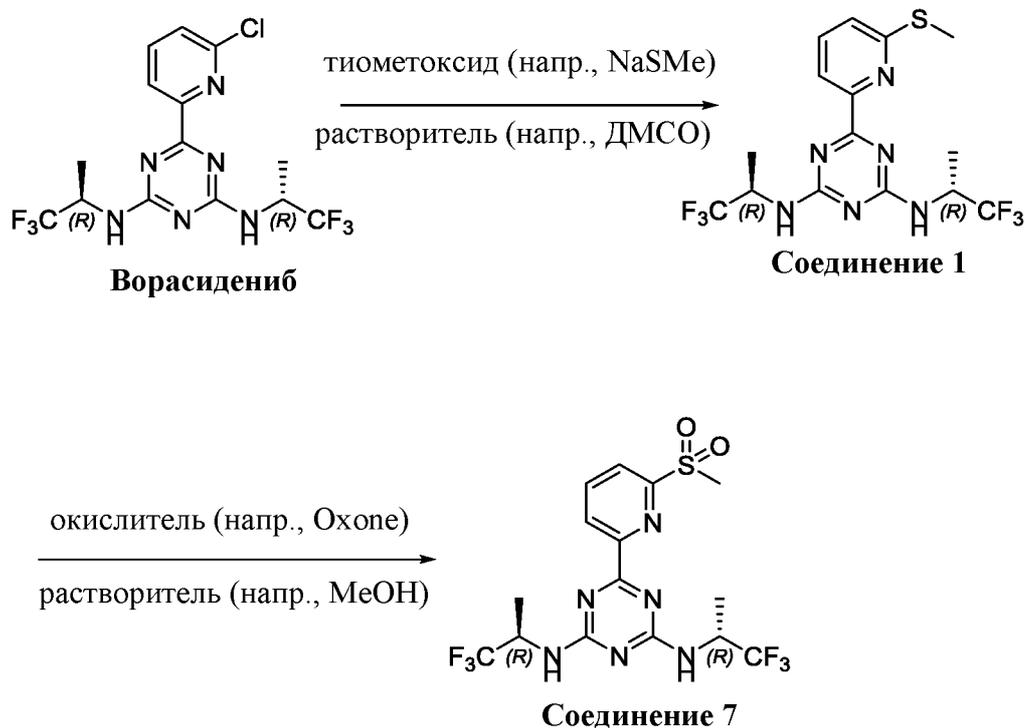


[0072] Ворасидениб (AG-881) можно растворить в подходящем органическом растворителе (например, полярном апротонном органическом растворителе, например, диметилсульфоксиде) и обработать сульфидным реагентом (например, сульфидом натрия) с получением соединения 3. Реакция может происходить при температуре от 0 до 30 °С и необязательно может быть проведена в инертной атмосфере (например, в атмосфере азота). Соединение 4, в свою очередь, может быть получено обработкой соединения 3 окислителем (например, трихлоризоциануровой кислотой) в органическом растворителе (например, полярном апротонном органическом растворителе, например, ацетонитриле). Реакцию можно проводить при температурах от -40 °С до 0 °С (например, -20 °С) и необязательно проводить в инертной атмосфере (например, в атмосфере азота). Соединения 5 и 6 могут быть получены путем обработки соединения 3 соответствующей энантиоочистой 2-амино-3-хлорпропановой кислотой в органическом растворителе (например, полярном апротонном

органическом растворителе, например, N,N-диметилформамиде) в присутствии основания (например, органического аминного основания, например, N,N-диизопропилэтиламин). Реакция может происходить при температуре от 20 °С до 100 °С (например, от 40 °С до 80 °С, например, около 60 °С). В некоторых вариантах осуществления реакцию можно проводить в инертной атмосфере (например, в атмосфере азота).

[0073] Соединение 7 может быть получено из Ворасидениба (AG-881) методами, в целом, изображенными на схеме 3.

Схема 3



10

[0074] Обработка ворасидениба тиометоксидом (например, тиометоксидом натрия) в подходящем органическом растворителе (например, полярном апротонном органическом растворителе, например, диметилсульфоксиде) приводит к образованию соединения 1. Реакция может проходить при температуре от 0 до 30 °С и необязательно может быть проведена в инертной атмосфере (например, в атмосфере азота).

15

[0075] Кроме того, соединение 7 может быть получено синтетическим путем из соединения 1 путем окисления окислителем (например, Oxone) в подходящем органическом растворителе (например, полярном органическом растворителе, например, полярном протонном органическом растворителе, например, метаноле) в присутствии воды.

20

[0076] Соединения 1 - 7 содержат один или несколько асимметричных центров и, таким образом, могут встречаться или быть выделены или синтезированы в виде рацематов, рацемических смесей, скалемических смесей и диастереомерных смесей, а также отдельных энантиомеров или индивидуальных стереоизомеров, которые по существу не содержат другого возможного энантиомера или стереоизомера. Термин «по существу не содержит других стереоизомеров», используемый в настоящей заявке означает препарат, обогащенный соединением, имеющим выбранную стереохимию в одном или нескольких выбранных стереоцентрах, по меньшей мере примерно на 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 %. Термин «обогащенный» означает, что по меньшей мере указанный процент препарата представляет собой соединение, имеющее выбранную стереохимию в одном или нескольких выбранных стереоцентрах. Способы получения или синтеза индивидуального энантиомера или стереоизомера данного соединения известны в данной области техники и могут применяться, насколько это практически возможно, к конечным соединениям или к исходному материалу или промежуточным соединениям.

[0077] В конкретных вариантах осуществления соединения 1 - 7 обогащены структурой или структурами, имеющими выбранную стереохимию по одному или нескольким атомам углерода. Например, соединение обогащено конкретным стереоизомером по меньшей мере примерно на 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 %.

[0078] Соединения 1-7 также могут быть получены с одним или несколькими изотопными заменами. Например, Н может быть в любой изотопной форме, включая ^1H , ^2H (D или дейтерий) и ^3H (Т или тритий); С может быть в любой изотопной форме, включая ^{11}C , ^{12}C , ^{13}C и ^{14}C ; N может быть в любой изотопной форме, включая ^{13}N , ^{14}N и ^{15}N ; O может быть в любой изотопной форме, включая ^{15}O , ^{16}O и ^{18}O ; F может быть в любой изотопной форме, включая ^{18}F ; и т.п. Например, соединение обогащено конкретной изотопной формой Н, С, N, O и/или F по меньшей мере примерно на 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 %. Определенные изотопно-меченые соединения (например, соединения, помеченные посредством ^3H и ^{14}C) пригодны в анализах распределения соединения и/или субстрата в тканях. Изотопы трития (т.е., ^3H) и углерода-14 (т.е., ^{14}C) особенно

предпочтительны из-за простоты их получения и обнаружения. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (т.е., ^2H), может обеспечить определенные терапевтические преимущества в результате большей метаболической стабильности (например, увеличение периода полувыведения *in vivo* или снижение требований к дозировке) и, следовательно, может быть предпочтительным при некоторых обстоятельствах. Соединения, меченные изотопами, обычно могут быть получены способами, аналогичными описанным в примерах, путем замены реагента, не меченного изотопами, соответствующим реагентом, меченным изотопом.

10 **[0079]** Может оказаться удобным или желательным получить, очистить и/или обработать соответствующую соль активного соединения, например, фармацевтически приемлемую соль. Примеры фармацевтически приемлемых солей обсуждаются в *Berge и соавт.*, 1977, «Pharmaceutically Acceptable Salts.» J. Pharm. Sci. том 66, сс. 1-19.

15 **[0080]** Например, если соединение является анионным или имеет функциональную группу, которая может быть анионной (например, $-\text{COOH}$ может представлять собой $-\text{COO}^-$), тогда соль может быть образована с подходящим катионом. Примеры подходящих неорганических катионов включают, но не ограничиваются ими, ионы щелочных металлов, такие как Na^+ и K^+ , катионы щелочноземельных металлов, такие как Ca^{2+} и Mg^{2+} , и другие катионы, такие как Al^{3+} . Примеры подходящих органических катионов включают, но не ограничиваются ими, ион аммония (т.е. NH_4^+) и замещенные ионы аммония (например, NH_3R^+ , NH_2R^{2+} , NHR^{3+} , NR^{4+}). Примерами некоторых подходящих замещенных ионов аммония являются производные: этиламина, диэтиламина, дициклогексиламина, триэтиламина, бутиламина, этилендиамина, этаноламина, диэтанолламина, пиперазина, бензиламина, фенилбензиламина, холина, меглумина и трометамина, а также аминокислот, таких как лизин и аргинин. Примером обычного четвертичного иона аммония является $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

25 **[0081]** Если соединение является катионным или имеет функциональную группу, которая может быть катионной (например, $-\text{NH}_2$ может быть $-\text{NH}_3^+$), тогда соль может быть образована с подходящим анионом. Примеры подходящих неорганических анионов включают, но не ограничиваются ими, полученные из следующих неорганических кислот: соляной,

бромистоводородной, йодистоводородной, серной, сернистой, азотной, азотистой, фосфорной и фосфористой.

[0082] Примеры подходящих органических анионов включают в себя, но не ограничиваются ими, производные следующих органических кислот:

5 ацетиоксибензойная, уксусная, аскорбиновая, аспарагиновая, бензойная, камфорсульфоновая, коричная, лимонная, эдетовая, этандисульфоновая, этансульфоновая, фумаровая, глюкогептоновая, глюконовая, глутаминовая, гликолевая, гидроксималеиновая, гидроксинафталиновая карбоновая, изетионовая, молочная, лактобионовая, лауриновая, малеиновая, яблочная,

10 метансульфоновая, муциновая, олеиновая, щавелевая, пальмитиновая, памоевая, пантотеновая, фенилуксусная, фенилсульфоновая, пропионовая, пировиноградная, салициловая, стеариновая, янтарная, сульфаниловая, винная, толуолсульфоновая и валериановая. Мезилаты каждого соединения в Таблице 1 явно включены в настоящее описание. Примеры подходящих полимерных

15 органических анионов включают в себя, но не ограничиваются ими, полученные из следующих полимерных кислот: дубильная кислота, карбоксиметилцеллюлоза.

[0083] Таким образом, представленные в настоящей заявке соединения включают в себя сами соединения, а также их соли, гидраты и их пролекарства,

20 если применимо. Соединения, представленные в настоящем документе, могут быть модифицированы и преобразованы в пролекарства путем добавления соответствующих функциональных групп для улучшения выбранных биологических свойств, например, нацеливания на конкретную ткань. Такие модификации (т.е. пролекарства) известны в данной области и включают те,

25 которые увеличивают биологическое проникновение в данный биологический компартмент (например, кровь, лимфатическую систему, центральную нервную систему), увеличивают доступность при пероральном приеме, повышают растворимость, что позволяет вводить путем инъекции, изменяют метаболизма и изменить скорость экскреции. Примеры пролекарств включают в себя сложные

30 эфиры (например, фосфаты, сложные эфиры аминокислот (например, валина), карбаматы и другие фармацевтически приемлемые производные, которые при введении субъекту способны обеспечивать активные соединения. Фосфаты кальция и натрия каждого из соединений 1 - 7, если применимо, явно включены

в данное описание. Сложные эфиры аминокислот (например, валина) каждого из Соединений 1 - 7, если применимо, явно включены в настоящую заявку.

Композиции и пути введения

[0084] Соединения, используемые в описанных в настоящей заявке
5 способах, могут быть включены вместе с фармацевтически приемлемым носителем или адъювантом в фармацевтически приемлемые композиции перед введением субъекту. В одном варианте осуществления такие фармацевтически приемлемые композиции дополнительно содержат дополнительные терапевтические средства в количествах, эффективных для достижения
10 модулирования заболевания или симптомов заболевания, включая описанные в настоящей заявке.

[0085] Термин «фармацевтически приемлемый носитель или адъювант» относится к носителю или адъюванту, который можно вводить субъекту вместе с соединением по одному из аспектов настоящего изобретения, который не
15 разрушает его фармакологическую активность и нетоксичен при введении в дозах, достаточных для доставки терапевтического количества соединения.

[0086] Фармацевтически приемлемые носители, адъюванты и наполнители, которые можно использовать в фармацевтических композициях по одному из аспектов настоящего изобретения, включают в себя, но не
20 ограничиваются ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, самоэмульгирующиеся системы доставки лекарств (SEDDS), такие как d- α -токоферол полиэтиленгликоль 1000 сукцинат, поверхностно-активные вещества, используемые в фармацевтических лекарственных формах, таких как твины или другие подобные полимерные матрицы для доставки, белки
25 сыворотки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, неполные глицеридные смеси насыщенных растительные жирные кислоты, вода, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный кремнезем, трисиликат магния,
30 поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлоза натрия, полиакрилаты, воски, блок-полимеры полиэтилена и полиоксипропилена, полиэтиленгликоль и шёрстный жир. Циклодекстрины, такие как α -, β - и γ -циклодекстрин, или химически модифицированные производные, такие как гидроксипропилциклодекстрины,

включая 2- и 3-гидроксипропил β -циклодекстрины, или другие солюбилизированные производные, также могут быть успешно использованы для улучшения доставки соединений формул, описанных в настоящей заявке.

[0087] Фармацевтические композиции по одному аспекту данного изобретения можно вводить перорально, парентерально, с помощью ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, трансбуккально, вагинально или через имплантированный резервуар, предпочтительно путем перорального введения или введения путем инъекции. Фармацевтические композиции по одному аспекту данного изобретения могут содержать любые обычные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или наполнители. В некоторых случаях рН состава можно регулировать с помощью фармацевтически приемлемых кислот, оснований или буферов для повышения стабильности соединения в составе или его формы доставки. Используемый в настоящей заявке термин парентеральный включает в себя подкожную, внутривенную, внутримышечную, внутрисуставную, внутриартериальную, интрасиновиальную, интратермальную, подоболочечную, внутриочаговую и внутричерепную инъекцию или инфузию.

[0088] Фармацевтические композиции могут быть в форме стерильного препарата для инъекций, например, в виде стерильной водной или маслянистой суспензии для инъекций. Эта суспензия может быть составлена в соответствии с методами, известными в данной области техники, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих средств (таких как, например, Tween 80) и суспендирующих средств. Стерильный препарат для инъекций также может представлять собой стерильный раствор или суспензию для инъекций в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. В число приемлемых носителей и растворителей, которые могут быть использованы, входят маннит, вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. К тому же, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, пригодны для приготовления инъекционных препаратов, как и натуральные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, особенно в

их полиоксиэтилированных версиях. Эти масляные растворы или суспензии могут также содержать разбавитель или диспергатор на основе длинноцепочечного спирта, или карбоксиметилцеллюлозу, или подобные диспергирующие агенты, которые обычно используются в составе фармацевтически приемлемых лекарственных форм, таких как эмульсии и/или суспензии. Другие обычно используемые поверхностно-активные вещества, такие как Tweens или Spans, и/или другие подобные эмульгаторы или усилители биодоступности, которые обычно используются при производстве фармацевтически приемлемых твердых, жидких или других лекарственных форм, также могут быть использованы для целей приготовления состава.

[0089] В конкретных вариантах осуществления любое из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в составе композиций, содержащих одно из соединений, описанных в настоящей заявке (например, одно или несколько соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемую соль и один или несколько полимеров, как часть твердой дисперсии (например, аморфной твердой дисперсии). В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия содержит соединение, выбранное из соединений 1 - 7, или его фармацевтически приемлемую соль и один или несколько полимеров. В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия содержит одно из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемую соль, один или несколько полимеров и одно или несколько поверхностно-активных веществ. В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия содержит одно из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемую соль и один полимер. В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия содержит одно из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемую соль, один полимер и поверхностно-активное вещество.

[0090] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть активного ингредиента (например, одного из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемой соли), в твердой дисперсии находится в аморфном состоянии (например, по меньшей мере около 50 %, по меньшей мере около 55 %, по меньшей мере около 60 %, по меньшей мере около 65 %, по меньшей мере около 70 %, по меньшей мере около 75 %, по меньшей мере около 80 %, по меньшей мере около 85 %, по меньшей мере около 90 %, по меньшей мере около 95 %, по меньшей мере около 98 %, или по меньшей мере около 99 %). В других

вариантах осуществления твердая дисперсия практически не содержит кристаллического соединения.

[0091] В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой аморфную твердую (например, высушенную распылением) дисперсию, содержащую одно из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемую соль и полимер. Аморфная твердая дисперсия может включать в себя, например, примерно менее 30 %, примерно менее 20 %, примерно менее 15 %, примерно менее 10 %, примерно менее 5 %, примерно менее 4 %, примерно менее 3 %, примерно менее 2 % или примерно менее 1 % кристаллического соединения, (например, практически не содержать кристаллического соединения, выбранного из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемой соль).

[0092] Примеры полимеров в твердой дисперсии включают в себя производные целлюлозы (например, гидроксипропилметилцеллюлозу, также известную как гипромеллозу (HPMC), фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, также известную как фталат гипромеллозы (HPMCP), ацетатсукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы, также известный как ацетатсукцинат гипромеллозы, (HPMCAS), гидроксипропилцеллюлозу (HPC)), этилцеллюлозу или фталат ацетата целлюлозы); поливинилпирролидоны (PVP); полиэтиленгликоли (PEG); поливиниловые спирты (PVA); сложные поливиниловые эфиры, такие как поливинилацетатфталат (PVAP); акрилаты, такие как полиметакрилат (например, Eudragit® E); циклодекстрины (например, β-циклодекстрин); поли(D,L-лактид) (PLA), поли(D,L-лактид, согликолидная кислота (PLGA)); и их сополимеры и производные, включая, например, поливинилпирролидон-винилацетат (PVP-VA), сополимер поливинилкапролактан-поливинил и сополимер ацетат-полиэтиленгликоль, сополимер метилакрилат/метакриловая кислота, Soluplus, коповидон и их смеси.

[0093] В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия содержит по меньшей мере один водорастворимый полимер. В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия содержит по меньшей мере один частично водорастворимый полимер. В некоторых вариантах осуществления полимер является производным целлюлозы. В других вариантах осуществления представляет собой коповидон. В других вариантах осуществления полимер представляет собой циклодекстрин. В некоторых вариантах твердая дисперсия содержит более одного полимера.

[0094] В некоторых вариантах осуществления полимер представляет собой НРМСАС (например, НРМСАС различных марок: НРМСАС-М, НРМСАС-МГ или НРМСАС-НГ). В некоторых вариантах осуществления полимер представляет собой РВАР. В некоторых вариантах осуществления полимер представляет собой НРМС (например, НРМС различных марок: НМРС60SH50, НРМСЕ50 или НРМСЕ15). В некоторых вариантах осуществления полимер представляет собой НРМСР (например, НРМСР различных марок: например, НМРСР-НР55).

[0095] В некоторых вариантах осуществления полимер представляет собой рН-зависимый растворимый в кишечнике полимер. Такие рН-зависимые растворимые в кишечнике полимеры включают в себя, но не ограничиваются ими, производные целлюлозы (например, ацетатфталат целлюлозы (САР)), НРМСР, НРМСАС, карбоксиметилцеллюлозу (СМС) или ее соль (например, натриевую соль, такую как (СМС-На)); ацетаттримеллитат целлюлозы (САТ), ацетатфталат гидроксипропилцеллюлозы (НРСАР), ацетатфталат гидроксипропилметилцеллюлозы (НРМСАР) и ацетатфталат метилцеллюлозы (МСАР)), полиметакрилаты (например, Eudragit S) или их смеси.

[0096] В некоторых вариантах осуществления полимер представляет собой ацетатсукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы, также известный как ацетатсукцинат гипромеллозы (НРМСАС), например, НМРСАС-НГ.

[0097] В другом варианте осуществления полимер(ы) представляет собой нерастворимый поперечно-сшитый полимер, например поливинилпирролидон (например, кросповидон). В другом варианте осуществления полимер(ы) представляет собой поливинилпирролидон (PVP).

[0098] В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение, выбранное из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемая соль присутствует в твердой дисперсии в количестве примерно от 10 мас./мас. % до 90 мас./мас. % (например, примерно от 20 мас./мас. % до примерно 80 мас./мас. %; примерно от 30 мас./мас. % до примерно 70 мас./мас. %; примерно от 40 мас./мас. % до примерно 60 мас./мас. %; или примерно от 15 мас./мас. % до примерно 35 мас./мас. %). В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение, выбранное из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемая соль присутствует в твердой дисперсии в количестве от около 10 мас./мас. % до около 80 мас./мас. %, например, от

около 30 мас./мас. % до около 75 мас./мас. %, или от около 40 мас./мас. % до около 65 мас./мас. %, или от около 45 мас./мас. % до около 55 мас./мас. %, например, около 46 мас./мас. %, около 47 мас./мас. %, около 48 мас./мас. %, около 49 мас./мас. %, около 50 мас./мас. %, около 51 мас./мас. %, около 52 мас./мас. %, около 53 мас./мас. % или около 54 мас./мас. %. В приведенных выше вариантах осуществления оставшаяся часть массы композиции представлена одним или несколькими полимерами. В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия также содержит поверхностно-активное вещество или инертное фармацевтически приемлемое вещество. Примеры поверхностно-активных веществ в твердой дисперсии включают лаурилсульфат натрия (SLS), витамин Е или его производное (например, витамин Е ТPGS), докузат натрия, додецилсульфат натрия, полисорбаты (такие как Tween 20 и Tween 80), полуксамеры (такие как Poloxamer 335 и Poloxamer 407), глицерил моноолеат, Span 65, Span 25, Carpyol 90, плуроновые сополимеры (например, Pluronic F108, Pluronic P-123) и их смеси. В некоторых вариантах осуществления поверхностно-активное вещество представляет собой SLS. В некоторых вариантах осуществления поверхностно-активное вещество является витамином Е или его производным (например, витамином Е ТPGS).

[0099] В некоторых вариантах осуществления поверхностно-активное вещество присутствует в твердой дисперсии в количестве от около 0,1 мас./мас. % до около 10 мас./мас. %, например от около 0,5 мас./мас. % до около 2 мас./мас. % или от около 1 мас./мас. % до около 3 мас./мас. %, от около 1 мас./мас. % до около 4 мас./мас. % или от около 1 мас./мас. % до около 5 мас./мас. %, таким образом, чтобы сумма масс активного ингредиента (например, соединения, выбранного из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемой соли), полимера и поверхностно-активного вещества составляла 100 %.

[0100] В некоторых вариантах осуществления твердая дисперсия может быть получена в соответствии со способом, описанным в настоящей заявке. В общем, способы, которые могут быть использованы, включают те, которые предполагают быстрое удаление растворителя или смеси растворителей из смеси или охлаждение расплавленного образца. Такие способы включают в себя, но не ограничиваются ими, выпаривание вращением, сублимационную сушку (т.е. лиофилизацию), вакуумную сушку, отвердевание после расплавления и

экструзию из расплава. Один из вариантов осуществления настоящего раскрытия включает в себя твердую дисперсию, полученную с помощью распылительной сушки. В одном варианте осуществления продукт, полученный путем распылительной сушки, сушат, чтобы удалить растворитель или смесь растворителей.

5 [0101] Препараты, описанные в настоящей заявке, например, фармацевтическая композиция, могут быть получены путем сушки распылением смеси, содержащей соединение, выбранное из соединений 1 – 7, или его фармацевтически приемлемую соль, один или более полимеров и

10 соответствующий растворитель или смесь растворителей. Распылительная сушка включает в себя распыление жидкой смеси, содержащей, например, твердое вещество и растворитель или смесь растворителей, и удаление растворителя или смеси растворителей. Растворитель или смесь растворителей может также содержать нелетучий растворитель, такой как ледяная уксусная кислота.

15 Распыление может быть выполнено, например, из двух жидкостей или под давлением или из электроультразвукового сопла или на вращающемся диске.

[0102] Методы и способы распылительной сушки можно найти в Perry's Chemical Engineering Handbook, 6-е изд., R. H. Perry, D. W. Green & J. O. Maloney, изд., McGraw-Hill Book Co. (1984); и Marshall «Atomization and Spray-

20 Drying» 50, Chem. Eng. Prog. Monogr. Series 2 (1954). В одном варианте осуществления распылительная сушка представляет собой распылительную сушку в псевдооживленном слое (FSD).

[0103] В конкретных вариантах осуществления способ получения твердой дисперсии соединения, выбранного из соединений 1 – 7, или его фармацевтически приемлемой соли, включает в себя:

25

а) образование смеси соединения (например, соединения, выбранного из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой соли, полимера и растворителя; и

б) распылительную сушку смеси с образованием твердой дисперсии, содержащей соединение и полимер.

30

[0104] По желанию можно выполнить последующую сушку и/или полировку влажной высушенной распылением дисперсии до уровня ниже ICH или заданных спецификаций для остаточных растворителей.

[0105] Эти процессы могут быть использованы для приготовления описанных в настоящей заявке фармацевтических композиций. Количества и свойства компонентов, используемых в способах, могут быть такими, как раскрыто в данном документе или как определено специалистом в данной области.

[0106] В конкретных вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие твердую дисперсию, могут быть получены описанным в настоящей заявке способом. Например, фармацевтическая композиция может содержать твердую дисперсию: (а) соединения, выбранного из соединений 1 - 7 или его фармацевтически приемлемой соли и (б) одного или нескольких полимеров и необязательно одного или нескольких поверхностно-активных веществ, и необязательно одного или нескольких дополнительных вспомогательных веществ.

[0107] Раскрытые в настоящей заявке фармацевтические композиции можно вводить перорально в любой приемлемой для перорального применения лекарственной форме, включая, но не ограничиваясь ими, капсулы, таблетки, эмульсии и водные суспензии, дисперсии и растворы. В случае таблеток для перорального применения обычно используемые носители включают в себя лактозу и кукурузный крахмал. Также обычно добавляют смазывающие агенты, такие как стеарат магния. Для перорального введения в форме капсул полезные разбавители включают в себя лактозу и высушенный кукурузный крахмал. Когда водные суспензии и/или эмульсии вводят перорально, активный ингредиент может быть суспендирован или растворен в масляной фазе в сочетании с эмульгирующими и/или суспендирующими средствами. При желании могут быть добавлены определенные подсластители, и/или ароматизаторы, и/или красители.

[0108] В некоторых вариантах осуществления соединение, выбранное из соединений 1 - 7, или его фармацевтически приемлемую соль, вводят перорально в количестве от 1 до 5000 мг/сутки (например, от 1 до 1000 мг/сутки, 1000-2000 мг/сутки, 2000-3000 мг/сутки, 3000-4000 мг/сутки или 4000-5000 мг/сутки). В одном варианте осуществления соединение представляет вводят в количестве 1-1000 мг/сутки (например, 1-500 мг/сутки, 500-1000 мг/сутки). В одном варианте осуществления соединения представляет вводят в количестве 1-500 мг/сутки (например, 1-100 мг/сутки, 100-200 мг/сутки, 200-300 мг/сутки, 300-400

мг/сутки, 400-500 мг /сутки). В одном варианте осуществления соединение вводят в количестве 500-1000 мг/сутки (например, 500-750 мг/сутки, 750 -1000 мг/сутки). В одном варианте осуществления соединение вводят в количестве 1000-2000 мг/сутки (например, 1000-1500 мг/сутки, 1500-2000 мг/сутки). В

5 одном варианте осуществления соединение вводят в количестве 2000-3000 мг/сутки (например, 2000-2500 мг/сутки, 2500-3000 мг/сутки). В одном варианте осуществления соединения вводят в количестве 3000-4000 мг/сутки (например, 3000-3500 мг/сутки, 3500-4000 мг/сутки). В одном варианте осуществления соединения вводят в количестве 4000-5000 мг/сутки (например, 4000-4500

10 мг/сутки, 4500-5000 мг/сутки). В некоторых вариантах осуществления соединения, выбранное из соединений 1 - 7, или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально в количестве от 1 до 500 мг/сутки, от 1 до 250 мг/сутки, от 5 до 100 мг/сутки, от 8 до 75 мг/сутки, от 10 до 50 мг/сутки, от 15 до 40 мг/сутки, от 20 до 30 мг/сутки или около 25 мг/сутки. В некоторых

15 вариантах осуществления соединения, выбранное из соединений 1 - 7, или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально в количестве от 1 до 500 мг/сутки, от 10 до 250 мг/сутки, от 20 до 100 мг/сутки, от 30 до 80 мг/сутки, от 40 до 60 мг/сутки, от 45 до 55 мг/сутки, или около 50 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления соединения, выбранное из соединений 1 - 7, или его

20 фармацевтически приемлемую соль вводят перорально в количестве от 1 до 500 мг/сутки, от 20 до 400 мг/сутки, от 40 до 200 мг/сутки, от 50 до 150 мг/сутки, от 75 до 125 мг/сутки, от 85 до 115 мг/сутки, от 90 до 110 мг/сутки, или около 100 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления соединения, выбранное из соединений 1 - 7, или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально

25 в количестве от 1 до 500 мг/сутки, от 50 до 400 мг/сутки, от 100 до 300 мг/сутки, от 150 до 250 мг/сутки, от 175 до 225 мг/сутки, от 185 до 215 мг/сутки, до 190 до 210 мг/сутки или около 200 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления соединения, выбранное из соединений 1 - 7, или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально в количестве от 1 до 500 мг/сутки, от 100

30 до 500 мг/сутки, от 200 до 400 мг/сутки, от 250 до 350 мг/сутки, от 275 до 375 мг/сутки, от 285 до 315 мг/сутки, от 290 до 310 мг/сутки, или около 300 мг/сутки. В некоторых вариантах осуществления суточную дозу соединения, выбранного из соединений 1 - 7, или его фармацевтически приемлемую соль, вводят один раз (т. е. вводят в виде разовой лекарственной формы) или в виде

одной или более разделенных дозах (т.е. вводимых в двух или более лекарственных формах) в течение двадцати четырех (24) часов. В некоторых вариантах осуществления суточная доза или каждую из разделенных доз можно вводить в виде разовой лекарственной формы или в виде множественных лекарственных форм (например, введение двух или более лекарственных форм во время каждого введения) для облегчения введения и соблюдения пациентом режима лечения. В некоторых вариантах осуществления лекарственные формы являются таблетками. В других вариантах осуществления лекарственные формы представляют собой капсулы.

10 **[0109]** В других вариантах осуществления соединение, описанное в настоящей заявке, (например, соединение, выбранное из соединений 1 - 7), или его фармацевтически приемлемую соль, вводят один раз в сутки в количестве около 1 мг, около 5 мг, около 10 мг, около 25 мг, около 50 мг, около 100 мг, около 200 мг, около 300 мг, около 400 мг, около 500 мг, около 750 мг, около 1000 мг, около 1250 мг, около 1500 мг, около 2000 мг, около 2500 мг, около 3000 мг, около 3500 мг, около 4000 мг или около 5000 мг на введение.

15 **[0110]** Фармацевтические композиции по одному аспекту настоящего изобретения также можно вводить в форме суппозиториев для ректального введения. Эти композиции могут быть приготовлены путем смешивания соединения по одному аспекту настоящего изобретения с подходящим нераздражающим вспомогательным веществом, которое является твердым при комнатной температуре, но жидким при ректальной температуре и, следовательно, будет плавиться в прямой кишке с высвобождением активных компонентов. Такие материалы включают, но не ограничиваются ими, масло какао, пчелиный воск и полиэтиленгликоли.

20 **[0111]** Местное введение фармацевтических композиций по одному аспекту настоящего изобретения применимо, когда желаемое лечение затрагивает области или органы, легко доступные для местного применения. Для местного нанесения на кожу фармацевтическая композиция должна быть составлена с подходящей мазью, содержащей активные компоненты, суспендированные или растворенные в носителе. Носители для местного введения соединений по одному аспекту настоящего изобретения включают в себя, но не ограничиваются ими, минеральное масло, жидкий парафин, парафин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен-полиоксипропиленовое соединение,

эмульгирующий воск и воду. Альтернативно, фармацевтическая композиция может быть составлена с подходящим лосьоном или кремом, содержащим активное соединение, суспендированное или растворенное в носителе с подходящими эмульгаторами. Подходящие носители включают в себя, но не ограничиваются ими, минеральное масло, сорбитанмоностеарат, полисорбат 60, цетилэфирный воск, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду. Фармацевтические композиции согласно одному из аспектов настоящего изобретения также можно наносить местно на нижний отдел кишечника в виде ректальных суппозиторий или в подходящей форме для клизмы.

5 Трансдермальные пластыри для местного применения также включены в один аспект настоящего изобретения.

[0112] Фармацевтические композиции, описанные в настоящей заявке, можно вводить в виде назального аэрозоля или ингаляции. Такие композиции готовят в соответствии с методами, хорошо известными в области создания фармацевтических препаратов, и могут быть приготовлены в виде растворов в физиологическом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, промоторов абсорбции для повышения биодоступности, фторуглеродов и/или других солюбилизующих или диспергирующих средств, известных в данной области техники.

15 **[0113]** Альтернативно описанные в настоящей заявке соединения можно, например, вводить путем инъекции, внутривенно, внутриартериально, поддермально, внутрибрюшинно, внутримышечно или подкожно; или перорально, трансбуккально, назально, через слизистую оболочку, местно, в виде офтальмологического препарата или путем ингаляции в дозе от примерно 0,5 до примерно 100 мг/кг массы тела, альтернативно в дозах от 1 мг до 1000 мг/дозу, в течение от 4 до 120 часов или в соответствии с требованиями конкретного лекарственного средства. Способы в настоящей заявке предусматривают введение эффективного количества соединения или композиции соединения для достижения желаемого или заявленного эффекта.

20 **[0113]** Как правило, фармацевтические композиции по одному аспекту настоящего изобретения будут введены от примерно 1 до примерно 6 раз в день или, альтернативно, в виде непрерывной инфузии. Такое введение можно использовать в качестве длительной или неотложной терапии. Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с материалами-

носителями для получения разовой лекарственной формы, будет варьироваться в зависимости от подвергаемого лечению хозяина и конкретного способа введения. Типичный препарат будет содержать от примерно 5 % до примерно 95 % активного соединения (мас./мас.). В качестве альтернативы такие препараты содержат примерно от 20 % до примерно 80 % активного соединения.

[0114] Могут потребоваться более низкие или более высокие дозы, чем указанные выше. Конкретные дозы и схемы лечения для любого конкретного субъекта будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, режим питания, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, тяжесть и течение заболевания, состояния или симптомы, предрасположенность субъекта к заболеванию, состоянию или симптомам, а также заключение лечащего врача.

[0115] При улучшении состояния субъекта при необходимости может быть введена поддерживающая доза соединения, композиции или комбинации по одному из аспектов настоящего изобретения. Впоследствии дозировка или частота введения, или и то, и другое, могут быть уменьшены в зависимости от симптомов до уровня, при котором сохраняется улучшенное состояние, когда симптомы облегчаются до желаемого уровня. Субъектам, однако, может потребоваться прерывистое лечение на долгосрочной основе при любом рецидиве симптомов заболевания.

[0116] Описанные выше фармацевтические композиции, содержащие соединение, выбранное из соединений 1 - 7, или его фармацевтически приемлемую соль, или соединение, описанное в любом из вариантов осуществления в настоящей заявке, могут дополнительно содержать другое терапевтическое средство, применимое для лечения рака.

[0117] Когда композиции в соответствии с настоящим изобретением содержат комбинацию соединения формул, описанных в настоящей заявке, и одного или нескольких дополнительных терапевтических или профилактических средств, как соединение, так и дополнительное средство должны присутствовать в дозировках примерно от 1 до 100 % и более предпочтительно примерно от 5 до 95 % дозы, обычно вводимой в режиме монотерапии. Дополнительные средства можно вводить отдельно, как часть схемы многократного приема, от соединений по одному из аспектов настоящего изобретения. Альтернативно, эти средства

могут быть частью разовой лекарственной формы, смешанной вместе с соединениями одного аспекта настоящего изобретения в одной композиции.

Способы применения

5 [0118] Предложен способ ингибирования активности мутантного IDH1 и/или мутантного IDH2, включающий в себя приведение нуждающегося в этом субъекта в контакт с соединением, выбранным из соединений 1-7, или его фармацевтически приемлемой солью.

10 [0119] Также предложены способы лечения рака, характеризующегося наличием мутантного аллеля IDH1, включающие в себя стадию введения нуждающемуся в этом субъекту (а) соединения в соответствии с настоящим изобретением (например, соединения, выбранного из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой соли, или (б) фармацевтической композиции, содержащей (а) и фармацевтически приемлемый носитель.

15 [0120] В одном варианте осуществления рак, подлежащий лечению, характеризуется мутантным аллелем IDH1, где мутация IDH1 приводит к новой способности фермента катализировать НАДФ-зависимое восстановление α -кетоглутарата до *R(-)-2-(2HG)* у пациента. В одном аспекте данного варианта осуществления мутация IDH1 представляет собой мутацию R132X. В другом аспекте данного варианта осуществления мутацию R132X выбирают из R132H, R132C, R132L, R132V, R132S и R132G. В другом аспекте мутация R132X представляет собой R132H или R132C. Рак можно анализировать путем секвенирования образцов клеток для определения наличия и специфического характера (например, присутствующей измененной аминокислоты) мутации в аминокислоте 132 IDH1.

20 [0121] Не ограничиваясь теорией, заявители полагают, что мутантные аллели IDH1, в которых мутация IDH1 приводит к новой способности фермента катализировать НАДФ-зависимое восстановление α -кетоглутарата до *R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG)*, и в частности, мутации R132H IDH1 характеризуют подмножество всех типов рака, независимо от их клеточной природы или локализации в организме. Таким образом, соединения и способы в соответствии с настоящим изобретением применимы для лечения любого типа рака, который характеризуется наличием мутантного аллеля IDH1, придающего такую активность, и, в частности, мутации IDH1 R132H или R132C.

[0122] В одном варианте осуществления рак представляет собой опухоль, в которой по меньшей мере 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90 % опухолевых клеток несут мутацию IDH1 и, в частности, мутацию IDH1 R132H или R132C, на момент постановки диагноза или лечения.

5 **[0123]** Известно, что мутации IDH1 R132X возникают при определенных типах рака, как указано в таблице 1 ниже.

Таблица 1. Мутации IDH, связанные с некоторыми видами рака

| Тип рака | Мутация IDH1 R132X | Тип опухоли |
|-----------------------------------|--------------------|----------------------------------|
| Опухоли головного мозга | R132H | первичная опухоль |
| | R132C | первичная опухоль |
| | R132S | первичная опухоль |
| | R132G | первичная опухоль |
| | R132L | первичная опухоль |
| | R132V | первичная опухоль |
| Фибросаркома | R132C | линия клеток фибросаркомы HT1080 |
| Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) | R132H | первичная опухоль |
| | R132G | первичная опухоль |
| | R132C | первичная опухоль |
| Рак предстательной железы | R132H | первичная опухоль |
| | R132C | первичная опухоль |
| Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) | R132C | первичная опухоль |
| Параганглиомы | R132C | первичная опухоль |

10 **[0124]** Мутации IDH1 R132H были выявлены при глиомах (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластоме (включая вторичную глиобластому), остром миелогенном лейкозе, саркоме, меланоме, немелкоклеточном раке легкого, холангиокарциномах, хондросаркоме, миелодиспластическом синдроме (МДС), миелопролиферативном новообразовании (МПН), раке толстой кишки и ангиоиммунобластной
15 неходжкинской лимфоме (НХЛ). Соответственно, в одном варианте осуществления описанные в настоящей заявке способы применяют для лечения у пациента глиомы (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластомы (включая вторичную глиобластому), астроцитом степени II и III, олигодендроглиомы степени II и III, острого миелогенного лейкоза, саркомы,
20 меланомы, немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), холангиокарцином,

хондросаркомы, миелодиспластических синдромов (МДС),
миелопролиферативного новообразования (МПН), рака толстой кишки или
ангиоиммунобластной неходжкинской лимфомы (НХЛ).

5 [0125] В другом варианте осуществления описанные в настоящей заявке
способы применяют для лечения у пациента глиомы (включая глиому низкой
степени злокачественности), глиобластомы (включая вторичную глиобластому),
астроцитом степени II и III, олигодендроглиомы степени II и III, острого
миелогенного лейкоза, саркомы, меланомы, немелкоклеточного рака легкого
10 (НМРЛ), холангиокарциномы (например, внутripеченочной холангиокарциномы
(ВГХК)), хондросаркомы, миелодиспластических синдромов (МДС),
миелопролиферативного новообразования (МПН), рака предстательной железы,
хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ), В-острых лимфобластных
лейкозов (В-ОЛЛ), В-острых лимфобластных лейкозий (В-ОЛЛ), миелоидной
саркомы, множественной миеломы, лимфомы, рака толстой кишки или
15 ангиоиммунобластной неходжкинской лимфомы (НХЛ).

[0126] В другом варианте осуществления способы, описанные в
настоящей заявке, используют для лечения запущенных гематологических
злокачественных новообразований. В одном варианте осуществления
прогрессирующее гематологическое злокачественное новообразование,
20 подлежащее лечению, представляет собой лимфому (например, неходжкинскую
лимфому (НХЛ), такую как В-клеточная лимфома (например, лимфома Беркитта,
хронического лимфолейкоза/мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы
(ХЛЛ/МЛЛ), диффузной В-крупноклеточной лимфомы, фолликулярной
лимфомы, иммунобластной крупноклеточной лимфомы, предшественницы В-
25 лимфобластной лимфомы и мантийно-клеточной лимфомы и Т-клеточной
лимфомы (например, грибovidный микоз, анапластическая крупноклеточная
лимфома и предшественница Т-лимфобластной лимфомы).

[0127] Соответственно, в одном варианте осуществления рак
представляет собой рак, выбранный из любого из типов рака, перечисленных в
30 таблице 1 или как дополнительно описано в настоящей заявке, и мутация IDH
R132X представляет собой одну или несколько мутаций IDH1 R132X,
перечисленных в таблице 1 для этого конкретного типа рака.

[0128] Также предложен способ ингибирования активности мутантного
IDH2, включающий приведение нуждающегося в этом субъекта в контакт с

соединением в соответствии с настоящим изобретением (например, соединением, выбранным из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой солью.

5 **[0129]** Также предложены способы лечения рака, характеризующегося наличием мутантного аллеля IDH2, включающие в себя стадию введения нуждающемуся в этом субъекту (а) соединения в соответствии с настоящим изобретением (например, соединения, выбранного из соединений 1 - 7), или его фармацевтически приемлемой соли или (б) фармацевтической композиции, содержащей (а) и фармацевтически приемлемый носитель.

10 **[0130]** В одном варианте осуществления рак, подлежащий лечению, характеризуется мутантным аллелем IDH2, где мутация IDH2 приводит к новой способности фермента катализировать НАДФ-зависимое восстановление α -кетоглутарата до *R(-)*-2-гидроксиглутарата (2HG) у пациента. В одном аспекте данного варианта осуществления мутантный IDH2 имеет мутацию R140X. В
15 другом аспекте данного варианта осуществления мутация R140X представляет собой мутацию R140Q. В другом аспекте данного варианта осуществления мутация R140X представляет собой мутацию R140W. В другом аспекте данного варианта осуществления мутация R140X представляет собой мутацию R140L. В
20 другом аспекте данного варианта осуществления мутантный IDH2 имеет мутацию R172X. В другом аспекте данного варианта осуществления мутация R172X представляет собой мутацию R172K. В другом аспекте данного варианта осуществления мутация R172X представляет собой мутацию R172G. Рак можно проанализировать путем секвенирования образцов клеток для определения
25 наличия и специфического характера (например, присутствующей измененной аминокислоты) мутации аминокислоты 140 и/или 172 IDH2.

[0131] Не ограничиваясь теорией, заявители полагают, что мутантные аллели IDH2, в которых мутация IDH2 приводит к новой способности фермента катализировать НАДФ-зависимое восстановление α -кетоглутарата до *R(-)*-2-гидроксиглутарата (2HG), и, в частности, R140Q и/или мутации R172K
30 IDH2 характеризуют подмножество всех типов рака, независимо от их клеточной природы или локализации в организме. Таким образом, соединения и способы согласно одному аспекту настоящего изобретения применимы для лечения любого типа рака, который характеризуется наличием мутантного аллеля IDH2,

придающего такую активность, и, в частности, мутации IDH2 R140Q и/или R172K.

5 **[0132]** В одном варианте осуществления рак представляет собой опухоль, в которой по меньшей мере 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90 % опухолевых клеток несут мутацию IDH2 и, в частности, мутацию IDH2 R140Q, R140W или R140L и/или R172K или R172G во время диагностики или лечения.

10 **[0133]** В другом варианте осуществления один аспект изобретения относится к способу лечения рака, выбранного из глиомы (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластомы (включая вторичную глиобластому), астроцитом степени II и III, олигодендроглиомы степени II и III, миелодиспластического синдрома (МДС), миелопролиферативного новообразования (МПН), острого миелогенного лейкоза (ОМЛ), саркомы, меланомы, немелкоклеточного рака легкого, хондросаркомы, холангиокарциномы или ангиоимунобластной лимфомы у пациента путем
15 введения пациенту соединения в соответствии с настоящим изобретением (*например*, соединения, выбранного из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой соли в количестве, эффективном для лечения рака. В более конкретном варианте осуществления рак, подлежащий лечению, представляет собой глиому (включая глиому низкой степени
20 злокачественности), глиобластому (включая вторичную глиобластому), астроцитомы степени II и III, олигодендроглиомы степени II и III, миелодиспластический синдром (МДС), миелопролиферативное новообразование (МПН), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), меланому, хондросаркому или ангиоимунобластную неходжкинскую лимфому (НХЛ).

25 **[0134]** Способы лечения, описанные в настоящей заявке, могут дополнительно включать в себя различные этапы оценки до и/или после лечения соединением в соответствии с настоящим изобретением (*например*, соединением, выбранным из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой солью.

30 **[0135]** В одном варианте осуществления до и/или после лечения соединением в соответствии с настоящим изобретением (*например*, соединением, выбранным из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой солью способ дополнительно включает в себя стадию оценки роста, размера, массы, инвазивности, стадии и/или другого фенотипа рака с

использованием одного или нескольких способов, известных и используемых специалистами в данной области.

[0136] В одном варианте осуществления до и/или после лечения соединением в соответствии с настоящим изобретением (например, соединением, выбранным из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой солью способ дополнительно включает в себя стадию оценки генотипа IDH1 или IDH2 рака. Это может быть достигнуто обычными методами в данной области, такими как секвенирование ДНК, иммуноанализ и/или оценка наличия, распределения или уровня R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG).

[0137] В одном варианте осуществления до и/или после лечения соединением в соответствии с настоящим изобретением (например, соединением, выбранным из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой солью способ дополнительно включает в себя стадию определения у субъекта уровня R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG). Это может быть достигнуто с помощью спектроскопического анализа, например, анализа на основе магнитного резонанса, например, измерения МРТ и/или МРС, анализа образцов жидкости организма, такого как анализ сыворотки или жидкости спинного мозга, или путем анализа операционного материала, например, с помощью масс-спектропии.

[0138] В одном аспекте данного варианта осуществления эффективность лечения рака контролируют путем измерения у субъекта уровней R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG). Как правило, уровни R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) измеряют перед лечением, при этом повышенный уровень R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) (вместе с подтвержденным статусом мутации IDH) is используют для подтверждения приемлемости применения соединения в соответствии с настоящим изобретением (*например*, соединения, выбранного из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения рака. Как только повышенные уровни установлены, уровень R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) определяют во время курса и/или после прекращения лечения, чтобы установить целевое взаимодействие (т.е. ингибирование мутантного IDH путем введения соединения в соответствии с настоящим изобретением или его фармацевтически приемлемой соли). В конкретных вариантах осуществления уровень R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) определяют только во время курса и/или после прекращения лечения. Снижение уровней R(-)-2-гидроксиглутарата

(2HG) во время курса лечения и после лечения свидетельствует о вовлечении мишени. Как правило, измерения R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) будут использоваться вместе с другими хорошо известными определениями эффективности лечения рака, такими как уменьшение количества и размера опухолей и/или других поражений, связанных с раком, улучшение общего состояния здоровья, субъекта и изменения других биомаркеров, которые связаны с эффективностью лечения рака.

[0139] R(-)-2-гидроксиглутарат (2HG) можно обнаружить в образце с помощью ЖХ/МС. Образец смешивают с метанолом в соотношении 80:20 и центрифугируют при 3000 об./мин. в течение 20 минут при 4 градусах Цельсия. Полученный супернатант можно собрать и хранить при температуре -80 градусов Цельсия перед проведением ЖХ-МС/МС для оценки уровней 2-гидроксиглутарата (2HG). Можно использовать различные методы разделения с помощью жидкостной хроматографии (ЖХ). Каждый метод можно сочетать с отрицательной ионизацией электрораспылением (ESI, -3,0 кВ) с тройными квадрупольными масс-спектрометрами, работающими в режиме мониторинга множественных реакций (MRM), с параметрами МС, оптимизированными для вливаемых стандартных растворов метаболитов. Метаболиты можно разделить хроматографией с обращенной фазой с использованием 10 мМ трибутиламина в качестве ионного связывающего средства в водной подвижной фазе в соответствии с вариантом ранее описанного метода (Luo и соавт. *J Chromatogr A* 1147, 153-64, 2007). Один метод позволяет разделить метаболиты ТСА: t = 0, 50 % В; t = 5, 95 % В; t = 7, 95 % В; t = 8, 0 % В, где В относится к органической подвижной фазе 100 % метанола. Другой метод специфичен для 2-гидроксиглутарата (2HG) с использованием быстрого линейного градиента от 50 % до 95 % В (буферы, как определено выше) в течение 5 минут. В качестве колонки можно использовать Synergi Hydro-RP, 100 мм × 2 мм, размер частиц 2,1 мкм (Phenomenex), как описано выше. Метаболиты могут быть определены количественно путем сравнения площадей пиков со стандартами чистых метаболитов при известной концентрации. Исследования потока метаболитов из ¹³С-глутамин можно проводить, как описано, например, в Munger и соавт. *Nat Biotechnol* 26, 1179-86, 2008.

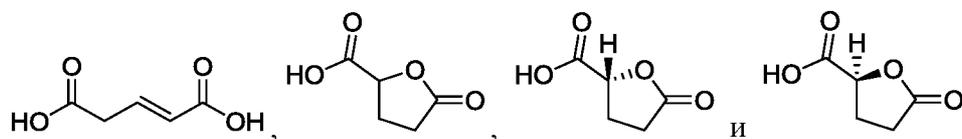
[0140] В одном варианте осуществления концентрацию R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) оценивают перед обработкой соединением в

соответствии с настоящим изобретением (например, соединением, выбранным из соединений 1 - 7) или его фармацевтически приемлемой солью. В другом варианте осуществления концентрацию R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) оценивают после лечения раскрытым в настоящей заявке соединением или его фармацевтически приемлемой солью. В некоторых вариантах осуществления оценку R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) проводят с использованием биологической жидкости пациента-человека. В других вариантах осуществления оценку R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) проводят с использованием биологического материала из биопсии или образца ткани пациента-человека. В некоторых аспектах образец биопсии или ткани взят из опухоли головного мозга пациента-человека. В некоторых вариантах осуществления биопсию или образец ткани берут у пациента-человека перед лечением соединением в соответствии с настоящим изобретением или после лечения соединением в соответствии с настоящим изобретением или как до, так и после лечения соединением в соответствии с настоящим изобретением.

[0141] В другом варианте осуществления оценивают производное R(-)-гидроксиглутарата (2HG), образовавшееся в процессе осуществления аналитического метода. Например, такое производное может быть производным, образованным в МС анализе. Производные могут включать в себя солевой аддукт, например, аддукт Na, вариант гидратации или вариант гидратации, который также является солевым аддуктом, например, аддукт Na, например, полученный при МС анализе.

[0142] В другом варианте осуществления оценивают метаболическое производное R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG). Примеры включают виды, которые накапливаются, повышаются или снижаются в результате присутствия R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG), такого как глутарат или глутамат, которые будут коррелировать с R(-)-2-гидроксиглутаратом (2HG), например, R-2HG.

[0143] Примеры производных R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) включают в себя дегидратированные производные, такие как соединения, представленные ниже, или их солевой аддукт:



[0144] Также предложены способы лечения заболевания, выбранного из синдрома Маффуччи и болезни Олье, характеризующегося наличием мутантного аллеля IDH1, включающие в себя стадию введения нуждающемуся в этом субъекту (а) соединения в соответствии с настоящим изобретением (например, соединения, выбранного из соединений 1 - 7), или его фармацевтически приемлемой соли, или (б) фармацевтической композиции, содержащей (а) и фармацевтически приемлемый носитель.

Опухоли головного мозга, которые можно лечить способами по изобретению

[0145] В одном аспекте способы в соответствии с изобретением применимы для лечения опухолей головного мозга. Сюда входят все опухоли внутри черепа человека или в центральном спинномозговом канале. Опухоль может исходить из самого головного мозга, а также из лимфатической ткани, кровеносных сосудов, черепно-мозговых нервов, мозговых оболочек (оболочек мозга), черепа, гипофиза или шишковидной железы. В самом головном мозге вовлеченными клетками могут быть нейроны или глиальные клетки (включая астроциты, олигодендроциты и эпендимальные клетки). Опухоли головного мозга также могут распространяться из раковых образований, преимущественно расположенных в других органах (метастатические опухоли).

[0146] В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга представляет собой глиому, такую как эпендимома, астроцитомы, олигоастроцитомы, олигодендроглиома, ганглиоглиома, глиобластома (также известная как мультиформная глиобластома) или смешанная глиома. Глиомы являются первичными опухолями головного мозга и подразделяются на четыре степени (I, II, III и IV) на основании их внешнего вида под микроскопом и, в частности, наличия атипичных клеток, митозов, эндотелиальной пролиферации и некроза. Опухоли I и II степени, называемые «глиомами низкой степени злокачественности», не имеют ни одного из этих признаков или одного из них и включают в себя диффузные астроцитомы, пилоцитарные астроцитомы, астроцитомы низкой степени злокачественности, олигоастроцитомы низкой степени злокачественности, олигодендроглиомы низкой степени злокачественности, ганглиоглиомы, дизэмбриопластические нейроэпителиальные опухоли, плеоморфные ксантоастроцитомы и смешанные глиомы. Опухоли степени III и IV, называемые «глиомами высокой степени

злокачественности», имеют два или более из этих признаков и включают в себя анапластические астроцитомы, анапластические олигодендроглиомы, анапластические олигоастроцитомы, анапластические эпендимомы и глиобластомы (включая гигантоклеточные глиобластомы и глиосаркомы). В
5 одном аспекте этих вариантов осуществления глиома представляет собой глиому низкой степени злокачественности. В другом аспекте этих вариантов осуществления глиома представляет собой глиому высокой степени злокачественности. В другом аспекте этих вариантов осуществления глиома представляет собой глиобластому (включая вторичную глиобластому). В
10 некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга представляет собой астроцитому II или III степени. В некоторых вариантах осуществления опухоль головного мозга представляет собой олигодендроглиому II или III степени.

[0147] В дополнительных вариантах осуществления опухоль головного
15 мозга (например, глиома (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластома (включая вторичную глиобластому), астроцитому степени II или III, олигодендроглиому степени II или III является впервые диагностированной. В других вариантах осуществления опухоль головного мозга (например, глиому (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластому (включая
20 вторичную глиобластому), астроцитомы степени II или III, олигодендроглиому степени II или III) предварительно лечили одним или несколькими терапевтическими методами, включая хирургическое вмешательство, лучевую терапию или одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами. В других вариантах осуществления опухоль головного мозга
25 (например, глиому (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластому (включая вторичную глиобластому), астроцитому степени II или III, олигодендроглиому степени II или III) не подвергали лечению лучевой терапией.

[0148] В некоторых вариантах осуществления подлежащая лечению
30 опухоль головного мозга (например, глиома (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластома (включая вторичную глиобластому), астроцитому степени II или III, олигодендроглиому степени II или III) характеризуется наличием мутации IDH1, где мутация IDH1 приводит к накоплению R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) у пациента. В одном из аспектов

этих вариантов осуществления мутация IDH1 приводит к накоплению R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) у пациента, обеспечивая новую способность фермента катализировать у пациента НАДФН-зависимое восстановление α -кетоглутарата до R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG). В другом аспекте этих вариантов осуществления мутация IDH1 представляет собой мутацию R132X. В другом аспекте этих вариантов осуществления мутация R132X выбрана из R132H, R132C, R132L, R132V, R132S и R132G. В другом аспекте этих вариантов осуществления мутация R132X представляет собой R132 H или R132C. В еще одном аспекте этих вариантов осуществления мутация R132X представляет собой R132H. В еще одном аспекте этих вариантов осуществления по меньшей мере 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90 % опухоли головного мозга (например, глиомы (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластомы (включая вторичную глиобластому), степени II или III клетки астроцитомы, олигодендроглиомы степени II или III) несут мутацию IDH1 R132X, такую как мутация R132H, R132C, R132L, R132V, R132S или R132G, во время диагностики или лечения. Опухоль головного мозга (например, глиому (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластому (включая вторичную глиобластому), астроцитому степени II или III, олигодендроглиому степени II или III) можно анализировать путем секвенирования образцов клеток для определения наличия и специфического характера (например, измененная аминокислота присутствует при) мутации в аминокислоте 132 IDH1.

[0149] В других вариантах осуществления подлежащая лечению опухоль головного мозга (например, глиома (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластома (включая вторичную глиобластому), астроцитому степени II или III, олигодендроглиому степени II или III) характеризуется наличием мутации IDH2, при этом мутация IDH2 приводит к накоплению R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) у пациента. В одном из аспектов этих вариантов осуществления мутация IDH2 приводит к накоплению R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) у пациента, обеспечивая новую способность фермента катализировать у пациента НАДФН-зависимое восстановление α -кетоглутарата до R(-)-2-гидроксиглутарат (2HG). В другом аспекте этих вариантов осуществления мутантный IDH2 имеет мутацию R140X. В другом аспекте этих вариантов осуществления мутация R140X представляет собой мутацию R140Q. В другом аспекте этих вариантов осуществления мутация R140X представляет собой

мутацию R140W. В другом аспекте этих вариантов осуществления мутация R140X представляет собой мутацию R140L. В другом аспекте этих вариантов осуществления мутантный IDH2 имеет мутацию R172X. В другом аспекте этих вариантов осуществления мутация R172X представляет собой мутацию R172K. В другом аспекте этих вариантов осуществления мутация R172X представляет собой мутацию R172G. В еще одном аспекте этих вариантов осуществления по меньшей мере у 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90% опухоли головного мозга (например, глиомы (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластомы (включая вторичную глиобластому), степени II или III астроцитомы, олигодендроглиомы степени II или III) клетки несут мутацию IDH2 R140X и/или R172X, такую как мутация R140Q, R140W или R140L и/или R172K или R172G, во время диагностики или лечения. Опухоль головного мозга (например, глиому (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластому (включая вторичную глиобластому), астроцитому степени II или III, олигодендроглиому степени II или III) можно анализировать путем секвенирования образцов клеток для определения наличия и специфического характера (например, измененная аминокислота присутствует при) мутации аминокислоты 140 и/или 172 IDH2.

[0150] В других вариантах осуществления подлежащая лечению опухоль головного мозга (например, глиома (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластома (включая вторичную глиобластому, астроцитому степени II или III, олигодендроглиому степени II или III) характеризуется наличием мутации IDH1 и мутации IDH2, при этом мутации IDH1 и IDH2 в совокупности приводят к накоплению у пациента R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG). В одном аспекте этих вариантов осуществления мутации IDH1 и IDH2 приводят к накоплению R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) у пациента, обеспечивая новую способность фермента катализировать НАДФН-зависимое восстановление α -кетоглутарата до R(-)-2-гидроксиглутарата (2HG) у пациента. В различных аспектах этих вариантов осуществления мутация IDH1 представляет собой мутацию R132X, выбранную из R132H, R132C, R132L, R132V, R132S и R132G. В различных аспектах этих вариантов осуществления мутация IDH2 представляет собой мутацию R140Q, R140W, R140L, R172K или R172G. В различных других аспектах этих вариантов осуществления опухоль головного мозга (например, глиома (включая глиому низкой степени

злокачественности), глиобластома (включая вторичную глиобластому), астроцитомы степени II или III, олигодендроглиомы степени II или III), подлежащая лечению, характеризуется любой комбинацией вышеупомянутых мутаций IDH1 и IDH2. В других аспектах этих вариантов осуществления по 5 меньшей мере у 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90% опухоли головного мозга (например, глиома (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластома (включая вторичную глиобластому), астроцитомы II или III степени, олигодендроглиомы II или III степени) клетки несут мутацию IDH1 R132X, такую как R132H, R132C, R132L, R132V, R132S или R132G, и мутацию 10 IDH2 R140X и/или R172X, такую как R140Q, R140W или R140L, и/или мутацию R172K или R172G во время постановки диагноза или лечения. Опухоль головного мозга (например, глиому (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластому (включая вторичную глиобластому), астроцитому II или III степени, олигодендроглиому II или III степени) можно 15 анализировать путем секвенирования образцов клеток для определения наличия и специфического характера (например, измененная аминокислота присутствует при) мутации в аминокислоте 132 IDH1 и в аминокислоте 140 и/или 172 IDH2.

[0151] В других вариантах осуществления подлежащая лечению опухоль 20 головного мозга (например, глиома (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластома (включая вторичную глиобластому), астроцитому II или III степени, олигодендроглиому II или III степени) характеризуется наличием аллеля IDH1, который не содержит мутацию R132X и аллеля IDH2, который не содержит мутацию R140X или R172X. В одном аспекте 25 этих вариантов осуществления по меньшей мере 90 % клеток опухоли головного мозга (например, глиомы (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластомы (включая вторичную глиобластому), астроцитомы степени II или III, олигодендроглиомы степени II или III) не содержат мутацию в аминокислоте 132 IDH1 или в аминокислоте 140 или 172 IDH2 во время постановки диагноза или лечения. Опухоль головного мозга (например, глиому (включая глиому 30 низкой степени злокачественности), глиобластому (включая вторичную глиобластому), астроцитому II или III степени, олигодендроглиому II или III степени) можно анализировать путем секвенирования образцов клеток для определения наличия или отсутствия мутации в аминокислоте 132 IDH1 и в аминокислоте 140 и/или 172 IDH2.

Комбинированная терапия

[0152] В некоторых вариантах осуществления описанные в настоящей заявке способы включают в себя дополнительную стадию совместного введения субъекту, нуждающемуся в этом, дополнительного терапевтического воздействия (например, дополнительного противоракового терапевтического средства, дополнительного терапевтического средства для сведения к минимуму симптомов рака или побочных эффектов лечение рака или дополнительное лечение рака). Примеры дополнительных противораковых терапевтических средств (противораковых лекарственных средств) включают, например, химиотерапию цитотоксическими или цитостатическими средствами, таргетную терапию (таргетные лекарственные средства), терапию антителами, иммунотерапию и гормональную терапию. Примеры дополнительных терапевтических средств (лекарственных средств) для сведения к минимуму симптомов и побочных эффектов включают, например, противоэпилептические лекарственные средства, противосудорожные лекарственные средства и лекарственные средства против рвоты. Дополнительные методы лечения рака включают в себя, например, хирургическое вмешательство и лучевую терапию. Ниже приведены примеры каждого из этих способом лечения.

[0153] Термин «совместное введение», используемый в настоящей заявке в отношении дополнительных противораковых терапевтических средств, означает, что дополнительное противораковое терапевтическое средство можно вводить вместе с соединением по одному аспекту настоящего изобретения как часть разовой дозированной формы (такой как композиция в соответствии с одним из аспектов настоящего изобретения, включающая в себя соединение в соответствии с одним из аспектов и второе терапевтическое средство, как описано выше) или в виде отдельных множественных лекарственных форм. Альтернативно, дополнительный противораковый терапевтический агент можно вводить до, последовательно с или после введения соединения по одному аспекту настоящего изобретения. При таком комбинированном терапевтическом лечении как соединения одного аспекта данного изобретения, так и второе терапевтическое средство вводят обычными способами. Введение композиции по одному аспекту данного изобретения, включающей в себя как соединение по одному аспекту изобретения, так и второе терапевтическое средство, субъекту не исключает отдельного введения того же самого терапевтического средства,

любого другого второго терапевтического средства или любого соединения по одному аспекту настоящего изобретения указанному субъекту в другое время в ходе курса лечения. Термин «совместное введение», используемый в настоящей заявке в отношении дополнительного лечения рака, означает, что

5 дополнительное лечение рака может происходить до, последовательно, одновременно с или после введения соединения по одному из аспектов настоящего изобретения.

[0154] В некоторых вариантах осуществления дополнительное противораковое терапевтическое средство представляет собой

10 химиотерапевтическое средство. Примеры химиотерапевтических средств, используемых в лечении рака, включают в себя, например, антиметаболиты (например, производные фолиевой кислоты, пурина и пиримидина), алкилирующие средства (например, азотистые иприты, нитрозомочевины, платину, алкилсульфонаты, гидразины, триазены, азиридины, веретенообразный

15 яд, цитотоксические средства, ингибиторы топоизомеразы и другие) и гипометилирующие средства (например, децитабин (5-аза-дезоксцитидин), зебуларин, изотиоцианаты, азацитидин (5-азацитидин), 5-фтор-2'-дезоксцитидин, 5,6-дигидро-5-азацитидин и другие). Примеры средств включают в себя акларубицин, актиномицин, алитретиноин, алтретамин,

20 аминоптерин, аминолевулиновую кислоту, амрубицин, амсакрин, анагрелид, триоксид мышьяка, аспарагиназу, атразентан, белотекан, бексаротен, бендамустин, блеомицин, бортезомиб, бусульфан, камптотецин, капецитабин, карбоплатин, карбоквон, кармофур, кармустин, целекоксиб, хлорамбуцил, хлорметин, цисплатин, кладрибин, клофарабин, кризантаспаза, циклофосфамид,

25 цитарабин, дакарбазин, дактиномицин, даунорубицин, децитабин, демеколцин, доцетаксел, доксорубицин, эфапроксирал, элескломол, эльсамитруцин, эноцитабин, эпирубицин, эстрамустин, этоглюцид, этопозид, флоксуридин, флударабин, фторурацил (5FU), фотемустин, гемцитабин, имплантаты глиадель, гидроксикарбамид, гидроксимочевина, идарубицин, ифосфамид, иринотекан,

30 ирофульвен, иксабепилон, ларотаксел, лейковорин, липосомальный доксорубицин, липосомальный даунорубицин, лонидамин, ломустин, лукантон, манносульфан, масопрокол, мелфалан, меркаптопурин, месна, метотрексат, метиламинолевулинат, митобронитол, митогуазон, митотан, митомицин, митоксантрон, недаплатин, нимустин, облимерсен, омацетаксин, ортатаксел,

оксалиплатин, паклитаксел, пегаспаргаза, пеметрексед, пентостатин, пирарубицин, пиксантрон, пликамицин, порфимер натрия, преднимустин, прокарбазин, ралтитрексед, ранимустин, рубитекан, сапацитабин, семустин, ситимаген, цераденовек, стратаплатин, стрептозоцин, талапорфин, тегафур-
5 урацил, темопорфин, темозоломид, тенипозид, тезетаксел, тестолактон, тетранитрат, тиотепа, тиазофурин, тиогуанин, типифарниб, топотекан, трабектедин, триазиквон, триэтиленмеламин, триплатин, третиноин, треосульфат, трофосфамид, урамустин, валрубицин, вертепорфин, винбластин, винкристин, виндезин, винфлунин, винорелбин, вориностат, зорубицин и другие
10 цитостатические или цитотоксические средства, описанные в настоящей заявке.

[0155] Поскольку некоторые лекарственные средства действуют вместе лучше, чем по отдельности, часто назначают два или более лекарственных средств одновременно. Часто в качестве комбинированной химиотерапии используют два или более химиотерапевтических средства.

[0156] В некоторых вариантах осуществления дополнительное противораковое терапевтическое средство представляет собой средство дифференцировки. Такое средство дифференцировки включает в себя ретиноиды (такие как полностью *транс*-ретиноевая кислота (ATRA), *9-цис*-ретиноевая кислота, *13-цис*-ретиноевая кислота (13-cRA) и 4-гидроксифенретинамид (4-NPR)); триоксид мышьяка; ингибиторы гистондеацетилазы HDAC (такие как азациитидин (Видаза) и бутираты (например, фенилбутират натрия)); гибридные полярные соединения (такие как гексаметиленбисацетамид ((HMBA)); витамин D и цитокины (такие как колониестимулирующие факторы, включая G-CSF и GM-CSF, и интерфероны).

[0157] В некоторых вариантах осуществления дополнительное противораковое терапевтическое средство представляет собой таргетное терапевтическое средство. Таргетная терапия представляет собой использование средств, специфичных для deregulированных белков раковых клеток. Низкомолекулярные таргетные терапевтические лекарственные средства обычно являются ингибиторами ферментативных доменов мутированных, сверхэкспрессированных или иным образом важных белков в раковой клетке. Яркими примерами являются ингибиторы тирозинкиназы, такие как акситиниб, бозутиниб, цедираниб, дазатиниб, эрлотиниб, иматиниб, гефитиниб, лапатиниб, лестауртиниб, нилотиниб, семаксаниб, сорафениб, сунитиниб и вандетаниб, а

также ингибиторы циклинзависимой киназы, такие как алвоцидиб и селициклиб. Терапия моноклональными антителами представляет собой другую стратегию, при которой терапевтическое средство представляет собой антитело, которое специфически связывается с белком на поверхности раковых клеток. Примеры включают в себя антитело против HER2/neu трастузумаб (ГЕРЦЕПТИН®), обычно используемое при раке молочной железы, и антитело против CD20 ритуксимаб и тозитумомаб, обычно используемые при различных В-клеточных злокачественных опухолях. Другие иллюстративные антитела включают в себя цетуксимаб, панитумумаб, трастузумаб, алемтузумаб, бевацизумаб, эдреколомаб и гемтузумаб. Примеры слитых белков включают в себя афлиберцепт и денилейкин дифтитокс. В некоторых вариантах осуществления таргетная терапия может быть применена в сочетании с соединением, описанным в настоящей заявке, например, бигуанидом, таким как метформин или фенформин, предпочтительно фенформином.

[0158] Таргетная терапия может также включать в себя небольшие пептиды в качестве «устройств самонаведения», которые могут связываться с рецепторами клеточной поверхности или пораженным внеклеточным матриксом, окружающим опухоль. Радионуклиды, присоединенные к этим пептидам (например, RGD), в конечном итоге убивают раковую клетку, если нуклид распадается вблизи клетки. Пример такой терапии включает в себя BEXXAR®.

[0159] В некоторых вариантах осуществления дополнительное противораковое терапевтическое средство представляет собой иммунотерапевтическое средство. Иммунотерапия рака относится к разнообразному набору терапевтических стратегий, направленных на то, чтобы побудить собственную иммунную систему субъекта бороться с опухолью. Современные методы генерирования иммунного ответа против опухолей включают внутрипузырную иммунотерапию БЦЖ при поверхностном раке мочевого пузыря и использование интерферонов и других цитокинов для индукции иммунного ответа у субъектов с почечно-клеточной карциномой и меланомой.

[0160] Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток может рассматриваться как форма иммунотерапии, поскольку иммунные клетки донора часто атакуют опухоль в режиме «трансплантат против опухоли». В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтические средства можно

использовать в сочетании с соединением или композицией, описанными в настоящей заявке.

[0161] В некоторых вариантах осуществления дополнительное противораковое терапевтическое средство является средством гормональной терапии. Рост некоторых видов рака можно затормозить, обеспечив или блокируя определенные гормоны. Общие примеры опухолей, чувствительных к гормонам, включают определенные виды рака молочной железы и простаты. Удаление или блокирование эстрогена или тестостерона часто является важным дополнительным лечением. При некоторых видах рака введение агонистов гормонов, таких как прогестагены, может быть терапевтически полезным. В некоторых вариантах осуществления гормональные терапевтические средства можно использовать в сочетании с соединением или композицией, описанными в настоящей заявке.

[0162] Другие возможные дополнительные терапевтические методы включают в себя иматиниб, генную терапию, вакцины на основе пептидов и дендритных клеток, синтетические хлортоксины, а также меченные радиоактивным изотопом лекарственные средства и антитела.

Дополнительные терапевтические способы лечения рака головного мозга

[0163] Дополнительные терапевтические способы, которые следует использовать в сочетании со способами лечения рака головного мозга, описанными в настоящей заявке, включают в себя те терапевтические способы (например, хирургическое вмешательство, облучение, терапевтические средства/лекарственные средства), которые, как известно, применимы для лечения опухолей головного мозга, т.е. оказывают терапевтическое воздействие, облегчают один или нескольких симптомов, изменяют прогрессирование, искореняют, уменьшают размер, замедляют или ингибируют рост, отсрочивают или минимизируют один или несколько симптомов, связанных с уменьшением злокачественности или индуцированием стаза опухоли головного мозга, или облегчают или минимизируют один или несколько побочных эффектов, связанных с другой терапией, применяемой или вводимой для лечения опухоли головного мозга.

[0164] В некоторых вариантах осуществления дополнительным терапевтическим методом является хирургия.

[0165] В некоторых вариантах осуществления дополнительным терапевтическим способом является лучевая терапия. В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия проводится в соответствии с рекомендациями Национальной комплексной онкологической сети по клинической практике в области онкологии (например, доза и схема введения), версия 1.2016, доступна на nccn.org. В некоторых вариантах осуществления лучевую терапию осуществляют в суммарной дозе 20-100 Гр, или 30-80 Гр, или 30-60 Гр, или 40-70 Гр, или 40-60 Гр, или 30-40 Гр, или 40-50 Гр, или 50-60 Гр, или 45-55 Гр, фракциями 1,0-5,0 Гр, или фракциями 1,5-3,0 Гр, или фракциями 1,0-1,5 Гр, или фракциями 1,5-2,0 Гр, или 2,0-2,5 Гр фракции, или фракции 2,5-3,0 Гр, или фракции 1,8-2,0 Гр, или фракции 1,8 Гр, или фракции 2,0 Гр. В некоторых вариантах осуществления лучевую терапию проводят в суммарной дозе 50-70 Гр фракциями по 1,5-2,5 Гр или 60 Гр фракциями по 2,0 Гр. Суммарная доза относится к сумме всех дробных доз, введенных в течение курса лечения.

[0166] Доза лучевой терапии может быть выбрана в зависимости от характера опухоли головного мозга. В некоторых вариантах осуществления, когда опухоль головного мозга представляет собой глиому низкой степени злокачественности, лучевую терапию проводят в суммарной дозе 40-50 Гр фракциями по 1,5-2,5 Гр или в суммарной дозе 45-54 Гр фракциями 1,8-2,0 Гр, или в суммарной дозе 45,5 Гр фракциями 1,8-2,0 Гр. В некоторых вариантах осуществления, когда опухоль головного мозга представляет собой глиому высокой степени злокачественности, лучевую терапию проводят в суммарной дозе 50-70 Гр фракциями по 1,5-2,5 Гр или в суммарной дозе 59,4 Гр фракциями по 1,8 Гр или в суммарной дозе 55,8-59,4 Гр фракциями по 1,8 Гр, или в суммарной дозе 57 Гр фракциями по 1,9 Гр, или в суммарной дозе 60 Гр фракциями по 1,8-2,0 Гр или 25 Гр фракциями по 5,0 Гр. В некоторых вариантах осуществления, когда опухоль головного мозга представляет собой глиобластому, лучевую терапию проводят в суммарной дозе 30-60 Гр фракциями по 2,0-4,0 Гр, или в суммарной дозе 34 Гр фракциями по 3,4 Гр, или в суммарной дозе 35-45 Гр фракциями по 2,5-3,0 Гр, или в суммарной дозе 50 Гр фракциями по 2,5 Гр.

[0167] В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический метод представляет собой одно или несколько дополнительных терапевтических средств.

[0168] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных терапевтических средств включают в себя одно или несколько дополнительных средств для лечения рака (например, противораковое лекарственное средство) (*например*, ДНК-реактивный агент, ингибитор PARP, иммунотерапию (например, ингибитор контрольной точки), химиотерапию ПВХ, терапию антителами (например, бевацизумаб), гемцитабин), средство против рвоты, противосудорожное или противозпилептическое средство.

[0169] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных терапевтических средств представляют собой дополнительное противораковое средство (например, противораковое лекарственное средство).

[0170] В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия рака представляет собой ДНК-реактивное средство. Используемый в настоящей заявке термин «ДНК-реактивные средства» представляет собой такие средства, как алкилирующие средства, сшивающие средства и средства, интеркалирующие ДНК, которые ковалентно или нековалентно взаимодействуют с клеточной ДНК. Например, ДНК-реактивные средства включают в себя адозелезин, алтретамин, бизелезин, бусульфан, карбоплатин, карбохон, кармустин, хлорамбуцил, цисплатин, циклофосфамид, дакарбазин, эстрамустин, фотемустин, гепсульфам, ифосфамид, импросульфан, ирофульвен, ломустин, мехлорэтамин, мелфалан, митозоломид, недаплатин, оксалиплатин, пипосульфан, прокарбазин, семустин, стрептозоцин, темозоломид, тиотепа, тресульфан, диэтилнитрозоамин, бензо(а)пирен, доксорубицин, митомицин-С и т.п. Многие из этих ДНК-реактивных средств применимы в терапии рака в качестве ДНК-реактивных химиотерапевтических средств.

[0171] В некоторых вариантах осуществления ДНК-реактивное средство представляет собой темозоломид (ТМЗ). В одном аспекте этих вариантов осуществления ТМЗ вводят в соответствии с Руководством по клинической практике Национальной комплексной онкологической сети в области онкологии (например, доза и схема введения), версия 1.2016, доступная на сайте nccn.org. В одном аспекте этих вариантов осуществления ТМЗ вводят способом, соответствующим информации о назначении TEMODAR® (темозоломид) в капсулах и TEMODAR® (темозоломид) для инъекций. В некоторых аспектах этих вариантов осуществления ТМЗ вводят в суточной дозе 100-250 мг/м² в зависимости от площади поверхности тела пациента или 100-150 мг/м², или 150-

200 мг/м², или 200-250 мг/м². В некоторых аспектах этих вариантов осуществления ТМЗ вводят в суточной дозе 50-100 мг/м² в зависимости от площади поверхности тела пациента, или 50-75 мг/м², или 75-100 мг/м², или 60-90 мг/м², или 65-85 мг/м², или 70-80 мг/м². В некоторых аспектах этих вариантов осуществления ТМЗ вводят в суточной дозе 125-175 мг/м² в зависимости от площади поверхности тела пациента в течение 5 дней подряд 28-дневного лечебного цикла. В некоторых аспектах этих вариантов осуществления ТМЗ вводят в сочетании с лучевой терапией в суточной дозе 50-100 мг/м² в зависимости от площади поверхности тела пациента, или 50-75 мг/м², или 75-100 мг/м², или 60-90 мг/м², или 65-85 мг/м², или 70-80 мг/м². В некоторых аспектах этих вариантов осуществления ТМЗ вводят в сочетании с лучевой терапией в суточной дозе 70-80 мг/м² в зависимости от площади поверхности тела пациента в течение 42 дней. В некоторых аспектах этих вариантов осуществления, если опухоль головного мозга представляет собой глиому высокой степени злокачественности или глиобластому, ТМЗ вводят в сочетании с лучевой терапией в суточной дозе 70-80 мг/м² в зависимости от площади поверхности тела пациента в течение 42 дней. В некоторых аспектах этих вариантов осуществления, если опухоль головного мозга представляет собой анапластическую астроцитому, ТМЗ вводят в суточной дозе 125-175 мг/м² в зависимости от площади поверхности тела пациента в течение 5 дней подряд 28-дневного лечебного цикла. В некоторых аспектах этих вариантов осуществления, если опухоль головного мозга представляет собой анапластическую астроцитому, ТМЗ вводят в суточной дозе 175-225 мг/м² в зависимости от площади поверхности тела пациента в течение 5 дней подряд 28-дневного лечебного цикла.

[0172] В некоторых вариантах осуществления один или несколько дополнительных способов лечения рака (противораковые лекарственные средства) являются ингибиторами PARP. Используемый в настоящей заявке термин «ингибитор PARP» относится к ингибитору фермента поли-АДФ-рибозо-полимеразы (PARP). Примеры ингибиторов PARP включают в себя памипариб, олапариб, рукапариб, велапариб, инипариб, талазопариб, нирапариб и т.п.

[0173] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных противораковых препаратов (противораковых лекарственных средств) представляют собой иммунотерапию, например, ингибитор

контрольной точки. Используемый в настоящей заявке термин «ингибитор контрольной точки» относится к терапевтическому средству, которое ингибирует иммунную контрольную точку (например, CTLA-4, PD-1/PD-L1 и т.п.), которое в противном случае предотвратило бы атаки иммунной системы на раковые клетки, тем самым позволяя иммунной системе атаковать раковые клетки. Примеры ингибиторов контрольных точек включают в себя ипилимумаб, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, BGB-A317, спартализумаб и т.п.

[0174] В некоторых вариантах осуществления один или несколько дополнительных способов лечения рака (противораковых лекарственных средств) представляют собой химиотерапию поливинилхлоридом. Используемый в настоящей заявке термин «химиотерапия поливинилхлоридом» относится к режиму химиотерапии, включающему в себя комбинированное введение прокарбазина, ломустина (который продается под торговым названием CCNU®) и винкристина (который продается под торговым названием Opocovin®). Обычно винкристин вводят внутривенно, тогда как прокарбазин и ломустин вводят перорально. Химиотерапию ПВХ часто проводят циклами, где каждый цикл включает в себя однократное введение винкристина и ломустина и 10-дневный курс лечения прокарбазином.

[0175] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных средств для лечения рака (противораковых лекарственных средств) представляют собой антитело, например, бевацизумаб. Бевацизумаб, который продается под торговой маркой Avastin®, представляет собой рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело.

[0176] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных средств для лечения рака (противораковых лекарственных средств) представляют собой гемцитабин. Гемцитабин, который продается под торговой маркой Gemzar®, является аналогом пиримидинового нуклеозида.

[0177] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных терапевтических средств представляют собой противорвотное средство. Используемый в настоящей заявке термин «противорвотное средство» относится к лекарственному средству, эффективно уменьшающему симптомы рвоты и тошноты. Примеры противорвотных средств включают в себя антагонисты рецепторов 5-HT₃ (например, доласетрон, гранисетрон,

ондансетрон, трописетрон, палоносетрон, миртазапин и т.п.), агонисты дофамина (например, домперидон, оланзапин, дроперидол, галоперидол, хлорпромазин, прохлорперазин, ализаприд, прохлорперазин, метоклопрамид и т.п.), антагонисты рецептора NK1 (например, апрепитант, казопитант, 5 ролапитант и т.п.), антигистаминные средства (например, циннаризин, циклизин, дифенгидрамин, дименгидринат, доксиламин, меклизин, прометазин, гидроксизин и т.п.), каннабиноиды (например, каннабис, дронабинол, синтетические каннабиноиды и т.п.), бензодиазепины (например, мидазолам, лоразепам и т.п.), антихолинергические средства (например, скополамин и т.п.), 10 стероиды (например, дексаметазон и т.п.), триметобензамид, имбирь, пропофол, глюкоза/фруктоза/фосфорная кислота (которая продается под торговым названием Emetrol®), мята перечная, мусцимол, аджван и тому подобное.

[0178] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных терапевтических средств представляют собой 15 противосудорожные или противоэпилептические средства. Используемый в настоящей заявке термин «противосудорожное или противоэпилептическое средство» относится к лекарственному средству, эффективному для лечения или профилактики приступов, включая эпилептические приступы. Примеры противосудорожных средств включают в себя паральдегид, стирипентол, 20 фенобарбитал, метилфенобарбитал, барбексаклон, клобазам, клоназепам, клоразепат, диазепам, мидазолам, лоразепам, нитразепам, темазепам, ниметазепам, бромид калия, фелбамат, карбамазепин, окскарбазепин, ацетат эсликарбазепина, вальпроевую кислоту, вальпроат натрия, дивалпрокс натрия, вигабатрин, прогабид, тиагабин, топирамат, габапентин, прегабалин, этотоин, 25 фенитоин, мефенитоин, фосфенитоин, параметадион, триметадион, этадион, бекламид, примидон, бриварацетам, этирацетам, леветирацетам, селетрацетам, этосуксимид, фенсуксимид, месуксимид, ацетазоламид, сультиам, метазоламид, зонисамид, ламотриджин, фенетурид, фенацемид, вальпромид, валноктамид, перампанел, стирипентол, пиридоксин и тому подобное.

30 **ПРИМЕРЫ**

Общие экспериментальные примечания:

[0179] В следующих примерах реагенты (химикаты) были приобретены из коммерческих источников (таких как Alfa, Acros, Sigma Aldrich, TCI и

Shanghai Chemical Reagent Company), и их использовали без дополнительной очистки. Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) получали на ЯМР-анализаторе Bruker AMX-400 (Bruker, Швейцария). Химические сдвиги были выражены в частях на миллион (част. на млн., δ) в сторону более слабого поля относительно тетраметилсилана. Масс-спектры получали с помощью ионизации электрораспылением (ESI) на масс-спектрометре Waters LCT TOF (Waters, США) или масс-спектрометре Shimadzu LCMS-2020 (Shimadzu, Япония).

Микроволновые реакции проводили на микроволновом синтезаторе Initiator 2.5 (Biotage, Швеция).

10 **[0180]** Для примерных соединений, раскрытых в этом разделе, описание стереоизомера (например, (R)- или (S)-стереоизомера) указывает на получение этого соединения таким образом, что соединение обогащено указанным стереоцентром по меньшей мере примерно на 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 %. Химическое название каждого примерного соединения, описанного ниже, генерируется программным обеспечением ChemDraw.

Список сокращений:

Общие

| | |
|----------|--------------------------------------------|
| безводн. | безводный |
| водн. | водный |
| мин | минута(ы) |
| ч. | часы |
| мл | миллилитр |
| ммоль | миллимоль(и) |
| моль | моль(и) |
| МС | масс-спектрометрия |
| ЯМР | ядерный магнитный резонанс |
| ТСХ | тонкослойная хроматография |
| ВЭЖХ | высокоэффективная жидкостная хроматография |
| нас. | насыщенный |

20 Спектр

| | |
|----------|------------------|
| Гц | герц |
| δ | химический сдвиг |

| | |
|-------|---------------------|
| J | константа сочетания |
| s | синглет |
| d | дублет |
| t | триплет |
| q | квартет |
| m | мультиплет |
| br | широкий |
| qd | квартет дублетов |
| dquin | дублет квинтетов |
| dd | дублет дублетов |
| dt | дублет триплетов |

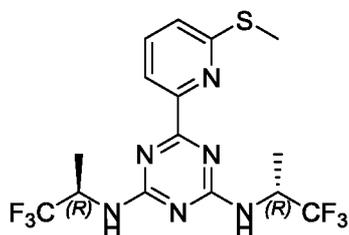
Растворители и реагенты

| | |
|--------------------------|-----------------------------|
| DAST | диэтиламиносульфуртрифторид |
| CHCl_3 | хлороформ |
| DCM | дихлорметан |
| DMF | диметилформамид |
| Et_2O | диэтиловый эфир |
| EtOH | этиловый спирт |
| EtOAc | этилацетат |
| MeOH | метиловый спирт |
| MeCN | ацетонитрил |
| PE | петролейный эфир |
| ТГФ | тетрагидрофуран |
| DMCO | диметилсульфоксид |
| AcOH | уксусная кислота |
| HCl | соляная кислота |
| H_2SO_4 | серная кислота |
| NH_4Cl | хлорид аммония |
| KOH | гидроксид калия |
| NaOH | гидроксид натрия |
| K_2CO_3 | карбонат калия |
| Na_2CO_3 | карбонат натрия |

| | |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| TFA | трифторуксусная кислота |
| Na ₂ SO ₄ | сульфат натрия |
| NaBH ₄ | боргидрид натрия |
| NaHCO ₃ | бикарбонат натрия |
| NaHMDS | гексаметилдисилиламид натрия |
| LiHMDS | гексаметилдисилиламид лития |
| LAH | алюмогидрид лития |
| NaBH ₄ | боргидрид натрия |
| LDA | диизопропиламид лития |
| Et ₃ N | триэтиламин |
| Py | пиридин |
| DMAP | 4-(диметиламино)пиридин |
| DIPEA | <i>N,N</i> -диизопропилэтиламин |
| Xphos | 2-дициклогексилфосфино-2,4,6-триизопропилбифенил |
| BINAP | 2,2'-бис(дифенилфосфанил)-1,1'-бинафтил |
| dppf | 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен |
| TBTU | 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония тетрафторборат |
| DPPA | дифенилфосфорилазид |
| NH ₄ OH | гидроксид аммония |
| EDCI | 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид |
| HOBT | 1-гидроксибензотриазол |
| Py | пиридин |
| Dppf | 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен |
| HATU | <i>O</i> -(7-азабензотриазол-1-ил)- <i>N,N,N',N'</i> -тетра-метилуроний |
| BINAP | 2,2'-бис(дифенилфосфанил)-1,1'-бинафтил |
| MTBE | метил- <i>трет</i> -бутиловый эфир |
| NaSMе | метилат натрия |

Пример 1

Получение 6-(6-(метилтио)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина (Соединение 1)



Соединение 1

5

[0181] ДМСО (500 мл) и 6-(6-хорпиридин-2-ил)-N2, N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин -2,4-диамина (AG-881 свободное основание, 100 г, 0.241 моль) загружали в 1-литровую колбу в атмосфере N₂ при 15~20 °С. Полученный раствор перемешивали в течение 10 мин. при 15~20 °С с

10 образованием прозрачного коричневого раствора. Реакционный раствор охлаждали до 5 °С и порциями добавляли триметилат натрия (NaSMe, 35,6 г, 0.508 моль) в течение 20 мин. при 5~10 °С. Реакционную смесь перемешивали при 20~25 °С в течение 3 ч. Смесь выливали в воду со льдом (3 л) при 5~10 °С при перемешивании. Через 30 мин. при 20~25 °С твердое вещество

15 отфильтровывали и влажный осадок растирали с водой (1,5 л) в течение 30 мин. при 20~25 °С. Твердое вещество отфильтровывали, промывали водой (200 мл) и сушили в вакуумной печи при 50-55 °С с получением 6-(6-(метилтио) пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина в

виде твердого вещества не совсем белого цвета (100,8 г, выход 98 %).

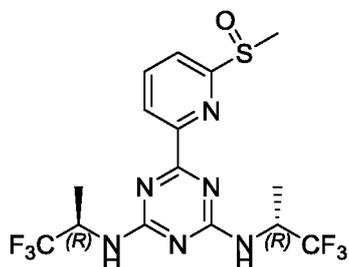
20 ¹H ЯМР: (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.41-7.81 (m, 4H), 7.45-7.42 (m, 1H), 5.12-4.91 (m, 2H), 2.59 (s, 3H), 1.34 (d, *J* = 6.1 Гц, 6H).

¹³C-ЯМР: (101 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 170.65, 170.24, 166.65, 166.38, 160.58, 160.15, 154.20(d, *J*=14.4 Гц), 137.77, 127.99, 125.19, 122.87, 122.34, 119.89, 119.76 (d, *J*=21.9 Гц), 47.44, 47.13, 13.89 (d, *J*=9.6 Гц), 13.53, 13.23.

25 ЖХ-МС (ESI): *m/z* 427 [M+H]⁺

Пример 2

Получение 6-(6-(метилсульфинил)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина (Соединение 2)



Соединение 2

5 [0182] MeOH (48 мл) и 6-(6-(метилтио)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-
1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамин (4.0 г, 9,38 ммоль)
загружали в колбу объемом 250 мл при 10~20 °С. Реакционную смесь
перемешивали в течение 10 мин., чтобы получить светлый раствор. К
реакционному раствору добавляли водный раствор Oxone (4,6 г, 7,48 ммоль, 40
10 мл воды) по каплям в течение 30 мин. при 5~15 °С. Полученную смесь
перемешивали в течение 2 ч. при 20~30 °С. Затем смесь охлаждали до 10 °С и
гасили водой (100 мл). Реакционную смесь затем экстрагировали посредством
DCM (1 x 100 мл). Водную фазу экстрагировали посредством ДХМ (20 мл).
Объединенную органическую фазу охлаждали до 5-10 °С и добавляли водный
15 раствор Na₂SO₃ (1,18 г, 9,38 ммоль, 20 мл воды) [Добавление является
экзотермическим]. Фазы разделяли, органическую фазу промывали водой (1 x 40
мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме
при 40~45 °С чтобы получить сырой продукт в виде масла. Остаток очищали
хроматографией на силикагеле (элюент: *n*-гептан/EtOAc – от 5:1 до 1:1).
20 Объединенные чистые фракции концентрировали и сушили в вакууме с
получением целевого продукта в виде белого твердого вещества. Продукт далее
перекристаллизовывали, растворяя его в метаноле (30 мл) при 40-45 °С, с
последующим добавлением воды (60 мл) в течение 30 мин при 20-30 °С.
Полученную суспензию перемешивали в течение еще 0,5 ч. при 20-30 °С перед
25 фильтрацией, промывали водой (10 мл) и сушат в вакуумной печи при 50-55 °С,
чтобы получить 6-(6-(метилсульфинил)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-
трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамин в виде белого твердого вещества
(2,2 г, выход 53 %).

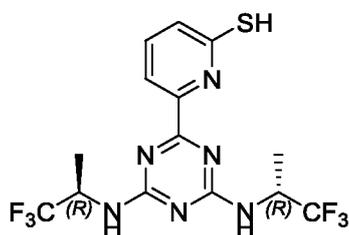
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.57-8.41 (m, 2H), 8.35-8.22 (m, 2H), 8.05 (dd, *J* = 26.2, 7.4 Гц, 1H), 5.13-4.88 (m, 2H), 2.82 (s, 3H), 1.34 (d, *J* = 6.8 Гц, 6H).

¹³C-ЯМР (101 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 169.86, 169.51, 166.67, 166.37, 166.32, 166.11, 154.56 (d, *J* = 9.7 Гц), 140.05 (d, *J* = 8.1 Hz), 130.61, 127.93, 126.80, 125.33, 125.22, 124.98, 124.64, 121.02 (d, *J* = 16.8 Гц), 47.49, 47.12 (d, *J* = 13.5 Гц), 41.60 (d, *J* = 13.5 Гц), 13.87 (d, *J* = 15.2 Гц).

ЖХ-МС (ESI): *m/z* 443 [M+H]⁺.

Пример 3

Получение 6-(4,6-бис-(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-тиола (Соединение 3).



Соединение 3

[0183] ДМСО (100 мл) и 6-(6-хорпиридин-2-ил)-N₂, N₄-бис(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамин (AG-881 свободное основание, 10 г, 24.1 ммоль) загружали в колбу объемом 250 мл в атмосфере N₂ при 15~20 °С. Полученный раствор перемешивали в течение 10 мин. при 15~20 °С чтобы получить прозрачный коричневый раствор. Реакционную смесь охлаждали до 5 °С, и добавляли Na₂S (4,2 г, чистота 90 %, 24.4 ммоль) порциями в течение 5 мин. при 5~10 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч. при 20~25 °С, выливали в ледяную воду (500 мл) и уксусную кислоту (50 мл) добавляли при 5~10 °С при перемешивании. После перемешивания в течение 15-30 мин. при 10-15 °С, твердое вещество отфильтровывали. Влажный осадок растворяли в ДХМ (100 мл), фазы разделяли и водный слой отбрасывали. Органическую фазу сушили безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением сырого продукта в виде светло-желтого масла. Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагеле (элюент: DCM/MeOH – от 30:1 до 10:1). Чистые фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением очищенного продукта в виде желтого твердого вещества, которое затем сушили в вакуумной печи при температуре окружающей среды с получением 6-(4, 6-бис

(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-тиола в виде твердого вещества желтого цвета (8,0 г, выход 80 %).

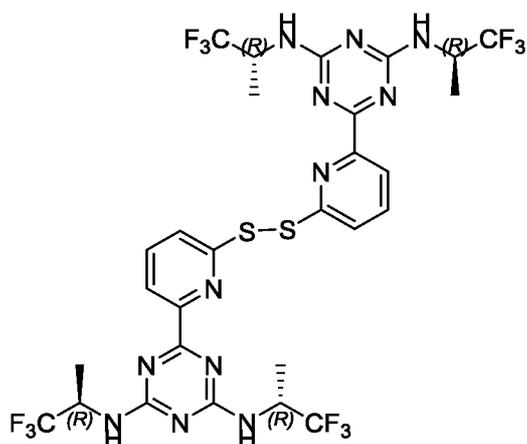
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 12.68-11.90 (m, 1H), 8.68-7.66 (m, 2H), 7.61-7.48 (m, 3H), 5.36-4.86 (m, 2H), 1.37-1.34 (m, 6H).

5 ¹³C-ЯМР (101 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 179.09, 178.77, 166.12, 165.71, 165.62, 163.46, 142.85, 142.66, 137.97, 137.62, 136.76, 136.35, 127.83, 125.02, 113.60, 112.82, 47.60-47.17, 14.0 (d, *J* = 16.2 Гц).

ЖХ-МС (ESI): *m/z* 413 [M+H]⁺.

Пример 4

10 **Получение 6,6'-(6,6'-дисульфандиилбис(пиридин-6,2-диил))бис(N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина) (Соединение 4)**



Соединение 4

15 **[0184]** Ацетонитрил (30 мл) и 6-(4, 6-бис(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-тиол (1.0 г, 2,43 ммоль) загружали в колбу объемом 100 мл в атмосфере N₂ при 15~20 °С. Реакционную смесь охлаждали до -20 °С, и одной порцией добавляли трихлоризоциануровую кислоту (102 мг, 0.44 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч.

20 при -20 °С и твердое вещество отфильтровывали. Фильтрат выливали в воду (50 мл), а полученный раствор экстрагировали этилацетатом (1 x 50 мл). Органический слой концентрировали при пониженном давлении с получением сырого продукта в виде масла светло-желтого цвета. Остаток очищали хроматографией на силикагеле (элюент: DCM/MeOH – от 50:1 до 20:1). Чистые

25 фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали с получением

бледно-желтого твердого вещества, которое затем сушили в вакуумной печи при температуре окружающей среды с получением 6,6'-(6,6'-дисульфандиилбис(пиридин-6,2-диил)бис(N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамин) в виде бледно-желтого твердого вещества (0,82 г, выход 82 %).

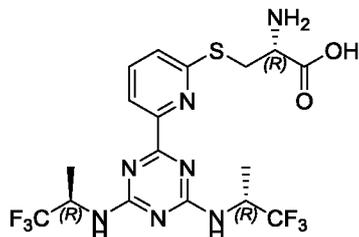
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.62 (d, *J* = 8.0 Гц, 1H), 8.54 (d, *J* = 8.0 Гц, 2H), 8.27-8.24 (m, 2H), 8.19 (d, *J* = 8.0 Гц, 2H), 8.07-8.02 (m, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.0 Гц, 2H), 5.14-4.92 (m, 4H), 1.41-1.36 (m, 12H).

¹³C-ЯМР (101 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 169.85, 169.59, 166.70, 166.42, 166.33, 158.67, 158.53, 158.28, 154.71, 139.72 (d, *J* = 12.1 Гц), 130.77, 127.96, 125.15, 122.21, 121.79, 121.46, 121.32, 121.14, 121.04, 47.78-46.88, 13.94 (d, *J* = 11.1 Гц).

ЖХ-МС (ESI): *m/z* 823 [M+H]⁺.

Пример 5

Получение (R)-2-амино-3-((6-(4,6-бис(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-ил)тио)пропановой кислоты (Соединение 5)



Соединение 5

[0185] N,N-Диметилформаид (5 мл), N,N-диизопропилэтиламин (1,88 г, 14,6 ммоль) и 6-(4,6-бис(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-тиол (1,0 г, 2,43 ммоль) загружали в колбу объемом 25 мл в атмосфере N₂ при 20~30 °С. Затем к реакционной смеси по каплям добавляли раствор *L*-2-амино-3-хлорпропановой кислоты (0,60 г, 4,86 ммоль) в воде (5 мл) при 20~30 °С. Полученную смесь нагревали до 60 °С и перемешивали в течение 20 ч. После перемешивания в течение 20 ч. при 60 °С смесь охлаждали до 20 °С и выливали в воду (30 мл). Полученную взвесь перемешивали в течение 15-30 мин., а затем твердое вещество выделяли вакуумной фильтрацией и промывали водой (10 мл). Твердое вещество сушили на фильтре на воздухе в течение 1-2 часов и затем растворяли в ДМСО (30 мл). Затем раствор продукта в ДМСО очищали препаративной ВЭЖХ [колонка: YMC TA C18, 250 X 21,2 мм, 10 мкм;

поток: 15 мл/мин.; градиент: от 20 % ацетонитрил - 80 % вода 0,1 % ТФУ до 70 % ацетонитрил – 30 % вода 0,1 % ТФУ; @ 254/205 нм]. Чистые фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали в вакууме при 45-50 °С для удаления растворителей. Затем продукт лиофилизировали с получением (R)-2-амино-3-((6-(4,6-бис(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-ил)тио)пропановой кислоты в виде белого твердого вещества (170 мг, 98,9 %/220 нм, выход 14 %).

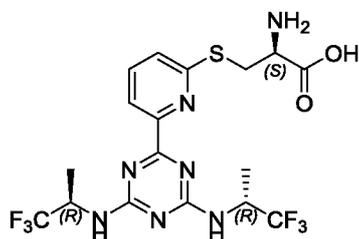
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.37-8.03 (m, 6H), 7.88 (t, *J* = 8.0 Гц, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Гц, 1H), 5.19-4.95 (m, 2H), 3.61-3.32 (m, 3H), 1.42-1.35 (m, 6H).

¹³C-ЯМР (101 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 169.53, 169.27, 168.77, 166.31, 166.21, 166.14, 159.03 (d, *J* = 8.1 Гц), 153.24(d, *J* = 4.0 Гц), 138.70 (d, *J* = 7.1 Гц), 127.96, 125.35(d, *J* = 17.2 Гц), 120.71, 120.20, 56.44, 47.61, 33.77, 13.97.

ЖХ-МС (ESI): *m/z* 499 [M+H]⁺

Пример 6

Получение (S)-3-((6-(4,6-бис(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-ил)тио)-2-метилпропановой кислоты (Соединение 6)



Соединение 6

[0186] N,N-Диметилформаид (5 мл), N,N-диизопропилэтиламин (3,1 г, 24.3 ммоль) и 6-(4,6-бис(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-тиол (1,0 г, 2,43 ммоль) загружали в колбу объемом 25 мл в атмосфере N₂ при 20~30 °С. Затем к реакционной смеси по каплям добавляли раствор L-2-амино-3-хлорпропановой кислоты (0,60 г, 4,86 ммоль) в воде (5 мл) при 20~30 °С. Полученную смесь нагревали до 60 °С и перемешивали в течение 20 ч. После перемешивания в течение 20 ч. при 60 °С смесь охлаждали до 20 °С и выливали в воду (30 мл). Полученную взвесь перемешивали в течение 15-30 мин., а затем твердое вещество выделяли вакуумной фильтрацией и промывали водой (10 мл). Твердое вещество сушили на фильтре на воздухе в течение 1-2 часов и затем растворяли в ДМСО (30 мл). Затем раствор продукта в ДМСО

очищали препаративной ВЭЖХ [колонка: УМС ТА С18, 250 X 21,2 мм, 10 мкм; поток: 15 мл/мин.; градиент: от 20 % ацетонитрил - 80 % вода 0,1 % ТФУ до 70 % ацетонитрил - 30 % вода 0,1 % ТФУ; @ 254/205 нм]. Чистые фракции, содержащие продукт, объединяли и концентрировали в вакууме при 45-50 °С для удаления растворителей. Затем продукт лиофилизировали с получением (S)-3-((6-(4,6-бис(((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)пиридин-2-ил)тио)-2-метилпропановой кислоты в виде белого твердого вещества (120 мг, 98,5 %/220 нм, выход 10 %).

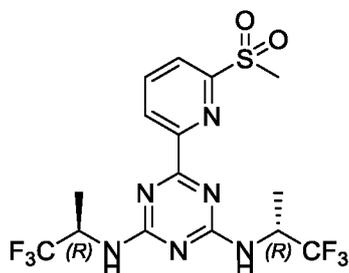
¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8.36-8.04 (m, 6H), 7.88 (t, *J* = 8.0 Гц, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Гц, 1H), 5.17-4.94 (m, 2H), 3.62-3.33 (m, 3H), 1.42-1.34 (m, 6H).

¹³C-ЯМР (101 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 169.55, 169.28, 168.50, 166.29, 166.15, 159.07, 158.99, 153.22, 138.71 (d, *J* = 7.1 Гц), 125.54, 125.38, 120.68, 120.17, 56.52, 47.59, 33.83, 13.99.

ЖХ-МС (ESI): *m/z* 499 [M+H]⁺.

15 Пример 7

Получение 6-(6-(метилсульфонил)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина (Соединение 7)



Соединение 7

[0187] В колбу загружали ДМСО (50 мл) и 6-(6-хорпиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамин (AG-881 свободное основание, 5,0 г, 12,06 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 5 мин. при 15~20 °С с образованием прозрачного коричневого раствора в атмосфере азота. Реакционную смесь охлаждали до 5 °С, затем порциями добавляли тиометилат натрия (NaSMe, 4,3 г, 60,28 ммоль) в течение 20 мин. при 5~10 °С в атмосфере азота. Реакционную смесь нагревали до 90~95 °С, перемешивали в течение 3 ч. при 90~95 °С. Реакционный раствор выливали в ледяную воду (200 мл) при 5~10 °С при перемешивании. После перемешивания в течение 30 мин, твердые вещества отфильтровывали, осадок на фильтре

промывали водой (50 мл) и сушили в вакууме при 50 °С в течение 6 ч. с получением 6-(6-(метилтио)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина в виде бледно-желтого твердого вещества (4,8 г, чистота 98,9 %, 93 % выход в сыром виде).

5 **[0188]** К раствору MeOH (40 мл) и воды (40 мл) одной порцией добавляли 6-(6-(метилтио)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамин (4,0 г, 9,38 ммоль). В реакционную смесь добавляли Oxone (11,5 г, 18,8 ммоль) порциями в течение 15 мин., поддерживая температуру ниже 20 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч. при 10~30 °С. Реакционную смесь охлаждали до 10 °С, затем добавляли воду (80 мл) и ДХМ (120 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 10 мин. при 10~15 °С и разделяли. Органическую фазу промывали водным раствором Na₂SO₃ (1,2 г в 80 мл воды) при 5~10 °С (проверка крахмальной бумагой KI) и отделяли. Органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и разделяли. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме при 40~45 °С с получением 4~5 объем. суспензии. Суспензию перемешивали в течение 30 мин. при 10~15 °С, фильтровали, промывали посредством МТВЕ (20 мл) и сушили в вакууме при 50 °С с получением 6-(6-(метилсульфонил)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина в виде бледно-желтого твердого вещества (2,2 г, чистота 98,7 %, выход 51 %). Маточный раствор концентрировали с получением 6-(6-(метилсульфонил)пиридин-2-ил)-N2,N4-бис((R)-1,1,1-трифторпропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамина в виде твердого вещества желтого цвета (~1,5 г, ~90 %/220 нм).

25 ¹**H-ЯМР** (400 МГц, CDCl₃) δ 8.57 (t, *J* = 8.0 Гц, 1 H), 8.21 (d, *J* = 8.0 Гц, 1 H), 8.11 (t, *J* = 8 Гц, 1 H), 5.68 (d, *J* = 12 Гц, 1 H), 5.31 (d, *J* = 8 Гц, 1 H), 5.11 (b s, 1 H), 4.88 (m, 1 H), 3.34 (s, 3 H), 1.43 (dd, *J* = 8.0, 4.0 Гц, 6 H).

¹³**C-ЯМР** (100 МГц, CDCl₃) δ 169.24, 166.18, 158.23, 154.38, 139.17, 127.46, 125.45 (q), 122.69, 47.71, 40.01, 14.34.

30 **ЖХ-МС** (ESI): *m/z* 459 [M+H]⁺.

Пример 8

Характеристика всасывания, распределения, метаболизма и выведения перорального [^{14}C]ворасидениба при одновременном внутривенном введении микродоз [$^{13}\text{C}_3^{15}\text{N}_3$]ворасидениба у людей

5 **[0189]** Метаболитный профиль и идентификация ворасидениба (AG-881) были выполнены в образцах плазмы, мочи и кала, взятых у пяти здоровых людей после однократного перорального приема 50-мг (100 мкКи) [^{14}C]AG-881 и сопутствующей внутривенной микродозы [$^{13}\text{C}_3^{15}\text{N}_3$]AG-881.

10 **[0190]** Образцы плазмы, собранные в выбранные моменты времени от 0 до 336 часов после введения дозы, объединяли у субъектов для получения репрезентативных образцов для областей от 0 до 72 и 96-336 часов под кривой концентрация-время (AUC). Образцы мочи и фекалий были объединены субъектами для создания отдельных пулов мочи и фекалий. Образцы плазмы, мочи и кала были экстрагированы соответствующим образом, экстракты были
15 профилированы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), а метаболиты были идентифицированы с помощью анализа жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ-МС и/или ЖХ-МС/МС). и путем сравнения времени удерживания с эталонными стандартами, если таковые имеются.

20 **[0191]** Из-за низкой радиоактивности образцов профилирование метаболитов плазмы проводили с использованием ускорительной масс-спектрометрии (AMS). В плазме на AG-881 приходилось 66,24 и 29,47% общей радиоактивности в объединенных AUC_{0-72 ч} и AUC_{96-336 ч} плазмы соответственно. Наиболее распространенный радиоактивный пик (P7; M458) представлял собой
25 0,10 и 43,92 % общей радиоактивности для объединенной AUC_{0-72 ч} и AUC_{96-336 ч} плазмы соответственно. Все остальные радиоактивные пики составляли менее 6 % от общей радиоактивности плазмы и не были идентифицированы.

30 **[0192]** Большая часть радиоактивности, обнаруженной в фекалиях, была связана с неизменным AG-881 (55,5 % дозы), в то время как в моче AG-881 не был обнаружен. Для сравнения, метаболиты в экскрементах составляют примерно 18 % дозы в фекалиях и примерно 4 % дозы в моче. M515, M460-1, M499, M516/M460-2 и M472/M476 были наиболее распространенными метаболитами в фекалиях, и на каждый из них приходилось примерно от 2 до 5 % радиоактивной дозы, в то время как M266 был наиболее распространенным

метаболизмом, идентифицированным в моче, и составлял в среднем 2,54 % от дозы. Остальные радиоактивные компоненты в моче и фекалиях составляли <1 % от дозы.

[0193] В целом, представленные данные указывают на то, что [¹⁴C]AG-881 подвергался умеренному метаболизму после однократного перорального приема 50-мг (100 мкКи) и выводился из организма человека за счет комбинации метаболизма и экскреции неизмененного исходного вещества. Метаболизм AG-881 включал окисление и конъюгацию с глутатионом (GSH) путем замещения хлора в хлорпиридиновой части. Последующая биотрансформация промежуточных продуктов GSH привела к отщеплению как глутаминовой кислоты, так и глицина с образованием цистеиниловых конъюгатов (M515 и M499). Конъюгаты цистеина были дополнительно преобразованы с помощью серии реакций биотрансформации, таких как окисление, S-деалкилирование, S-метилирование, S-окисление, S-ацетилирование и N-деалкилирование, что привело к образованию множества метаболитов.

[0194] Сводка наблюдаемых метаболитов включена в таблицу 2

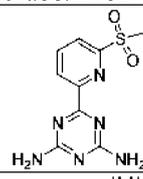
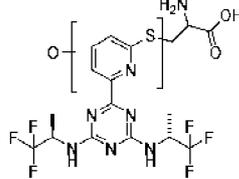
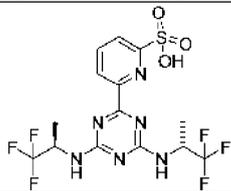
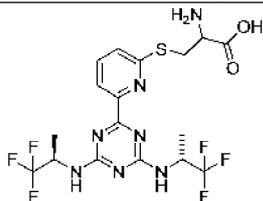
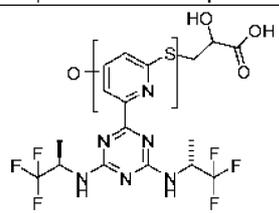
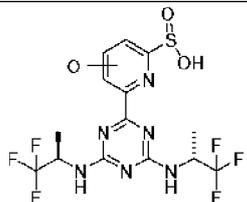
Таблица 2

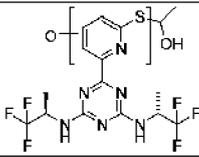
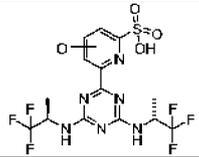
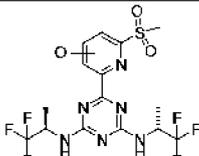
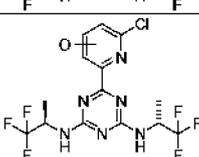
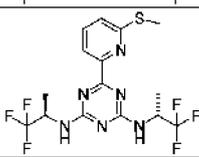
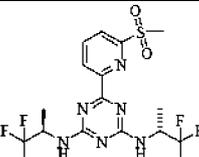
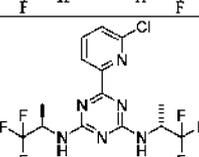
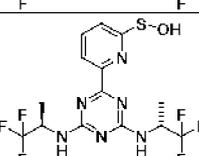
| Обозначение компонента | Время удерживания (минуты) | Тип биотрансформации | Матрица | | |
|------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------------|---------|------|---------|
| | | | Плазма | Моча | Фекалии |
| Неидентифицированный | | | | | |
| 1 | 7,00 | Неизвестный | | X | |
| M2 66 | 7,67 | N-деалкилирование | | X | |
| Неидентифицированный | | | | | |
| 2 | 13,00-13,17 | Неизвестный | | X | |
| Неидентифицированный | | | | | |
| 3 | 14,67 | Неизвестный | | X | |
| Неидентифицированный | | | | | |
| 4 | 16,00 | Неизвестный | | X | |
| Неидентифицированный | | | | | |
| 5 | 17,50 | Неизвестный | | X | |
| M515 | 19,67 | Окисление | | | X |
| M460-I | 20,67 | Окисление | | | X |
| M499 | 21,17-21,33 | Конъюгация дехлорглутатиона + гидролиз | | X | X |
| M516 | 21,83 | Окислительное дезаминирование | | | X |
| M460-2 | 21,83 | Окисление | | | X |
| M472 | 22,67 | S-деалкилирование + S-ацетилирование + восстановление | | | X |
| M476 | 22,67 | Окисление | | | X |

| Обозначение компонента | Время удерживания (минуты) | Тип биотрансформации | Матрица | | |
|------------------------|----------------------------|-----------------------------------|---------|------|---------|
| | | | Плазма | Моча | Фекалии |
| Неидентифицированный | | | | | |
| 6 | 22,83 | Неизвестный | | X | |
| M474 | 23,33 | Окисление | | | X |
| Неидентифицированный | | | | | |
| 7 | 25,00 | Неизвестный | | | X |
| M430 | 25,67-25,83 | AG-881 - окисление | | | X |
| M426 | 30,50 | S-деалкилирование + метилирование | | | X |
| M45S | | | | | |
| (AG-69460) | 30,83 | AG-69460 | X | | * |
| AG-881 | 39,17-39,50 | AG-881 | X | | X |
| M428 | 47,33 | S-деалкилирование + окисление | | | X |

Таблица 3 содержит сводку протонированных молекулярных ионов и характерных ионов продуктов для AG-881 и идентифицированных метаболитов

Таблица 3

| Обозначение метаболитов | Время Удерживания (минуты) | $[M + H]^+$ | Предложенная идентификация метаболитов | Характерные | Матрица |
|-------------------------|----------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------|
| | | | | ионы продукта (m/z) | |
| M266 | 7.88 ^a | 267 |  | 188, 187 | Моча |
| M515 | 19.79 ^b | 516 |  | 429, 260, 164, 153 | Фекалии |
| M460-1 | 20.76 ^b | 461 |  | 379, 260, 164 | Фекалии |
| M499 | 21.22 ^b | 500 |  | 437, 413, 260, 164, 137 | Моча Фекалии |
| M516 | 21.89 ^b | 517 |  | 428, 260, 164, 153 | Фекалии |
| M460-2 | 21.98 ^b | 461 |  | 369, 260, 164, 139, 121, 93 | Фекалии |

| Обозначение метаболитов | Время Удерживания (минуты) | $[M + H]^+$ | Предложенная идентификация метаболитов | Характерные ионы продукта m/z | Матрица |
|-------------------------|----------------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------|
| M472 | 22.76 ^b | 473 |  | 429. 260. 179. 164. 153 | Фекалии |
| M476 | 22.76 ^b | 477 |  | 395. 260. 164. 139. 119 | Фекалии |
| M474 | 23.63 ^b | 475 |  | 260. 164. 68 | Фекалии |
| M430 | 25.88 ^b | 431 |  | 260. 164. 155. 68 | Фекалии |
| M426 | 30.62 ^b | 427 |  | 260. 164. 151 | Фекалии |
| M458 | 31.03 ^c | 459 |  | 380. 311. 260. 183. 164. 103 | Плазма Фекалии ^d |
| AG-881 | 39.41 ^b | 415 |  | 319. 277. 260. 240. 164. 139. 119. 68 | Плазма Фекалии |
| M428 | 47.40 ^b | 429 |  | 260. 164. 153 | Фекалии |

Примечания:

a. Время удерживания при анализе образца мочи

b. Время удерживания при анализе образца кала

c. Время удерживания при анализе образца плазмы

5 d. M458 был обнаружен в фекалиях только с помощью масс-спектрометрии, а не с помощью радиопрофилирования.

Предполагаемые (теоретические) пути биотрансформации, ведущие к наблюдаемым метаболитам, показаны на фиг. 1.

Пример 9.

Ферментные анализы

Анализы *in vitro* для ингибиторов IDH1m (R132H или R132C)

[0195] Ниже описаны экспериментальные процедуры, которые можно использовать для получения данных в столбцах 2 и 4 таблицы 4 и столбце 2 таблицы 5.

[0196] В первичной реакции восстановление α -КГ кислоты до 2ХГ сопровождается сопутствующим окислением НАДФН до НАДФ. Количество НАДФН, остающегося в конце времени реакции, измеряют во вторичной реакции диафораза/резазурина, в которой НАДФН расходуется в молярном соотношении 1:1 с превращением резазурина в высокофлуоресцентный резорурфин. Неингибированные реакции показывают низкую флуоресценцию в конце анализа, в то время как реакции, в которых потребление НАДФН R132H IDH1 ингибируется небольшой молекулой, показывают высокую флуоресценцию.

[0197] Первичную реакцию проводят в объеме 50 мкл 1X буфера (150 mM NaCl, 20 mM Tris 7,5, 10 mM MgCl₂, 0,05 % (вес/объем) бычьего сывороточного альбумина), содержащего 0,25 мкг/мл (2,7 нМ) IDH1 wt / IDH1 гетеродимера R132H, 3 mM альфа-кетоглутарата, 4 мкМ НАДФН и либо 300 мкМ НАДФ (насыщенный), либо 30 мкМ НАДФ (без насыщения) и 1 мкл соединения 50X в ДМСО. Смесь соединения, фермента и кофактора предварительно инкубируют при комнатной температуре в течение 1 часа перед добавлением альфа-кетоглутарата. Для проведения вторичной реакции к первичной реакции добавляют 10 мкл буфера 1X, содержащего 36 мкг/мл диафоразы и 30 mM резазурина, и инкубируют еще 5 минут при 25 °С. Флуоресценцию считывают на считывающем устройстве для планшетов Spectramax при Ex 544 Em 590. Соединения или разведения соединений готовят в 100 % концентрации ДМСО и разбавляют 1:50 до конечной реакции. IDH1 wt / IDH1 R132C анализируют в аналогичных условиях, за исключением того, что 1X буфер представляет собой 50 mM 50 mM K₂HPO₄, pH 6,5; 10 mM MgCl₂; 10 % глицерин; 0,03% (масса/объем) бычьего сывороточного альбумина и конечные концентрации составляют 0,4 мкг/мл (4,3 нМ) гетеродимера IDH1 wt / IDH1 R132C, 0,02 mM альфа-кетоглутарата, 4 мкМ НАДФН и либо 300 мкМ НАДФ (насыщенный), либо 30 мкМ НАДФ (без насыщения). IC50 определены.

[0198] IDH1 или IDH2 дикого типа (wt) и мутантные гетеродимеры экспрессируют и очищают методами, известными в данной области. Например, гетеродимер IDH1wt/R132m экспрессируют и очищают следующим образом. Коэкспрессию IDH1wt-his и IDH1R132C-flag осуществляют в клетках насекомых sf9. Клетки (25 г) ресуспендируют в 250 мл 50 mM Tris, 500 mM NaCl, pH 7,4, 4 °C при перемешивании. Клетки разрывают с помощью 4 проходов через микрофлюидизатор M-Y110 (Microfluidics), установленный на 500 фунтов на квадратный дюйм, а затем центрифугируют при 22 000 gcf в течение 20 минут при 4 °C. Супернатант собирают и загружают со скоростью 15 см/ч на колонку HiTrap FF 5*1 мл (GE), уравновешенную посредством 50 mM Tris, 500 mM NaCl, pH 7,4. Загрязнителей клеток-хозяев удаляют путем промывания колонки уравновешивающим буфером, а затем уравновешивающим буфером, содержащим 20 mM имидазола и 60 mM имидазола до исходного уровня. Гомодимер IDH1wt-his и IDH1wt-his / IDH1R132C-flag элюируют уравновешивающим буфером, содержащим 250 mM имидазола. Фракции, элюированные 250 mM имидазолом, объединяют и загружают со скоростью 15 см/ч в колонку, предварительно заполненную 10 мл ANTI-FLAG® M2 Affinity Gel (Sigma), колонку уравновешивают посредством 50 mM Tris, 500 mM NaCl, pH 7,4. После промывки уравновешивающим буфером гетеродимер IDH1wt-his/IDH1R132C-flag элюируют уравновешивающим буфером, содержащим флаговый пептид (0,2 мг/мл). Аликвоты IDH1wt-his/IDH1R132C-flag мгновенно замораживают в жидком азоте и хранят при -80 °C. Такие же условия используют для очистки IDH1wt-his/IDH1R132H-flag.

Анализы *in vitro* для ингибиторов IDH1m (R132H или R132C)

[0199] Ниже описаны экспериментальные процедуры, которые можно использовать для получения данных в столбцах 3 и 6 таблицы 4.

[0200] Тестируемое соединение готовят в виде исходного раствора 10 mM в ДМСО и разбавляют до 50-кратной конечной концентрации в ДМСО для получения 50 мкл реакционной смеси. Активность фермента IDH, превращающего альфа-кетоглутарат в 2-гидроксиглутаровую кислоту, измеряют с помощью анализа истощения НАДФН. В анализе оставшийся кофактор измеряют в конце реакции с добавлением каталитического избытка диафоразы и резазурина для получения флуоресцентного сигнала, пропорционального количеству оставшегося НАДФН. Гомодимерный фермент IDH1-R132

разбавляют до 0,125 мкг/мл в 40 мкл буфера для анализа (150 мМ NaCl, 20 мМ Tris-Cl pH 7,5, 10 мМ MgCl₂, 0,05 % BSA, 2 мМ b-меркаптоэтанол); добавляют 1 мкл разведения испытуемого соединения в ДМСО и смесь инкубируют в течение 60 минут при комнатной температуре. Реакцию начинают с добавления 10 мкл смеси субстратов (20 мкл НАДФН, 5 мМ альфа-кетоглутарата в буфере для анализа) и смесь инкубируют в течение 90 минут при комнатной температуре. Реакцию останавливают добавлением 25 мкл буфера для детекции (36 мкг/мл диафоразы, 30 мМ резазурина, в 1X буфере для анализа) и инкубируют в течение 1 минуты перед измерением на считывающем устройстве для планшетов SpectraMax при Ex544/Em590.

[0201] Соединения анализируют на их активность против IDH1 R132C в соответствии с тем же анализом, что и выше, со следующими модификациями: буфер для анализа (50 мМ фосфата калия, pH 6,5; 40 мМ карбоната натрия, 5 мМ MgCl₂, 10 % глицерина, 2 мМ b-меркаптоэтанола). и 0,03 % BSA). Концентрация НАДФН и альфа-кетоглутарата в субстратном буфере составляет 20 мкМ и 1 мМ соответственно.

Анализы *in vitro* для ингибиторов IDH1m (R132H или R132C)

[0202] Ниже описаны экспериментальные процедуры, которые можно использовать для получения данных в столбцах 3 и 5 таблицы 5.

[0203] Тестируемое соединение готовят в виде исходного раствора 10 мМ в ДМСО и разбавляют до 50-кратной конечной концентрации в ДМСО для получения 50 мкл реакционной смеси. Активность фермента IDH, превращающего альфа-кетоглутарат в 2-гидроксиглутаровую кислоту, измеряют с помощью анализа истощения НАДФН. В анализе оставшийся кофактор измеряют в конце реакции с добавлением каталитического избытка диафоразы и резазурина для получения флуоресцентного сигнала, пропорционального количеству оставшегося НАДФН. Гомодимерный фермент IDH1-R132H разводят до концентрации 0,125 мкг/мл в 40 мкл буфера для анализа (150 мМ NaCl, 20 мМ Tris-Cl pH 7,5, 10 мМ MgCl₂, 0,05 % BSA, 2 мМ b-меркаптоэтанола), содержащего 5 мкМ НАДФН и 37,5 мкМ НАДФ; добавляют 1 мкл разведения испытуемого соединения в ДМСО и смесь инкубируют в течение 60 минут при комнатной температуре. Реакцию начинают с добавления 10 мкл смеси субстратов (20 мкл НАДФН, 5 мМ альфа-кетоглутарата в буфере для анализа) и смесь инкубируют в течение 60 минут при комнатной температуре. Реакцию

останавливают добавлением 25 мкл буфера для детекции (36 мкг/мл диафоразы, 30 мМ резазурина, в 1X буфере для анализа) и инкубируют в течение 1 минуты перед измерением на считывающем устройстве для планшетов SpectraMax при Ex544/Em590.

- 5 **[0204]** Соединения анализируют на их активность против IDH1 R132C, следуя тому же анализу, что и выше, со следующими модификациями: гомодимерный фермент IDH1-R132C разбавляют до 0,1875 мкг/мл в 40 мкл буфера для анализа (50 мМ фосфата калия, pH 6,5; 40 мМ карбоната натрия, 5 мМ MgCl₂, 10 % глицерин, 2 мМ b-меркаптоэтанола и 0,03 % BSA), содержащие 10 5 мкМ NADPH и 28,75 мкМ НАДФ. Концентрация альфа-кетоглутарата в субстратном буфере составляет 1 мМ.

Анализы *in vitro* для ингибиторов IDH2m R140Q

[0205] Ниже описаны экспериментальные процедуры, использованные для получения данных в столбце 7 таблицы 4.

- 15 **[0206]** Соединения анализируют на ингибирующую активность IDH2 R140Q посредством анализа истощения кофактора. Соединения предварительно инкубируют с ферментом, затем реакцию начинают путем добавления НАДФН и α-КГ и дают протекать в течение 60 минут в условиях, продемонстрированных ранее как линейные относительно времени потребления как кофактора, так и 20 субстрата. Реакцию останавливают путем добавления второго фермента, диафоразы, и соответствующего субстрата, резазурина. Диафораза восстанавливает резазурин до высокофлуоресцентного резорфина с сопутствующим окислением НАДФН до НАДФ, останавливая реакцию IDH2 за 25 счет истощения доступного пула кофакторов и облегчая количественный анализ количества кофактора, оставшегося после определенного периода времени, посредством количественного производства легко обнаруживаемого флуорофора.

- [0207]** В частности, в каждую из 12 лунок 384-луночного планшета помещают 1 мкл серии 100-кратных разведений соединения с последующим 30 добавлением 40 мкл буфера (50 мМ фосфата калия (K₂HPO₄), pH 7,5; 150 мМ NaCl; 10 мМ MgCl₂, 10 % глицерин, 0,05 % бычий сывороточный альбумин, 2 мМ бета-меркаптоэтанол), содержащий 0,25 мкг/мл белка IDH2 R140Q. Затем испытуемое соединение инкубируют в течение одного часа при комнатной температуре с ферментом; перед началом реакции IDH2 добавлением 10 мкл

смеси субстратов, содержащей 4 мкМ НАДФН и 1,6 мМ α -КГ в описанном выше буфере. После еще 16 часов инкубации при комнатной температуре реакцию останавливают и измеряют оставшийся НАДФН путем превращения резазурина в резорурфин путем добавления 25 мкл Stop Mix (36 мкг/мл фермента диафоразы и 60 мкМ резазурина; в буфере). После одной минуты инкубации планшет считывают на считывающем устройстве для планшетов при Ex544/Em590.

[0208] Для определения ингибирующей активности соединений в отношении IDH2 R140Q в формате анализа, подобном описанному выше, проводят аналогичную процедуру, за исключением того, что конечная концентрация для тестирования составляет 0,25 мкг/мл белка IDH2 R140Q, 4 мкМ НАДФН и 1,6 мМ α -КГ.

[0209] Для определения ингибирующей активности соединений в отношении IDH2 R140Q в формате высокопроизводительного скрининга проводят аналогичную процедуру, за исключением того, что на стадии предварительной инкубации используют 0,25 мкг/мл белка IDH2 R140Q, а реакцию начинают с добавления 4 мкМ НАДФН и 8 мкМ α -КГ.

Анализ *in vitro* для ингибитора IDH2m R140Qs

[0210] Ниже описаны экспериментальные процедуры, использованные для получения данных в столбце 6 таблицы 5.

[0211] Соединения анализируют на ингибирующую активность IDH2 R140Q посредством анализа истощения кофактора. Соединения предварительно инкубируют с ферментом и кофактором, затем реакцию начинают путем добавления α -КГ и дают протекать в течение 60 минут в условиях, ранее продемонстрированных как линейные. Реакция останавливается добавлением второго фермента, диафоразы, и соответствующего субстрата, резазурина. Диафораза восстанавливает резазурин до высокофлуоресцентного резорурфина с сопутствующим окислением НАДФН до НАДФ, останавливая реакцию IDH2 за счет истощения доступного пула кофакторов и облегчая количественный анализ количества кофактора, оставшегося после определенного периода времени, посредством количественного производства легко обнаруживаемого флуорофора.

В частности, в каждую из 12 лунок 384-луночного планшета помещают 1 мкл серии 50-кратных разведений соединения с последующим добавлением 40 мкл буфера (50 мМ фосфата калия (K_2HPO_4), pH 7,5; 150 мМ NaCl; 10 мМ $MgCl_2$,

10 % глицерин, 0,05 % бычий сывороточный альбумин, 2 мМ бета-меркаптоэтанол), содержащий 0,39 мкг/мл белка IDH2 R140Q, 5 мкМ НАДФН и 750 мкМ НАДФ. Затем тестируемое соединение инкубируют в течение 16 часов при комнатной температуре с ферментом и кофакторами перед началом реакции IDH2 с добавлением 10 мкл смеси субстратов, содержащей 8 мМ α -KG (конечная концентрация 1,6 мМ) в описанном выше буфере. Еще через 1 час инкубации при комнатной температуре реакцию останавливают и измеряют оставшийся НАДФН путем превращения резазурина в резорурфин путем добавления 25 мкл Stop Mix (36 мкг/мл фермента диафоразы и 60 мкМ резазурина; в буфере). После одной минуты инкубации планшет считывают на считывающем устройстве для планшетов при Ex544/Em590.

[0212] Данные для различных соединений согласно одному аспекту изобретения в ферментативном анализе R132H, ферментативном анализе R132C, ферментативном анализе R140Q, клеточном анализе R132C и клеточном анализе R140Q, как описано выше, или аналогичных им, представлены ниже в таблицах 4 и 5.

Таблица 4 Ингибирующая активность типовых соединений 1-6 в отношении mIDH1

| Соединение | IDH1 WT IC50 1 ч. | IDH1 WT IC50 16 ч. | IDH1 R132H IC50 1 ч. | IDH1 R132H IC50 16 ч. | WT/R132H IC50 1 ч. | WT/R132H IC50 16 ч. |
|------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | 1.587 | 0.042 | 0.036 | 100 | 0.014 | 0.002 |
| 2 | 4.875 | 0.161 | 0.451 | 100 | 0.081 | 0.069 |
| 3 | 5.546 | 1.256 | 0.576 | 0.711 | 0.717 | 0.246 |
| 5 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 4 | 1.525 | 0.832 | 0.501 | 0.222 | 0.415 | 0.591 |
| 7 | 1.578 | 0.075 | 0.168 | 0.394 | 0.022 | 0.034 |

Таблица 5. Ингибирующая активность соединений 1-6 против mIDH2

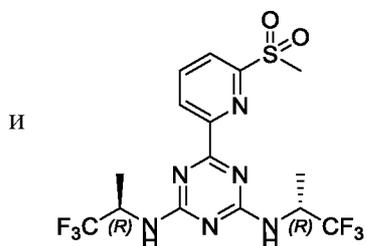
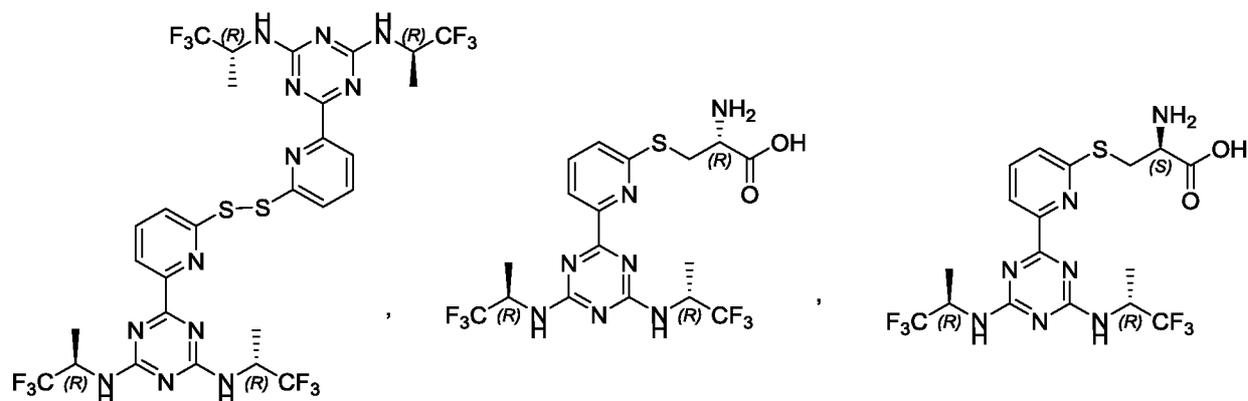
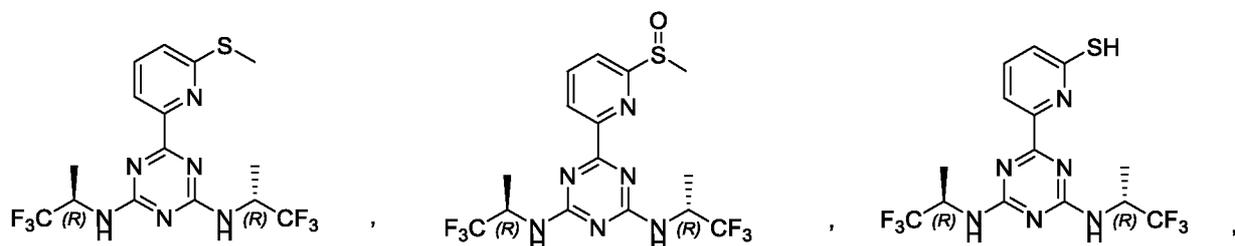
| Соединение | IDH2 WT IC50 1 ч. | IDH2 WT IC50 16 ч. | IDH2 R140Q IC50 1 ч. | IDH2 R140Q IC50 16 ч. | WT/R140Q IC50 1 ч. | WT/R140Q IC50 16 ч. |
|------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | 0.41 | 0.037 | 0.193 | 0.021 | 0.488 | 0.04 |
| 2 | 1.2 | 0.209 | 0.552 | 0.146 | 1.709 | 0.264 |
| 3 | 100 | 5.063 | 2.34 | 1.555 | 100 | 7.715 |
| 5 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 4 | 100 | 100 | 1.301 | 3.51 | 100 | 100 |

| | | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 7 | 0.910 | 0.098 | 0.430 | 0.059 | 1.232 | 0.125 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|

5 Таким образом, после описания нескольких аспектов нескольких вариантов осуществления, следует понимать, что различные изменения, модификации и усовершенствования легко могут прийти на ум специалистам в данной области техники. Предполагают, что такие изменения, модификации и усовершенствования являются частью настоящего описания и находятся в пределах сущности и объема изобретения. Соответственно, вышеприведенное описание и чертежи приведены только в качестве примера.

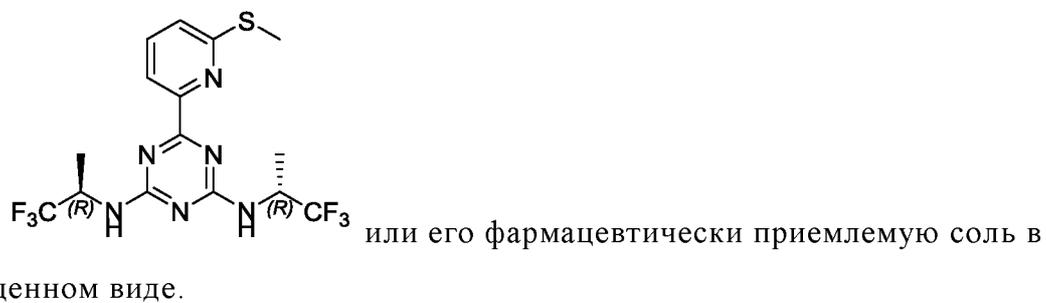
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, выбранное из:

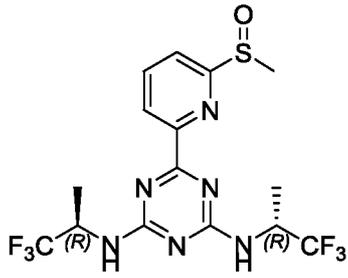


5 или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

2. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой

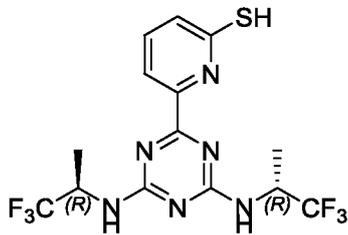


3. Соединение по п. 1 где соединение представляет собой



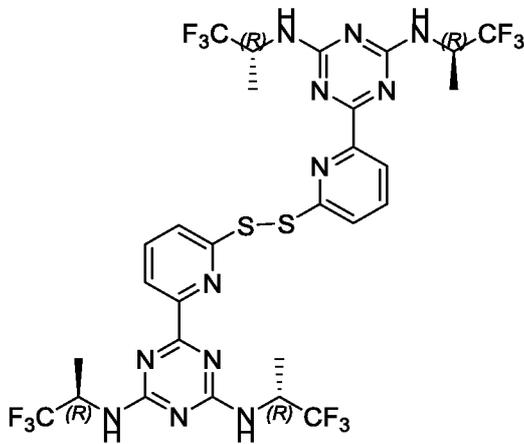
или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

5 4. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой



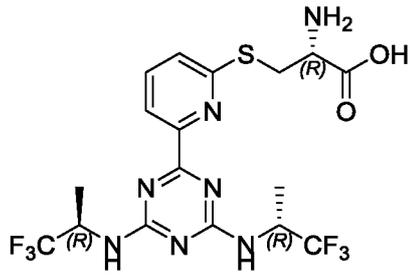
или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

5. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой



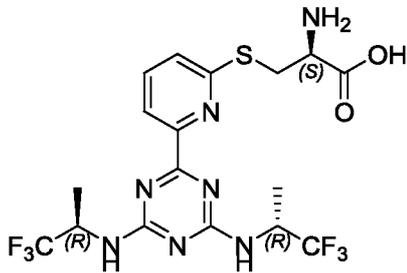
10 или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

6. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой



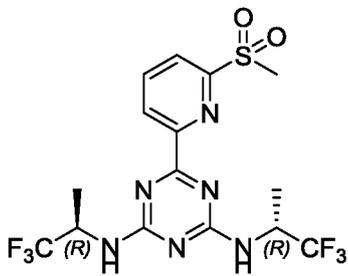
или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

5 7. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

8. Соединение по п. 1, где соединение представляет собой

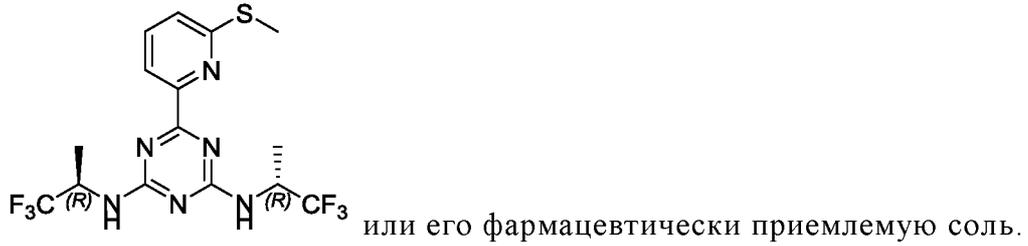


10 или его фармацевтически приемлемую соль в очищенном виде.

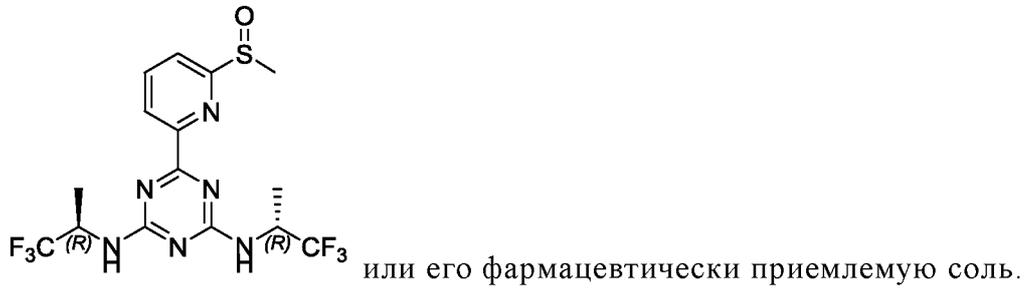
9. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по одному из пп. 1 - 8 или его фармацевтически приемлемую соль и один или несколько фармацевтически приемлемых веществ.

15

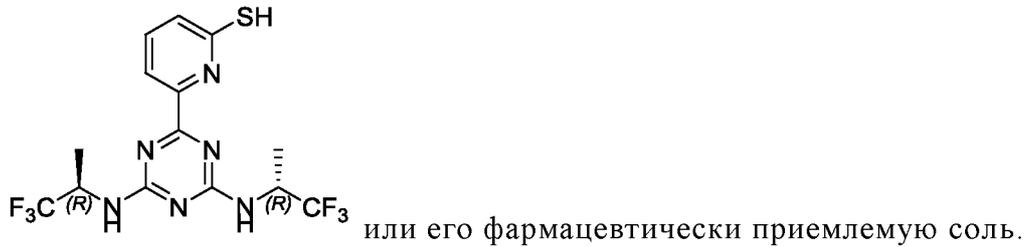
10. Фармацевтическая композиция по п. 9, где соединение представляет собой



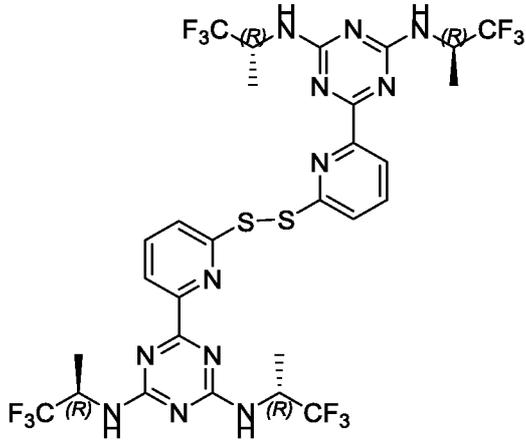
5 11. Фармацевтическая композиция по п. 9, где соединение представляет собой



10 12. Фармацевтическая композиция по п. 9, где соединение представляет собой



13. Фармацевтическая композиция по п. 9, где соединение представляет собой

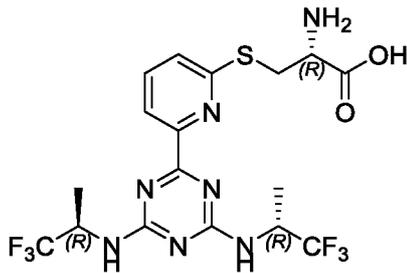


или его фармацевтически приемлемую

соль.

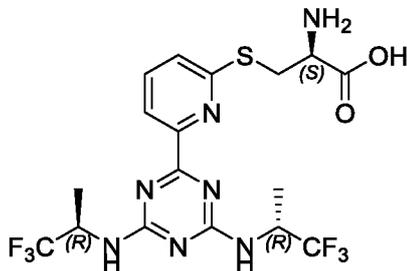
5

14. Фармацевтическая композиция по п. 9, где соединение представляет собой



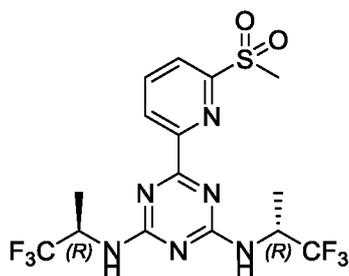
или его фармацевтически приемлемую соль.

10 15. Фармацевтическая композиция по п. 9, где соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

16. Фармацевтическая композиция по п. 9, где соединение представляет собой

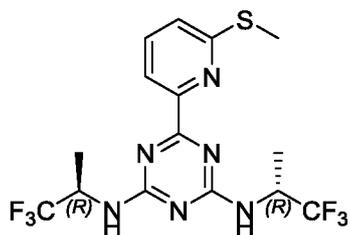


или его фармацевтически приемлемую соль.

5 17. Способ лечения рака, включающий в себя введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества очищенного соединения по одному из пп. 1 - 8 или его фармацевтически приемлемой соли, при этом рак характеризуется наличием по меньшей мере одной мутации, выбранной из мутации IDH1 или мутации IDH2.

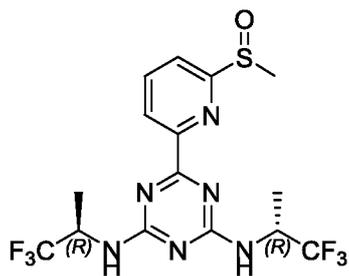
10

18. Способ по п. 17, где очищенное соединение представляет собой



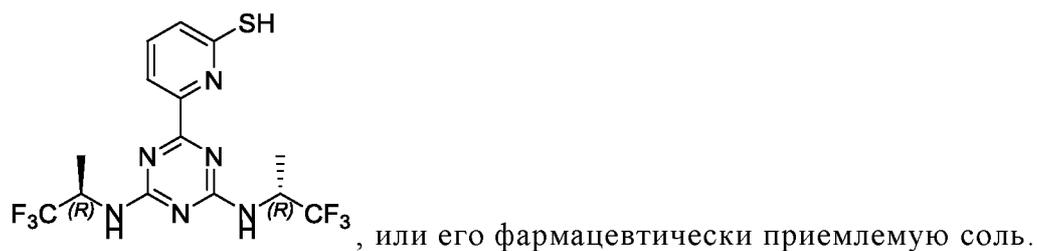
, или его фармацевтически приемлемую соль.

19. Способ по п. 17, где очищенное соединение представляет собой

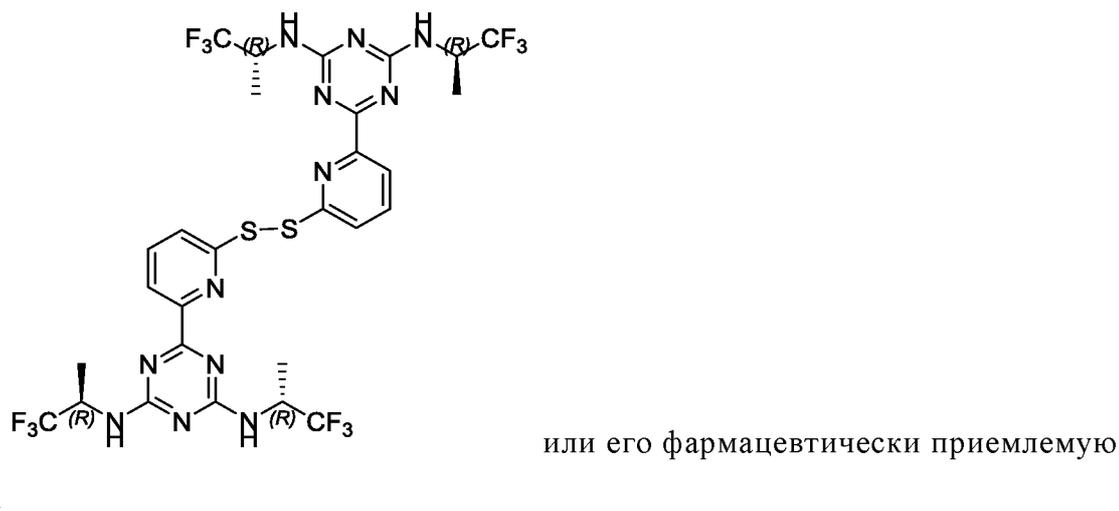


15 , или его фармацевтически приемлемую соль.

20. Способ по п. 17, где очищенное соединение представляет собой

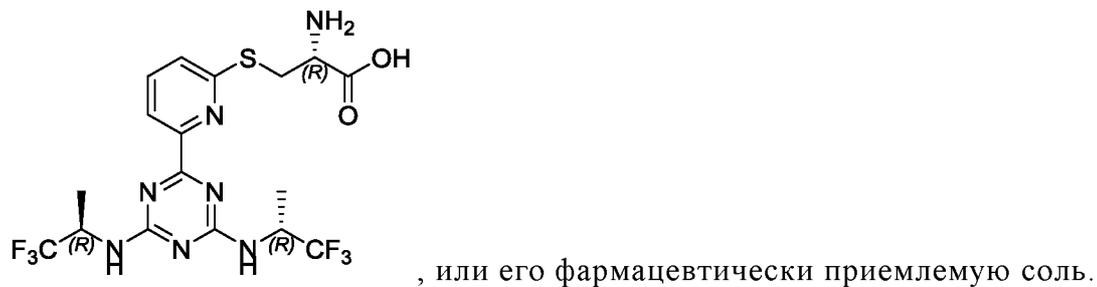


21. Способ по п. 17, где очищенное соединение представляет собой



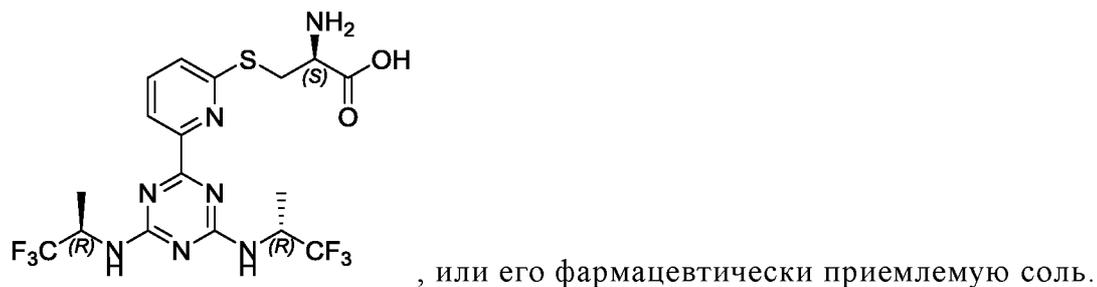
5

22. Способ по п. 17, где очищенное соединение представляет собой

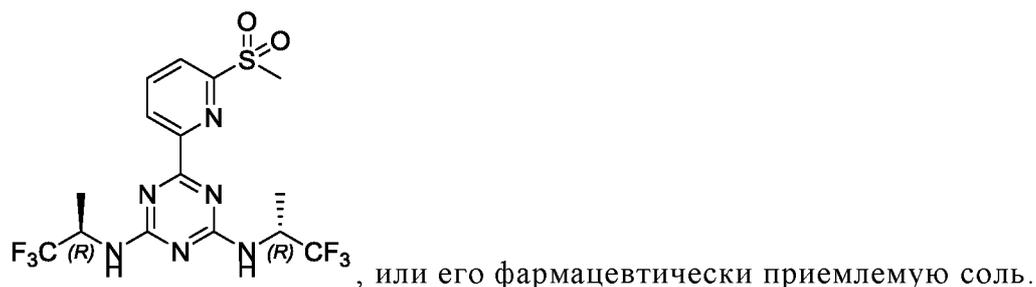


10

23. Способ по п. 17, где очищенное соединение представляет собой



24. Способ по п. 17, где очищенное соединение представляет собой



25. Способ лечения рака, включающий в себя введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества композиции по одному из пп. 9 - 16, при этом рак характеризуется наличием по меньшей мере одной мутации, выбранной из мутации IDH1 или мутации IDH2.

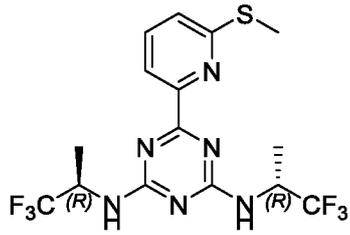
26. Способ по одному из пп. 17 - 25, где рак выбран из глиомы (включая глиому низкой степени злокачественности), глиобластомы (включая вторичную глиобластому), астроцитомы II или III степени, олигодендроглиомы II или III степени, острого миелогенного лейкоза (ОМЛ), саркомы, меланомы, немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), холангиокарциномы, хондросаркомы, миелодиспластических синдромов (МДС), миелопролиферативного новообразования (МПН), рака толстой кишки и ангиоиммунобластной неходжкинской лимфомы (НХЛ) у пациента.

27. Способ по п. 26, где рак представляет собой глиому.

28. Способ по п. 27, где глиома представляет собой глиому низкой степени злокачественности или глиому высокой степени злокачественности.

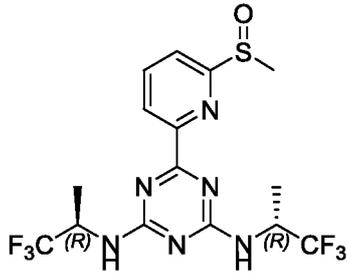
29. Способ лечения глиомы у нуждающегося в этом субъекта, включающий в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества очищенного соединения по одному из пп. 1 - 8 или его фармацевтически приемлемой соли.

30. Способ по п. 29, где очищенное соединение представляет собой



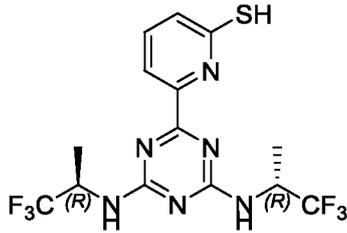
или его фармацевтически приемлемую соль.

31. Способ по п. 29, где очищенное соединение представляет собой



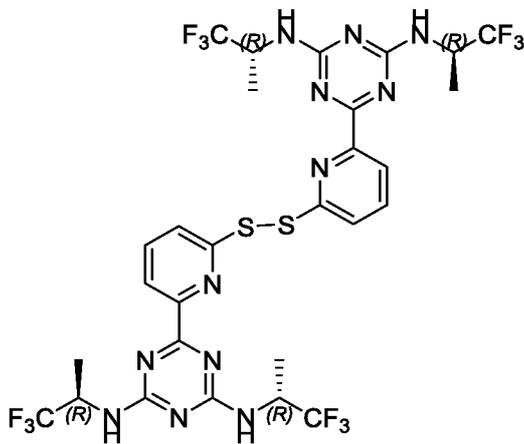
5 или его фармацевтически приемлемую соль.

32. Способ по п. 29, где очищенное соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

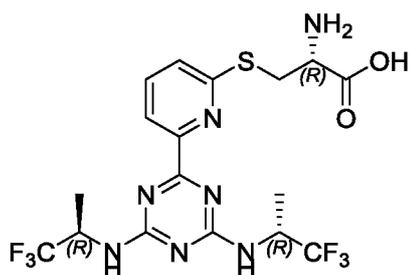
10 33. Способ по п. 29, где очищенное соединение представляет собой



соль.

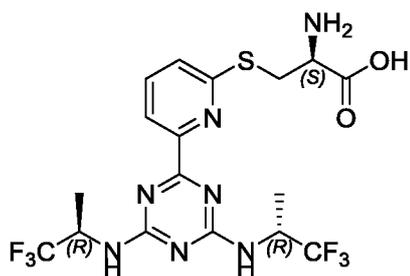
или его фармацевтически приемлемую

34. Способ по п. 29, где очищенное соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

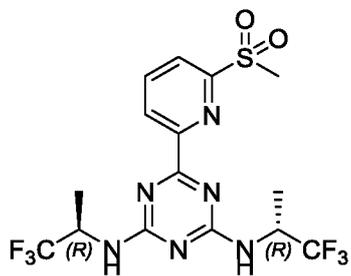
35. Способ по п. 29, где очищенное соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

5

36. Способ по п. 29, где очищенное соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

10 37. Способ лечения глиомы, включающий в себя введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества композиции по одному из пп. 9 - 16, при этом глиома характеризуется наличием по меньшей мере одной мутации, выбранной из мутации IDH1 или мутации IDH2.

15 38. Способ по одному из пп. 29 - 36, при этом глиома характеризуется наличием по меньшей мере одной мутации, выбранной из мутации IDH1 и мутации IDH2.

20 39. Способ по одному из пп. 17 - 28 и 37, где мутация представляет собой мутацию IDH1.

40. Способ по п. 39, где мутация IDH1 представляет собой мутацию R132X.

5 41. Способ по п. 40, где мутация IDH1 представляет собой мутацию R132H или R132C.

42. Способ по одному из пп. 17 - 28 и 37, где мутация представляет собой мутацию IDH2.

10

43. Способ по п. 42, где мутация представляет собой мутацию R140X или R172X.

15 44. Способ по п. 43, где мутация представляет собой мутацию R140Q, R140W или R140L.

45. Способ по п. 43, где мутация представляет собой мутацию R172K или R172G.

20 46. Способ по одному из пп. 17 - 45, где количество очищенного соединения или его фармацевтически приемлемой соли, вводимых пациенту, составляет примерно от 1 до 5000 мг/сутки.

25 47. Способ по п. 46, где количество очищенного соединения или его фармацевтически приемлемой соли, вводимых пациенту, составляет примерно от 1 до 1000 мг/сутки.

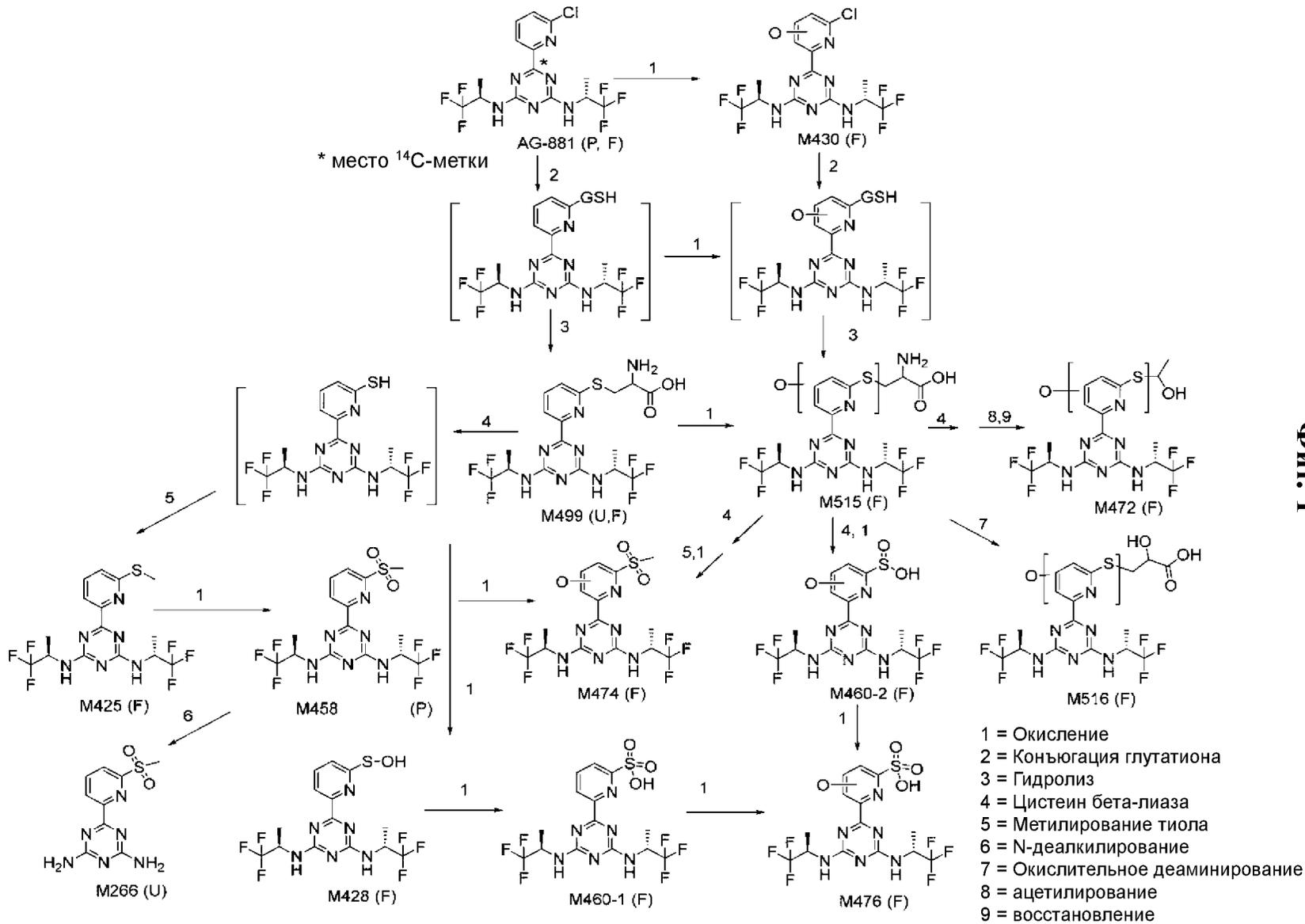
30 48. Способ по п. 46, где количество очищенного соединения или фармацевтически приемлемой соли, вводимых пациенту, составляет примерно от 1 до 500 мг/сутки.

49. Способ по одному из пп. 17 - 48, где очищенное соединение или композицию вводят перорально.

50. Способ по одному из пп. 17 - 49, где очищенное соединение или композицию вводят в сочетании с дополнительным терапевтическим методом.

51. Способ по п. 50 где дополнительный терапевтический метод выбирают из облучения, хирургической резекции, противораковых лекарственных средств, противозипептических лекарственных средств, противосудорожных лекарственных средств и противорвотных лекарственных средств.

52. Способ по п. 51, где противораковые лекарственные средства выбирают из химиотерапии цитотоксическими или цитостатическими средствами, таргетных лекарственных средств, терапии антителами, иммунотерапии и гормональной терапии.



Фиг. 1

Примечание: соединения в скобках не были обнаружены