

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 047609

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.08.14

(21) Номер заявки
202291965

(22) Дата подачи заявки
2020.12.22

(51) Int. Cl. C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ЗАМЕЩЕННЫЕ ГЕТЕРОАРИЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, ПОЛЕЗНЫЕ В КАЧЕСТВЕ АКТИВАТОРОВ Т-КЛЕТОК

(31) 201911053558

(32) 2019.12.23

(33) IN

(43) 2022.10.11

(86) PCT/US2020/066510

(87) WO 2021/133752 2021.07.01

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Веллапартхи Апендер, Дарне Четан
Падмакар, Олсон Ричард Е. (US),
Джалагам Прасада Рао, Варриер
Джайякумар Санкара (IN)

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

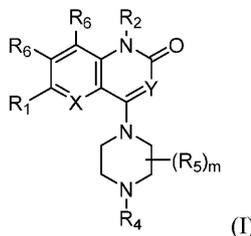
(56) WO-A1-2020071550

WO-A1-2020006018

WO-A1-2020006016

YING JIANG ET AL: "Selectivity of the diacylglycerol kinase inhibitor 3-{2-(4-[bis-(4-fluorophenyl)methylene]-1-piperidinyl)ethyl}-2,3-dihydro-2-thioxo-4(H)quinazolinone (R59949) among diacylglycerol kinase subtypes", BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, vol. 59, no. 7, 1 April 2000 (2000-04-01), pages 763-772, XP055611414, US ISSN: 0006-2952, DOI: 10.1016/S0006-2952(99)00395-0 see chemical structure of the diacylglycerol kinase inhibitors R59022 and R59949

(57) Раскрыты соединения формулы (I):



или его соль, где: X представляет собой N; Y представляет собой N; R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ и m определены в данном документе. Также раскрыты применения таких соединений для ингибирования активности одной или обеих диацилглицеринкиназы альфа (DGKα) и диацилглицеринкиназы дзета (DGKζ), и фармацевтические композиции, содержащие такие соединения. Эти соединения являются полезными при лечении пролиферативных нарушений, таких как рак.

B1

047609

047609

B1

Перекрестная ссылка

Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент Индии № 201911053558, поданной 23 декабря 2019 г., содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Описание

Настоящее изобретение в целом относится к замещенным гетероарильным соединениям, которые активируют Т-клетки, способствуют пролиферации Т-клеток и/или проявляют противоопухолевую активность. В настоящем документе представлены замещенные гетероарильные соединения, композиции, содержащие такие соединения, и способы их применения. Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим, по меньшей мере, одно соединение по изобретению, которые являются полезными для лечения пролиферативных нарушений, таких как рак и вирусные инфекции.

Уровень техники

Формы рака человека содержат многочисленные генетические и эпигенетические изменения, генерирующие неоантигены, потенциально распознаваемые иммунной системой (Sjoblom et al. (2006) *Science* 314:268-74). Адаптивная иммунная система, состоящая из Т- и В-лимфоцитов, обладает мощным противораковым потенциалом с широкой способностью и исключительной специфичностью реагировать на различные опухолевые антигены. Кроме того, иммунная система демонстрирует значительную пластичность и компонент памяти. Успешное использование всех этих свойств адаптивной иммунной системы сделало бы иммунотерапию уникальной среди всех способов лечения рака. Однако, хотя в доклинических моделях и у пациентов наблюдается эндогенный иммунный ответ на рак, этот ответ является неэффективным, и установленные формы рака рассматриваются как "собственные" и допускаются иммунной системой. Способствуя этому состоянию толерантности, опухоли могут применять несколько различных механизмов активного разрушения противоопухолевого иммунитета. Эти механизмы включают дисфункциональную передачу сигналов Т-клетками (Mizoguchi et al., (1992) *Science* 258:1795-98), супрессорные регуляторные клетки (Facciabene et al., (2012) *Cancer Res.* 72:2162-71) и ассимилирование эндогенных "иммунных контрольных точек", которые служат для снижения интенсивности адаптивных иммунных ответов и защиты нормальных тканей от побочного повреждения опухолями, чтобы избежать уничтожения иммунной системой (Topalian et al., (2012) *Curr. Opin. Immunol.* 24:1-6; Mellman et al. (2011) *Nature* 480:480-489).

Диацилглицеринкиназы (DGK) представляют собой липидкиназы, которые опосредуют превращение диацилглицерина в фосфатидную кислоту, тем самым прекращая функции Т-клеток, передающиеся через сигнальный путь TCR. Таким образом, DGK выполняют функцию внутриклеточных контрольных точек, и ожидается, что ингибирование DGK стимулирует сигнальные пути Т-клеток и активацию Т-клеток. Подтверждающие данные включают мышинные модели с нокаутом либо DGK α , либо DGK ζ , которые демонстрируют гиперчувствительный фенотип Т-клеток и улучшенную противоопухолевую иммунную активность (Riese M. J. et al., *Journal of Biological Chemistry*, (2011) 7: 5254-5265; Zha Y et al., *Nature Immunology*, (2006) 12:1343; Olenchock B.A. et al., (2006) 11:1174-81). Кроме того, наблюдалось, что инфилтрирующие опухоль лимфоциты, выделенные от пациентов с почечно-клеточной карциномой человека, сверхэкспрессируют DGK α , что приводит к ингибированию функции Т-клеток (Prinz, P.U. et al., *J Immunology* (2012) 12:5990-6000). Таким образом, DGK α и DGK ζ рассматриваются как мишени для иммунотерапии рака (Riese M.J. et al., *Front Cell Dev Biol.* (2016) 4:108; Chen, S.S. et al., *Front Cell Dev Biol.* (2016) 4:130; Avila-Flores, A. et al., *Immunology and Cell Biology* (2017) 95: 549-563; Noessner, E., *Front Cell Dev Biol.* (2017) 5:16; Krishna, S., et al., *Front Immunology* (2013) 4:178; Jing, W. et al., *Cancer Research* (2017) 77: 5676-5686).

Остается потребность в соединениях, полезных в качестве ингибиторов одной или обеих DGK α и DGK ζ . Кроме того, остается потребность в соединениях, полезных в качестве ингибиторов одной или обеих DGK α и DGK ζ , обладающих селективностью по сравнению с другими диацилглицеринкиназами, протеинкиназами и/или другими липидкиназами. Таким образом, агент, который является безопасным и эффективным для восстановления активации Т-клеток, снижения антигенного порога, усиления противоопухолевого действия и/или преодоления супрессивных эффектов одной или более эндогенных иммунных контрольных точек, таких как PD-1, LAG-3 и TGF β , будет важным дополнением к лечению пациентов с пролиферативными нарушениями, такими как рак, а также вирусными инфекциями.

Сущность изобретения

Заявители обнаружили соединения, обладающие активностью в качестве ингибиторов одной или обеих DGK α и DGK ζ . Кроме того, заявители обнаружили соединения, которые обладают активностью в качестве ингибиторов одной или обеих DGK α и DGK ζ и обладают селективностью по сравнению с другими диацилглицеринкиназами, протеинкиназами и/или другими липидкиназами. Эти соединения предназначены для применения в качестве лекарственных средств с желаемой стабильностью, биодоступностью, терапевтическим индексом и значениями токсичности, которые являются важными для их пригодности в качестве лекарственного средства.

Настоящее изобретение относится к замещенным гетероарильным соединениям формулы (I), кото-

рые являются полезными в качестве ингибиторов DGK α , DGK ζ , или как DGK α , так и DGK ζ , включая их соли и пролекарства.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим соединение формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения заболевания или нарушения, связанного с активностью DGK α , DGK ζ , или как DGK α , так и DGK ζ , при этом способ включает введение пациенту-млекопитающему соединения формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемой соли.

Настоящее изобретение также относится к способам и промежуточным соединениям для получения соединений формулы (I) и/или их солей.

Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемой соли для применения в терапии.

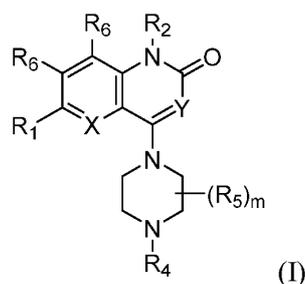
Настоящее изобретение также относится к применению соединений формулы (I) и/или их фармацевтически приемлемых солей для изготовления лекарственного средства для лечения пролиферативных нарушений, таких как рак, и вирусных инфекций.

Соединения формулы (I) и композиции, содержащие соединения формулы (I), могут применяться для терапии, предупреждения или лечения вирусных инфекций и различных пролиферативных нарушений, таких как рак. Фармацевтические композиции, содержащие эти соединения, являются полезными для терапии, предупреждения или замедления прогрессирования заболеваний или нарушений в различных терапевтических областях, таких как вирусные инфекции и рак.

Эти и другие отличительные признаки изобретения будут изложены в развернутой форме по мере продолжения раскрытия.

Подробное описание

Первый аспект настоящего изобретения относится, по меньшей мере, к одному соединению формулы (I):



или его соль, где:

X представляет собой N, и Y представляет собой CR₃; или

X представляет собой N, и Y представляет собой N;

R₁ представляет собой -CN;

R₂ представляет собой -CH₃;

R₃ представляет собой H;

R₄ представляет собой фенил, тиазолил, хинолинил, изохинолинил, бензо[d]оксазолил, бензо[d]тиазазол, имидазо[1,2-a]пиридинил, имидазо[1,2-b]пиридазинил, пиразоло[1,5-a]пиримидинил или тиено[3,2-b]пиридинил, каждый из которых замещен от нуля до 2 R_{4a};

каждый R_{4a} независимо представляет собой F, Br, -OH, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃ или фторфенил;

каждый R₅ независимо представляет собой водород, -CH₃ или -CH₂CH₃;

каждый R₆ представляет собой H; и

m представляет собой ноль, 1, 2 или 3.

В одном варианте осуществления представлено соединение формулы (I) или его соль, где:

X представляет собой N; и

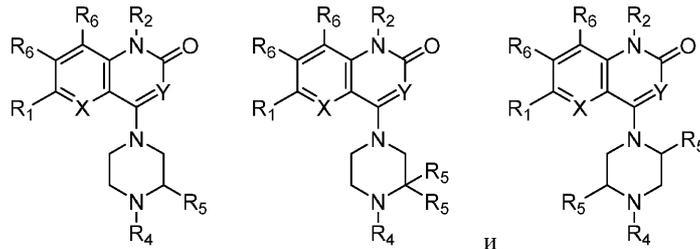
Y представляет собой CR₃.

В одном варианте осуществления представлено соединение формулы (I) или его соль, где: X представляет собой N; и

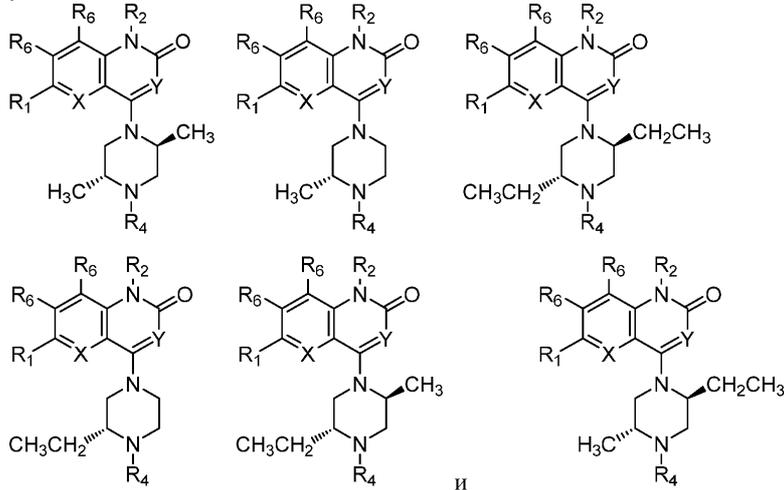
Y представляет собой N.

В одном варианте осуществления представлено соединение формулы (I) или его соль, где m представляет собой 1 или 2.

В одном варианте осуществления представлено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру, выбранную из:



В одном варианте осуществления представлено соединение формулы (I) или его соль, имеющее структуру, выбранную из:



В одном варианте осуществления представлено соединение формулы (I) или его соль, где указанное соединение представляет собой:

- 4-((2S,5R)-2,5-диэтил-4-(4-(трифторметил)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (1);
- 4-((2S,5R)-2,5-диэтил-4-(3-(трифторметил)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (2);
- 4-((2S,5R)-5-этил-4-(3-фтор-4-(трифторметил)фенил)-2-метилпиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (3);
- 4-((2S,5R)-5-этил-2-метил-4-(4-(трифторметокси)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (4);
- (S)-5-метил-8-(2-метил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (5);
- 8-((2S,5R)-4-(6-фторхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (6);

- 8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(тиено[3,2-b]пиридин-3-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (7);
- 8-((2S,5R)-4-(имидазо[1,2-b]пиридазин-3-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (8);
- (S)-5-метил-8-(2-метил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (9);
- 8-((2S,5R)-4-(8-бром-6-метилхинолин-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (10);
- 8-((2S,5R)-4-(изохинолин-1-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (11);
- 8-((2S,5R)-4-(4-бромизохинолин-1-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (12);
- 8-((2S,5R)-4-(5-фторхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (13);
- 8-((2S,5R)-4-(3-бромпиразоло[1,5-a]пиримидин-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (14);
- 8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(7-(трифторметил)хинолин-4-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (15);
- 8-((2S,5R)-4-(5,7-дифторхинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (16);
- 8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(хинолин-4-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (17);
- 8-((2S,5R)-4-(имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (18);
- 8-((2S,5R)-4-(изохинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (19);
- 8-((2S,5R)-4-(бензо[d]оксазол-7-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (20);
- 8-((2S,5R)-4-(3-гидрокси-6-(трифторметокси)хинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (21);
- 8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(2-метилхинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (22);
- 8-((2S,5R)-4-(6-фторхинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (23);
- 8-((2S,5R)-4-(3-метокси-6-метилхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (24);
- 8-((2S,5R)-4-(6-фторбензо[d]тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (25);
- 8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (26); или
- 8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (27).

В одном варианте осуществления представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В одном варианте осуществления представлено применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения рака.

В одном варианте осуществления указанный рак выбран из рака толстой кишки, рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака предстательной железы, рака легких, рака яичников, рака шейки матки, рака почки, рака головы и шеи, лимфомы, лейкоза и меланомы.

В одном варианте осуществления представлено применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для ингибирования активности, по меньшей мере, одной диацилглицеринкиназы, выбранной из диацилглицеринкиназы альфа (DGK α) и диацилглицеринкиназы дзета (DGK ζ).

В одном варианте осуществления представлено соединение формулы (I) или его соль, где указанное соединение представляет собой:

4-((2S,5R)-2,5-диэтил-4-(4-(трифторметил)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (1);

4-((2S,5R)-2,5-диэтил-4-(3-(трифторметил)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (2);

4-((2S,5R)-5-этил-4-(3-фтор-4-(трифторметил)фенил)-2-метилпиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (3);

4-((2S,5R)-5-этил-2-метил-4-(4-(трифторметокси)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (4);

(S)-5-метил-8-(2-метил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (5);

8-((2S,5R)-4-(6-фторхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-

- дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (6);
8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(тиено[3,2-b]пиридин-3-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (7);
8-((2S,5R)-4-(имидазо[1,2-b]пиридазин-3-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (8);
(S)-5-метил-8-(2-метил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (9);
8-((2S,5R)-4-(8-бром-6-метилхинолин-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (10);
8-((2S,5R)-4-(изохинолин-1-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (11);
8-((2S,5R)-4-(4-бромизохинолин-1-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (12);
8-((2S,5R)-4-(5-фторхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (13);
8-((2S,5R)-4-(3-бромпиразоло[1,5-a]пиримидин-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (14);
8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(7-(трифторметил)хинолин-4-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (15);
8-((2S,5R)-4-(5,7-дифторхинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (16);
8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(хинолин-4-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (17);
8-((2S,5R)-4-(имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (18);
8-((2S,5R)-4-(изохинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (19);
8-((2S,5R)-4-(бензо[d]оксазол-7-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (20);
8-((2S,5R)-4-(3-гидрокси-6-(трифторметокси)хинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (21);
8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(2-метилхинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (22);
8-((2S,5R)-4-(6-фторхинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (23);
8-((2S,5R)-4-(3-метокси-6-метилхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (24);
8-((2S,5R)-4-(6-фторбензо[d]тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (25);
8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (26); или
8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (27).

Настоящее изобретение может быть воплощено в других конкретных формах, не отступая от его сущности или существенных признаков. Настоящее изобретение охватывает все комбинации аспектов

и/или вариантов осуществления изобретения, отмеченных здесь. Следует понимать, что любые и все варианты осуществления настоящего изобретения могут быть взяты в сочетании с любым другим вариантом или вариантами осуществления для описания дополнительных вариантов осуществления. Также следует понимать, что каждый отдельный элемент вариантов осуществления предназначен для объединения с любыми и всеми другими элементами любого варианта осуществления для описания дополнительного варианта осуществления.

Определения

Отличительные признаки и преимущества изобретения могут быть более понятны специалистам в данной области техники после прочтения следующего подробного описания. Следует принимать во внимание, что некоторые отличительные признаки изобретения, которые для ясности описаны выше и ниже в контексте отдельных вариантов осуществления, также могут быть объединены для образования одного варианта осуществления. И наоборот, различные отличительные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления, также могут быть объединены для образования их подкомбинаций. Варианты осуществления, обозначенные здесь как иллюстративные или предпочтительные, предназначены для иллюстрации, а не для ограничения.

Если здесь конкретно не указано иное, ссылки, сделанные в единственном числе, могут также включать множественное число.

В контексте данного документа фраза "соединения и/или их соли" относится, по меньшей мере, к одному соединению, по меньшей мере, к одной соли соединений или их комбинации. Например, соединения формулы (I) и/или их соли включают соединение формулы (I); два соединения формулы (I); соль соединения формулы (I); соединение формулы (I) и одну или более солей соединения формулы (I); и две или более соли соединения формулы (I).

Если не указано иное, предполагается, что любой атом с ненасыщенными валентностями содержит атомы водорода, достаточные для насыщения валентностей.

Определения, изложенные в данном документе, имеют приоритет над определениями, изложенными в любом патенте, патентной заявке и/или публикации патентной заявки, включенной в настоящий документ посредством ссылки.

Ниже перечислены определения различных терминов, применяемых для описания настоящего изобретения. Эти определения применяются к терминам в том виде, в каком они применяются в описании (если они не ограничены иным образом в конкретных случаях) либо по отдельности, либо как часть более крупной группы.

Во всем описании группы и их заместители могут быть выбраны специалистом в данной области для получения стабильных фрагментов и соединений.

В соответствии с соглашением, применяемым в данной области техники,

⋈—

применяется в структурных формулах в настоящем документе для обозначения связи, которая является точкой присоединения фрагмента или заместителя к структуре ядра или основной цепи.

Термины "гало" и "галоген" в контексте данного документа относятся к F, Cl, Br и I.

Термин "циано" относится к группе -CN.

Термин "амино" относится к группе -NH₂.

Термин "оксо" относится к группе =O.

В контексте данного документа термин "алкил" относится к насыщенным алифатическим углеводородным группам как с разветвленной, так и с прямой цепью, 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 изопропил), бутил (например, n-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил) и пентил (например, n-пентил, изопентил, неопентил), n-гексил, 2-метилпентил, 2-этилбутил, 3-метилпентил и 4-метилпентил. Когда числа появляются в нижнем индексе после символа "C", нижний индекс более конкретно определяет количество атомов углерода, которое может содержать данная группа. Например, "C₁₋₄алкил" обозначает алкильные группы с прямой и разветвленной цепью, содержащие от одного до четырех атомов углерода.

В контексте данного документа термин "фторалкил" предназначен для включения насыщенных алифатических углеводородных групп как с разветвленной, так и с прямой цепью, замещенных одним или более атомами фтора. Например, "C₁₋₄фторалкил" предназначен для включения C₁, C₂, C₃ и C₄ алкильных групп, замещенных одним или более атомами фтора. Типичные примеры фторалкильных групп включают, но не ограничиваются ими, -CF₃ и -CH₂CF₃.

Термин "гидроксиалкил" включает насыщенные алкильные группы как с разветвленной, так и с прямой цепью, замещенные одной или более гидроксильными группами. Например, "гидроксиалкил" включает -CH₂OH, -CH₂CH₂OH и C₁₋₄гидроксиалкил.

Термин "алкенил" относится к углеводородному радикалу с прямой или разветвленной цепью, содержащему от 2 до 12 атомов углерода и, по меньшей мере, одну углерод-углеродную двойную связь. Примеры таких групп включают этенил или аллил. Например, "C₂₋₆алкенил" обозначает алкенильные

группы с прямой и разветвленной цепью, содержащие от двух до шести атомов углерода.

Термин "алкинил" относится к углеводородному радикалу с прямой или разветвленной цепью, содержащему от 2 до 12 атомов углерода и по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь. Примеры таких групп включают этинил. Например, "C₂₋₆алкинил" обозначает алкинильные группы с прямой и разветвленной цепью, содержащие от двух до шести атомов углерода.

В контексте данного документа термин "циклоалкил" относится к группе, образованной из молекулы неароматического моноциклического или полициклического углеводорода путем удаления одного атома водорода от насыщенного кольцевого атома углерода. Типичные примеры циклоалкильных групп включают, но не ограничиваются ими, циклопропил, циклопентил и циклогексил. Когда числа появляются в нижнем индексе после символа "C", нижний индекс более конкретно определяет количество атомов углерода, которое может содержать данная циклоалкильная группа. Например, "C₃₋₆циклоалкил" обозначает циклоалкильные группы с от трех до шести атомами углерода. В контексте данного документа термин "фторциклоалкил" предназначен для включения циклоалкильной группы, замещенной одним или более атомами фтора.

В контексте данного документа термин "алкокси" относится к алкильной группе, присоединенной к исходному молекулярному фрагменту через атом кислорода, например, к метоксигруппе (-OCH₃). Например, "C₁₋₃алкокси" обозначает алкоксигруппы с от одного до трех атомами углерода.

Термины "фторалкокси" и "-О(фторалкил)" представляют собой фторалкильную группу, как определено выше, присоединенную через кислородную связь (-O-). Например, предполагается, что "C₁₋₄фторалкокси" предназначен для включения фторалкоксигрупп C₁, C₂, C₃ и C₄.

Термины "карбоцикло", "карбоциклический" или "карбоциклильный" могут применяться взаимозаменяемо и относятся к циклическим группам, содержащим, по меньшей мере, одно насыщенное или частично насыщенное неароматическое кольцо, где все атомы всех колец представляют собой углерод. Карбоциклическое кольцо может быть незамещенным или может содержать один или более заместителей в зависимости от валентности. Таким образом, термин включает неароматические кольца, такие как, например, циклоалкильные, циклоалкенильные и циклоалкинильные кольца. Типичные бициклические карбоциклильные группы включают инданил, инденил, дигидронафталенил, тетрагидронафтенил, гексагидронафталенил, октагидронафталенил, декагидронафталенил, бициклогептанил, бициклооктанил и бициклононанил.

В контексте данного документа термин "арил" относится к группе атомов, образованных из молекулы, содержащей ароматическое кольцо (кольца), путем удаления одного атома водорода, который связан с ароматическим кольцом (кольцами). Типичные примеры арильных групп включают, но не ограничиваются ими, фенил и нафталенил. Арильное кольцо может быть незамещенным или может содержать один или более заместителей в зависимости от валентности.

В контексте данного документа термин "бензил" относится к метильной группе, в которой один из атомов водорода заменен фенильной группой. Фенильное кольцо может быть незамещенным или может содержать один или более заместителей в зависимости от валентности.

Термин "гетероатом" относится к кислороду (O), сере (S) и азоту (N).

Термины "гетероцикло", "гетероциклический" или "гетероциклильный" могут применяться взаимозаменяемо и относятся к циклическим группам, содержащим, по меньшей мере, одно насыщенное или частично насыщенное неароматическое кольцо, и где одно или более колец содержит, по меньшей мере, один гетероатом (O, S или N), при этом указанное кольцо, содержащее гетероатом, предпочтительно содержит от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из O, S и/или N. Кольцо такой группы, содержащей гетероатом, может содержать один или два атома кислорода или серы и/или от одного до четырех атомов азота при условии, что общее число гетероатомов в каждом кольце равно четырем или менее, и дополнительно при условии, что кольцо содержит, по меньшей мере, один атом углерода. Атомы азота и серы могут быть необязательно окислены, и атомы азота могут быть необязательно кватернизованы. Гетероциклогруппа может быть присоединена к любому доступному атому азота или углерода. Гетероциклокольцо может быть незамещенным или может содержать один или более заместителей в зависимости от валентности.

Типичные моноциклические гетероциклильные группы включают пирролидинил, имидазолинил, оксазолидинил, изоксазолинил, тиазолидинил, изотиазолидинил, тетрагидрофуранил, пиперидинил, пиперазинил, 2-оксопиперазинил, 2-оксопиперидинил, 2-оксопирролодинил, 2-оксоазепинил, азепинил, 4-пиперидонил, тетрагидропиранил, морфолинил, тиаморфолинил, тиаморфолинилсульфоксид, тиаморфолинилсульфон, 1,3-диоксолан, тетрагидро-1,1-диоксоетиенил, дигидроизоиндолил и тетрагидрохинолинил. Термин "гетероарил" относится к незамещенным и замещенным ароматическим группам, которые содержат по меньшей мере один гетероатом (O, S или N) по меньшей мере в одном из колец, при этом указанное кольцо, содержащее гетероатом, предпочтительно содержит 1, 2 или 3 гетероатома, независимо выбранных из O, S и/или N. Каждое кольцо гетероарильной группы, содержащее гетероатом, может содержать один или два атома кислорода или серы и/или от одного до четырех атомов азота при условии, что общее число гетероатомов в каждом кольце равно четырем или менее, и каждое кольцо содержит по меньшей мере один атом углерода. 5-14-членные гетероарильные группы включают 5- или 6-членные

моноциклические гетероарильные группы, 9- или 10-членные бициклические гетероарильные группы и 11-14-членные трициклические гетероарильные группы. Конденсированные кольца, завершающие бициклическую группу и трициклическую гетероарильную группу, являются ароматическими и могут содержать только атомы углерода. Атомы азота и серы могут быть необязательно окислены, и атомы азота могут быть необязательно кватернизованы. Бициклические и трициклические гетероарильные группы должны включать только ароматические кольца. Гетероарильная группа может быть присоединена к любому доступному атому азота или углерода любого кольца. Гетероарильная кольцевая система может быть незамещенной или может содержать один или более заместителей.

Типичные моноциклические гетероарильные группы включают пирролил, пиразолил, пиразолинил, имидазолил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, тиадиазолил, изотиазолил, фуранил, тиофенил, оксадиазолил, пиридилил, пиразинил, пиримидинил, пиридазинил и триазинил.

Типичные бициклические гетероарильные группы включают индолил, бензотиазолил, бензодиоксолил, бензоксазолил, бензотиенил, хинолинил, тетрагидроизохинолинил, изохинолинил, бензимидазолил, бензопиранил, индолизинил, бензофуранил, хромонил, кумаринил, бензопиранил, циннолинил, хиноксалинил, индазолил и пирролопиридил.

Типичные трициклические гетероарильные группы включают акридинил, бензохинолинил, бензоизохинолинил и бензоафтиридинил.

Фраза "фармацевтически приемлемый" применяется здесь для обозначения тех соединений, веществ, композиций и/или лекарственных форм, которые, в рамках здравого медицинского суждения, являются подходящими для применения в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соответствующих разумному соотношению польза/риск.

Соединения формулы (I) могут образовывать соли, которые также входят в объем настоящего изобретения. Если не указано иное, подразумевается, что ссылка на соединение по изобретению включает ссылку на одну или более его солей. Термин "соль(и)" обозначает кислые и/или основные соли, образованные с неорганическими и/или органическими кислотами и основаниями. Кроме того, термин "соль(и)" может включать цвиттер-ионы (внутренние соли), например, когда соединение формулы (I) содержит как основной фрагмент, такой как аминовое, или пиридиновое, или имидазольное кольцо, так и кислотный фрагмент, например, карбоновую кислоту. Предпочтительными являются фармацевтически приемлемые (то есть, нетоксичные, физиологически приемлемые) соли, такие как, например, приемлемые соли металлов и аминов, в которых катион не вносит значительного вклада в токсичность или биологическую активность соли. Однако могут быть полезны и другие соли, например, на стадиях выделения или очистки, которые могут применяться во время получения и, таким образом, рассматриваются в рамках объема изобретения. Соли соединений формулы (I) могут быть образованы, например, путем взаимодействия соединения формулы (I) с некоторым количеством кислоты или основания, таким как эквивалентное количество, в среде, такой как среда, в которой осадки солей или в водной среде с последующей лиофилизацией.

Примерные соли присоединения кислоты включают ацетаты (например, образующиеся с уксусной кислотой или тригалогенуксусной кислотой, например, трифторуксусной кислотой), адипаты, альгинаты, аскорбаты, аспартаты, бензоаты, бензолсульфонаты, бисульфаты, бораты, бутираты, цитраты, камфораты, камфорсульфонаты, циклопентанпропионаты, диглюконаты, додецилсульфаты, этансульфонаты, fumarаты, глюкогептаноаты, глицерофосфаты, гемисульфаты, гептаноаты, гексаноаты, гидрохлориды (образованные с хлористоводородной кислотой), гидробромиды (образованные с бромидом водорода), гидроиодиды, малеаты (образованные с малеиновой кислотой), 2-гидроксиэтансульфонаты, лактаты, метансульфонаты (образованные с метансульфоновой кислотой), 2-нафталинсульфонаты, никотинаты, нитраты, оксалаты, пектинаты, персульфаты, 3-фенилпропионаты, фосфаты, пикраты, пивалаты, пропионаты, салицилаты, сукцинаты, сульфаты (например, образованные с серной кислотой), сульфонаты (например, упомянутые здесь), тартраты, тиоцианаты, толуолсульфонаты, такие как тозилаты, ундеканаты и тому подобное.

Примерные основные соли 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 с органическими основаниями (например, органическими аминами), такие как триалкиламины, такие как триэтиламин, прокаин, дибензиламин, N-бензил-β-фенэтиламин, 1-эфенамин, N,N'-дибензилэтилендиамин, дегидроабиетиламин, N-этилпиперидин, бензиламин, дициклогексиламин или аналогичные фармацевтически приемлемые амины и соли с аминокислотами, такими как аргинин, лизин и тому подобное. Основные азотсодержащие группы могут быть кватернизованы такими агентами, как низшие алкилгалогениды (например, метил, этил, пропил и бутилхлориды, бромиды и иодиды), диалкилсульфаты (например, диметил, диэтил, дибутил и диамилсульфаты), галогениды с длинной цепью (например, децил, лаурил, миристил и стеарилхлориды, бромиды и иодиды), аралкилгалогениды (например, бензил и фенэтилбромиды) и другие. Предпочтительные соли включают моногидрохлорид, гидросульфат, метансульфонат, фосфат или нитратные соли.

Соединения формулы (I) могут быть представлены в виде аморфных твердых веществ или кристал-

лических твердых веществ. Лиофилизация может применяться для получения соединений формулы (I) в виде твердого вещества.

Кроме того, следует принять во внимание, что сольваты (например, гидраты) соединений формулы (I) также входят в объем настоящего изобретения. Термин "сольват" означает физическую ассоциацию соединения формулы (I) с одной или более молекулами растворителя, органического или неорганического. Эта физическая ассоциация включает водородную связь. В некоторых случаях сольват возможно выделить, например, когда одна или более молекул растворителя включены в кристаллическую решетку кристаллического твердого вещества. "Сольват" включает как сольваты в фазе раствора, так и выделяемые сольваты. Примеры сольватов включают гидраты, этанолаты, метанолаты, изопропанолаты, сольваты с ацетонитрилом и сольваты с этилацетатом. Способы сольватации известны в данной области техники.

Различные формы пролекарств хорошо известны в данной области 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 для получения композиции, содержащей количество по массе, равное или превышающее 99% соединения формулы (I) ("практически чистое"), которая затем применяется или составляется, как описано в настоящем документе. Такие "практически чистые" соединения формулы (I) также рассматриваются здесь как часть настоящего изобретения. "Стабильное соединение" и "стабильная структура" предназначены для обозначения соединения, которое является достаточно устойчивым, чтобы выдержать выделение до полезной степени чистоты из реакционной смеси и приготовление в виде эффективного терапевтического агента. Настоящее изобретение предназначено для воплощения стабильных соединений.

"Терапевтически эффективное количество" предназначено для включения количества соединения по настоящему изобретению отдельно, или количества комбинации заявленных соединений, или количества соединения по настоящему изобретению в комбинации с другими активными ингредиентами, эффективного для действия в качестве ингибитора DGK α и/или DGK ζ , или эффективного для лечения или предупреждения вирусных инфекций и пролиферативных нарушений, таких как рак.

В контексте данного документа термины "лечение" или "терапия" охватывают лечение болезненного состояния у млекопитающего, в частности, у человека, и включает: (a) предупреждение возникновения болезненного состояния у млекопитающего, в частности, когда такое млекопитающее предрасположено к болезненному состоянию, но еще не диагностировано как имеющее его; (b) ингибирование болезненного состояния, то есть, купирование его развития; и/или (c) облегчение болезненного состояния, то есть, вызывание регрессии болезненного состояния.

Предполагается, что соединения по настоящему изобретению включают все изотопы атомов, встречающиеся в соединениях по настоящему изобретению. 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 ^{13}C и ^{14}C . Соединения по изобретению, меченые изотопами, как правило, могут быть получены путем общепринятых методик, известных специалистам в данной области, или способов, аналогичных описанным в настоящем документе, с применением соответствующего реагента, меченного изотопами, вместо немеченого реагента, применяемого в других случаях.

Соединения в соответствии с формулой (I) и/или их фармацевтически приемлемые соли могут быть введены любыми способами, подходящими для состояния, подлежащего лечению, которое может зависеть от необходимости лечения в конкретном месте или количества соединения формулы (I), которое необходимо ввести.

Данное изобретение также охватывает класс фармацевтических композиций, содержащих соединения формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемые соли и один или более нетоксичных, фармацевтически приемлемых носителей, и/или разбавителей, и/или адъювантов (совместно именуемых в настоящем документе "веществами-носителями") и, при желании, другие активные ингредиенты. Соединения формулы (I) могут быть введены любым подходящим путем, предпочтительно, в форме фармацевтической композиции, адаптированной к такому пути, и в дозе, эффективной для предполагаемого лечения. Соединения и композиции по настоящему изобретению могут быть введены, например, перорально, через слизистую оболочку или парентерально, включая внутрисосудистое, внутривенное, внутрибрюшинное, подкожное, внутримышечное и интратермальное введение в виде стандартных лекарственных форм, содержащих общепринятые фармацевтически приемлемые носители, адъюванты и среды. Например, фармацевтический носитель может содержать смесь маннита или лактозы и микрокристаллической целлюлозы. Смесь может содержать дополнительные компоненты, такие как смазывающий агент, то есть, стеарат магния, и агент для улучшения распадаемости, такой как кросповидон. Смесь носителя и смазывающего агента может быть помещена в желатиновую капсулу или спрессована в виде таблетки. Фармацевтическая композиция может быть введена, например, в виде пероральной лекарственной формы или инфузии.

Для перорального введения фармацевтическая композиция может быть в форме, например, таблетки, капсулы, жидкой капсулы, суспензии или жидкости. Фармацевтическую композицию предпочтительно изготавливают в виде единицы дозирования, 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 широко варьироваться в зависимости от состояния пациента и других факторов, но может быть определена с помощью стандартных методик.

Любая рассматриваемая здесь фармацевтическая композиция может, например, быть доставлена перорально посредством любых приемлемых и подходящих пероральных лекарственных средств. Типичные пероральные препараты включают, но не ограничиваются ими, например, таблетки, троше, пастилки, водные и масляные суспензии, диспергируемые порошки или гранулы, эмульсии, твердые и мягкие капсулы, жидкие капсулы, сиропы и эликсиры. Фармацевтические композиции, предназначенные для перорального введения, могут быть приготовлены любыми способами, известными в данной области техники для изготовления фармацевтических композиций, предназначенных для перорального введения. Для получения фармацевтически привлекательных лекарственных средств фармацевтическая композиция по изобретению может содержать по меньшей мере один агент, выбранный из подсластителей, ароматизаторов, красителей, смягчающих средств, антиоксидантов и консервантов.

Таблетка может быть, например, приготовлена путем смешивания, по меньшей мере, одного соединения формулы (I) и/или, по меньшей мере, одной его фармацевтически приемлемой соли, по меньшей мере, с одним нетоксичным фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, пригодным для изготовления таблеток. Иллюстративные вспомогательные вещества включают, но не ограничиваются ими, например, инертные разбавители, такие как, например, карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция и фосфат натрия; гранулирующие и дезинтегрирующие агенты, такие как, например, микрокристаллическая целлюлоза, кроскармеллоза натрия, кукурузный крахмал и альгиновая кислота; связующие агенты, такие как, например, крахмал, желатин, поливинилпирролидон и аравийская камедь; и смазывающие агенты, такие как, например, стеарат магния, стеариновая кислота и тальк. Кроме того, таблетка может быть либо непокрытой оболочкой, либо покрытой известными способами либо для маскировки неприятного вкуса лекарственного средства с неприятным вкусом, либо для замедления распада и всасывания активного ингредиента в желудочно-кишечном тракте, тем самым поддерживая действие активного ингредиента в течение более длительного периода. Примеры водорастворимых веществ, маскирующих вкус, включают, но не ограничиваются ими, гидроксипропилметилцеллюлозу и гидроксипропилцеллюлозу. Примеры веществ с временной задержкой включают, но не ограничиваются ими, этилцеллюлозу и бутират ацетата целлюлозы.

Твердые желатиновые капсулы могут быть приготовлены, например, путем смешивания 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 и каолин.

Мягкие желатиновые капсулы могут быть приготовлены, 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 водорастворимым носителем, таким как, например, полиэтиленгликоль; и по меньшей мере одной масляной средой, такой как, например, арахисовое масло, жидкий парафин и оливковое масло.

Водная суспензия может быть приготовлена, 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 вспомогательным веществом, подходящим для приготовления водной суспензии. Иллюстративные вспомогательные вещества, подходящие для изготовления водной суспензии, включают, но не ограничиваются ими, например, суспендирующие агенты, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза натрия, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, альгинат натрия, альгиновая кислота, поливинилпирролидон, трагакантовая камедь и аравийская камедь; диспергирующие или смачивающие агенты, такие как, например, встречающийся в природе фосфатид, например, лецитин; продукты конденсации оксида алкилена с жирными кислотами, такие как, например, полиоксиэтиленстеарат; продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, такие как, например, гептадекаэтилен-оксицетанол; продукты конденсации этиленоксида с неполными сложными эфирами жирных кислот и гекситола, такие как, например, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат; и продукты конденсации этиленоксида с неполными сложными эфирами жирных кислот и ангидридами гекситола, такие 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, например, сахарозу, сахарин и аспартам.

Масляные суспензии могут быть приготовлены, например, путем суспендирования по меньшей мере одного соединения формулы (I) и/или по меньшей мере одной его фармацевтически приемлемой соли либо 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 загущающий агент, такой как, например, пчелиный воск,

твердый парафин и цетиловый спирт. Чтобы получить приятную на вкус масляную суспензию, к масляной суспензии может быть добавлен по меньшей мере один из подсластителей, уже описанных выше, и/или, по меньшей мере, один ароматизатор. Масляная суспензия может дополнительно содержать, по меньшей мере, один консервант, включая, но не ограничиваясь этим, например, антиоксидант, такой как, например, бутилированный гидроксанизол и альфа-токоферол.

Диспергируемые порошки и гранулы могут быть приготовлены, 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 агентом, по меньшей мере одним суспендирующим агентом и/или по меньшей мере одним консервантом. Подходящие диспергирующие агенты, смачивающие агенты и суспендирующие агенты уже описаны выше. Иллюстративные консерванты включают, но не ограничиваются ими, например, антиоксиданты, например, аскорбиновую кислоту. Кроме того, диспергируемые порошки и гранулы также могут содержать по меньшей мере одно вспомогательное вещество, включая, но не ограничиваясь ими, например, подсластители, ароматизаторы и красители.

Эмульсия по меньшей мере одного соединения формулы (I) и/или по меньшей мере одной его фармацевтически приемлемой соли может быть приготовлена, например, в виде эмульсии масло-в-воде. Масляная фаза эмульсий, содержащих соединения формулы (I), может быть составлена из известных ингредиентов известным способом. Масляная фаза может быть представлена, но не ограничивается ими, например, растительным маслом, таким как, например, оливковое масло и арахисовое масло, 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 как с жиром, так и с маслом. Подходящие эмульгаторы включают, но не ограничиваются ими, например, встречающиеся в природе фосфатиды, например, соевый лецитин, сложные эфиры или неполные сложные эфиры, полученные из жирных кислот и ангидридов гекситола, такие как, например, сорбитан моноолеат, и продукты конденсации неполных сложных эфиров с оксидом этилена, такие как, например, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат. Предпочтительно, гидрофильный эмульгатор включают вместе с липофильным эмульгатором, который действует как стабилизатор. Также предпочтительно включать как масло, так и жир. Вместе эмульгатор(ы) со стабилизатором(ами) или без него составляют так называемый эмульгирующий воск, и воск вместе с маслом и жиром составляют так называемую эмульгирующую мазевую основу, которая образует масляную дисперсную фазу рецептуры кремов. Эмульсия может также содержать подсластитель, ароматизатор, консервант и/или антиоксидант. Эмульгаторы и стабилизаторы эмульсий, подходящие для применения в составе по настоящему изобретению, включают Tween 60, Span 80, цетостеариловый спирт, миристиловый спирт, глицерилмоностеарат, лаурилсульфат натрия, глицерилдистеарат отдельно или с воском или другие вещества, хорошо известные в данной области.

Соединения формулы (I) и/или по меньшей мере одна их фармацевтически приемлемая соль также могут вводиться, например, внутривенно, подкожно и/или внутримышечно в любой фармацевтически приемлемой и подходящей форме для инъекций. Примеры инъекционных форм 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 масло-в-воде и водные или масляные суспензии.

Составы для парентерального введения могут быть в форме водных или неводных изотонических стерильных инъекционных растворов или суспензий. Эти растворы и суспензии могут быть приготовлены из стерильных порошков или гранул с применением одного или более носителей или разбавителей, упомянутых для применения в составах для перорального введения, или с применением других подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. 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 адъюванты и способы введения хорошо и широко известны в области фармацевтики. Активный ингредиент также может быть введен путем инъекции в виде композиции с подходящими носителями, включая физиологический раствор, декстрозу или воду, или с циклодекстрином (например, каптисолом), солюбилизацией соразработителем (например, пропиленгликолем) или мицеллярной солюбилизацией (например, Tween 80).

Стерильное лекарственное средство для инъекций также может представлять собой стерильный раствор или суспензию для инъекций в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. В число приемлемых носителей и растворителей, которые могут применяться, входят вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно применяют стерильные нелетучие масла. Для этой цели может применяться любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, жирные кислоты, такие как олеиновая кислота, находят применение при приготовлении инъекционных лекарственных средств.

Стерильная микроэмульсия масло-в-воде для инъекций может быть получена, 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 соединение формулы (I), со смесью воды и глицерина; и 3) обработки комбинации с образованием микроэмульсии.

Стерильная водная или масляная суспензия может быть приготовлена в соответствии со способами, уже известными в данной области. Например, стерильный водный раствор или суспензия может быть приготовлен с нетоксичным парентерально приемлемым разбавителем или растворителем, таким как, например, 1,3-бутандиол; и стерильная масляная суспензия может быть приготовлена со стерильным нетоксичным приемлемым растворителем или суспендирующей средой, такой как, например, стерильные нелетучие масла, например, синтетические моно- или диглицериды, и жирные кислоты, такие как, например, олеиновая кислота.

Фармацевтически приемлемые носители, адъюванты и несущие среды, которые могут применяться в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, самоэмульгирующиеся системы лекарственной доставки (SEDDS), такие как d-альфа-токоферола полиэтиленгликоль 1000 сукцинат, поверхностно-активные вещества, применяемые в фармацевтических дозированных лекарственных формах, таких как Tweens, полиэтоксифирированное касторовое масло, такое как поверхностно-активное вещество CREMOPHOR (BASF), или другие подобные полимерные матрицы для доставки, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, неполные глицериды, смеси насыщенных растительных жирных кислот, вода, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, динатрий гидрофосфат, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлоза натрия, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропилен-блок-полимеры, полиэтиленгликоль и ланолин. Циклодекстрины, такие как альфа-, бета- и гамма-циклодекстрин, или химически модифицированные производные, такие как гидроксиалкилциклодекстрины, включая 2- и 3-гидроксипропилциклодекстрины, или другие сольбуилизированные производные, также могут успешно применяться для улучшения доставки соединений формул, описанных в настоящем документе.

Фармацевтически активные соединения по настоящему изобретению могут быть переработаны в соответствии с общепринятыми методиками фармации для получения лекарственных средств для введения пациентам, включая людей и других млекопитающих. Фармацевтические композиции могут быть подвергнуты обычным фармацевтическим операциям, таким как стерилизация, и/или могут содержать известные адъюванты, такие как консерванты, стабилизаторы, смачивающие агенты, эмульгаторы, буферы и так далее. Таблетки и пилюли могут быть дополнительно изготовлены с энтеросолюбильным покрытием. Такие композиции могут также содержать адъюванты, такие как смачивающие, подслащающие, ароматизирующие агенты и отдушки.

Количества вводимых соединений и режим дозирования для лечения болезненного состояния с помощью соединений и/или композиций по настоящему изобретению зависят от множества факторов, включая возраст, массу, пол, состояние здоровья субъекта, тип болезни, тяжесть болезни, путь и частоту введения, и конкретное применяемое соединение. Таким образом, режим дозирования может варьироваться в широких пределах, но может быть определен рутинно с применением стандартных методик. Подходящей может быть суточная доза 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 быть введена от одной до четырех доз в день. Другие схемы дозирования включают одну дозу в неделю и одну дозу в двухдневный цикл.

Для терапевтических целей активные соединения по настоящему изобретению обычно комбинируют с одним или более адъювантами, подходящими для указанного пути введения. При пероральном введении соединения могут быть смешаны с лактозой, сахарозой, крахмальным порошком, сложными эфирами целлюлозы и алкановых кислот, алкиловыми сложными эфирами целлюлозы, тальком, стеариновой кислотой, стеаратом магния, оксидом магния, натриевыми и кальциевыми солями фосфорной и серной кислот, желатином, аравийской камедью, альгинатом натрия, поливинилпирролидоном и/или поливиниловым спиртам, и затем таблетированы или инкапсулированы для удобного введения. Такие капсулы или таблетки могут содержать состав с контролируемым высвобождением, который может быть представлен в виде дисперсии активного соединения в гидроксипропилметилцеллюлозе.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению содержат по меньшей мере одно соединение формулы (I) и/или по меньшей мере одну его фармацевтически приемлемую соль и необязательно дополнительный агент, выбранный из любого фармацевтически приемлемого носителя, адъюванта и несущей среды. Альтернативные композиции по настоящему изобретению содержат соединение формулы (I), описанное в настоящем документе, или его пролекарство и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или несущую среду.

Полезность

Соединения формулы (I) являются полезными для лечения рака.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к комбинированному лекарственному средству соединения формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемой соли, его стереоизо-

мера или таутомера и дополнительного терапевтического агента (агентов) для одновременного, отдельного или последовательного применения при лечении и/или предупреждении множественных заболеваний или нарушений, связанных с целевым ингибированием DGK в Т-клетках.

В другом аспекте изобретение относится к способу лечения пациента, страдающего от или predisposed к заболеванию, которое связано с целевым ингибированием DGK в Т-клетках. Можно лечить ряд заболеваний. Способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей соединение формулы (I) и/или его фармацевтически приемлемую соль, его стереоизомер или таутомер. Например, описанные здесь соединения могут применяться для лечения или предупреждения вирусных инфекций и пролиферативных заболеваний, таких как рак. Соединения формулы (I) и фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение формулы (I), являются полезными для лечения или предупреждения любого заболевания или состояния, которые связаны с ингибированием мишени DGK в Т-клетках. 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 быть введены животным, предпочтительно, млекопитающим (например, домашним животным, кошкам, собакам, мышам, крысам) и, более предпочтительно, людям. Для доставки соединения или фармацевтической композиции пациенту может применяться любой способ введения. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или фармацевтическую композицию, содержащую, по меньшей мере, соединение формулы (I), вводят перорально. В других вариантах осуществления соединения формулы (I) или фармацевтическую композицию, содержащую, по меньшей мере, соединения формулы (I), вводят парентерально.

Соединения формулы (I) могут ингибировать активность диацилглицеринкиназы альфа и дзета ($DGK\alpha/\zeta$). Например, соединения формулы (I) могут применяться для ингибирования активности $DGK\alpha$ и $DGK\zeta$ в клетке или у индивидуума, нуждающегося в модуляции $DGK\alpha$ и $DGK\zeta$, путем введения ингибирующего количества соединения формулы (I) или его соли. Настоящее изобретение дополнительно относится к способам лечения заболеваний, связанных с активностью или экспрессией, включая аномальную активность и/или сверхэкспрессию, $DGK\alpha$ и $DGK\zeta$ у индивидуума (например, пациента) путем введения индивидууму, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества или дозы соединения формулы (I) или его фармацевтической композиции. Примеры заболеваний могут включать любое заболевание, нарушение или состояние, которое прямо или косвенно связано с экспрессией или активностью фермента $DGK\alpha$ и $DGK\zeta$, такой как избыточная экспрессия или аномальная активность. Заболевание, связанное с $DGK\alpha$ и $DGK\zeta$, также может включать любое заболевание, расстройство или состояние, которое можно предотвратить, облегчить или вылечить путем модулирования активности ферментов $DGK\alpha$ и $DGK\zeta$. Примеры болезней, связанных с $DGK\alpha$ и $DGK\zeta$, включают рак и вирусные инфекции, такие как ВИЧ-инфекция, гепатит В и гепатит С.

В одном аспекте соединения формулы (I) вводят последовательно перед введением иммуноонкологического агента. В другом аспекте соединения формулы (I) вводят одновременно с иммуноонкологическим агентом. В еще одном аспекте соединения формулы (I) вводят последовательно после введения иммуноонкологического агента. В другом аспекте соединения формулы (I) могут быть включены в состав совместно с иммуноонкологическим агентом.

Иммуноонкологические агенты включают, например, низкомолекулярное лекарственное средство, антитело или другое биологическое или низкомолекулярное вещество. Примеры биологических иммуноонкологических агентов включают, но не ограничиваются 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 иммуноонкологический агент представляет собой (i) агонист стимулирующего (включая костимулирующий) рецептора или (ii) антагонист ингибирующего (включая коингибирующий) сигнала на Т-клетках, оба из которых приводят к усилению антиген-специфических Т-клеточных ответов (часто называемых регуляторами иммунных контрольных точек).

Некоторые стимулирующие и ингибирующие молекулы являются членами суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF). Одно важное семейство мембраносвязанных лигандов, которые связываются с костимулирующими или коингибирующими рецепторами, представляет собой семейство B7, которое включает B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и B7-H6. Другим семейством связанных с мембраной лигандов, которые связываются с костимулирующими или коингибирующими рецепторами, является семейство молекул TNF, которые связываются с родственными 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.

В одном аспекте ответы Т-клеток могут быть стимулированы комбинацией соединения формулы (I) и одного или более из (i) антагониста белка, который ингибирует активацию Т-клеток (например, ингибиторов иммунных контрольных точек), таких 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, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 и TIM-4, и (ii) агониста белка, который стимулирует 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 агенты, которые можно комбинировать с соединениями формулы (I) для лечения рака, включают антагонисты ингибирующих рецепторов NK-клеток или агонисты активирующих рецепторов NK-клеток. Например, соединения формулы (I) можно комбинировать с антагонистами KIR, такими как лирилумаб.

Еще другие агенты для комбинированной терапии включают агенты, которые ингибируют или истощают макрофаги или моноциты, включая, но не ограничиваясь ими, антагонисты CSF-1R, такие как антитела-антагонисты CSF-1R, включая RG7155 (WO 11/70024, WO 11/107553, WO 11/131407, WO 13/87699, WO 13/119716, WO 13/132044) или FPA-008 (WO 11/140249; WO 13169264; WO 14/036357).

В другом аспекте соединения формулы (I) могут применяться с одним или более агентами-агонистами, которые лигируют положительные костимулирующие рецепторы, блокирующими агентами, которые ослабляют передачу сигналов через ингибирующие рецепторы, антагонистами и одним или более агентами, которые системно увеличивают частоту противоопухолевого ответа Т-клеток, агентами, которые преодолевают различные иммуносупрессивные пути в микроокружении опухоли (например, блокируют взаимодействие ингибирующих рецепторов (например, взаимодействия PD-L1/PD-1), истощают или ингибируют Treg (например, с помощью моноклонального антитела против CD25 (например, даклизумаба)) или путем истощения *ex vivo* CD25-позитивных клеток с применением микрогранул, связанных с антителами к CD25, ингибируют метаболические ферменты, такие как IDO, или устраняют/предотвращают анергию или истощение Т-клеток) и агентами, которые запускают активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в местах опухоли.

В одном аспекте иммуноонкологический агент представляет собой антагонист CTLA-4, такой как антагонистическое антитело к CTLA-4. Подходящие антитела к CTLA-4 включают, например, YERVOY (ипилилумаб) или тремелилумаб.

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой антагонист PD-1, такой как антагонистическое антитело к PD-1. Подходящие антитела к PD-1 включают, например, OPDIVO (ниволумаб), KEYTRUDA (пембролизумаб) или MEDI-0680 (AMP-514; WO 2012/145493). Иммуноонкологический агент может также включать пидилизумаб (CT-011), хотя его специфичность связывания в отношении к PD-1 подвергается сомнению. Другим подходом к нацеливанию на рецептор PD-1 является рекомбинантный белок, состоящий из внеклеточного домена PD-L2 (B7-DC), слитого с Fc-фрагментом IgG1, называемый AMP-224.

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой антагонист PD-L1, такой как антагонистическое антитело к PD-L1. Подходящие антитела к PD-L1 включают, например, MPDL3280A (RG7446; WO 2010/077634), дурвалумаб (MEDI4736), BMS-936559 (WO 2007/005874) и MSB0010718C (WO 2013/79174).

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой антагонист LAG-3, такой как антагонистическое антитело к LAG-3. Подходящие антитела к LAG3 включают, например, BMS-986016 (WO 10/19570, WO 14/08218) или IMP-731 или IMP-321 (WO 08/132601, WO 09/44273).

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой агонист CD137 (4-1BB), такой как агонистическое антитело к CD137. Подходящие антитела к CD137 включают, например, урелумаб и PF-05082566 (WO 12/32433).

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой агонист GITR, такой как агонистическое антитело к GITR. Подходящие антитела к GITR включают, например, BMS-986153, BMS-986156, TRX-518 (WO 06/105021, WO 09/009116) и MK-4166 (WO 11/028683).

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой антагонист IDO.

Подходящие антагонисты IDO включают, например, INCB-024360 (WO 2006/122150, WO 07/75598, WO 08/36653, WO 08/36642), индоксимод, BMS-986205 или NLG-919 (WO 09/73620, WO 09/1156652, WO 11/56652, WO 12/142237).

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой агонист OX40, такой как агонистическое антитело к OX40. Подходящие антитела к OX40 включают, например, MEDI-6383 или MEDI-6469.

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой антагонист OX40L, такой как антагонистическое антитело к OX40. Подходящие антагонисты OX40L включают, например, RG-7888 (WO 06/029879).

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой агонист CD40, такой как агонистическое антитело к CD40. В еще одном варианте осуществления иммуноонкологический агент пред-

ставляет собой антагонист CD40, такой как антагонистическое антитело к CD40. Подходящие антитела к CD40 включают, например, лукатумумаб или дацетузумаб.

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой агонист CD27, такой как агонистическое антитело к CD27. Подходящие антитела к CD27 включают, например, вардилумаб.

В другом аспекте иммуноонкологический агент представляет собой MGA271 (до В7Н3) (WO 11/109400).

Комбинированная терапия предназначена для включения введения этих терапевтических агентов последовательным образом, то есть, когда каждый терапевтический агент вводится в разное время, а также для введения этих терапевтических агентов или по меньшей мере двух терапевтических агентов по существу одновременно. По существу, одновременное введение может быть достигнуто, например, путем введения субъекту единичной лекарственной формы, имеющей фиксированное соотношение каждого терапевтического агента, или нескольких единичных лекарственных форм для каждого из терапевтических агентов. Последовательное или по существу одновременное введение каждого терапевтического агента может быть осуществлено любым подходящим путем, включая, но не ограничиваясь ими, пероральные пути, внутривенные пути, внутримышечные пути и прямое всасывание через ткани слизистой оболочки. Терапевтические агенты могут быть введены одним и тем же путем или разными путями. Например, первый терапевтический агент из выбранной комбинации может быть введен с помощью внутривенной инъекции, в то время как другие терапевтические агенты из комбинации могут быть введены перорально. Альтернативно, например, все терапевтические агенты могут быть введены перорально, или все терапевтические агенты могут быть введены с помощью внутривенной инъекции. Комбинированная терапия также может включать введение терапевтических агентов, как описано выше, в дополнительной комбинации с другими биологически активными ингредиентами и немедикаментозной терапией (например, хирургическим вмешательством или лучевой терапией). Если комбинированная терапия дополнительно включает немедикаментозное лечение, немедикаментозное лечение может проводиться в любое подходящее время до тех пор, пока достигается благоприятный эффект от совместного действия комбинации терапевтических агентов и немедикаментозного лечения. Например, в соответствующих случаях благоприятный эффект все еще достигается, когда немедикаментозное лечение временно отменяется при введении терапевтических агентов, возможно, на дни или даже недели.

В контексте данного документа термин "клетка" относится к клетке, находящейся *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления клетка *ex vivo* может представлять собой часть образца ткани, взятого из организма, такого как организм млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления клетка *in vitro* может представлять собой клетку в клеточной культуре. В некоторых вариантах осуществления клетка *in vivo* представляет собой клетку, живущую в организме, таком как организм млекопитающего. В контексте данного документа термин "контактирование" относится к соединению указанных фрагментов в системе *in vitro* или системе *in vivo*. Например, "контактирование" фермента DGK α и DGK ζ с соединением формулы (I) включает введение соединения по настоящему изобретению индивидууму или пациенту, такому как человек, имеющему DGK α и DGK ζ , а также, например, введение соединения формулы (I) в образец, содержащий клеточный или очищенный препарат, содержащий фермент DGK α и DGK ζ . Термин "ингибитор DGK α и DGK ζ " относится к агенту, способному ингибировать активность диацилглицеринкиназы альфа и/или диацилглицеринкиназы дзета (DGK α и DGK ζ) в Т-клетках, что приводит к стимуляции Т-клеток. Ингибитор DGK α и DGK ζ может представлять собой обратимый или необратимый ингибитор DGK α и DGK ζ . "Обратимый ингибитор DGK α и DGK ζ " представляет собой соединение, которое обратимо ингибирует ферментативную активность DGK α и DGK ζ , либо в каталитическом, либо в некаталитическом центре, и "необратимый ингибитор DGK α и DGK ζ " представляет собой соединение, которое необратимо разрушает ферментативную активность DGK α и DGK ζ , образуя ковалентную связь с ферментом.

Типы рака, которые можно лечить соединением формулы (I), включают, но не ограничиваются ими, рак головного 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 легких и рак костей. Примеры таких типов рака включают нейробластома, рак кишечника, такой как рак прямой кишки, рак толстой кишки, семейный аденоматозный полипозный рак и наследственный неполипозный колоректальный рак, рак пищевода, рак губы, рак гортани, рак гортаноглотки, рак языка, рак слюнных желез, рак желудка, аденокарциному, медуллярный рак щитовидной железы, папиллярный рак щитовидной железы, карциному почки, рак паренхимы почки, карциному яичников, рак шейки матки, рак тела матки, рак эндометрия, хориокарциному, карциному поджелудочной железы, карциному предстательной железы, рак яичка, карциному молочной железы, рак мочевыводящих путей, меланому, опухоли головного мозга, такие как глиобластома, астроциты, менингиома, медуллобластома и периферические нейроэктодермальные опухоли, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, лимфому Беркитта, острый лимфобластный лейкоз (ALL), хронический лимфобластный лейкоз (CLL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический миелоидный лейкоз (CML), Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), гепатоклеточную карциному, рак желчного пузыря,

бронхиальную карциному, мелкоклеточную карциному легкого, немелкоклеточную карциному легкого, множественную миелому, базалиому, тератому, ретинобластому, хориоидальную меланому, семиному, рабдомиосаркому, краниофарингиому, остеосаркому, хондросаркому, миосаркому, липосаркому, фибросаркому, саркому Юинга и плазмоцитому.

Один или более дополнительных фармацевтических агентов или способов лечения, такие как, например, противовирусные агенты, химиотерапевтические агенты или другие противораковые агенты, иммуностимуляторы, иммунодепрессанты, лучевая терапия, противоопухолевые и противовирусные вакцины, цитокиновая терапия (например, IL2 и GM-CSF) и/или ингибиторы тирозинкиназы могут обязательно применяться в комбинации с соединениями формулы (I) для лечения заболеваний, нарушений или состояний, связанных с DGK α и DGK ζ . Агенты могут комбинироваться с соединениями по настоящему изобретению в единичной лекарственной форме, или агенты могут быть введены одновременно или последовательно в виде отдельных лекарственных форм.

Подходящие химиотерапевтические или другие противораковые агенты включают, например, алкилирующие агенты (включая, без ограничения, азотистые иприты, производные этиленимина, алкилсульфонаты, нитрозомочевины и триазены), такие как урациловый иприт (урамустин), хлорметин, циклофосфамид (CYTOXAN®), ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, пипоброман, триэтилен-меламин, триэтилендиосфорамин, бусульфан, кармустин, ломустин, стрептозоцин, дакарбазин и темозоломид.

При лечении меланомы подходящие агенты для применения в комбинации с соединениями формулы (I) включают: дакарбазин (DTIC), необязательно вместе с другими химиотерапевтическими лекарственными средствами, такими как кармустин (BCNU) и цисплатин; "Дартмутский режим", состоящий из DTIC, BCNU, цисплатина и тамоксифена; комбинацию цисплатина, винбластин и DTIC, темозоломида или YERVOY™. Соединения формулы (I) могут комбинироваться с иммунотерапевтическими лекарственными средствами, включая цитокины, такие как интерферон-альфа, интерлейкин-2 и фактор некроза опухоли (TNF), при лечении меланомы.

Соединения формулы (I) также могут применяться в комбинации с вакцинотерапией при лечении меланомы. Вакцины против меланомы в некоторой степени аналогичны противовирусным вакцинам, которые применяются для предупреждения заболеваний, вызываемых вирусами, такими как полиомиелит, корь и эпидемический паротит. Ослабленные клетки меланомы или части клеток меланомы, называемые антигенами, могут быть введены пациенту, чтобы стимулировать иммунную систему организма к разрушению клеток меланомы.

Меланомы, которые локализованы на руках или ногах, также можно лечить с помощью комбинации агентов, включающих одно или более соединений формулы (I), применяя способ изолированной гипертермической перфузии конечности. По этому протоколу лечения временно отделяют кровообращение пораженной конечности от остального тела и вводят высокие дозы химиопрепаратов в артерию, питающую конечность, таким образом обеспечивая высокие дозы в области опухоли, не подвергая внутренние органы воздействию этих доз, которые в противном случае могли бы вызвать тяжелые побочные эффекты. Обычно жидкость нагревают от 38,9°C до 40°C. Мелфалан представляет собой лекарственное средство, которое наиболее часто применяется в этой химиотерапевтической методике. Этот способ может быть осуществлен с другим агентом, называемым фактором некроза опухоли (TNF).

Подходящие химиотерапевтические или другие противораковые агенты включают, например, антиметаболиты (включая, без ограничения, антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пиримидина, аналоги пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы), такие как метотрексат, 5-фторурацил, флоксурин, цитарабин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, флударабин фосфат, пентостатин и гемцитабин.

Подходящие химиотерапевтические или другие противораковые агенты дополнительно включают, например, некоторые природные вещества и их производные (например, алкалоиды барвинка, противоопухолевые антибиотики, ферменты, лимфокины и эпиподофиллотоксины), такие как винбластин, винкристин, виндезин, блеомицин, дактиномицин, даунорубин, доксорубин, эпирубин, идарубин, ARA-C, паклитаксел (Taxol), митрамицин, дезоксикоформин, митомицин-C, L-аспарагиназа, интерфероны (особенно IFN- α), этопозид и тенипозид.

Другие цитотоксические агенты включают навельбин, СРТ-11, анастрозол, летрозол, капецитабин, релоксафин и дролоксафин.

Также подходящими являются цитотоксические агенты, такие как эпидофиллотоксин; противоопухолевый фермент; ингибитор топоизомеразы; прокарбазин; митоксантрон; координационные комплексы платины, такие как цисплатин и карбоплатин; модификаторы биологического ответа; ингибиторы роста; антигормональные терапевтические агенты; лейковорин; тегафур; и гемопозитические факторы роста.

Другой противораковый агент (агенты) включает терапевтические антитела, такие как трастузумаб (HERCEPTIN®), антитела к костимулирующим молекулам, таким как CTLA-4, 4-1BB и PD-1, или антитела к цитокинам (IL-10 или TGF- β).

Другие противораковые агенты также включают те, которые блокируют миграцию иммунных клеток, такие как антагонисты хемокиновых рецепторов, включая CCR2 и CCR4.

Другие противораковые агенты также включают те, которые усиливают иммунную систему, такие

как адъюванты или адаптивный перенос Т-клеток.

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

Фармацевтическая композиция по изобретению может необязательно включать по меньшей мере один ингибитор сигнальной трансдукции (STI). "Ингибитор сигнальной трансдукции" представляет собой агент, который избирательно ингибирует одну или более жизненно важных стадий сигнальных путей в нормальной функции раковых клеток, тем самым приводя к апоптозу. Подходящие STI включают, но не ограничиваются ими: (i) ингибиторы киназы *bcr/abl*, такие как, например, STI 571 (GLEEVEC®); (ii) ингибиторы рецептора эпидермального фактора роста (EGF), такие как, например, ингибиторы киназы (IRESSA®, 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), такие как, 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., например, Sekulic et al., Cancer Res., 60: 3504-3513 (2000)); (v) ингибиторы киназы клеточного цикла, такие как, например, флавопиридол и UCN-01 (см., например, Sausville, Curr. Med. Chem. Anti-Canc. Agents, 3:47-56 (2003)); и (vi) ингибиторы фосфатидилинозитолкиназы, такие как, например, LY294002 (см., например, Vlahos et al., J. Biol. Chem., 269: 5241-5248 (1994)). В качестве альтернативы по меньшей мере 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 быть введены пациенту одновременно или последовательно. Другими словами, сначала может быть введено по меньшей мере одно соединение формулы (I), сначала может быть введен по меньшей мере один STI или по меньшей мере одно соединение формулы (I) и по меньшей мере один STI могут быть введены одновременно. Кроме того, когда применяется более одного соединения формулы (I) и/или STI, соединения могут быть введены в любом порядке.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции для лечения хронической вирусной инфекции у пациента, содержащей по меньшей мере одно соединение формулы (I), необязательно по меньшей мере одно химиотерапевтическое лекарственное средство и, необязательно по меньшей мере один противовирусный агент, в фармацевтически приемлемом носителе.

Также предложен способ лечения хронической вирусной инфекции у пациента путем введения эффективного количества вышеуказанной фармацевтической композиции. В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения пациенту одновременно или последовательно вводят по меньшей мере одно соединение формулы (I) и по меньшей мере один химиотерапевтический агент. Другими словами, по меньшей мере одно соединение формулы (I) может быть введено первым, по меньшей мере один химиотерапевтический агент может быть введен первым, или по меньшей мере одно соединение формулы (I) и по меньшей мере один STI могут быть введены одновременно, время. Кроме того, когда применяется более одного соединения формулы (I) и/или химиотерапевтического агента, эти соединения могут быть введены в любом порядке. Подобным образом, любой противовирусный агент или STI также могут быть введены в любой момент по сравнению с введением соединения формулы (I).

Хронические вирусные инфекции, которые можно лечить с помощью настоящей комбинированной терапии, включают, но не ограничиваются ими, заболевания, вызванные: вирусом гепатита С (HCV), вирусом папилломы человека (HPV), цитомегаловирусом (CMV), вирусом простого герпеса (HSV), вирусом Эпштейна-Барр (EBV), вирусом ветряной оспы, вирусом Коксаки, вирусом иммунодефицита человека (HIV). Примечательно, что паразитарные инфекции (например, малярию) также можно лечить указанными выше способами, в которых соединения, известные для лечения паразитарных состояний, необязательно добавляют вместо противовирусных агентов.

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

Примеры подходящих NRTI включают зидовудин (AZT); диданозин (ddI); зальцитабин (ddC); ставудин (d4T); ламивудин (3TC); абакавир (1592U89); адефовир дипивоксил [бис(РОМ)-РМЕА]; лобукавир; BСН-10652; эмтрицитабин [(-)-FTC]; бета-L-FD4 (также называемый бета-L-D4С или бета-L-2',3'-дидезокси-5-фторцитиден); DAPD, ((-)-бета-D-2,6-диаминопуридиндиоксолан); и лоденозин (FddA). Типичные подходящие NNRTI включают невирапин (BI-RG-587); делавирдин (ВНАР, U-90152); эфавиренз (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; МКС-442 (1-(этоксиметил)-5-(1-метилэтил)-6-(фенилметил)-(2,4(1H,3H)-пиримидиндион) и (+)-каланолид А (NSC-675451) и В. Типичные подходящие ингибиторы протеазы включают саквинавир (Ro 31-8959), ритонавир (ABT-538), индинавир (МК-639), нелфинавир (AG-1343), ампренавир (141W94), лазинавир, DMP-450, BMS-2322623, АВТ-378 и AG-1549. Другие противовирусные агенты включают гидроксимочевину, рибавирин, IL-2, IL-12, пентафузид и Yissum Project No. 11607.

Настоящее изобретение также включает фармацевтические наборы, полезные, например, для лече-

ния или предупреждения заболеваний или нарушений, связанных с DGK α и DGK ζ , и других заболеваний, упомянутых в настоящем документе, которые включают один или более контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество соединения формулы (I). Такие наборы могут дополнительно включать, при желании, один или более различных компонентов стандартных фармацевтических наборов, таких как, например, контейнеры с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры, как будет очевидно специалистам в данной области. Инструкции в виде вкладышей или этикеток с указанием количеств вводимых компонентов, рекомендации по введению и/или инструкции по смешиванию компонентов также могут быть включены в набор.

Комбинированная терапия предназначена для обозначения введения этих терапевтических агентов последовательным образом, то есть, когда каждый терапевтический агент вводят в разное время, а также введения этих терапевтических агентов или по меньшей мере двух терапевтических агентов по существу одновременно. По существу, одновременное введение может быть достигнуто, например, путем введения субъекту единичной лекарственной формы, имеющей фиксированное соотношение каждого терапевтического агента, или нескольких единичных лекарственных форм для каждого из терапевтических агентов. Последовательное или по существу одновременное введение каждого терапевтического агента может быть осуществлено любым подходящим путем, включая, но не ограничиваясь ими, пероральные пути, внутривенные пути, внутримышечные пути и прямое всасывание через ткани слизистой оболочки. Терапевтические агенты могут быть введены одним и тем же путем или различными путями. Например, первый терапевтический агент выбранной комбинации может быть введен путем внутривенной инъекции, в то время как другие терапевтические агенты комбинации могут быть введены перорально. В качестве альтернативы, например, все терапевтические агенты могут быть введены перорально, или все терапевтические агенты могут быть введены путем внутривенной инъекции. Комбинированная терапия также может включать введение терапевтических агентов, как описано выше, в дополнительной комбинации с другими биологически активными ингредиентами и видами немедикаментозной терапии (например, хирургическим вмешательством или лучевой терапией). Если комбинированная терапия дополнительно включает немедикаментозное лечение, немедикаментозное лечение может быть проведено в любое подходящее время до тех пор, пока достигается благоприятный эффект от совместного действия комбинации терапевтических агентов и немедикаментозного лечения. Например, в соответствующих случаях благоприятный эффект все еще достигается, когда немедикаментозное лечение временно отменяется от введения терапевтических агентов, возможно, на дни или даже недели. Изобретение также относится к фармацевтически приемлемым композициям, которые содержат терапевтически эффективное количество одного или более соединений формулы (I), составленных вместе с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (вспомогательными веществами) и/или разбавителями, и, необязательно, одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами, описанными выше. Соединения по данному изобретению могут быть введены для любого из описанных здесь применений любым подходящим способом, например, перорально, в виде таблеток, капсул (каждая из которых включает составы с пролонгированным или замедленным высвобождением), пилюли, порошки, гранулы, эликсиры, настойки, суспензии (включая наносуспензии, микросуспензии, высушенные распылением дисперсии), сиропы и эмульсии; сублингвально; буккально; парентерально, например, путем подкожной, внутривенной, внутримышечной или интратеральной инъекции или путем инфузии (например, в виде стерильных водных или неводных растворов или суспензий для инъекций); назально, включая введение в носовые полости, например, с помощью ингаляционного спрея; местно, например, в виде крема или мази; или ректально, например, в виде суппозиториев. Они могут быть введены отдельно, но обычно вводятся с фармацевтическим носителем, выбранным на основе выбранного пути введения и стандартной фармацевтической практики.

Фраза "фармацевтически приемлемый носитель" в контексте данного документа означает фармацевтически приемлемое вещество, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, технологическая добавка (например, смазывающее вещество, тальк, магnezия, стеарат кальция или цинка или стероидная кислота), или материал для инкапсулирования растворителя, участвующий в переносе или транспортировке рассматриваемого соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами состава, включая, например, адъювант, вспомогательное вещество или носитель, такой как разбавители, консервирующие агенты, наполнители, агенты, регулирующие текучесть, дезинтегрирующие агенты, смачивающие агенты, эмульгирующие агенты, суспендирующие агенты, подсластители, ароматизаторы, отдушки, антибактериальные агенты, противогрибковые агенты, смазывающие агенты и дозирующие агенты, в зависимости от характера способа введения и лекарственных форм; и не вредит пациенту.

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

Фармацевтически приемлемые носители составляют в соответствии с рядом факторов, хорошо из-

вестных специалистам в данной области. Они включают, без ограничения: тип и природу активного агента в рецептуре; субъекта, которому должна быть введена композиция, содержащая агент; предполагаемый путь введения композиции; и целевое терапевтическое показание. Фармацевтически приемлемые носители включают как водные, так и неводные жидкие среды, а также разнообразные твердые и полутвердые лекарственные формы. Такие носители могут включать ряд различных ингредиентов и добавок в дополнение к активному агенту, причем такие дополнительные ингредиенты включаются в состав по целому ряду причин, например, для стабилизации активного агента, связующих веществ и так далее, хорошо известным специалистам в данной области.

Описания подходящих фармацевтически приемлемых носителей и факторов, связанных с их выбором, можно найти в различных легкодоступных источниках, таких как, например, Allen, L.V. Jr. et al. Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2 Volumes), 22nd Edition (2012), Pharmaceutical Press.

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

В качестве общего руководства суточная пероральная доза каждого активного ингредиента при применении для достижения указанных эффектов будет варьироваться от около 0,001 до около 5000 мг в день, предпочтительно, от около 0,01 до около 1000 мг в день и, наиболее предпочтительно, от около 0,1 до около 250 мг в день. При внутривенном введении наиболее предпочтительные дозы будут варьироваться от около 0,01 до около 10 мг/кг/мин во время инфузии с постоянной скоростью. Соединения по данному изобретению могут быть введены в виде однократной суточной дозы, или общая суточная доза может быть введена в виде отдельных доз два, три или четыре раза в день.

Соединения обычно вводят в смеси с подходящими фармацевтическими разбавителями, вспомогательными веществами или носителями (совместно обозначаемыми здесь как фармацевтические носители), подходящим образом выбранными в отношении предполагаемой формы введения, например, пероральными таблетками, капсулами, эликсирами и сиропами, и в соответствии с общепринятой фармацевтической практикой. Лекарственные формы (фармацевтические композиции), подходящие для введения, могут содержать от около 1 миллиграмма до около 2000 миллиграммов активного ингредиента на единицу дозы. В этих фармацевтических композициях активный ингредиент обычно будет присутствовать в количестве около 0,1-95% по массе в расчете на общую массу композиции.

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

Типичное лекарственное средство для инъекций получают путем асептического помещения по меньшей мере одного из соединений по настоящему изобретению (250 мг) во флакон, асептической сушки вымораживанием и запечатывания. Для применения содержимое флакона смешивают с 2 мл физиологического раствора для получения лекарственного средства для инъекций.

Настоящее изобретение включает в пределах своего объема фармацевтические композиции, содержащие в качестве активного ингредиента терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного из соединений по настоящему изобретению, отдельно или в комбинации с фармацевтическим носителем. Необязательно, соединения по настоящему изобретению могут применяться отдельно, в комбинации с другими соединениями по изобретению или в комбинации с одним или более другим терапевтическим агентом (агентами), например, противораковым агентом или другим фармацевтически активным веществом.

Независимо от выбранного пути введения соединения по настоящему изобретению, которые могут применяться в подходящей гидратированной форме, и/или фармацевтические композиции по настоящему изобретению составляют в виде фармацевтически приемлемых дозированных лекарственных форм общепринятыми способами, известными специалистам в данной области техники.

Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут варьироваться для получения количества активного ингредиента, эффективного для достижения терапевтического ответа у конкретного пациента, композиции и способа введения, но не являющегося токсичным для пациента. Выбранный уровень дозировки будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного применяемого соединения по настоящему изобретению или его сложного эфира, соли или амида, способ введения, время введения, скорость выведения или метаболизма конкретного применяемого соединения, скорость и степень абсорбции, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или вещества, применяемые в комбинации с конкретным применяемым соединением, возраст, пол, массу, состояние, общее состояние здоровья и предшествующий медицинский анамнез пациента, подлежащего лечению, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

Врач или ветеринар, обладающий обычными знаниями в данной области техники, может легко определить и прописать необходимое эффективное количество фармацевтической композиции. Например,

врач или ветеринар может начинать дозы соединений по изобретению, применяемых в фармацевтической композиции, с уровней ниже, чем необходимые для достижения терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозу до тех пор, пока эффект не будет достигнут.

Как правило, подходящей суточной дозой соединения по изобретению будет такое количество соединения, которое представляет собой наименьшую дозу, эффективную для получения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза обычно будет зависеть от факторов, описанных выше. Как правило, пероральные, внутривенные, интрацеребровентрикулярные и подкожные дозы соединений по данному изобретению для пациента будут в пределах от около 0,01 до около 50 мг на килограмм массы тела в день. При желании эффективная суточная доза активного соединения может быть введена в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более частей дозы, вводимых отдельно с соответствующими интервалами в течение дня, необязательно, в виде единичных лекарственных форм. В некоторых аспектах изобретения дозирование составляет одно введение в день.

Хотя соединение по настоящему изобретению может быть введено отдельно, является предпочтительным вводить соединение в виде фармацевтического состава (композиции). Вышеупомянутые другие терапевтические агенты при применении в комбинации с соединениями по настоящему изобретению могут применяться, например, в количествах, указанных в справочнике врача (Physicians' Desk Reference (PDR)) или иным образом определенных специалистом в данной области. В способах по настоящему изобретению такой другой терапевтический агент (агенты) может быть введен до, одновременно или после введения соединений по изобретению.

Способы получения

Соединения по настоящему изобретению могут быть синтезированы многими способами, доступными специалистам в области органической химии. Общие схемы синтеза получения соединений по настоящему изобретению описаны ниже. Эти схемы являются иллюстративными и не предназначены для ограничения возможных способов, которые может применять специалист в данной области для получения соединений, описанных в настоящем документе. Специалистам в данной области техники будут очевидны различные способы получения соединений по настоящему изобретению. Примеры соединений по настоящему изобретению, полученных способами, описанными в общих схемах, даны в разделе "Примеры", приведенном ниже. Получение гомохиральных примеров может быть осуществлено способами, известными специалисту в данной области. Например, гомохиральные соединения могут быть получены путем разделения рацемических продуктов или диастереомеров с помощью хиральной препаративной ВЭЖХ. Альтернативно, примеры соединений могут быть получены способами, известными для получения энантимерно или диастереомерно обогащенных продуктов.

Реакции и методики, описанные в этом разделе, выполняются в растворителях, соответствующих применяемым реагентам и веществам и подходящих для осуществляемых превращений. Кроме того, при описании способов синтеза, приведенных ниже, следует принять во внимание, что все предлагаемые условия реакции, включая выбор растворителя, реакционную атмосферу, температуру реакции, продолжительность эксперимента и способы обработки, выбраны как стандартные условия для этой реакции, которая должна быть легко распознаваема специалистом в данной области. Специалистам в области органического синтеза является понятным, что функциональность, присутствующая в различных частях молекулы, должна соответствовать предлагаемым реагентам и реакциям. Такие ограничения для заместителей, совместимые с условиями реакции, будут очевидны специалисту в данной области техники, при этом требуются альтернативы, когда присутствуют несовместимые заместители. Это иногда требует решения, чтобы изменить порядок стадий синтеза или выбрать одну конкретную схему способа вместо другой, чтобы получить соединение по изобретению. Также будет учтено, что еще одним важным соображением при планировании любого пути синтеза в этой области является разумный выбор защитной группы, применяемой для защиты реакционноспособных функциональных групп, присутствующих в соединениях, описанных в данном изобретении. Авторитетным источником, описывающим множество альтернатив для квалифицированного специалиста-практика, является Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition*, Wiley and Sons (2007).

Примеры

Следующие примеры иллюстрируют конкретные и предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения и не ограничивают объем настоящего изобретения. Химические аббревиатуры и символы, а также научные аббревиатуры и символы имеют свои обычные и общепринятые значения, если не указано иное. Дополнительные сокращения, применяемые в примерах и в других местах данной заявки, определены выше. Общие промежуточные соединения обычно применяются для получения более чем одного примера и обозначаются последовательно (например, промежуточное соединение 1, промежуточное соединение 2 и так далее) и обозначаются аббревиатурой Int. 1 или I1, Int. 2 или I2, и так далее. Соединения Примеров идентифицируются по примеру и стадии, на которой они были получены (например, "1-A" обозначает пример 1, стадия A), или только по примеру, где соединение представляет собой указанное в заголовке соединения примера (например, "1" обозначает указанное в заголовке соединения примера 1). В некоторых случаях описаны альтернативные способы получения промежуточных соединений или соединений примеров. Часто химики, квалифицированные в области синтеза, могут раз-

работать альтернативные способы получения, которые могут быть желательны, исходя из одного или более соображений, таких как более короткое время реакции, менее дорогие исходные материалы, простота осуществления или выделения, улучшенный выход, возможность катализа, отсутствие токсичных реагентов, доступность специализированного оборудования и уменьшенное количество линейных стадий и так далее. Целью описания альтернативных способов получения является дальнейшее обеспечение возможности получения примеров по данному изобретению. В некоторых случаях некоторые функциональные группы в приведенных примерах и формуле изобретения могут быть заменены хорошо известными биоизостерическими заменами, известными в данной области техники, например, заменой группы карбоновой кислоты тетразольным или фосфатным фрагментом. При обработке данных ¹H ЯМР, собранных в дейтерированном диметилсульфоксиде, применяли подавление сигнала воды. Приведенные спектры не скорректированы с учетом эффектов подавления сигнала воды. Протоны, соседние с частотой подавления сигнала воды 3,35 ч./млн (ppm), демонстрируют пониженную интенсивность сигнала.

Сокращения

Ac	ацетил
anhyd.	безводный
aq.	водный
BINAP	2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил
Boc	<i>tert</i> -бутоксикарбонил
BOP	бензотриазол-1-илокситрис-(диметиламино)-фосфония гексафторфосфат
Bu	бутил
DCM	дихлорметан
DEA	диэтиламин
DIEA или DIPEA	диизопропилэтиламин
DMF	диметилформамид
DMSO	диметилсульфоксид
dppf	1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен
Et	этил

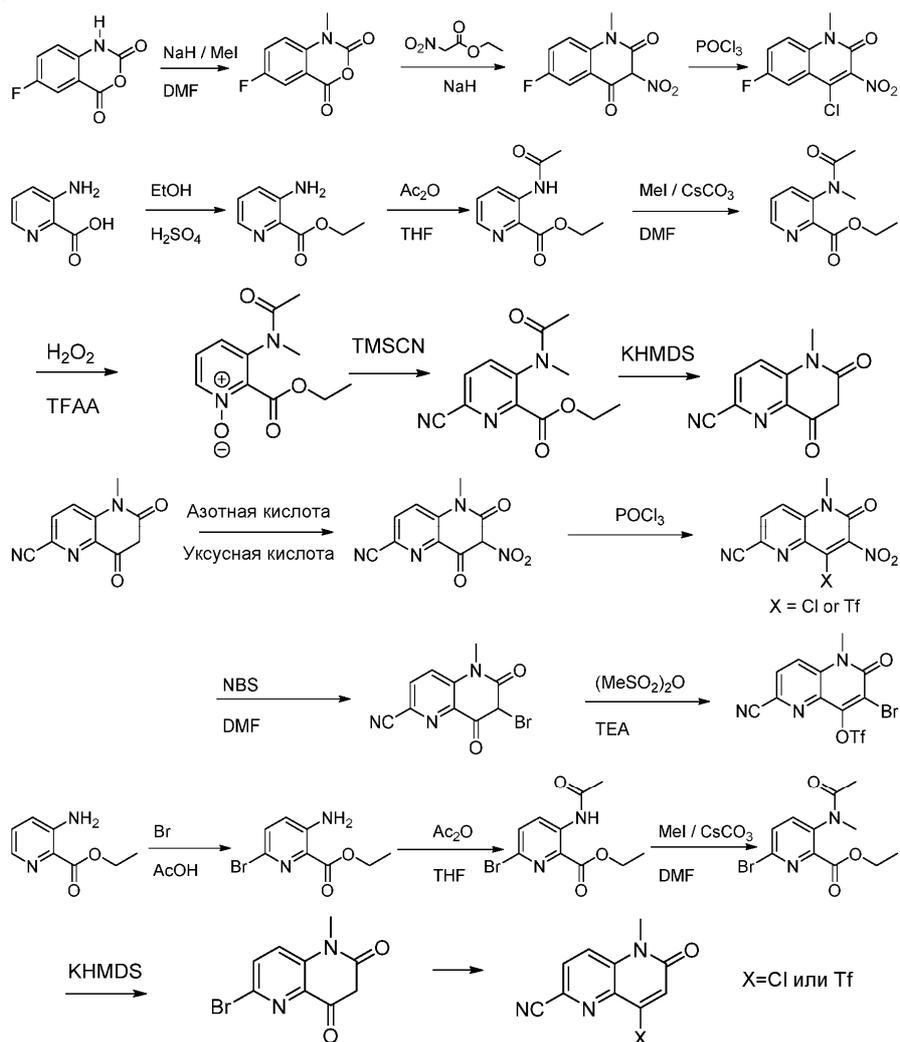
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол
h, hours или hrs	час(часы)
HCl	хлористоводородная кислота
HPLC	высокоэффективная жидкостная хроматография
LC	жидкостная хроматография
LCMS	жидкостная хроматомасс-спектрометрия
M	молярный
mM	миллимолярный
Me	метил
MeOH	метанол
Mesy1-Cl	метансульфонилхлорид
MHz	мегагерц
mins	минута (минуты)
M ⁺¹	(M+H) ⁺
MS	масс-спектрометрия
n или N	нормальный
NH ₄ OAc	ацетат аммония
nM	нанолярный
NMP	<i>N</i> -метилпирролидинон
Pd ₂ (dba) ₃	трис-(дибензилиденацетон)дипалладий
pet ether	петролейный эфир
Ph	фенил
POCl ₃	оксихлорид фосфора
rt или Ret time	время удерживания
sat.	насыщенный
TEA	триэтиламин
TFA	трифторуксусная кислота
THF	тетрагидрофуран

Способы, которые могут быть применены в синтезе промежуточных соединений, пригодных для получения примеров по настоящему изобретению, показаны на схеме ниже. Бензооксазин-2,4(1H)-дионы показанного типа могут быть обработаны сильным основанием и метилирующим реагентом, таким как метилиодид, с получением 1-метил-2H-бензо[d][1,3]оксазин-2,4(1H)-дионон. Они могут быть обработаны, например, нитроацетатами с образованием 1-метил-3-нитрохинолин-2,4(1H,3H)-дионон. Такие соединения, в свою очередь, могут быть преобразованы в родственные 4-хлорпроизводные, которые могут быть подвергнуты взаимодействию с различными функционализированными пиперидинами с получением соединений примеров по настоящему изобретению.

В других способах пиколиновые кислоты могут быть этерифицированы в стандартных условиях и затем обработаны, например, уксусным ангидридом с получением этил 3-ацетамидопиколинатов. Они могут быть алкилированы в стандартных условиях и затем обработаны смесью пероксида водорода и трифторуксусного ангидрида с получением родственных N-оксидов, например, 2-(этоксикарбонил)-3-(N-метилацетамидо)пиридин-1-оксида. В условиях, известных из уровня техники, эти промежуточные соединения могут быть преобразованы в 6-циано-3-(N-метилацетамидо)пиколинаты, которые при обработке основанием могут циклизироваться с образованием 1,5-нафтиридин-2,4(1H,3H)-дионон. Соединения этого типа могут быть дериватизированы множеством способов для получения ряда полезных промежуточных соединений. Например, при обработке в стандартных условиях нитрования могут образовываться родственные 1-метил-3-нитро-1,5-нафтиридин-2,4(1H,3H)-дионы, которые в стандартных условиях могут

быть преобразованы в 4-хлор- или 4-трифторметансульфонатные промежуточные соединения, которые могут вступать в реакцию с различными функционализированными пиперидинами с получением дополнительных примеров по настоящему изобретению. В качестве альтернативы, обработкой в условиях бромирования, например, N-бромсукцинимидом в DMF, можно получить родственные 3-бромпроизводные, которые при дериватизации, как описано выше, позволяют как введение различных пиперидинов в гетероцикл в положении 4, так и дальнейшую дериватизацию нафтиридина в положении 3. Например, ароматические и гетероароматические фрагменты могут быть введены в этом направлении реакции с помощью химических реакций сочетания, известных в данной области. В соответствии с дополнительным способом этил-3-амино-6-бромпиридинаты, полученные из родственных этил-3-аминопиколинатов, могут быть обработаны, как описано выше, с получением 6-бром-1-метил-1,5-нафтиридин-2,4(1H,3H)-дионов, которые позволяют вводить различные фрагменты в положении 6 нафтиридинового гетероцикла, при этом одним из примеров является введение цианогруппы в этом положении, как показано на схеме 1.

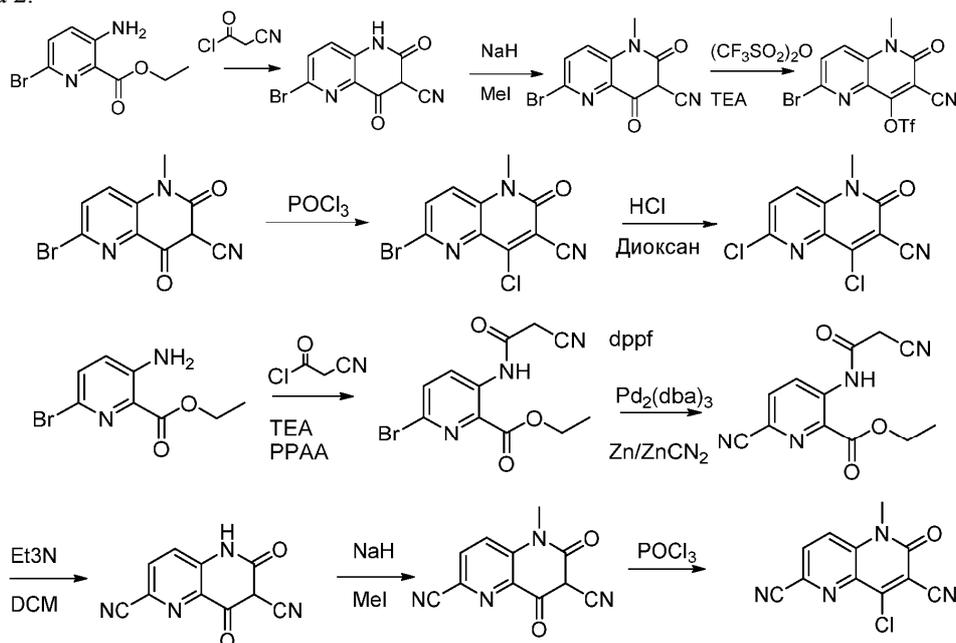
Схема 1.



Дополнительный способ, который может быть полезен при синтезе промежуточных соединений по настоящему изобретению, показан на следующей схеме.

Этил-3-амино-6-бромпиридинаты при обработке 2-цианоацетилхлоридом могут быть циклизованы с образованием 6-бром-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидро-1,5-нафтиридин-3-карбонитрилов. Они могут быть алкилированы по N1 в стандартных условиях и впоследствии преобразованы в родственные 6-бром-3-циано-1-метил-2-оксо-1,2-дигидро-1,5-нафтиридин-4-илтрифторметансульфонаты, которые являются полезными при получении других примеров. В качестве альтернативы, последовательной обработкой POCl_3 и HCl в диоксане получают 4,6-дихлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидро-1,5-нафтиридин-3-карбонитрилы, которые также являются полезными промежуточными соединениями.

Схема 2.



Другие способы синтеза, которые могут быть полезны для введения циано-фрагмента в положении 6 соединений примеров по настоящему изобретению, могут включать обработку промежуточных соединений этил-6-бром-3-(2-цианоацетидами)пиколината цинком и цианидом цинка в условиях палладиевого катализатора с образованием этил 3-(2-цианоацетидами)-6-циано-пиколинатов. Они могут быть дериватизированы с помощью способов, описанных ранее, с получением 4-хлор-6-изоциано-1-метил-2-оксо-1,2-дигидро-1,5-нафтиридин-3-карбонитрилов, которые могут вступать в реакцию с пиперидинами различной функциональности с получением ряда соединений примеров по настоящему изобретению.

Дополнительные полезные промежуточные соединения могут быть получены путем конденсации подходящим образом функционализированных нафтиридиноновых и хинолоновых гетероциклов с пиперидинами с различными функциональными группами, как показано на схеме ниже. Такие промежуточные соединения могут быть преобразованы в соединения примеров по настоящему изобретению путем дальнейшей обработки с применением, например, реакций Мицунобу или S_NAr с соответствующим образом функционализированными ароматическими или гетероароматическими партнерами сочетания.

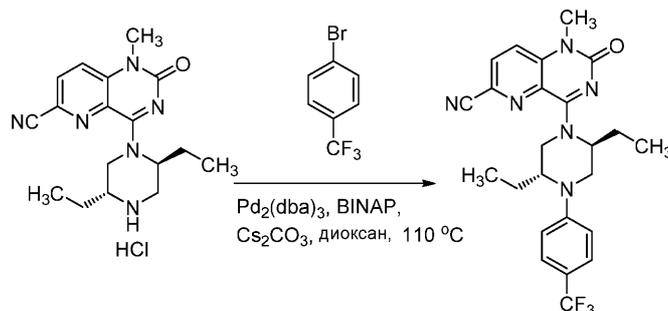
Условия ЖХ-МС:

Методика А: колонка: XBridge ВЕН XP C18 (50×2,1 мм), 2,5 мкм; подвижная фаза А: 95% вода:5% ацетонитрил; 10 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 5% вода:95% ацетонитрил; 10 мМ ацетат аммония; скорость потока: 1,1 мл/мин; температура: 50°C; время (мин): 0-3; % В: 0-100%.

Методика В: колонка: Kinetex XB-C18 (3×75 мм), 2,6 мкм; подвижная фаза А: 10 мМ формиат аммония:ацетонитрил (98:2), подвижная фаза В: 10 мМ формиат аммония:ацетонитрил (2:98), градиент = 20-100% В за 4 мин, затем 0,6 мин удерживание при 100% В; температура: 27°C; скорость потока: 1,0 мл/мин; детектирование: УФ при 220 нм.

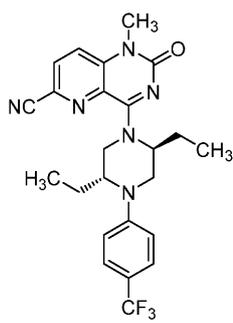
Методика С: колонка: Waters XBridge C18, 2,1 мм×50 мм, частицы 1,7 мкм; подвижная фаза А: 5:95 ацетонитрил:вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; подвижная фаза В: 95:5 ацетонитрил:вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; температура: 50°C; градиент: от 0% В до 100% В за 3 мин, затем 0,50 мин удерживание при 100% В; скорость потока: 1 мл/мин; детектирование: МС и УФ (220 нм).

Схема 1.



Пример 1.

4-((2S,5R)-2,5-диэтил-4-(4-(трифторметил)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил.



К перемешиваемому раствору 4-((2S,5R)-2,5-диэтилпиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиперидо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрила гидрохлорида (50 мг, 0,14 ммоль) в 1,4-диоксане (3 мл) добавляли последовательно 1-бром-4-(трифторметил)бензол (78 мг, 0,34 ммоль), карбонат цезия (135 мг, 0,41 ммоль) и рац-BINAP (17,2 мг, 0,028 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь продували аргоном и добавляли Pd₂(dba)₃ (12,6 мг, 0,01 ммоль) в атмосфере аргона. Реакционную виалу герметично закрывали и нагревали при 100°C в течение 14 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, экстрагировали EtOAc (2×30 мл), промывали водой, рассолом, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали под пониженным давлением с получением неочищенного остатка, который очищали с помощью препаративной ВЭЖХ [методика: Waters XBridge C18, 19×150 мм, частицы 5 мкм; подвижная фаза А: 10 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент: 15-75% В за 20 мин, затем 5 мин удерживание при 100% В; скорость потока: 15 мл/мин] с получением 4-((2S,5R)-2,5-диэтил-4-(4-(трифторметил)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиперидо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрила (4,5 мг, 7% выход). ЖХ-МС: m/z, 471,2 (M+H); время удерживания 2,20 мин; (методика ЖХ-МС: колонка: XBridge VEN XP C18 (50×2,1) мм, 2,5 мкм; подвижная фаза А: 95% вода: 5% ацетонитрил; 10 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 5% вода: 95% ацетонитрил; 10 мМ ацетат аммония; скорость потока: 1,1 мл/мин; температура: 50°C; время (мин): 0-3; % В: 0-100%); ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 8,28 (dd, J=4,2, 8,8 Гц, 1H), 8,03 (br dd, J=6,2, 8,7 Гц, 1H), 7,49 (d, J=8,8 Гц, 2H), 7,06 (br d, J=8,1 Гц, 2H), 6,02-5,65 (m, 1H), 5,24-4,90 (m, 1H), 4,16-3,97 (m, 1H), 3,78 (br d, J=12,5 Гц, 1H), 3,46 (s, 3H), 3,42-3,35 (m, 1H), 3,30 (br s, 1H), 1,96-1,72 (m, 2H), 1,61 (br d, J=7,6 Гц, 1H), 1,45-1,28 (m, 1H), 1,01-0,73 (m, 6H).

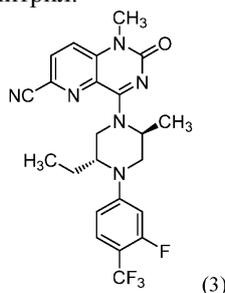
Пример 2 в табл. 1 получали из соответствующего пиперидина в соответствии с общими способами, описанными в примере 1.

Таблица 1

Пример No.	Структура	Стереохимия	Методика ЖХ-МС	ЖХ-МС RT	M+H
2		Гомохиральный	А	2,20	471,2

Пример 3.

4-((2S,5R)-5-этил-4-(3-фтор-4-(трифторметил)фенил)-2-метилпиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиперидо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил.



К перемешиваемому раствору 4-((2S,5R)-5-этил-2-метилпиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиперидо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрила (30 мг, 0,10 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл) добавляли 4-бром-2-фтор-1-(трифторметил)бензол (28,0 мг, 0,11 ммоль), Cs₂CO₃ (94 мг, 0,29 ммоль) и X-Phos Pd-G2 (1310584-14-5) (8 мг, 9,60 мкмоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь дегазировали арго-

ном в течение 5 мин. Вials герметично закрывали и нагревали при 110°C в течение 14 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через шприцевой фильтр, промывали избытком EtOAc, и фильтрат концентрировали под пониженным давлением с получением неочищенного остатка, который очищали с помощью препаративной ВЭЖХ [методика: Waters XBridge C18, 19×150 мм, частицы 5 мкм; подвижная фаза А: 10 mM ацетат аммония; подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент: 15-75% В за 20 мин, затем 5 мин удерживание при 100% В; скорость потока: 15 мл/мин] с получением 4-((2S,5R)-5-этил-4-(3-фтор-4-(трифторметил)фенил)-2-метилпиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрила (19 мг, 40% выход). ЖХ-МС: m/z, 475,2 (M+H); время удерживания 2,12 мин; (методика ЖХ-МС: колонка: XBridge VEN XP C18 (50×2,1) мм, 2,5 мкм; подвижная фаза А: 95% вода:5% ацетонитрил; 10 mM ацетат аммония; подвижная фаза В: 5% вода:95% ацетонитрил; 10 mM ацетат аммония; скорость потока: 1,1 мл/мин; температура: 50°C; время (мин): 0-3; % В: 0-100%); ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 8,27 (d, J=8,8 Гц, 1H), 8,03 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,47 (t, J=9,0 Гц, 1H), 6,95 (br d, J=15,4 Гц, 1H), 6,85 (dd, J=0,9, 8,4 Гц, 1H), 5,93-5,79 (m, 1H), 5,21-4,89 (m, 1H), 4,20-4,02 (m, 1H), 3,87-3,69 (m, 2H), 3,47 (s, 3H), 3,42-3,35 (m, 1H), 1,76-1,57 (m, 1H), 1,53-1,18 (m, 4H), 0,91 (t, J=7,5 Гц, 3H).

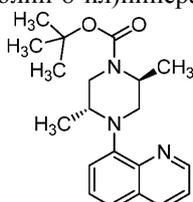
Пример 4 в табл. 2 получали из соответствующего пиперидина в соответствии с общими способами, описанными в примере 3.

Таблица 2

Пример No.	Структура	Стереохимия	Методика ЖХ-МС	ЖХ-МС RT	M+H
4		Гомохиральный	В	3,22	473,2

Промежуточное соединение 1.

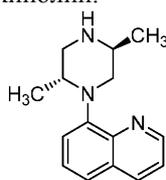
трет-бутил (2S,5R)-2,5-диметил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-карбоксилат.



К раствору трет-бутил (2S,5R)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (0,155 г, 0,721 ммоль) в DMSO (4 мл) добавляли 8-бромхинолин (0,1 г, 0,481 ммоль), [(2,6-диметилфенил)карбамоил]муравьиную кислоту (0,019 г, 0,096 ммоль), иодид меди (I) (9,15 мг, 0,048 ммоль) и фосфат калия трехосновный (0,204 г, 0,961 ммоль). Реакционную смесь барботировали аргоном в течение 1 мин. Реакционный сосуд закрывали и нагревали при 100°C в течение ночи. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС (колонка Acquity UPLC VEN C18 2,1×50 мм, 1,7 мкм; 0-100% В; градиент 2 мин, время анализа 3 мин; скорость потока 0,8 мл/мин (растворитель А: 90% вода, 10% метанол, 0,1% TFA; растворитель В: 10% вода, 90% метанол, 0,1% TFA)). Наблюдали образование продукта и некоторое количество исходного материала. Добавляли дополнительное количество [(2,6-диметилфенил)карбамоил]муравьиной кислоты (0,019 г, 0,096 ммоль), иодида меди (I) (9,15 мг, 0,048 ммоль) и фосфата калия трехосновного (0,204 г, 0,961 ммоль), и реакционную смесь нагревали в течение ночи при 100°C. ЖХ-МС не обнаружила исходного материала. Реакционную смесь фильтровали и очищали с помощью обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ, применяя колонку Xterra 30×100 мм, 5-100% В, градиент 12 мин, время анализа 14 мин (растворитель А: 90% вода, 10% ацетонитрил, 0,1% TFA, растворитель В: 10% вода, 90% ацетонитрил, 0,1% TFA). Целевые фракции концентрировали с получением трет-бутил (2S,5R)-2,5-диметил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,068 г, 0,199 ммоль, 41,4% выход). ЖХ-МС: R_t = 1,76 мин, (M+H) = 342,35.

Промежуточное соединение 2.

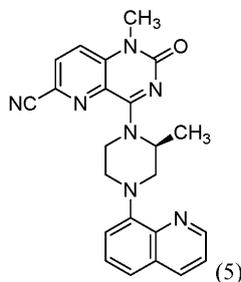
8-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)хинолин.



К раствору трет-бутил (2S,5R)-2,5-диметил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-карбоксилата (0,068 г, 0,199 ммоль) в дихлорметане (4 мл) при комнатной температуре добавляли HCl (0,149 мл, 0,597 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС (колонка: Acquity UPLC BEH C18 2,1×50 мм, 1,7 мкм; 0-100% В; градиент 2 мин, время анализа 3 мин, скорость потока 0,8 мл/мин (растворитель А: 90% вода, 10% метанол, 0,1% TFA; растворитель В: 10% вода, 90% метанол, 0,1% TFA)). Наблюдался пик продукта с корректной массой. Реакционную смесь концентрировали с получением 8-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)хинолина (0,048 г, 0,199 ммоль, 100% выход) в виде неочищенного вещества. ЖХ-МС: $R_t = 1,36$ мин, (M+H) = 242,30.

Пример 5.

(S)-5-метил-8-(2-метил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил.

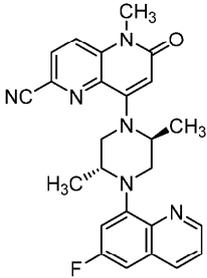
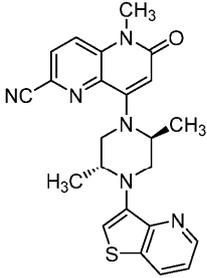
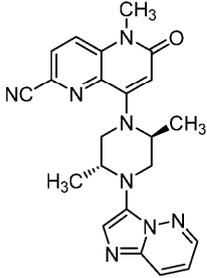


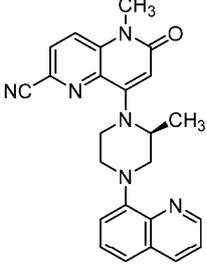
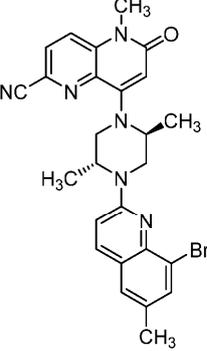
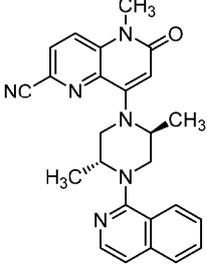
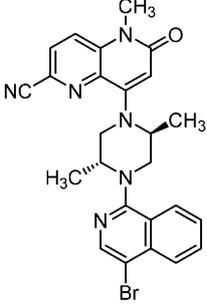
К раствору 6-циано-1-метил-2-оксо-1,2-дигидро-1,5-нафтиридин-4-ил трифторметансульфоната (0,030 г, 0,090 ммоль) в DMF (15 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота добавляли 8-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)хинолин (0,024 г, 0,099 ммоль) и DIEA (0,039 мл, 0,225 ммоль). Реакционный сосуд закрывали и нагревали при 80°C в течение ночи. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС (колонка: Acquity UPLC BEH C18 2,1×50 мм, 1,7 мкм; 0-100% В; градиент 2 мин, время анализа 3 мин, скорость потока 0,8 мл/мин (растворитель А: 90% вода, 10% метанол, 0,1% TFA; растворитель В: 10% вода, 90% метанол, 0,1% TFA)). Наблюдалось образование продукта. Реакционную смесь концентрировали, и остаток повторно растворяли в метаноле, фильтровали и очищали с помощью препаративной ЖХ-МС при следующих условиях: колонка: XBridge C18, 200 мм×19 мм, частицы 5 мкм; подвижная фаза А: 5:95 ацетонитрил:вода с 10 mM ацетата аммония; подвижная фаза В: 95:5 ацетонитрил:вода с 10 mM ацетата аммония; градиент: 0 минут удерживание при 29% В, 29-69% В за 25 минут, затем 5 минут удерживание при 100% В; скорость потока: 20 мл/мин. Целевые фракции объединяли и концентрировали с получением (S)-5-метил-8-(2-метил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила (0,0057 г, 0,013 ммоль, 15% выход). ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 8,94 (br d, $J=3,1$ Гц, 1H), 8,41 (br d, $J=7,6$ Гц, 1H), 8,23-8,08 (m, 2H), 7,57-7,50 (m, 1H), 7,24 (s, 2H), 7,13 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 6,16 (s, 1H), 5,04-4,93 (m, 1H), 4,91-4,81 (m, 1H), 3,99-3,82 (m, 2H), 3,57 (s, 2H), 3,13 (br d, $J=11,3$ Гц, 1H), 2,55 (s, 1H), 1,33 (d, $J=6,7$ Гц, 3H), 1,03 (d, $J=6,7$ Гц, 3H). ЖХ-МС: $R_t = 1,21$ мин, (M+H) = 425,26.

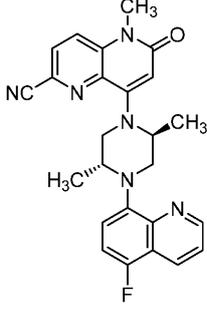
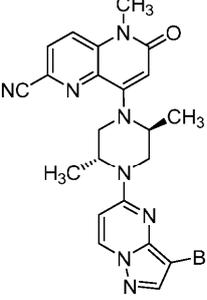
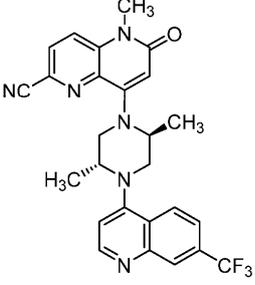
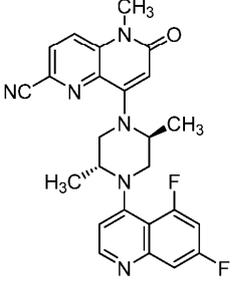
QC методика 1: колонка: Waters XBridge C18, 2,1 мм×50 мм, частицы 1,7 мкм; подвижная фаза А: 5:95 ацетонитрил:вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; подвижная фаза В: 95:5 ацетонитрил:вода с 0,1% трифторуксусной кислоты; температура: 50°C; градиент: от 0% В до 100% В за 3 мин, затем 0,50 мин удерживание при 100% В; скорость потока: 1 мл/мин; детектирование: МС и УФ (220 нм).

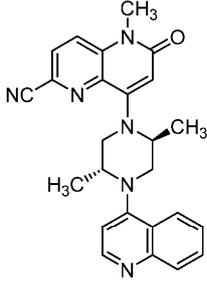
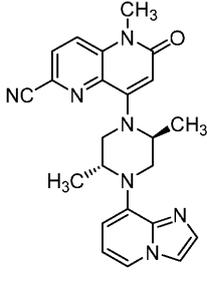
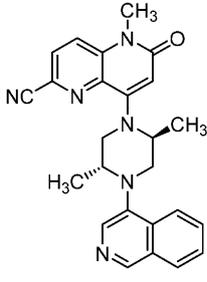
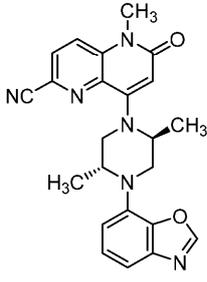
Соединения в табл. 3 получали из 6-циано-1-метил-2-оксо-1,2-дигидро-1,5-нафтиридин-4-ил трифторметансульфоната, применяя аналогичные химические преобразования, упомянутые выше в примере 5.

Таблица 3

Пример No.	Структура	Методика ЖХ-МС	Набл. в МС масса иона	Стерео- химия	RT
6		С	443,34	Н	1,37
7		С	431,18	Н	1,57
8		С	414,96	Н	1,02

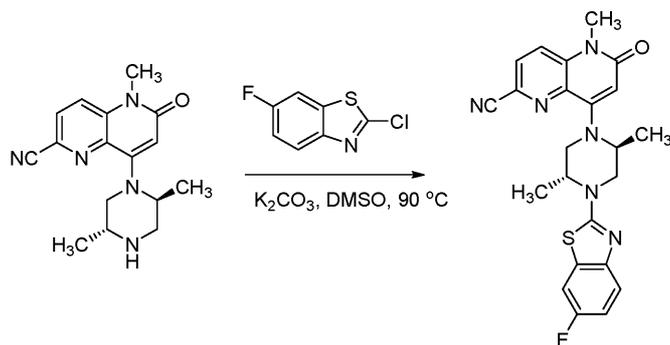
9		C	410,96	H	1,24
10		C	517,12	H	2,58
11		C	425,16	H	2,11
12		C	503,06	H	1,98

13		C	443,01	H	1,43
14		C	492,97	H	1,84
15		C	493,05	H	1,5
16		C	461,19	H	1,98

17		C	425,18	H	1,71
18		C	414,23	H	1,07
19		C	425,12	H	1,29
20		C	415,09	H	1,72

21		C	525,32	H	1,43
22		C	439,31	H	1,3
23		C	443,32	H	1,28
24		C	469,32	H	1,51

Пример 25.

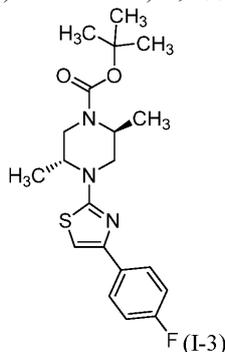


К перемешиваемому раствору 8-((2S,5R)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила (50 мг, 0,17 ммоль) в DMSO (4 мл) добавляли 2-хлор-6-фторбензо[d]тиазол (38 мг, 0,20 ммоль) и K_2CO_3 (70 мг, 0,50 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 90°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, экстрагировали EtOAc (3×30 мл), промывали водой, рассолом и высушивали над сульфатом натрия. Растворитель удаляли под пониженным давлением с получением неочищенного остатка, который очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (колонка: Waters XBridge C18, 19×150 мм, частицы 5 мкм; подвижная фаза А: 10 mM ацетат аммония; подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент: 15-50% В за 20 минут, затем 5 минут удержание при 100% В; скорость потока: 15 мл/мин) с получением 8-((2S,5R)-4-(6-фторбензо[d]тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила (10 мг, 13% вы-

ход). ЖХ-МС: m/z , 449,2 (M+H); RT 1,98 мин; (методика ЖХ-МС: колонка: XBridge ВЕН XP C18 (50 x 2,1) мм, 2,5 мкм; подвижная фаза А: 95% вода:5% ацетонитрил; 10 мМ ацетат аммония; подвижная фаза В: 5% вода:95% ацетонитрил; 10 мМ ацетат аммония; скорость потока: 1,1 мл/мин; температура: 50°C; время (мин): 0-3; % В: 0-100%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 8,26-8,18 (m, 1H), 8,16-8,06 (m, 1H), 7,74 (dd, J=2,7, 8,8 Гц, 1H), 7,46 (dd, J=4,6, 8,8 Гц, 1H), 7,13 (dt, J=2,7, 9,0 Гц, 1H), 6,14 (s, 1H), 4,74-4,62 (m, 1H), 4,43 (br d, J=2,4 Гц, 1H), 3,93-3,70 (m, 3H), 3,64 (dd, J=3,7, 13,2 Гц, 1H), 3,56 (s, 3H), 1,40 (d, J=6,6 Гц, 3H), 1,20 (d, J=6,6 Гц, 3H).

Промежуточное соединение 3.

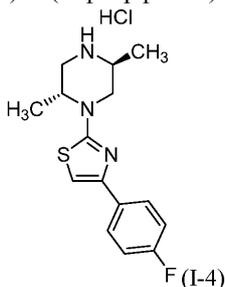
трет-бутил (2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилат.



К раствору трет-бутил (2S,5R)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (300 мг, 1,40 ммоль) в толуоле (4 мл) добавляли 2-бром-4-(4-фторфенил)тиазол (400 мг, 1,54 ммоль), трет-бутоксид натрия (404 мг, 4,20 ммоль), Xantphos (81 мг, 0,14 ммоль). Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 5 мин. Затем добавляли Pd₂(dba)₃ (128 мг, 0,14 ммоль) при комнатной температуре с последующим нагреванием при 110°C в течение 14 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали рассолом, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали под пониженным давлением. Неочищенное вещество очищали с помощью колоночной флеш-хроматографии (колонка: силикагель 12 г; растворитель: 25-40% EtOAc в петролейном эфире) с получением 5 трет-бутил (2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (300 мг, 55% выход). ЖХ-МС: m/z , 392,3 (M+H); RT 2,34 мин; колонка: Waters Acquity UPLC ВЕН C18 (2,1×50 мм), 1,7 мкм, подвижная фаза А: 10 мМ ацетата аммония:ацетонитрил (95:5); подвижная фаза В: 10 мМ ацетата аммония:ацетонитрил (5:95), градиент = 20-90% В за 1,1 минуты, затем 0,6 минут удерживание при 90% В; температура: 50°C; скорость потока: 0,7 мл/мин; детектирование: УФ при 220 нм.

Промежуточное соединение 4.

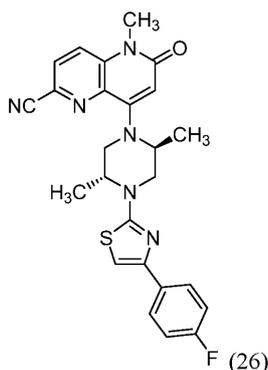
2-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-4-(4-фторфенил)тиазол, HCl.



К раствору трет-бутил (2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (250 мг, 0,64 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли 4 н. HCl в диоксане (0,8 мл, 3,19 ммоль) при 0°C. Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Растворитель удаляли под пониженным давлением и высушивали с получением 2-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-4-(4-фторфенил)тиазола, HCl (150 мг, 81% выход). ЖХ-МС: m/z , 292,3 (M+H); RT 1,36 мин; колонка: Waters Acquity UPLC ВЕН C18 (2,1×50 мм) 1,7 мкм, подвижная фаза А: 10 мМ ацетата аммония:ацетонитрил (95:5); подвижная фаза В: 10 мМ ацетата аммония:ацетонитрил (5:95), градиент = 20-90% В за 1,1 минуты, затем 0,6 минут удерживание при 90% В; температура: 50°C; скорость потока: 0,7 мл/мин; детектирование: УФ при 220 нм.

Пример 26.

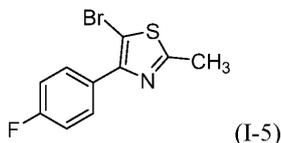
8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил.



К раствору 2-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-4-(4-фторфенил)тиазола, HCl (54 мг, 0,16 ммоль) в ацетонитриле (5 мл) добавляли бикарбонат натрия (125 мг, 1,50 ммоль) и 6-циано-1-метил-2-оксо-1,2-дигидро-1,5-нафтиридин-4-ил трифторметансульфонат (50 мг, 0,15 ммоль) при комнатной температуре. Полученную в результате смесь нагревали при 80°C в течение 14 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и растворитель удаляли под пониженным давлением с получением неочищенного остатка. Неочищенный остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (колонка: Waters XBridge C18, 150 мм×9 мм, частицы 5 мкм; подвижная фаза А: 5:95 ацетонитрил:вода с 10 мМ ацетата аммония; подвижная фаза В: 95:5 ацетонитрил:вода с 10 мМ ацетата аммония; градиент: 0 минут удержание при 15% В, 15-55% В за 25 минут, затем 5 минут удержание при 100% В; скорость потока: 15 мл/мин, температура колонки: 25°C) с получением 8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила (4,3 мг, 6% выход). ЖХ-МС: m/z, 475,1 (M+H); RT 2,08 мин (методика ЖХ-МС: колонка: XBridge ВЕН ХР С18 (50×2,1) мм, 2,5 мкм; подвижная фаза А: 95% вода:5% ацетонитрил, 10 мМ ацетата аммония; подвижная фаза В: 5% вода:95% ацетонитрил, 10 мМ ацетата аммония; скорость потока: 1,1 мл/мин; температура: 50°C; время (мин): 0-3; % В: 0-100%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 8,26-8,17 (m, 1H), 8,15-8,07 (m, 1H), 7,92 (dd, J=5,6, 8,6 Гц, 2H), 7,30-7,14 (m, 3H), 6,14 (s, 1H), 4,76-4,63 (m, 1H), 4,37 (br s, 1H), 3,87 (br d, J=12,5 Гц, 1H), 3,76-3,61 (m, 3H), 3,56 (s, 3H), 1,37 (d, J=6,6 Гц, 3H), 1,22 (d, J=6,6 Гц, 3H).

Промежуточное соединение 5.

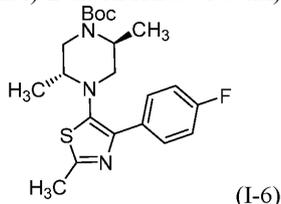
5-бром-4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол.



К раствору 4-(4-фторфенил)-2-метилтиазола (800 мг, 4,14 ммоль) в DCM (8 мл) добавляли Br₂ (0,25 мл, 4,55 ммоль) при комнатной температуре с последующим нагреванием при 45°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали рассолом, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали под пониженным давлением. Неочищенное вещество очищали с помощью колоночной флеш-хроматографии (колонка: силикагель 12 г; растворитель: 25-40% EtOAc в петролейном эфире) с получением 5-бром-4-(4-фторфенил)-2-метилтиазола (900 мг, 80% выход). ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ ppm 7,82-7,96 (m, 2H), 7,08-7,16 (m, 2H), 2,70 (s, 3H).

Промежуточное соединение 6.

трет-бутил (2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилат.

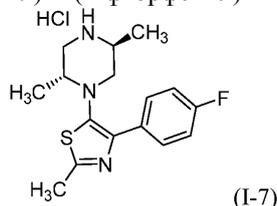


К раствору трет-бутил (2S,5R)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (300 мг, 1,40 ммоль) в толуоле (4 мл) добавляли 5-бром-4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол (420 мг, 1,54 ммоль), трет-бутоксид натрия (410 мг, 4,20 ммоль) и Xantphos (81 мг, 0,14 ммоль). Реакционную смесь дегазировали аргоном в течение 5 мин. Далее добавляли Pd₂(dba)₃ (130 мг, 0,14 ммоль) при комнатной температуре с последующим нагреванием при 110°C в течение 14 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали рассолом, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали под пониженным давлением. Неочищенное вещество очищали с помощью колоночной флеш-хроматографии (колонка: силикагель 12 г; растворитель: 25-40% EtOAc в петролейном эфире) с получением трет-бутил (2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)-2-

метилтиазол-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (350 мг, 62% выход). ЖХ-МС: m/z , 406,4 (M+H); RT 2,32 мин; колонка: Waters Acquity UPLC ВЕН C18 (2,1×50 мм) 1,7 мкм, подвижная фаза А: 10 мМ ацетата аммония:ацетонитрил (95:5); подвижная фаза В: 10 мМ ацетата аммония:ацетонитрил (5:95), градиент = 20-90% В за 1,1 минуты, затем 0,6 минуты удерживание при 90% В; температура: 50°C; скорость потока: 0,7 мл/мин; детектирование: УФ при 220 нм.

Промежуточное соединение 7.

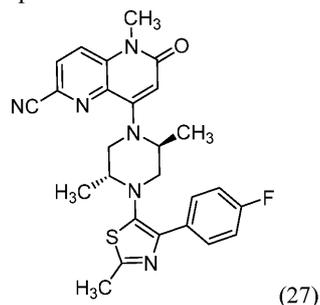
5-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол гидрохлорид.



К раствору трет-бутил (2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-карбоксилата (300 мг, 0,74 ммоль) в DCM (8 мл) добавляли 4 н. HCl в диоксане (0,8 мл, 3,70 ммоль) при 0°C. Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Растворитель удаляли под пониженным давлением и высушивали с получением 5-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-4-(4-фторфенил)-2-метилтиазола, HCl (180 мг, 71% выход). ЖХ-МС: m/z , 306,3 (M+H); RT 1,11 мин; колонка: Waters Acquity UPLC ВЕН C18 (2,1×50 мм) 1,7 мкм, подвижная фаза А: 10 мМ ацетата аммония:ацетонитрил (95:5); подвижная фаза В: 10 мМ ацетата аммония:ацетонитрил (5:95), градиент = 20-90% В за 1,1 минуты, затем 0,6 минуты удерживание при 90% В; температура: 50°C; скорость потока: 0,7 мл/мин; детектирование: УФ при 220 нм.

Пример 27.

8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил.



К раствору 5-((2R,5S)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-4-(4-фторфенил)-2-метилтиазола, HCl (50 мг, 0,15 ммоль) в ацетонитриле (5 мл) добавляли бикарбонат натрия (62 мг, 0,73 ммоль) и 6-циано-1-метил-2-оксо-1,2-дигидро-1,5-нафтиридин-4-ил трифторметансульфонат (59 мг, 0,18 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 14 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и растворитель удаляли под пониженным давлением с получением неочищенного остатка. Неочищенный остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (колонка: Waters XBridge C18, 150 мм × 19 мм, частицы 5 мкм; подвижная фаза А: 5:95 ацетонитрил:вода с 10 мМ ацетата аммония; подвижная фаза В: 95:5 ацетонитрил:вода с 10 мМ ацетата аммония; градиент: 0 минут удерживание при 15% В, 15-65% В за 25 минут, затем 5 минут удерживание при 100% В; скорость потока: 15 мл/мин, температура колонки: 25°C) с получением 8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила (7,8 мг, 10% выход). ЖХ-МС: m/z , 489,2 (M+H); RT 1,44 мин; (методика ЖХ-МС: колонка: XBridge ВЕН ХР C18 (50×2,1) мм, 2,5 мкм; подвижная фаза А: 95% вода:5% ацетонитрил; 0,1% TFA; подвижная фаза В: 5% вода:95% ацетонитрил; 0,1% TFA; скорость потока: 1,1 мл/мин; температура: 50°C; время (мин): 0-3; % В: 0-100%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 8,15-8,23 (m, 1H), 7,95-8,12 (m, 4H), 7,28 (t, J=8,8 Гц, 2H), 6,10 (s, 1H), 4,42-4,53 (m, 1H), 4,02-4,13 (m, 1H), 3,95 (d, J=15,9 Гц, 1H), 3,58-3,61 (m, 1H), 3,55 (s, 3H), 3,23-3,30 (m, 1H), 3,09-3,16 (m, 1H), 1,27 (d, J=6,6 Гц, 3H), 1,21 (d, J=6,4 Гц, 3H), (3H может быть скрыт пиком растворителя).

Биологические анализы

Фармакологические свойства соединений по настоящему изобретению могут быть подтверждены рядом биологических анализов. Примеры биологических анализов, приведенные ниже, были выполнены с соединениями по изобретению.

Анализ 1: Анализы ингибирования DGK *in vitro* - Методика А.

Реакции с DGKα и DGKζ проводили с применением экстрадированных липосом (анализы LIPGLO DGKα и DGKζ. Реакции проводили в 50 мМ MOPS pH 7,5, 100 мМ NaCl, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ CaCl₂ и

1 mM DTT (буфер для анализа). Концентрации липидного субстрата составляли 2 mM PS, 0,25 mM DAG и 2,75 mM PC для реакций с экструдированными липосомами. Реакции проводили в 150 мкМ АТФ. Концентрации фермента для DGK α и DGK ζ составляли 5 нМ.

Исследования ингибирования соединения проводили следующим образом: 50 нл каплей каждого тестируемого соединения (максимальная концентрация 10 mM с 11 точками, серии 3-кратных разведений для каждого соединения), солюбилизованного в DMSO, переносили в лунки белого 1536-луночного планшета (Corning 3725). 5 мл раствора фермент/субстрат с 2-кратной конечной реакционной концентрацией готовили путем объединения 2,5 мл раствора фермента 4-кратного разведения (20 нМ DGK α или DGK ζ (приготовленного, как описано ниже) в буфере для анализа) и 2,5 мл раствора липосом 4-кратного разведения (композиции, описанные ниже) и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. Затем в лунки, содержащие тестируемое соединение, добавляли 1 мкл 2х раствора фермент/субстрат, и реакции инициировали добавлением 1 мкл 300 мкМ АТФ. Реакции оставляли протекать в течение 1 ч, после чего добавляли 2 мкл реагента Glo (Promega V9101) и инкубировали в течение 40 минут. Далее добавляли 4 мкл реагента для выявления киназ (Kinase Detection Reagent) и инкубировали в течение 30 минут. Люминесценцию регистрировали с помощью микропланшетного ридера En Vision. Процент ингибирования рассчитывали по конверсии АТФ, генерируемой реакциями без ферментативного контроля для 100% ингибирования и реакциями только с носителем для 0% ингибирования. Соединения оценивали при 11 концентрациях для определения IC₅₀.

Приготовление 4х липосом.

Композиция липидов представляла собой 5 мольных % DAG (Avanti 8008110), 40 мольных % PS (Avanti 840035P) и 55 мольных % PC (Avanti 850457) при общей концентрации липидов 15,2 мг/мл для 4х раствора липосом. PC, DAG и PS растворяли в хлороформе, объединяли и высушивали под вакуумом до образования тонкой пленки. Липиды гидратировали до 20 mM в 50 mM MOPS pH 7,5, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂ и пять раз подвергали замораживанию-оттаиванию. Суспензию липидов экструдировали через поликарбонатный фильтр 100 нм одиннадцать раз. Для подтверждения размера липосом (радиус 50-60 нм) проводили динамическое рассеяние света. Липосомный препарат хранили при 4°C в течение четырех недель.

Бакуловирусовая экспрессия DGK α и DGK ζ человека.

Образцы бакуловируса DGK-альфа-TVMV-His-pFBgate человека и вариант 2 транскрипта DGK-дзета-TVMV-His-pFBgate человека были созданы с применением бакуловирусной системы экспрессии Bac-to-Bac (Invitrogen) в соответствии с протоколом производителя. DNA, применяемая для экспрессии DGK-альфа и DGK-дзета, имеет SEQ ID NO: 1 и 3, соответственно. Амплификацию бакуловируса проводили с применением инфицированных клеток Sf9 при соотношении вирус/клетка 1:1500 и выращивали в течение 65 ч при 27°C после трансфекции.

Масштабирование экспрессии для каждого белка проводили в 50 л волновом биореакторе Cellbag 50L WAVE-Bioreactor System 20/50 от GE Healthcare Bioscience. 12 л клеток Sf9 при 2×10⁶ клеток/мл (Expression System, Davis, CA), выращенных в среде для насекомых ESF921 (Expression System), инфицировали исходным вирусом при соотношении 1:200 вирус/клетка и выращивали в течение 66-68 часов при 27°C после инфицирования. Инфицированную клеточную культуру собирали путем центрифугирования при 2000 об/мин в течение 20 мин при 4°C в центрифуге SORVALL® RC12BP. Клеточный осадок хранили при -70°C до очистки.

Очистка DGK-альфа и DGK-дзета человека.

Полноразмерные DGK α и DGK ζ человека, каждая из которых экспрессирована и содержит расщепляемую TVMV последовательность с C-концевой Hexa-His-меткой (SEQ ID NO: 2 и 4, соответственно), и полученные, как описано выше, были очищены от пасты клеток насекомых Sf9, инфицированных бакуловирусом. Клетки лизировали, применяя способ азотной кавитации с азотной бомбой (Part Instruments), и лизаты очищали путем центрифугирования. Осветленные лизаты очищали до ~90% гомогенности с применением трех последовательных стадий колоночной хроматографии в системе ÄKTA Purifier Plus. Трехступенчатая колоночная хроматография включала улавливание никелевой аффинной смолы (например, HisTrap FF crude, GE Healthcare) с последующей эксклюзионной хроматографией по размеру (например, HiLoad 26/600 Superdex 200 prepgrade, GE Healthcare для DGK-альфа и HiPrep 26/600 Sephacryl S 300_HR, GE Healthcare для DGK-дзета). Третья стадия представляла собой ионообменную хроматографию, и она различалась для двух изоформ. DGK α очищали с помощью анионообменной хроматографии, применяя Q-Sepharose (GE Healthcare). DGK ζ очищали с помощью катионообменной хроматографии, применяя SP Sepharose (GE Healthcare). Белки получали с концентрациями ≥ 2 мг/мл. Буферы для состава были идентичными для обоих белков: 50 mM Hepes, pH 7,2, 500 mM NaCl, 10% об./об. глицерина, 1 mM TCEP и 0,5 mM EDTA.

Анализ 2: Анализы ингибирования DGK in vitro - Методика В.

Реакции с DGK α и DGK ζ проводили с применением экструдированных липосом (анализы LIPGLO DGK α и DGK ζ). Реакции проводили в 50 mM MOPS pH 7,5, 100 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 мкМ CaCl₂ и 1 mM DTT (буфер для анализа). Концентрации липидного субстрата составляли 2 mM PS, 0,25 mM DAG и

2,75 мМ РС для реакций с экструдированными липосомами. Реакции проводили в 150 мкМ АТФ. Концентрации фермента для DGK α и DGK ζ составляли 5 нМ.

Исследования ингибирования соединения проводили следующим образом: 25 нл капель каждого тестируемого соединения (максимальная концентрация 10 мМ с 11 точками, серии 3-кратных разведений для каждого соединения), солюбилизированного в DMSO, переносили в лунки белого 1536-луночного планшета (Corning 3725). 5 мл раствора фермент/липидный субстрат с 2-кратной конечной реакционной концентрацией готовили путем объединения 2,5 мл 4х раствора фермента (20 нМ DGK α или DGK ζ (приготовленного, как описано ниже) в буфере для анализа) и 2,5 мл 4х раствора детергент/липидные мицеллы (композиции, описанные ниже) и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. Затем в лунки, содержащие тестируемое соединение, добавляли 1 мкл 2х раствора фермент/липидный субстрат, и реакции инициировали добавлением 1 мкл 300 мкМ АТФ. Реакции оставляли протекать в течение 2 часов, после чего добавляли 2 мкл реагента Glo (Promega V9101) и инкубировали в течение 40 минут. Далее добавляли 4 мкл реагента для выявления киназ (Kinase Detection Reagent) и инкубировали в течение 30 минут. Люминесценцию регистрировали с помощью микропланшетного ридера En Vision. Процент ингибирования рассчитывали по конверсии АТФ, генерируемой реакциями без ферментативного контроля для 100% ингибирования и реакциями только с носителем для 0% ингибирования. Соединения оценивали при 11 концентрациях для определения IC₅₀.

Приготовление 2х липосом.

Композиция липидов представляла собой 5 мольных % DAG (Avanti 8008110), 40 мольных % PS (Avanti 840035P) и 55 мольных % PC (Avanti 850457) при общей концентрации липидов 7-8 мг/мл для раствора липосом. PC, DAG и PS растворяли в хлороформе, объединяли и высушивали под вакуумом до образования тонкой пленки. Липиды гидратировали до 20 мМ в 50 мМ MOPS pH 7,5, 100 мМ NaCl, 5 мМ MgCl₂ и пять раз подвергали замораживанию-оттаиванию. Суспензию липидов экструдировали через поликарбонатный фильтр 100 нм 10-12 раз. Для подтверждения размера липосом (радиус 50-60 нм) проводили динамическое рассеяние света. Липосомный препарат хранили при 4°C в течение четырех недель.

Бакуловирусная система экспрессии почти полноразмерной DGK α и полноразмерной DGK ζ человека.

Образцы бакуловируса MA-hDGK α -(S9-S727)-Ct-TVMV-His-pFBgate человека и полноразмерный вариант 2 транскрипта DGK- ζ -TVMV-His-pFBgate человека были созданы с применением бакуловирусной системы экспрессии Bac-to-Bac (Invitrogen) в соответствии с протоколом производителя (примечание: MA- в названии реагентов DGK α указывает на две дополнительные аминокислоты, добавленные перед Ser-9). DNA, применяемая для экспрессии DGK- α (9-727) и DGK- ζ , имеет последовательности SEQ ID NO: 5 и 3, соответственно. Амплификацию бакуловируса проводили с применением инфицированных клеток Sf9 при соотношении вирус/клетка 1:1500 и выращивали в течение 65 часов при 27°C после трансфекции.

Масштабирование экспрессии для почти полноразмерного белка DGK- α (9-727) проводили в 2 л колбах, и для полноразмерного DGK- ζ проводили с применением 50 л волнового биореактора Cellbag 50L WAVE-Bioreactor System 20/50 от GE Healthcare Bioscience. Экспрессию белков проводили в разных объемах при одинаковых условиях. Для экспрессии DGK α (9-727) применяли 2 колбы по 2 л, каждая содержащая 0,8 л конечного объема культуральной среды, и DGK ζ выращивали в масштабе 12 л в 50 л мешке для биореактора Cellbag. Для каждого, клетки Sf9 при исходной плотности 2×10^6 клеток/мл (Expression System, Davis, CA) высевали в среду для насекомых ESF921 (Expression System), инфицировали исходным вирусом при соотношениях 1:200 вирус/клетка и выращивали в течение 66-68 часов при 27°C после инфицирования. Инфицированные клеточные культуры собирали путем центрифугирования при 2000 об/мин в течение 20 мин при 4°C в центрифуге SORVALL® RC12BP. Клеточный осадок хранили при -80°C до очистки.

Очистка DGK-альфа и DGK-дзета человека.

DGK α и полноразмерная DGK ζ человека, каждая из которых экспрессирована и содержит расщепляемую TVMV последовательность с С-концевой Hexa-His-меткой (SEQ ID NO: 2 и 4, соответственно), и полученные, как описано выше, были очищены от пасты клеток насекомых Sf9, инфицированных бакуловирусом. Клеточные пасты размораживали и суспендировали в буфере (50 мМ HEPES, pH 7,2, 300 мМ NaCl, 10% об./об. глицерина, 1 мМ ТСЕР, содержащего бензоназу и ингибиторы протеазы) до 1:10 об./об. объема исходной культуры. Лизис осуществляли, применяя способ азотной кавитации с азотной бомбой (Part Instruments), и лизаты очищали путем высокоскоростного центрифугирования. Осветленные лизаты очищали до ~90% гомогенности с применением двух или трех последовательных стадий колоночной хроматографии, соответственно, в системе АКТА Purifier Plus. Обе изоформы очищали путем никель-аффинной очистки с элюированием в градиенте имидазола (то есть, HisTrap FF, GE Healthcare) с последующей эксклюзионной хроматографией по размеру (то есть, HiLoad 26/600 Superdex 200 prepgrade, GE Healthcare для DGK α (9-727), и HiPrep 26/600 Sephacryl S 300 HR, GE Healthcare для DGK ζ). Путем этих двух стадий получали DGK α (9-727) с чистотой >90%. Для достижения аналогичной чистоты для полноразмерной DGK ζ потребовалась третья стадия с применением катионообменной хроматографии (SP Se-

pharose FF, GE Healthcare) и градиентное элюирование с NaCl. Конечные буферы для состава были одинаковыми для обоих белков: с DGK α (9-727) приготовлен в 50 mM Hepes, pH 7,3, 300 mM NaCl, 10% об./об. глицерина и 1 mM TCEP, и с полноразмерной DGK ζ приготовлен в 50 mM Hepes, pH 7,3, 500 mM NaCl, 5% об./об. глицерина и 1 mM TCEP. Белки концентрировали до 1-2 мг/мл, быстро замораживали и хранили при -80°C в течение длительного времени.

Анализ 3: Анализ IL2 Т-клеток Raji CD4.

Анализ IL-2 в 1536-луночном планшете проводили в объеме 4 мкл с применением предварительно активированных CD4 Т-клеток и клеток Raji. Перед анализом CD4 Т-клетки предварительно активировали обработкой α -CD3, α -CD28 и РНА при 1,5 мкг/мл, 1 мкг/мл и 10 мкг/мл, соответственно. Клетки Raji обрабатывали стафилококковым энтеротоксином В (SEB) при концентрации 10000 нг/мл. Серийно разведенные соединения сначала переносили в 1536-луночный планшет для анализа (Corning, #3727) с последующим добавлением 2 мкл предварительно активированных CD4 Т-клеток (конечная плотность 6000 клеток/лунку) и 2 мкл клеток Raji, обработанных SEB (2000 клеток/лунку). Через 24 часа инкубации в инкубаторе при 37°C/5% CO₂ в планшет для анализа добавляли 4 мкл реагентов для выявления IL-2 (Cisbio, #64IL2PEC). Аналитические планшеты считывали на планшет-ридере Envision. Для оценки цитотоксичности соединения Т-клетки Raji или CD4 инкубировали с серийно разбавленными соединениями. После инкубации в течение 24 часов добавляли 4 мкл Cell Titer Glo (Promega, #G7572), и планшеты считывали на планшет-ридере Envision. 50% эффективную концентрацию (IC₅₀) рассчитывали по четырехпараметрической логистической формуле $y = A + ((B-A)/(1+(C/x)^D))$, где А и В обозначают минимальный и максимальный % активации или ингибирования, соответственно, С представляет собой IC₅₀, D представляет собой угол наклона, и х представляет собой концентрацию соединения.

Анализ 4: Анализ CellTiter-Glo пролиферации CD8 Т-клеток.

Замороженные наивные CD8 Т-клетки человека размораживали в RPMI+10% FBS, инкубировали в течение 2 ч при 37°C и подсчитывали. 384-Луночный планшет для тканевых культур покрывали 20 мкл человеческого анти-CD3 в течение ночи при 4°C в концентрации 0,1 мкг/мл в чистом RPMI, который удаляли с планшета перед добавлением в каждую лунку CD8 Т-клеток при 20 тыс/40 мкл с 0,5 мкг/мл растворимого человеческого анти-CD28. Соединения переносили в клеточный планшет сразу после посева клеток. После инкубации в течение 72 часов при 37°C в каждую лунку добавляли 10 мкл реагента CellTiter-glo (Promega, номер по каталогу G7570). Планшет энергично встряхивали в течение 5 минут, инкубировали при комнатной температуре в течение еще 15 минут и считывали пролиферацию CD8 Т-клеток на планшет-ридере Envision. При анализе 0,1 мкг/мл анти-CD3 и 0,5 мкг/мл анти-CD28 стимулированного сигнала CD8 Т-клеток были фоном. Контрольное соединение, 8-(4-(бис(4-фторфенил)метил)пиперазин-1-ил)-5-метил-7-нитро-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил, при 3 мкМ применяли для установки диапазона 100%, и EC₅₀ применяли при абсолютном значении 50% для нормализации данных.

Анализ 5: AP-1 репортерный анализ DGK.

Jurkat репортер AP-1 люциферазы был создан с применением набора Signal Lenti AP1 Reporter (luc) от SABiosciences (CLS-011L).

Соединения переносили из планшета Echo LDV в отдельные лунки 384-луночного планшета (белый, с плоским дном, непрозрачный PE CulturPlate 6007768) с применением прибора Echo550. Размер пробы составлял 30 нл на лунку; и один принимающий планшет на исходный планшет. Суспензии клеток готовили путем переноса 40 мкл клеток (2×20 мкл) в чистые конические пробирки на 50 мл. Клетки концентрировали центрифугированием (1200 об/мин, 5 мин, температура окружающей среды). Супернатант удаляли, и все клетки суспендировали в RPMI (Gibco 11875) + 10% FBS до достижения концентрации $1,35 \times 10^6$ клеток/мл. Клетки добавляли вручную с помощью многоканальной пипетки, 30 мкл/лунку клеточной суспензии, в 384-луночный планшет TC, содержащий соединения, $4,0 \times 10^4$ клеток на лунку. Планшеты с клетками инкубировали в течение 20 минут при 37°C и 5% CO₂.

Во время инкубации готовили растворы антител к CD3 (α CD3) путем смешивания 3 мкл α CD3 (1,3 мг/мл) с 10 мл среды [конечная концентрация = 0,4 мкг/мл]. Затем 1,5 мкл α CD3 (1,3 мг/мл) смешивали с 0,5 мл среды [конечная концентрация = 4 мкг/мл]. Через 20 минут 10 мкл среды добавляли во все лунки в колонке 1, лунки от А до М, и 10 мкл α CD3 (4 мкг/мл) на лунку добавляли в колонку 1, строки с N по P для сравнения. Затем с помощью многоканальной пипетки добавляли 10 мкл α CD3 (0,4 мкг/мл) на лунку. Клетки, стимулированные α CD3, +/- обработанные соединением, инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение 6 часов.

В течение этого инкубационного периода реагент Steady-Glo (Promega E2520) медленно размораживали до температуры окружающей среды. Затем по 20 мкл реагента Steady-Glo на лунку добавляли с помощью диспенсера Multidrop Combi. Пузырьки удаляли путем центрифугирования (2000 об/мин, температура окружающей среды, в течение 10 с). Клетки инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут. Образцы были охарактеризованы путем измерения относительных световых единиц (RLU) с применением планшетного ридера Envision по протоколу считывания люминесценции. Данные анализировали с применением контрольного соединения 8-(4-(бис(4-фторфенил)метил)пиперазин-1-ил)-5-

метил-7-нитро-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила для нормализации к 100% ингибирования.

Анализ 6: Анализ мышинных цитотоксических Т-лимфоцитов.

Был разработан анализ антиген-специфических цитолитических Т-клеток (CTL) для функциональной оценки способности ингибиторов DGK α и DGK ζ усиливать опосредованную эффекторными Т-клетками активность в отношении уничтожения опухолевых клеток. CD8⁺ Т-клетки, выделенные от трансгенной мыши OT-1, распознают антигенпрезентирующие клетки, MC38, которые презентуют полученный из овальбумина пептид SIINFEKL. Распознавание родственного антигена инициирует цитолитическую активность OT-1 антиген-специфических CD8⁺ Т-клеток.

Функциональные CTL клетки получали следующим образом: спленоциты мышей OT-1 в возрасте 8-12 недель выделяли и размножали в присутствии пептида SIINFEKL в концентрации 1 мкг/мл и mIL2 в концентрации 10 ЕД/мл. Через три дня добавляли свежую среду с mIL2 ЕД/мл. На 5-й день разрастания CD8⁺ Т-клетки были выделены и готовы к применению. Активированные CTL клетки могут храниться в замороженном виде в течение 6 месяцев. Отдельно в один миллион опухолевых клеток MC38 вводили 1 мкг/мл пептида SIINFEKL-OVA в течение 3 часов при 37°C. Клетки промывали (3х) свежей средой для удаления избытка пептида. Затем CTL клетки, которые предварительно обрабатывали ингибиторами DGK в течение 1 часа в 96-луночном планшете с U-образным дном, объединяли с опухолевыми клетками MC38 с введенным антигеном в соотношении 1:10. Затем клетки центрифугировали при 700 об/мин в течение 5 мин и помещали в инкубатор на ночь при 37°C. Через 24 часа супернатант собирали для анализа уровней цитокинов IFN- γ с помощью AlphaLisa, приобретенного у Perkin Elmer.

Анализ 7: Анализ пролиферации РНА.

Стимулированные фитогемагглютинином (РНА) бластные клетки из замороженных запасов инкубировали в среде RPMI (Gibco, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA), дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), в течение одного часа перед добавлением в отдельные лунки 384-луночного планшета (10000 клеток на лунку). Соединения переносили в отдельные лунки 384-луночного планшета, и обработанные клетки выдерживали при 37°C, 5% CO₂ в течение 72 ч в культуральной среде, содержащей человеческий IL2 (20 нг/мл), перед измерением роста с применением реагента MTS, 3-(4,5-диметил-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолий], следуя инструкциям производителя (Promega, Madison, WI). Процент ингибирования рассчитывали, сравнивая значения между стимулированным IL2 (0% ингибирование) и нестимулированным контролем (100% ингибирование). Определение концентраций ингибирования (IC₅₀) рассчитывали на основе 50% ингибирования кратной индукции между стимулированным IL2 и нестимулированным лечением.

Анализ 8: Анализ IFN- γ в CD8 Т-клетках человека.

Замороженные наивные CD8 Т-клетки человека размораживали в среде AIM-V, инкубировали в течение 2 часов при 37°C и подсчитывали. 384-Луночный планшет для тканевых культур в течение ночи при 4°C покрывали 20 мкл антитела к CD3 человека при 0,05 мкг/мл в PBS, который удаляли с планшета перед тем, как 40000 клеток на 40 мкл CD8 Т-клеток с 0,1 мкг/мл растворимого антитела к CD28 человека добавляли в каждую лунку. Соединения переносили с помощью жидкостного манипулятора Echo на планшет для культуры клеток сразу после посева клеток. После 20-часовой инкубации при 37°C супернатанты по 3 мкл на лунку переносили в новый 384-луночный белый планшет для анализа для измерения цитокинов. Интерферон- γ (IFN- γ) количественно определяли с применением набора AlphaLISA (номер по каталогу AL217), как описано в руководстве производителя (Perkin Elmer). Подсчеты в каждой лунке переводили в концентрацию IFN- γ (пг/мл). Значения EC₅₀ соединения определяли путем установления 0,05 мкг/мл анти-CD3 плюс 0,1 мкг/мл анти-CD28 в качестве исходного уровня и совместной стимуляции 3 мкМ контрольного соединения, 8-(4-(бис(4-фторфенил)метил)пиперазин-1-ил)-5-метил-7-нитро-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила, с анти-CD3 плюс анти-CD28 в качестве 100% активации.

Анализ 9: Анализ pERK CD8 Т-клеток человека.

Замороженные наивные CD8 Т-клетки человека размораживали в среде AIM-V, инкубировали в течение 2 часов при 37°C и подсчитывали. Положительные по CD8 Т-клетки добавляли в 384-луночный планшет для тканевых культур по 20000 клеток на лунку в среде AIM-V. В каждую лунку добавляли по одному соединению, затем добавляли связанные с гранулами моноклональные антитела против CD3 человека и против CD28 человека при конечной концентрации 0,3 мкг/мл. Клетки инкубировали при 37°C в течение 10 минут. Реакцию останавливали добавлением лизирующего буфера из набора AlphaLISA SureFire (Perkin Elmer, номер по каталогу ALSU-PERK-A). Лизат (5 мкл на лунку) переносили в новый 384-луночный белый планшет для анализа для измерения активации pERK. Значение EC₅₀ соединения определяли путем установления анти-CD3 плюс анти-CD28 в качестве исходного уровня и совместной стимуляции 3 мкМ 8-(4-(бис(4-фторфенил)метил)пиперазин-1-ил)-5-метил-7-нитро-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила с анти-CD3 плюс анти-CD28 в качестве 100% активации.

Анализ 10: Анализ IFN- γ в цельной крови человека.

Цельную венозную кровь человека (22,5 мкл на лунку), полученную от здоровых доноров, предварительно обрабатывали соединениями в течение одного часа при 37°C в инкубаторе при влажности воз-

духа 95%/5% CO₂. Кровь стимулировали 2,5 мкл mAb против CD3 и против CD28 человека в конечной концентрации 1 мкг/мл каждого в течение 24 часов при 37°C. IFN-γ в супернатантах измеряли с применением набора AlphaLISA (номер по каталогу AL217). Значение EC₅₀ соединения определяли путем установления анти-CD3 плюс анти-CD28 в качестве исходного уровня и совместной стимуляции 3 мкМ контрольного соединения 8-(4-(бис(4-фторфенил)метил)пиперазин-1-ил)-5-метил-7-нитро-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрила с анти-CD3 плюс анти-CD28 в качестве 100% активации.

Анализ 11: Анализ pERK DGK цельной крови человека.

Анализ фосфорилирования ERK цельной крови человека проводили с цельной венозной кровью человека, полученной от здоровых доноров (отобранной с гепарином в качестве антикоагулянта). Серийные разведения соединений (11 точек, 3-кратные) в DMSO добавляли в 384-луночные планшеты по 20 нл/лунку с применением акустического дозатора ECHO 550 (Labcyte) до достижения конечной начальной концентрации 20 мкМ в анализе. Гепаринизированную цельную кровь человека добавляли в планшет с соединением по 9 мкл на лунку и инкубировали в течение одного часа при 37°C в инкубаторе при влажности воздуха 95%/5% CO₂.

Через один час инкубации с соединением в лунку добавляли 1 мкл антитела человека против CD3 (собственного производства) в присутствии сшивающего антитела козы против мышинового IgG (4 мкг/мл) в конечной концентрации 1 мкг/мл для стимуляции пути и дополнительно инкубировали в течение 15 минут при 37°C. Стимуляцию прекращали добавлением 90 мкл буфера Fix/Lyse (BD 558049). Клетки промывали и окрашивали антителами против CD8 PE (BD 555635) в течение 60 минут при комнатной температуре, снова промывали и подвергали пермеабиллизации на льду с применением буфера Perm III (BD 558050) в течение 30 минут.

Затем клетки окрашивали Alexa Fluor® 647 anti-ERK1/2 Phospho (Thr202/Tyr204) Antibody (Biolegend 675504) в течение 60 минут в разведении 1:50. Образцы промывали и ресуспендировали в dPBS, содержащем 1% BSA (dPBS, Gibco 14190136; BSA, Sigma-Aldrich A9205). Образцы анализировали с помощью платформы Intellicyt® iQue Screener PLUS. Активацию pERK количественно оценивали по проценту pERK-положительной популяции среди CD8-положительной популяции. Расчеты активности соединения были основаны на внутреннем соединении в концентрации 20 мкМ как 100% активации и анти-CD3-контроле как 0% активации.

Нуклеотидная последовательность, кодирующая hDGK α -(M1-S735)-Ct-TVMV-His:

```

1   ATGGCCAAAGG AGAGGGGCCT AATAAGCCCC AGTGATTTTG CCCAGCTGCA
51  AAAATACATG GAATACTCCA CAAAAAAGGT CAGTGATGTC СТАААГСТСТ
101 TCGAGGATGG CGAGATGGCT AAAATATGTC AAGGAGATGC CATTGGGTAC
151 GAGGGATTCC AGCAATTCCT GAAAATCTAT CTCGAAGTGG АТААТГТТСС
201 CAGACACСТА AGCCTGGCAC TGTTTCAATC CTTTGAGACT GGTCACTGCT
251 TAAATGAGAC AAATGTGACA AAAGATGTGG TGTGTCTCAA ТГАТГТТСС
301 TGСТАСТТТТ СССТТСТГГА GGGTGGTCGG ССАГААГАСА АГТТАГААТТ
351 САССТТСААГ СТГТАСГАСА СGGACAGAAA TGGGATCCTG GACAGCTCAG
401 ААГТGGACAA ААТТАТССТА СAGATGATGC GAGTGGCTGA АТАССТGGAT
451 TGGGATGTGT CTGAGCTGAG GCCGATTCCT CAGGAGATGA ТGAAAGAGAT
501 ТGACTATGAT GGCAGTGGCT СТGTCTCTCA АССТGAGTGG ГТССGGGCTG
551 GGGCCACCAC CGTGCCACTG СТАГТГСТГС ТGGGTCTGGA GATGACTCTG
601 АAGGACGACG GACAGCACAT GTGGAGGCC АAGAGGTTC ССAGACCAGT
651 СТАТТGCAAT СТГТGCGAGT СAAGCATTGG ТСТTGGCAA СAGGGACTGA
701 GCTGТААССТ СТGТАAGTAC АСТGТТСАСG АССAGTGTGC САТGAAAGCC
751 СТGССТТТG АAGTCAGCAC СТАТGCCAAG ТСТCGGAAGG АСАТТGGTGT
801 ССААТСАСАТ GTGTGGGTGC GAGGAGGCTG ТGAGTCCGGG СGТGCGACC
851 GCTGTСAGAA AAAGATCCGG АТСТACCACA GTCTGACC GGТGСАТТGT
901 GTATGGTGCC АССТАGAGAT ССАСGATGAC TGCTGCAAG СGGTGGGCCA
951 TGAGTGTGAC TGTGGGCTGC ТССGGGATCA САТССТGССТ ССАТСТТССА
1001 ТСТАТСССAG TGTCTGGCC ТСТGGACCGG АТСГТААААА TAGСAAААСА
1051 АGCCAGAAGA ССАТGGATGA ТТТАААТТТG АССАССТСТG АGGСТСТGCG
1101 GATТGACССТ GTTCCTAACA СССАССССТ ТСТСГТСТТТ ГТСААТССТА
1151 АGAGTGGCGG GAAGCAGGGG СAGAGGGTGC ТСТGGAAGTT ССAGТАТАТА
1201 ТТАААСССТС GACAGGTGTТ СAACCTCCTA АAGGATGGTC СТGAGATAGG
1251 GCTCCGATTA ТТСАAGGATG ТТСТGATAG ССGGATTTTG GTGTGTGGTG
1301 GAGACGGCAC АGТАGGCTGG АТТСТAGAGA ССАТТGACAA АGСТAACTTG
1351 ССAGТТТТG СТССТGТТG ТGTGTGGCCC СТGGTACTG GAAATGATCT
1401 GGCTCCATGC СТАAGATGGG GAGGAGGTTA ТGAAGGACAG ААТСТGGCAA
1451 АGATССТСАА GGATTTAGAG АТGAGTAAAG TGGTACATAT GGATCGATGG
1501 ТСТGTGGAGG ТGATACCTCA АСAAACTGAA GAAAAAGTG ACCCAGTCCC
1551 СТТТСААТC АТСААТААСТ АСТТСТСТАТ TGGCGTGGAT СССТТАТТG
1601 СТСАТСГАТТ ССАСАТСАТG СGAGAGAAAT АТССGGAGAA GTTCAACAGC
1651 АGААТGAAGA АСАAGCTATG GТАСТТСГАА ТТТGCCACAT СТGААТССАТ
1701 СТТСТСААСА TGCAAAAAGC TGGAGGAGTC ТТТGACAGTT GAGATCTGTG
1751 GGAAACCGCT GGATCTGAGC AACCTGTCCC TAGAAGGCAT СGСAGTГСТА
1801 ААСАТСССТА GCATGCATGG TGGCTCCAAC СТСТGGGGTG АТАССAGGAG
1851 АССССАТGGG GATATCTATG GGATCAACCA GGCCTTAGGT GCTACAGCTA
1901 АAGТСАТСАС СGACCSTGAT АТССТGAAAA ССТGTGTACC АGACСТАAGT
1951 GACAAGAGAC TGGAAGTGGT TGGGCTGGAG GGTGCAATG АGATGGGCCA
2001 ААТСТАТАСС АAGCTCAAGA АТGCTGGACG ТСGGCTGGCC АAGTГСТСТG
2051 АGATСАССТТ ССАСАСССА ААААСССТТ ССАТGCAAAТ TGACGGAGAA
2101 СССТGGATGC АGACGCCCTG ТАСААТСАAG АТСАССССА АGААССAGAT
2151 GCCCATGCTC АТGGGCCAC ССССССГТC САССААТТТC ТТТGGCTTCT
2201 TGAGCGGATC СТСGGAGACA GTGCGGTTC АGGGACACCA ССАССАТСАС
2251 САСТGA

```

(SEQ ID NO: 1)

Аминокислотная последовательность hDGK α -(M1-S735)-Ct-TVMV-His:

0001 MAKERGLISP SDFALQKYM EYSTKKVSDV LKLFEDGEMA KYVQGDALIGY EGFQQFLKIY 0060

0061 LEVDNVPRHL SLALFQSFET GHCLNETNVT KDVVCLNDVS CYFSLLEGGR PEDKLEFTFK 0120
 0121 LYDTRNGIIL DSSEVDKIIL QMMRVAEYLD WDVSELRPIL QEMMKEIDYD GSGSVSQAWE 0180
 0181 VRAGATTVPL LVLLGLEMTL KDDGQHMWRP KRFRPVYCN LCESSIGLGK QGLSCNLCKY 0240
 0241 TVHDQCAMKA LPCEVSTYAK SRKLDIGVQSH VVVRGGCESG RCDRCQKKIR IYHSLTGLHC 0300
 0301 VWCHLEIHDD CLQAVGHECD CGLLRDHILP PSSIYPSVLA SGPDRKNSKT SQKTMDDLNL 0360
 0361 STSEALRIDP VPNTHPLLVF VNPKSGGKQG QRVLWKFYI LNPRQVFNLL KDGPEIGLRL 0420
 0421 FKDVPPDSRIL VCGGDGTGVW ILETIDKANL PVLPPVAVLP LGTGNLARC LRWGGGYEGQ 0480
 0481 NLAKILKLE MSKVVMMDRW SVEVIPQQTE EKSDPVVFFQI INNYFSIGVD ASIAHRFHIM 0540
 0541 REKYPEKFNS RMKNKLWYFE FATSESIFFST CKKLEESLTV EICGKPLDLS NLSLEGI AVL 0600
 0601 NIPSMHGGSN LWGDTRRPHG DIYGINQALG ATAKVITDPD ILKTCVPDLS DKRLEVVGLE 0660
 0661 GAIEMGQIYT KLKNAGRRLA KCSEITFHTT KTLPMQIDGE PWMQTPCTIK ITHKNQMPML 0720
 0721 MGPPPRSTNF FGFLSGSSET VRFQGHNNHH H 0751

(SEQ ID NO: 2)

Нуклеотидная последовательность, кодирующая hDGK ζ -(M1-A928)-транскрипт вариант-2

Ct-TVMV-His:

1 ATGGAGCCGC GGGACGGTAG CCCCAGGCC CGGAGCAGCG ACTCCGAGTC
 51 GGCTTCCGCC TCGTCCAGCG GCTCCGAGCG CGACGCCGGT CCGGAGCCGG
 101 ACAAGGCGCC GCGGCGACTC AACAAGCGGC GCTTCCCGGG GCTGCGGCTC
 151 TTCGGGCACA GGAAAGCCAT CACGAAGTCG GGCCTCCAGC ACCTGGCCCC
 201 CCCTCCGCCC ACCCCTGGGG CCCCCTGCAG CGAGTCAGAG CGGCAGATCC
 251 GGAGTACAGT GGAAGTGGAG GAGTCAGCGA CATATGGGGA GCACATCTGG
 301 TTCGAGACCA ACGTGTCCGG GGAATCTGTC TACGTTGGGG AGCAGTACTG
 351 TGTAGCCAGG ATGCTGCAGA AGTCAGTGTG TCGAAGAAAAG TGCGCAGCCT
 401 GCAAGATTGT GGTGCACACG CCCTGCATCG AGCAGCTGGA GAAGATAAAT
 451 TTCCGCTGTA AGCCGTCCTT CCGTGAATCA GGCTCCAGGA ATGTCCGCGA
 501 GCCAACCTTT GTACGGCACC ACTGGGTACA CAGACGACGC CAGGACGGCA
 551 AGTGTCCGCA CTGTGGGAAG GGATCCAGC AGAAGTTCAC CTCCACAGC
 601 AAGGAGATG TGCCATCAG CTGCTCGTGG TGCAAGCAGG CATACCACAG
 651 CAAGGTGTCC TGCTTCATGC TGCAGCAGAT CGAGGAGCCG TGCTCGCTGG
 701 GGGTCCACCG AGCCGTGGTC ATCCCGCCCA CCTGGATCCT CCGCGCCCGG
 751 AGGCCCCAGA ATACTCTGAA AGCAAGCAAG AAGAAGAAGA GGGCATCCTT
 801 CAAGAGGAAG TCCAGCAAGA AAGGGCCTGA GAGGGGCCGC TGGAGACCTT
 851 TCATCATCAG GCCACCCCC TCCCCGCTCA TGAAGCCCTT GCTGGTGTTT
 901 GTGAACCCCA AGAGTGGGGG CAACCAGGGT GCAAAGATCA TCCAGTCTTT
 951 CCTCTGGTAT CTCAATCCCC GACAAGTCTT CGACCTGAGC CAGGGAGGGC
 1001 CCAAGGAGGC GCTGGAGATG TACCGCAAAG TGCACAACCT GCGGATCCTG
 1051 GCGTGCCGGG GCGACGGCAC GGTGGGCTGG ATCCTCTCCA CCCTGGACCA
 1101 GCTACGCCGT AAGCCGCCAC CCCCTGTTGC CATCCTGCCC CTGGGTAATG
 1151 GCAACGACTT GGCCCGAACC CTCAACTGGG GTGGGGGCTA CACAGATGAG
 1201 CCTGTGTCCA AGATCCTCTC CCACGTGGAG GAGGGGAACG TGGTACAGCT
 1251 GGACCGCTGG GACCTCCACG CTGAGCCCAA CCCCAGGCA GGGCCTGAGG
 1301 ACCGAGATGA AGGCGCCACC GACCGGTTGC CCCTGGATGT CTTCAACAAC
 1351 TACTTCAGCC TGGGCTTTGA CGCCACGTC ACCCTGGAGT TCCACGAGTC
 1401 TCGAGAGGCC AACCCAGAGA AATTCACAG CCGCTTTCGG AATAAGATGT
 1451 TCTACGCCGG GACAGCTTTC TCTGACTTCC TGATGGGCAG CTCCAAGGAC
 1501 CTGGCCAAGC ACATCCGAGT GGTGTGTGAT GGAATGGACT TGACTCCCAA
 1551 GATCCAGGAC CTGAAACCCC AGTGTGTTGT TTTCTGAAC ATCCCAGGT
 1601 ACTGTGCGGG CACCATGCCC TGGGGCCACC CTGGGGAGCA CCACGACTTT
 1651 GAGCCCCAGC GGCATGACGA CGGCTACCTC GAGGTCATTG GCTTCACCAT
 1701 GACGTCGTTG GCCCGCTGC AGGTGGGCGG ACACGGCGAG CGGCTGACGC
 1751 AGTGTCCGGA GGTGTGTGTC ACCACATCCA AGGCCATCCC GGTGCAAGTG
 1801 GATGGCGAGC CCTGCAAGCT TGCAGCCTCA CGCATCCGCA TCGCCCTGGG
 1851 CAACCAGGCC ACCATGGTGC AGAAGGCCAA GCGGCGGAGC GCCGCCCCCC
 1901 TGACAGCGA CCAGCAGCCG GTGCCAGAGC AGTTGCGCAT CCAGGTGAGT

1951 CGCGTCAGCA TGCACGACTA TGAGGCCCTG CACTACGACA AGGAGCAGCT
 2001 CAAGGAGGCC TCTGTGCCGC TGGGCACTGT GGTGGTCCCA GGAGACAGTG
 2051 ACCTAGAGCT CTGCCGTGCC CACATTGAGA GACTCCAGCA GGAGCCCGAT
 2101 GGTGCTGGAG CCAAGTCCCC GACATGCCAG AACTGTCCC CCAAGTGGTG
 2151 CTTCCCTGGAC GCCACCACTG CCAGCCGCTT CTACAGGATC GACCCGAGCCC
 2201 AGGAGCACCT CAACTATGTG ACTGAGATCG CACAGGATGA GATTATATC
 2251 CTGGACCTG AGCTGCTGGG GGCATCGGCC CGGCCTGACC TCCCAACCCC
 2301 CACTTCCCCT TCCCCACCT CACCCTGCTC ACCCACGCC CGGTCACTGC
 2351 AAGGGGATGC TGCACCCCT CAAGGTGAAG AGCTGATGA GGCTGCCAAG
 2401 AGGAACGACT TCTGTAAGCT CCAGGAGCTG CACCGAGCTG GGGGCGACCT
 2451 CATGCACCGA GACGAGCAGA GTCGCACGCT CCTGCACCAC GCAGTCAGCA
 2501 CTGGCAGCAA GGATGTGGTC CGCTACCTGC TGGACCACGC CCCCCAGAG
 2551 ATCCTTGATG CGGTGGAGGA AAACGGGGAG ACCTGTTTGC ACCAAGCAGC
 2601 GGCCCTGGGC CAGCGCACCA TCTGCCACTA CATCGTGGAG GCCGGGGCCT
 2651 CGCTCATGAA GACAGACCAG CAGGGCGACA CTCGCCGCA GCGGGCTGAG
 2701 AAGGCTCAGG ACACCGAGCT GGCCGCCTAC CTGGAGAACC GGCAGCACTA
 2751 CCAGATGATC CAGCGGGAGG ACCAGGAGAC GGCTGTGGGA TCCTCGGAGA
 2801 CAGTGGGTT TCAGGGACAC CACCACCATC ACCACTGA

(SEQ ID NO: 3)

Аминокислотная последовательность hDGK ζ -(M1-A928)-транскрипт вариант-2 Ct-TVMV-

His:

0001 MEPRDGSPEA RSSDSESASA SSSGSEADAG PEPDKAPRRL NKRRFPGLRL FGHRKAITKS 0060
 0061 GLQHLAPPPP TPGAPCSESE RQIRSTVDWS ESATYGEHIW FETNVSGDFC YVGEQYCVAR 0120
 0121 mLQKSVSRRK CAACKIVVHT PCIEQLEKIN FRCKPSFRES GSRNVREPTF VRHHWVHRRR 0180
 0181 QDGKCRHCGK GFQKFTFHS KEIVAIKCSW CKQAYHSKVS CFMLQQIEEP CSLGVHAAVV 0240
 0241 IPPTWILRAR RPQNTLKASK KKKRASFKRK SSKKGPEEGR WRPFIIIRPTP SPLMKPLLVF 0300
 0301 VNPKSGGNQG AKIIQSFLWY LNPRQVFDLS QGGPKAELEM YRKVHNLRL ACGGDGTVGW 0360
 0361 ILSTLDQLRL KPPPPVAILP LGTGNLART LNWGGYTDE PVSILSHVE EGNVVQLDRW 0420
 0421 DLHAEPNPEA GPEDRDEGAT DRLPLDFVFN YFSLGFDHAV TLEFHESREA NPEKFNSRFR 0480
 0481 NKMFYAGTAF SDFLMGSSKD LAKHIRVVD GMDLTPKIQD LKPQCVVFLN IPRYACAGTMP 0540
 0541 WGHPEHNDHF EPQRHDDGYL EVIGFTMTSL AALQVGGHGE RLTQCREVVL TTSKAIPVQV 0600
 0601 DGEPCCLAAS RIRIALRNQA TMVQAKRRS AAPLHSDQP VPEQLRIQVS RVSMHDYEAL 0660
 0661 HYDKEQLKEA SVPLGTVVVP GDSLELCRA HIERLQQEPD GAGAKSPTCQ KLSPKWCFD 0720
 0721 ATTASRFYRI DRAQEHNLVY TEIAQDEIYI LDPELLGASA RPDLPPTSP LPTSPCSPTP 0780
 0781 RSLQGDAPP QGEELIEAAK RNDFKLQEL HRAGGDLMHR DEQSRTLLHH AVSTGSKDVV 0840
 0841 RYLLDHAPPE ILDAVEENGE TCLHQAAALG QRTICHYIVE AGASLMKTDQ QGDTPRQRAE 0900
 0901 KAQDTELAAY LENRQHYQMI QREDQETAVG SSETVRFQGH HHHHH 0945

(SEQ ID NO: 4)

Нуклеотидная последовательность, кодирующая MA-hDGK α -(S9-S727)-Ct-TVMV-His:

0001 ATGGCTTCCC CAAGCGACTT CGCCAGCTG CAGAAGTACA TGGAAATACAG CACCAAGAAG 0060
 0061 GTGTCTGACG TCCTGAAGCT GTTCGAGGAC GGTGAAATGG CTAAGTACGT CCAGGGCGAC 0120
 0121 GCTATCGGAT ACGAGGGATT CCAGCAGTTC CTGAAGATCT ACCTGGAAGT GGACAACGTC 0180
 0181 CCCAGGCACC TGTCACTGGC TCTGTTCCAG TCCTTCGAGA CTGGCCACTG CCTGAACGAA 0240
 0241 ACCAACGTCA СТАAGGACGT GGTCTGCCTG AACGACGTGA GCTGCTACTT CTCTCTGCTG 0300
 0301 GAGGGTGGCA GACCAGAGGA CAAGCTGGAA TTCACCTTCA AGCTGTACGA CACTGACCCG 0360
 0361 AACGGAATCC TGGACTCCAG CGAAGTGGAC AAGATCATCC TGCAGATGAT GCGTGTGCTG 0420
 0421 GAGTACCTGG ACTGGGACGT GAGCGAACTG AGGCCTATCC TGCAGGAGAT GATGAAGGAA 0480

0481 ATCGACTACG ACGGCTCTGG ATCAGTGTCC CAGGCTGAGT GGGTCCGCGC TGGTGCTACC 0540
 0541 ACTGTGCCAC TGCTGGTCTT GCTGGGACTG GAAATGACCC TGAAGGACGA CGGTCAGCAC 0600
 0601 ATGTGGCGCC CAAAGCGTTT CCCCAGGCCA GTCTACTGCA ACCTGTGCGA GTCTTCAATC 0660
 0661 GGTCTGGGCA AGCAGGGCCT GTCATGCAAC CTGTGCAAGT ACACCGTGCA CGACCAGTGC 0720
 0721 GCTATGAAGG CCCTGCCCTG CGAGGTCTCA ACTTACGCTA AGTCCCGTAA GGACATCGGA 0780
 0781 GTGCAGTCA ACCTGTGGGT CAGGGGAGGT TGCGAATCCG GTAGATGCGA CCGCTGCCAG 0840
 0841 AAGAAGATCC GTATCTACCA CTCCTGACC GGA CTGCACT GCGTCTGGTG CCACCTGGAG 0900
 0901 ATCCACGACG ACTGCCTGCA GGCCGTGGGA CACGAATGCG ACTGCGGTCT GCTGCGTGAC 0960
 0961 CACATCTGCG CTCCTCCAG CATCTACCCT TCAGTCCTGG CTTCCGGTCC CGACAGGAAG 1020
 1021 AACAGCAAGA CCTCTCAGAA GACTATGGAC GACCTGAACC TGAGCACCTC TGAGGCCCTG 1080
 1081 CGCATCGACC CTGTGCCCAA CACTCACCCA CTGCTGGTGT TCGTCAACCC TAAGAGCGGC 1140
 1141 GGAAGCAGG GTCAGAGAGT CCTGTGGAAG TTCCAGTACA TCCTGAACCC ACGCCAGGTG 1200
 1201 TTCAACCTGC TGAAGGACGG CCCTGAGATC GGACTGAGAC TGTTC AAGGA CGTGCCCGAC 1260
 1261 TCTGCGATCC TCGTCTGCGG TGGCGACGGT ACTGTGGGAT GGATCCTGGA AACTATCGAC 1320
 1321 AAGGCTAACC TGCCAGTGTG GCCACCTGTG GCTGTCTGCG CACTGGGAAC CGGTAACGAC 1380
 1381 CTGGCTCGTT GCCTGCGTTG GGGAGGTGGC TACGAGGGAC AGAACCTGGC CAAGATCCTG 1440
 1441 AAGGACCTGG AAATGAGCAA GGTGGTCCAC ATGGACAGAT GGTCTGTGGA GGTATCCCA 1500
 1501 CAGCAGACTG AGGAAAAGTC AGACCCAGTC CCTTCCAGA TCATCAACAA CTA CTTCAGC 1560
 1561 ATCGGTGTGG ACGCTTCTAT CGCCACAGA TTCCACATCA TGCGCAGAA GTACCCCTGAA 1620
 1621 AAGTTCAACT CCCGCATGAA GAACAAGCTG TGGTACTTCG AGTTCGCTAC CTCAGAAATCC 1680
 1681 ATCTTCTCAA CTGCAAGAA GCTGGAGGAA TCCCTGACCG TCGAGATCTG CGGCAAGCCT 1740
 1741 CTGGACCTGT CAAACCTGTC CCTGGAAGGC ATCGCTGTGC TGAACATCCC AAGCATGCAC 1800
 1801 GGAGGTCTA ACCTCTGGGG CGACACTAGG AGGCCTCACG GTGACATCTA CGGCATCAAC 1860
 1861 CAGGCCCTGG GAGCTACCGC CAAGGTGATC ACTGACCCCG ACATCCTGAA GACCTGCGTG 1920
 1921 CCAGACCTGA GCGACAAGCG TCTGGAGGTG GTCGACTGG AGGGTGCCAT CGAAATGGGC 1980
 1981 CAGATCTACA CTAAGCTGAA GAACGCTGGA AGGAGACTGG CCAAGTGCTC TGAGATCACC 2040
 2041 TTCCACACCA CTAAGACTCT GCCTATGCAG ATCGACGGTG AACCCCTGGAT GCAGACCCCA 2100
 2101 TGC ACTATCA AGATCACCCA CAAGAACCAG ATGCCCATGC TGATGGGTCC TCCTCCTCGC 2160
 2161 TCTGGATCTT CAGAAACTGT GAGGTTCCAG GGCCACCACC ACCACCACCA CTGA 2214

(SEQ ID NO: 5)

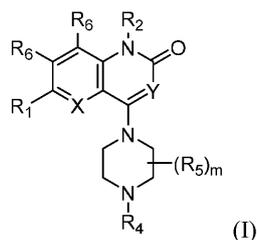
Аминокислотная последовательность MA-hDGK α -(S9-S727)-Ct-TVMV-His:

0001 MASPSDFAQL QKYEYSTKK VSDVLKLFED GEMAKYVQGD AIGYEGFQQF LKIYLEVDNV 0060
 0061 PRHLSLALFQ SFETGHCLNE TNVTKDVVCL NDVSCYFSLI EGGRPEDKLE FTFKLYDTR 0120
 0121 NGILDSSEVD KIILQMRVA EYLDWDVSEL RPILQEMMKE IDYDGSQSVS QAEWVRAGAT 0180
 0181 TVPLLVLLGL EMTLKDDGQH MWRPKRFRP VYCNLCESSI GLGKQGLSCN LCKYTVHDQC 0240
 0241 AMKALPCEVS TYAKSRKDIG VQSHVWVRG CESGRCDRCQ KKIRIYHSLT GLHCVWCHLE 0300
 0301 IHDDCLQAVG HECDGLLRD HILPPSSIYP SVLASGPRK NSKTSQKTM DLNLSTSEAL 0360
 0361 RIDPVPNTHP LLVFNPKSG GKQGQRLWK FQYILNPRQV FNLLKDGPEI GLRLFKDVPD 0420
 0421 SRILVCGGDG TVGWILETID KANLPVLPVP AVLPLGTGND LARCLRGGG YEGQNLAKIL 0480
 0481 KDLEMSKVH MDRWSVEVIP QOTEKSDPV PFQIINNYFS IGVDAIAHR FHIMREKYPE 0540
 0541 KFNSRMKNKL WYFEFATSES IFSTCKLEE SLTVEICGKP LDLSNLSLEG IAVLNIPSMH 0600
 0601 GGSNLWGDTR RPHGDIYGIN QALGATAKVI TDPDILKTCV PDLSDKRLEV VGLEGAIEMG 0660
 0661 QIYTKLKNAG RRLAKCSEIT FHTTKTLPMQ IDGEPWMQTP CTIKITHKNQ MPMLMGPPPR 0720
 0721 SGSSETVRFQ GHHHHHH 0737

(SEQ ID NO: 6)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X представляет собой N, и Y представляет собой CR₃; или

X представляет собой N, и Y представляет собой N;

R₁ представляет собой -CN;

R₂ представляет собой -CH₃;

R₃ представляет собой H;

R₄ представляет собой фенил, тиазолил, хинолинил, изохинолинил, бензо[d]оксазолил, бензо[d]тиазолил, имидазо[1,2-а]пиридинил, имидазо[1,2-б]пиримидинил, пиразоло[1,5-а]пиримидинил или тиено[3,2-б]пиридинил, каждый из которых замещен от нуля до 2 R_{4a};

каждый R_{4a} независимо представляет собой F, Br, -OH, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃ или фторфенил;

каждый R₅ независимо представляет собой водород, -CH₃ или -CH₂CH₃;

каждый R₆ представляет собой H; и

m представляет собой ноль, 1, 2 или 3.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X представляет собой N; и

Y представляет собой CR₃.

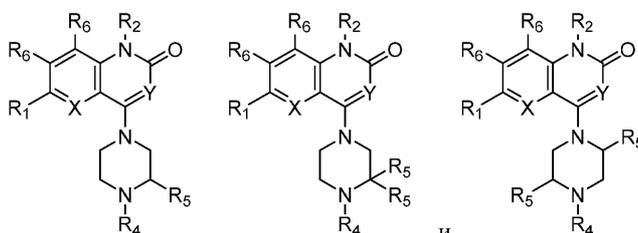
3. Соединение по любому из пп.1-2 или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X представляет собой N; и

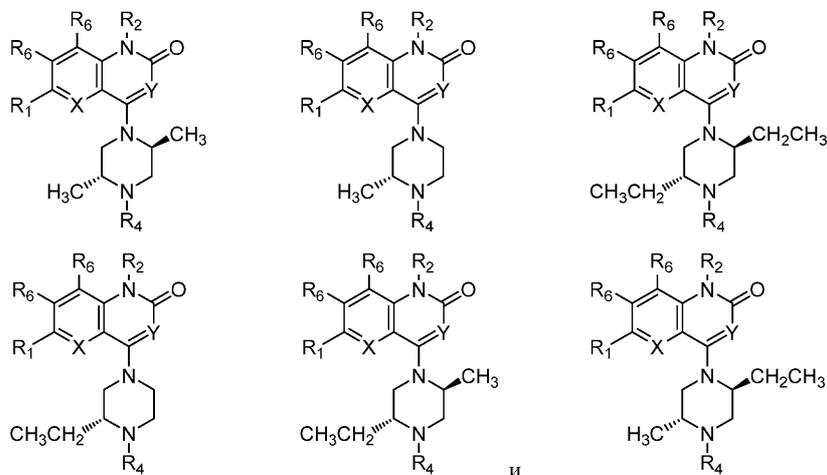
Y представляет собой N.

4. Соединение по любому из пп.1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, где m представляет собой 1 или 2.

5. Соединение по любому из пп.1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, имеющее структуру, выбранную из:



6. Соединение по любому из пп.1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, имеющее структуру, выбранную из:



7. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где указанное соединение представляет собой:

4-((2S,5R)-2,5-диэтил-4-(4-(трифторметил)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (1);

4-((2S,5R)-2,5-диэтил-4-(3-(трифторметил)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (2);

4-((2S,5R)-5-этил-4-(3-фтор-4-(трифторметил)фенил)-2-метилпиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (3);

4-((2S,5R)-5-этил-2-метил-4-(4-(трифторметокси)фенил)пиперазин-1-ил)-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридо[3,2-d]пиримидин-6-карбонитрил (4);

(S)-5-метил-8-(2-метил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (5);

8-((2S,5R)-4-(6-фторхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (6);

8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(тиено[3,2-б]пиридин-3-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (7);

- 8-((2S,5R)-4-(имидазо[1,2-b]пиридазин-3-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (8);
 (S)-5-метил-8-(2-метил-4-(хинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (9);
 8-((2S,5R)-4-(8-бром-6-метилхинолин-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (10);
 8-((2S,5R)-4-(изохинолин-1-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (11);
 8-((2S,5R)-4-(4-бромизохинолин-1-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (12);
 8-((2S,5R)-4-(5-фторхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (13);
 8-((2S,5R)-4-(3-бромпиразоло[1,5-a]пиримидин-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (14);
 8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(7-(трифторметил)хинолин-4-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (15);
 8-((2S,5R)-4-(5,7-дифторхинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (16);
 8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(хинолин-4-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (17);
 8-((2S,5R)-4-(имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (18);
 8-((2S,5R)-4-(изохинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (19);
 8-((2S,5R)-4-(бензо[d]оксазол-7-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (20);
 8-((2S,5R)-4-(3-гидрокси-6-(трифторметокси)хинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (21);
 8-((2S,5R)-2,5-диметил-4-(2-метилхинолин-8-ил)пиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (22);
 8-((2S,5R)-4-(6-фторхинолин-4-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (23);
 8-((2S,5R)-4-(3-метокси-6-метилхинолин-8-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (24);
 8-((2S,5R)-4-(6-фторбензо[d]тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (25);
 8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)тиазол-2-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (26); или
 8-((2S,5R)-4-(4-(4-фторфенил)-2-метилтиазол-5-ил)-2,5-диметилпиперазин-1-ил)-5-метил-6-оксо-5,6-дигидро-1,5-нафтиридин-2-карбонитрил (27).
8. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.
9. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения рака.
10. Применение по п.9, где указанный рак выбран из рака толстой кишки, рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака предстательной железы, рака легких, рака яичников, рака шейки матки, рака почки, рака головы и шеи, лимфомы, лейкоза и меланомы.
11. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для ингибирования активности по меньшей мере одной диацилглицеринкиназы, выбранной из диацилглицеринкиназы альфа (DGK α) и диацилглицеринкиназы дзета (DGK ζ).

