

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392773 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.12.25

(51) Int. Cl. C07D 401/14 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/444 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.04.05

(54) ПИРИДИНИЛЗАМЕЩЕННЫЕ ОКСОИЗОИНДОЛИНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

(31) 202111016193; 202111022098

(72) Изобретатель:

(32) 2021.04.06; 2021.05.17

Чэнь Янь, Куми Годвин Кваме, Хуанг
Одрис (US), Наир Сагиш Кесаван,
Шимпукаде Бхарат Динкар, Пенметса
Суреш Бабу Вишва Кришна (IN),
Балог Джеймс Аарон (US)

(33) IN

(86) PCT/US2022/023387

(87) WO 2022/216644 2022.10.13

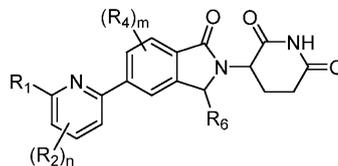
(71) Заявитель:

БРИСТОЛ-МАЙЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(74) Представитель:

Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина
Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Костюшенкова М.Ю., Джермакян Р.В.
(RU)

(57) Раскрыты соединения формулы (I)



или их соль, где R₁, R₂, R₄, R₆, m и n определены в настоящем документе. Также раскрыты способы применения таких соединений для ингибирования белка Helios и фармацевтические композиции, содержащие такие соединения. Данные соединения применимы в лечении вирусных инфекций и пролиферативных заболеваний, таких как рак.

A1

202392773

202392773

A1

ПИРИДИНИЛЗАМЕЩЕННЫЕ ОКСОИЗОИНДОЛИНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

ПЕРЕКРЁСТНАЯ ССЫЛКА

В данной заявке испрашивается преимущество индийской предварительной
5 заявки с серийным номером 202111016193, поданной 6 апреля 2021 г., и индийской
предварительной заявки с серийным номером 202111022098, поданной 17 мая 2021
г., содержание каждой из которых включено в настоящий документ во всей своей
полноте.

10

ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение в целом относится к пиридинилзамещенным
оксоизоиндолиновым соединениям, ингибирующим белок Helios. В настоящем
документе обеспечены пиридинилзамещенные оксоизоиндолиновые соединения,
композиции, содержащие такие соединения, и способы их применения. Изобретение
15 также относится к фармацевтическим композициям, содержащим по меньшей мере
одно соединение по изобретению, которые применимы для лечения
пролиферативных заболеваний, таких как рак, и вирусных инфекций.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

20 Регуляторные Т-клетки (Treg) играют важную роль в контроле
аутоотолерантности и иммунного гомеостаза путем поддержания ингибиторной
активности и анергии в условиях активного иммунного и воспалительного ответа.
Сохраняя стабильный, анергический и супрессивный фенотип, Treg ослабляют
чрезмерные иммунные реакции и предотвращают или ослабляют аутоиммунитет. В
25 ряде сообщений зафиксировано присутствие Treg в опухолевых тканях человека.
Исследования продемонстрировали четкую отрицательную корреляцию между
количеством Treg и инфильтрацией Т-клеток в опухоль и выживаемостью (Curiel et
al., 2004, *Nat. Med.* 10: 942-949; Viguiet et al., 2004, *J Immuno.* 1173:1444-1453; Beyer
et al., 2006, *Blood* 108: 804-811; Zou et al., 2006, *Nat. Rev. Immunol.* 6: 295-307), что
30 позволяет предполагать потенциально критическую роль Treg в предотвращении
развития эффективного противоопухолевого иммунитета. Накопленные данные
свидетельствуют о том, что Foxp3+CD25+CD4+Treg преимущественно

инфильтрируются в опухоли и, по-видимому, препятствуют иммунному ответу на опухолевые клетки у грызунов и человека. После активации специфическим антигеном Treg подавляют отвечающие Т-клетки антиген-неспецифическим и посторонним образом (bystander manner) *in vitro* (Takahashi et al., 1998, *Int Immunol.* 10:1969-80; Thornton et al., 1998, *J Exp. Med.* 188:287-96). Foxp3+CD25+CD4+Treg, по-видимому, способны подавлять широкий спектр противоопухолевых иммунных ответов с участием CD4+ хелперных Т-клеток, CD8+ Т-клеток, естественных киллеров и естественных киллерных Т-клеток (Tanaka et al., 2017, *Cell Research* 27:109-118). Внутриопухолевое истощение CD25+CD4+Treg клеток вызывало регрессию установленных опухолей с изменением цитокинового окружения в местах нахождения опухолей (Yu et al., 2005, *J Exp Med.* 201: 779-91). Кроме того, перенос Treg-обедненных CD4+ Т-клеток заметно усиливал противоопухолевый иммунный ответ по сравнению с переносом Treg-содержащих Т-клеток (Antony et al., 2005, *J Immunol* 174:2591-601). Инфильтрирующие опухоль Treg, активированные либо аутоантигенами опухолевого происхождения, либо опухолеассоциированными антигенами, могут аналогичным образом подавлять специфические противоопухолевые иммунные ответы. Модуляция активности ключевых факторов контроля дифференцировки Treg может представлять потенциальную терапевтическую стратегию лечения некоторых заболеваний, включая рак и вирусные инфекции.

FoxP3+CD4 Treg отличаются удивительной стабильностью. В настоящее время продолжаются исследования, направленные на понимание генетических механизмов, обеспечивающих их фенотипическую стабильность после экспансии в ходе воспаления, инфекции или аутоиммунитета. Вероятно, в данный процесс вносят свой вклад факторы транскрипции (transcription factors (TF)), отвечающие за поддержание стабильного иммуносупрессивного фенотипа Treg. Ген Helios (IKZF2), входящий в семейство TF Ikaros, отличается от других членов семейства Ikaros селективной экспрессией на тимоцитах, подвергающихся негативному отбору, а также на регуляторных линиях CD4 и CD8 Т-клеток. Helios экспрессируется двумя регуляторными линиями Т-клеток, FoxP3+CD4+ и Ly49+CD8+ Treg, которые необходимы для поддержания самотолерантности (Kim et al., 2015, *Science* 350:334-339; Sebastian et al., 2016, *J Immunol* 196:144-155). Интересно, что недавние

исследования показывают, что хотя Helios в значительной степени не нужен для активности Treg в устойчивом состоянии, контроль генетической программы FoxP3+ CD4 Treg со стороны Helios в условиях воспаления необходим для поддержания стабильного фенотипа и усиления супрессивной функции (Thornton et al., 2010, *J Immunol.* 184:3433-3441; Kim et al., 2015). Было показано, что экспрессия Helios клетками Treg имеет решающее значение для их способности поддерживать супрессивный и анергический фенотип в условиях интенсивного воспалительного ответа. Активация пути IL-2R α -STAT5 оказалась ключевым фактором, обеспечивающим выживание и стабильность Treg (Kim et al., 2015). Helios играет незаменимую роль в поддержании фенотипа FoxP3+ CD4 Treg, осуществляя доминантное ингибирование, присущее лимфоцитам, для предотвращения аутоиммунных заболеваний в присутствии высокоактивированных самореактивных Т-клеток из мышей scurfy, у которых отсутствует домен «вилочной головки» (fork head) в белке FoxP3. Химеры костного мозга (bone marrow (BM)), восстановленные с помощью клеток BM Helios^{-/-}/Scurfy, но не Helios^{+/+}/Scurfy, быстро развивали аутоиммунитет (Kim et al., 2015). Данные наблюдения указывают на критический вклад Helios в селекцию, дифференцировку и функционирование самореактивных Т-клеток. Иммунная супрессия, осуществляемая Treg, может препятствовать противоопухолевому иммунному ответу. Селективный дефицит Helios в FoxP3+ CD4 Treg приводит к увеличению нестабильности Treg и превращению внутриопухолевых CD4 Treg в эффекторные Т-клетки (effector T cells (Teff)). Нестабильность внутриопухолевых Treg может увеличивать количество Teff-клеток в опухоли в результате конверсии Treg и снижения супрессивной активности Treg. Кроме того, дефектные ответы IL-2 наблюдались во внутриопухолевых Treg с дефицитом Helios, что приводит к снижению числа активированных Treg и может также способствовать повышению активности внутриопухолевых Teff. Взаимодействие опухолевых клеток с инфильтрирующими иммунными клетками приводит к секреции медиаторов воспаления, включая TNF- α , IL-6, IL-17, IL-1 и TGF- β , и формированию локальной воспалительной среды (Kim et al., 2015).

Нестабильность линии Helios-дефицитных Treg также сопровождается снижением экспрессии FoxP3 и приводит к приобретению эффекторного фенотипа за счет продукции провоспалительных цитокинов. Конверсия Helios-дефицитных

Трег в эффекторные клетки в микроокружении опухолевой ткани ассоциируется с усилением экспрессии генов, контролирующих фенотип Teff (Yates et al., 2018, *PNAS*, 2018, 115: 2162-2167). Приобретение нестабильного фенотипа при дефиците Helios происходит только в пределах опухолевого микроокружения (tumor microenvironment (TME)), но не в периферических лимфоидных органах (Nakagawa et al., 2016, *PNAS* 113: 6248-6253). В хроническом воспалительном ТМО дефицит Helios в Трег может резко ослабить подавленные генетические программы, связанные с дифференцировкой Т-хелперных клеток, путем повышения регуляции TF и эффекторных цитокинов, связанных с Т-хелперными клетками. Данные генетические изменения Helios-дефицитных Трег наиболее очевидны в субпопуляции Трег с высоким сродством к аутоантигенам, о чем свидетельствует усиленная экспрессия GITR/PD-1 и повышенная чувствительность к аутоантигенам. Их совместное воздействие может способствовать фенотипической конверсии Трег в Teff внутри ТМЕ с повышенным участием Т-клеточных рецепторов (T-cell receptor (TCR)) и экспрессией костимулирующих рецепторов клетками Трег, что позволяет предположить, что изменения в экспрессии генов, являющиеся центральной особенностью конверсии Трег, зависят от иммунной среды (Yates et al., 2018).

Снижение экспрессии Helios в FoxP3+ CD4 Трег может обеспечить конверсию клеток памяти Трег в Teff-клетки, экспрессирующие аутореактивные Т-клеточные рецепторы со специфичностью к опухолевым антигенам. Измененная сигнатура Трег может избирательно индуцироваться в условиях хронического воспалительного процесса растущей опухоли. Трег с дефицитом Helios могут демонстрировать TCR-репертуар, смещенный в сторону высокого сродства к собственным пептидам/МНС, что может способствовать мощной активации в ТМЕ (Yates et al., 2018). Учитывая повышенную аутореактивность TCR в CD4 Трег-клетках по сравнению с обычными Т-клетками, конверсия Трег может привести к генерации высокоэффективных эффекторных CD4 Т-клеток при ослабленной Трег-опосредованной супрессии в ТМЕ. Более эффективная стратегия может зависеть от подходов, позволяющих избирательно конвертировать внутриопухолевые Трег в Teff-клетки, не затрагивая системную популяцию Трег. Будучи ключевым игроком в поддержании численности и функциональной стабильности Трег в ответ на различные иммунологические нарушения, фармакологическое вмешательство Helios может

быть актуальным для стратегий, усиливающих современную иммунотерапию опухолей. Поскольку конверсия Treg в Teff может происходить только в воспалительном внутриопухолевом микроокружении, подходы на основе антител или малых молекул, направленные на Helios, могут привести к улучшению Treg-зависимой иммунотерапии рака. Важно отметить, что конверсия Helios-дефицитных Treg происходит только в локальном воспалительном окружении опухоли. Такой подход может не вызывать аутоиммунных побочных эффектов, связанных с системным снижением уровня Treg. Таким образом, стратегии, направленные на использование Helios-зависимого контроля фенотипа внутриопухолевых Treg, открывают широкие перспективы для улучшения иммунотерапии рака. Кроме того, сообщалось, что удаление Foxp3⁺Treg усиливает противоопухолевые Т-клеточные ответы, индуцированные вакциной (Nishikawa et al., 2010, *Int. J. Cancer* 127: 759-767), что позволяет предположить, что снижение уровня Helios может быть полезным для повышения эффективности противоопухолевых вакцин.

Помимо противоопухолевой иммунотерапии, при вирусных инфекциях Treg-клетки могут ограничивать иммунопатологию, вызванную чрезмерным воспалением, но при этом потенциально подавлять эффективный противовирусный Т-клеточный ответ и способствовать персистенции вируса (Schmitz et al., 2013, *PLOS Pathogens* 9: e1003362). Хроническая, но не острая, инфекция мышей, вызванная вирусом лимфоцитарного хориоменингита, приводит к заметному увеличению числа Foxp3⁺ Treg, что предполагает наличие потенциального механизма, при котором некоторые инфекционные средства могут обходить иммунный ответ хозяина путем активации и увеличения числа Treg (Punkosdy et al., 2011, *PNAS* 108: 3677-3682). В контексте хронических вирусных инфекций преимущества лечения могут быть достигнуты за счет снижения уровня Helios в активированных Treg.

Существует потребность в соединениях, применимых в качестве ингибиторов белка Helios.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение обеспечивает пиридирилзамещенные оксоизоиндолиновые соединения формулы (I) или их соли, которые применимы для снижения уровней белка Helios, снижения уровней активности Helios и/или

ингибирования уровней экспрессии Helios в клетках.

Настоящее изобретение также обеспечивает фармацевтические композиции, содержащие соединение формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемую соль; и фармацевтически приемлемый носитель.

5 Настоящее изобретение также обеспечивает способ лечения заболевания или расстройства путем снижения активности белка Helios, причем способ включает введение пациенту соединения формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемой соли.

10 Настоящее изобретение также обеспечивает способы и промежуточные соединения для получения соединений формулы (I) и/или их солей.

Настоящее изобретение также обеспечивает соединение формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемую соль для применения в терапии.

15 Настоящее изобретение также обеспечивает применение соединений формулы (I) и/или их фармацевтически приемлемых солей для производства лекарственного средства для снижения уровней белка Helios, снижения уровней активности Helios и/или ингибирования уровней экспрессии Helios в клетках с целью контроля дифференцировки Treg, для лечения некоторых заболеваний, включая рак и вирусные инфекции.

20 Соединения формулы (I) и композиции, содержащие соединения формулы (I), могут применяться для лечения, профилактики или лечения вирусных инфекций и различных пролиферативных заболеваний, таких как рак. Фармацевтические композиции, содержащие данные соединения, применимы для лечения, предотвращения или замедления прогрессирования заболеваний и расстройств в различных терапевтических областях, таких как вирусные инфекции и рак.

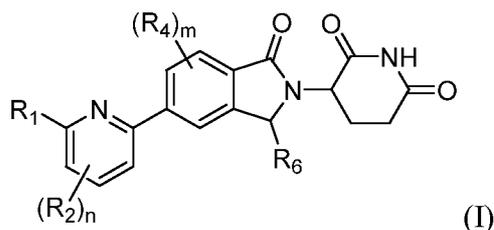
25 Данные и другие признаки изобретения будут изложены в развернутом виде по мере его дальнейшего изложения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

30 Заявители обнаружили замещенные оксоизоиндолиновые соединения, которые ингибируют белок Helios, облегчая взаимодействие белка Helios и соответствующего комплекса убиквитин-лигазы E3 (Cullin4-Cereblon, CUL4-CRBN). Данные соединения снижают уровень белка Helios, снижают уровень активности

Helios и/или ингибируют уровень экспрессии Helios в клетках для контроля дифференцировки Treg. Данные соединения применимы для лечения некоторых заболеваний, включая рак и вирусные инфекции. Соединения предложены для применения в качестве фармацевтических препаратов с желательной стабильностью, биодоступностью, терапевтическим индексом и значениями токсичности, которые важны для их лекарственной способности.

Первый аспект настоящего изобретения обеспечивает по меньшей мере одно соединение формулы (I):



или его соль, где:

R_1 представляет собой $-NH_2$ или $-NH(CH_3)$;

каждый R_2 независимо представляет собой F, Cl, $-CN$, C_{1-4} алкил, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-OCH_3$ или циклопропил;

каждый R_4 независимо представляет собой F, Cl, $-CH_3$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$ или $-OCH_3$;

R_6 представляет собой водород, C_{1-2} алкил или C_{1-2} фторалкил;

m равно нулю, 1, 2 или 3; и

n равно нулю, 1, 2 или 3;

при условии, что если R_6 представляет собой водород, то m равно 1, 2 или 3.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_1 представляет собой $-NH_2$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_1 представляет собой $-NH(CH_3)$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой F, Cl, $-CN$, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-OCH_3$ или циклопропил.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой F, Cl, $-CN$, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$,

$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$ или $-\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой F, Cl, $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$ или $-\text{CF}_3$.

5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой F, Cl, $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$.

10 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой F, $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой F, $-\text{CN}$ или $-\text{CH}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где n равно нулю, 1 или 2.

15 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где n равно нулю или 1.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где n равно 1 или 2.

20 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где n равно нулю.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где n равно 1.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где n равно 2.

25 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$; и n равно нулю, 1 или 2. В данный вариант осуществления включены соединения, в которых n равно 1 или 2.

30 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$; и n равно нулю или 1. В данный вариант осуществления включены соединения, в которых n равно 1.

В одном из вариантов осуществления предложено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$; и n равно 2.

5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$ или $-\text{CH}_3$; и n равно 1 или 2. В данный вариант осуществления включены соединения, в которых n равно 1. Также в данный вариант осуществления включены соединения, в которых n равно 2.

10 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_2 представляет собой $-\text{CH}_3$; и n равно 1 или 2. В данный вариант осуществления включены соединения, в которых n равно 1. Также в данный вариант осуществления включены соединения, в которых n равно 2.

15 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_4 независимо представляет собой F , Cl , $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$ или $-\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_4 независимо представляет собой F , $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$ или $-\text{CF}_3$.

20 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_4 независимо представляет собой F , $-\text{CH}_3$, $-\text{CHF}_2$ или $-\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_4 независимо представляет собой F или $-\text{CH}_3$.

25 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_4 представляет собой F_3 . В данный вариант осуществления включены соединения, в которых m равно 1. Также в данный вариант осуществления включены соединения, в которых m равно 2.

30 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где каждый R_4 представляет собой $-\text{CH}_3$. В данный вариант осуществления включены соединения, в которых m равно 1. Также в данный вариант осуществления включены соединения, в которых m равно 2.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где m равно нулю, 1 или 2.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где m равно нулю или 1.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где m равно 1 или 2.

5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где m равно 1, 2 или 3.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где m равно 1.

10 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; и m равно 1, 2 или 3.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; и m равно 1 или 2.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; и m равно 1.

15 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; и m равно 2.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; и m равно 3.

20 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; m равно 1; и R_4 представляет собой F, Cl, $-CH_3$, $-CH_2F$, $-CHF_2$ или $-CF_3$. В данный вариант осуществления включены соединения, в которых R_4 представляет собой F, $-CH_3$, $-CHF_2$ или $-CF_3$. Также в данный вариант осуществления включены соединения, в которых R_4 представляет собой F, $-CH_3$ или $-CF_3$. Кроме того, в данный вариант осуществления включены
25 соединения, в которых R_4 представляет собой F или $-CH_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; m равно 1; и R_4 представляет собой F.

30 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; m равно 1; и R_4 представляет собой $-CH_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой водород; m равно 1 или 2; и R_4 представляет

собой F или $-\text{CH}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил или C_{1-2} фторалкил.

5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_2\text{H}$, $-\text{CF}_3$ или $-\text{CH}_2\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_2\text{H}$ или $-\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил или $-\text{CF}_3$.

10 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой $-\text{CH}_3$.

15 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_2\text{H}$, $-\text{CF}_3$ или $-\text{CH}_2\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_2\text{H}$ или $-\text{CF}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил или C_{1-2} фторалкил; и m равно нулю.

20 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_2\text{H}$, $-\text{CF}_3$ или $-\text{CH}_2\text{CF}_3$; и m равно нулю.

25 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_2\text{H}$ или $-\text{CF}_3$; и m равно нулю.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил или $-\text{CF}_3$; и m равно нулю.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой C_{1-2} алкил; и m равно нулю.

30 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой $-\text{CH}_3$; и m равно нулю.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или

его соль, где R_6 представляет собой $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_2\text{H}$, $-\text{CF}_3$ или $-\text{CH}_2\text{CF}_3$; и m равно нулю.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_6 представляет собой $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_2\text{H}$ или $-\text{CF}_3$; и m равно нулю.

5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_1 представляет собой $-\text{NH}_2$ или $-\text{NH}(\text{CH}_3)$; каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$; каждый R_4 независимо представляет собой F или $-\text{CH}_3$; R_6 представляет собой водород или $-\text{CH}_3$; m равно нулю или 1; и n равно 1 или 2; при условии, что когда R_6 представляет собой водород, m равно 1.

10 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_1 представляет собой $-\text{NH}_2$; каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$; R_4 представляет собой F или $-\text{CH}_3$; R_6 представляет собой водород или $-\text{CH}_3$; m равно нулю или 1; и n равно 1 или 2; при условии, что когда R_6 представляет собой водород, m равно 1.

15 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_1 представляет собой $-\text{NH}(\text{CH}_3)$; каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$ или $-\text{CH}_3$; R_4 представляет собой F или $-\text{CH}_3$; R_6 представляет собой водород или $-\text{CH}_3$; m равно нулю или 1; и n равно 1 или 2; при условии, что когда R_6 представляет собой водород, m равно 1.

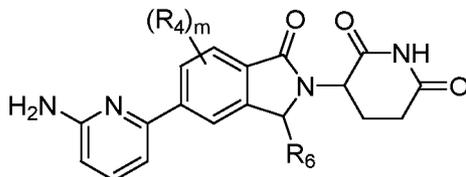
20 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_1 представляет собой $-\text{NH}_2$; каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CF}_3$; каждый R_4 независимо представляет собой F или $-\text{CH}_3$; R_6 представляет собой $-\text{CH}_3$; m равно 1; и n равно 1 или 2. В данный вариант осуществления включены соединения, в которых каждый R_2 представляет собой
25 $-\text{CH}_3$.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_1 представляет собой $-\text{NH}_2$; каждый R_2 независимо представляет собой $-\text{CN}$ или $-\text{CH}_3$; R_4 представляет собой F или $-\text{CH}_3$; R_6 представляет собой водород; m равно 1; и n равно 1 или 2.

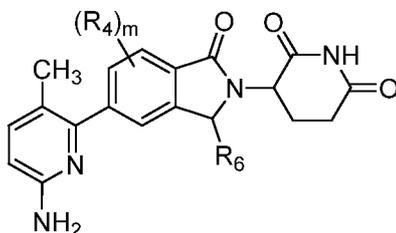
30 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где R_1 представляет собой $-\text{NH}_2$ или $-\text{NH}(\text{CH}_3)$; каждый R_2 независимо

представляет собой $-\text{CH}_3$; R_4 представляет собой F; R_6 представляет собой водород или $-\text{CH}_3$; m равно нулю или 1; и n равно 1 или 2; при условии, что когда R_6 представляет собой водород, m равно 1.

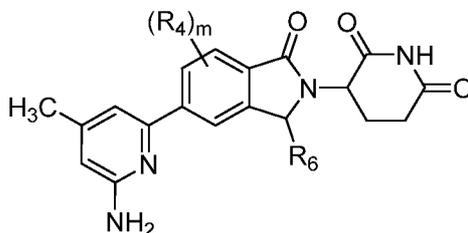
5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



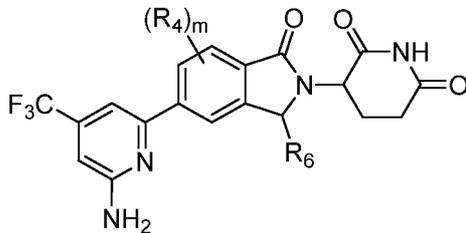
В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



10 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:

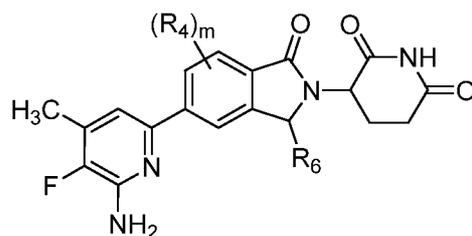


В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:

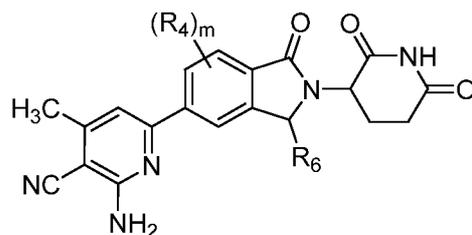


15

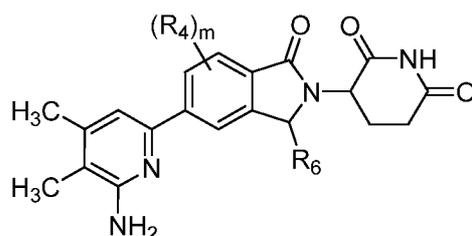
В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



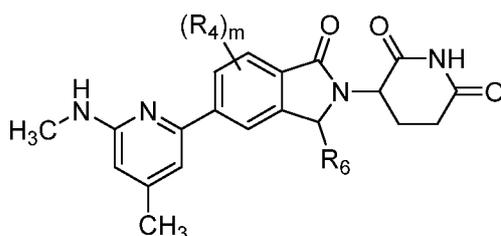
В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:

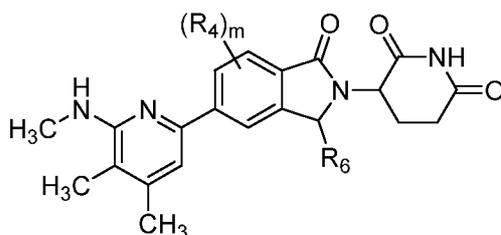


В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:

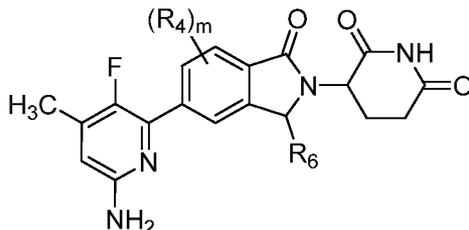


10

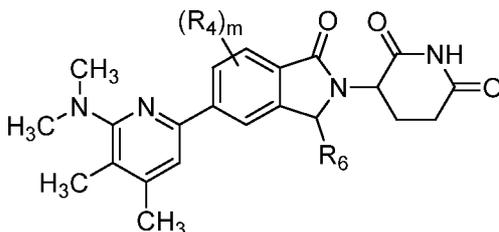
В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



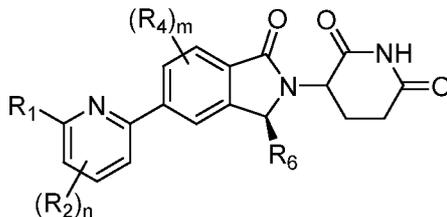
В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



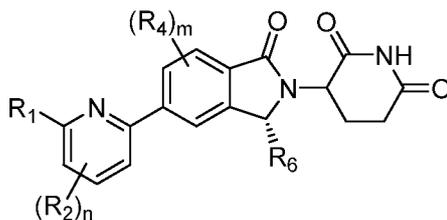
5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



10 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру:



15 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где указанное соединение представляет собой: 2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (1); 2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-6-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (2); 2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (3); 3-(5-(6-амино-4-метилпиридин-

- 2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (4); 3-(5-(6-амино-4-(трифторэтил)пиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (5); 3-(4-фтор-5-(4-метил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (6); 3-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (7); 3-((*S*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (8); 3-((*R*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (9); 2-амино-6-((3*S*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (10); 2-амино-6-((3*R*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (11); 3-((*S*)-5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (12); 3-((*R*)-5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (13); 6-((3*S*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинонитрил (14); 6-((3*R*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинонитрил (15); 3-((*S*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (16); 3-((*R*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (17); 3-(5-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (18); 3-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (19); 3-(5-(6-амино-3-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (20); 3-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (21-22); 2-амино-6-((3*R*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (23); 3-((*R*)-5-(6-амино-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (24); 3-((*R*)-5-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (25); 3-((*R*)-5-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (26); 3-((*R*)-5-(6-аминопиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (27); (*R*)-3-((*R*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-

оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (28); 3-((R)-5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (29); или 3-((S)-5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (30).

5 В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где указанное соединение представляет собой 3-((R)-5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион.

В одном из вариантов осуществления обеспечено соединение формулы (I) или его соль, где указанное соединение представляет собой 3-((S)-5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион.

10 Настоящее изобретение может быть реализовано в других конкретных формах, не отступая от его сути и сущностных признаков. Настоящее изобретение включает в себя все комбинации аспектов и/или вариантов осуществления, указанных в настоящем документе. Следует понимать, что любой и все варианты осуществления настоящего изобретения могут быть взяты в сочетании с любым другим вариантом осуществления или вариантами осуществления для описания дополнительных вариантов осуществления. Следует также понимать, что каждый отдельный элемент вариантов осуществления предназначен для комбинирования с любыми другими элементами любого варианта осуществления для описания

15 дополнительного варианта осуществления.

20 Признаки и преимущества изобретения могут быть более понятны специалистам в данной области техники после ознакомления с нижеследующим подробным описанием. Следует понимать, что некоторые признаки изобретения, которые для ясности описаны выше и ниже в контексте отдельных вариантов осуществления, могут быть также объединены в один вариант осуществления. И наоборот, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта, могут быть также объединены таким образом, чтобы образовать их подкомбинации. Варианты осуществления, названные в настоящем документе примерными или предпочтительными, являются иллюстративными и не

25 ограничивающими.

30 Если в настоящем документе не указано иное, ссылки, сделанные в единственном числе, могут также включать множественное число. Например, "а" и

"an" могут относиться как к одному, так и к одному или нескольким.

В настоящем документе фраза "соединения и/или их соли" относится по меньшей мере к одному соединению, по меньшей мере к одной соли соединения или к их комбинации. Например, соединения формулы (I) и/или их соли включают

5 соединение формулы (I); два соединения формулы (I); соль соединения формулы (I); соединение формулы (I) и одну или несколько солей соединения формулы (I); и две или несколько солей соединения формулы (I).

Если не указано иное, предполагается, что любой атом с неудовлетворенными валентностями имеет атомы водорода, достаточные для удовлетворения

10 валентностей.

Определения, приведенные в настоящем документе, имеют приоритет над определениями, приведенными в любом патенте, заявке на патент и/или публикации заявки на патент, включенной в настоящий документ посредством ссылки.

Ниже приведены определения различных терминов, используемых при

15 описании настоящего изобретения. Данные определения применимы к терминам, используемым во всей спецификации (если они не ограничены иным образом в конкретных случаях) либо по отдельности, либо как часть более крупной группы.

На протяжении всего описания группы и их заместители могут быть выбраны специалистом в данной области техники для получения стабильных фрагментов и

20 соединений.

В соответствии с соглашением, используемым в данной области техники,



используется здесь в структурных формулах для обозначения связи, которая является точкой присоединения молекулы или заместителя к структуре ядра или

25 основной цепи.

Термины "галоген" и "галоген", используемые в настоящем документе, относятся к F, Cl, Br и I.

Термин "циано" относится к группе -CN.

Термин "амино" относится к группе -NH₂.

30 Термин "оксо" относится к группе =O.

Термин "алкил", используемый в настоящем документе, относится как к

разветвленным, так и к прямоцепочечным насыщенным алифатическим углеводородным группам, содержащим, например, от 1 до 12 атомов углерода, от 1 до 6 атомов углерода и от 1 до 4 атомов углерода. Примеры алкильных групп включают, но не ограничиваются ими, метил (Me), этил (Et), пропил (например, *n*-пропил и *i*-пропил), бутил (например, *n*-бутил, *i*-бутил, сек-бутил и *m*-бутил), пентил (например, *n*-пентил, изопентил, неопентил), *n*-гексил, 2-метилпентил, 2-этилбутил, 3-метилпентил и 4-метилпентил. Если в подстрочном индексе после символа "C" стоят цифры, то данный подстрочный индекс более точно определяет количество атомов углерода, которое может содержать та или иная группа. Например, "C₁₋₄ алкил" обозначает алкильные группы с прямой и разветвленной цепью, содержащие от одного до четырех атомов углерода.

Термин "фторалкил", используемый в настоящем документе, включает как разветвленные, так и прямоцепочечные насыщенные алифатические углеводородные группы, замещенные одним или несколькими атомами фтора. Например, "C₁₋₄ фторалкил" включает C₁, C₂, C₃ и C₄ алкильные группы, замещенные одним или несколькими атомами фтора. Репрезентативные примеры фторалкильных групп включают, но не ограничиваются ими, -CF₃ и -CH₂CF₃.

Соединения по настоящему изобретению включают все изотопы атомов, встречающихся в настоящих соединениях. Изотопы включают атомы, имеющие одинаковый атомный номер, но разные массовые числа. В качестве общего примера и без ограничения, изотопы водорода включают дейтерий (D) и тритий (T). Изотопы углерода включают ¹³C и ¹⁴C. Меченые изотопами соединения по настоящему изобретению могут быть получены обычными способами, известными специалистам в данной области техники или способами, аналогичными описанным в настоящем документе, с использованием подходящего меченого изотопами реагента вместо немеченого реагента, используемого в других случаях.

Фраза "фармацевтически приемлемый" используется в настоящем документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках здравого медицинского суждения пригодны для применения в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соизмеримых с разумным соотношением польза/риск.

Соединения формулы (I) могут образовывать соли, которые также входят в объем настоящего изобретения. Если не указано иное, ссылка на соединение по изобретению подразумевает ссылку на одну или несколько его солей. Термин "соль(и)" означает кислую и/или основную соль(и), образованную с неорганическими и/или органическими кислотами и основаниями. Кроме того, термин "соль(и)" может включать цвиттерионы (внутренние соли), например, когда соединение формулы (I) содержит как основную группу, такую как аминное или пиридиновое или имидазольное кольцо, так и кислотную группу, например, карбоновую кислоту. Предпочтительны фармацевтически приемлемые (т.е. нетоксичные, физиологически приемлемые) соли, такие как, например, приемлемые соли металлов и аминов, в которых катион не вносит существенного вклада в токсичность или биологическую активность соли. Однако могут быть применимы и другие соли, например, на стадиях выделения или очистки, которые могут быть использованы при получении, и, таким образом, они входят в объем изобретения.

Соли соединений формулы (I) могут быть получены, например, путем реагирования соединения формулы (I) с таким количеством кислоты или основания, как эквивалентное количество, в среде, такой как среда, в которой соль выпадает в осадок, или в водной среде с последующей лиофилизацией.

Примеры кислотно-аддитивных солей включают ацетаты (например, образованные уксусной или тригалоуксусной кислотой, например, трифторуксусной), адипаты, альгинаты, аскорбаты, аспартаты, бензоаты, бензенсульфонаты, бисульфаты, бораты, бутираты, цитраты, камфораты, камфорсульфонаты, циклопентанпропионаты, диглюконаты, додецилсульфаты, этансульфонаты, fumarаты, глюкогептаноаты, глицерофосфаты, гемисульфаты, гептаноаты, гексаноаты, гидрохлориды (образуются с соляной кислотой), гидробромиды (образуются с бромистым водородом), гидроиодиды, малеаты (образуются с малеиновой кислотой), 2-гидроксиэтансульфонаты, лактаты, метансульфонаты (образуются с метансульфоновой кислотой), 2-нафталинсульфонаты, никотинаты, нитраты, оксалаты, пектинаты, персульфаты, 3-фенилпропионаты, фосфаты, пикраты, пивалаты, пропионаты, салицилаты, сукцинаты, сульфаты (например, образованные серной кислотой), сульфонаты (например, упомянутые в настоящем документе), тартраты, тиоцианаты,

толуолсульфонаты, такие как тозилаты, ундеcanoаты и т.п.

Примеры основных солей включают соли аммония, соли щелочных металлов, такие как соли натрия, лития и калия; соли щелочноземельных металлов, такие как соли кальция и магния; соли бария, цинка и алюминия; соли органических оснований (например, органических аминов), такие как триалкиламины, например, триэтиламин, прокаин, дибензиламин, N-бензил-β-фенэтиламин, 1-эфенамин, N,N'-дибензилэтилендиамин, дегидроабиетиламин, N-этилпиперидин, бензиламин, дициклогексиламин или подобные фармацевтически приемлемые амины соли с аминокислотами, такими как аргинин, лизин и тому подобное. Основные азотсодержащие группы могут быть кватернизованы с помощью таких средств, как низшие алкилгалогениды (например, метил-, этил-, пропил- и бутилхлориды, бромиды и йодиды), диалкилсульфаты (например, диметил-, диэтил-, дибутил- и диамилсульфаты), длинноцепочечные галогениды (например, децил-, лаурил-, миристил- и стеарилхлориды, бромиды и йодиды), аралкилгалогениды (например, бензил- и фенетилбромиды) и другие.

Соединения формулы (I) могут быть обеспечены в виде аморфных или кристаллических твердых веществ. Для получения твердых соединений формулы (I) может быть использована лиофилизация.

Следует также понимать, что сольваты (например, гидраты) соединений формулы (I) также входят в объем настоящего изобретения. Термин "сольват" означает физическую связь соединения формулы (I) с одной или несколькими молекулами растворителя, как органического, так и неорганического. Такая физическая связь включает водородную связь. В некоторых случаях сольват способен к выделению, например, когда одна или несколько молекул растворителя включены в кристаллическую решетку кристаллического твердого тела. Термин "сольват" охватывает как сольваты в фазе раствора, так и сольваты, которые можно выделить. Типичные сольваты включают гидраты, этанолаты, метанолаты, изопропанолаты, сольваты ацетонитрила и сольваты этилацетата. Способы сольватации известны из уровня техники.

Различные формы пролекарств хорошо известны из уровня техники и описаны в Rautio, J. et al., *Nature Review Drug Discovery*, 17, 559-587 (2018).

Кроме того, соединения формулы (I) после их получения могут быть

выделены и очищены с получением композиции, содержащей количество по массе, равное или превышающее 99% соединения формулы (I) ("по существу чистое"), которое затем используют или формулируют, как описано в настоящем документе. Такие "по существу чистые" соединения формулы (I) также рассматриваются в настоящем документе как часть настоящего изобретения.

Под "стабильным соединением" и "стабильной структурой" подразумевается соединение, которое достаточно устойчиво, чтобы выдержать выделение из реакционной смеси с применимой степенью чистоты и превращение в эффективное терапевтическое средство. Настоящее изобретение предназначено для реализации стабильных соединений.

Термин "ингибитор Helios" относится к средству, способному снижать уровень белка Helios, снижать уровень активности Helios и/или ингибировать уровень экспрессии Helios в клетках для контроля дифференцировки Treg. Ингибитор Helios может быть обратимым или необратимым ингибитором.

В настоящем документе под белком Helios понимается белок, относящийся к семейству белков цинковых пальцев Ikaros. У человека Helios кодируется геном IKZF2. Helios также известен как белок цинкового пальца 2 семейства IKAROS, ANF1A2, ZNF1A2, ZNFN1A2, белок цинкового пальца, подсемейство 1A, 2, и белок цинкового пальца 2 семейства Ikaros. К членам данного семейства белков относятся Ikaros, Helios, Aiolos, Eos и Pegasus. В настоящем документе белок Helios включает различные изоформы, которые включают изоформы 1-5, перечисленные ниже.

Изоформа 1 (UniProt Q9UKS7-1)

METEAIIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGGIRLPNGKCLKDCVCGMV
 25 CIGPNVLMVHKRSHTGERP **FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLS**SGEKPFKCPFC SYACRRR
 DALTGHLRTHSVGKPHKCN YCGRSYKQRSSLEENKERCHNYLQNVSM EAAGQVM SHHVP
 MEDCKEQEPIMDNNISLVPFERPAVIEKLTGNMGKRKSS TPQKFVGEKLMRFSYPDIHFD
 MNLTYEKEAEELMQSHMMDQA INNAIT YLGAEALHPLMQHP PSTIAEVAPVISSAYSQVYH
 PNRIERPISRETADSHENMDGPISLIRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDS ESSHDDHQSY
 30 QGHPALNPKRKQSPAYMKEDVKALD TTKAPKGS LKDIYKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLF
 LDHVMYTIHMGCHGYRDPLECNICGYRSQDRYEFSSHIVRGENTFH (SEQ ID NO:
 1)

Изоформа 2 (UniProt Q9UKS7-2)

METEAIIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGGIRLPNGERP **FHCNQCG**

5 ASFTQKGNLLRHIKLSGEKPFKCPFC SYACRRRDALTGHLRTHSVGKPHKCN YCGRSYK
 QRSSLEEHKERCHNYLQNVSM EAAGQVM SHHVP PMEDCKEQEPIMDNNISLVPFERPAVI
 EKLTGNMGKRKSSTPQKFVGEKLMRFSYPDIHFD MNLT YEKEAELMQSHMMDQAINNAIT
 YLGAEALHPLMQHPPSTIAEVAPVISSAYSQVYHPNRIERPISRETADSHENNMDGPISL
 IRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDSESSHDDHQSYQGH PALNPKRKQSPAYMKEDVKALDT
 TKAPKGS LKDIYKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLF LDHVMYTIHMGCHGYRDPLECNICGY
 RSQDRYEFSSHIVRGEHTFH (SEQ ID NO: 2)

Изоформа 4 (UniProt Q9UKS7-4)

10 METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGIRLPNGERP **FHCNQCG**
ASFTQKGNLLRHIKLSGEKPFKCPFC SYACRRRDALTGHLRTHSVGKPHKCN YCGRSYK
 QRSSLEEHKERCHNYLQNVSM EAAGQVM SHHGEKLMRFSYPDIHFD MNLT YEKEAELMQS
 15 HMDQAINNAIT YLGAEALHPLMQHPPSTIAEVAPVISSAYSQVYHPNRIERPISRETAD
 SHENNMDGPISLIRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDSESSHDDHQSYQGH PALNPKRKQSP
 AYMKEDVKALDTTKAPKGS LKDIYKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLF LDHVMYTIHMGCHG
 YRDPLECNICGYRSQDRYEFSSHIVRGEHTFH (SEQ ID NO: 3)

Изоформа 6 (UniProt Q9UKS7-6)

20 METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQ
 SDEECDRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGIRLPNGK LKCD
 VCGMVCIGPNVLMVHKRSHTGERP **FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLS**GEKPFKCPFC SY
 ACRRRDALTGHLRTHSVGKP

Изоформа 7 (UniProt Q9UKS7-7)

25 METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGIRLPNGERP **FHCNQCG**
ASFTQKGNLLRHIKLSGEKPFKCPFC SYACRRRDALTGHLRTHSVPPMEDCKEQEPIMD
 NNISLVPFERPAVIEKLTGNMGKRKSSTPQKFVGEKLMRFSYPDIHFD MNLT YEKEAELM
 30 QSHMMDQAINNAIT YLGAEALHPLMQHPPSTIAEVAPVISSAYSQVYHPNRIERPISRET
 ADSHENNMDGPISLIRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDSESSHDDHQSYQGH PALNPKRKQ
 SPAYMKEDVKALDTTKAPKGS LKDIYKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLF LDHVMYTIHMG
 HGYRDPLECNICGYRSQDRYEFSSHIVRGEHTFH (SEQ ID NO: 5)

35 Перечисленные выше изоформы "Helios" 1, 2, 4, 6 и 7 включают дегрон
FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLS (SEQ ID NO: 6) (выделено жирным шрифтом и
 подчеркнуто). Дегрон представляет собой часть белка, которая играет роль в
 регулировании скорости деградации белка.

40 В настоящем документе белок "Eos" кодируется геном IKZF4 и известен
 также под названиями цинковый палец 4 семейства IKAROS, ZNFN1A4, белок
 цинкового пальца, подсемейство 1A, 4, белок 4 цинкового пальца семейства Ikaros и
 KIAA1782. Белок "Eos" включает изоформы, кодируемые следующими двумя

человеческими изоформами 1 (Q9H2S9-1) и 2 (Q9H2S9-2):

Изоформа 1 (UniProt Q9H2S9-1)

MHTPPALPRRFQGGGRV RTPGSHRQKDNLERDPSGGCVPDFLPQAQDSNHFIMESLFCES
 SSGDSSLEKEFLGAPVGPVSTPNSQHSSPSRSLANSIKVEMYSDEESSRLLGPPERLL
 5 EKDDSVIVEDSLSEPLGYCDGSGPEPHSPGGIRLPNGKCLKCDVCGMVICGPNVLMVHKRS
 HTGERP **FHCNQCASFTQKGNLLRHIKLS**SGEKPFCPCFCNYACRRRDAL TGHLRTHSVS
 SPTVGKPYKCN YCGRSYKQOSTLEEHKERCHNYLQSLSTEAQALAGQPGDEIRDLEMVPD
 SMLHSSSERPTFIDRLANSLTKRKRSTPQK FVGEKQMRFSLSDLPYDVNSGGYEKDV ELV
 10 AHHSLEPGFGSSLAFVGAENLRPLRLPPTNCISELTPVISSVYTQMQPLPGRLELPGSRE
 AGE GPEDLADGGPLLYRPRGPLTDPGASPSNGCQDSTDTESNHEDRVAGVVS L PQGPPPQ
 PPPTIVVGRHSPAYAKEDPKPQEGLLRGT PGPSKEVLRVVGESGEPVKA FKCENCRILFL
 DHVMFTIHMGCHGFRDPFECNICGYHSQDRYEFSSHIVRGEHKVG (SEQ ID NO: 7)

Изоформа 2 (UniProt Q9H2S9-2)

MDSRYLQQLYL PSCSLLQSGDSSLEKEFLGAPVGPVSTPNSQHSSPSRSLANSIKV
 E MYSDEESSRLLGPPERLLEKDDSVIVEDSLSEPLGYCDGSGPEPHSPGGIRLPNGKCLKC
 D VCGMVICGPNVLMVHKRSHTGERP **FHCNQCASFTQKGNLLRHIKLS**SGEKPFCPCFCN
 YACRRRDAL TGHLRTHSVSSPTVGKPYKCN YCGRSYKQOSTLEEHKERCHNYLQSLSTEA
 QALAGQPGDEIRDLEMVPD SMLHSSSERPTFIDRLANSLTKRKRSTPQK FVGEKQMRFSL
 20 SDLPYDVNSGGYEKDV ELVAHHSLEPGFGSSLAFVGAENLRPLRLPPTNCISELTPVISS
 VYTQMQPLPGRLELPGSREAGE GPEDLADGGPLLYRPRGPLTDPGASPSNGCQDSTDTES
 NHEDRVAGVVS L PQGPPPQPPPTIVVGRHSPAYAKEDPKPQEGLLRGT PGPSKEVLRVVG
 ES GEPVKA FKCENCRILFLDHVMFTIHMGCHGFRDPFECNICGYHSQDRYEFSSHIVRGE
 HKVG (SEQ ID NO: 8)

25

Приведенные выше изоформы белка "Eos" 1 и 2 включают дегрон FHCNQCASFTQKGNLLRHIKLS (SEQ ID NO: 6) (выделено жирным шрифтом и подчеркнуто), который совпадает с дегроном для белка "Helios".

Как используется в настоящем документе, белок "Ikaros" кодируется геном
 30 IKZF1. Ikaros также известен как цинковый палец 1 семейства IKAROS, ZNFN1A1, белок цинкового пальца, подсемейство 1A, 1, белок цинкового пальца 1 семейства Ikaros, IK1, лимфоидный транскрипционный фактор LyF-1, Hs.54452, PPP1R92, протеинфосфатаза 1, регуляторная субъединица 92, PRO0758, CVID13 и CLL-ассоциированный антиген KW-6. Белок Ikaros включает изоформы, кодируемые
 35 аминокислотными последовательностями Q13422-1, Q13422-2, Q13422-3, Q13422-4, Q13422-7 и Q13422-8. Белок Ikaros также включает изоформы, кодируемые аминокислотными последовательностями Q13422-5 и Q13422-6.

Как используется в настоящем документе, белок "Aiolos" кодируется геном
 IKZF3. Белок Aiolos также известен как белок цинкового пальца 3 семейства

IKAROS, ZNFN1A3, белок цинкового пальца, подсемейство 1A, 3, белок 3 цинкового пальца семейства Ikaros и AIO. Белок Aiolos включает изоформы, кодируемые аминокислотными последовательностями Q9UKT9-1, Q9UKT9-3, Q9UKT9-4, Q9UKT9-6, Q9UKT9-7, Q9UKT9-8, Q9UKT9-9 и Q9UKT9-14. Белок Aiolos также
5 включает изоформы, кодируемые аминокислотными последовательностями Q9UKT9-2, Q9UKT9-5, Q9UKT9-10, Q9UKT9-11, Q9UKT9-12 и Q9UKT9-13, Q9UKT9-15 и Q9UKT9-16.

Как используется в настоящем документе, белок "Pegasus" также известен как белок цинковый палец 5 семейства IKAROS, ZNFN1A5, белок цинковый палец,
10 подсемейство 1A, 5, и белок 5 цинковый палец семейства Ikaros. Pegasus кодируется геном IKZF5.

Как используется в настоящем документе, термин "контактирование" относится к объединению указанных соединений в системе *in vitro* или *in vivo*. Например, "контактирование" белка Helios с соединением формулы (I) включает
15 введение соединения настоящего изобретения индивидууму или пациенту, например, человеку, имеющему белок Helios, а также, например, введение соединения формулы (I) в образец, содержащий клеточный или очищенный препарат, содержащий белок Helios.

Термины "лечить", "лечение" и "терапия", используемые в настоящем документе, относятся к любому типу вмешательства или процесса, осуществляемого
20 в отношении субъекта или введения субъекту активного средства с целью обращения вспять, облегчения, улучшения, подавления, замедления или предотвращения прогрессирования, развития, тяжести или рецидива симптома, осложнения, состояния или биохимических признаков, связанных с заболеванием. Напротив,
25 "профилактика" или "предотвращение" означает введение субъекту, не страдающему заболеванием, для предотвращения возникновения заболевания. Понятия "лечить", "лечение" и "терапия" не охватывают профилактику или предотвращение.

Под "терапевтически эффективным количеством" подразумевается
30 количество соединения по настоящему изобретению отдельно или количество заявленной комбинации соединений или количество соединения по настоящему изобретению в сочетании с другими активными ингредиентами, эффективное для

снижения уровней белка Helios, снижения уровней активности Helios и/или ингибирования уровней экспрессии Helios в клетках или эффективное для лечения или профилактики вирусных инфекций и пролиферативных заболеваний, таких как рак.

5 В данном документе термин "клетка" относится к клеткам *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления клетка *ex vivo* может быть частью образца ткани, взятого из организма, например, млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления клетка *in vitro* может быть клеткой в культуре клеток. В некоторых вариантах осуществления клетка *in vivo* представляет собой клетку, живущую в организме, например, млекопитающего.

10 Термин "пациент" включает человека и других млекопитающих, которые получают либо терапевтическое, либо профилактическое лечение.

Термин "субъект" включает любого человека или животное, отличное от человека. Например, раскрытые в настоящем документе способы и композиции могут быть использованы для лечения субъекта, страдающего раком. Животное, отличное от человека, включает всех позвоночных, например, млекопитающих и немлекопитающих, включая приматов, отличных от человека, овец, собак, коров, кур, амфибий, рептилий и т.д. В одном из вариантов осуществления субъект представляет собой человека.

20 Фраза "фармацевтически приемлемый носитель" в данном документе означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, технологическая добавка (например, смазка, тальк, стеарат магния, кальция или цинка или стериновая кислота) или инкапсулирующий растворитель, участвующий в переносе или доставке рассматриваемого соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в смысле совместимости с другими ингредиентами состава, включая адъювант, вспомогательное вещество или носитель, такими как разбавители, консерванты, наполнители, средства, регулирующие текучесть, дезинтегрирующие средства, смачивающие средства, эмульгаторы, суспендирующие средства, подсластители, ароматизаторы, отдушки, антибактериальные средства, противогрибковые средства, смазывающие средства и дозирующие средства, в зависимости от характера способа

применения и лекарственных форм; и не причинять вреда пациенту.

Термин "фармацевтическая композиция" означает композицию, содержащую соединение по изобретению в сочетании по меньшей мере с одним дополнительным фармацевтически приемлемым носителем.

5

ПОЛЕЗНОСТЬ

Соединения формулы (I) применимы для лечения рака.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение обеспечивает комбинированный препарат соединения формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемой соли, его стереоизомера или его таутомера и дополнительного терапевтического средства (средств) для одновременного, раздельного или последовательного применения в лечении и/или профилактике множества заболеваний или нарушений, связанных с активностью белка Helios. Комбинированный препарат можно использовать для снижения уровня белка Helios, уровня активности Helios и/или уровня экспрессии Helios в клетках для контроля дифференцировки Treg.

10
15

Соединения формулы (I) и фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), применимы для лечения или профилактики любых заболеваний или состояний, которые связаны с активностью белка Helios. К ним относятся вирусные и другие инфекции (например, кожные инфекции, инфекции желудочно-кишечного тракта, инфекции мочевыводящих путей, мочеполовые инфекции, системные инфекции) и пролиферативные заболевания (например, рак). Соединения формулы (I) и фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), могут вводиться животным, предпочтительно млекопитающим (например, домашним животным, кошкам, собакам, мышам, крысам), и более предпочтительно людям. Для доставки соединения или фармацевтической композиции пациенту может быть использован любой способ введения. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере соединение формулы (I), вводится перорально. В других вариантах осуществления соединения формулы (I) или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере соединение формулы (I), вводится парентерально.

20
25
30

Соединения формулы (I) могут избирательно снижать уровни белка Helios, снижать уровни активности Helios и/или ингибировать уровни экспрессии Helios в клетках для контроля дифференцировки Treg. Например, соединения формулы (I) можно использовать для избирательного снижения уровней активности Helios и/или ингибирования уровней экспрессии Helios в клетках для контроля дифференцировки Treg в клетке или у индивидуума, нуждающегося в снижении уровней белка Helios, снижении уровней активности Helios и/или ингибировании уровней экспрессии Helios, путем введения ингибирующего количества соединения формулы (I) или его соли.

В одном аспекте соединение(я) формулы (I) последовательно вводят перед введением иммуно-онкологического препарата. В другом аспекте соединение(я) формулы (I) вводят одновременно с иммуно-онкологическим препаратом. В другом аспекте соединение(я) формулы (I) последовательно вводят после введения иммуно-онкологического препарата.

В другом аспекте соединения формулы (I) могут быть составлены совместно с иммуно-онкологическим препаратом.

Иммуно-онкологические препараты включают, например, лекарственное средство на основе малых молекул, антитела или другую биологическую или малую молекулу. Примеры биологических иммуно-онкологических препаратов включают, но не ограничиваясь ими, противораковые вакцины, антитела и цитокины. В одном аспекте антитело представляет собой моноклональное антитело. В другом аспекте моноклональное антитело является гуманизированным или человеческим.

В одном аспекте иммуно-онкологическое средство представляет собой (i) агонист стимулирующего (включая костимулирующий) рецептора или (ii) антагонист ингибирующего (включая коингибирующий) сигнала на T-клетках, оба из которых приводят к усилению антигенспецифических ответов T-клеток (часто называемых регуляторами иммунных контрольных точек).

Некоторые из стимулирующих и ингибирующих молекул относятся к суперсемейству иммуноглобулинов (IgSF). Одним из важных семейств мембраносвязанных лигандов, связывающихся с костимулирующими или коингибирующими рецепторами, является семейство B7, включающее B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и

В7-Н6. Другим семейством мембраносвязанных лигандов, которые связываются с костимулирующими или коингибирующими рецепторами, является семейство молекул TNF, которые связываются с когнитивными членами семейства рецепторов TNF, которое включает CD40 и CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, лимфотоксин α /TNF β , TNFR2, TNF α , LT β R, лимфотоксин α 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, NGFR.

10 В одном аспекте Т-клеточные ответы можно стимулировать сочетанием соединения формулы (I) и одного или нескольких из (i) антагонистов белка, который ингибирует активацию Т-клеток (например, ингибиторов иммунных контрольных точек), такого как CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, Галектин 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Галектин-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, 15 GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, и TIM-4, и (ii) агониста белка, стимулирующего активацию Т-клеток, такого как B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 и CD28H.

Другие средства, которые можно комбинировать с соединениями формулы (I) для лечения рака, включают антагонисты ингибирующих рецепторов на НК-клетках или агонисты активирующих рецепторов на НК-клетках. Например, соединения формулы (I) можно комбинировать с антагонистами KIR, такими как лирилумаб.

Другие средства для комбинированной терапии включают средства, ингибирующие или истощающие макрофаги или моноциты, включая, но не ограничиваясь ими, антагонисты CSF-1R, такие как антитела-антагонисты CSF-1R, 25 включая RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) или FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357).

В другом аспекте соединения формулы (I) можно применять с одним или несколькими агонистическими средствами, которые лигируют положительные костимуляторные рецепторы, блокирующими средствами, которые ослабляют 30 сигнализацию через ингибирующие рецепторы, антагонистами и одним или несколькими средствами, которые системно увеличивают частоту

противоопухолевых Т-клеток, средствами, которые преодолевают различные иммуносупрессивные пути в микроокружении опухоли (например, блокируют взаимодействие ингибирующих рецепторов (например, PD-L1/PD-1), истощают или подавляют Treg (например, с помощью моноклонального антитела против CD25
5 (например, даклизумаба) или путем *ex vivo* истощения анти-CD25 бусинами), ингибируют метаболические ферменты, такие как IDO или обращают/предотвращают анергию или истощение Т-клеток) и средствами, которые вызывают активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в местах опухоли.

В одном аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой антагонист CTLA-4, например, антагонистическое антитело к CTLA-4. Подходящие
10 антитела к CTLA-4 включают, например, YERVOY (ипилиумаб) или тремелиумаб.

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой антагонист PD-1, например, антагонистическое антитело к PD-1. Подходящие
15 антитела к PD-1 включают, например, OPDIVO™ (ниволумаб), KEYTRUDA™ (пембролизумаб) или MEDI-0680 (AMP-514; WO2012/145493). В состав иммуно-онкологического препарата может также входить пидилизумаб (CT-011), хотя его специфичность в отношении связывания PD-1 ставится под сомнение. Другой подход к нацеливанию на рецептор PD-1 заключается в использовании
20 рекомбинантного белка, состоящего из внеклеточного домена PD-L2 (B7-DC), слитого с Fc-частью IgG1, называемого AMP-224.

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой антагонист PD-L1, например, антагонистическое антитело к PD-L1. Подходящие
25 антитела к PD-L1 включают, например, MPDL3280A (RG7446; WO2010/077634), дурвалумаб (MEDI4736), BMS-936559 (WO207/005874) и MSB0010718C (WO2013/79174).

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой антагонист LAG-3, например, антагонистическое антитело к LAG-3. Подходящие
30 антитела к LAG3 включают, например, BMS-986016 (WO10/19570, WO14/08218) или IMP-731 или IMP-321 (WO08/132601, WO09/44273).

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой агонист CD137 (4-1BB), например, агонистическое антитело к CD137. Подходящие

антитела к CD137 включают, например, урелумаб и PF-05082566 (WO12/32433).

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой агонист GITR, например, агонистическое антитело к GITR. Подходящие антитела к GITR включают, например, BMS-986153, BMS-986156, TRX-518 (WO06/105021,
5 WO09/009116) и МК-4166 (WO11/028683).

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой антагонист IDO. Подходящими антагонистами IDO являются, например, INCB-024360 (WO206/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), индоксимод или NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237).

10 В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой агонист OX40, например, агонистическое антитело к OX40. Подходящие антитела к OX40 включают, например, MEDI-6383 или MEDI-6469.

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой антагонист OX40L, например, антагонистическое антитело к OX40. Подходящие
15 антагонисты OX40L включают, например, RG-7888 (WO06/029879).

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой агонист CD40, например, агонистическое антитело к CD40. В другом варианте иммуно-онкологический препарат представляет собой антагонист CD40, например, антагонистическое антитело к CD40. Подходящие антитела к CD40 включают,
20 например, люкатумумаб или дацетумумаб.

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой агонист CD27, например, агонистическое антитело к CD27. Подходящие антитела к CD27 включают, например, варлилумаб.

В другом аспекте иммуно-онкологический препарат представляет собой
25 MGA271 (к В7Н3) (WO11/109400).

Комбинированная терапия предполагает как последовательное введение данных терапевтических средств, т.е. введение каждого терапевтического средства в разное время, так и практически одновременное введение данных терапевтических средств или по меньшей мере двух из них. Существенно одновременное введение
30 может быть осуществлено, например, путем введения субъекту единой лекарственной формы с фиксированным соотношением каждого терапевтического средства или нескольких единых лекарственных форм для каждого из

терапевтических средств. Последовательное или практически одновременное введение каждого терапевтического средства может осуществляться любым подходящим способом, включая, в частности, пероральный, внутривенный, внутримышечный и прямую абсорбцию через ткани слизистой оболочки.

- 5 Терапевтические средства могут вводиться одним и тем же путем или разными путями. Например, первое терапевтическое средство выбранной комбинации может вводиться путем внутривенной инъекции, и другие терапевтические средства комбинации могут вводиться перорально. В качестве альтернативы, например, все терапевтические средства могут вводиться перорально или все терапевтические средства могут вводиться путем внутривенной инъекции. Комбинированная терапия также может включать в себя введение описанных выше терапевтических средств в дополнительной комбинации с другими биологически активными ингредиентами и немедикаментозными способами лечения (например, хирургическим вмешательством или лучевой терапией). Если комбинированная терапия включает в себя немедикаментозное лечение, то немедикаментозное лечение может проводиться в любое подходящее время, пока достигается положительный эффект от совместного действия комбинации терапевтических средств и немедикаментозного лечения. Например, в соответствующих случаях благоприятный эффект достигается и при временной отмене немедикаментозного лечения, возможно, на несколько дней или даже недель при продолжении введения терапевтических средств.

- 25 Типы раковых заболеваний, которые можно лечить соединением формулы (I), включают, но не ограничиваются ими, рак мозга, рак кожи, рак мочевого пузыря, рак яичников, рак молочной железы, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак крови, рак легкого и рак костей. Примеры таких типов рака включают нейробластому, карциному кишечника, например, карциному прямой кишки, карциному толстой кишки, семейную аденоматозную полипозную карциному и наследственный неполипозный колоректальный рак, карциному пищевода, карциному губы, карциному гортани, карциному гипотаринкса, карциному языка, карциному слюнных желез, карциному желудка, аденокарциному, карциному щитовидной железы, папиллярную карциному щитовидной железы, карциному почки, паренхимальную карциному

почки, карциному яичников, карциному шейки матки, карциному тела матки, карциному эндометрия, карциному хориона, карциному поджелудочной железы, карциному простаты, карциному яичка, карциному молочной железы, карциному мочевыводящих путей, меланому, опухоли головного мозга, такие как глиобластома, астроцитомы, менингиомы, медуллобластома и периферические нейроэктодермальные опухоли, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, лимфому Буркитта, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), хронический лимфобластный лейкоз (ХЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), Т-клеточную лейкозную лимфому взрослых, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), гепатоцеллюлярную карциному, карциному желчного пузыря, бронхиальную карциному, мелкоклеточную карциному легкого, немелкоклеточную карциному легкого, множественную миелому, базалиому, тератому, ретинобластома, меланому хориоидеи, семиному, рабдомиосаркому, краниофарингиому, остеосаркому, хондросаркому, миосаркому, липосаркому, фибросаркому, саркому Юинга и плазмоцитому.

Одно или несколько дополнительных фармацевтических средств или способов лечения, таких как, например, противовирусные средства, химиотерапевтические или другие противораковые средства, иммуноусилители, иммунодепрессанты, радиация, противоопухолевые и противовирусные вакцины, цитокиновая терапия (например, IL2 и GM-CSF) и/или ингибиторы тирозинкиназ, могут быть по желанию использованы в сочетании с соединениями формулы (I) для лечения заболеваний, расстройств или состояний, связанных с белком Helios. Данные средства могут быть либо объединены с настоящими соединениями в одной лекарственной форме, либо средства могут вводиться одновременно или последовательно в виде отдельных лекарственных форм.

Подходящие химиотерапевтические или другие противораковые средства включают, например, алкилирующие средства (в том числе, без ограничения, азотистые иприты, производные этиленмина, алкилсульфонаты, нитрозомочевины и триазены), такие как урациловый иприт, хлорметин, циклофосфамид (CYTOXANTM), ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, пипоброман, триэтиленмеламин, триэтилентиофосфорамин, бусульфан, кармустин, ломустин,

стрептозоцин, дакарбазин и темозоломид.

При лечении меланомы подходящими препаратами для применения в сочетании с соединениями формулы (I) являются: дакарбазин (DTIC), необязательно, вместе с другими химиотерапевтическими препаратами, такими как кармустин
5 (BCNU) и цисплатин; "Дартмутский режим", состоящий из DTIC, BCNU, цисплатина и тамоксифена; комбинация цисплатина, винбластина и DTIC, темозоломид или YERVOY™. Соединения формулы (I) можно также комбинировать с препаратами иммунотерапии, включая цитокины, такие как интерферон альфа, интерлейкин 2 и фактор некроза опухоли (TNF), при лечении меланомы.

10 Соединения формулы (I) также могут быть использованы в сочетании с вакцинотерапией при лечении меланомы. Вакцины против меланомы в некотором смысле похожи на противовирусные вакцины, которые используются для профилактики заболеваний, вызываемых такими вирусами, как полиомиелит, корь и паротит. Ослабленные клетки меланомы или части клеток меланомы, называемые
15 антигенами, могут вводиться пациенту с целью стимулирования иммунной системы организма к уничтожению клеток меланомы.

Меланомы, локализующиеся на руках или ногах, также можно лечить комбинацией средств, включающей одно или несколько соединений формулы (I), с использованием способа гипертермической изолированной перфузии конечности. В
20 данном случае кровообращение в пораженной конечности временно отделяется от остального организма, и высокие дозы химиотерапии вводятся в артерию, питающую конечность, обеспечивая таким образом воздействие высоких доз на область опухоли без воздействия данных доз на внутренние органы, которые в противном случае могли бы вызвать тяжелые побочные эффекты. Обычно жидкость
25 подогревается от 38,9 °C до 40 °C. В качестве препарата для химиотерапии чаще всего используется мельфалан. Он может вводиться вместе с другим препаратом, называемым фактором некроза опухоли (TNF).

Подходящие химиотерапевтические или другие противораковые средства включают, например, антиметаболиты (включая, без ограничения, антагонисты
30 фолиевой кислоты, аналоги пиримидина, аналоги пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы), такие как метотрексат, 5-фторурацил, флоксуридин, цитрабин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, флударабин фосфат, пентостатин и

гемцитабин.

Подходящие химиотерапевтические или другие противораковые средства дополнительно включают, например, некоторые природные продукты и их производные (например, алкалоиды барвинка, противоопухолевые антибиотики, ферменты, лимфокины и эпиподофиллотоксины), такие как винбластин, винкристин, виндезин, блеомицин, дактиномицин, даунорубицин, доксорубицин, эпирубицин, идарубицин, ара-С, паклитаксел (Таксол), митрамицин, дезоксико-формицин, митомицин-С, L-аспарагиназа, интерфероны (особенно IFN-а), этопозид и тенипозид.

10 К другим цитотоксическим препаратам относятся навельбен, СРТ-11, анастразол, летразол, капецитабин, релоксафин и дролоксафин.

Также подходящими являются цитотоксические средства, такие как эпидофиллотоксин; антинеопластический фермент; ингибитор топоизомеразы; прокарбазин; митоксантрон; платиновые координационные комплексы, такие как 15 цисплатин и карбоплатин; модификаторы биологического ответа; ингибиторы роста; антигормональные терапевтические средства; лейковорин; тегафур; гематопэтические факторы роста.

Другие противораковые препараты включают антитела, такие как трастузумаб (HERCEPTIN®), антитела к костимулирующим молекулам, таким как 20 CTLA-4, 4-1BB и PD-1, или антитела к цитокинам (IL-10 или TGF-β).

Другие противораковые препараты также включают средства, блокирующие миграцию иммунных клеток, например, антагонисты хемокиновых рецепторов, включая CCR2 и CCR4.

Другие противораковые препараты также включают препараты, усиливающие иммунную систему, например, адьюванты или адоптивный перенос Т-клеток.

Противораковые вакцины включают дендритные клетки, синтетические пептиды, ДНК-вакцины и рекомбинантные вирусы.

Фармацевтическая композиция по изобретению может дополнительно 30 включать по меньшей мере один ингибитор сигнальной трансдукции (signal transduction inhibitor (STI)). "Ингибитор сигнальной трансдукции" представляет собой средство, которое избирательно ингибирует одну или несколько жизненно

важных стадий сигнальных путей при нормальном функционировании раковых клеток, тем самым приводя к апоптозу. Подходящие STI включают, но не ограничиваются ими: (i) ингибиторы киназы bcr/abl, такие как, например, STI 571 (GLEEVECTM); (ii) ингибиторы рецепторов эпидермального фактора роста (EGF),
5 такие как, например, ингибиторы киназы (IRESSATM, SSI-774) и антитела (Imclone: C225 [Goldstein et al., *Clin. Cancer Res.*, 1:1311-1318 (1995)], и Abgenix: ABX-EGF); (iii) ингибиторы рецепторов her-2/neu, такие как ингибиторы фарнезилтрансферазы (FTI), например, L-744,832 (Kohl et al., *Nat. Med.*, 1(8):792-797 (1995)); (iv) ингибиторы киназ семейства Akt или пути Akt, такие как, например, рапамицин (см.,
10 например, Sekulic et al., *Cancer Res.*, 60:3504-3513 (200)); (v) ингибиторы киназ клеточного цикла, такие как, например, флавопиридол и UCN-01 (см., например, Sausville, *Curr. Med. Chem. Anti-Canc. Agents*, 3:47-56 (203)); и (vi) ингибиторы фосфатидил-инозитол-киназы, такие как, например, LY294002 (см., например, Vlahos et al., *J. Biol. Chem.*, 269:5241-5248 (1994)). Альтернативно, по меньшей мере
15 один STI и по меньшей мере одно соединение формулы (I) могут находиться в отдельных фармацевтических композициях. В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения по меньшей мере одно соединение формулы (I) и по меньшей мере один STI могут вводиться пациенту одновременно или последовательно. Другими словами, по меньшей мере одно соединение формулы (I)
20 можно вводить первым, по меньшей мере один STI можно вводить первым или по меньшей мере одно соединение формулы (I) и по меньшей мере один STI можно вводить одновременно. Кроме того, при применении более одного соединения формулы (I) и/или STI, соединения могут вводиться в любом порядке.

Настоящее изобретение также дополнительно обеспечивает
25 фармацевтическую композицию для лечения хронической вирусной инфекции у пациента, содержащую по меньшей мере одно соединение формулы (I), необязательно по меньшей мере одно химиотерапевтическое лекарственное средство и, необязательно, по меньшей мере одно противовирусное средство, в фармацевтически приемлемом носителе.

30 Также обеспечивается способ лечения хронической вирусной инфекции у пациента путем введения эффективного количества указанной фармацевтической композиции.

В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения по меньшей мере одно соединение формулы (I) и по меньшей мере одно химиотерапевтическое лекарственное средство вводятся пациенту одновременно или последовательно. Другими словами, сначала может быть введено по меньшей мере одно соединение формулы (I), затем по меньшей мере одно химиотерапевтическое лекарственное средство или одновременно по меньшей мере одно соединение формулы (I) и по меньшей мере один STI. Кроме того, при применении более одного соединения формулы (I) и/или химиотерапевтического средства соединения могут вводиться в любом порядке. Аналогичным образом, любое противовирусное средство или STI также можно вводить в любой момент по сравнению с введением соединения формулы (I).

Хронические вирусные инфекции, которые можно лечить с использованием настоящего комбинаторного лечения, включают, в частности, заболевания, вызванные: вирусом гепатита С (HCV), вирусом папилломы человека (HPV), цитомегаловирусом (CMV), вирусом простого герпеса (HSV), вирусом Эпштейна-Барра (EBV), вирусом varicella zoster, вирусом Коксаки, вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ).

Подходящие противовирусные средства, предполагаемые для применения в сочетании с соединением формулы (I), могут включать нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы (NRTI), нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (NNRTI), ингибиторы протеазы и другие противовирусные лекарственные препараты.

Примеры подходящих NRTI включают зидовудин (AZT); диданозин (ddl); зальцитабин (ddC); ставудин (d4T); ламивудин (3TC); абакавир (1592U89); адефовир дипивоксил [бис(РОМ)-РМЕА]; лобукавир (BMS-180194); BСН-I0652; эмитрицитабин [(-)-FTC]; бета-L-FD4 (также называемый бета-L-D4C и имеющий название бета-L-2',3'-диклеокси-5-фтор-цитиден); DAPD, ((-)-бета-D-2,6-диаминопуриндиоксолан); и лоденозин (FddA). К типичным подходящим NNRTI относятся невирапин (BI-RG-587); делавирадин (BHAP, U-90152); эфавиренз (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; МКС-442 (1-(этокси-метил)-5-(1-метилэтил)-6-(фенилметил)-(2,4(1H,3H)-пиримидинион); (+)-каланолид А (NSC-675451) и В. К типичным ингибиторам протеазы относятся саквинавир (Ro 31-8959); ритонавир

(ABT-538); индинавир (МК-639); нелфнавир (AG-1343); ампренавир (141W94); лазинавир (BMS-234475); DMP-450; BMS-2322623; ABT-378; AG-1549. Другие противовирусные средства включают гидроксимочевину, рибавирин, ПЛ-2, ПЛ-12, пентафузид и Yissum Project No.11607.

5 Комбинированная терапия предполагает как последовательное введение данных терапевтических средств, т.е. введение каждого терапевтического средства в разное время, так и практически одновременное введение данных терапевтических средств или по меньшей мере двух из них. По существу одновременное введение может быть осуществлено, например, путем введения субъекту единичной
10 лекарственной формы с фиксированным соотношением каждого терапевтического средства или нескольких единичных лекарственных форм для каждого из терапевтических средств. Последовательное или практически одновременное введение каждого терапевтического средства может осуществляться любым подходящим способом, включая, в частности, пероральный, внутривенный,
15 внутримышечный и прямую абсорбцию через ткани слизистой оболочки. Терапевтические средства могут вводиться одним и тем же путем или разными путями. Например, первое терапевтическое средство выбранной комбинации может вводиться путем внутривенной инъекции, и другие терапевтические средства комбинации могут вводиться перорально. В качестве альтернативы, например, все
20 терапевтические средства могут вводиться перорально или все терапевтические средства могут вводиться путем внутривенной инъекции. Комбинированная терапия также может включать в себя введение описанных выше терапевтических средств в дополнительной комбинации с другими биологически активными ингредиентами и немедикаментозными способами лечения (например, хирургическим
25 вмешательством или лучевой терапией). Если комбинированная терапия дополнительно включает немедикаментозное лечение, то немедикаментозное лечение может проводиться в любое подходящее время, пока достигается положительный эффект от совместного действия комбинации терапевтических средств и немедикаментозного лечения. Например, в соответствующих случаях
30 благоприятный эффект достигается и тогда, когда немедикаментозное лечение временно отменяется, возможно, на несколько дней или даже недель при продолжении введения терапевтических средств.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

Изобретение также обеспечивает фармацевтические композиции, которые содержат терапевтически эффективное количество одного или нескольких соединений формулы (I), составленных с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями (добавками) и/или разбавителями, и, необязательно, одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, описанными выше.

Соединения формулы (I) можно вводить любым подходящим способом, предпочтительно в виде фармацевтической композиции, адаптированной к такому способу, и в дозе, эффективной для предполагаемого лечения. Соединения и композиции соединений формулы (I) могут вводиться для любого из описанных в настоящем документе применений любым подходящим способом, например, перорально, в виде таблеток, капсул (каждая из которых включает составы с пролонгированным высвобождением или с замедленным высвобождением), пилюль, порошков, гранул, эликсиров, настоек, суспензий (включая наносуспензии, микросуспензии, дисперсии, высушенные распылением), сиропов и эмульсий; сублингвально, буккально, парентерально, например, путем подкожной, внутривенной, внутримышечной, внутривенной инъекции или инфузионных способов (например, в виде стерильных инъекируемых водных или неводных растворов или суспензий); назально, включая введение в носовые оболочки, например, с помощью ингаляционного спрея; местно, например, в виде крема или мази; или ректально, например, в виде суппозиториев. Их можно вводить отдельно, но обычно их вводят с фармацевтическим носителем, выбранным с учетом выбранного пути введения и стандартной фармацевтической практики.

Для перорального применения фармацевтическая композиция может быть, например, в виде таблетки, капсулы, жидкой капсулы, суспензии или жидкости. Фармацевтическая композиция предпочтительно выпускается в виде дозированной единицы, содержащей определенное количество активного ингредиента. Например, фармацевтическая композиция может быть представлена в виде таблетки или капсулы, содержащей количество активного ингредиента в диапазоне от около 0,1 до 1000 мг, предпочтительно от около 0,25 до 250 мг и более предпочтительно от

около 0,5 до 100 мг. Подходящая суточная доза для человека или другого млекопитающего может варьироваться в широких пределах в зависимости от состояния пациента и других факторов, но ее можно определить с помощью обычных способов.

5 Любая фармацевтическая композиция, рассматриваемая в настоящем документе, может быть доставлена, например, перорально с помощью любых приемлемых и подходящих пероральных препаратов. Типичные пероральные препараты включают, но не ограничиваются ими, например, таблетки, трюшки, пастилки, водные и масляные суспензии, диспергируемые порошки или гранулы, 10 эмульсии, твердые и мягкие капсулы, жидкие капсулы, сиропы и эликсиры. Фармацевтические композиции, предназначенные для перорального введения, могут быть приготовлены в соответствии с любыми известными в данной области техники способами изготовления фармацевтических композиций, предназначенных для перорального введения. Для получения фармацевтически приятных на вкус 15 препаратов фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением может содержать по меньшей мере одно средство, выбранное из подсластителей, ароматизаторов, красителей, смягчающих средств, антиоксидантов и консервантов.

Например, таблетка может быть приготовлена путем смешивания по меньшей мере одного соединения формулы (I) и/или по меньшей мере его одной 20 фармацевтически приемлемой соли по меньшей мере с одним нетоксичным фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, подходящим для изготовления таблеток. Типичные вспомогательные вещества включают, но не ограничиваются ими, инертные разбавители, такие как, например, карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция и фосфат натрия; гранулирующие и 25 дезинтегрирующие средства, такие как микрокристаллическая целлюлоза, кроскармеллоза натрия, кукурузный крахмал и альгиновая кислота; связующие средства, такие как крахмал, желатин, поливинилпирролидон и гуммиарабик; и смазывающие средства, такие как стеарат магния, стеариновая кислота и тальк. Кроме того, таблетки могут быть как без покрытия, так и с покрытием, которое 30 наносится известными способами для маскировки неприятного вкуса лекарственного средства или замедления распада и всасывания активного ингредиента в желудочно-кишечном тракте, тем самым поддерживая действие

активного ингредиента в течение более длительного периода времени. Типичные водорастворимые материалы, маскирующие вкус, включают, но не ограничиваются ими, гидроксипропилметилцеллюлозу и гидроксипропилцеллюлозу. Примеры материалов для задержки времени включают, но не ограничиваются ими, 5 этилцеллюлозу и бутират ацетата целлюлозы.

Твердые желатиновые капсулы могут быть приготовлены, например, путем смешивания по меньшей мере одного соединения формулы (I) и/или по меньшей мере одной его соли по меньшей мере с одним инертным твердым разбавителем, таким как, например, карбонат кальция, фосфат кальция, каолин.

10 Мягкие желатиновые капсулы могут быть, например, приготовлены путем смешивания по меньшей мере одного соединения формулы (I) и/или по меньшей мере его одной фармацевтически приемлемой соли по меньшей мере с одним водорастворимым носителем, таким как, например, полиэтиленгликоль; и по меньшей мере с одним масляным носителем, таким как, например, арахисовое масло, 15 жидкий парафин, оливковое масло.

Водная суспензия может быть приготовлена, например, путем смешивания по меньшей мере одного соединения формулы (I) и/или по меньшей мере его одной фармацевтически приемлемой соли по меньшей мере с одним вспомогательным веществом, подходящим для изготовления водной суспензии. Примерные 20 вспомогательные вещества, подходящие для изготовления водной суспензии, включают, но не ограничиваются ими, суспендирующие средства, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза натрия, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, альгинат натрия, альгиновая кислота, поливинилпирролидон, камедь трагаканта и камедь акации; диспергирующие или 25 смачивающие средства, такие как, например, фосфатид природного происхождения, например, лецитин; продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, такие как, например, полиоксиэтилен стеарат; продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, такие как, например, гептадекаэтилен-оксицетанол; продукты конденсации окиси этилена с неполными 30 эфирами жирных кислот и гекситола, например, полиоксиэтилен сорбитол моноолеат; и продукты конденсации этиленоксида с неполными эфирами, полученными из жирных кислот и гекситоловых ангидридов, такими как, например,

полиэтилен сорбитан моноолеат. Водная суспензия также может содержать по меньшей мере один консервант, такой как, например, этил- и н-пропил-п-гидроксibenзоат; по меньшей мере один краситель; по меньшей мере один ароматизатор; и/или по меньшей мере один подсластитель, включая, но не ограничиваясь ими, сахарозу, сахарин и аспартам.

Масляные суспензии могут быть приготовлены, например, путем суспендирования по меньшей мере одного соединения формулы (I) и/или по меньшей мере его одной фармацевтически приемлемой соли в растительном масле, таком как, например, арахисовое масло; оливковое масло; кунжутное масло; и кокосовое масло; или в минеральном масле, таком как, например, жидкий парафин. Масляная суспензия также может содержать по меньшей мере один загуститель, например, пчелиный воск, твердый парафин, цетиловый спирт. Для придания масляной суспензии приятного вкуса в нее может быть добавлен по меньшей мере один из уже описанных выше подсластителей и/или по меньшей мере один ароматизатор. Масляная суспензия может также содержать по меньшей мере один консервант, включая, но не ограничиваясь этим, антиоксидант, такой как, например, бутилированный гидроксианизол и альфа-токоферол.

Диспергируемые порошки и гранулы могут быть получены, например, путем смешивания по меньшей мере одного соединения формулы (I) и/или по меньшей мере одной его фармацевтически приемлемой соли по меньшей мере с одним диспергирующим и/или смачивающим средством; по меньшей мере одним суспендирующим средством; и/или по меньшей мере одним консервантом. Подходящие диспергирующие средства, смачивающие средства и суспендирующие средства уже описаны выше. Типичные консерванты включают, но не ограничиваются ими, например, антиоксиданты, например, аскорбиновую кислоту. Кроме того, диспергируемые порошки и гранулы могут содержать по меньшей мере один вспомогательный компонент, включая, но не ограничиваясь ими, например, подсластители, ароматизаторы и красители.

Эмульсия, содержащая по меньшей мере одно соединение формулы (I) и/или по меньшей мере одну его фармацевтически приемлемую соль, может быть приготовлена, например, в виде эмульсии "масло-в-воде". Масляная фаза эмульсий, содержащих соединения формулы (I), может быть получена из известных

ингредиентов известным способом. Масляная фаза может быть обеспечена, но не ограничиваясь ими, растительным маслом, таким как, например, оливковое или арахисовое, минеральным маслом, таким как, например, жидкий парафин, и их смесями. Хотя фаза может содержать только эмульгатор, она может содержать смесь по меньшей мере одного эмульгатора с жиром или маслом или с жиром и маслом. 5 Подходящие эмульгаторы включают, но не ограничиваясь ими, фосфатиды природного происхождения, например, лецитин соевых бобов; сложные или неполные эфиры, полученные из жирных кислот и гекситоловых ангидридов, например, сорбитан моноолеат; продукты конденсации неполных эфиров с оксидом 10 этилена, например, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат. Предпочтительно гидрофильный эмульгатор включен вместе с липофильным эмульгатором, который действует как стабилизатор. Предпочтительно также включать как масло, так и жир. Вместе эмульгатор(ы) со стабилизатором(ами) или без него образуют так называемый эмульгирующий воск, и воск вместе с маслом и жиром образуют так 15 называемую эмульгирующую мазевую основу, которая образует маслянистую дисперсную фазу кремовых составов. Эмульсия также может содержать подсластитель, ароматизатор, консервант и/или антиоксидант. Эмульгаторы и стабилизаторы эмульсии, подходящие для применения в составе по настоящему изобретению, включают Tween 60, Span 80, цетостеариловый спирт, миристиловый 20 спирт, глицерил моностеарат, лаурилсульфат натрия, глицерил дистеарат отдельно или с воском или другие материалы, известные в данной области техники.

Соединения формулы (I) и/или по меньшей мере одна их фармацевтически приемлемая соль могут, например, также вводиться внутривенно, подкожно и/или внутримышечно в любой фармацевтически приемлемой и подходящей 25 инъекционной форме. Типичные инъекционные формы включают, но не ограничиваются ими, например, стерильные водные растворы, содержащие приемлемые носители и растворители, такие как, например, вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия; стерильные микроэмульсии типа "масло в воде"; и водные или маслянистые суспензии.

30 Составы для парентерального введения могут быть в виде водных или неводных изотонических стерильных инъекционных растворов или суспензий. Данные растворы и суспензии могут быть приготовлены из стерильных порошков

или гранул с использованием одного или нескольких носителей или разбавителей, упомянутых для использования в составах для перорального введения или с использованием других подходящих диспергирующих или смачивающих средств и суспендирующих средств. Соединения могут быть растворены в воде, полиэтиленгликоле, пропиленгликоле, этаноле, кукурузном масле, хлопковом масле, арахисовом масле, кунжутном масле, бензиловом спирте, хлориде натрия, трагакантовой камеди и/или различных буферах. Другие вспомогательные вещества и способы введения хорошо и широко известны в фармацевтической практике. Активный ингредиент может также вводиться путем инъекции в виде композиции с подходящими носителями, включая физиологический раствор, декстрозу или воду или с циклодекстрином (т. е. каптисолом), солюбилизацией с помощью соразтворителя (например, пропиленгликоля) или мицеллярной солюбилизацией (например, Tween 80).

Стерильный инъекционный препарат может также представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в растворе 1,3-бутандиола. В качестве приемлемых носителей и растворителей могут использоваться вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используются стерильные нелетучие масла. Для данных целей можно использовать любое обычное нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, для приготовления инъекционных препаратов находят применение жирные кислоты, например, олеиновая кислота.

Стерильная инъекционная микроэмульсия типа "масло в воде" может быть приготовлена, например, путем 1) растворения по меньшей мере одного соединения формулы (I) в масляной фазе, такой как, например, смесь соевого масла и лецитина; 2) объединения масляной фазы, содержащей формулу (I), со смесью воды и глицерина; и 3) обработки данной смеси с получением микроэмульсии.

Стерильная водная или маслянистая суспензия может быть приготовлена в соответствии со способами, уже известными в данной области техники. Например, стерильный водный раствор или суспензия могут быть приготовлены с использованием нетоксичного парентерально приемлемого разбавителя или

растворителя, такого как, например, 1,3-бутандиол; и стерильная маслянистая суспензия может быть приготовлена с использованием стерильного нетоксичного приемлемого растворителя или суспендирующей среды, такой как, например, стерильные нелетучие масла, например, синтетические моно- или диглицериды; и жирные кислоты, такие как, например, олеиновая кислота.

Фармацевтически приемлемые носители составляются с учетом ряда факторов, находящихся в пределах компетенции специалистов в данной области техники. К ним, без ограничения, относятся: тип и природа входящего в состав активного средства; субъект, которому будет вводиться композиция, содержащая средство; предполагаемый путь введения композиции; терапевтическое показание. Фармацевтически приемлемые носители включают как водные, так и неводные жидкие среды, а также различные твердые и полутвердые лекарственные формы. Такие носители могут включать в себя ряд множество различных ингредиентов и добавок в дополнение к активному средству, причем такие дополнительные ингредиенты включаются в состав по разным причинам, например, для стабилизации активного средства, в качестве связующих и т.д., что хорошо известно специалистам в данной области техники. Описания подходящих фармацевтически приемлемых носителей и факторов, участвующих в их выборе, можно найти в различных легкодоступных источниках, таких как, например, Allen, L. V. Jr. *et al. Remington: Наука и практика фармации (2 тома)*, 22-е издание (2012), Pharmaceutical Press.

Фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества и наполнители, которые могут быть использованы в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваясь ими, ионообменники, глинозем, стеарат алюминия, лецитин, самоэмульгирующиеся системы доставки лекарств (self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS)), такие как d-альфа-токоферол полиэтиленгликоль 1000 сукцинат, поверхностно-активные вещества, используемые в лекарственных формах, такие как Tween, полиэтокселированное касторовое масло, например, поверхностно-активное вещество CREMOPHORTM (BASF) или другие подобные полимерные матрицы для доставки, сывороточные белки, например, сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, вода, соли или электролиты, такие как

протамин сульфат, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный кремнезем, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлоза натрия, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропилен-блочные полимеры, полиэтиленгликоль и шерстяной жир. Циклодекстрины, такие как альфа-, бета- и 5 гамма-циклодекстрин или химически модифицированные производные, такие как гидроксилалкилциклодекстрины, включая 2- и 3-гидроксипропилциклодекстрины, или другие солюбилизованные производные также могут быть преимущественно использованы для улучшения доставки соединений описанных в настоящем 10 документе формул.

Фармацевтически активные соединения соединения по настоящему изобретению могут быть обработаны в соответствии с обычными способами фармации для получения лекарственных средств, предназначенных для введения 15 пациентам, включая людей и других млекопитающих. Фармацевтические композиции могут быть подвергнуты обычным фармацевтическим операциям, таким как стерилизация, и/или могут содержать обычные вспомогательные вещества, такие как консерванты, стабилизаторы, смачивающие средства, эмульгаторы, буферы и т.д. Таблетки и пилюли могут быть дополнительно приготовлены с энтеральным 20 покрытием. В состав таких композиций также могут входить вспомогательные вещества, такие как смачивающие, подслащивающие, вкусовые и парфюмерные вещества.

В терапевтических целях активные соединения по настоящему изобретению обычно сочетаются с одним или несколькими вспомогательными веществами, соответствующими указанному способу введения. При пероральном введении 25 соединения могут быть смешаны с лактозой, сахарозой, крахмальным порошком, эфирами алкановых кислот, алкиловыми эфирами целлюлозы, тальком, стеариновой кислотой, стеаратом магния, оксидом магния, натриевыми и кальциевыми солями фосфорной и серной кислот, желатином, камедью акации, альгинатом натрия, поливинилпирролидоном и/или поливиниловым спиртом, и затем таблетированы 30 или инкапсулированы для удобства введения. Такие капсулы или таблетки могут содержать состав с контролируемым высвобождением, который может быть обеспечен в виде дисперсии активного соединения в

гидроксипропилметилцеллюлозе.

Количества вводимых соединений и режим дозирования при лечении заболевания соединениями и/или композициями по настоящему изобретению зависят от множества факторов, включая возраст, массу, пол, состояние здоровья субъекта, тип заболевания, тяжесть заболевания, способ и частоту введения, и конкретное используемое соединение. Таким образом, режим дозирования может варьироваться в широких пределах, но может быть определен стандартными способами. Суточная доза может составлять от около 0,001 до 100 мг/кг массы тела, предпочтительно от около 0,0025 до около 50 мг/кг массы тела и наиболее предпочтительно от около 0,005 до 10 мг/кг массы тела. Суточная доза может вводиться от одной до четырех доз в день. Другие схемы дозирования включают одну дозу в неделю и одну дозу на двухдневный цикл.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают по меньшей мере одно соединение формулы (I) и/или по меньшей мере одну его фармацевтически приемлемую соль и необязательно дополнительное средство, выбранное из любого фармацевтически приемлемого носителя, вспомогательного вещества и наполнителя. Альтернативные композиции по настоящему изобретению содержат соединение формулы (I), описанное в настоящем документе или его пролекарство, и фармацевтически приемлемый носитель, вспомогательное вещество или наполнитель.

Настоящее изобретение также включает фармацевтические наборы, применимые, например, для лечения или профилактики заболеваний или расстройств, связанных с белком Helios, и других заболеваний, упомянутых в настоящем документе, которые включают один или несколько контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество соединения формулы (I). Такие наборы могут дополнительно включать, если желательно, один или несколько различных компонентов обычных фармацевтических наборов, таких как, например, контейнеры с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры, как будет легко очевидно специалистам в данной области техники. В набор также могут быть включены инструкции в виде вкладышей или этикеток с указанием количества компонентов, подлежащих

введению, рекомендаций по введению и/или рекомендаций по смешиванию компонентов.

Режим дозирования соединений по настоящему изобретению, конечно, будет варьироваться в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические характеристики конкретного препарата, способ и путь его введения; вид, возраст, пол, состояние здоровья, состояние здоровья и масса пациента; характер и степень выраженности симптомов; вид сопутствующего лечения; частота лечения; путь введения, почечная и печеночная функция пациента и желаемый эффект.

В качестве общего руководства суточная пероральная доза каждого активного ингредиента при его применении для достижения указанных эффектов будет составлять от около 0,001 до около 5000 мг в сутки, предпочтительно от около 0,01 до около 1000 мг в сутки и наиболее предпочтительно от около 0,1 до около 250 мг в сутки. При внутривенном введении наиболее предпочтительные дозы составляют от около 0,01 до около 10 мг/кг/мин при инфузии с постоянной скоростью. Соединения формулы (I) могут вводиться в виде разовой суточной дозы, или общую суточную дозу можно вводить разделенными дозами два, три или четыре раза в день.

Соединения обычно вводят в смеси с подходящими фармацевтическими разбавителями, вспомогательными веществами или носителями (далее совместно именуемыми в настоящем документе фармацевтическими носителями), которые выбираются с учетом предполагаемой формы введения, например, пероральные таблетки, капсулы, эликсиры и сиропы, и в соответствии с обычной фармацевтической практикой.

Дозированные формы (фармацевтические композиции), подходящие для введения, могут содержать от около 1 миллиграмма до около 200 миллиграммов активного ингредиента на единицу дозировки. В таких фармацевтических композициях активный ингредиент обычно присутствует в количестве от около 0,1 до 95% по массе в расчете на общую массу композиции.

Типичная капсула для перорального введения содержит по меньшей мере одно из соединений формулы (I) (250 мг), лактозу (75 мг) и стеарат магния (15 мг). Смесь пропускают через сито 60 меш и упаковывают в желатиновую капсулу № 1.

Типичный инъекционный препарат получают путем асептического

помещения по меньшей мере одного из соединений формулы (I) (250 мг) во флакон, асептической сушки вымораживанием и запечатывания. Для применения содержимое флакона смешивают с 2 мл физиологического раствора для получения инъекционного препарата.

5 Настоящее изобретение включает в себя фармацевтические композиции, содержащие в качестве активного ингредиента терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного из соединений формулы (I), отдельно или в сочетании с фармацевтическим носителем. Необязательно, соединения формулы (I) можно использовать отдельно, в сочетании с другими соединениями формулы (I) или
10 в сочетании с одним или несколькими другими терапевтическими средствами, например, противораковым средством или другим фармацевтически активным веществом.

Независимо от выбранного пути введения соединения формулы (I), которые могут быть использованы в подходящей гидратированной форме, и/или
15 фармацевтические композиции по настоящему изобретению составляют в фармацевтически приемлемые лекарственные формы обычными способами, известными специалистам в данной области техники.

Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут варьироваться таким образом,
20 чтобы получить количество активного ингредиента, эффективное для достижения терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, и при этом не являющееся токсичным для пациента.

Выборный уровень дозировки будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного соединения формулы (I), его эфира, соли или амида, способ введения, время введения, скорость выведения или метаболизма
25 конкретного соединения, скорость и степень абсорбции, продолжительность лечения, другие препараты, соединения и/или материалы, используемые в сочетании с конкретным соединением, возраст, пол, массу, состояние, общее состояние здоровья и предыдущую историю болезни пациента, проходящего лечение, и
30 подобные факторы, хорошо известные в медицине.

Врач или ветеринар, обладающий достаточной квалификацией в данной области техники, может легко определить и назначить необходимое эффективное

количество фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начать дозировку соединений формулы (I), входящих в фармацевтическую композицию, с уровней, меньших, чем требуется для достижения терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозировку до достижения эффекта.

5 В общем случае подходящей суточной дозой соединения формулы (I) будет являться такое количество соединения, которое представляет собой наименьшую дозу, эффективную для получения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза, как правило, зависит от описанных выше факторов. Как правило, пероральные, внутривенные, интрацеребровентрикулярные и подкожные дозы соединений
10 формулы (I) для пациента составляют от около 0,01 до около 50 мг на килограмм массы тела в сутки.

При желании эффективная суточная доза активного соединения может быть назначена в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более субдоз, вводимых
15 отдельно через соответствующие интервалы времени в течение дня, необязательно, в виде единичных лекарственных форм. В некоторых аспектах изобретения дозировка составляет один прием в день.

Хотя соединение формулы (I) можно вводить отдельно, предпочтительнее вводить его в виде фармацевтического состава (композиции).

Вышеуказанные другие терапевтические средства, применяемые в
20 комбинации с соединениями формулы (I), могут быть использованы, например, в количествах, указанных в справочнике Physicians' Desk Reference (PDR) или иным образом, определяемым специалистом в данной области техники. В способах по настоящему изобретению другие терапевтические средства могут вводиться до, одновременно с или после введения соединений по изобретению.

25

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены различными способами, хорошо известными специалистам в области органического синтеза. Соединения по настоящему изобретению могут быть синтезированы с
30 использованием способов, описанных ниже, вместе с синтетическими способами, известными в области синтетической органической химии или их вариациями, которые оценят специалисты в данной области техники. Предпочтительные способы

включают, но не ограничиваются ими, способы, описанные ниже. Все ссылки, приведенные в настоящем документе, включены в него посредством ссылки во всей своей полноте.

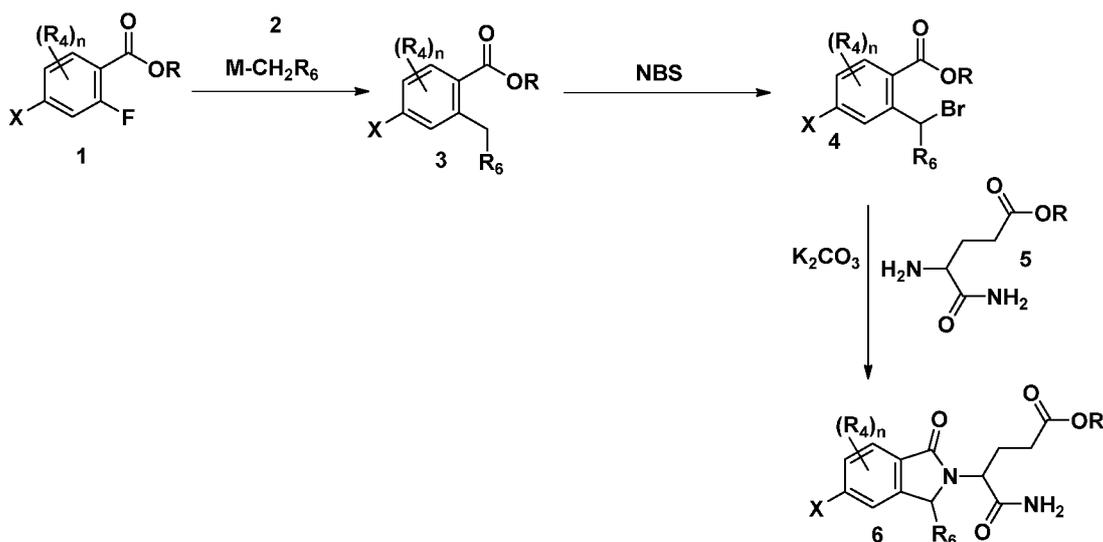
Соединения по настоящему изобретению могут быть получены с использованием реакций и методик, описанных в данном разделе. Реакции 5 проводятся в растворителях, соответствующих используемым реагентам и материалам, и подходящих для осуществляемых превращений. Кроме того, при описании синтетических способов, приведенных ниже, следует понимать, что все предложенные условия реакции, включая выбор растворителя, реакционной 10 атмосферы, температуры реакции, продолжительности эксперимента и процедур обработки, выбраны как стандартные условия для данной реакции, что должно быть легко распознано специалистом в данной области техники. Специалисту в области органического синтеза понятно, что функциональные группы, присутствующие в различных частях молекулы, должны быть совместимы с предлагаемыми реагентами 15 и реакциями. Такие ограничения на заместители, которые совместимы с условиями реакции, будут легко очевидны специалистам в данной области техники, и тогда необходимо использовать альтернативные способы. Иногда для получения соединения по изобретению приходится изменять порядок синтетических стадий или выбирать одну конкретную технологическую схему вместо другой. Следует 20 также признать, что еще одним важным фактором при планировании любого пути синтеза в данной области является разумный выбор защитной группы, используемой для защиты реакционноспособных функциональных групп, присутствующих в соединениях, описанных в настоящем изобретении. Авторитетное исследование, описывающее многочисленные альтернативы, доступные квалифицированному 25 специалисту, приведено в работе Greene и Wuts (*Protective Groups In Organic Synthesis*, Fourth Edition, Wiley и Sons, 2007).

Соединения формулы (I) могут быть получены способами, проиллюстрированными на следующих схемах. Как показано на схемах, конечным продуктом является соединение, имеющее ту же структурную формулу, что и 30 формула (I). Следует понимать, что любое соединение формулы (I) может быть получено по схемам путем подходящего выбора реагентов с соответствующим замещением. Растворители, температура, давление и другие условия реакции могут

быть легко подобраны специалистом в данной области техники. Исходные материалы являются коммерчески доступными или легко приготавливаются специалистом в данной области техники. Составные части соединений соответствуют определениям, приведенным в настоящем документе или в другом месте описания.

Общие пути получения соединений, описанных в изобретении, проиллюстрированы на схемах 1-2, где R₁, R₂, R₄ и R₆ определены ранее в тексте или функциональная группа, которая может быть преобразована в конечный заместитель. Заместитель X представляет собой уходящую группу, например, галогенид (предпочтительно I, Br или Cl) или трифлат. Заместитель M представляет собой подходящий партнер сочетания, такой как бороновая кислота, сложный эфир бороновой кислоты или станнан. Заместитель R представляет собой защитную группу карбоновой кислоты, например, *трет*-бутил, метил, этил или бензил. Как показано на схеме 1, общая процедура получения соединений по изобретению начинается с подходящего замещенного арилфторида **1**. При обработке подходящим нуклеофилом, например, промежуточным соединением **2**, где M может представлять собой MgBr или Li, можно получить замещенные арилгалогениды, такие как **3**. Галогенирование, предпочтительно бромирование, может быть осуществлено обработкой соединения **3** такими реагентами, как N-бромсукцинимид, с получением бромида **4**. Обработка соединения **4** амином **5** в основных условиях, например, карбонатом калия, приводит к первоначальному вытеснению вторичного бромида с последующей циклизацией с получением лактама **6**.

СХЕМА 1



Если М представляет собой станнан, то соединение **6** можно объединить с подходящим замещенным гетероциклом **7** в реакции сочетания по Штилле (Stille) с использованием подходящей каталитической системы (например, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ или бис(трифенилфосфин)дихлорпалладия(II)/CuI) с получением **8**. В качестве альтернативы соединение **6** можно превратить в бороновую кислоту или бороновый эфир **9** в условиях, хорошо известных специалистам в данной области техники. Бороновую кислоту или бороновый эфир **9** можно объединить с подходящим замещенным гетероциклом **10** в реакции сочетания Сузуки-Мияура (Suzuki-Miyaura) с использованием подходящего палладиевого катализатора (например, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ или 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II)) в присутствии подходящего основания (например, карбоната цезия, фосфата калия или бикарбоната натрия) с получением **8**.

В зависимости от конкретного выбора кислотозащитной группы R в промежуточном соединении **8** могут потребоваться различные условия для его превращения в соединение **11** (схема 2). Например, если R представляет собой метил, этил или бензил, то циклизация **8**, вызванная основанием, может быть предпочтительной для прямого превращения **8** в **11** с использованием подходящего основания (например, LiHMDS) в подходящем растворителе (например, тетрагидрофуране). В случае, когда R представляет собой *tert*-бутил, кислотная циклизация **12** может быть предпочтительной для прямого превращения **8** в **11** с использованием подходящей кислоты (например, бензолсульфоновой кислоты) в

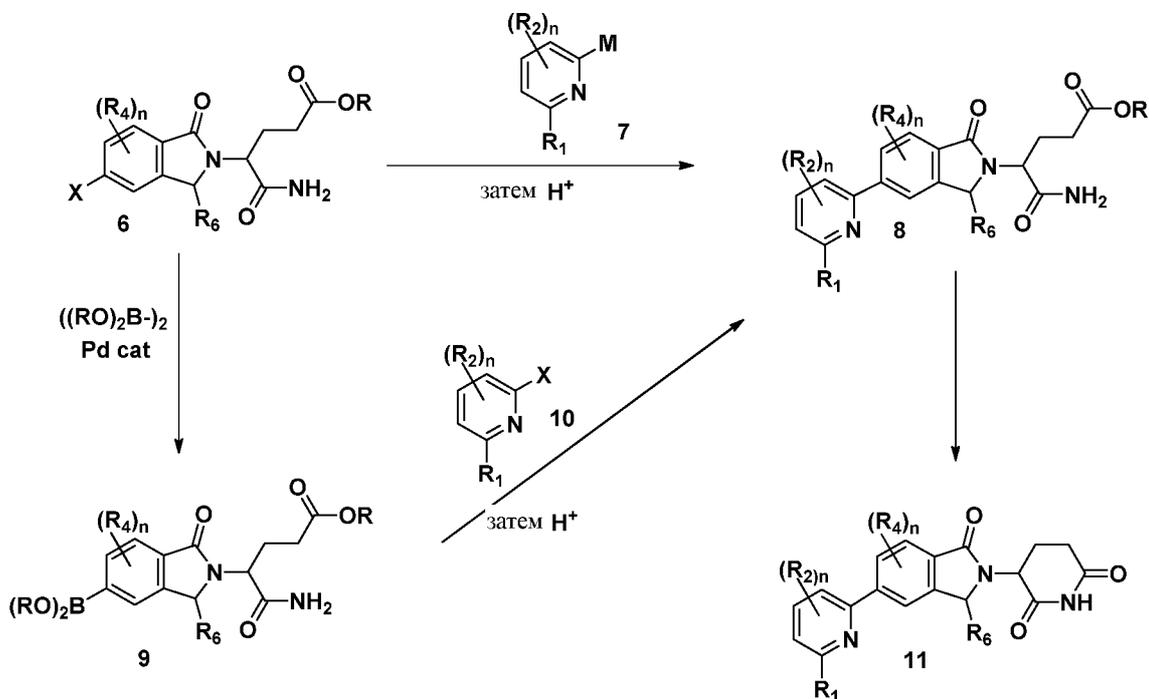
подходящем растворителе (например, ацетонитриле). В некоторых случаях может быть предпочтительно использовать двухстадийную процедуру, при которой сначала высвобождается свободная карбоновая кислота, соответствующая **8**, в условиях, подходящих для конкретной кислотной защитной группе R. Такие

5 способы хорошо известны специалистам в области органического синтеза. Например, если R представляет собой *tert*-бутил, может быть предпочтительным кислотный гидролиз с использованием подходящей кислоты (например, трифторуксусной кислоты или соляной кислоты). Если R представляет собой метил, этил или бензил, предпочтительным может быть основной гидролиз с

10 использованием подходящего основания (например, LiOH). В других случаях, когда R представляет собой бензил, может быть предпочтительно снять защиту с помощью гидрогенолиза, катализируемого палладием. После высвобождения карбоновая кислота может быть активирована для внутримолекулярной атаки боковым первичным амидом под действием тионилхлорида/диметилформаида или

15 карбонилдиимидазола/диметиламинопиридина с получением **11**.

СХЕМА 2



ПРИМЕРЫ

Приведенные ниже примеры иллюстрируют конкретные варианты осуществления настоящего изобретения и не ограничивают объем настоящего изобретения. Химические сокращения и символы, как и научные сокращения и символы имеют свои обычные и общепринятые значения, если не указано иное.

5 Дополнительные сокращения, используемые в примерах и других разделах настоящей заявки, определены выше. Общие промежуточные соединения обычно используются для приготовления более чем одного примера. Соединения примеров идентифицируются по примеру и стадии, на которой они были получены (например, "1-A" обозначает пример 1, стадия А) или только по примеру в том случае, если

10 соединение является заглавным соединением примера (например, "1" обозначает указанное в заголовке соединение примера 1). В некоторых случаях описываются альтернативные варианты приготовления промежуточных соединений или примеров соединений. Часто химики, квалифицированные в области синтеза, могут

15 разработать альтернативные способы получения, которые могут быть желательны, исходя из одного или нескольких соображений, таких как более короткое время реакции, менее дорогие исходные материалы, простота эксплуатации или выделения, улучшенный выход, возможность катализа, отсутствие токсичных реагентов, доступность специализированного оборудования и уменьшение числа

20 линейных стадий и т.д. Целью описания альтернативных способов получения является дальнейшее обеспечение возможности получения примеров по настоящему изобретению. В некоторых случаях некоторые функциональные группы в изложенных примерах и формуле изобретения могут быть заменены хорошо известными биозостерическими заменами, известными в данной области техники,

25 например заменой группы карбоновой кислоты тетраэольным или фосфатным фрагментом.

СОКРАЩЕНИЯ

	ACN	ацетонитрил
30	AIBN	2,2-азобисиосбутиронитрил
	n-BuLi	n-бутил литий
	DCE	дихлорэтан

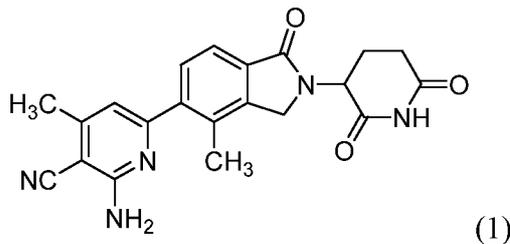
	DCM	дихлорметан
	DIPEA	N,N-диизопропилэтиламин
	DMF	диметилформамид
	DMSO	диметилсульфоксид
5	dppf	бис(дифенилфосфино)ферроцен
	EtOH	этанол
	EtOAc	этилацетат
	Hex	гексаны
10	H-Glu(OtBu)-NH ₂ HCl	гидрохлорид трет-бутил-(4S)-4,5-диамино-5-оксопентаноата
	ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
	Основание Хунига	N,N-диизопропилэтиламин
	LiHMDS	бис(триметилсилил)амид лития
	MeCN	ацетонитрил
15	мин	минута(ы)
	мл	миллилитр(ы)
	NBS	n-бромсукцинимид
	Pd(dppf) ₂ Cl ₂	[1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II)
20	Pd(dtbpf)Cl ₂	[1,1'-бис(ди-трет-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II)
	Pd(PPh ₃) ₄	тетракис(трифенилфосфин)палладий
	PhSO ₃ H	бензенсульфоновая кислота
	PTSON	пара-толуолсульфоновая кислота
25	TEA	триэтиламин
	THF	тетрагидрофуран
	XPhos Pd G2	хлор(2-дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)[2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладий(II)
30	Способ 1 препаративной ВЭЖХ: XBridge C18, 200 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 10 mM ацетатом аммония; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 10 mM ацетатом аммония; градиент: задержка 0 мин	

при 15% В, 15-50% В в течение 25 мин, затем задержка 6 мин при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин; температура колонки: 25° С. Сбор фракций осуществлялся по сигналам МС.

5

ПРИМЕР 1

2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил



10 Препарат 1А: *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(5-бром-4-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат.

К суспензии гидрохлорида *трет*-бутил-(S)-4,5-диамино-5-оксопентаноата (2,162 г, 6,06 ммоль) в ацетонитриле (30 мл) при 0°С добавляли DIPEA (3,018 мл, 17,28 ммоль). После перемешивания в течение 20 мин реакционную смесь обрабатывали раствором метил-4-бром-2-(бромметил)-3-метилбензоата (2,650 г, 15 8,22 ммоль) в MeCN (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °С в течение 5 мин. После этого ледяную баню удаляли, реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь нагревали до 60° С и выдерживали при данной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc, дважды 20 промывали водой, затем 1,5 М K₂HPO₄, насыщенным солевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Материал очищали с использованием силикагеля и элюировали смесью 30-100% EtOAc/Hex. Полученный материал растирали с 8 мл эфира с получением выхода указанного в заголовке продукта 33,7%.
 25 ¹H ЯМР (400 МГц, CHLOROFORM-d) δ 7,70 (d, J=8,1 Гц, 1H), 7,56 (d, J=8,1 Гц, 1H), 6,23 (br s, 1H), 5,31 (br s, 1H), 4,92 (dd, J=8,6, 6,4 Гц, 1H), 4,55-4,47 (m, 1H), 4,45-4,36 (m, 1H), 2,41 (с, 3H), 2,41-2,14 (m, 4H), 1,45 (с, 9H).

Препарат 1В: *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(4-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-

1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

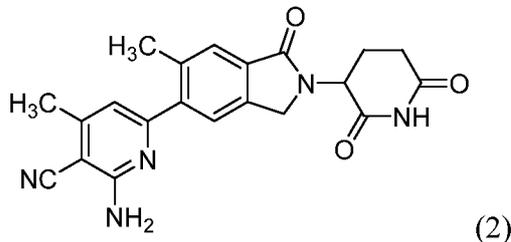
В сухую колбу помещали трет-бутил-(S)-5-амино-4-(5-бром-4-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (300 мг, 0,730 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (278 мг, 1,094 ммоль, и ацетат калия (214 мг, 2,188 ммоль) промывали азотом. Твердое вещество суспендировали в диоксане (10 5 мли дегазировали потоком азота в течение 5 мин при перемешивании. В реакционную смесь добавляли Pd(dppf)Cl₂ (16,02 мг, 21,88 мкмоль). Колбу дегазировали в течение 5 мин, герметизировали и нагревали до 60 °С в течение 18 ч под азотом. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали насыщенным 10 солевым раствором и высушивали над MgSO₄. Продукт концентрировали и очищали на колонке с 40 г силикагеля способом ISCO, элюируя 0-40% В/DCM (где В=15% EtOH/EtOAc+0,1% ТЕА), получая продукт с выходом 99%. МС (ES): m/z = 459,3 [M+H]⁺.

15 Пример 1:

В микроволновый флакон объемом 2 мл загружали 2-амино-6-бром-4-метилникотинитрил (12 мг, 0,057 ммоль, трет-бутил-(S)-5-амино-4-(4-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (28.5 мг, 0,062 ммоль, Pd(dtbpf)Cl₂ (1,106 мг, 1,698 мкмоль, диоксан 20 (1,5 мли водный K₃PO₄ (0,075 мл, 0,226 ммоль. Флакон герметично закрывали и заменяли воздух азотом. Реакционная смесь подвергалась микроволновому нагреву в течение 15 мин при 120 °С. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором, органический слой отделяли и концентрировали. Полученный остаток растворяли в 25 1 мл раствора PhSO₃H в MeCN (1,44 г/40 мл) и выдерживали в микроволновой печи в течение 10 мин при 120 °С. Материал концентрировали досуха, остаток растворяли в 1,9 мл DMSO и очищали способом 1 препаративной ВЭЖХ с получением указанного в заголовке соединения с выходом 49 %. МС (ES): m/z = 390,3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 11,03 (s, 1 H) 7,66 (d, J=7,63 Гц, 1 H) 7,53 (d, J=7,93 Гц, 1 H) 6,91 (s, 2 H) 6,78 (s, 1 H) 5,18 (br dd, J=13,43, 5,19 Гц, 1 H) 4,52 (br d, J=17,09 Гц, 1 H) 4,35 (br d, J=17,40 Гц, 1 H) 2,91-3,01 (m, 1 H) 2,65 (br d, J=16,78 Гц, 1 H) 2,47 (br dd, J=13,12, 4,27 Гц, 1 H) 2,43 (s, 3 H) 2,33 (s, 3 H) 2,03-2,10 (m, 1 H).

ПРИМЕР 2

2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-6-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинитрил



5

Препарат 2А: Метил-4-бром-2-(бромметил)-5-метилбензоат.

К раствору 4-бром-2,5-диметилбензойной кислоты (5,0 г, 21,82 ммоль) при комнатной температуре добавляли SOCl_2 (31,66 мл, 436 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч. Для подтверждения образования хлорида кислоты использовали ЖХМС, после чего концентрировали досуха. При комнатной температуре добавляли метанол (30 мл), перемешивали в течение 0,5 ч и снова концентрировали до сухого состояния. К полученному метиловому эфиру добавляли CCl_4 (180 мл), затем 1-бромпирролидин-2,5-дион (4,08 г, 22,92 ммоль) и затем AIBN (0,108 г, 0,654 ммоль). Полученную смесь нагревали до 80 °С при перемешивании в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры смесь концентрировали, растворяли в EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором и сушили над MgSO_4 . ЖХМС показала наличие двух основных пиков. Полученная смесь региоизомеров (5,4 г) была использована для следующей стадии.

20 Препарат 2В: *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(5-бром-6-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

К суспензии метил-4-бром-2-(бромметил)-5-метилбензоата (5,4 г, 16,76 ммоль) в ацетонитриле (100 мл) добавляли трет-бутил-(S)-4,5-диамино-5-оксопентаноат, HCl (4,00 г, 16,76 ммоль), затем основание Хунига (5,84 мл, 33,52 ммоль). После перемешивания в течение 1 ч при комнатной температуре реакционную смесь помещали в баню с температурой 40°С и перемешивали при данной температуре в течение 6 дней. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором,

25

сушили над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали способом ISCO [колонка 120 г], элюируя EtOAc/DCM от 0-100%, с получением 2,80 г желаемого соединения. Кроме того, были выделены два других побочных продукта (метил-(S)-5-(((1-амино-5-(трет-бутокси)-1,5-диоксопентан-2-ил)амино)метил)-4-
 5 бром-2-метилбензоат и трет-бутил-(S)-5-амино-4-(((2-((R)-1-амино-5-(трет-бутокси)-1,5-диоксопентан-2-ил)-6-бром-3-оксоизоиндолин-5-ил)метил)амино)-5-оксопентаноат). МС (ES): $m/z = 411,0 [M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 7,70 (d, $J=6,44$ Гц, 2 H) 6,31 (br s, 1 H) 5,36 (br s, 1 H) 4,90 (dd, $J=8,68$, 6,34 Гц, 1 H) 4,51 (d, $J=16,98$ Гц, 1 H) 4,41 (d, $J=16,98$ Гц, 1 H) 2,51 (s, 3 H) 2,21-2,43 (m, 10 3 H) 2,12-2,19 (m, 1 H) 1,44 (s, 9 H).

Препарат 2С: *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(6-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

Во флакон под давлением емкостью 40 мл загружали трет-бутил-(S)-5-амино-
 15 4-(5-бром-6-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (600 мг, 1,458 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (556 мг, 2,188 ммоль), ацетат калия (430 мг, 4,376 ммоль) и промывали азотом. Твердое вещество суспендировали в диоксане (20 мл) и дегазировали потоком азота в течение 5 мин при перемешивании. Реакционную смесь обрабатывали $Pd(dppf)Cl_2$ (32,02 мг, 0,044
 20 ммоль), дегазировали в течение 5 мин. Пробирку герметично закрывали и нагревали до 95 °С в течение 3 ч под азотом. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором и сушили над $MgSO_4$. Фильтрат концентрировали и очищали на колонке с 40 г силикагеля способом ISCO, элюируя (0%-40% В/DCM, где В= 15%
 25 EtOH/EtOAc+0,1% TEA), с получением указанного в заголовке соединения с выходом 95%. МС (ES): $m/z = 459,3 [M+H]^+$.

Пример 2:

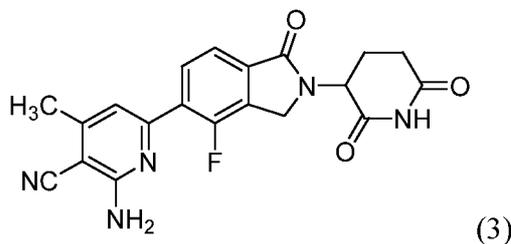
В микроволновый флакон емкостью 2 мл загружали 2-амино-6-бром-4-
 30 метилникотинитрил (12 мг, 0,057 ммоль), трет-бутил-(S)-5-амино-4-(6-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (28,5 мг, 0,062 ммоль), $Pd(dtbpf)Cl_2$ (1,106 мг, 1,698 мкмоль), диоксан

(1,5 мл) и водный K_3PO_4 (0,075 мл, 0,226 ммоль). Флакон герметично закрывали и воздух заменяли азотом. Реакционную смесь нагревали в микроволновой печи в течение 15 мин при 120 °С. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором, органический слой отделяли и концентрировали. Полученный остаток растворяли в 1 мл раствора $PhSO_3H$ в MeCN (1,44 г/40 мл) и выдерживали в микроволновой печи в течение 10 мин при 120 °С. Смесь концентрировали досуха, остаток растворяли в 1,7 мл DMSO и очищали способом 1 препаративной ВЭЖХ, с получением указанного в заголовке соединения с выходом 35%. МС (ES): $m/z = 390,3 [M+H]^+$. 1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 10,97-11,02 (m, 1 H) 7,65 (s, 1 H) 7,55 (s, 1 H) 6,76 (s, 1 H) 5,13 (dd, $J=13,31, 5,18$ Гц, 1 H) 4,39-4,51 (m, 1 H) 4,28-4,39 (m, 1 H) 2,87-2,98 (m, 1 H) 2,58-2,65 (m, 1 H) 2,51 (d, $J=1,74$ Гц, 3 H) 2,42-2,46 (m, 1 H) 2,41 (br s, 3 H) 2,39-2,40 (m, 1 H) 1,99-2,06 (m, 1 H).

15

ПРИМЕР 3

2-Амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинитрил



Промежуточное соединение 3А: 5-Бром-4-фтор-3-гидроксиизобензофуран-1(3H)-он

К перемешиваемому раствору 2,2,6,6-тетраметилпиперидина (7,07 мл, 41,6 ммоль) в THF (150 мл) добавляли 2,5 М раствор n-BuLi в гексанах (16 мл, 40,0 ммоль) при 0 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 0 °С. К реакционной смеси по каплям при -50 °С добавляли раствор 4-бром-3-фторбензойной кислоты (3,5 г, 15,98 ммоль) в безводном THF (100 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при той же температуре. Безводный DMF (2,48 мл, 32,0 ммоль) добавляли при -50 °С, после чего реакционную смесь доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч. Реакцию гасили 1,5 N HCl (100 мл). Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (3 x 30

- мл). Объединенный органический слой промывали насыщенным соевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO_2 , 120 г, 0-50% EtOAc /пет-эфир) с получением 5-бром-4-фтор-3-гидроксиизобензофуран-1(3*H*)-она (1,0 г, выход 23 %) в виде желтого твердого вещества. ЖХМС (способ А): время удерживания 0,48 мин, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 245,1, 247,1; ^1H ЯМР (400 МГц, ацетонитрил- d_3) δ 7,93 (dd, $J = 8,0, 5,5$ Гц, 1H), 7,59 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 6,74 (br s, 1H), 5,94 (br s, 1H).
- 10 Промежуточное соединение 3В: *трет*-Бутил-(S)-5-амино-4-(5-бром-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат
- К перемешиваемому раствору 5-бром-4-фтор-3-гидроксиизобензофуран-1(3*H*)-она (1,7 г, 6,88 ммоль) и *трет*-бутил-(S)-4,5-диамино-5-оксопентаноата HCl (1,67 г, 8,26 ммоль) в DMF (30 мл) при 0°C добавляли триацетоксиборогидрид натрия (3,65 г, 17,21 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 48 ч. Реакционную смесь разбавляли ледяной водой (50 мл), полученное белое твердое вещество фильтровали и сушили при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(5-бром-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (1,6 г, выход 50 %) в виде белого твердого вещества. ЖХМС (способ А): время удерживания 1,39 мин, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 413,9, 415,3; ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,85 (dd, $J = 8,0, 6,0$ Гц, 1H), 7,59 (br s, 1H), 7,51 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,23 (br s, 1H), 4,77-4,59 (m, 3H), 2,26-2,13 (m, 3H), 2,08-1,96 (m, 1H), 1,34 (s, 9H).
- 25 Промежуточное соединение 3С: *трет*-Бутил-(S)-5-амино-4-(5-(6-амино-5-циано-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат
- Перемешиваемый раствор 2-амино-6-хлор-4-метилникотинонитрила (50 мг, 0,30 ммоль) и гексаметилдитина (0,093 мл, 0,45 ммоль) в толуоле (2 мл) продували аргоном в течение пяти минут, после чего добавляли [1,1'-бис(ди-*трет*-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (9,72 мг, 0,015 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 100 °С, охлаждали до комнатной температуры и отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с

получением неочищенного продукта. $[M+H]^+$ 298,2. К раствору неочищенного продукта в диоксане (2 мл) добавляли *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(5-бром-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (98 мг, 0,24 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном в течение пяти минут, добавляли

5 бис(трифенилфосфин)палладий(II) хлорид (16,60 мг, 0,024 ммоль) и нагревали при 100°C в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали способом флэш-хроматографии (колонок SiO₂, 80 г, 0-100% В (В = 15% EtOH в EtOAc, 0.5% TEA)/хлороформ) с получением

10 *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(5-(6-амино-5-циано-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (60 мг, выход 40,7 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,35 мин, $[M+H]^+$ 468,3.

Пример 3:

15 К перемешиваемому раствору промежуточного соединения 3С (60 мг, 0,13 ммоль) в уксусной кислоте (2 мл) добавляли бензолсульфокислоту (20,30 мг, 0,13 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 150 °С при микроволновом облучении в течение 10 минут. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный неочищенный продукт очищали препаративной ЖХМС (колонок:

20 Waters XBridge C18, 19 x 150 мм, частицы 5 мкм; подвижная фаза А: 0,1% трифторуксусной кислоты в воде; подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент: 10-40% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; расход: 15 мл/мин). Желаемые фракции лиофилизировали досуха с получением 2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрила

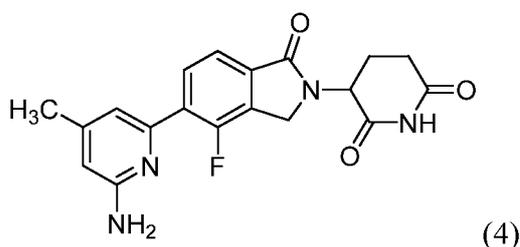
25 (15 мг, выход 29%). ЖХМС (способ G): время удерживания 1,62 мин, $[M+H]^+$ 394,2; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,01 (br s, 1H), 8,01 (t, J=7,3 Гц, 1H), 7,70 (d, J=7,9 Гц, 1H), 7,06 (d, J=1,5 Гц, 1H), 6,99 (s, 2H), 5,14 (dd, J=13,3, 5,1 Гц, 1H), 4,74-4,38 (m, 2H), 3,05-2,85 (m, 1H), 2,75-2,57 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,13-1,95 (m, 1H).

30 Общая процедура 2: Перемешиваемый раствор промежуточного соединения 3В (1 экв.) и арилстаннанового реагента (1 экв.) в диоксане (5 мл/ммоль) продували аргоном в течение 5 мин. Добавляли бис(трифенилфосфин) палладий(II) хлорид (0,1

экв.) и нагревали реакционную смесь при 100°C в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целитную подушку и концентрировали фильтрат при пониженном давлении. Неочищенный материал переносили в микроволновый сосуд, добавляли PhSO₃H (2 экв.) и уксусную кислоту (5 мл/ммоль) и нагревали смесь при 150 °С в течение 10 мин в микроволновом реакторе. Смесь концентрировали и остаток очищали препаративной ВЭЖХ.

ПРИМЕР 4

3-(5-(6-Амино-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



(4)

Промежуточное соединение 4А: 4-Метил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амин

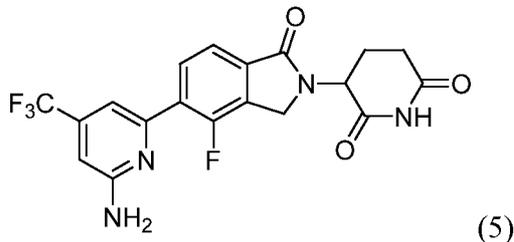
Перемешиваемый раствор 6-бром-4-метилпиридин-2-амина (75 мг, 0,382 ммоль) и гексаметилдитина (0,119 мл, 0,57 ммоль) в толуоле (5 мл) продували аргоном в течение пяти минут, после чего добавляли [1,1'-бис(ди-*трет*-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (12,4 мг, 0,02 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 100 °С, охлаждали до комнатной температуры и отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 4-метил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амина (130 мг, выход 89 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,62 мин, [M+H]⁺ 273,1.

Пример 4:

Реакцию сочетания по Штилле и циклизацию проводили по общей методике 2 с использованием препарата 4А и препарата 3В. МС (ES): m/z = [M+H]⁺ 369,1; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ = 11,02 (s, 1H), 8,02 (t, J = 7,2 Гц, 1H), 7,65 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 6,03 (s, 2H), 5,15 (dd, J = 5,0, 13,3 Гц, 1H), 4,66-4,57 (m, 1H), 4,49-4,38 (m, 1H), 3,02-2,85 (m, 1H), 2,62 (br d, J = 17,4 Гц, 1H), 2,49-2,40 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 2,07-1,98 (m, 1H).

ПРИМЕР 5

3-(5-(6-Амино-4-(трифторэтил)пиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



5

Промежуточное соединение 5А:

Перемешиваемый раствор 6-хлор-4-(трифторметил)пиридин-2-амина (75 мг, 0,382 ммоль) и гексаметилдитина (0,119 мл, 0,57 ммоль) в толуоле (5 мл) продували аргоном в течение пяти минут, после чего добавляли [1,1'-бис(ди-*трет*-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (12,4 мг, 0,02 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 100 °С, охлаждали до комнатной температуры и отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 4-(трифторметил)-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амина (130 мг, выход 89 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,92 мин, $[M+H]^+$ 327,1.

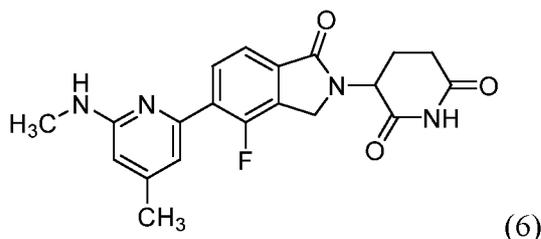
15

Пример 5:

Реакцию сочетания по Штилле и циклизацию проводили по общей методике 1 с использованием промежуточного соединения 5А и промежуточного соединения 3В. МС (ES): $m/z = [M+H]^+$ 423,3; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) $\delta = 11,02$ (s, 1H), 8,05 (t, $J = 7,3$ Гц, 1H), 7,69 (d, $J = 7,8$ Гц, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,78 (d, $J = 11,8$ Гц, 3H), 5,15 (dd, $J = 5,0, 13,3$ Гц, 1H), 4,68-4,57 (m, 1H), 4,52-4,39 (m, 1H), 2,99-2,82 (m, 1H), 2,67-2,58 (m, 1H), 2,48-2,39 (m, 1H), 2,12-1,93 (m, 1H).

25

3-(4-Фтор-5-(4-метил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



Промежуточное соединение 6А: *N*,4-Диметил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амин

Перемешиваемый раствор 6-хлор-*N*,4-диметилпиридин-2-амина (100 мг, 0,64 ммоль) и гексаметилдитина (0,199 мл, 0,96 ммоль) в толуоле (10 мл) продували аргонном в течение пяти минут, после чего добавляли [1,1'-бис(ди-*трет*-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (20,8 мг, 0,032 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 100 °С, охлаждали до комнатной температуры и отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением *N*,4-диметил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амина (250 мг, выход 55,0
10 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,29 мин, [M+H]⁺ 287,1.

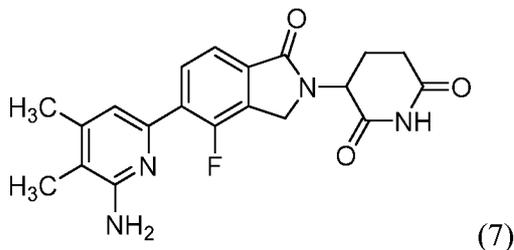
Пример 6:

Реакцию сочетания по Штилле и циклизацию проводили по общей методике 2 с использованием промежуточного соединения 6А и промежуточного соединения 3В. МС (ES): $m/z = [M+H]^+$ 383,1; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 11,03 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,72 (d, *J* = 7,5 Гц, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,58 (br s, 1H), 5,16 (dd, *J* = 13,1, 5,0 Гц, 1H), 4,82-4,40 (m, 3H), 2,89 (s, 3H), 2,75-2,63 (m, 1H), 2,64-2,57 (m, 1H), 2,46-2,41 (m, 1H), 2,36-2,28 (m, 3H), 2,06-2,00 (m, 1H). 19/19

20

ПРИМЕР 7

3-(5-(6-Амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



Промежуточное соединение 7А: 3,4-Диметил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амин

25 Перемешиваемый раствор 6-хлор-3,4-диметилпиридин-2-амина (75 мг, 0,48

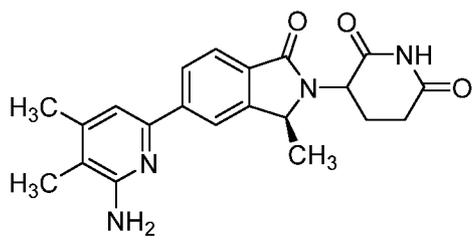
ммоль) и гексаметилдитина (0,149 мл, 0,72 ммоль) в толуоле (3 мл) продували аргоном в течение пяти минут, после чего добавляли [1,1'-бис(ди-*трет*-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (15,6 мг, 0,024 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 100 °С, охлаждали до комнатной температуры и отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 3,4-диметил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амина (150 мг, выход 55,0 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,16 мин, [M+H]⁺ 287,2.

Пример 7:

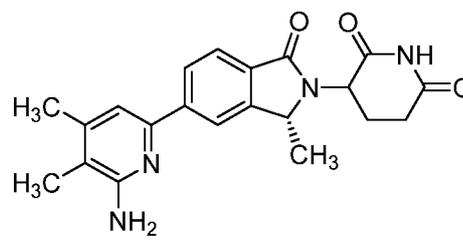
10 Реакцию сочетания по Штилле и циклизацию проводили по общей методике 1 с использованием промежуточного соединения 7А и промежуточного соединения 3В. МС (ES): m/z = [M+H]⁺ 383,0; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,01 (br s, 1H), 8,05 (t, J = 7,3 Гц, 1H), 7,65 (d, J = 7,9 Гц, 1H), 6,93 (d, J = 1,5 Гц, 1H), 5,81 (s, 2H), 5,14 (dd, J = 13,3, 5,1 Гц, 1H), 4,71-4,34 (m, 2H), 3,01-2,88 (m, 1H), 2,67-2,58 (m, 2H), 15 2,46-2,41 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

ПРИМЕРЫ 8 И 9

3-((*S*)-5-(6-Амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион и 3-((*R*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



(8)



(9)

Промежуточное соединение 8А: 4-Бром-2-этилбензойная кислота

К раствору 4-бром-2-фторбензойной кислоты (5 г, 22,83 ммоль) в безводном THF (100 мл) добавляли 1 М раствор бромистого этилмагния в THF (22,83 мл, 68,5 ммоль) при -78 °С в течение 15 мин. Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в атмосфере азота в течение 12 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0 °С. Реакцию гасили капельным добавлением MeOH (15 мл). Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении.

Полученный остаток распределялся между EtOAc и 2 М водной HCl. Слои разделяли, водный слой дважды экстрагировали EtOAc. Объединенный органический слой промывали насыщенным соевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали способом флэш-хроматографии (колонка SiO₂, 80 г, 0-30% EtOAc/пет-эфир) с получением 4-бром-2-этилбензойной кислоты (4 г, выход 76 %). ЖХМС (способ D): время удерживания 2,49 мин, [M+H]⁺ 228,8, 230,0; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 13,04 (br s, 1H), 7,71 (d, J = 8,5 Гц, 1H), 7,55 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 7,49 (dd, J = 8,0, 2,0 Гц, 1H), 2,92 (q, J = 7,2 Гц, 2H), 1,15 (t, J = 7,5 Гц, 3H).

Промежуточное соединение 8B: Метил-4-бром-2-этилбензоат

К перемешиваемой смеси 4-бром-2-этилбензойной кислоты (4,0 г, 17,46 ммоль) и Cs₂CO₃ (11,38 г, 34,9 ммоль) в DMF (40 мл) добавляли йодистый метил (2,18 мл, 34,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 ч, отфильтровали через целитную прокладку и сконцентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 80 г, 0-50% EtOAc/пет-эфир) с получением метил-4-бром-2-этилбензоата (3,3 г, выход 78 %) в виде бесцветного масла. ¹H ЯМР (400 МГц, CHLOROFORM-d) δ 7,76 (d, J = 8,5 Гц, 1H), 7,46 (d, J = 1,5 Гц, 1H), 7,40 (dd, J = 8,5, 2,0 Гц, 1H), 3,91 (s, 3H), 2,99 (q, J = 7,5 Гц, 2H), 1,26 (t, J = 7,5 Гц, 3H).

Промежуточное соединение 8C: Метил-4-бром-2-(1-бромэтил)бензоат

К перемешиваемому раствору метил-4-бром-2-этилбензоата (3,0 г, 12,34 ммоль) в бензоле (40 мл) добавляли NBS (3,29 г, 18,51 ммоль), затем AIBN (0,405 г, 2,47 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 85°C в течение 15 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли EtOAc, промывали насыщенным 10%-ным раствором тиосульфата натрия и соляным раствором. Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 40 г, 0-30% EtOAc/пет-эфир) с получением метил-4-бром-2-(1-бромэтил)бензоата (2,1 г, выход 53%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-

d) δ 7,96 (d, $J = 2,0$ Гц, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,49 (dd, $J = 8,5, 2,0$ Гц, 1H), 6,28 (q, $J = 7,0$ Гц, 1H), 3,95 (s, 3H).

Промежуточное соединение 8D: *трет*-Бутил-(4*S*)-5-амино-4-(5-бром-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

К перемешиваемому раствору метил-4-бром-2-(1-бромэтил)бензоата (1,0 г, 3,11 ммоль) и $\text{H-Glu(OtBu)-NH}_2 \text{ HCl}$ (0,754 г, 3,73 ммоль) в ацетонитриле (30 мл) добавляли DIPEA (2,71 мл, 15,53 ммоль). Полученную реакционную смесь нагревали при 85 °С в течение 15 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO_2 , 40 г, 0-10% MeOH/DCM) с получением *трет*-бутил-(4*S*)-5-амино-4-(5-бром-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (650 мг, выход 51 %) в виде полутвердого вещества. ЖХМС (способ А): время удерживания 1,45 мин, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 411,3, 413,3.

15

Промежуточное соединение 8E: *трет*-бутил-5-амино-4-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

Перемешиваемый раствор 6-хлор-3,4-диметилпиридин-2-амина (200 мг, 1,28 ммоль) и гексаметилдитина (544 мг, 1,66 ммоль) в толуоле (6 мл) продували аргоном в течение пяти минут, после чего добавляли [1,1'-бис(ди-*трет*-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (83 мг, 0,13 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 100 °С, охлаждали до комнатной температуры и отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 287,0. К раствору данного неочищенного продукта в диоксане (4 мл) добавляли *трет*-бутил-5-амино-4-(5-бром-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат (0,289 г, 0,70 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном в течение пяти минут. Добавляли бис(1,2-бис(дифенилфосфино)этан)палладий(0) (0,063 г, 0,07 ммоль) и нагревали при 100 °С в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, отфильтровали и фильтрат сконцентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали флэш-хроматографией (колонка SiO_2 , 80 г, 0-100% В (В = 15% EtOH в EtOAc + 0,5% TEA)/хлороформ) с

30

получением *трет*-бутил-5-амино-4-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (110 мг, выход 34,6 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,40 мин, [M+H]⁺ 453,3.

5 Промежуточное соединение 8F: 3-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион

К перемешиваемому раствору *трет*-бутил-5-амино-4-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (110 мг, 0,243 ммоль, выход 34,6 %) в ацетонитриле (5 мл) добавляли *p*-толуолсульфоокислоту (84 мг, 0,442 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 120 °С при микроволновым облучении в течение 30 минут. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Hypersil gold c18 (19 X 250 мм), 5 мкм Мобильная фаза А - 10 mM ацетат аммония в воде, Мобильная фаза В: ACN FLOW: 20 мл Т/В%:0/20, 18/80, 19/100, 21/100, 22/20, 10 24/20). Желаемые фракции лиофилизировали досуха с получением 3-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диона. 15 ЖХМС (способ D): время удерживания 2,15 мин, [M+H]⁺ 379,0.

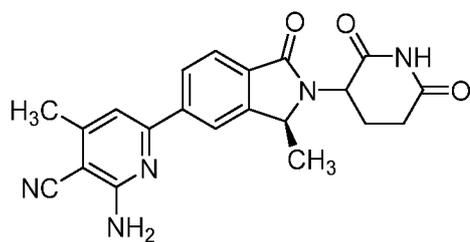
Примеры 8 и 9:

20 3-(5-(6-Амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (100 мг) подвергали разделению способом SFC, (колонка Welk-01(R,R)(250*4,6) мм, 5 мкм; % CO₂: 45%; % соразтворителя: 5 mM ацетат аммония в метаноле и ацетонитриле (1:1); расход: 4 г/мин; температура: 30 °С; УФ: 237 нм), фракции первого пика, элюированные при времени удерживания 2,64 мин, 25 концентрировали и лиофилизировали с получением 3-((S)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диона (12 мг, выход 15%). ЖХМС (способ D): время удерживания 2,112 мин, [M+H]⁺ 379,0; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,10-10,71 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,12 (d, J=7,9 Гц, 1H), 7,69 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,14 (s, 1H), 5,73 (s, 2H), 4,93-4,67 (m, 2H), 2,85-2,71 (m, 2H), 30 2,25 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,51 (d, J=6,6 Гц, 3H) и фракции второго пика, элюированные при времени удерживания 4,03 мин, концентрировали и лиофилизировали с получением 3-((R)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-

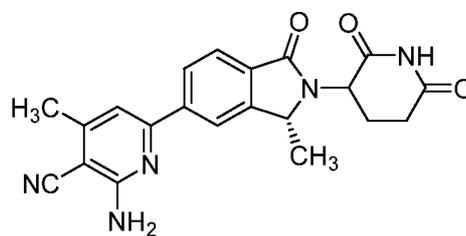
оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диона (8 мг, выход 10%). ЖХМС (способ D): время удерживания 2,162 мин, $[M+H]^+$ 379,0; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,00-10,89 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,13 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,70 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,13 (s, 1H), 5,73 (s, 2H), 4,84-4,68 (m, 2H), 2,91-2,65 (m, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,51-1,46 (m, 3H).

ПРИМЕРЫ 10 И 11

2-Амино-6-((3S)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил и 2-амино-6-((3R)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил



(10)



(11)

Промежуточные соединения 10А и 11А:

Перемешиваемый раствор 2-амино-6-хлор-4-метилникотинонитрила (300 мг, 1,790 ммоль) и 1,1,1,2,2,2-гексаметилдистаннана (762 мг, 2,327 ммоль) в толуоле (10 мл) продували аргоном в течение пяти минут, после чего добавляли [1,1'-бис(ди-*трет*-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (117 мг, 0,179 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 100 °С, охлаждали до комнатной температуры и отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. $[M+H]^+$ 298,0

Неочищенный материал растворяли в диоксане, добавляли промежуточное соединение 8D (0,695 г, 1,689 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном в течение пяти минут и добавляли бис(дифенилфосфино)этанпалладий(0) (0,153 г, 0,169 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 100 °С и перемешивали в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, отфильтровали и фильтрат сконцентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 80 г, 0-100% В (В = 15% EtOH в EtOAc, 0.5% ТЕА)/хлороформ) с получением *трет*-бутил-5-амино-4-(5-(6-амино-5-циано-4-метилпиперидин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-

оксопентаноата (200 мг, 0,431 ммоль, выход 25,5 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,47 мин, $[M+H]^+$ 464,3.

Примеры 10 и 11:

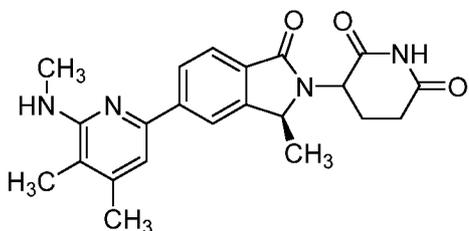
- 5 К перемешиваемому раствору *трет*-бутил-5-амино-4-(5-(6-амино-5-циано-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (200 мг, 0,431 ммоль) в ацетонитриле (10 мл) добавляли *p*-толуолсульфовую кислоту (164 мг, 0,863 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 120 °С при микроволновом облучении в течение 30 минут. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Hypersil gold c18 (19 X 250 мм), 5 мкм Мобильная фаза А - 10 мМ ацетат аммония в воде; Мобильная фаза В: АСН Расход: 20 мл Т/В%: 0/20,18/80, 19/100, 21/100, 22/20, 24/20). Желаемые фракции лиофилизировали досуха с получением 2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрила. ЖХМС (способ D): время удерживания 1,66 мин, $[M+H]^+$ 390,2 в виде смеси диастереомеров. Диастереомеры были разделены способом SFC (колонка Welk-01(R,R)(250*4,6) мм, 5 мкм; %CO₂: 45%; % соразтворителя: 5 мМ ацетат аммония в метаноле и ацетонитриле (1:1); расход: 4 г/мин; температура: 30 °С; УФ: 237 нм), элюируемые первыми фракции изомеров при времени удерживания 2,28 мин концентрировали досуха и лиофилизировали для получения 2-амино-6-((3S)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрила (20 мг, выход 12%). ЖХМС (способ D): время удерживания 1,64 мин, $[M+H]^+$ 390,0; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,01-10,72 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,19 (dd, J=8,0, 1,3 Гц, 1H), 7,76 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,35 (s, 1H), 6,92 (s, 2H), 4,94-4,68 (m, 2H), 2,65-2,58 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,14-1,91 (m, 2H), 1,51 (d, J=6,6 Гц, 3H); и элюируемые вторыми фракции изомеров при времени удерживания 3,25 мин концентрировали досуха и лиофилизировали с получением 2-амино-6-((3R)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрила (20 мг, выход 12%). ЖХМС (способ D): время удерживания 1,66 мин, $[M+H]^+$ 390,0; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,01-10,72 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,20 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,78 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,90 (s, 2H), 4,84-4,70 (m, 2H), 2,84-2,67 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,14-1,91 (m, 2H), 1,49 (br d, J=6,6 Гц, 3H).

ПРИМЕРЫ 12 И 13

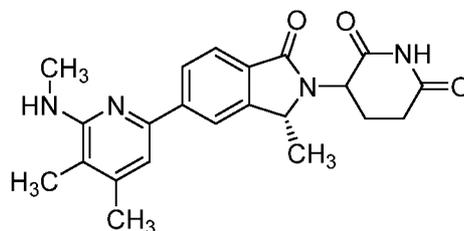
3-((S)-5-(4,5-Диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион и 3-((R)-5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-

5

метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



(12)



(13)

Промежуточные соединения 12А и 13А:

К раствору промежуточного соединения 8D (350 мг, 0,764 ммоль) в диоксане (8 мл) добавляли 6-хлор-N,3,4-триметилпиридин-2-амин (130 мг, 0,764 ммоль) и 3 М водный раствор двухосновного фосфата калия (0,764 мл, 2,291 ммоль). Реакционную смесь продували азотом в течение 15 мин при комнатной температуре. Добавляли аддукт PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (62,4 мг, 0,076 ммоль) под азотом и нагревали реакцию при 100 °С в течение 12 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, отфильтровали через целитную подушку и сконцентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 24 г, 0-10% MeOH\DCM) с получением *трет*-бутил-(4S)-5-амино-4-(5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (230 мг, 0,493 ммоль, выход 64,6%) в виде бесцветного твердого вещества. ЖХМС (способ А): время удерживания 1,81 мин, [M+H]⁺ 467,4.

Примеры 12 и 13:

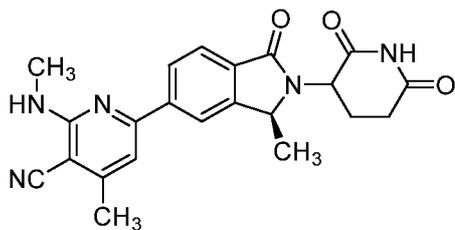
К перемешиваемому раствору трет-бутил-5-амино-4-(5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (200 мг, 0,429 ммоль) в уксусной кислоте (1 мл) добавляли бензенсульфоновую кислоту (67,8 мг, 0,429 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 120 °С при микроволновом облучении в течение 30 минут. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный неочищенный продукт очищали

препаративной ВЭЖХ (колонка: X Select CSH C18 (250*20 мм) 5 мкм Мобильная фаза: А: 10 mM ацетат аммония В: CAN T/B: 0/20, 18/85, 20/100, 21/20, 23/20 Расход: 20 мл/мин). Желаемые фракции лиофилизировали досуха с получением 3-(5-(4,5-

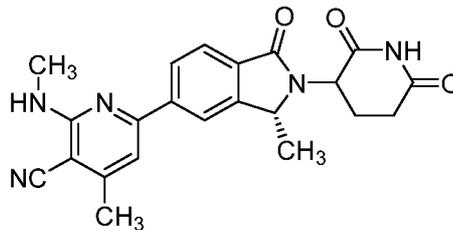
- 5 ил)пиперидин-2,6-диона. ЖХМС (способ А): время удерживания 1,47 мин, $[M+H]^+$ 393,4 в виде смеси диастереомеров. Диастереомеры были разделены способом SFC (колонка Chiralpak IC (250*4,6) мм. 5 мкм; % CO₂: 45%; % соразтворителя: 5 mM ацетат аммония в метаноле и ацетонитриле (1:1); расход: 4 г/мин; температура: 30 °С; УФ: 237 нм), элюируемые первыми фракции изомеров при времени удерживания
- 10 8,65 мин концентрировали досуха и лиофилизировали с получением 3-((S)-5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диона (3 мг, выход 2%), ЖХМС (способ D): время удерживания 1,743 мин, $[M+H]^+$ 393,4; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,07-10,81 (m, 1H), 8,35-8,12 (m, 2H), 7,71 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,03 (br d, J=4,0 Гц, 1H), 4,88-4,69 (m,
- 15 2H), 2,96 (d, J=4,5 Гц, 3H), 2,78-2,63 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,03 (s, 4H), 1,49 (д, J=6,5 Гц, 3H), и фракции второго пика, элюируемые при времени удерживания 11,18 мин, концентрировали и лиофилизировали для получения 3-((R)-5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диона (3 мг, выход 2%). ЖХМС (способ D): время удерживания 1,669 мин, $[M+H]^+$ 393,4;
- 20 ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,07-10,81 (m, 1H), 8,35-8,12 (m, 2H), 7,71 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,03 (br d, J=4,0 Гц, 1H), 4,88-4,69 (m, 2H), 2,96 (d, J=4,5 Гц, 3H), 2,78-2,63 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,03 (s, 4H), 1,49 (d, J=6,5 Гц, 3H).

ПРИМЕРЫ 14 И 15

- 25 6-((3S)-2-(2,6-Диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинитрил и 6-((3R)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинитрил



(14)



(15)

Промежуточные соединения 14А и 15А:

К раствору промежуточного соединения 8D (200 мг, 0,436 ммоль) в диоксане (8 мл) добавляли 6-хлор-4-метил-2-(метиламино)никотинитрил (79 мг, 0,436 ммоль), затем K_3PO_4 (0,291 мл, 0,873 ммоль 3 М водного раствора). Реакционную смесь продували азотом в течение 15 мин при комнатной температуре. Добавляли Xphos Pd G4 (37,6 мг, 0,044 ммоль) в атмосфере азота и нагревали при 80 °С в течение 12 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO_2 , 24 г, 0-10% MeOH/DCM) с получением трет-бутил-(4S)-5-амино-4-(5-(5-циано-4-метил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (75 мг, 0,157 ммоль, выход 36,0%) в виде бесцветного твердого вещества. ЖХМС (способ А): время удерживания 1,59 мин, $[M+H]^+$ 478,2.

15 Примеры 14 и 15:

К раствору трет-бутил-(4S)-5-амино-4-(5-(5-циано-4-метил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (60 мг, 0,126 ммоль) в ацетонитриле (3 мл) при комнатной температуре добавляли бензолсульфокислоту (19,87 мг, 0,126 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 120 °С в течение 45 мин в микроволновом реакторе. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (колонка SiO_2 , 24 г, 0-10% MeOH/DCM) с получением 6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинитрила в виде бесцветного твердого вещества в виде смеси диастереомеров. ЖХМС (способ А): время удерживания 1,22 мин, $[M+H]^+$ 404,1. Диастереомеры разделяли способом SFC (колонка Welk-01(R,R)(250*4,6) мм, 5 мкм; % CO_2 : 45%; % соразтворителя: 5 мМ ацетат аммония в метаноле и ацетонитриле (1:1); расход: 4 г/мин; температура: 30 °С; УФ: 237 нм), элюируемые первыми фракции изомеров при времени удерживания 2,91 мин концентрировали досуха и лиофилизировали с получением 6-((3S)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинитрила (6 мг, выход 12%),

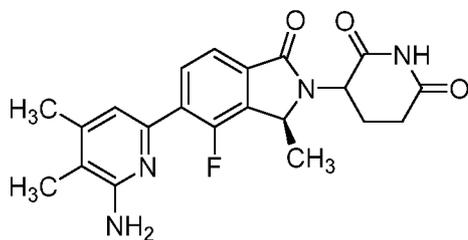
ЖХМС (способ D): время удерживания 2,071 мин, $[M+H]^+$ 404,2; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,27-10,74 (m, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,28 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,77 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,12 (br d, $J=4,5$ Гц, 1H), 4,87 (q, $J=6,2$ Гц, 1H), 4,81-4,71 (m, 1H), 3,00 (d, $J=4.5$ Гц, 3H), 2,68 (s, 1H), 2,44 (s, 3H), 1,72 (s, 3H), 1,52 (d, $J=7,0$ Гц, 3H) и

5 фракции второго пика, элюированные при времени удерживания 4,74 мин, концентрировали и лиофилизировали с получением 6-((3R)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинонитрила (8 мг, выход 16%). ЖХМС (способ D): время удерживания 2,063 мин, $[M+H]^+$ 404,2; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,08-10,87

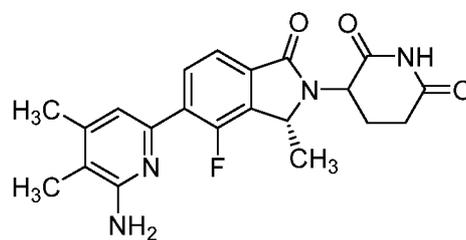
10 (m, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,28 (d, $J=8,3$ Гц, 1H), 7,77 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,19-7,05 (m, 1H), 4,91-4,71 (m, 2H), 2,99 (d, $J=4,5$ Гц, 3H), 2,76-2,57 (m, 3H), 2,44 (s, 3H), 1,71 (s, 1H), 1,49 (d, $J=6,8$ Гц, 3H).

ПРИМЕРЫ 16 И 17

15 3-((S)-5-(6-Амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион и 3-((R)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



(16)



(17)

Промежуточное соединение 16А: 4-Бром-2-этил-3-фторбензойная кислота

20 Раствор 4-бром-2,3-дифторбензойной кислоты (2,0 г, 8,44 ммоль) в тетрагидрофуране (40 мл) охлаждали до -78 °С и по каплям добавляли 1 М раствор этилмагния бромида в THF (8,44 мл, 25,3 ммоль). Реакционной смеси давали достичь комнатной температуры и перемешивали в атмосфере азота в течение 12 ч. Реакцию гасили добавлением MeOH (15 мл) по каплям при 0 °С. Летучие вещества удаляли

25 при пониженном давлении и остаток разделялся между EtOAc и 2 М водной HCl. Слои разделяли и экстрагировали EtOAc. Объединенный органический слой промывали насыщенным солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением

неочищенного продукта. Неочищенный продукт был очищен флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 40 г, 0-80% EtOAc/пет-эфир) с получением 4-бром-2-этил-3-фторбензойной кислоты (1 г, выход 48 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 0,69 мин, [M-H]⁺ 245,1, 247,1; ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,36 (s, 1H), 7,68-7,53 (m, 2H), 2,95 (qd, J = 7,4, 2,6 Гц, 2H), 1,24-1,06 (m, 3H).

Промежуточное соединение 16B: Метил-4-бром-2-этил-3-фторбензоат

К перемешиваемой смеси 4-бром-2-этил-3-фторбензойной кислоты (0,7 г, 2,83 ммоль) и K₂CO₃ (0,783 г, 5,67 ммоль) в ацетоне (15 мл) при комнатной температуре по каплям добавляли диметилсульфат (0,541 мл, 5,67 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 50 °С в течение 14 ч и отфильтровали через целитную прокладку. Фильтрат концентрировали в вакууме и очищали способом флэш-хроматографии (колонка SiO₂, 24 г, 0-50% EtOAc/пет-эфир) с получением метил-4-бром-2-этил-3-фторбензоата (0,51 г, выход 69 %) в виде бесцветного масла. ¹H ЯМР (300 МГц, CHLOROFORM-d) δ 7,58-7,51 (m, 1H), 7,49-7,37 (m, 1H), 3,90 (c, 3H), 3,01 (qd, J = 7,4, 2,6 Гц, 2H), 1,23 (t, J = 7,4 Гц, 3H).

Промежуточное соединение 16C: Метил-4-бром-2-(1-бромэтил)-3-фторбензоат

К перемешиваемому раствору метил-4-бром-2-этил-3-фторбензоата (0,515 г, 1,972 ммоль) в DCE (10 мл) добавляли NBS (0,386 г, 2,170 ммоль) и затем AIBN (0,065 г, 0,394 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 85 °С в течение 15 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали насыщенным 10%-ным раствором тиосульфата натрия и насыщенным соевым раствором. Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Полученный остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 24 г, 0-30% EtOAc/пет-эфир) с получением метил-4-бром-2-(1-бромэтил)-3-фторбензоата (0,6 г, выход 89%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, CHLOROFORM-d) δ 7,70-7,53 (m, 1H), 7,52-7,44 (m, 1H), 6,16-5,87 (m, 1H), 3,93 (c, 3H), 1,95 (dd, J = 7,0, 1,3 Гц, 3H).

Промежуточное соединение 16D: *трет*-Бутил-(4S)-5-амино-4-(5-бром-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

К перемешиваемому раствору метил-4-бром-2-(1-бромэтил)-3-фторбензоата (0,86 г, 2,53 ммоль) и H-Glu(OtBu)-NH₂ HCl (0,845 г, 3,54 ммоль) в ацетонитриле (15 мл) добавляли DIPEA (1,325 мл, 7,59 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 85 °С в течение 15 ч. Летучие вещества удаляли под пониженным давлением и очищали
 5 флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 40 г, 0-10% MeOH/DCM) с получением *трет*-бутил-(4S)-5-амино-4-(5-бром-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (0,23 г, выход 21 %) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЖХМС (способ А): время удерживания 1,19 мин, [M+23H]⁺ 451,3, 453,4.

10 Промежуточное вещество 16Е: *трет*-Бутил-(4S)-5-амино-4-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

К перемешиваемому раствору *трет*-бутил-(4S)-5-амино-4-(5-бром-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (350 мг, 0,815 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) добавляли 3,4-диметил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амин (232
 15 мг, 0,815 ммоль). Смесь продували аргоном в течение пяти минут и добавляли бис(трифенилфосфин)палладий(II) хлорид (57,2 мг, 0,082 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 100 °С в течение 16 ч, охлаждали до комнатной температуры и разбавляли этилацетатом. Смесь промывали соляным раствором, органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в
 20 вакууме с получением неочищенного соединения. Неочищенное соединение очищали флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 24 г, 0-5% MeOH/DCM), объединенные фракции продукта сконцентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-(4S)-5-амино-4-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (270 мг, выход 70,4%) в
 25 виде бледно-коричневого твердого вещества. ЖХМС (способ А): время удерживания 1,64 мин, [M+H]⁺ 471,2 ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,99 (t, J=6,9 Гц, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,47 (br s, 1H), 7,30-7,13 (m, 2H), 6,90 (s, 1H), 5,74 (br d, J=5,3 Гц, 2H), 4,89 (q, J=6,1 Гц, 1H), 4,50-4,37 (m, 1H), 2,31-2,19 (m, 6H), 2,04 (s, 3H), 1,55-1,45 (m, 3H), 1,37 (d, J=2,9 Гц, 9H).

30

Примеры 16 и 17:

К перемешиваемому раствору *трет*-бутил-(4S)-5-амино-4-(5-(6-амино-4,5-

диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (270 мг, 0,574 ммоль) в ацетонитриле (10 мл) добавляли PTSON (218 мг, 1,148 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 120 °С при микроволновом облучении в течение 30 минут. Летучие вещества удаляли под пониженным давлением, полученный неочищенный продукт очищали способом препаративной ВЭЖХ с использованием полярных органических веществ (CELLULOSE-2 [250 x 4,6 мм], 10 mM ацетат аммония в MeOH, поток: 23 мл/мин (изократический градиент)), элюируемые первыми фракции изомеров при времени удерживания 9,73 мин концентрировали досуха и лиофилизировали с получением 3-((S)-5-(6-амино-4,5-
 10 диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диола (60 мг, выход 27%). ЖХМС (способ G): время удерживания 1,83 мин, [M+H]⁺ 397,1; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,10-10,87 (m, 1H), 8,01 (t, J=7,3 Гц, 1H), 7,57 (d, J=8,0 Гц, 1H), 6,92 (d, J=2,0 Гц, 1H), 5,78 (s, 2H), 5,01 (q, J=6,5 Гц, 1H), 4,73 (br dd, J=12,3, 4,8 Гц, 1H), 2,82-2,67 (m, 1H), 2,64-2,55 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,54
 15 (d, J=7,0 Гц, 3H). Фракции второго элюированного пика при времени удерживания 13,96 мин концентрировали досуха и лиофилизировали с получением 3-((R)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диола (70 мг, выход 31%). ЖХМС (способ G): время удерживания 1,84 мин, [M+H]⁺ 397,1; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,07-10,89 (m, 1H), 8,01 (t, J=7,1 Гц, 1H), 7,58 (d, J=8,0 Гц, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,79 (s, 2H), 4,89 (q, J=6,5 Гц, 1H), 4,80 (dd, J=12,6, 5,1 Гц, 1H), 2,94-2,78 (m, 1H), 2,73-2,59 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,51 (d, J=6,8 Гц, 3H).

Способ А: ACQUITY UPLC® BEH C18 (3,0 x 50 мм) 1,7 мкм; Мобильная фаза
 25 А: 95:5 вода:ацетонитрил с 2,5 mM NH₄OAc; Мобильная фаза В: 5:95 вода:ацетонитрил с 2,5 mM NH₄OAc; Температура: 40 °С; градиент: от 20 %В до 100 %В в течение 2 мин; расход: 0,7 мл/мин; Детекция: МС и УФ (220 нм).

Способ В: Колонка: XBridge BEH XP C18 (50 x 2,1) мм, 2,5 мкм; Мобильная фаза А: 95:5 вода:ацетонитрил с 10 mM NH₄OAc; Мобильная фаза В: 5:95
 30 вода:ацетонитрил с 10 mM NH₄OAc; Температура: 50 °С; Градиент: от 0 %В до 100 %В в течение 3 мин; Расход: 1,1 мл/мин; Детекция: МС и УФ (220 нм).

Способ D: Колонка-Kinetex XB-C18 (75 X 3 мм-2,6 мкм); Мобильная фаза А:

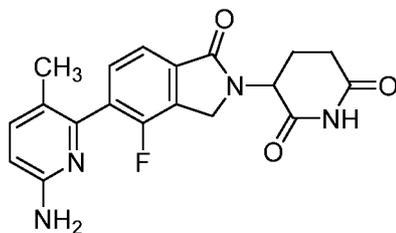
5 мМ NH₄COOH в воде; Мобильная фаза В: ацетонитрил; Градиент: от 10%В до 50%В в течение 3 мин, поток: 1,0 мл/мин; от 50%В до 100%В до 4,1 мин, поток: 1,0 мл/мин; задержка до 4,5 мин; от 4,5 мин до 5,0 мин 90%В поток: 1,5 мл/мин; Детекция: МС и УФ (220 нм).

5 Способ G: Колонка-Kinetex ХВ-С18 (75 X 3 мм-2,6 мкм); Мобильная фаза А: 5 мМ NH₄CO₂H в воде; Мобильная фаза В: ацетонитрил; Градиент: от 20 %В до 100 %В за 4 мин, поток: 1,0 мл/мин; задержка до 4,6 мин, поток: 1,5 мл/мин; задержка до 4,7 мин; от 4,7 мин до 5,0 мин 20 %В, поток: 1,0 мл/мин; Детекция: МС и УФ (220 нм).

10

ПРИМЕР 18

3-(5-(6-Амино-3-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



(18)

15 Пример 18 был синтезирован из 6-хлорпиридин-2-амин и промежуточного соединения 3В по общей методике 2. Неочищенный продукт был очищен способом препаративной ЖХМС (колонка: Waters XBridge С18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 0,98 мин, [M+H]⁺ 369,1; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,04 (s, 1H), 7,77 (br d, J = 7,6 Гц, 2H), 7,74-7,68 (m, 1H), 6,93-6,87 (m, 1H), 5,17 (dd, J = 13,3, 5,1 Гц, 1H), 4,67 (d, J = 17,6 Гц, 1H), 4,55-4,47 (m, 1H), 3,01-2,89 (m, 2H), 2,67-2,61 (m, 2H), 2,47-2,39 (m, 1H), 2,04 (с, 3H).

25

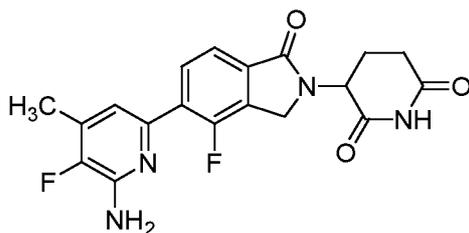
Общая процедура 4:

Смесь арилгалогенида (1 экв.), пинаколового эфира арилбороновой кислоты (1,0 экв.), карбоната калия (1,5 экв.), диоксана (4 мл/ммоль) и воды (0,4 мл/ммоль)

продували аргоном в течение 5 мин при комнатной температуре. Добавляли дихлорметановый комплекс [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладий(II) и нагревали реакционную смесь при 110°C в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли EtOAc и отфильтровали через целитную подушку. Фильтрат промывали соляным раствором, сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали способом флэш-хроматографии. Выделенный продукт растворяли в ацетонитриле, добавляли рTSA-H₂O (2 экв.) и нагревали смесь при 120 °C в течение 1,5 ч в микроволновом реакторе. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали при пониженном давлении и очищали неочищенный продукт способом препаративной ВЭЖХ с получением желаемого продукта.

ПРИМЕР 19

3-(5-(6-Амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



(19)

Промежуточные соединения 19А и 19В: 6-Бром-3-фтор-4-метилпиридин-2-амин и 6-бром-5-фтор-4-метилпиридин-2-амин

К раствору 6-бром-4-метилпиридин-2-амина (2,6 г, 13,90 ммоль) в хлороформе (100 мл) и воде (100 мл) добавляли селектфтор (2,462 г, 6,95 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Реакционную смесь разбавляли DCM (200 мл), промывали соляным раствором, высушивали над безводным Na₂SO₄, отфильтровали и сконцентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 80 г, 0-30% EtOAc/петролейный эфир), получая промежуточное соединение 19А: 6-бром-3-фтор-4-метилпиридин-2-амин (600 мг, выход 19,6%); ЖХМС (способ А): время удерживания 1,21 мин, [M+H]⁺ 207,1. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 6,60 (d, J = 4,2 Гц, 1H), 6,55 (s, 2H), 2,13 (d, J = 1,9 Гц, 3H); и

промежуточное соединение 19В: 6-бром-5-фтор-4-метилпиридин-2-амин (500 мг, выход 4,4%); ЖХМС (способ А): время удерживания 1,14, $[M+H]^+$ 207,1; 1H ЯМР (300 МГц, CHLOROFORM-d) δ 6,25 (d, $J = 4,2$ Гц, 1H), 4,52-4,22 (m, 2H), 2,23 (d, $J = 1,1$ Гц, 3H).

5

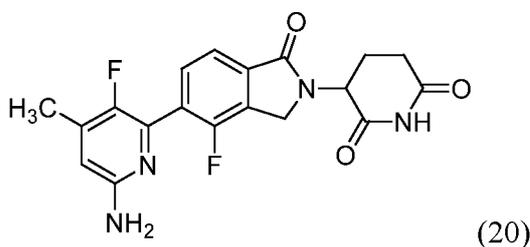
Пример 19:

Пример 19 был синтезирован по общей методике 4 с использованием 6-бром-3-фтор-4-метилпиридин-2-амин и *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(4-фтор-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (синтезирован по методике, приведенной в примере 2, начиная с 4-бром-3-фтор-2-метилбензойной кислоты). Неочищенный продукт очищали препаративной ЖХМС (колонок: YMC EXRS 250 мм x 21 мм, мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин ЖХМС (способ D): время удерживания 1,56 мин, $[M+H]^+$ 387,15; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,02 (s, 1H), 8,09-7,92 (m, 1H), 7,66 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,32-6,78 (m, 1H), 5,14 (dd, $J = 13,8, 5,8$ Гц, 1H), 4,74-4,33 (m, 2H), 2,98-2,86 (m, 1H), 2,68-2,56 (m, 2H), 2,24 (c, 3H), 22,09-2,05 (m, 1H).

20

ПРИМЕР 20

3-(5-(6-Амино-3-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



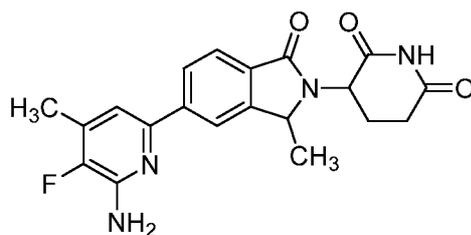
25

Пример 20 был синтезирован по общей методике 4 с использованием 6-бром-5-фтор-4-метилпиридин-2-амин и *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-(4-фтор-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (синтезирован по методике, приведенной в примере 2, начиная с 4-бром-3-фтор-2-

метилбензойной кислоты). Неочищенный продукт очищали препаративной ЖХМС (колонка: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,03 мин, $[M+H]^+$ 387,1; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,04 (s, 1H), 7,74-7,57 (m, 2H), 6,46 (d, $J = 4,5$ Гц, 1H), 5,97 (s, 2H), 5,16 (dd, $J = 5,0, 13,3$ Гц, 1H), 4,65 (d, $J = 17,5$ Гц, 1H), 4,52-4,42 (m, 1H), 3,03-2,86 (m, 1H), 2,68-2,59 (m, 1H), 2,49-2,41 (m, 1H), 2,21 (с, 3H), 2,12-1,99 (m, 1H).

ПРИМЕРЫ 21 И 22

3-(5-(6-Амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



(21-22)

15

Промежуточное соединение 21А: *трет*-бутил-(4*S*)-5-амино-4-(3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

Смесь промежуточного соединения 8D (1,0 г, 2,43 ммоль), ацетата калия (0,239 г, 2,43 ммоль) и биспина (0,617 г, 2,43 ммоль) в безводном DME (15 мл) продували аргоном в течение 10 мин при комнатной температуре. В атмосфере аргона добавляли аддукт PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (0,159 г, 0,195 ммоль). Пробирку герметично закрыли и нагревали смесь при 90°C в течение 12 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, отфильтровали через целитную подушку и сконцентрировали фильтрат при пониженном давлении. Остаток растворяли в диэтиловом эфире и фильтровали через целитную подушку. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-(4*S*)-5-амино-4-(3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (1,0 г, выход 90 %). ЖХМС (способ А):

25

время удерживания 1,70 мин, $[M+H]^+$ 459,1.

Получение 21В и 22В: *трет*-Бутил-(4*S*)-5-амино-4-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноат

- 5 К раствору *трет*-бутил-(4*S*)-5-амино-4-(3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (0,241 г, 0,527 ммоль) в диоксане (10 мл) добавляли 6-бром-3-фтор-4-метилпиридин-2-амин (0,09 г, 0,44 ммоль) и бикарбонат натрия (0,5 М раствор, 2,195 мл, 1,097 ммоль). Реакционную смесь продували азотом в течение 15 мин при комнатной температуре,
- 10 добавляли бис(трифенилфосфин)палладий(II) хлорид (0,031 г, 0,044 ммоль) под азотом и нагревали при 100°C в течение 12 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, отфильтровали через целитную подушку и сконцентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией (колонка SiO₂, 24 г, 50-100% EtOAc/DCM) с получением *трет*-
- 15 бутил-(4*S*)-5-амино-4-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (150 мг) в виде смеси диастереомеров. Разделение диастереомеров проводили способом SFC (колонка Chiral Pak IG (250*4,6) мм, 5 мкм; %CO₂: 45%; % соразтворителя: 5 мМ ацетат аммония в метаноле и ацетонитриле (1:1); расход: 4 г/мин; температура: 30 °C; УФ: 237 нм), элюируемые
- 20 первыми фракции изомеров при времени удерживания 3,4 мин концентрировали досуха для получения *трет*-бутил-(4*S*)-5-амино-4-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (40 мг, выход 20 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,41, $[M+H]^+$ 457,1. Фракции второго пика, элюируемые при времени удерживания 4,6 мин, концентрировали с
- 25 получением *трет*-бутил-(4*S*)-5-амино-4-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (50 мг, выход 25 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,40, $[M+H]^+$ 457,4.

Пример 21:

- 30 К перемешиваемому раствору (4*S*)-5-амино-4-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (0,04 г, 0,088 ммоль) в ацетонитриле (10 мл) добавляли бензолсульфокислоту (0,028 г, 0,175

ммоль). Реакционную смесь нагревали при 120 °С при микроволновом облучении в течение 30 минут. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали при пониженном давлении и очищали способом препаративной ЖХМС (колодка: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,19 мин, $[M+H]^+$ 383,1; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 10,95 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 1,1, 8,1$ Гц, 1H), 7,72 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,17 (d, $J = 4,4$ Гц, 1H), 4,82-4,67 (m, 2H), 2,93-2,79 (m, 1H), 2,71-2,59 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,05-1,96 (m, 1H), 1,48 (d, $J = 6,6$ Гц, 3H).

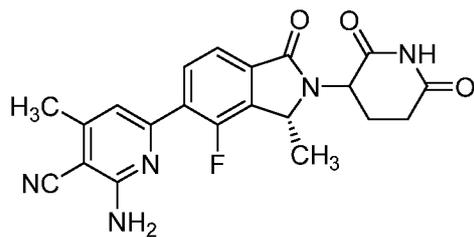
Пример 22:

К перемешиваемому раствору (4*S*)-5-амино-4-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (0,04 г, 0,088 ммоль) в ацетонитриле (10 мл) добавляли бензолсульфокислоту (0,028 г, 0,175 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 120 °С при микроволновом облучении в течение 30 минут. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали препаративной ЖХМС (колодка: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,19 мин, $[M+H]^+$ 383,1; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 10,92 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 1,1, 8,0$ Гц, 1H), 7,70 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,17 (d, $J = 4,3$ Гц, 1H), 6,26 (br s, 2H), 4,83 (q, $J = 6,6$ Гц, 1H), 4,74 (br dd, $J = 4,3, 11,3$ Гц, 1H), 2,83-2,71 (m, 1H), 2,64-2,55 (m, 2H), 2,25 (d, $J = 1,5$ Гц, 3H), 2,09 -1,96 (m, 1H), 1,50 (d, $J = 6,6$ Гц, 3H).

ПРИМЕР 23

2-Амино-6-((3*R*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-

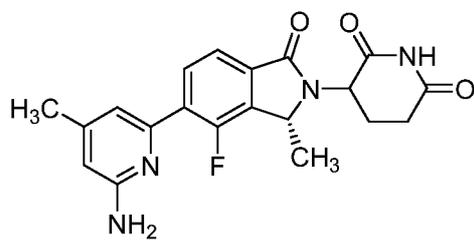
5-ил)-4-метилникотинонитрил



Пример 23 синтезировали из 2-амино-6-хлор-4-метилникотинонитрила и *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-((R)-4-фтор-3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-
 5 диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (синтезирован по методике, приведенной в примере 2, начиная с 4-бром-3-фтор-2-метилбензойной кислоты) по общей методике 4. Неочищенный продукт очищали препаративной ЖХМС (колонок: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,19 мин, [M+H]⁺ 408,0; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,00 (s, 1H), 8,17-7,85 (m, 1H), 7,73-7,52 (m, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,99 (s, 2H), 5,08-4,89 (m, 1H), 4,86-4,72 (m, 1H), 2,90-
 15 2,75 (m, 1H), 2,74-2,58 (m, 2H), 2,42 (s, 3H), 2,12-2,00 (m, 1H), 1,57-1,47 (m, 3H).

ПРИМЕР 24

3-((R)-5-(6-Амино-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



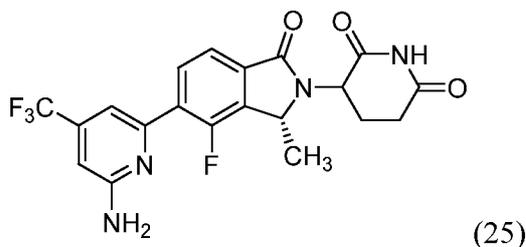
20
 Пример 24 синтезировали из 6-хлор-4-метилпиридин-2-амина и *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-((R)-4-фтор-3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-
 диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (синтезирован по методике, приведенной в примере 2, начиная с 4-бром-3-фтор-2-метилбензойной
 25 кислоты) по общей методике 4. Неочищенный продукт очищали препаративной

ЖХМС (колонка: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,20 мин, $[M+H]^+$ 383,2; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,00 (d, $J = 0,8$ Гц, 1H), 8,01-7,84 (m, 1H), 7,71 (d, $J = 7,8$ Гц, 1H), 6,96 (br d, $J = 1,0$ Гц, 1H), 6,71-6,54 (m, 1H), 4,99-4,91 (m, 1H), 4,87-4,78 (m, 1H), 2,86 (br dd, $J = 4,4, 3,4$ Гц, 1H), 2,75-2,62 (m, 2H), 2,47-2,44 (m, 1H), 2,34 (s, 4H), 1,94 (d, $J = 16,0$ Гц, 1H), 1,53 (d, $J = 6,8$ Гц, 3H).

10

ПРИМЕР 25

3-((*R*)-5-(6-Амино-4-(трифторметил)пиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



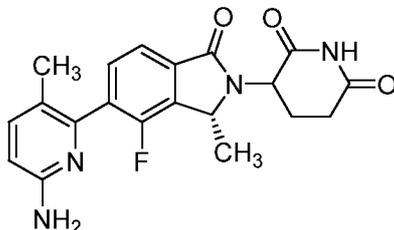
Пример 25 синтезировали из 6-хлор-4-(трифторметил)пиридин-2-амина и *трет*-бутил-(*S*)-5-амино-4-((*R*)-4-фтор-3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (синтезировали по методике, приведенной в примере 2, начиная с 4-бром-3-фтор-2-метилбензойной кислоты) по общей методике 4. Неочищенный продукт очищали препаративной ЖХМС (колонка: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,39 мин, $[M+H]^+$ 438,1; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 10,99 (s, 1H), 8,13-7,95 (m, 1H), 7,65 (d, $J = 7,8$ Гц, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,79 (s, 2H), 4,98-4,88 (m, 1H), 4,86-4,77 (m, 1H), 2,85 (br s, 1H), 2,93-2,78 (m, 1H), 2,72-2,59 (m, 2H), 2,08-2,00 (m, 1H), 1,52 (d, $J = 6,8$ Гц, 3H).

20

25

ПРИМЕР 26

3-((*R*)-5-(6-Амино-3-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион

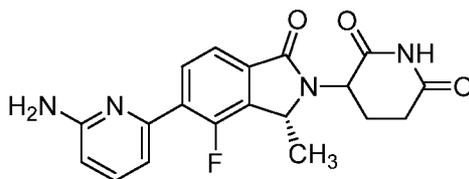


(26)

Пример 26 синтезировали из 6-хлор-5-метилпиридин-2-амина и трет-бутил-
(*S*)-5-амино-4-((*R*)-4-фтор-3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-
диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (синтезировали по
методике, приведенной в примере 2, начиная с 4-бром-3-фтор-2-метилбензойной
10 кислоты) по общей методике 4. Неочищенный продукт очищали препаративной
ЖХМС (колонка: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная
фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В:
95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная
задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при
15 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,07
мин, $[M+H]^+$ 383,1; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,01 (s, 1H), 7,90-7,77 (m, 1H),
7,74-7,61 (m, 2H), 6,86 (br dd, $J = 5.5, 3.9$ Гц, 1H), 4,96 (q, $J = 6.5$ Гц, 1H), 4,84 (dd, $J =$
12,6, 5,1 Гц, 1H), 3,01-2,82 (m, 2H), 2,71-2,60 (m, 2H), 2,12-2,01 (m, 5H), 1,51 (d, $J =$
20 6,6 Гц, 3H).

ПРИМЕР 27

3-((*R*)-5-(6-Аминопиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



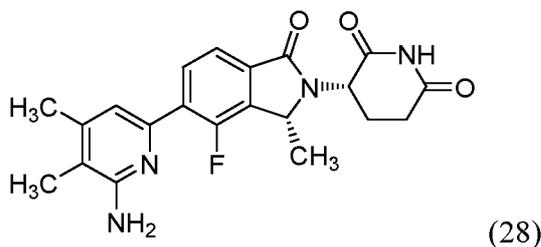
(27)

Пример 27 был синтезирован из 6-хлорпиридин-2-амина и трет-бутил-(*S*)-5-
амино-4-((*R*)-4-фтор-3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-

ил) изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (синтезированного по методике примера 2, начиная с 4-бром-3-фтор-2-метилбензойной кислоты) по общей методике 4. Неочищенный продукт очищали препаративной ЖХМС (колонка: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,01 мин, $[M+H]^+$ 369,1; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,95 (t, $J = 7,1$ Гц, 1H), 7,81-7,62 (m, 2H), 7,22 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,04 (br d, $J = 7,0$ Гц, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,78-6,72 (m, 1H), 4,93 (q, $J = 6,5$ Гц, 1H), 4,82 (dd, $J = 12,4, 5,3$ Гц, 1H), 2,91-2,83 (m, 1H), 2,75-2,60 (m, 2H), 2,36-2,32 (m, 1H), 1,52 (d, $J = 6,8$ Гц, 3H).

ПРИМЕР 28

15 *(R)*-3-*(R)*-5-(6-Амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



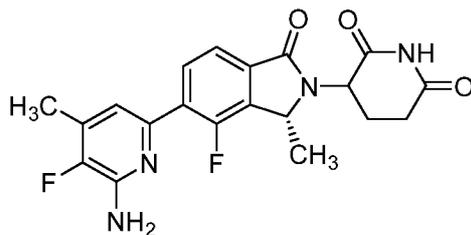
К перемешиваемому раствору примера 17 (250 мг, 0,531 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) добавляли TFA (1 мл, 13,81 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 90 °С в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и неочищенный продукт очищали способом препаративной SFC (Chiral Pak IC (250 X 50) мм, 5 мкм; %CO₂: 50%; % соразтворителя: 50% 5 мМ ацетата аммония в ACN:МЕОН (50:50); расход: 300,0 г/мин; температура: 40 °С; УФ: 240 нм), элюируемые первыми фракции изомеров при времени удерживания 6,9 мин концентрировали досуха и лиофилизировали для получения *(R)*-3-*(R)*-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диона (15 мг, выход 7 %). ЖХМС (способ D): время удерживания 1,28 мин, $[M+H]^+$ 397,1; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 10,97-10,89 (m, 1H), 7,99 (br d, $J = 6,8$ Гц, 1H),

7,57 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,80 (s, 2H), 5,00 (q, $J = 6,7$ Гц, 1H), 4,76-4,67 (m, 1H), 2,82-2,70 (m, 1H), 2,67-2,55 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,03 (s, 4H), 1,53 (d, $J = 6,8$ Гц, 3H).

5

ПРИМЕР 29

3-((R)-5-(6-Амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



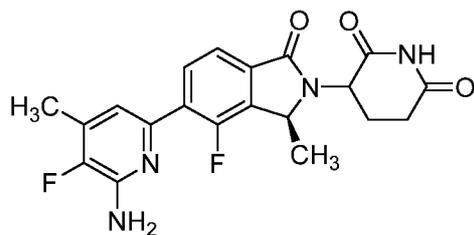
(29)

Пример 29 был синтезирован из 6-хлор-3-фтор-4-метилпиридин-2-амина и *трет*-бутил-(S)-5-амино-4-((R)-4-фтор-3-метил-1-оксо-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)изоиндолин-2-ил)-5-оксопентаноата (синтезировали по методике, приведенной в примере 2, начиная с 4-бром-3-фтор-2-метилбензойной кислоты) по общей методике 4. Неочищенный продукт очищали препаративной ЖХМС (колонка: Waters XBridge C18, 150 мм x 19 мм, частицы 5 мкм; мобильная фаза А: 5:95 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; мобильная фаза В: 95:5 ацетонитрил: вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; градиент: 0-минутная задержка при 10% В, 10-30% В в течение 20 минут, затем 5-минутная задержка при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. ЖХМС (способ В): время удерживания 1,18 мин, $[M+H]^+$ 401,3; 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 10,98 (s, 1H), 7,95 (t, $J = 7,1$ Гц, 1H), 7,60 (d, $J = 7,8$ Гц, 1H), 6,93 (d, $J = 3,3$ Гц, 1H), 4,90 (q, $J = 6,6$ Гц, 1H), 4,80 (dd, $J = 4,9, 12,9$ Гц, 1H), 2,89-2,78 (m, 1H), 2,70-2,60 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,07-1,97 (m, 1H), 1,51 (d, $J = 6,5$ Гц, 3H).

25

ПРИМЕР 30

3-((S)-5-(6-Амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион



(30)

Получение 30А: 3-фтор-4-метил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амин

Перемешиваемый раствор 6-бром-3-фтор-4-метилпиридин-2-амина (0,05 г, 0,24 ммоль) и гексаметилдитина (0,076 мл, 0,366 ммоль) в толуоле (3 мл) продували аргонном в течение пяти минут, после чего добавляли [1,1'-бис(ди-*трет*-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (0,016 г, 0,024 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 ч при 100 °С, охлаждали до комнатной температуры и отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 3-фтор-4-метил-6-(триметилстаннил)пиридин-2-амина (69 мг, выход 82 %). ЖХМС (способ А): время удерживания 1,68, [M+H]⁺ 289,2.

Пример 30:

Реакцию сочетания по Штилле и циклизацию проводили по общей методике 2 с использованием промежуточного соединения 30А и промежуточного соединения 16D. ЖХМС (способ D): время удерживания 1,17 мин, [M+H]⁺ 401,3; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,94 (s, 1H), 7,94 (t, J = 7,3 Гц, 1H), 7,58 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 6,93 (d, J = 3,3 Гц, 1H), 6,31 (br s, 2H), 5,01 (q, J = 6,6 Гц, 1H), 4,72 (dd, J = 4,9, 11,9 Гц, 1H), 2,79-2,67 (m, 1H), 2,64-2,55 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,07-1,98 (m, 1H), 1,53 (d, J = 6,8 Гц, 3H).

20

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АНАЛИЗЫ

Фармакологические свойства соединений по данному изобретению могут быть подтверждены рядом биологических анализов. Приведенные ниже примеры биологических анализов были проведены с соединениями по изобретению.

25

Анализ клеточной деградации Helios

Клетки Jurkat высевали в количестве 80000 клеток/лунку в 40 мкл RPMI + 10% FBS в 384-луночный планшет для культивирования клеток перед использованием

технологии акустического дозирования для добавления интересующего соединения. Культуры клеток инкубировали в течение 72 ч при 37 °С и 5% CO₂. Для облегчения анализа клеточные культуры центрифугировали при 200 об/мин в течение 5 мин и надосадочную жидкость отбрасывали. После встряхивания планшета для удаления

5 клеточных гранул клетки ресуспендировали в 50 мкл фиксирующего буфера (набор буферов eBioScience FoxP3 00-5523-00) в течение 60 мин при комнатной температуре. После центрифугирования и отброса супернатанта клетки пермеабилizировали в 50 мкл буфера для пермеабилizации (eBioScience FoxP3 набор буферов 00-5523-00) в течение 10 мин при комнатной температуре. После

10 пермеабилizации клетки центрифугировали и супернатант заменяли 20 мкл флуоресцентно меченых антител против Helios, Ikaros и Aiolos или соответствующих изотипных контролей в 1x буфере для пермеабилizации (Ikaros-Alexa488 [Biolegend, Cat #368408, 1:50], Helios-PE [CST, Cat #29360, 1:50], Aiolos-Alexa647 [Biolegend, Cat #371106Biolegend, 1:25]), и реакционные смеси для окрашивания инкубировали в

15 течение 1 ч при комнатной температуре, в защищенном от света месте. Затем добавляли 30 мкл 1x пермеабилizационного буфера перед центрифугированием клеток и отбрасывали супернатант. Окрашенные клетки ресуспендировали в 25 мкл буфера для проточной цитометрии (PBS + 0,2%BSA) и анализировали на проточном цитометре Intellicyt Ique Plus.

20

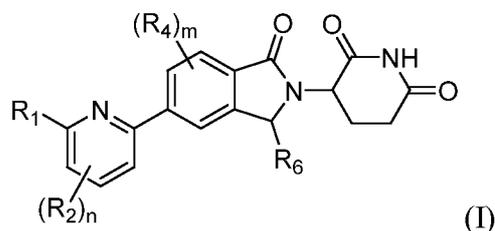
ТАБЛИЦА 4

№. примера	Helios Jurkat IC ₅₀ (мкМ)	Ikaros Jurkat IC ₅₀ (мкМ)
1	1,4	>10
3	0,003	>10
7	0,001	>10
9	0,003	>10
10	0,31	>10
11	0,006	>10
12	0,033	>10
13	2,8	>10
14	1,0	>10

15	0,057	>10
16	0,56	>10
17	0,007	>10
19	0,0035	>10
20	490	>10
21	0,0058	>10
22	0,20	>10
23	0,035	>10
24	0,16	>10
25	1,3	>10
29	0,024	>10
30	0,70	>10

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I):



5 или его соль, где:

R₁ представляет собой –NH₂ или –NH(CH₃);

каждый R₂ независимо представляет собой F, Cl, –CN, C₁₋₄ алкил, –CH₂F, –CHF₂, –CF₃, –OCH₃ или циклопропил;

каждый R₄ независимо представляет собой F, Cl, –CH₃, –CH₂F, –CHF₂, –CF₃ или
10 –OCH₃;

R₆ представляет собой водород, C₁₋₂ алкил или C₁₋₂ фторалкил;

m равно нулю, 1, 2 или 3; и

n равно нулю, 1, 2 или 3;

при условии, что если R₆ представляет собой водород, то m равно 1, 2 или 3.

15

2. Соединение по п. 1 или его соль, где R₁ представляет собой –NH₂.

3. Соединение по п. 1 или его соль, где R₁ представляет собой –NH(CH₃).

20 4. Соединение по любому из пп. 1-3 или его соль, где каждый R₂ независимо представляет собой F, –CN, –CH₃ или –CF₃.

5. Соединение по любому из пп. 1-5 или его соль, где R₆ представляет собой C₁₋₂ алкил, –CH₂F, –CF₂H, –CF₃ или –CH₂CF₃.

25

6. Соединение по любому из пп. 1-5 или его соль, где R₆ представляет собой –CH₃.

7. Соединение по любому из пп. 1-5 или его соль, где:

R₆ представляет собой C₁₋₂ алкил, -CH₂F, -CF₂H, -CF₃ или -CH₂CF₃; и
m равно нулю.

8. Соединение по любому из пп. 1-5 или его соль, где:

5 R₆ представляет собой -CH₃; и
m равно нулю.

9. Соединение по любому из пп. 1-5 или его соль, где
каждый R₄ независимо представляет собой F, -CH₃, -CH₂F или -CF₃.

10

10. Соединение по любому из пп. 1-5 или его соль, где:
каждый R₄ представляет собой F, -CH₃, -CH₂F или -CF₃;
R₆ представляет собой водород; и
m равно 1 или 2.

15

11. Соединение по любому из пп. 1-5 или его соль, где:
каждый R₄ представляет собой F или -CH₃;
R₆ представляет собой водород; и
m равно 1 или 2.

20

12. Соединение по любому из пп. 1-5 или его соль, где:
R₄ представляет собой F или -CH₃;
R₆ представляет собой водород; и
m равно 1.

25

13. Соединение по п. 1 или его соль, где указанное соединение представляет собой:

2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинитрил (1);

30

2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-6-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинитрил (2);

2-амино-6-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинитрил (3);

- 3-(5-(6-амино-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (4);
- 3-(5-(6-амино-4-(трифторэтил)пиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (5);
- 5 3-(4-фтор-5-(4-метил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (6);
- 3-(5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (7);
- 10 3-((*S*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (8);
- 3-((*R*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (9);
- 2-амино-6-((3*S*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (10);
- 15 2-амино-6-((3*R*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (11);
- 3-((*S*)-5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (12);
- 3-((*R*)-5-(4,5-диметил-6-(метиламино)пиридин-2-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (13);
- 20 6-((3*S*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинонитрил (14);
- 6-((3*R*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метил-2-(метиламино)никотинонитрил (15);
- 25 3-((*S*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (16);
- 3-((*R*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (17);
- 3-(5-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (18);
- 30 3-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (19);

3-(5-(6-амино-3-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (20);

3-(5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (21-22);

5 2-амино-6-((3*R*)-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-5-ил)-4-метилникотинонитрил (23);

3-((*R*)-5-(6-амино-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (24);

10 3-((*R*)-5-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (25);

3-((*R*)-5-(6-амино-3-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (26);

3-((*R*)-5-(6-аминопиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (27);

15 (*R*)-3-((*R*)-5-(6-амино-4,5-диметилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (28);

3-((*R*)-5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (29); или

20 3-((*S*)-5-(6-амино-5-фтор-4-метилпиридин-2-ил)-4-фтор-3-метил-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (30).

14. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-11 или его фармацевтически приемлемую соль; и фармацевтически приемлемый носитель.

25

15. Применение соединения по любому из пп. 1-11 для лечения рака.

16. Применение по п. 15, где указанный рак выбран из рака толстой кишки, рака желудка, рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака предстательной железы, рака легких, рака яичников, рака шейки матки, рака почек, рака головы и шеи, лимфомы, лейкемии и меланомы.

30

17. Способ снижения уровней белка Helios, уровня активности Helios или уровня экспрессии Helios в клетках, включающий контакт указанного белка Helios с соединением по любому из пп. 1-11 или его фармацевтически приемлемой солью.

5

18. Способ по п. 17, где белок Helios представляет собой аминокислотную последовательность, кодируемую SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4 или 5.

19. Способ снижения уровней белка Eos, уровня активности Eos или уровня экспрессии Eos в клетках, включающий контакт указанного белка Eos с соединением по любому из пп. 1-11 или его фармацевтически приемлемой солью.

10

20. Способ по п. 19, где белок Eos представляет собой аминокислотную последовательность, кодируемую SEQ ID NO: 7 или 8.

15