

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047751**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.09.04

(21) Номер заявки
202291915

(22) Дата подачи заявки
2021.01.29

(51) Int. Cl. *A61K 31/395* (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(54) **СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **62/967,524; 63/058,121**

(32) **2020.01.29; 2020.07.29**

(33) **US**

(43) **2022.11.17**

(86) **PCT/US2021/015813**

(87) **WO 2021/155225 2021.08.05**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ФОГХОРН ТЕРАПЬЮТИКС ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
**Раппел Сабин К., Ян Чжаося, Лове
Джейсон Т., Воигт Йоханнес Х. (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) **US-A1-20190076539**
US-A1-2011053897
WO-A1-2020239103
WO-A1-2020160198
WO-A1-2020160192

(57) В изобретении представлены соединения, пригодные для лечения нарушений, связанных с комплексом BAF.

B1

047751

047751

B1

Уровень техники

На нарушения может влиять комплекс BAF. BRD9 входит в состав комплекса BAF. Настоящее изобретение относится к пригодным композициям и способам лечения расстройств, связанных с комплексом BAF, таких как рак и инфекция.

Краткое описание сущности изобретения

Бромодомен-содержащий белок 9 (BRD9) представляет собой белок, кодируемый геном BRD9 на хромосоме 5. BRD9 является компонентом комплекса BAF (BRG1- или BRM-ассоциированные факторы), комплекса ремоделирования хроматина АТФазы SWI/SNF и принадлежит к семейству IV белков, содержащих бромодомен. BRD9 присутствует в нескольких комплексах ремоделирования хроматина АТФазы SWI/SNF и активируется во многих линиях раковых клеток. Соответственно, агенты, которые снижают уровни и/или активность BRD9, могут предложить новые способы лечения заболеваний и нарушений, таких как рак и инфекция. Авторы изобретения обнаружили, что истощение BRD9 в клетках приводит к истощению слитого белка SS18-SSX в данных клетках. Слитый белок SS18-SSX обнаружен более чем в 95% опухолей синовиальной саркомы и часто является единственной цитогенетической аномалией при синовиальной саркоме. Кроме того, данные свидетельствуют о том, что комплекс BAF участвует в клеточной противовирусной активности. Таким образом, агенты, разрушающие BRD9 (например, соединения), пригодны при лечении нарушений (например, рака или инфекций), связанных с BAF, BRD9 и/или SS18-SSX.

В настоящем описании представлены соединения и способы, пригодные для лечения расстройств, связанных с BAF (например, рака или инфекции).

В одном аспекте в раскрытии представлено соединение, имеющее структуру любого из соединений D1, S-D1, R-D1 и D2 в табл. 1, или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах осуществления соединение имеет структуру соединения D1 или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления соединение имеет структуру соединения S-D1 или представляет собой его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет структуру соединения R-D1 или представляет собой его фармацевтически приемлемая соль. В других вариантах осуществления соединения имеет структуру соединения D2 или его фармацевтически приемлемая соль.

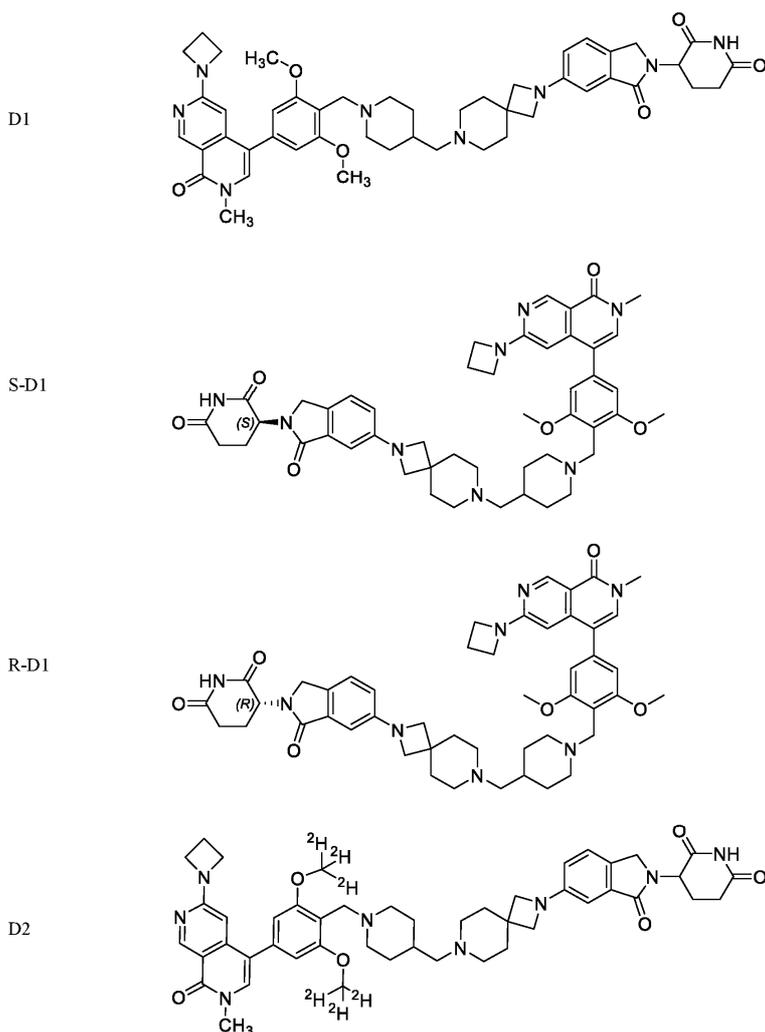
В одном аспекте в данном изобретении представлено соединение, имеющее структуру соединения D1 в табл. 1, или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном аспекте в данном изобретении представлено соединение, имеющее структуру соединения S-D1 в табл. 1, или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном аспекте в данном изобретении представлено соединение, имеющее структуру соединения R-D1 в табл. 1, или его фармацевтически приемлемая соль.

В другом аспекте в данном изобретении представлено соединение, имеющее структуру соединения D2 в табл. 1, или его фармацевтически приемлемая соль.

Таблица 1. Соединения по данному изобретению



В другом аспекте в данном описании представлена фармацевтическая композиция, включающая любое из вышеуказанных соединений или их фармацевтически приемлемых солей и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В одном аспекте в данном описании представлен способ ингибирования уровня и/или активности BRD9 в клетке, включающий приведение клетки в контакт с эффективным количеством любого из вышеуказанных соединений или их фармацевтически приемлемых солей, или их фармацевтической композиции.

В другом аспекте в данном описании представлен способ понижения уровня и/или активности BRD9 в клетке, включающий приведение клетки в контакт с эффективным количеством любого из вышеуказанных соединений или их фармацевтически приемлемых солей, или их фармацевтической композиции.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения клетка представляет собой раковую клетку.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой злокачественную рабдоидную опухоль, CD8⁺ Т-клеточную лимфому, карциному эндометрия, карциному яичников, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак предстательной железы, почечно-клеточную карциному, меланому, колоректальный рак, саркому (например, саркому мягких тканей, синовиальную саркому, саркому Юинга, остеосаркому, рабдомиосаркому, фибросаркому взрослых, альвеолярную саркому мягкой части, ангиосаркому, светлоклеточную саркому, десмопластическую мелкоклеточную опухоль, эпителиоидную саркому, фибромиксоидную саркому, желудочно-кишечную стромальную опухоль, саркому Капоши, липосаркому, лейомиосаркому, злокачественную мезенхимому, злокачественные опухоли оболочки периферических нервов, миксофибросаркому, рабдомиосаркому низкой степени злокачественности), немелкоклеточный рак легких (например, плоскоклеточный рак или аденокарциному), рак желудка или рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой злокачественную рабдоидную опухоль,

CD8⁺ Т-клеточную лимфому, карциному эндометрия, карциному яичников, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак предстательной железы, почечно-клеточную карциному, меланому или колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой саркому (например, синовиальную саркому или саркому Юинга), немелкоклеточный рак легкого (например, плоскоклеточный рак или аденокарциному), рак желудка или рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой саркому (например, синовиальная саркома или саркома Юинга). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения саркома представляет собой синовиальную саркому.

В одном аспекте в раскрытии описан способ лечения расстройства, связанного с комплексом BAF, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества любого из вышеупомянутых соединений или их фармацевтически приемлемых солей, или их фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения заболевание, связанное с комплексом BAF, представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения заболевание, связанное с комплексом BAF, представляет собой инфекцию.

В другом аспекте в раскрытии описан способ лечения расстройства, связанного со слитым белком SS18-SSX, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества любого из вышеупомянутых соединений или их фармацевтически приемлемых солей, или их фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения расстройство, связанное с слитым белком SS18-SSX, представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения расстройство, связанное с слитым белком SS18-SSX, представляет собой инфекцию. В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов слитый белок SS18-SSX представляет собой слитый белок SS18-SSX1, слитый белок SS18-SSX2 или слитый белок SS18-SSX4.

В еще одном аспекте в раскрытии описан способ лечения расстройства, связанного с белком BRD9, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества любого из вышеупомянутых соединений или их фармацевтически приемлемых солей, или их фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения связанное с BRD9 расстройство представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения связанное с BRD9 расстройство представляет собой инфекцию.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой плоскоклеточный рак, базальноклеточный рак, аденокарциному, гепатоцеллюлярный рак и почечно-клеточный рак, рак мочевого пузыря, кишечника, груди, шейки матки, толстой кишки, пищевода, головы, почек, печени, легких, шеи, яичников, поджелудочной железы, простаты и желудка; лейкемии; доброкачественные и злокачественные лимфомы, особенно лимфому Беркитта и неходжкинскую лимфому; доброкачественные и злокачественные меланомы; миелолифферативные заболевания; саркомы, включая саркому Юинга, гемангиосаркому, саркому Капоши, липосаркому, миосаркомы, периферическую нейроэпителиому, синовиальную саркому, глиомы, астроцитомы, олигодендроглиомы, эпендимомы, глиобластомы, нейробластомы, ганглионевромы, ганглиоглиомы, медуллобластомы, опухоли пинеальных клеток, менингиомы, менингеальные саркомы, нейрофибромы и шванномы; рак кишечника, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак шейки матки, рак матки, рак легких, рак яичников, рак яичек, рак щитовидной железы, астропитому, рак пищевода, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак печени, рак толстой кишки, меланому; карциносаркому, болезнь Ходжкина, опухоль Вильмса и тератокарциномы. Дополнительные виды рака, которые можно лечить с использованием раскрытых соединений согласно настоящему изобретению, включают, например, острый гранулоцитарный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), аденокарциному, аденосаркому, рак надпочечников, карциному коры надпочечников, рак анального канала, анапластическую астроцитому, ангиосаркому, рак аппендикса, астроцитому, базальноклеточную карциному, В-клеточную лимфому, рак желчных протоков, рак мочевого пузыря, рак костей, рак костного мозга, рак кишечника, рак мозга, глиому ствола головного мозга, рак молочной железы, тройной (эстроген, прогестерон и HER-2) негативный рак молочной железы, двойной негативный рак молочной железы (два из эстрогена, прогестерон и HER-2 отрицательны), одиночный негативный (один из эстрогена, прогестерона и HER-2 отрицательный), положительный по рецепторам эстрогена, HER2-негативный рак молочной железы, эстроген рецепторно-негативный рак молочной железы, рецептор-положительный эстрогеновый рак молочной железы, метастатический рак молочной железы, рак молочной железы просвета А, рак молочной железы просвета В, Her2-негативный рак молочной железы, HER2-положительный или негативный рак молочной железы, рак молочной железы, негативный по рецепторам прогестерона, рак молочной железы, положительный по рецепторам прогестерона, рецидивирующий рак молочной железы, карциноидные опухоли, шейка матки рак, холангиокарциному, хондросаркому, хронический лимфолейкоз (CLL), хронический миелолейкоз (CML), рак толстой кишки, колоректальный рак, краниофарингиому, кожную лимфому, кожную меланому, диффузную астроцитому, протоковую карциному in situ (DCIS), рак эндометрия, эпендимому, эпителиоидную саркому, рак пищевода, рак желчного протока, рак желчных протоков, рак глаза, рак молочной трубы, фибросаркому, рак желчного пузыря, рак желудка, рак желудочно-кишечного тракта, кар-

пиноидный рак желудочно-кишечного тракта, стромальные опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST), мультиформную глиобластому герминогенных опухолей (GBM), глиому, волосатоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, гемангиоэндотелиому, лимфому Ходжкина, гипофарингеальный рак (IDC), инфильтрирующую лобулярную карциному (ILC), воспалительный рак молочной железы (IBC), рак кишечника, рак внутрипеченочных желчных протоков, инвазивный/инфильтрирующий рак молочной железы, островково-клеточный рак, рак челюсти, саркому Капоши, рак почки, рак гортани, лейомиосаркому, лептоменингеальные метастазы, лейкоз рак губы, липосаркому, рак печени, лобулярную карциному *in situ*, астроцитому низкой степени злокачественности, рак легких, рак лимфатических узлов, лимфома, рак молочной железы у мужчин, медуллярную карциному, медуллобластому, меланому, менингиому, карциному из клеток Меркеля, мезенхимальную хондросаркому, мезенхимозную метастатический рак молочной железы, метастатическую меланому, метастатический плоскоклеточный рак шеи, смешанные глиомы, монодермальную тератому, рак ротовой полости, муцинозную карциному, меланому слизистой оболочки, множественную миелому, грибковый микоз, миелодиспластический синдром, рак носовой полости, рак носоглотки, рак шеи, нейробластому, нейроэндокринные опухоли (NET), неходжкинскую лимфому (немелкоклеточный рак легких (NSCLC), овсяно-клеточный рак, рак глаза, меланому глаза, олигодендроглиому, рак полости рта, рак полости рта, рак ротоглотки, остеогенную саркому, остеосаркому, рак яичников, эпителиальный рак яичников, опухоль зародышевых клеток яичников, первичную перитонеальную карциному яичников, стромальную половую карциному яичников опухоль, болезнь Педжета, рак поджелудочной железы, папиллярную карциному, рак околоносовых пазух, рак парашитовидной железы, рак таза, рак полового члена, рак периферических нервов, рак брюшины, рак глотки, феохромоцитому, пилоцитарную астроцитому, опухоль эпифиза, пинеобластому, рак гипофиза, лимфому первичной центральной нервной системы (CNS), рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечно-клеточную карциному, рак лоханки, рабдомиосаркому, рак слюнной железы, саркому мягких тканей, саркому кости, саркому, рак пазух носа, рак кожи, мелкоклеточный рак легких (SCLC), рак тонкой кишки, рак позвоночника, рак спинной колонки, рак спинного мозга, плоскоклеточный рак, рак желудка, синовиальную саркому, Т-клеточную лимфому, рак яичек, рак горла, тимому/рак тимуса, рак щитовидной железы, рак языка, рак миндалин, рак переходных клеток, рак маточных труб, каналцевый рак, недиагностированный рак, рак мочеочника, рак уретры, аденокарциному матки, рак матки, саркому матки, рак влагалища, рак вульвы, острый лимфобластный лейкоз Т-клеточного происхождения (Т-ALL), лимфобластную лимфому Т-клеточного происхождения (Т-LL), периферическую Т-клеточную лимфому, Т-клеточный лейкоз взрослых, Pre-B ALL, Pre-B-лимфомы, В-крупноклеточную лимфому, лимфому Беркитта, В-клеточный ALL, ALL с положительной филадельфийской хромосомой, CML с положительной филадельфийской хромосомой, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (JMML), острый промиелоцитарный лейкоз (подтип AML), крупный гранулярный лейкоз Т-клеточный хронический лейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную лимфому; лимфому, связанную со слизистой оболочкой (MALT), мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, крупноклеточную В-лимфому средостения, В-клеточную лимфому узловой маргинальной зоны (NMZL); лимфому краевой зоны селезенки (SMZL); внутрисосудистую крупно клеточную В-клеточную лимфому; первичную выпотную лимфому; или лимфоматоидный гранулематоз; В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз; лимфому/лейкемию селезенки, неклассифицируемую, диффузную красную пульпу селезенки, мелкую В-клеточную лимфому; лимфоплазмоцитарную лимфому; болезни тяжелых цепей, например, болезнь альфа-тяжелых цепей, болезнь тяжелых цепей гамма, болезнь тяжелых цепей М μ , миелому плазматических клеток, солитарную плазмоцитому кости; внекостную плазмоцитому; первичную лимфому кожного фолликулярного центра, большую В-клеточную лимфому, богатую Т-клетками/гистiocитами, DLBCL, ассоциированную с хроническим воспалением; вирус Эпштейна-Барра (EBV)⁺ DLBCL пожилых людей; первичную медиастинальную (тимическую) В-крупноклеточную лимфому, первичную кожную DLBCL, тип ноги, ALK + большая В-клеточная лимфома, плазмобластная лимфома; В-крупноклеточную лимфому, возникающая при мультицентрической болезни Кастанелана, ассоциированной с HHV8; В-клеточную лимфому, неклассифицируемую, с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой или В-клеточной лимфомой, неклассифицируемой, с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и классической лимфомой Ходжкина.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения раком представляет собой злокачественную рабдоидную опухоль, CD8⁺ Т-клеточную лимфому, карциному эндометрия, карциному яичников, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак предстательной железы, почечно-клеточную карциному, меланому, колоректальный рак, саркому (например, саркому мягких тканей, синовиальную саркома, саркому Юинга, остеосаркому, рабдомиосаркому, фибросаркому взрослых, альвеолярную саркому мягкой части, ангиосаркому, светлоклеточную саркому, десмопластическую мелкоклеточную опухоль, эпителиоидную саркому, фибромиксоидную саркому, желудочно-кишечную стромальную опухоль, саркому Капоши, липосаркому, лейомиосаркому, злокачественную мезенхимому, злокачественные опухоли оболочки периферических нервов, миксофибросаркому, рабдомиосаркому низкой степени злокачественности), немелкоклеточный рак легких (например, плоскоклеточный рак или аденокарциному), рак желудка или рак молочной железы. В некоторых вариантах осу-

шествления настоящего изобретения рак представляет собой злокачественную рабдоидную опухоль, CD8⁺ Т-клеточную лимфому, карциному эндометрия, карциному яичников, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак предстательной железы, почечно-клеточную карциному, меланому или колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой саркому (например, синовиальную саркому или саркому Юинга), немелкоклеточный рак легкого (например, плоскоклеточный рак или аденокарциному), рак желудка или рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой саркому (например, синовиальная саркома или саркома Юинга). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения саркома представляет собой синовиальную саркому.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения инфекция представляет собой вирусную инфекцию (например, инфекцию вирусом семейства *Retroviridae*, такую как лентивирусы (например, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и дельтатаретровирусы (например, вирус Т-клеточного лейкоза человека I (HTLV-I), Т-клеточный лейкоз человека вирус II (HTLV-II)); семейства *Hepadnaviridae* (например, вирус гепатита В (HBV)); семейства *Flaviviridae* (например, вирус гепатита С (HCV)); семейства *Adenoviridae* (например, аденовирус человека); семейства *Herpesviridae* (например, цитомегаловирус человека (HCMV), вирус Эпштейна-Барра, вирус простого герпеса 1 (HSV-1), вирус простого герпеса 2 (HSV-2), вирус герпеса человека 6 (HHV-6), *Herpesvirus K**, CMV, вирус ветряной оспы); семейства *Papillomaviridae* (например, вирус папилломы человека (HPV, HPV E1)); семейства *Parvoviridae* (например, *Parvovirus B19*); семейства *Polyomaviridae* (например, вирус JC и вирус BK); семейства *Paramyxoviridae* (например, вирус кори); или семейства *Togaviridae* (например, вирус краснухи)). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения заболевание представляет собой Coffin Siris, нейрофиброматоз (например, NF-1, NF-2 или шванноматоз) или множественную менингиому. В одном аспекте в раскрытии описан способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или их фармацевтически приемлемых солей, или любой из вышеуказанных фармацевтических композиций.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой плоскоклеточный рак, базальноклеточный рак, аденокарциному, гепатоцеллюлярный рак и почечно-клеточный рак, рак мочевого пузыря, кишечника, груди, шейки матки, толстой кишки, пищевода, головы, почек, печени, легких, шеи, яичников, поджелудочной железы, простаты и желудка; лейкемии; доброкачественные и злокачественные лимфомы, особенно лимфому Беркитта и неходжкинскую лимфому; доброкачественные и злокачественные меланомы; миелолипролиферативные заболевания; саркомы, включая саркому Юинга, гемангиосаркому, саркому Капоши, липосаркому, миосаркомы, периферическую нейроэпителиому, синовиальную саркому, глиомы, астроцитомы, олигодендроглиомы, эпендимомы, глиобластомы, нейробластомы, ганглионевромы, ганглиоглиомы, медуллобластомы, опухоли пинеальных клеток, менингиомы, менингеальные саркомы, нейрофибромы и шванномы; рак кишечника, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак шейки матки, рак матки, рак легких, рак яичников, рак яичек, рак щитовидной железы, астроцитому, рак пищевода, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак печени, рак толстой кишки, меланому; карциносаркому, болезнь Ходжкина, опухоль Вильмса и тератокарциномы. Дополнительные виды рака, которые можно лечить с использованием раскрытых соединений согласно настоящему изобретению, включают, например, острый гранулоцитарный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), аденокарциному, аденосаркому, рак надпочечников, карциному коры надпочечников, рак анального канала, анапластическую астроцитому, ангиосаркому, рак аппендикса, астроцитому, базальноклеточную карциному, В-клеточную лимфому, рак желчных протоков, рак мочевого пузыря, рак костей, рак костного мозга, рак кишечника, рак мозга, глиому ствола головного мозга, рак молочной железы, тройной (эстроген, прогестерон и HER-2) негативный рак молочной железы, двойной негативный рак молочной железы (два из эстрогена, прогестерон и HER-2 отрицательны), одиночный негативный (один из эстрогена, прогестерона и HER-2 отрицательный), положительный по рецепторам эстрогена, HER2-негативный рак молочной железы, эстроген рецепторно-негативный рак молочной железы, рецептор-положительный эстрогеновый рак молочной железы, метастатический рак молочной железы, рак молочной железы просвета А, рак молочной железы просвета В, Her2-негативный рак молочной железы, HER2-положительный или негативный рак молочной железы, рак молочной железы, негативный по рецепторам прогестерона, рак молочной железы, положительный по рецепторам прогестерона, рецидивирующий рак молочной железы, карциноидные опухоли, шейки матки рак, холангиокарциному, хондросаркому, хронический лимфолейкоз (CLL), хронический миелолейкоз (CML), рак толстой кишки, колоректальный рак, краниофарингиому, кожную лимфому, кожную меланому, диффузную астроцитому, протоковую карциному *in situ* (DCIS), рак эндометрия, эпендимому, эпителиоидную саркому, рак пищевода, рак желчного протока, рак желчных протоков, рак глаза, рак маточной трубы, фибросаркому, рак желчного пузыря, рак желудка, рак желудочно-кишечного тракта, карциноидный рак желудочно-кишечного тракта, стромальные опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST), мультиформную глиобластому герминогенных опухолей (GBM), глиому, волосатоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, гемангиоэндотелиому, лимфому Ходжкина, гипофарингеальный рак (IDC), инфильтрирующую лобулярную карциному (ILC), воспалительный рак молочной железы (IBC), рак ки-

щечника, рак внутривенных желчных протоков, инвазивный/инфильтрирующий рак молочной железы, островково-клеточный рак, рак челюсти, саркому Капоши, рак почки, рак гортани, лейомиосаркому, лептоменингеальные метастазы, лейкоз рак губы, липосаркому, рак печени, лобулярную карциному *in situ*, астроцитому низкой степени злокачественности, рак легких, рак лимфатических узлов, лимфома, рак молочной железы у мужчин, медуллярную карциному, медуллобластому, меланому, менингиому, карциному из клеток Меркеля, мезенхимальную хондросаркому, мезенхимозную метастатический рак молочной железы, метастатическую меланому, метастатический плоскоклеточный рак шеи, смешанные глиомы, монодермальную тератому, рак ротовой полости, муцинозную карциному, меланому слизистой оболочки, множественную миелому, грибковый микоз, миелодиспластический синдром, рак носовой полости, рак носоглотки, рак шеи, нейробластому, нейроэндокринные опухоли (NET), неходжкинскую лимфому (немелкоклеточный рак легких (NSCLC)), овсяно-клеточный рак, рак глаза, меланому глаза, олигодендроглиому, рак полости рта, рак полости рта, рак ротоглотки, остеогенную саркому, остеосаркому, рак яичников, эпителиальный рак яичников, опухоль зародышевых клеток яичников, первичную перитонеальную карциному яичников, стромальную половую карциному яичников опухоль, болезнь Педжета, рак поджелудочной железы, папиллярную карциному, рак околоносовых пазух, рак парашитовидной железы, рак таза, рак полового члена, рак периферических нервов, рак брюшины, рак глотки, феохромоцитомы, пилопитарную астроцитому, опухоль эпифиза, пинеобластому, рак гипофиза, лимфому первичной центральной нервной системы (CNS), рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечно-клеточную карциному, рак лоханки, рабдомиосаркому, рак слюнной железы, саркому мягких тканей, саркому кости, саркому, рак пазух носа, рак кожи, мелкоклеточный рак легких (SCLC), рак тонкой кишки, рак позвоночника, рак спинной колонки, рак спинного мозга, плоскоклеточный рак, рак желудка, синовиальную саркому, Т-клеточную лимфому, рак яичек, рак горла, тимому/рак тимуса, рак щитовидной железы, рак языка, рак миндалин, рак переходных клеток, рак маточных труб, канальцевый рак, недиагностированный рак, рак мочеочника, рак уретры, аденокарциному матки, рак матки, саркому матки, рак влагалища, рак вульвы, острый лимфобластный лейкоз Т-клеточного происхождения (Т-ALL), лимфобластную лимфому Т-клеточного происхождения (Т-LL), периферическую Т-клеточную лимфому, Т-клеточный лейкоз взрослых, Pre-B ALL, Pre-B-лимфомы, В-крупноклеточную лимфому, лимфому Беркитта, В-клеточный ALL, ALL с положительной филадельфийской хромосомой, CML с положительной филадельфийской хромосомой, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (JMML), острый промиелоцитарный лейкоз (подтип AML), крупный гранулярный лейкоз Т-клеточный хронический лейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную лимфому; лимфому, связанную со слизистой оболочкой (MALT), мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, крупноклеточную В-лимфому средостения, В-клеточную лимфому узловой маргинальной зоны (NMZL); лимфому краевой зоны селезенки (SMZL); внутрисосудистую крупноклеточную В-клеточную лимфому; первичную выпотную лимфому; или лимфоматоидный гранулематоз; В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз; лимфому/лейкемию селезенки, неклассифицируемую, диффузную красную пульпу селезенки, мелкую В-клеточную лимфому; лимфо-плазмочитарную лимфому; болезни тяжелых цепей, например болезнь альфа-тяжелых цепей, болезнь тяжелых цепей гамма, болезнь тяжелых цепей μ , миелому плазматических клеток, солитарную плазмочитому кости; внекостную плазмочитому; первичную лимфому кожного фолликулярного центра, большую В-клеточную лимфому, богатую Т-клетками/гистiocитами, DLBCL, ассоциированную с хроническим воспалением; вирус Эпштейна-Барра (EBV)⁺ DLBCL пожилых людей; первичную медиастинальную (тимическую) В-крупноклеточную лимфому, первичную кожную DLBCL, тип ноги, ALK + большая В-клеточная лимфома, плазмобластная лимфома; В-крупноклеточную лимфому, возникающая при мультицентрической болезни Кастанелана, ассоциированной с HHV8; В-клеточную лимфому, неклассифицируемую, с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой или В-клеточной лимфомой, неклассифицируемой, с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и классической лимфомой Ходжкина.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой злокачественную рабдоидную опухоль, CD8⁺ Т-клеточную лимфому, карциному эндометрия, карциному яичников, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак предстательной железы, почечно-клеточную карциному, меланому, колоректальный рак, саркому (например, саркому мягких тканей, синовиальную саркома, саркому Юинга, остеосаркому, рабдомиосаркому, фибросаркому взрослых, альвеолярную саркому мягкой части, ангиосаркому, светлоклеточную саркому, десмопластическую мелкоклеточную опухоль, эпителиоидную саркому, фибромиксоидную саркому, желудочно-кишечную стромальную опухоль, саркому Капоши, липосаркому, лейомиосаркому, злокачественную мезенхимому, злокачественные опухоли оболочки периферических нервов, миксофибросаркому, рабдомиосаркому низкой степени злокачественности), немелкоклеточный рак легких (например, плоскоклеточный рак или аденокарциному), рак желудка или рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой злокачественную рабдоидную опухоль, CD8⁺ Т-клеточную лимфому, карциному эндометрия, карциному яичников, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак предстательной железы, почечно-клеточную карциному, меланому или колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения

бретения рак представляет собой саркому (например, синовиальную саркому или саркому Юинга), немелкоклеточный рак легкого (например, плоскоклеточный рак или аденокарциному), рак желудка или рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения рак представляет собой саркому (например, синовиальная саркома или саркома Юинга). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения саркома представляет собой синовиальную саркому.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак представляет собой рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов рак представляет собой рак с мутацией BRCA.

В другом аспекте в описании представлен способ лечения вирусной инфекции у субъекта, нуждающегося в этом. Данный способ включает введение субъекту эффективного количества любого из вышеуказанных соединений или их фармацевтически приемлемых солей или любой из вышеуказанных фармацевтических композиций. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вирусная инфекция представляет собой инфекцию вирусом семейства Retroviridae, такую как лентивирусы (например, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и дельтаретровирусы (например, вирус Т-клеточного лейкоза человека I (HTLV-I), Т-клеточный лейкоз человека вирус II (HTLV-II)); семейства Hepadnaviridae (например, вирус гепатита В (HBV)); семейства Flaviviridae (например, вирус гепатита С (HCV)); семейства Adenoviridae (например, аденовирус человека), семейства Herpesviridae (например, цитомегаловирус человека (HCMV), вирус Эпштейна-Барра, вирус простого герпеса 1 (HSV-1), вирус простого герпеса 2 (HSV-2), вирус герпеса человека 6 (HHV-6), Herpesvirus K*, CMV, вирус ветряной оспы); семейства Papillomaviridae (например, вирус папилломы человека (HPV, HPV E1)); семейства Parvoviridae (например, Parvovirus B19); семейства Polyomaviridae (например, вирус JC и вирус BK); семейства Paramyxoviridae (например, вирус кори), семейства Togaviridae (например, вирус краснухи).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения любого из вышеуказанных способов способ дополнительно включает введение субъекту дополнительной противораковой терапии (например, химиотерапевтического или цитотоксического агента или лучевой терапии).

В некоторых вариантах осуществления дополнительная противораковая терапия представляет собой ингибитор PARP (например, нирапариб, олапариб, рукапариб, талазопариб, велипариб, памипариб, СК-102 или E7016). В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения дополнительная противораковая терапия представляет собой: химиотерапевтический или цитотоксический агент (например, доксорубин или ифосфамид), агент, индуцирующий дифференцировку (например, ретиноевую кислоту, витамин D, цитокины), гормональный агент, иммунологический агент или антиангиогенный агент. Химиотерапевтические и цитотоксические агенты включают, но не ограничиваются ими, алкилирующие агенты, цитотоксические антибиотики, антиметаболиты, алкалоиды барвинка, этопозиды и другие (например, паклитаксел, таксол, доцетаксел, таксотер, цис-платина). Список дополнительных соединений, обладающих противораковой активностью, можно найти в L. Brunton, B. Chabner и B. Knollman (eds). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Twelfth Edition, 2011, McGraw Hill Companies, Нью-Йорк, штат Нью-Йорк.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения соединение по данному изобретению и дополнительную противоопухолевую терапию и любое из вышеуказанных соединений или фармацевтических композиций вводят в пределах 28 дней друг от друга (например, в пределах 21, 14, 10, 7, 5, 4, 3, 2 или 1 дня) или в течение 24 ч (например, 12, 6, 3, 2 или 1 ч или одновременно) каждый в количестве, которое в совокупности эффективно для лечения субъекта.

Химические термины

Соединения, описанные в данном документе, могут иметь один или более асимметрических атомов углерода и могут существовать в форме оптически чистых энантиомеров, смесей энантиомеров, таких как, например, рацематы, оптически чистые диастереоизомеры, смеси диастереоизомеров, диастереоизомерные рацематы или смеси диастереоизомерных рацематов. Оптически активные формы можно получить, например, разделением рацематов, асимметричным синтезом или асимметричной хроматографией (хроматография с хиральным адсорбентом или элюентом). То есть некоторые из описанных соединений могут существовать в различных стереоизомерных формах. Стереоизомеры представляют собой соединения, которые различаются только своим пространственным расположением. Энантиомеры представляют собой пары стереоизомеров, зеркальные изображения которых не могут совмещаться при наложении друг на друга, чаще всего потому, что они содержат асимметрично замещенный атом углерода, который действует как хиральный центр. "Энантиомер" означает одну из пары молекул, которые являются зеркальным отображением друг друга и не могут совмещаться при наложении друг на друга. Диастереомеры представляют собой стереоизомеры, которые не связаны как зеркальные изображения, чаще всего потому, что они содержат два или более асимметрично замещенных атома углерода и представляют собой конфигурацию заместителей вокруг одного или более хиральных атомов углерода. Энантиомеры соединения могут быть получены, например, путем отделения энантиомера от рацемата с использованием одного или более хорошо известных методов и способов, таких как, например, хиральная хромато-

графия и основанные на ней методы разделения. Соответствующий метод и/или метод отделения энантиомера соединения, описанного в данном документе, от рацемической смеси может быть легко определен специалистами в данной области. "Рацемат" или "рацемическая смесь" означает соединение, содержащее два энантиомера, при этом такие смеси не проявляют оптической активности; т.е. они не вращают плоскость поляризованного света. "Геометрический изомер" означает изомеры, которые различаются ориентацией атомов-заместителей по отношению к двойной углерод-углеродной связи, циклоалкильному кольцу или мостиковой бициклической системе. Атомы (кроме Н) на каждой стороне двойной углерод-углеродной связи могут быть в Е (заместители находятся на противоположных сторонах двойной углерод-углеродной связи) или Z (заместители ориентированы с одной стороны) конфигурации. "R", "S", "S*", "R*", "E", "Z", "цис" и "транс" обозначают конфигурации относительно ядра молекулы. Некоторые из описанных соединений могут существовать в атропоизомерных формах. Атропоизомеры представляют собой стереоизомеры, являющиеся следствием затрудненного вращения вокруг одинарных связей, где стерический деформационный барьер для вращения достаточно высок, чтобы сделать возможным выделение конформеров. Соединения, описанные в данном документе, могут быть получены в виде индивидуальных изомеров либо путем изомер-специфического синтеза, либо выделены из смеси изомеров. Обычные методы разделения включают образование соли свободного основания каждого изомера изомерной пары с использованием оптически активной кислоты (с последующей фракционной кристаллизацией и регенерацией свободного основания), образование соли кислотной формы каждого изомера изомерной пары, с использованием оптически активного амина (с последующей фракционной кристаллизацией и регенерацией свободной кислоты), образованием сложного эфира или амида каждого из изомеров изомерной пары с использованием оптически чистой кислоты, амина или спирта (с последующим хроматографическим разделением и удалением хирального вспомогательного компонента) или разделение изомерной смеси исходного материала или конечного продукта с использованием разнообразных хорошо известных хроматографических методов. Когда стереохимия раскрытого соединения названа или изображена структурой, названный или изображенный стереоизомер составляет по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по весу относительно других стереоизомеров. Когда один энантиомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный энантиомер является оптически чистым на по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по весу. Когда один диастереомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный диастереомер является оптически чистым на по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по весу. Процентная оптическая чистота представляет собой отношение веса энантиомера или веса энантиомера к весу его оптического изомера. Диастереомерная чистота по весу представляет собой отношение веса одного диастереомера к весу всех диастереомеров. Когда стереохимия раскрытого соединения названа или изображена структурой, названный или изображенный стереоизомер на по меньшей мере чистый 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, или 99,9% по мольной доли относительно других стереоизомеров. Когда один энантиомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный энантиомер является оптически чистым по меньшей мере на 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по мольной доле. Когда один диастереомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный диастереомер является оптически чистым по меньшей мере на 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по мольной доле. Процент чистоты по мольной доле представляет собой соотношение молей энантиомера или количества молей энантиомера плюс молей его оптического изомера. Аналогично процентная чистота по мольной доле представляет собой соотношение молей диастереомера или молей диастереомера плюс молей его изомера. Когда раскрытое соединение названо или изображено структурой без указания стереохимии и соединение содержит по меньшей мере один хиральный центр, следует понимать, что название или структура охватывает либо энантиомер соединения, не содержащего соответствующего оптического изомера, рацемическая смесь соединения или смеси обогащены одним энантиомером относительно его соответствующего оптического изомера. Когда раскрытое соединение названо или изображено структурой без указания стереохимии и имеет два или более хиральных центра, следует понимать, что название или структура охватывает диастереомер, не содержащий других диастереомеров, ряд диастереомеров, не содержащих других диастереомерных пар, смеси диастереомеров, смеси диастереомерных пар, смеси диастереомеров, в которых один диастереомер обогащен по отношению к другому (другим) диастереомеру (диастереомерам), или смеси диастереомеров, в которых один или более диастереомеров обогащены по отношению к другим диастереомерам. Настоящее изобретение охватывает все эти формы.

Соединения по настоящему описанию также включают все изотопы атомов, встречающихся в промежуточных или конечных соединениях. "Изотопы" относятся к атомам, имеющим одинаковый атомный номер, но разные массовые числа, возникающие в результате различного количества нейтронов в ядрах. Например, изотопы водорода включают в себя тритий и дейтерий.

Если не указано иное, структуры, изображенные в данном документе, также включают соединения, которые отличаются только наличием одного или нескольких атомов, обогащенных изотопами. Иллюстративные изотопы, которые могут быть включены в соединения по настоящему изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора, хлора и иода, такие как ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I и ^{125}I . Изотопно-меченые соединения (например, те,

которые мечены ^3H и ^{14}C) могут быть применимы в анализах распределения соединения или субстрата в тканях. Изотопы трития (т.е., ^3H) и углерода-14 (т.е., ^{14}C) могут быть применимы из-за простоты их приготовления и обнаружения. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (т.е. ^2H), может обеспечить определенные терапевтические преимущества в результате большей метаболической стабильности (например, повышения периода полужизни *in vivo* или снижения необходимой дозировки). В некоторых вариантах осуществления один или более атомов водорода заменяют на ^2H или ^3H или один или более атомов углерода заменяют на ^{13}C - или ^{14}C -обогащенный углерод. Изотопы, испускающие позитроны, такие как ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C и ^{18}F , применимы в исследованиях методом позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для определения занятости рецепторов субстрата. Препараты меченых изотопами соединений известны специалистам в данной области техники. Например, меченые изотопами соединения обычно можно получать с помощью следующих процедур, аналогичных тем, которые описаны для соединений по настоящему изобретению, описанных в данном документе, путем замены реагента, меченого изотопами, на реагент, не меченный изотопами.

Как известно в данной области, многие химические соединения могут принимать множество различных твердых форм, таких как, например, аморфные формы или кристаллические формы (например, полиморфы, гидраты, сольваты). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединения по настоящему изобретению можно использовать в любой такой форме, в том числе в любой твердой форме. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединения, описанные или изображенные в данном документе, могут быть предоставлены или использованы в гидратной или сольватной форме.

Если не указано иное, все технические и научные термины, употребляемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевается рядовым специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. В данном документе описаны способы и материалы для применения в настоящем изобретении; также могут быть использованы другие подходящие способы и материалы, известные из уровня техники. Материалы, способы и примеры являются исключительно иллюстративными и не имеют ограничительного характера. Все публикации, заявки на патенты, патенты, последовательности, записи в базе данных и другие ссылки, упомянутые в данном документе, полностью включены посредством ссылки. В случае конфликта данное описание, включая определения, является преобладающим.

Определения

В этой заявке, если иное не ясно из контекста, (i) термин в единственном числе может подразумеваться "по меньшей мере один"; (ii) под термином "или" может подразумеваться "и/или" и (iii) термины "содержащий" и "включающий" можно понимать как включающие перечисленные компоненты или этапы, представленные сами по себе или вместе с одним или более дополнительными компонентами или этапами.

В контексте данного документа термины "около" и "приблизительно" относятся к значению, которое в пределах 10% выше или ниже описываемого значения. Например, термин "около 5 нМ" обозначает диапазон от 4,5 до 5,5 нМ.

В контексте данного документа термин "введение" относится к введению композиции (например, соединения или препарата, который включает соединение, как описано в данном документе) субъекту или системе. Введение животному (например, человеку) может осуществляться любым подходящим путем. Например, в некоторых вариантах осуществления введение может быть бронхиальным (в том числе путем инсталляции бронхов), буккальным, энтеральным, межкожным, внутриартериальным, внутрискожным, внутрижелудочным, интрамедуллярным, внутримышечным, интраназальным, внутрибрюшинным, интратекальным, внутриопухолевым, внутривенным, внутрижелудочковым, слизистым, назальным, пероральным, ректальным, подкожным, сублингвальным, местным, трахеальным (в том числе путем интратрахеальной инсталляции), трансдермальным, вагинальным и витреальным.

В контексте данного документа термин "саркома мягких тканей взрослого" относится к саркоме, которая развивается в мягких тканях тела, как правило, у подростков и взрослых (например, субъектов в возрасте не менее 10 лет, 11 лет, 12 лет, 13 лет, 14 лет, 15 лет, 16 лет, 17 лет, 18 лет или 19 лет). Неограничивающие примеры саркомы мягких тканей у взрослых включают, но не ограничиваются ими, синовиальную саркому, фибросаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, дерматофибросаркому, липосаркому, лейомиосаркому, гемангиосаркому, саркому Капоши, лимфангиосаркому, злокачественную опухоль оболочки периферических нервов/нейрофибросаркому, экстраскелетную хондросаркому, экстраскелетную остеосаркому, экстраскелетную миксоидную хондросаркому и экстраскелетную мезенхимальную.

В контексте данного документа термин "комплекс BAF" относится к комплексу BRG1 - или HRBM-ассоциированных факторов в клетке человека.

В контексте данного документа термин "расстройство, связанное с комплексом BAF" относится к расстройству, которое вызвано или на которое влияет уровень и/или активность комплекса BAF.

В контексте данного документа термины "комплекс GBAF" и "GBAF" относятся к комплексу ремоделирования хроматина ATФазы SWI/SNF в клетке человека. Субъединицы комплекса GBAF могут

включать, но не ограничиваются ими, ACTB, ACTL6A, ACTL6B, BICRA, BICRAL, BRD9, SMARCA2, SMARCA4, SMARCC1, SMARCD1, SMARCD2, SMARCD3 и SS18. Термин "рак" относится к состоянию, вызванному пролиферацией злокачественных неопластических клеток, таких как опухоли, новообразования, карциномы, саркомы, лейкозы и лимфомы.

В контексте данного документа термин "BRD9" относится к бромодомен-содержащему белку 9, компоненту комплекса BAF (BRG1- или BRM-ассоциированные факторы), комплексу ремоделирования хроматина АТФазы SWI/SNF и принадлежит к семейству IV белков, содержащих бромодомен. BRD9 кодируется геном BRD9, последовательность нуклеиновой кислоты которого указана в SEQ ID NO: 1. Термин "BRD9" также относится к природным вариантам белка BRD9 дикого типа, таким как белки, имеющие по меньшей мере 85% идентичности последовательности (например, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% идентичности или более) аминокислотной последовательности BRD9 дикого типа, которая указана в SEQ ID NO: 2.

В контексте данного документа термин "расстройство, связанное с BRD9" относится к расстройству, которое вызвано или на которое влияет уровень и/или активность BRD9. Термин "рак" относится к состоянию, вызванному пролиферацией злокачественных неопластических клеток, таких как опухоли, новообразования, карциномы, саркомы, лейкозы и лимфомы.

В контексте данного документа "комбинированная терапия" или "вводимая в комбинации" означает, что два (или более) разных средства или средств лечения вводят субъекту как часть определенной схемы лечения для конкретного заболевания или состояния. Схема лечения определяет дозы и периодичность введения каждого средства, так что эффекты отдельных средств на субъекта перекрываются. В некоторых вариантах осуществления доставка двух или более средств является одновременной или сопутствующей, и средства могут быть составлены совместно. В некоторых вариантах осуществления два или более средств не составлены совместно и вводятся последовательно как часть предписанной схемы. В некоторых вариантах осуществления введение двух или более средств или средств лечения в комбинации таково, что уменьшение симптома или другого параметра, связанного с нарушением, больше, чем то, что наблюдалось бы с одним средством или средством лечения, доставляемым отдельно или в отсутствие другого. Эффект двух средств лечения может быть частично аддитивным полностью аддитивным или более сильным, чем аддитивный (например, синергическим). Последовательное или по сути одновременное введение каждого терапевтического средства осуществляется любым подходящим путем, включая без ограничения пероральные пути, внутривенные пути, внутримышечные пути и прямое всасывание через ткани слизистой оболочки. Терапевтические средства можно вводить одним и тем же путем или разными путями. Например, первое терапевтическое средство комбинации может вводиться путем внутривенной инъекции, тогда как второе терапевтическое средство комбинации может вводиться перорально.

"Соединение по настоящему изобретению" и аналогичные термины, используемые в данном документе, независимо от того, указано ли оно явным образом или нет, относятся к соединениям, пригодным для лечения связанных с BAF расстройств (например, рака или инфекции), описанных в данном документе, включая, например, соединения D1, соединения S-D1, соединения R-D1 или соединения D2, а также их соли (например, фармацевтически приемлемые соли), сольваты, гидраты, стереоизомеры (включая атропоизомеры) и таутомеры. Специалисты в данной области поймут, что определенные соединения, описанные в данном документе, могут существовать в одном или более различных изомерах (например, стереоизомерах, геометрических изомерах, атропоизомерах и таутомерах) или в виде изотопных форм (например, в которых один или более атомов замещены другим изотопом атома, например, водород, замещенный дейтерием). Если иное не указано или не ясно из контекста, можно понимать, что изображенная структура представляет любую такую изомерную или изотопную форму, индивидуально или в комбинации. Соединения, описанные в данном документе, могут быть асимметрическими (например, имеющими один или большее количество стереоцентров). Все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, предназначены, если не указано иное. Соединения по данному изобретению, которые содержат асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. Способы получения оптически активных форм из оптически активных исходных материалов известны в данной области техники, как, например, разделение рацемических смесей или с помощью стереоселективного синтеза. В описанных в данном документе соединениях также могут присутствовать многие геометрические изомеры олефинов, C=N двойных связей и тому подобное, и все такие стабильные изомеры рассматриваются в настоящем описании. Цис- и транс-геометрические изомеры соединений по настоящему описанию описаны и могут быть выделены в виде смеси изомеров или в виде отдельных изомерных форм. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения одно или более соединений, изображенных в данном документе, могут существовать в различных таутомерных формах. Как будет ясно из контекста, если явно не исключено, ссылки на такие соединения охватывают все такие таутомерные формы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения таутомерные формы возникают вследствие обмена одинарной связи с соседней двойной связью и сопутствующего перехода протона. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения таутомерная форма может представлять собой прототропный таутомер, который представляет собой изомерные

состояния протонирования, имеющие ту же эмпирическую формулу и общий заряд, что и эталонная форма. Примерами фрагментов с прототропными таутомерными формами являются пары кетон-енол, пары амид-имидная кислота, пары лактам-лактим, пары амид-имидная кислота, пары енамин-имин и кольцевые формы, в которых протон может занимать два или более положений гетероциклической система, такая как 1Н- и 3Н-имидазол, 1Н-, 2Н- и 4Н-1,2,4-триазол, 1Н- и 2Н-изоиндол, и 1Н- и 2Н-пиразол. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения таутомерные формы могут находиться в равновесии или стерически заблокированы в одной форме посредством соответствующего замещения. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения таутомерные формы являются результатом взаимного превращения ацетала.

В контексте данного документа термин "деструктор" относится к низкомолекулярному соединению, включающему деструктурирующий фрагмент, где соединение взаимодействует с белком (например, BRD9) способом, который приводит к деструкции белка, например, связывание соединения приводит по меньшей мере к 5% снижения уровня белка, например, в клетке или субъекте.

В контексте данного документа термин "деструктурирующий фрагмент" относится к фрагменту, связывание которого приводит к деструкции белка, например, BRD9. В одном примере фрагмент связывается с протеазой или убиквитинлигазой, которая метаболизирует белок, например BRD9.

Под "определением уровня белка" подразумевается обнаружение белка или мРНК, кодирующей белок, методами, известными в данной области, прямо или косвенно. "Прямое определение" означает выполнение процесса (например, выполнение анализа или теста на образце или "анализ образца", как этот термин определен в данном документе) для получения физического объекта или значения. "Косвенное определение" относится к получению физического объекта или значения от другой стороны или источника (например, сторонней лаборатории, которая напрямую получила физический объект или значение). Методы измерения уровня белка обычно включают без ограничения вестерн-блоттинг, иммуноблоттинг, иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммуноанализ (RIA), иммунопреципитацию, иммунофлуоресценцию, поверхностный плазмонный резонанс, хемилуминесценцию, флуоресцентную поляризацию, фосфоресценцию, иммуногистохимический анализ, масс-спектрометрию с матричной лазерной десорбцией/ионизацией по времени пролета (MALDI-TOF), жидкостную хроматографию (LC), масс-спектрометрию, микроцитометрию, микроскопию, сортировку клеток с активацией флуоресценции (FACS) и проточную цитометрию, а также анализы, основанные на свойствах белка, включая без ограничения ферментативную активность или взаимодействие с другими белками-партнерами. Способы измерения уровней мРНК известны в данной области.

В контексте данного документа термины "эффективное количество", "терапевтически эффективное количество" и "достаточное количество" агента, которое снижает уровень и/или активность BRD9 (например, в клетке или субъекте), описанные в данном документе, относятся к количеству, достаточному чтобы при введении субъекту, включая человека, оказывать благоприятные или желаемые результаты, включая клинические результаты, и, как таковое, "эффективное количество" или синоним данного слова зависит от контекста, в котором он применяется. Например, в контексте лечения рака это количество агента, которое снижает уровень и/или активность BRD9, достаточное для достижения ответа на лечение по сравнению с ответом, полученным без введения агента, который снижает уровень и/или активность BRD9. Количество данного агента, которое снижает уровень и/или активность BRD9, описанного в данном документе, которое будет соответствовать такому количеству, будет варьироваться в зависимости от различных факторов, таких как данный агент, фармацевтический состав, путь введения, тип заболевания или расстройство, личность субъекта (например, возраст, пол и/или вес) или хозяина, подвергаемого лечению, и т.п., но, тем не менее, могут быть определены обычным образом специалистом в данной области. Также в контексте данного документа "терапевтически эффективное количество" агента, которое снижает уровень и/или активность BRD9 по настоящему описанию, представляет собой количество, которое приводит к благоприятному или желаемому результату у субъекта по сравнению с контролем. Как определено в данном документе, терапевтически эффективное количество агента, которое снижает уровень и/или активность BRD9 по настоящему описанию, может быть легко определено обычным специалистом обычными методами, известными в данной области. Режимы дозирования могут быть скорректированы для обеспечения оптимального терапевтического ответа.

В контексте данного документа термин "ингибитор" относится к любому агенту, который снижает уровень и/или активность белка (например, BRD9). Неограничивающие примеры ингибиторов включают низкомолекулярные ингибиторы, деструкторы, антитела, ферменты или полинуклеотиды (например, мРНК).

Под "уровнем" подразумевается уровень белка или мРНК, кодирующей белок, по сравнению с эталоном. Под "уровнем" подразумевается уровень белка или мРНК, кодирующей, по с эталоном. Под "сниженным уровнем" или "повышенным уровнем" белка подразумевается снижение или повышение уровня белка по сравнению с эталоном (например, снижение или повышение на около 5%, около 10%, около 15%, около 20%, около 25%, около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 100%, около 150%, около 200%, около 300%, около 400%, около 500% или больше; снижение или по-

вышение на более чем около 10%, около 15%, около 20%, около 50%, около 75%, около 100% или около 200% по сравнению с эталоном; снижение или повышение менее чем в около 0,01 раза, в около 0,02 раза, в около 0,1 раза, в около 0,3 раза, в около 0,5 раза, в около 0,8 раза или менее; или повышение более чем в около 1,2 раза, в около 1,4 раза, в около 1,5 раза, в около 1,8 раза, в около 2,0 раза, в около 3,0 раза, в около 3,5 раза, в около 4,5 раза, в около 5,0 раз, в около 10 раз, в около 15 раз, в около 20 раз, в около 30 раз, в около 40 раз, в около 50 раз, в около 100 раз, в около 1000 раз или больше). Уровень белка может быть выражен в массе/объеме (например, г/дл, мг/мл, мкг/мл, нг/мл) или в процентах по отношению к общему белку или мРНК в образце.

Под "модулированием активности комплекса BAF" подразумевается изменение уровня активности, связанной с комплексом BAF (например, GBAF), или связанный с ним последующий эффект. Уровень активности комплекса BAF можно измерить с использованием любого метода, известного в данной области, например, способов, описанных в Kadoch et al., Cell 153:71-85 (2013), методы которых включены в данный документ посредством ссылки.

"Процент (%) идентичности последовательности" по отношению к эталонной полинуклеотидной или полипептидной последовательности определяется как процент нуклеиновых кислот или аминокислот в последовательности-кандидате, которые идентичны нуклеиновым кислотам или аминокислотам в эталонной полинуклеотидной или полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения пробелов, если необходимо, для достижения максимального процента идентичности последовательностей. Выравнивание с целью определения процента идентичности нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, которые находятся в пределах возможностей специалиста в данной области, к примеру, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2 или программного обеспечения Megalign. Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. К примеру, значения процентной идентичности последовательностей могут быть получены с использованием компьютерной программы сравнения последовательностей BLAST. В качестве иллюстрации процент идентичности последовательности данной нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательности, A, относительно, с или против данной последовательности нуклеиновой кислоты или аминокислоты, B (которая альтернативно может быть сформулирована как данная нуклеиновая кислота или кислотная последовательность, A, которая имеет определенный процент идентичности последовательности с данной нуклеиновой кислотой или аминокислотной последовательностью, с или против данной нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательности, B) рассчитывается следующим образом: $100 \times \frac{X}{Y}$, где X - количество нуклеотидов или аминокислот, оцененных как идентичные совпадения программой выравнивания последовательностей (например, BLAST) при выравнивании этой программой A и B, и где Y - общее количество нуклеиновых кислот в B. Если длина нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательности A не равна длине нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательности B, процент идентичности последовательностей A и B не будет равен проценту идентичности последовательностей B и A.

"Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество" в контексте данного документа относится к любому ингредиенту, отличному от соединений, описанных в данном документе (например, несухая среда, способная суспендировать или растворять активное соединение) и характеризующемуся свойствами, по сути нетоксичными и невоспалительными у пациента. Вспомогательные вещества могут включать, например, антиадгезивы, антиоксиданты, связывающие вещества, покрытия, добавки для прессования, разрыхлители, красящие вещества (красители), смягчительные средства, эмульгаторы, наполнители (разбавители), пленкообразователи или покрытия, вкусоароматические добавки, ароматизаторы, вещества, способствующие скольжению (усилители сыпучести), смазывающие вещества, консерванты, печатные краски, сорбенты, суспендирующие или диспергирующие средства, подсластители и гидратационную воду.

В контексте данного документа термин "фармацевтически приемлемая соль" означает любую фармацевтически приемлемую соль соединения любого из соединений, описанных в данном документе. Например, фармацевтически приемлемые соли любого из соединений, описанных в данном документе, включают те, которые находятся в пределах разумного медицинского заключения, пригодны для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и соизмеримы с разумными соотношения польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, фармацевтически приемлемые соли описаны в: Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977 и в Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P.H. Stahl и C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Соли могут быть получены *in situ* во время окончательного выделения и очистки соединений, описанных в данном документе, или по отдельности путем введения группы свободного основания в реакцию с подходящей органической кислотой. Описанные в данном документе соединения могут иметь ионизируемые группы, чтобы их можно было получить в виде фармацевтически приемлемых солей. Эти соли могут являться кислотными аддитивными солями с

участием неорганических или органических кислот, в случае кислотных форм конъюгатов, представленных в данном документе, конъюгаты могут быть получены из неорганических или органических оснований. Часто соединения получают или применяют в виде фармацевтически приемлемых солей, полученных в виде продуктов присоединения фармацевтически приемлемых кислот или оснований. Подходящие фармацевтически приемлемые кислоты и основания и способы получения соответствующих солей хорошо известны в данной области. Соли можно приготовить из фармацевтически приемлемых нетоксичных кислот и оснований, включая неорганические и органические кислоты и основания.

Термин "фармацевтическая композиция", в контексте данного документа, представляет собой композицию, содержащую соединение, описанное в данном документе, составленное с фармацевтически приемлемым эксципиентом и производимое или продаваемое с одобрения государственного регулирующего органа как часть терапевтического режима для лечения заболевания у млекопитающего. Фармацевтические композиции могут быть составлены, например, для перорального введения в единичной лекарственной форме (например, таблетке, капсуле, капсуловидной таблетке, желатиновой капсуле или сиропе); для местного применения (например, в виде крема, геля, лосьона или мази); для внутривенного введения (например, в виде стерильного раствора, не содержащего механических включений, и в виде системы растворителей, пригодных для внутривенного применения); или в любом другом фармацевтически приемлемом составе.

Под "снижением активности BRD9" подразумевается снижение уровня активности, связанной с BRD9, или связанного нижестоящего эффекта. Неограничивающим примером ингибирования активности BRD9 является снижение уровня комплекса BAF (например, GBAF) в клетке. Уровень активности BRD9 можно измерить с помощью любого метода, известного в данной области. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения агент, который снижает активность BRD9, представляет собой низкомолекулярный ингибитор BRD9. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения агент, который снижает активность BRD9, представляет собой низкомолекулярный деструктор BRD9.

Под "снижением уровня BRD9" подразумевается снижение уровня BRD9 в клетке или субъекте. Уровень BRD9 можно измерить с помощью любого метода, известного в данной области.

Под "эталонном" подразумевается любой подходящий эталон, используемый для сравнения уровней белка или мРНК. Эталонном может быть любой образец, стандарт, стандартная кривая или уровень, который используется для целей сравнения. Эталонном может быть нормальный эталонный образец или эталонный стандарт или уровень. "Эталонный образец" может быть, например, контролем, например заранее определенным значением отрицательного контроля, таким как "нормальный контроль" или предыдущим образцом, взятым у того же субъекта; образец от нормального здорового субъекта, такого как нормальная клетка или нормальная ткань; образец (например, клетка или ткань) от субъекта, не страдающего заболеванием; образец от субъекта, у которого диагностировано заболевание, но еще не лечили описанным здесь соединением; образец от субъекта, который лечился описанным в данном документе соединением; или образец очищенного белка (например, любого описанного в данном документе) в известной нормальной концентрации. Под "эталонным стандартом или уровнем" подразумевается значение или число, полученное из эталонного образца. "Нормальное контрольное значение" представляет собой заранее определенное значение, указывающее на состояние, не связанное с заболеванием, например, значение, ожидаемое у здорового контрольного субъекта. Обычно нормальное контрольное значение выражается как диапазон ("между X и Y"), высокий порог ("не выше X") или низкий порог ("не ниже X"). Субъекта, имеющего измеренное значение в пределах нормального контрольного значения для конкретного биомаркера, обычно называют "в пределах нормы" для этого биомаркера. Нормальный эталонный стандарт или уровень может быть значением или числом, полученным от нормального субъекта, не страдающего заболеванием или нарушением (например, раком); субъект, которого лечили описанным в данном документе соединением. В предпочтительных вариантах осуществления эталонный образец, стандарт или уровень сопоставлен с образцом исследуемого образца по меньшей мере по одному из следующих критериев: возраст, вес, пол, стадия заболевания и общее состояние здоровья. Стандартная кривая уровней очищенного белка, например, любого описанного в данном документе, в пределах нормального эталонного диапазона также может использоваться в качестве эталона.

В контексте данного документа термин "субъект" относится к любому организму, которому можно вводить композицию в соответствии с настоящим изобретением, например, для экспериментальных, диагностических, профилактических и/или терапевтических целей. Типичные субъекты включают любое животное (например, млекопитающие, такие как мыши, крысы, кролики, отличные от человека приматы и люди). Субъект может искать лечение или нуждаться в нем, требовать лечения, получать лечение, получать лечение в будущем или быть человеком или животным, находящимся под наблюдением квалифицированного специалиста по поводу определенного заболевания или патологического состояния.

В контексте данного документа термин "расстройство, связанное с слитым белком SS18-SSX" относится к расстройству, которое вызвано или на которое влияет уровень и/или активность слитого белка SS18-SSX.

В контексте данного документа термины "лечить", "вылеченный" или "лечащий" означают как терапевтическое лечение, так и профилактические или предотвращающие меры, цель которых состоит в

том, чтобы предотвратить или замедлить (уменьшить) нежелательное физиологическое патологическое состояние, расстройство или заболевание или получить благоприятные или желаемые клинические результаты. Благоприятные или желаемые клинические результаты включают, помимо прочего, облегчение симптомов; уменьшение степени патологического состояния, расстройства или заболевания; стабилизированное (т.е. не ухудшающееся) состояние патологического состояния, расстройства или заболевания; задержку начала или замедления патологического состояния, расстройства или прогрессирования заболевания; улучшение патологического состояния, расстройства или болезненного состояния или ремиссию (частичную или полную), обнаруживаемую или необнаружимую; улучшение по меньшей мере одного измеримого физического параметра, не обязательно различимого пациентом; или улучшение или улучшение патологического состояния, расстройства или заболевания. Лечение включает получение клинически значимого ответа без чрезмерных побочных эффектов. Лечение также включает продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью, если лечение не проводится.

В контексте данного документа термины "вариант" и "производное" используются взаимозаменяемо и относятся к природным, синтетическим и полусинтетическим аналогам соединения, пептида, белка или другого вещества, описанного в данном документе. Вариант или производное соединения, пептида, белка или другого вещества, описанного в данном документе, может сохранять или улучшать биологическую активность исходного материала.

Подробности одного или более вариантов осуществления настоящего изобретения изложены в описании ниже. Другие признаки, объекты и преимущества настоящего изобретения станут очевидны из описания и из формулы изобретения.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 представляет собой изображение, иллюстрирующее дозозависимое истощение уровней BRD9 в линии клеток синовиальной саркомы (SYO1) в присутствии деструктора BRD9.

Фиг. 2 представляет собой изображение, иллюстрирующее устойчивое подавление уровней BRD9 в линии клеток синовиальной саркомы (SYO1) в присутствии разрушителя BRD9 в течение 72 ч.

Фиг. 3 представляет собой изображение, иллюстрирующее устойчивое подавление уровней BRD9 в двух клеточных линиях (293T и SYO1) в присутствии деструктора BRD9 в течение 5 дней.

Фиг. 4 представляет собой изображение, иллюстрирующее устойчивое подавление уровней BRD9 в линиях клеток синовиальной саркомы (SYO1 и Yamato) в присутствии деструктора BRD9 в течение 7 дней по сравнению с уровнями в клетках, обработанных реагентами CRISPR.

Фиг. 5 представляет собой изображение, иллюстрирующее влияние на рост клеток шести клеточных линий (SYO1, Yamato, A549, HS-SY-II, ASKA и 293T) в присутствии деструктора BRD9 и ингибитора BRD9.

Фиг. 6 представляет собой изображение, иллюстрирующее влияние на рост клеток двух клеточных линий (SYO1 и G401) в присутствии деструктора BRD9.

Фиг. 7 представляет собой изображение, иллюстрирующее влияние на рост клеток трех клеточных линий синовиальной саркомы (SYO1, HS-SY-II и ASKA) в присутствии деструктора BRD9, связывающего вещества BRD9 и связывающего вещества лигазы E3.

Фиг. 8 представляет собой изображение, иллюстрирующее влияние на рост клеток трех линий клеток несиновиальной саркомы (RD, HCT116 и Calu6) в присутствии деструктора BRD9, связывающего вещества BRD9 и связывающего вещества лигазы E3.

Фиг. 9 представляет собой график, иллюстрирующий процентное содержание SYO1 в различных фазах клеточного цикла после обработки ДМСО, соединением 1 в концентрации 200 нМ, соединением 1 в концентрации 1 мкМ в течение 8 или 13 дней.

Фиг. 10 представляет собой серию контурных графиков, иллюстрирующих процентное содержание клеток SYO1 в различных фазах клеточного цикла после обработки ДМСО, соединением 1 при 200 нМ, соединением 1 при 1 мкМ или леналидомидом при 200 нМ в течение 8 дней. Числовые значения, соответствующие каждому контурному графику, находятся в таблице ниже.

Фиг. 11 представляет собой серию контурных графиков, иллюстрирующих процентное содержание клеток SYO1 в различных фазах клеточного цикла после обработки ДМСО, соединением 1 при 200 нМ, соединением 1 при 1 мкМ или леналидомидом при 200 нМ в течение 13 дней. Числовые значения, соответствующие каждому контурному графику, находятся в таблице ниже.

Фиг. 12 представляет собой серию контурных графиков, иллюстрирующих процентное содержание клеток SYO1 с ранним и поздним апоптозом после обработки ДМСО, соединением 1 при 200 нМ, соединением 1 при 1 мкМ или леналидомидом при 200 нМ в течение 8 дней. Числовые значения, соответствующие каждому контурному графику, находятся в таблице ниже.

Фиг. 13 представляет собой график, иллюстрирующий белки, присутствующие в комплексах BAF, включая слитый белок SS18-SSX.

Фиг. 14 представляет собой график, иллюстрирующий эффективность соединения D1 в мышинной модели с ксенотрансплантатом SOY-1. Лечение соединением D1 приводило к ингибированию роста опухоли.

Фиг. 15 представляет собой вестерн-блоттинг, иллюстрирующий обнаружение BRD9 в контрольной

группе и группе лечения (соединение D1). Лечение соединением D1 приводило к ингибированию BRD9.

Фиг. 16 представляет собой изображение вестерн-блоттинга, иллюстрирующее обнаружение BRD9 в клетках SYO-1, обработанных ДМСО, энантиомером 1 или рацемическим соединением D1 в течение 1 или 6 ч.

Фиг. 17 представляет собой изображение вестерн-блоттинга, иллюстрирующее обнаружение BRD9 в клетках SYO-1, обработанных ДМСО, энантиомером 2 или рацемическим соединением D1 в течение 1 или 6 ч.

Фиг. 18 представляет собой график, показывающий кривые доза-ответ, соответствующие точкам данных интенсивности полосы BRD9 из изображений вестерн-блоттинга, проиллюстрированных на фиг. 16 и 17.

Фиг. 19 представляет собой изображение вестерн-блоттинга, иллюстрирующее обнаружение BRD9 в клетках SYO-1, обработанных, энантиомером 1, энантиомером 2 или рацемическим соединением D1 в течение 24 ч.

Фиг. 20 представляет собой изображение вестерн-блоттинга, иллюстрирующее обнаружение BRD9 в контрольных клетках ASKA и клетках ASKA, обработанных энантиомером 1 или рацемическим соединением D1 в течение 0,5 или 2 ч.

Фиг. 21 представляет собой изображение вестерн-блоттинга, иллюстрирующее обнаружение BRD9 в контрольных клетках ASKA и клетках ASKA, обработанных энантиомером 2 или рацемическим соединением D1 в течение 0,5 или 2 ч.

Фиг. 22 представляет собой график, иллюстрирующий кривые доза-ответ, соответствующие точкам данных интенсивности полосы BRD9 из изображений вестерн-блоттинга, проиллюстрированных на фиг. 20 и 21.

Фиг. 23 представляет собой изображения, иллюстрирующие серию вестерн-блоттингов для обнаружения BRD9 в модели ксенотрансплантата SYO-1, обработанного энантиомером 1, энантиомером 2 или рацемическим соединением D1.

Фиг. 24 представляет собой гистограмму, количественно определяющую изменения уровня BRD9, наблюдаемые в вестерн-блоттингах, проиллюстрированных на фиг. 23.

Подробное описание сущности изобретения

В настоящем описании представлены композиции и способы, пригодные для лечения расстройств, связанных с BAF (например, рака и инфекции). В описании также представлены композиции и способы, пригодные для ингибирования уровня и/или активности BRD9, например, для лечения таких расстройств, как рак (например, саркома) и инфекция (например, вирусная инфекция), например, у субъекта, нуждающегося в этом.

Соединения

Описанные в данном документе соединения снижают уровень активности, связанной с BRD9, или связанный с ним нисходящий эффект, или снижают уровень BRD9 в клетке или субъекте. Типичные соединения, описанные в настоящем документе, имеют структуру соединения D1, S-D1, R-D1 или D2 в табл. 1 или его фармацевтически приемлемую соль.

Варианты фармацевтического применения

Описанные в данном документе соединения пригодны в способах изобретения и, хотя и не связаны теорией, предполагается, что они оказывают желаемое действие благодаря своей способности модулировать уровень, состояние и/или активность комплекса BAF, например, путем ингибирования активности или уровня белка BRD9 в клетке в составе комплекса BAF у млекопитающего.

Аспект настоящего изобретения относится к способам лечения расстройств, связанных с BRD9, таких как рак, у субъекта, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединения вводят в количестве и в течение времени, эффективных для получения одного из или более, например, двух или более, три или более, четырех или более из: (a) уменьшение размера опухоли, (b) снижение скорости роста опухоли, (c) увеличение гибели опухолевых клеток, (d) уменьшение прогрессирующей опухоли, (e) уменьшение количества метастазов, (f) снижение скорости метастазирования, (g) уменьшение рецидива опухоли, (h) увеличенная выживаемость субъекта и (i) повышенная выживаемость субъекта без прогрессирования заболевания.

Лечение рака может привести к уменьшению размера или объема опухоли. Например, после лечения размер опухоли уменьшается на 5% или больше (например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше) по сравнению с его размером до лечения. Размер опухоли можно измерить любыми воспроизводимыми способами измерения. Например, размер опухоли можно измерить как диаметр опухоли.

Лечение рака может в дальнейшем привести к уменьшению количества опухолей. Например, после лечения количество опухолей уменьшается на 5% или больше (например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше) по сравнению с количеством до лечения. Количество опухолей можно измерить любыми воспроизводимыми способами измерения, например, количество опухолей можно измерить путем подсчета опухолей, видимых невооруженным глазом, или при определенном увеличении (например, 2×, 3×, 4×, 5×, 10× или 50×).

Лечение рака может привести к уменьшению количества метастатических узелков в других тканях или органах, удаленных от места первичной опухоли. Например, после лечения количество метастатических узелков уменьшается на 5% или больше (например, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше) относительно количества до лечения. Количество метастатических узелков можно измерить любыми воспроизводимыми средствами измерения. Например, количество метастатических узелков можно измерить путем подсчета метастатических узелков, видимых невооруженным глазом или при определенном увеличении (например, 2×, 10× или 50×).

Лечение рака может привести к увеличению средней продолжительности жизни популяции субъектов, получавших лечение в соответствии с настоящим изобретением, по сравнению с популяцией субъектов, не получавших лечение. Например, среднее время выживания увеличивается более чем на 30 дней (более чем на 60 дней, 90 дней или 120 дней). Увеличение среднего времени выживания популяции можно измерить любыми воспроизводимыми средствами. Увеличение среднего времени выживания популяции можно измерить, например, путем расчета для популяции средней продолжительности выживания после начала лечения описанным в данном документе соединением. Увеличение среднего времени выживания популяции также можно измерить, например, путем расчета для популяции средней продолжительности выживания после завершения первого цикла лечения фармацевтически приемлемой солью соединения, описанного в данном документе.

Лечение рака также может привести к снижению уровня смертности в популяции получавших лечение субъектов по сравнению с популяцией, не получавшей лечение. Например, уровень смертности снижается более чем на 2% (например, более чем на 5, 10 или 25%). Снижение уровня смертности в популяции получавших лечение субъектов может быть измерено любыми воспроизводимыми средствами, например, путем расчета для популяции среднего числа смертей, связанных с заболеванием, в единицу времени после начала лечения фармацевтически приемлемой солью соединения, описанного в данном документе. Снижение уровня смертности населения также может быть измерено, например, путем расчета для населения среднего числа смертей, связанных с заболеванием, в единицу времени после завершения первого цикла лечения фармацевтически приемлемой солью описанного в данном документе соединения.

Комбинированные виды терапии

Способ по данному изобретению можно использовать отдельно или в комбинации с дополнительным терапевтическим агентом, например, другими агентами, которые лечат рак или связанные с ним симптомы, или в комбинации с другими типами терапии для лечения рака. При комбинированном лечении дозировки одного или более терапевтических соединений могут быть уменьшены по сравнению со стандартными дозировками при введении отдельно. Например, дозы можно определять эмпирически из лекарственных комбинаций и пермутаций или можно выводить с помощью изоболографического анализа (например, Black et al., *Neurology* 65:S3-S6 (2005)). В этом случае дозировки соединений при комбинировании должны обеспечивать терапевтический эффект.

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство (например, цитотоксическое средство или другое химическое соединение, применяемое в лечении рака). Они включают алкилирующие средства, антиметаболиты, аналоги фолиевой кислоты, аналоги пиримидина, аналоги пурина и родственные ингибиторы, алкалоиды барвинка, эпиподофиллотоксины, антибиотики, L-аспарагиназу, ингибиторы топоизомеразы, интерфероны, координационные комплексы платины, антрацендион-замещенную мочевины, производные метилгидразина, супрессорное в отношении надпочечников средство, адренокортикостероиды, прогестины, эстрогены, антиэстрогены, андрогены, антиандрогены и аналог гонадотропин-рилизинг-гормона. Также включены 5-фторурацил (5-FU), лейковорин (LV), ирентекан, оксалиплатин, капецитабин, паклитаксел и доксетаксел. Неограничивающие примеры химиотерапевтических агентов включают алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоккон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамида, триэтилендиофосфорамида и триметилломеламин; ацетогенины (особенно буллатацин и буллатацинон); камптотексин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; CC-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидроклорид мехлорэтамину оксида, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трюфосфамид, урацил иприт; нитрозомочевинны, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как эндиновые антибиотики (например, калихеамицин, особенно калихеамицин гаммал и калихеамицин омегалл (см., например, Agnew, *Chem. Intl. Ed Engl.* 33:183-186 (1994))); динемидин, включая динемидин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также хромофор неокарзиностатина и родственные антибиотические хромофоры на основе хромопротеина эндиина, аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, каминомицин, карзинофилин, хромомицин, дактиноми-

цин, даунорубин, деторубин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, ADRIAMYCIN® (доксорубин, включая морфолинодоксорубин, цианоморфолинодоксорубин, 2-пирролинодоксорубин и дезоксидоксорубин), эпирубин, эзрубин, идарубин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфирамицин, пуромицин, келамицин, родорубин, стрептонигрин, стрептозопин, туберцидин, убенимекс, зиностаин, зорубин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестостерон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоглутетимид, митоган, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминолевулиновую кислоту; энилурацил; амсакрин; бестрабурил; бисантрон; эдатрексат; дефофамин; демеклоцин; диазиквон; эльфомитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраерин; пентостаин; фенамет; пирарубин; лозоксантрон; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK® полисахаридный комплекс (JHS Natural Products, Юджин, Орегон); разоксан; ризоксин; сизофуран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ага-С"); циклофосфамид; тиотепу; таксоиды, например TAXOL® (паклитаксел; Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, Нью-Джерси), ABRAXANE®, состав паклитаксела в виде наночастиц без крематоров, созданный с использованием альбумина (American Pharmaceutical Partners, Шаумбург, Иллинойс), и TAXOTERE® доксетаксел (Rhone-Poulenc Rorer, Антони, Франция); хлорамбуцил; GEMZAR® гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; координационные комплексы платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; NAVELBINE® винорелбин; новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоптерин; кселоду; ибандронат; иринотекан (например, СРТ-11); ингибиторы топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (ДФМО); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных. Два или более химиотерапевтических средства можно использовать в коктейле для введения в комбинации с первым терапевтическим средством, описанным в данном документе. Подходящие режимы дозирования комбинированной химиотерапии известны в данной области и описаны, например, в Saltz et al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 18:233a (1999) и Douillard et al., Lancet 355(9209):1041-1047 (2000).

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой агент, повреждающий ДНК (например, противоопухолевый агент на основе платины, ингибиторы топоизомеразы, ингибиторы PARP, алкилирующие противоопухолевые агенты и ионизирующее излучение).

Примерами противоопухолевого средства на основе платины, которое можно использовать в качестве второго терапевтического средства в композициях и способах по изобретению, являются цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, дициклоплатин, эптаплатин, лобаплатин, мириплатин, недаплатин, тетранитрат триплатина, фенантрилплатин, пикоплатин и сатраплатин. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой цисплатин, а рак, который лечили, представляет собой рак яичек, рак яичников или рак мочевого пузыря (например, запущенный рак мочевого пузыря). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой карбоплатин, а рак, который лечили, представляет собой рак яичников, рак легких, рак головы и шеи, рак головного мозга или нейроblastому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой оксалиплатин, а рак, который лечили, представляет собой колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой дициклоплатин, а рак, который лечили, представляет собой мелкоклеточный рак легких или рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой эптаплатин, а рак, который лечили, представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой лобаплатин, а рак, который лечили, представляет собой рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой мириплатин, а рак, который лечили, представляет собой гепатоцеллюлярную карциному. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой недаплатин, а рак, который лечили, представляет собой рак носоглотки, рак пищевода, плоскоклеточный рак или рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой тетранитрат триплатины, а рак, который лечили, представляет собой рак легких (например, мелко клеточный рак легких) или рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой пикоплатин, а рак, который лечили, представляет собой рак легких (например, мелкоклеточный рак легких), рак предстательной железы, рак мо-

чевого пузыря или колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой сатраплатин, а рак, который лечили, представляет собой рак предстательной железы, рак молочной железы или рак легких.

Примерами ингибиторов топоизомеразы, которые можно использовать в качестве второго терапевтического агента в композициях и способах по данному изобретению, являются этопозид, тенипозид, доксорубин, даунорубин, митоксантрон, амсакрин, эллиптицин, иринотекан, топотекан, камптотецин и дифломотецин. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой этопозид, а рак, который лечили, представляет собой рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого) или рак яичка. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой тенипозид, а рак, который лечили, представляет собой острый лимфобластный лейкоз (например, детский острый лимфобластный лейкоз). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой доксорубин, а рак, который лечили, представляет собой острый лимфобластный лейкоз, острый миелобластный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, рак молочной железы, опухоль Вильмса, нейробластому, саркому мягких тканей, саркому кости, карциному яичников, переходно-клеточный рак мочевого пузыря, рак щитовидной железы, карциному, карциному желудка или бронхогенную карциному. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой даунорубин, а рак, который лечили, представляет собой острый лимфобластный лейкоз или острый миелоидный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой митоксантрон, а рак, который лечили, представляет собой рак предстательной железы или острый нелимфоцитарный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой амсакрин, а рак, который лечили, представляет собой лейкоз (например, острый лейкоз взрослых). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой иринотекан, а рак, который лечили, представляет собой колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой топотекан, а рак, который лечили, представляет собой рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой дифломотецин, а рак, который лечили, представляет собой рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого).

Примерами алкилирующих противоопухолевых средств, которые можно использовать в качестве второго терапевтического средства в композициях и способах по изобретению, являются циклофосфамид, урамустин, мелфалан, хлорамбуцил, ифосфамид, бендамустин, кармустин, ломустин, хлорзотоцин, фотемустин, нимустин, ранимустин, бусульфан, импросульфан, пипосульфан, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, мехлорэтамин, гидрохлорид мехлорэтамидина оксида, новембихин, фенестерин, преднимустин, трифосфамид, прокарабазин, альтретамин, дакарбазин, митозоломид и темозоломид. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой циклофосфан, а рак, который лечили, представляет собой неходжкинскую лимфому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой мелфалан, а рак, который лечили, представляет собой множественную миелому, рак яичников или меланому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой хлорамбуцил, а рак, который лечили, представляет собой хронический лимфатический лейкоз, злокачественную лимфому (например, лимфосаркому, гигантскую фолликулярную лимфому или лимфому Ходжкина). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ифосфамид, а рак, который лечили, представляет собой рак яичек. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой бендамустин, а рак, который лечили, представляет собой хронический лимфолейкоз или неходжкинскую лимфому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой кармустин, а рак, который лечили, представляет собой рак головного мозга (например, глиобластому, глиому ствола мозга, медуллобластому, астроцитому, эпендимому или метастатическую опухоль головного мозга), множественную миелому, болезнь Ходжкина или неходжкинскую лимфому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ломустин, а рак, который лечили, представляет собой рак головного мозга или ходжкинскую лимфому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой фотемустин, а рак, который лечили, представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой нимустин, а рак, который лечили, представляет собой рак головного мозга. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ранимустин, а рак, который лечили, представляет собой хронический миелогенный лейкоз или истинную полицитемию. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой бусульфан, а рак, который лечили, представляет собой хронический миелогенный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой импросульфан, а рак, который лечили, представляет собой саркому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой эстрамустин, а рак, который лечили, представляет собой рак предстательной железы (например, карциному предстательной железы). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой мехлометамин, а рак, который лечили,

представляет собой кожную Т-клеточную лимфому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой трофосфамид, а рак, который лечили, представляет собой саркому (например, саркому мягких тканей). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой прокарбазин, а рак, который лечили, представляет собой ходжкинскую болезнь. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой алтретамин, а рак, который лечили, представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой дакарбазин, а рак, который лечили, представляет собой меланому, лимфому Ходжкина или саркому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой темозоломид, а рак, который лечили, представляет собой рак головного мозга (например, астроцитому или глиобластому) или рак легких (например, мелкоклеточный рак легких).

Примерами ингибиторов PARP, которые можно использовать в качестве второго терапевтического агента в композициях и способах по данному изобретению, являются нирапариб, олапариб, рукапариб, талазопариб, велипариб, памипариб, СК-102 или E7016. Преимущественно, соединения по данному изобретению и повреждающий ДНК агент могут действовать синергически для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой нирапариб, а рак, который лечили, представляет собой рак яичников (например, рак яичников с мутацией BRCA), рак маточной трубы (например, рак маточной трубы с мутацией BRCA) или первичный рак брюшины (например, первичный рак брюшины с мутацией BRCA). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой олапариб, а рак, который лечили, представляет собой рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого), рак яичников (например, рак яичников с мутацией BRCA), рак молочной железы (например, рак молочной железы с мутацией BRCA), рак фаллопиевых труб (например, рак фаллопиевых труб с BRCA), первичный рак брюшины (например, первичный рак брюшины с мутацией BRCA), рак предстательной железы (например, кастрационно-резистентный рак предстательной железы) или рак поджелудочной железы (например, аденокарциному поджелудочной железы). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой рукапариб, а рак, который лечили, представляет собой рак яичников (например, рак яичников с мутацией BRCA), рак маточной трубы (например, рак маточной трубы с мутацией BRCA) или первичный рак брюшины (например, первичный рак брюшины с мутацией BRCA). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой талазопариб, рак, который лечили, представляет собой рак молочной железы (например, рак молочной железы с мутацией BRCA). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой велипариб, а рак, который лечили, представляет собой рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого), меланому, рак молочной железы, рак яичников, рак предстательной железы или рак головного мозга. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой памипариб, а рак, который лечили, представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой СК-102, а рак, который лечили, представляет собой рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой E7016, а рак, который лечили, представляет собой меланому.

Не желая быть связанным теорией, синергизм между соединениями по данному изобретению и агентами, повреждающими ДНК, можно объяснить необходимостью BRD9 для репарации ДНК; ингибирование BRD9 может повысить чувствительность рака (например, раковой клетки или раковой ткани) к агентам, повреждающим ДНК.

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор JAK (например, ингибитор JAK1). Неограничивающие примеры ингибиторов JAK, которые можно использовать в качестве второго терапевтического агента в композициях и способах по данному изобретению, включают тофацитиниб, руксолитиниб, оклацитиниб, барицитиниб, пефицитиниб, федратиниб, упадацитиниб, филготиниб, цердулатиниб, гандотиниб, лестауртиниб, момелотиниб, пакритиниб, аброцитиниб, солцитиниб, итацитиниб или SHR0302. Не желая быть связанным теорией, синергизм между соединениями по данному изобретению и ингибиторами JAK может быть ингибитором комплекса SAGA к их комбинированному эффекту подавления клеток Foxp3+ Treg. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой руксолитиниб, а рак, который лечили, представляет собой миелопролиферативное новообразование (например, полицитемию или миелофиброз), рак яичников, рак молочной железы, рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой федратиниб, а рак, который лечили, представляет собой миелопролиферативное новообразование (например, миелофиброз). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой цердулатиниб, а рак, который лечили, представляет собой лимфому (например, периферическую Т-клеточную лимфому). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой гандотиниб, а рак, который лечили, представляет собой миелопролиферативное новообразование (например, полицитемию или миелофиброз). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой лестауртиниб, а рак, который лечили, представляет собой миелопролиферативное новообразование (например,

полицитемии или миелофиброз), лейкемию (например, острый миелоидный лейкоз), рак поджелудочной железы, рак предстательной железы или нейроblastому. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой момелотиниб, а рак, который лечили, представляет собой миелопролиферативное новообразование (например, полицитемии или миелофиброз) или рак поджелудочной железы (например, аденокарциному протока поджелудочной железы). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой момелотиниб, а рак, который лечили, представляет собой миелопролиферативное новообразование (например, полицитемии или миелофиброз). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой момелотиниб, а рак, который лечили, представляет собой миелопролиферативное новообразование (например, полицитемии или миелофиброз) или рак поджелудочной железы (например, аденокарциному протока поджелудочной железы).

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор комплекса SAGA или его компонент. Ингибитор комплекса SAGA может быть, например, ингибирующим антителом или низкомолекулярным ингибитором CCDC101, Tada2B, Tada3, Usp22, Tada1, Taf61, Supt5, Supt20 или их комбинацией. Не желая быть связанными теорией, синергизм между соединениями по данному изобретению и ингибиторами комплекса SAGA можно объяснить их комбинированным эффектом подавления клеток Foxp3⁺ Treg. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой терапевтическое средство, которое представляет собой биологический препарат, такой как цитокин (например, интерферон или интерлейкин (например, IL-2)), применяемый в лечении рака. В некоторых вариантах осуществления биологический препарат представляет собой антиангиогенное средство, такое как средство, направленное против VEGF, например, бевацизумаб (AVASTIN®). В некоторых вариантах осуществления биологический препарат представляет собой биологический препарат на основе иммуноглобулина, например, моноклональное антитело (например, гуманизованное антитело, полностью человеческое антитело, слитый белок Fc или его функциональный фрагмент), которое агонизирует мишень для стимуляции противоракового ответа или противодействует антигену, важному для рака. Такие агенты включают RITUXAN® (ритуксимаб); ZENAPAX® (даклизумаб); SIMULECT® (базиликсимаб); SYNAGIS® (паливизумаб); REMICADE® (инфликсимаб); HERCEPTIN® (трастузумаб); MYLOTARG® (гемтузумаб озогамидин); CAMPATH® (алемтузумаб); ZEVALIN® (ибритумомаб труксетан); HUMIRA® (адалимумаб); XOLAIR® (омализумаб); BEXXAR® (тозитумомаб-1-131); RAPTIVA® (эфализумаб); ERBITUX® (цетуксимаб); AVASTIN® (бевацизумаб); TYSABRI® (натализумаб); АКТЕМПА® (тоцилизумаб); VECTIBIX® (панитумумаб); LUCENTIS® (ранибизумаб); SOLIRIS® (экулизумаб); CIMZIA® (цетоголизумаб пегол); SIMPONI® (голимумаб); ILARIS® (канакинумаб); STELARA® (устекинумаб); ARZERRA® (офатумумаб); PROLIA® (деносумаб); NUMAX® (мотавизумаб); АВТНРАХ® (раксикакумаб); BENLYSTA® (белимумаб); YERVOY® (ипилимумаб); ADCETRIS® (брентуксимаб ведотин); PERJETA® (пертузумаб); KADCYLA® (адо-трастузумаб эмтанзин); и GAZYVA® (обинутузумаб). Также включены конъюгаты антитело-лекарственное средство.

Второе средство может представлять собой терапевтическое средство, которое не является лекарственным средством. Например, вторым терапевтическим средством является лучевая терапия, криотерапия, гипертермия и/или хирургическое удаление опухолевой ткани.

Второе средство может представлять собой ингибитор контрольной точки. В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибирующее антитело (например, моноспецифическое антитело, такое как моноклональное антитело). Антитело может быть, например, гуманизованным или полностью человеческим. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой слитый белок, например, слитый белок Fc-рецептора. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой средство, такое как антитело, которое взаимодействует с белком контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой средство, такое как антитело, которое взаимодействует с лигандом белка контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или низкомолекулярный ингибитор) CTLA-4 (например, антитело анти-CTLA4 или слитый белок, такой как ипилимумаб/YERVOY® или тремелимумаб). В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или низкомолекулярный ингибитор) PD-1 (например, ниволумаб/OPDIVO®; пембролизумаб/KEYTRUDA®; пидилизумаб/CT-011). В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или низкомолекулярный ингибитор) PDL1 (например, MPDL3280A/RG7446; MEDI4736; MSB0010718C; BMS 936559). В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или слитый продукт Fc или низкомолекулярный ингибитор) PDL2 (например, слитый белок PDL2/Ig, такой как AMP 224). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор (например, ингибирующее антитело или низкомолекулярный инги-

битор) семейства лигандов B7-H3 (например, MGA271), B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK 1, CHK2, A2aR, B-7 или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ипилимумаб, а рак, который лечили, представляет собой меланому, рак почки, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого или мелкоклеточный рак легкого) или рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой тремелимуаб, а рак, который лечили, представляет собой меланому, мезотелиому или рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого). В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ниволумаб, а рак, который лечили, представляет собой меланому, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого или мелкоклеточный рак легкого), рак почки, лимфому Ходжкина, рак головы и шеи (например, плоскоклеточный рак головы и шеи), уротелиальную карциному, гепатоцеллюлярную карциному или колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой пембролизумаб, а рак, который лечили, представляет собой меланому, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого или мелкоклеточный рак легкого), лимфому Ходжкина, рак головы и шеи (например, плоскоклеточный рак головы и шеи), первичную средостенную крупноклеточную В-клеточную лимфому, уротелиальную карциному, гепатоцеллюлярную карциному, рак с микросателлитной нестабильностью, рак желудка, рак пищевода, рак шейки матки, карциному из клеток Меркеля, карциному почки или карциному эндометрия. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой MPDL3280A, а рак, который лечили, представляет собой рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого или мелкоклеточный рак легкого), уротелиальную карциному, гепатоцеллюлярную карциному или рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой MEDI4736, а рак, который лечили, представляет собой рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого или мелкоклеточный рак легкого) или уротелиальную карциному. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой MSB0010718C, а рак, который лечили, представляет собой уротелиальную карциному. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой MSB0010718C, а рак, который лечили, представляет собой меланому, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого), колоректальный рак, рак почки, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак желудка и рак молочной железы.

Преимущественно соединения по данному изобретению и ингибитор контрольной точки могут действовать синергически для лечения рака. Не желая быть связанными теорией, синергизм между соединениями по данному изобретению и ингибиторами контрольных точек можно отнести к повышению эффективности ингибиторов контрольных точек, связанному с ингибированием BRD9, индуцированным подавлением клеток Foxp3+ Treg.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения противораковая терапия представляет собой терапию адаптивного переноса Т-клеток (АСТ). В некоторых вариантах осуществления Т-клетка представляет собой активированную Т-клетку. Т-клетка может быть модифицирована для экспрессии химерного антигенного рецептора (CAR). CAR-модифицированные Т-клетки (CAR-T) можно получать любым способом, известным в данной области техники. Например, CAR-T-клетки можно создавать путем внесения подходящего экспрессионного вектора, кодирующего CAR, в Т-клетку. Перед размножением и генетической модификацией Т-клеток источник Т-клеток получают от субъекта. Т-клетки можно получать из ряда источников, включая мононуклеарные клетки периферической крови, костный мозг, ткань лимфатических узлов, пуповинную кровь, ткань вилочковой железы, ткань из места инфекции, асциты, плевральный выпот, ткань селезенки и опухоли. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения можно использовать любое количество линий Т-клеток, доступных в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления Т-клетка представляет собой аутологичную Т-клетку. Независимо от того, до или после генетической модификации Т-клеток для экспрессии желаемого белка (например, CAR), Т-клетки могут быть активированы и размножены, как правило, с использованием способов, как описано, например, в патентах США 6352694; 6534055; 6905680; 6692964; 5858358; 6887466; 6905681; 7144575; 7067318; 7172869; 7232566; 7175843; 5883223; 6905874; 6797514; 6867041; и публикации патентной заявки США № 20060121005.

В любой из комбинаций вариантов осуществления, описанных в данном документе, первый и второй терапевтические средства вводят одновременно или последовательно в любом порядке. Первое терапевтическое средство может быть введено незамедлительно за 1 ч, за 2 ч, за 3 ч, за 4 ч, за 5 ч, за 6 ч, за 7 ч, за 8 ч, за 9 ч, за 10 ч, за 11 ч, за 12 ч, за 13 ч, 14 ч, за 15 ч, за 16 ч, за 17 ч, за 18 ч, за 19 ч за 20 ч, за 21 ч, за 22 ч, за 23 ч, за 24 ч или за 1-7, 1-14, 1-21 или 1-30 дней до или после второго терапевтического средства.

Фармацевтические композиции

Описанные в данном документе фармацевтические композиции предпочтительно составляют фармацевтические композиции для введения людям в биологически совместимой форме, подходящей для введения *in vivo*.

Описанные в данном документе соединения могут применять в форме свободного основания, в

форме солей, сольватов и в качестве пролекарств. Все формы находятся в рамках описанных в данном документе методов. В соответствии со способами по данному изобретению описанные соединения или их соли, сольваты или пролекарства можно вводить пациенту в различных формах в зависимости от выбранного пути введения, как будет понятно специалистам в данной области. Описанные в данном документе соединения можно вводить, например, пероральным, парентеральным, трансбуккальным, сублингвальным, назальным, ректальным, пластырем, насосным, внутриопухолевым или трансдермальным введением, и фармацевтические композиции составлены соответственно. Парентеральное введение включает внутривенный, внутривнутрибрюшинный, подкожный, внутримышечный, трансэпителиальный, назальный, внутрилегочный, интратекальный, ректальный и местный способы введения. Парентеральное введение может осуществляться путем непрерывной инфузии в течение выбранного периода времени.

Соединение, описанное в данном документе, можно вводить перорально, например, с инертным разбавителем или с ассимилируемым съедобным носителем, или оно может быть заключено в желатиновые капсулы с твердой или мягкой оболочкой, или оно может быть спрессовано в таблетки, или оно может быть непосредственно включено в питание диеты. Для перорального терапевтического введения соединения, описанное в данном документе, может быть включено с эксципиентом и применяться в форме таблеток для приема внутрь, буккальных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов и капсул-имплантатов. Соединение, описанное в данном документе, также можно вводить парентерально. Растворы соединения, описанные в данном документе, могут быть приготовлены в воде, подходящей для смешивания с поверхностно-активным веществом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Также можно приготовить дисперсии в глицерине, жидких полиэтиленгликолях, ДМСО и их смесях со спиртом или без него, а также в маслах. В обычных условиях хранения и применения эти препараты могут содержать консервант для предупреждения роста микроорганизмов. Обычные процедуры и ингредиенты для выбора и приготовления подходящих составов описаны, например, в Remington Pharmaceutical Sciences (2012, 22-е изд.) и в Фармакопее Соединенных Штатов: Национальный формуляр (USP 41 NF36) опубликован в 2018 г. Фармацевтически приемлемые формы, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для лекарственных форм немедленного приема, стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть жидкой до такой степени, чтобы ее можно было легко ввести с помощью шприца. Композиции для назального введения могут быть легко составлены в виде аэрозолей, капель, гелей и порошков. Аэрозольные составы обычно включают раствор или тонкодисперсную суспензию активного вещества в физиологически приемлемом водном или неводном растворителе и обычно представлены в одно- или многодозовых количествах в стерильной форме в герметичном контейнере, который может принимать форму картриджа или быть повторно заполнен для применения с распылительным устройством. В качестве альтернативы герметичный контейнер может представлять собой единое дозирующее устройство, такое как назальный ингалятор для однократной дозы или дозатор для аэрозолей, снабженный дозирующим клапаном, который предназначен для утилизации после использования. Если лекарственная форма включает распылитель аэрозоля, она будет содержать пропеллент, которым может быть сжатый газ, такой как сжатый воздух, или органический пропеллент, такой как фторхлоруглеводород. Аэрозольные лекарственные формы также могут иметь форму помпы-распылителя. Композиции, подходящие для буккального или сублингвального введения, включают таблетки, пастилки и лепешки, в которых активный ингредиент составлен с носителем, таким как сахар, гуммиарабик, трагакант, желатин и глицерин. Композиции для ректального введения обычно имеют форму суппозитория, содержащих обычную основу для суппозитория, такую как масло какао. Соединение, описанное в данном документе, можно вводить внутриопухолево, например, в виде внутриопухолевой инъекции. Внутриопухолевая инъекция представляет собой инъекцию непосредственно в сосудистую сеть опухоли и специально предназначена для дискретных, твердых, доступных опухолей. Также может быть целесообразным местное, региональное или системное введение. С соединением, описанным в данном документе, можно преимущественно вступать в контакт, путем введения инъекции или нескольких инъекций в опухоль, например, с интервалом примерно в 1 см. В случае хирургического вмешательства настоящее изобретение можно использовать до операции, например, чтобы подвергнуть неоперабельную опухоль резекции. При необходимости также может применяться непрерывное введение, например, путем имплантации катетера в опухоль или в сосудистую сеть опухоли.

Соединения, описанные в данном документе, можно вводить животному, например человеку, отдельно или в сочетании с фармацевтически приемлемыми носителями, как указано в данном документе, пропорция которых определяется растворимостью и химической природой соединения, выбранным путем введения, и стандартной фармацевтической практикой.

Дозировки

Дозировка соединений, описанных в данном изобретении, и/или композиций, содержащих соединения, описанное в данном изобретении, может варьироваться в зависимости от многих факторов, таких как фармакодинамические свойства соединения; режим введения; возраст, состояние здоровья и вес реципиента; характер и степень симптомов; частота лечения и тип сопутствующего лечения, если таковое имеется; и скорость клиренса соединения у животного, подлежащего лечению. Специалист в данной об-

ласти техники может определить подходящую дозировку на основе вышеуказанных факторов. Соединения, описанные в данном изобретении, можно вводить первоначально в подходящей дозировке, которую можно регулировать по мере необходимости, в зависимости от клинического ответа. В общем, удовлетворительные результаты могут быть получены, когда соединения, описанные в данном изобретении, вводят человеку в суточной дозе, например, от 0,05 до 3000 мг (измеряется в виде твердой формы). Диапазоны доз включают, например, 10-1000 мг (например, 50-800 мг). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вводят 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 или 1000 мг данного соединения.

В качестве альтернативы количество дозировки можно рассчитать, используя вес тела пациента. Например, доза соединения или его фармацевтической композиции, вводимая пациенту, может находиться в диапазоне 0,1-100 мг/кг.

Наборы

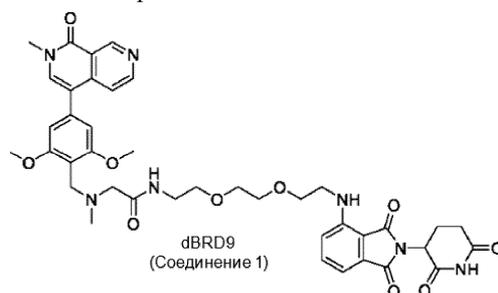
В изобретении также представлены наборы, включающие (а) фармацевтическую композицию, содержащую агент, снижающий уровень и/или активность BRD9 в клетке или субъекте, описанном в данном документе, и (b) вкладыш в упаковку с инструкциями по выполнению любого из описанных в данном документе способов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения набор включает: (а) фармацевтическую композицию, включающую агент, который снижает уровень и/или активность BRD9 в клетке или субъекте, описанном в данном документе, (b) дополнительный терапевтический агент (например, противораковый агент) и (с) листок-вкладыш с инструкциями по выполнению любого из описанных в данном документе способов.

Примеры

Пример 1. Деструктор BRD9 истощает белок BRD9

Следующий пример демонстрирует истощение белка BRD9 в клетках синовиальной саркомы, обработанных деструктором BRD9.

Процедура: Клетки обрабатывали ДМСО или деструктором BRD9, соединением 1 (также известным как dBRD9, см. Remillard et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 56(21):5738-5743 (2017); см. структуру соединения 1 ниже) для указанных доз и временных точек.



Экстракты целых клеток разделяли на фракции с помощью SDS-PAGE и переносили на мембрану из поливинилидендифторида с использованием устройства для переноса в соответствии с инструкциями производителя (Bio-Rad). После инкубации с 5% обезжиренным молоком в TBST (10 mM Трис, pH 8,0, 150 mM NaCl, 0,5% Твин 20) в течение 60 мин мембрану инкубировали с антителами против BRD9 (1:1000, Bethyl Laboratory A303-781A), GAPDH (1:5000, Cell Signaling Technology) и/или МБП (1:1000, BioRad) в течение ночи при 4°C. Мембраны промывали три раза по 10 мин и инкубировали с антимышными или антикроличьими антителами, конъюгированными либо с пероксидазой хрена (HRP, фиг. 2-3), либо с IRDye (фиг. 4, 1:20 000, LI-COR) в течение по меньшей мере 1 ч. Блоты трижды промывали TBST и проявляли с помощью любой системы ECL в соответствии с протоколами производителя (фиг. 2-3) или сканировали на системе визуализации Odyssey CLx (фиг. 4).

Результаты: Обработка клеток синовиальной саркомы SYO1 соединением 1, деструктурирующим BRD9, приводит к дозозависимому (фиг. 1) и зависящему от времени (фиг. 2) истощению BRD9 в клетках. Кроме того, как изображено фиг. 3, истощение BRD9 соединением 1 реплицируется в линии клеток несинавиальной саркомы (293T) и может продолжаться в течение не менее 5 дней.

Пример 2. Подавление роста синовиальных клеточных линий ингибиторами BRD9 и деструкторами BRD9.

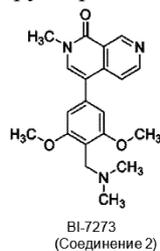
Следующий пример демонстрирует, что деструкторы и ингибиторы BRD9 избирательно подавляют рост клеток синовиальной саркомы.

Процедуры:

Клетки обрабатывали ДМСО или деструктором BRD9, соединением 1, в указанных концентрациях, и пролиферацию контролировали с 7 по 14 день путем измерения слияния во времени с использованием системы анализа живых клеток IncuCyte (фиг. 4). Питательную среду и соединения обновляли каждые 3-4 дня.

Клетки высевали в 12-луночные планшеты и обрабатывали ДМСО, 1 мкМ ингибитора BRD9, соединением 2 (также известного как BI-7273, см. Martin et al., *J Med Chem.* 59(10):4462-4475 (2016); см.

структуру соединения 2 ниже) или 1 мкМ деструктора BRD9, соединением 1.



Количество клеток было оптимизировано для каждой клеточной линии. Питательную среду и соединения обновляли каждые 3-5 дня. Клетки SYO1, Yamato, A549, 293T и HS-SY-II фиксировали и окрашивали на 11 день. Клетки ASKA фиксировали и окрашивали в сутки 23. Окрашивание проводили путем инкубации с раствором кристаллического фиолетового (0,5 г кристаллического фиолетового, 27 мл 37% формальдегида, 100 мл 10 × PBS, 10 мл метанола, 863 dH2O до 1 л) в течение 30 мин с последующими 3-кратными промывками водой и сушкой планшетов в течение минимум 24 ч при комнатной температуре. Планшеты последовательно сканировали на системе визуализации Odyssey CLx (фиг. 5).

Клетки высевали в 96-луночный планшет со сверхнизкими кластерами (Costar, #7007) в 200 мкл полной среды и обрабатывали на 2 день ДМСО, стауроспорином или деструктором BRD9, соединением 1 в указанных дозах (фиг. 2С). Среду и соединения меняли каждые 5 дней, а колонии клеток визуализировали на день 14.

Результаты: Как изображено на фиг. 4, 5 и 6, обработка клеточных линий синовиальной саркомы (SYO1, Yamato, HS-SY-II и ASKA) ингибитором BRD9, соединением 2 или деструктором BRD9, соединением 1, приводит к подавлению роста клеток, но не приводит к подавлению роста несинавиальных контрольных линий раковых клеток (293T, A549, G401).

Пример 3. Селективное подавление роста линий синовиальных клеток деструкторами BRD9 и связывающими агентами BRD9.

Следующий пример демонстрирует, что деструкторы и связывающие агенты BRD9 избирательно подавляют рост клеток синовиальной саркомы.

Процедура: Клетки высевали в 6-луночные или 12-луночные планшеты и ежедневно обрабатывали деструктором BRD9 (соединение 1), связывающим агентом BRD9 бромо-домена (соединение 2), связывающим лигазу E3 агентом (леналидомид), ДМСО или стауроспорином (положительный контроль для уничтожения клеток) в указанных концентрациях. Количество клеток было оптимизировано для каждой клеточной линии. Среду для выращивания обновляли каждые 5 дней. К 14 дню среду удаляли, клетки промывали PBS и окрашивали, используя 500 мкл 0,005% (мас./об.) раствора кристаллического фиолетового в 25% (об./об.) метаноле в течение не менее 1 ч при комнатной температуре. Впоследствии планшеты сканировали на системе Odyssey CLx Imaging.

Результаты: Как изображено на фиг. 7 и 8, обработка клеточных линий синовиальной саркомы (SYO1, HS-SY-II и ASKA) соединением 1 или соединением 2 приводила к подавлению роста клеток, но не приводила к подавлению роста несинавиальных контрольных линий раковых клеток (RD, HCT116 и Calu6). В целом соединение 1 показало наиболее значительное подавление роста во всех линиях синовиальных клеток.

Пример 4. Подавление роста клеток синовиальной саркомы

В следующем примере продемонстрировано, что деструкторы BRD9 ингибируют рост клеток и вызывают апоптоз в клетках синовиальной саркомы.

Процедура: Клетки SYO1 обрабатывали в течение 8 или 13 дней ДМСО, деструктором BRD9 (соединение 1) при 200 нМ или 1 мкМ или связывающим лигазу E3 агентом (леналидомид) при 200 нМ. Соединения обновляли каждые 5 дней. Анализ клеточного цикла выполняли с использованием проточного цитометрического анализа Click-iT™ Plus EdU (Invitrogen). Анализ апоптоза выполняли с использованием набора для обнаружения апоптоза Annexin V-FITC (Sigma A9210). Анализы выполняли в соответствии с протоколом производителя.

Результаты: Как изображено на фиг. 9-12, обработка соединением 1 в течение 8 или 13 дней приводила к уменьшению количества клеток в S-фазе клеточного цикла по сравнению с ДМСО и леналидомидом. Обработка соединением 1 в течение 8 дней также приводила к увеличению количества клеток с ранним и поздним апоптозом по сравнению с контролем ДМСО.

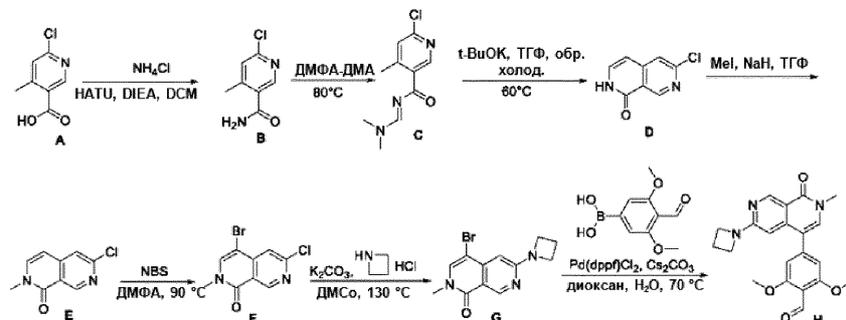
Пример 5. Композиция для SS18-SSX1-BAF

В следующем примере продемонстрирована идентификация BRD9 как компонента SS18-SSX, содержащего комплексы BAF.

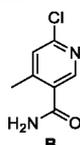
Процедура: Стабильная линия клеток 293T, экспрессирующая HA-SS18SSX1, была создана с использованием лентивирусной интеграции. Комплексы BAF, содержащие SS18-SSX1, подвергали аффинной очистке, и последующий масс-спектрометрический анализ выявил взаимодействующие белки SS18-SSX1.

Результаты: Как продемонстрировано на фиг. 13, комплексы BAF, включая слитый белок SS18-SSX, также включали BRD9. Было идентифицировано более 5 уникальных пептидов для ARID1A (95 пептидов), ARID1B (77 пептидов), SMARCC1 (69 пептидов), SMARCD1 (41 пептид), SMARCD2 (37 пептидов), DPF2 (32 пептида), SMARCD3 (26 пептидов), ACTL6A (25 пептидов), BRD9 (22 пептида), изоформа 2 DPF1 (18 пептидов), DPF3 (13 пептидов) и ACTL6B (6 пептидов).

Пример 6. Получение 4-[6-(азетидин-1-ил)-2-метил-1-оксо-2,7-нафтиридин-4-ил]-2,6-диметоксибенzalдегида (промежуточное соединение H)

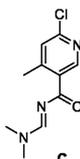


Стадия 1. Получение 6-хлор-4-метилпиридин-3-карбоксамида (промежуточное соединение B)



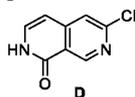
К перемешиваемой смеси 6-хлор-4-метилпиридин-3-карбоновой кислоты (20,00 г, 116,564 ммоль, 1,00 экв.) и NH_4Cl (62,35 г, 1,17 моль, 10,00 экв.) в дихлорметане (ДХМ; 400 мл) добавляли DIEA (22,60 г, 174,846 ммоль, 3,00 экв.). После перемешивания в течение 5 мин порциями добавляли HATU (66,48 г, 174,846 ммоль, 1,50 экв.). Полученную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении, а остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле, элюируя петролейным эфиром/этилацетатом (PE/EtOAc) от 1/1 до 3/2 с получением 6-хлор-4-метилпиридин-3-карбоксамида (18,30 г, 61,3%) в виде желтого твердого вещества. LCMS (ESI) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+=171$.

Стадия 2. Получение 6-хлор-N-[(1E)-(диметиламино)метилен]-4-метилпиридин-3-карбоксамида (промежуточное соединение C)



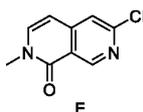
К перемешиваемой смеси 6-хлор-4-метилпиридин-3-карбоксамида (18,30 г, 107,268 ммоль, 1,00 экв.) и в 2-метилтетрагидрофуране (100 мл) добавляли ДМФА-ДМА (19,17 г, 160,903 ммоль, 1,50 экв.) при 80°C в атмосфере азота, и перемешивали в течение дополнительного 1 ч. Затем смесь охлаждали и концентрировали с получением 6-хлор-N-[(1E)-(диметиламино)метилен]-4-метилпиридин-3-карбоксамида (26,3 г, 91,3%) в виде неочищенного желтого твердого вещества, которое использовали непосредственно без дополнительной очистки. LCMS (ESI) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+=226$.

Стадия 3. Получение 6-хлор-2H-2,7-нафтиридин-1-она (промежуточное соединение D)



К перемешиваемой смеси 6-хлор-N-[(1E)-(диметиламино)метилен]-4-метилпиридин-3-карбоксамида (26,30 г) в ТГФ (170,00 мл) добавляли t-BuOK (174,00 мл, 1 моль/л в ТГФ). Полученный раствор перемешивали при 60°C в атмосфере азота в течение 30 мин. Затем смесь охлаждали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенное твердое вещество промывали насыщенным раствором NaHCO_3 (100 мл) и собирали с получением 6-хлор-2H-2,7-нафтиридин-1-она (14,1 г, 67,0%) в виде твердого вещества розового цвета, которое использовали непосредственно без дополнительной очистки. LCMS (ESI) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+=181$.

Стадия 4. Получение 6-хлор-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (промежуточное соединение E)



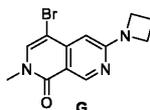
К перемешиваемой смеси 6-хлор-2Н-2,7-нафтиридин-1-она (14,10 г, 78,077 ммоль, 1,00 экв.) в безводном ТГФ (280,00 мл) порциями добавляли NaH (9,37 г, 234,232 ммоль, 3,00 экв., 60%) при 0°C. Через 10 мин добавляли MeI (33,25 г, 234,232 ммоль, 3,00 экв.) при 0°C, и смеси давали перемешиваться в течение 10 мин при 0°C, а затем смеси давали перемешиваться в течение 12 ч при комнатной температуре. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении. Неочищенное твердое вещество суспендировали с водой (100 мл), и твердое вещество фильтровали и собирали с получением 6-хлор-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (14,6 г, 94,1%) в виде желтого твердого вещества, которое использовали непосредственно без дополнительной очистки. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=195.

Стадия 5. Получение 4-бром-6-хлор-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (промежуточное соединение F)



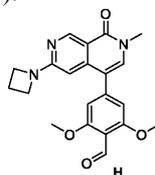
К перемешиваемой смеси 6-хлор-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (8,00 г, 41,106 ммоль, 1,00 экв.) в ДМФА (160,00 мл) добавляли NBS (8,78 г, 49,327 ммоль, 1,20 экв.), и полученную смесь перемешивали в течение 2 ч при 90°C. Реакционную смесь охлаждали, разбавляли ДХМ (150 мл) и промывали водой (3×100 мл). Органические слои сушили и концентрировали. Затем остаток суспендировали с EtOAc (20 мл) и взвесь фильтровали. Фильтр-прессную лепешку промывали EtOAc (20 мл) с получением 4-бром-6-хлор-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (6,32 г, 55,7%) в виде белого твердого вещества, которое использовали непосредственно без дополнительной очистки. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=273.

Стадия 6. Получение 6-(азетидин-1-ил)-4-бром-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (промежуточное соединение G)



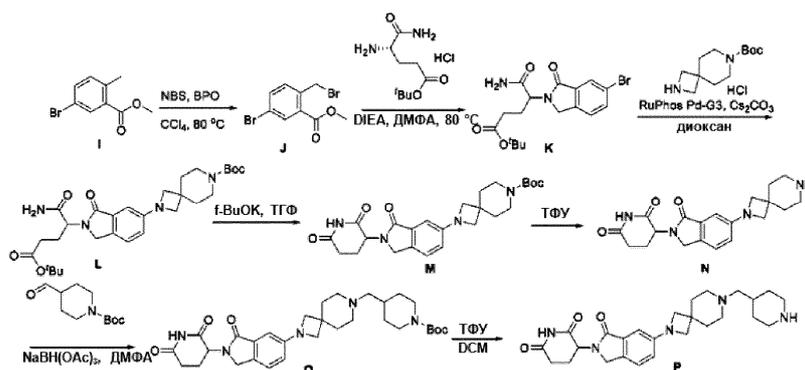
К раствору 4-бром-6-хлор-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (5,00 г, 18,281 ммоль, 1,00 экв.) и азетидина гидрохлорида (3,2 г, 54,843 ммоль, 3 экв.) в ДМСО (50,00 мл) добавляли K₂CO₃ (12,6 г, 91,404 ммоль, 5 экв.). Полученный раствор перемешивали при 130°C в течение 2 ч. Полученную смесь охлаждали и разбавляли водой (100 мл), а затем экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором NaCl (3×50 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, и концентрировали при пониженном давлении с получением 6-(азетидин-1-ил)-4-бром-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (3,7 г, 68,8%) в виде серого твердого вещества, которое использовали непосредственно без дополнительной очистки. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=294.

Стадия 7. Получение 4-[6-(азетидин-1-ил)-2-метил-1-оксо-2,7-нафтиридин-4-ил]-2,6-диметоксибенальдегида (промежуточное соединение H)

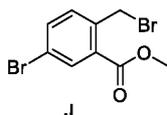


К раствору 6-(азетидин-1-ил)-4-бром-2-метил-2,7-нафтиридин-1-она (1,42 г, 4,827 ммоль, 1,00 экв.) и 4-формил-3,5-диметоксифенилбороновой кислоты (1,52 г, 7,241 ммоль, 1,5 экв.) в диоксане (16,00 мл) и H₂O (4,00 мл) добавляли Pd(dppf)Cl₂ (353,2 мг, 0,483 ммоль, 0,1 экв.) и Cs₂CO₃ (3,15 г, 9,655 ммоль, 2 экв.) и полученный раствор перемешивали при 70°C в течение 2 ч. Полученную смесь охлаждали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток суспендировали в воде (30 мл), фильтровали и собирали фильтр-прессную лепешку на фильтре. Данное твердое вещество дополнительно суспендировали в MeOH (30 мл) и фильтровали. Твердое вещество собирали с получением 4-[6-(азетидин-1-ил)-2-метил-1-оксо-2,7-нафтиридин-4-ил]-2,6-диметоксибенальдегида (1,42 г, 77,5%) в виде серого твердого вещества. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=380.

Пример 7. Получение 3-[1-оксо-6-[7-(пиперидин-4-илметил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил]-3Н-изоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона (промежуточное соединение P)

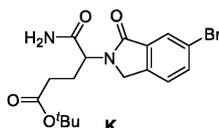


Стадия 1. Получение метил-5-бром-2-(бромметил)бензоата (промежуточное соединение J)



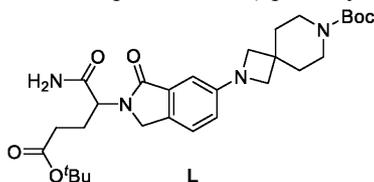
К перемешиваемой смеси метил-5-бром-2-метилбензоата (50,00 г, 218,271 ммоль, 1,00 экв.) в CCl₄ (500,00 мл) добавляли NBS (38,85 г, 218,271 ммоль, 1,00 экв.) и ВРО (5,59 г, 21,827 ммоль, 0,10 экв.). После перемешивания в течение в течение ночи при 80 °С смесь очищали колоночной хроматографией на силикагеле, элюируя PE/EtOAc (50:1) с получением метил-5-бром-2-(бромметил)бензоата (67 г, 74,75%) в виде желтого масла. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=307.

Стадия 2. Получение трет-бутил-4-(6-бром-1-оксо-3Н-изоиндол-2-ил)-4-карбамоилбутаноата (промежуточное соединение К)



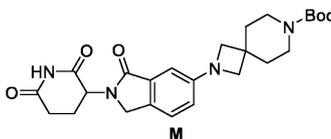
К перемешиваемой смеси метил-5-бром-2-(бромметил)бензоата (67,00 г, 217,554 ммоль, 1,00 экв.) и трет-бутил-(4S)-4-амино-4-карбамоилбутаноата гидрохлорида (62,32 г, 261,070 ммоль, 1,20 экв.) в ДМФА (100,00 мл) добавляли DIEA (112,47 г, 870,217 ммоль, 4 экв.). После перемешивания в течение ночи при 80 °С смесь концентрировали при пониженном давлении. К остатку добавляли воду (200 мл) и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Полученную смесь фильтровали, к осадку на фильтре добавляли воду (100 мл) и перемешивали. Осажденные твердые вещества собирали фильтрованием и промывали водой (3×30 мл). Это приводило к образованию трет-бутил-4-(6-бром-1-оксо-3Н-изоиндол-2-ил)-4-карбамоилбутаноата (55 г, 60,46%) в виде белого твердого вещества с металлическим оттенком. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=397.

Стадия 3. Получение трет-бутил-2-[2-[4-(трет-бутокси)-1-карбамоил-4-оксобутил]-3-оксо-1Н-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (промежуточное соединение L)



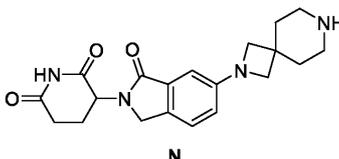
К перемешиваемому раствору трет-бутил-4-(6-бром-1-оксо-3Н-изоиндол-2-ил)-4-карбамоилбутаноата (10,00 г, 25,172 ммоль, 1,00 экв.) и трет-бутил-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата гидрохлорид (8,60 г, 32,723 ммоль, 1,30 экв.) в диоксане (200,00 мл) добавляли Cs₂CO₃ (24,60 г, 75,516 ммоль, 3,00 экв.) и палладацикл RuPhos 3-го поколения (2,11 г, 2,517 ммоль, 0,10 экв.). После перемешивания в течение в течение ночи при 100 °С в атмосфере азота, полученную смесь фильтровали в горячем виде, и фильтр-прессную лепешку промывали 1,4-диоксаном (3×50 мл). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением трет-бутил-2-[2-[4-(трет-бутокси)-1-карбамоил-4-оксобутил]-3-оксо-1Н-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (21 г, неочищенный) в виде твердого вещества черного цвета. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=543.

Стадия 4. Получение трет-бутил-2-[2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-оксо-1Н-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (промежуточное соединение М)



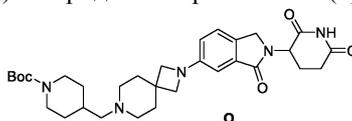
К перемешиваемой смеси трет-бутил-2-[2-[(1S)-4-(трет-бутокси)-1-карбамоил-4-оксобутил]-3-оксо-1H-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (13,68 г, 25,208 ммоль, 1,00 экв.) в ТГФ (100,00 мл) добавляли t-BuOK в ТГФ (25,00 мл, 25,000 ммоль, 0,99 экв.). Полученную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Смесь подкисляли до pH 6 с помощью 1 М HCl (водн.), а затем смесь нейтрализовывали до pH 7 с помощью насыщенного раствора NaHCO₃ (водн.). Полученную смесь экстрагировали EtOAc (3×200 мл). Объединенные органические слои концентрировали при пониженном давлении. Это приводило к образованию трет-бутил-2-[2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-оксо-1H-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (7,8 г, 59,43%) в виде твердого вещества желтого цвета. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=469.

Стадия 5. Получение 3-(6-[2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил]-1-оксо-3H-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-диона (промежуточное соединение N).



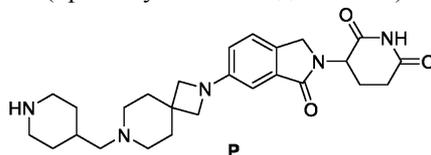
К перемешиваемой смеси трет-бутил-2-[2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-оксо-1H-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-карбоксилата (7,80 г, 16,647 ммоль, 1,00 экв.) в ДХМ (10,00 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (ТФУ; 5,00 мл). После перемешивания в течение 2 ч при комнатной температуре полученную смесь концентрировали под вакуумом. Это приводило к образованию 3-(6-[2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил]-1-оксо-3H-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-диона (6 г, 92,93%) в виде светлого желтого твердого вещества. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=369.

Стадия 6. Получение трет-бутил-4-([2-[2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-оксо-1H-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил]метил)пиперидин-1-карбоксилата (промежуточное соединение O)



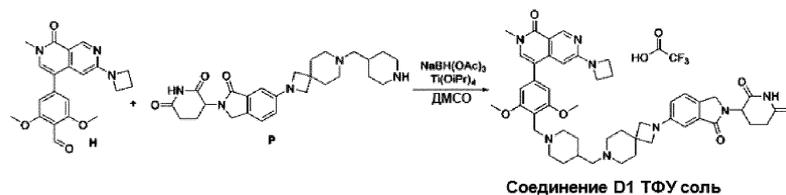
К перемешиваемому раствору 3-(6-[2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил]-1-оксо-3H-изоиндол-2-ил) пиперидин-2,6-диона (4,00 г, 8,685 ммоль, 1,00 экв., 80%) и трет-бутил-4-формилпиперидин-1-карбоксилата (1,48 г, 6,939 ммоль, 0,80 экв.) в ДМФА (20,00 мл) добавляли NaBH(OAc)₃ (3,68 г, 17,363 ммоль, 2,00 экв.) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Реакцию гасили водой при комнатной температуре. Полученную смесь очищали с помощью обращенно-фазной флэш-хроматографии в следующих условиях (колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH₃CN в воде (0,1% FA), градиент от 0 до 100% за 40 мин; детектор, УФ 254 нм). Это приводило к образованию трет-бутил-4-([2-[2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-оксо-1H-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил]метил)пиперидин-1-карбоксилата (2,8 г, 51,29%) в виде темно-желтого твердого вещества. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=566.

Стадия 7. Получение 3-[1-оксо-6-[7-(пиперидин-4-илметил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил]-3H-изоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона (промежуточное соединение P)



К перемешиваемой смеси трет-бутил-4-([2-[2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-3-оксо-1H-изоиндол-5-ил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-7-ил]метил)пиперидин-1-карбоксилата (2,80 г, 4,949 ммоль, 1,00 экв.) в ДХМ (5,00 мл) добавляли ТФУ (2,00 мл). Смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением 3-[1-оксо-6-[7-(пиперидин-4-илметил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил]-3H-изоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона (3,9 г, неочищенный) в виде твердого вещества желтого цвета. LCMS (ESI) m/z: [M+H]⁺=466.

Пример 8. Получение ТФУ соли 3-[6-(7-[[1-([4-[6-(азетидин-1-ил)-2-метил-1-оксо-2,7-нафтиридин-4-ил]-2,6-диметоксифенил]метил)пиперидин-4-ил]метил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-1-оксо-3Н-изоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона (ТФУ соль соединения D1)



Раствор 3-[1-оксо-6-[7-(пиперидин-4-илметил)-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил]-3Н-изоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона (4,5 г, 10,52 ммоль, 1,00 экв.) и 4-[6-(азетидин-1-ил)-2-метил-1-оксо-2,7-нафтиридин-4-ил]-2,6-диметоксифенилальдегида (4,0 г, 10,52 ммоль, 1,00 экв.) и изопропоксида титана(IV) (3,0 г, 10,52 ммоль, 1,00 экв.) в ДМСО (100 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Затем порциями добавляли $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (8,92 г, 42,08 ммоль, 4,00 экв.) к полученному выше раствору и полученную смесь перемешивали при температуре в течение ночи. Реакционный раствор гасили добавлением воды (30 мл), затем раствор фильтровали. Фильтр-прессную лепешку промывали водой и ацетонитрилом. Затем фильтрат концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией с обращенной фазой в следующих условиях (колонка: Колонка AQ C18, 50×250 мм 10 мкм; подвижная фаза А: вода (ТФУ 0,1%), подвижная фаза В: АСN; скорость потока: 100 мл/мин; градиент: от 5 В до 25 В за 35 мин; 254/220 нм). Чистые фракции упаривали досуха с получением соль ТФУ 3-[6-(7-[[1-([4-[6-(азетидин-1-ил)-2-метил-1-оксо-2,7-нафтиридин-4-ил]-2,6-диметоксифенил]метил)пиперидин-4-ил]метил]-2,7-дiazаспиро[3.5]нонан-2-ил)-1-оксо-3Н-изоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона (3,2 г, 32,3%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 10,96 (с, 1H), 9,01 (с, 1H), 7,59 (с, 1H), 7,36 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,72 (с, 2H), 6,68 (д, $J=8,1$ Гц, 2H), 6,20 (с, 1H), 5,07 (дд, $J=13,3, 5,1$ Гц, 1H), 4,35-4,13 (м, 2H), 4,06-3,95 (м, 4H), 3,80 (с, 6H), 3,57 (с, 4H), 3,47 (с, 5H), 2,97-2,75 (м, 3H), 2,70-2,55 (м, 1H), 2,44-2,16 (м, 7H), 2,13-1,88 (м, 5H), 1,80-1,67 (м, 4H), 1,61 (д, $J=12,4$ Гц, 2H), 1,53-1,33 (м, 1H), 1,13-0,94 (м, 2H). LCMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+=829,55$.

Энантиомеры соединения D1 разделяли с помощью сверхкритической флюидной хроматографии на хиральном носителе с получением соединения S-D1 и соединения R-D1.

Пример 9. Получение соединения D2

По аналогии с процедурами, описанными в примерах выше, соединение D2 получали с использованием соответствующих исходных материалов.

Соединение D2: ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 10,98 (с, 1H), 9,02 (д, $J=0,7$ Гц, 1H), 7,63 (д, $J=2,3$ Гц, 1H), 7,41 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 6,88 (с, 2H), 6,70 (г, $J=2,4$ Гц, 2H), 6,24 (д, $J=6,0$ Гц, 1H), 5,08 (дд, $J=13,2, 5,1$ Гц, 1H), 4,41-4,14 (м, 4H), 4,04 (т, $J=7,4$ Гц, 4H), 3,91 (с, 1H), 3,70 (д, $J=22,5$ Гц, 4H), 3,50 (с, 3H), 3,45 (с, 1H), 3,22 (с, 1H), 3,14-2,82 (м, 6H), 2,60 (д, $J=16,2$ Гц, 1H), 2,55 (с, 2H), 2,44-2,28 (м, 3H), 2,18-2,05 (м, 3H), 1,97 (т, $J=13,9$ Гц, 5H), 1,51 (к, $J=12,2, 11,1$ Гц, 2H). LCMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+=835,45$.

Пример 10. Анализ деструкции SYO1 BRD9 NanoLuc

Данный пример демонстрирует способность соединений по данному описанию для деструкции слитого белка нанолуцифераза-BRD9 в анализе клеточной деструкции.

Процедура: Была создана стабильная клеточная линия SYO-1, экспрессирующая 3×FLAG-NLuc-BRD9. В день 0 клетки высевали в 30 мкл среды в каждую лунку 384-луночного планшета для культивирования клеток. Плотность посева составляла 8000 клеток/лунку. В день 1 клетки обрабатывали 30 нл ДМСО или 30 нл 3-кратно серийно разведенных ДМСО соединений (10 точек в дубликатах с 1 мкМ в качестве конечной максимальной дозы). Затем планшеты инкубировали в течение 6 ч в стандартном инкубаторе для культур тканей и уравнивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Активность нанолуциферазы измеряли, добавляя 15 мкл свежеприготовленного реагента для анализа люциферазы Nano-Glo (Promega N1130), встряхивая планшеты в течение 10 мин и считывая биолуминесценцию с помощью считывающего устройства EnVision.

Результаты: % Ингибирования рассчитывали по следующей формуле:

$$\% \text{ Ингибирования} = 100 \times (\text{Lum}_{\text{HC}} - \text{Lum}_{\text{образец}}) / (\text{Lum}_{\text{HC}} - \text{Lum}_{\text{LC}})$$

Клетки, обработанные ДМСО, использовали в качестве высокого контроля (HC) и 1 мкМ клеток, обработанных стандартным известным деструктором BRD9, использовали в качестве низкого контроля (LC). Данные подгоняли под четырехпараметрическую нелинейную кривую для расчета значений IC_{50} (мкМ) как изображено в табл. 2. Как продемонстрировано результатами в табл. 2, ряд соединений по настоящему описанию демонстрирует значение $\text{IC}_{50} < 1$ мкМ для деструкции BRD9, что указывает на их использование в качестве соединений для снижения уровней и/или активность BRD9 и их потенциал для лечения заболеваний, связанных с BRD9.

Таблица 2. Деструкция SYO1 BRD9-NanoLuc

Соединение №	IC ₅₀ (нМ) деструкции SYO1 BRD9-NanoLuc
D1	0,13
D2	0,18

Пример 11. Деструкция BRD9 подавляет рост опухоли синовиальной саркомы *in vivo*

Метод: Мышам NOD SCID (Beijing Anikeeper Biotech, Пекин) инокулировали подкожно в правый бок одноклеточную суспензию клеток двухфазной синовиальной саркомы человека SYO-1 (5×10⁶) в 100 мкл модифицированной Дульбекко среды Игла (DMEM) с 10% фетальной бычьей сывороткой (FBS). Мышей рандомизировали либо в контрольную группу [10% диметилсульфоксида (ДМСО), 40 % полиэтиленгликоля (ПЭГ400) и 50% воды], либо в экспериментальную группу D1, когда средний размер опухоли достигал около 117 мм³. Мышам ежедневно вводили дозу внутривнутрибрюшинно (i.p.) в течение 3 недель. Все объемы доз корректировали по массе тела в мг/кг.

Результаты: Как продемонстрировано на фиг. 14, обработка соединением D1 в дозе 1 мг/кг приводила к ингибированию роста опухоли. Все виды обработок хорошо переносились на основании наблюдаемого % изменения веса тела.

Пример 12. Соединение D1 вызывает деструкцию BRD9 в опухоли синовиальной саркомы *in vivo*

Метод: Мышам вводили D1, 1 мг/кг, внутривнутрибрюшинно в течение 4 недель. Затем мышам подвергали эвтаназию, а опухоли собирали через 8, 72 и 168 ч после введения последней дозы. Опухоли лизировали с помощью 1× буфера для лизиса RIPA (Boston BioProducts, BP-115D) с ингибитором белка протеазы и фосфатазы (Roche Applied Science № по каталогу 04906837001 и 05892791001). Равные количества лизата (30 мкг) загружали в 4-12% белковые гели Bis-Tris Midi в буфере 1× MOPS; образцы работали при 120 В в течение 120 мин. Белок переносили на мембрану с помощью TransBlot при 250 мА в течение 150 мин, а затем мембраны блокировали блокирующим буфером Odyssey в течение 1 ч при комнатной температуре. Мембраны гибридизовали в течение ночи в холодной комнате с первичными антителами. Изображения, полученные с использованием системы визуализации Li-COR (Li-COR Biotechnology, Линкольн, Небраска).

В табл. 3 представлена информация об антителах для обнаружения.

Таблица 3

Антитело	Поставщик	№ по каталогу	Вид	Разведение
BRD9	Bethyl, (Монтгомери, Техас)	A303-781A	Кролик	1:1000
GAPDH	CST, (Дэнверс, Массачусетс)	97166	Мышь	1:2000

Результаты: Как продемонстрировано на фиг. 15, обработка соединением D1 в дозе 1 мг/кг приводила к полной деструкции мишени BRD9 в течение 168 ч после введения дозы.

Пример 13. Влияние соединений S-D1 и R-D1 на клетки синовиальной саркомы

Метод. Клетки синовиальной саркомы высевали в 6-луночный планшет по 500-100 тыс. клеток/луночку и на следующий день обрабатывали серийными концентрациями разрушителя BRD9 (максимальная концентрация 10 нМ, разведение 1:3) в течение двух временных точек при 37°C. Затем клетки собирали, промывали холодным PBS и замораживали в виде пеллет клеток при -80°C. Лизаты готовили путем ресуспендирования размороженных гранул в 1× RIPA буфере для лизиса и экстракции (Thermo Fisher, № по каталогу 89900) с 1× коктейлем ингибиторов протеазы и фосфатазы Halt™, не содержащим ЭДТА (Thermo Fisher, № по каталогу 78441) и разведением 1:1000 Pierce™ универсальной нуклеазы для лизиса клеток 25ku (Thermo Fisher, № по каталогу 88700). Лизаты инкубировали на льду в течение 10 мин, а затем центрифугировали при 4°C на максимальной скорости (15000 об./мин) в течение 10 мин. Затем образцы анализировали на общий белок с использованием количественного определения белка BCA и разбавляли до 1 мкг/мкл лизисным буфером и 1× буфером для образцов NuPAGE™ LDS буфером для образцов (4×) (Thermo Fisher, № по каталогу NP0007) и 1× DTT из 30× запаса (Cell Signaling Technologies, № по каталогу 14265S). Образцы с 20-25 мкг общего белка загружали в 4-12% Bis-Tris Mini-Gel с 1× буфером MES Running и запускали при 150 В в течение 45 мин. Гели переносили с помощью системы переноса Trans-Blot® Turbo™ (полусухая) при 25 В в течение 10 мин (настройка с высокой молекулярной массой) на нитроцеллюлозные блоты. Блоты блокировали в 5% молоке в TBST в течение 1 ч и исследовали с помощью антитела BRD9 (Bethyl Labs, № по каталогу A303-781A, 1:750 для SYO1, и Cell Signaling Technologies, № по каталогу 71232S для ASKA) и антитела к бета-актину (Технологии сотовой сигнализации, № по каталогу 3700, 1:2000) в течение ночи при 4°C. На следующий день блоты промывали в TBST 3× и зондировали вторичными IRDye® 680LT антимишными антителами козы IgG 1:5000 (LiCOR, № по каталогу 926-68021) и вторичными IRDye® 800CW антимишными антителами козы IgG 1:10000 (LiCOR, № по каталогу 926-32210) в LiCOR Odyssey® блокирующем буфере (TBS) в течение 1 ч при комнатной температуре. Блоты промывали в TBST 3× и сканировали при длине волны 700 нМ и 800

нМ с использованием системы визуализации LiCOR Odyssey® CLx. Сигнал вестерн-блоттинга количественно определяли с использованием той же программы анализа, включенной в тот же аппарат. Сигнал BRD9 количественно определяли путем нормализации по сигналу бета-актина и все образцы нормализовали по ДМСО, установленному за 100% сигнала.

Для оценки взаимопревращения между энантиомером 1 и энантиомером 2 в клеточной среде проводили следующий тест. Энантиомер 1 и энантиомер 2 (40 мкМ каждый в ДМСО) добавляли в клеточную среду (DMEM+Glutamax+10% FBS) в конечной концентрации 0,2 мкМ и инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в двух повторностях. В назначенный момент времени отбирали аликвоту (50 мкл) и обрабатывали путем добавления 150 мкл ацетонитрила, содержащего 0,1% муравьиной кислоты, и внутреннего стандарта для анализа ЖХ/МС-МС. Площади пиков как энантиомера 1, так и энантиомера 2 определяли для каждого образца с использованием специфического хирального аналитического метода. Результаты представлены в табл. 5 ниже:

Полученные результаты

Для оценки активности двух энантиомеров в отношении деструкции BRD9 проводили обработку деструктором и последующие эксперименты по вестерн-блоттингу с использованием двух клеточных линий синовиальной саркомы (SYO-1 и ASKA). Значительно более мощную активность деструкции BRD9 наблюдали с энантиомером 2 с подобранным значением DC₅₀ 0,092 нМ по сравнению с 2,8 нМ для энантиомера 1 в SYO-1 при времени обработки 1 ч (фиг. 16, 17 и 18 и табл. 4). Еще более резкое различие в клетках ASKA очевидно при DC₅₀ 0,34 нМ для энантиомера 2 через 30 мин, но не наблюдается заметной активности для энантиомера от 1 до 10 мкМ в тот же момент времени (фиг. 20, 21 и 22 и табл. 4). Разница уменьшается около в 32 раза через 2 ч в ASKA, с подобранным значением DC₅₀ 0,38 нМ и 0,012 нМ для энантиомера 1 и энантиомера 2 соответственно (табл. 4). Разница далее сокращается до ок. 3 раз по 6 ч в SYO1. Энантиомер 2 работает немного лучше, чем его исходное рацемическое соединение D1, в деструкции BRD9, но в целом сравним в тех же условиях исследования (фиг. 16 и 17). Активность деструкции BRD9 становится очень похожей для всех трех соединений через 24 ч (фиг. 19). В совокупности энантиомер 2 гораздо более эффективен в деструкции эндогенного белка BRD9 в двух клеточных линиях синовиальной саркомы на ранней стадии, тогда как энантиомер 1 в значительной степени неактивен или имеет значительно сниженную способность к деструкции. Однако разница в эффективности со временем уменьшается и в основном исчезает к 24 ч.

Таблица 4

Клеточная линия	Подогнанная DC ₅₀ (нМ)	Энантиомер 1	Энантиомер 2
ASKA	0,5 ч.	>10	0,34
SYO-1	1 ч.	2,8	0,092
ASKA	2 ч	0,38	0,012
SYO-1	6 ч.	0,066	0,023

Сообщается об эпимеризации хирального центра в талидомиде или других препаратах IMiD и их производных. Кислый водород в хиральном центре можно нейтрализовать в условиях физиологического или нейтрального pH. Чтобы исследовать хиральную стабильность в условиях клеточного анализа для этих деструкторов, мы провели исследование динамики энантиомера 1 и энантиомера 2 в среде клеточной культуры при 37°C. Энантиомер 2 не обнаруживали в образцах энантиомера 1 во время 0 или 0,5 ч. Но существенное количество энантиомера 2 обнаруживали в более поздние моменты времени, составляя 12 и 30% от общего количества через 2 и 6 ч соответственно (табл. 5). Точно так же энантиомер 2 с течением времени превращается в энантиомер 1, и его эффективная концентрация снижается до 63% через 6 ч (табл. 5). Эти данные указывают на то, что скорость эпимеризации относительно высока в условиях клеточного анализа, и предполагают, что зависящая от времени активность деструкции BRD9 для энантиомера 1, вероятно, связана с преобразованием энантиомера 2. В целом эти данные указывают на то, что энантиомер 2 является активным энантиомером в деструкции BRD9 в клетках.

Таблица 5

Время (ч)	Дозировка энантиомера 1		Дозировка энантиомера 2	
	Среднее отношение площади пика энантиомера 2 к соотношению площади пика энантиомера 1	% энантиомера 2	Среднее отношение площади пика энантиомера 1 к соотношению площади пика энантиомера 2	% энантиомера 2
0	0,0	0,0	0,01	99
0,5	0,0	0,0	0,06	95
2	0,13	12	0,22	82
6	0,43	30	0,60	63

Пример 14. Влияние соединений S-D1 и R-D1 на клетки синовиальной саркомы

Метод.

Опухолевые клетки SYO-1 поддерживали *in vitro* в виде прикрепленных клеток в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки при 37°C в атмосфере с 5% CO₂ в воздухе. Клетки, растущие в фазе экспоненциального роста, собирали и считали для инокуляции опухоли. Бестимусным мышам BALB/c (Shanghai Lingchang biological science) вводили подкожно в правый бок (5×10⁶) в 0,1 мл фосфатно-солевого буфера (PBS). Лечение (описанное в таблице ниже) начинали на 19-й день после прививки опухоли, когда средний размер опухоли достиг 499 мм³.

Информация о лечении:

Антигело	Количество мышей
Контроль носителя, сульфобутиловый эфир β-циклодекстрина (SBECD), разовая доза, 10 мкл/г	3
Рацемический D1, 0,5 мг/кг внутривенно, разовая доза, 10 мкл/г (20% SBECD)	12
Энантиомер 1, 0,25 мг/кг внутривенно, разовая доза, 10 мкл/г (20% SBECD)	18
Энантиомер 2, 0,25 мг/кг внутривенно, разовая доза, 10 мкл/г (20% SBECD)	18
Энантиомер 2, 1 мг/кг внутривенно, разовая доза, 10 мкл/г (20% SBECD)	18

Мышам вводили рацемическое D1, 1 мг/кг, внутрибрюшинно в течение 4 недель мышей подвергали эвтаназии, а опухоли собирали через 1, 4, 8, 24, 48 и 72 ч после последней дозы. Опухоли лизировали с помощью 1× буфера для лизиса RIPA (Boston BioProducts, BP-115D) с ингибитором белка протеазы и фосфатазы (Roche Applied Science № по каталогу 04906837001 и 05892791001). Равное количество лизата (30 мкг) загружали в 4-12% белковые гели Bis-Tris Midi в буфере 1× MOPS; образцы работали при 120 В в течение 120 мин. Белки переносили на мембрану (NC) с помощью TransBlot при 250 мА в течение 150 мин, затем мембраны блокировали блокирующим буфером Odyssey в течение 1 ч при комнатной температуре. Мембраны гибридизовали в течение ночи в холодной комнате с первичными антителами. Изображения, полученные с использованием системы визуализации Li-COR (Li-COR Biotechnology, Линкольн, Небраска).

Информация об обнаружении антител:

Антигело	Поставщик	№ по каталогу	Вид	Разведение
BRD9	Bethyl, (Монтгомери, Техас)	A303-781A	Кролик	1:1000
GAPDH	CST, (Дэнверс, Массачусетс)	97166	Мышь	1:2000

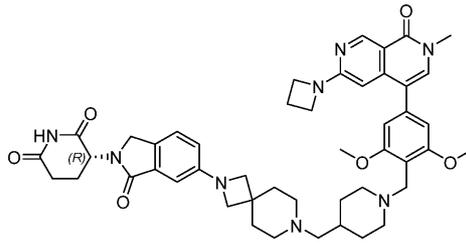
Полученные результаты. Фармакодинамическую активность энантиомера 1, энантиомера 2 и рацемического соединения D1 оценивали на модели ксенотрансплантата SYO-1. Энантиомер 2 продемонстрировал значительную активность, которую оценивали по уровню белка BRD9 с использованием вестерн-блоттинга фиг. 23. Энантиомер 2 разрушал BRD9 до 72 ч после однократной дозы. Энантиомер 1 был неактивен и не разрушал белок BRD9. Эти результаты свидетельствуют о том, что энантиомер 2 эквивалентен рацемическому соединению D1. Другие варианты осуществления.

Все публикации, патенты и заявки на патенты, упомянутые в данном описании, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент были специально и индивидуально указаны как включенные посредством ссылки в полном объеме. В тех случаях, когда в документе, включенном в настоящий документ посредством ссылки, термин в настоящей заявке определяется по-другому, приведенное в данном документе определение должно служить определением для термина.

Хотя изобретение было описано в связи с его конкретными вариантами осуществления, следует понимать, что данное изобретение допускает дальнейшие модификации, и это приложение предназначено для охвата любых вариаций, использования или адаптации изобретения, следуя, в целом, принципам изобретения и включая такие отклонения от настоящего раскрытия, которые входят в известную или обычную практику в области техники, к которой относится изобретение, и могут быть применены к существенным признакам, изложенным в настоящем документе выше, и следует в объеме формулы изобретения.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения указаны в формуле изобретения.

6. Фармацевтическая композиция по п.4, при этом фармацевтическая композиция содержит соединение, имеющее структуру



Соединение R-D1

или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

7. Способ лечения расстройства, связанного с комплексом BAF, у нуждающегося в этом субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп.1-3, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции по любому из пп.4-6.

8. Способ лечения расстройства, связанного с комплексом со слитым белком SS18-SSX, у нуждающегося в этом субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп.1-3, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции по любому из пп.4-6.

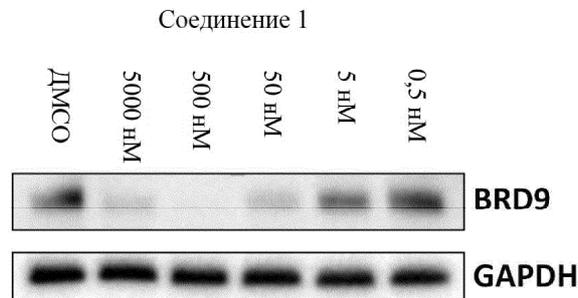
9. Способ лечения расстройства, связанного с бромодомен-содержащим белком 9 (BRD9), у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп.1-3, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции по любому из пп.4-6.

10. Способ по любому из пп.7-9, в котором заболевание представляет собой рак.

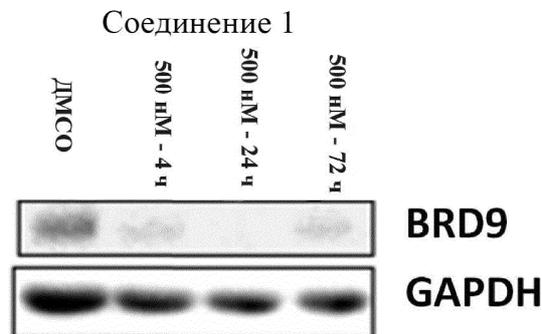
11. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп.1-3, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции по любому из пп.4-6.

12. Способ по п.11, в котором рак представляет собой саркому.

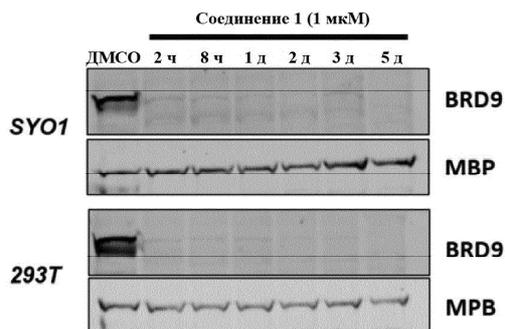
13. Способ по п.12, в котором саркома представляет собой синовиальную саркому.



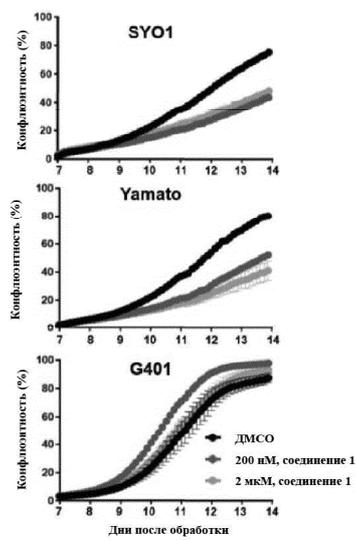
Фиг. 1



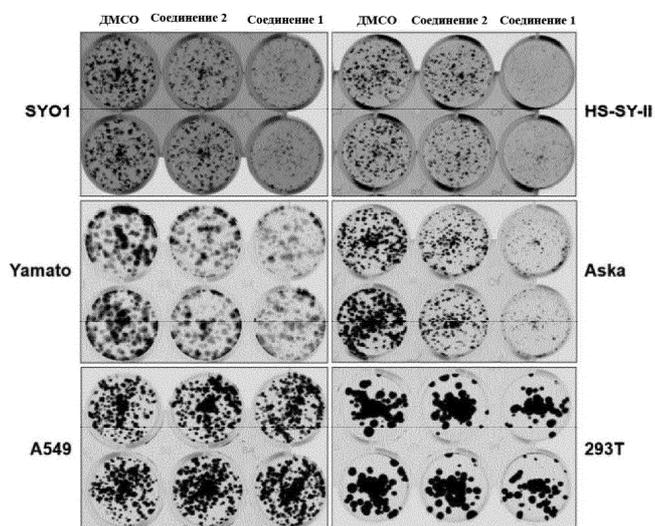
Фиг. 2



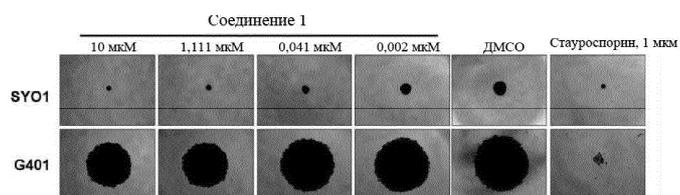
Фиг. 3



Фиг. 4

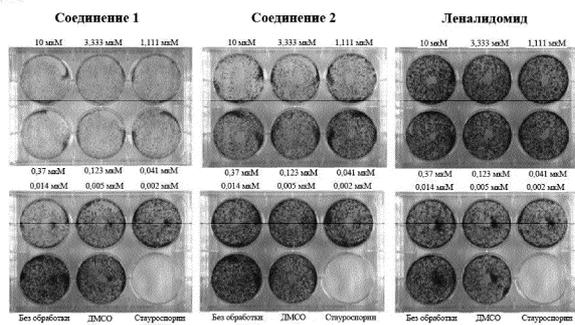


Фиг. 5

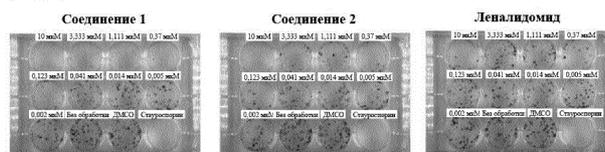


Фиг. 6

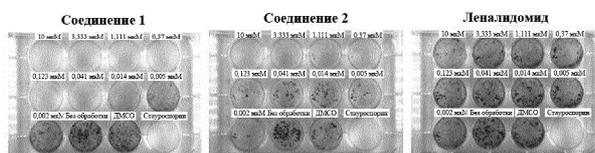
SYO1



HS-SY-II

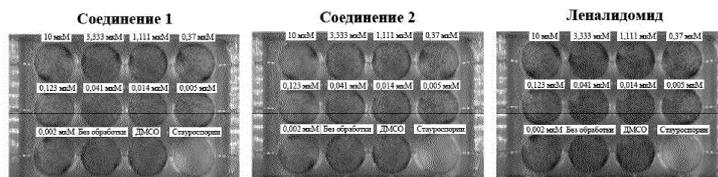


ASKA

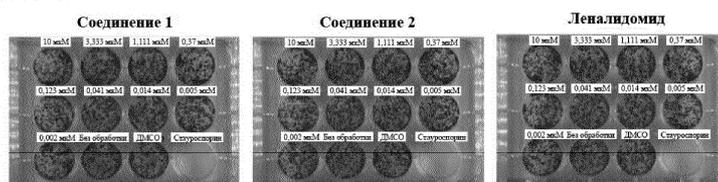


Фиг. 7

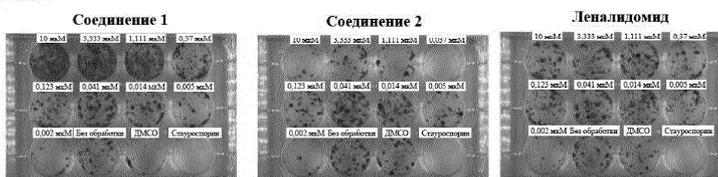
RD



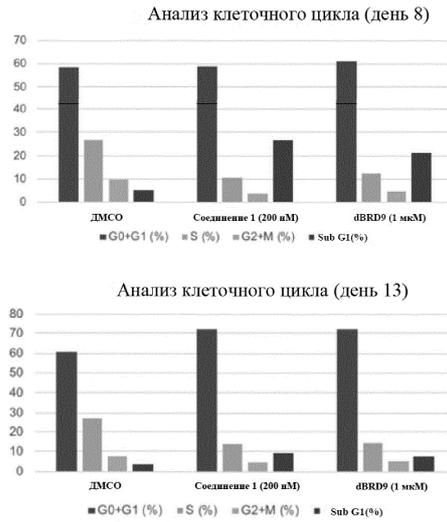
HCT116



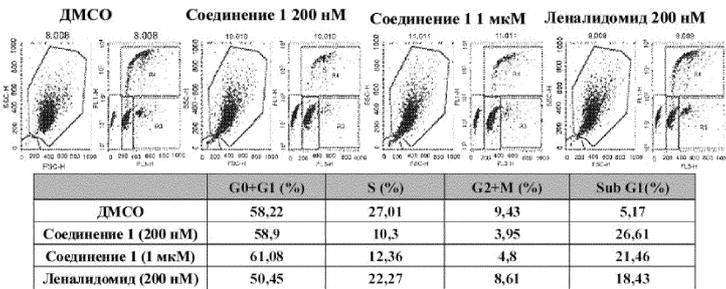
Calu6



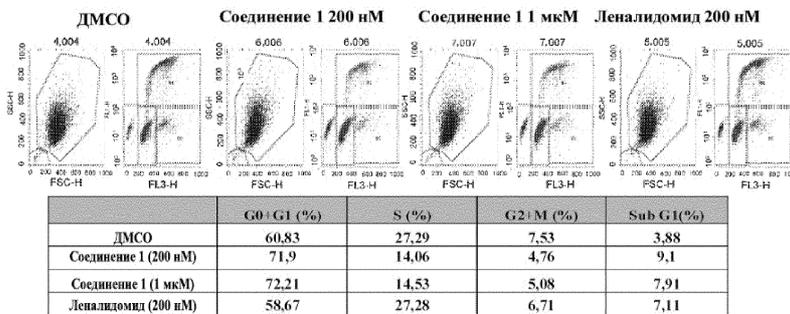
Фиг. 8



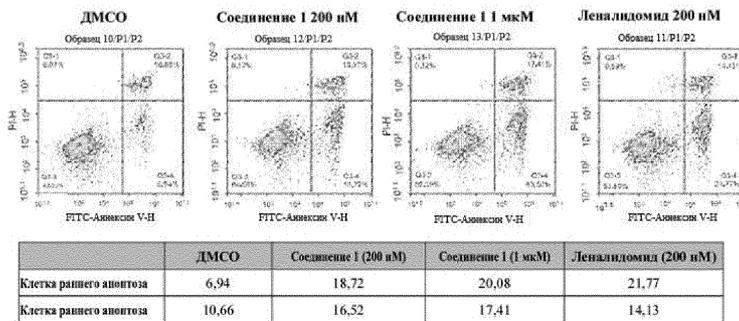
Фиг. 9



Фиг. 10

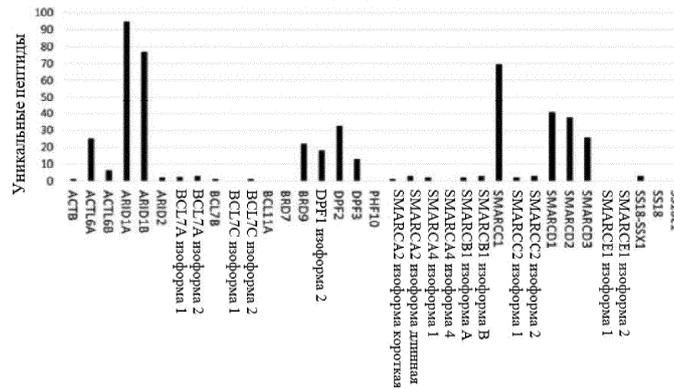


Фиг. 11

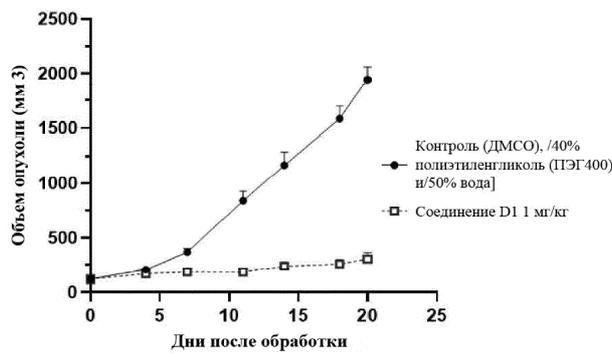


Фиг. 12

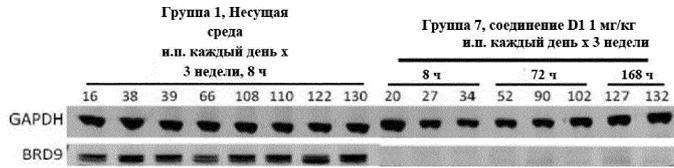
Члены субъединицы ВАФ



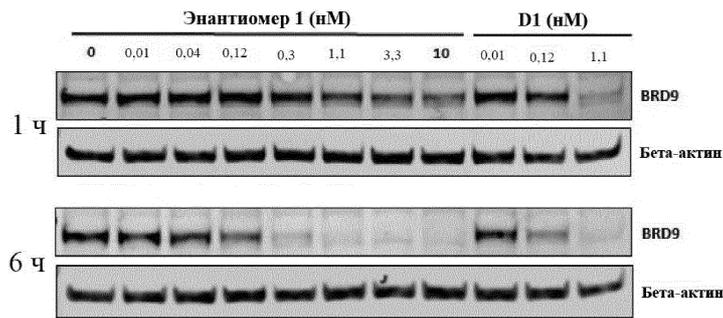
Фиг. 13



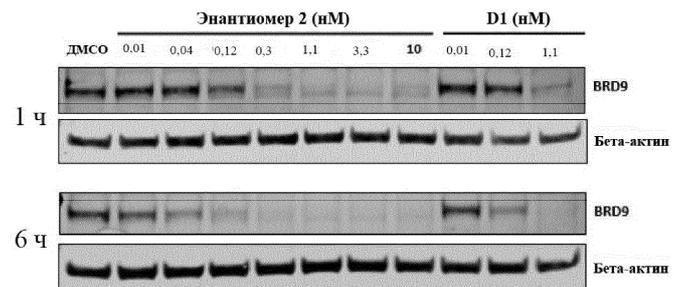
Фиг. 14



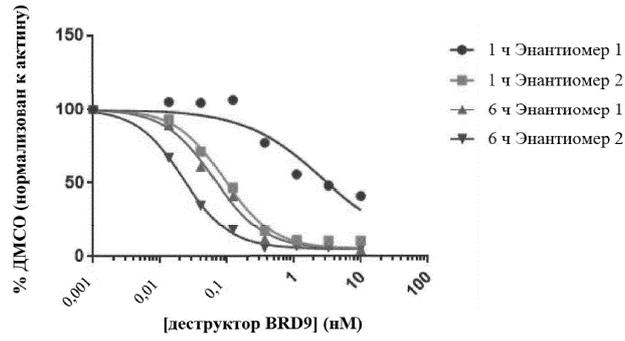
Фиг. 15



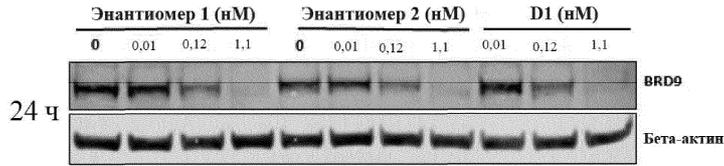
Фиг. 16



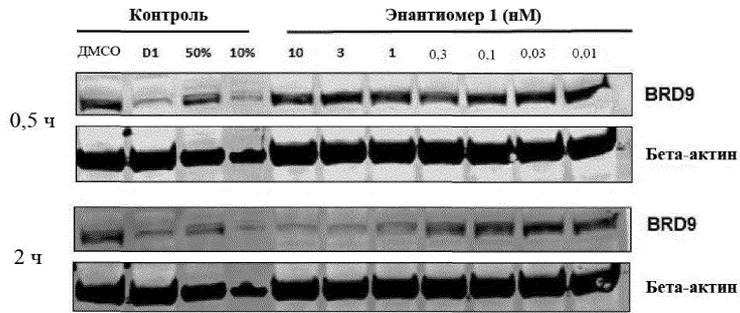
Фиг. 17



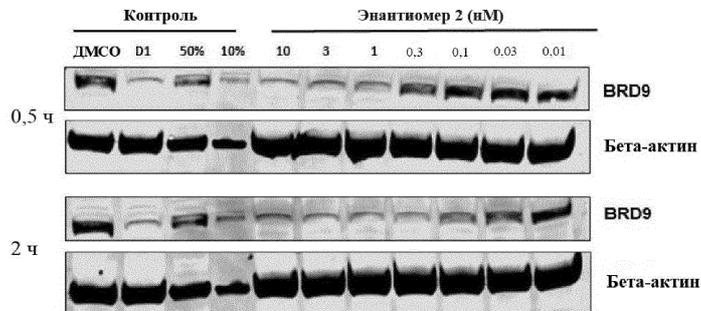
Фиг. 18



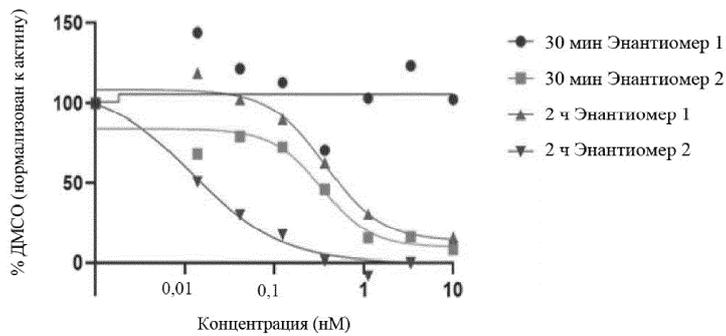
Фиг. 19



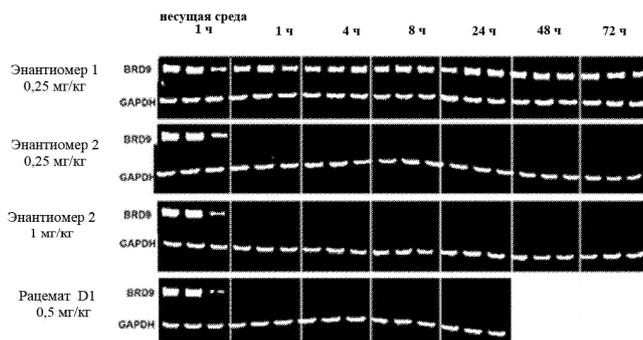
Фиг. 20



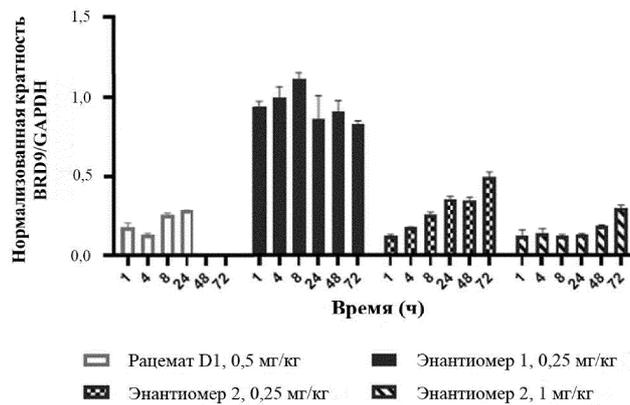
Фиг. 21



Фиг. 22



Фиг. 23



Фиг. 24

