



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013108840/15, 29.07.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.07.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
30.07.2010 US 61/369,455

(43) Дата публикации заявки: 10.09.2014 Бюл. № 25

(45) Опубликовано: 10.06.2016 Бюл. № 16

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: US2009215812 A1, 27.08.2009. US2009023724 A1, 22.01.2009. US2007149521 A1, 28.06.2007. БЕЛИКОВ В.Г., Фармацевтическая химия, М., Высшая школа, 1993, С. 43-47.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 28.02.2013

(86) Заявка РСТ:
US 2011/045842 (29.07.2011)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2012/016113 (02.02.2012)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

**ВОНГ Лилли (US),
СЮЙ Шуйчань (US),
ДИН Цзянь-Хуа (US)**

(73) Патентообладатель(и):

**СИГНАЛ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ЭлЭлСи
(US)**

(54) БИОМАРКЕРНЫЙ АНАЛИЗ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ИЛИ ИЗМЕРЕНИЯ ИНГИБИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ TOR-КИНАЗЫ

(57) Реферат:

Группа изобретений раскрывает способы детектирования и/или ингибирования активности TOR-киназы у пациентов, включающие измерение с помощью проточной цитометрии количества фосфорилированного 4ЕВР1 в биологическом образце пациента перед и после введения ингибитора TOR-киназы, где ингибитор TOR-киназы представляет собой 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или 1-этил-7-(2-метил-6-(4H-

1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер, а также набор для использования при проточной цитометрии для детектирования или измерения ингибирования активности TOR-киназы у пациента. Группа изобретений эффективна в измерении и/или детектировании ингибирования активности TOR-киназы. 5 н.п. ф-лы, 6 ил., 1 табл., 1 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2013108840/15, 29.07.2011**(24) Effective date for property rights:
29.07.2011

Priority:

(30) Convention priority:
30.07.2010 US 61/369,455(43) Application published: **10.09.2014 Bull. № 25**(45) Date of publication: **10.06.2016 Bull. № 16**(85) Commencement of national phase: **28.02.2013**(86) PCT application:
US 2011/045842 (29.07.2011)(87) PCT publication:
WO 2012/016113 (02.02.2012)

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, stroenie 3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**VONG Lilli (US),
SYUJ SHujchan (US),
DIN TSzyan-KHua (US)**

(73) Proprietor(s):

SIGNAL FARMASYUTIKALZ, EIEISi (US)(54) **BIOMARKER ANALYSIS FOR DETECTING OR MEASURING TOR-KINASE ACTIVITY INHIBITION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions discloses methods of detecting and/or inhibition TOR-kinase activity in patients, including measurement by flow cytometry amount phosphorylated 4EVR1 in patient biological sample before and after introduction of TOR-kinase inhibitor, where TOR-kinase inhibitor represents 7-(6-(2-hydroxypropane-2-yl)pyridine-3-yl)-1-(trans-4-methoxycyclohexyl)-3,4-dihydropirazino[2,3-b]pyrazine-2(1H)-on, or 1-ethyl-7-(2-methyl-6-(4H-1,2,4-

triazole-3-yl)pyridine-3-yl)-3,4-dihydropirazino[2,3-b]pyrazine-2(1H)-on or its pharmaceutically acceptable salt, stereoisomer or tautomer, as well as kit for use in flow cytometry for detecting or measuring TOR-kinase activity inhibition in patient.

EFFECT: group of measurements is effective in measuring and/or detecting of inhibition TOR-kinase activity.

5 cl, 6 dwg, 1 tbl, 1 ex

Данная заявка испрашивает приоритет предварительной заявки США № 61/369455, поданной 30 июля 2010 года, полное содержание которой включено в данный документ по ссылке.

1. ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

5 В данном документе предоставлены способы детектирования и/или измерения ингибирования активности TOR-киназы у пациентов и связанные с ними применения.

2. УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Связь между аномальным фосфорилированием белков и причинами или следствиями болезней известна более 20 лет. Соответственно, протеинкиназы стали очень важной группой мишеней для лекарств. См. Cohen, *Nature Reviews Drug Discovery*, 1:309-315 (2002). Различные ингибиторы протеинкиназ использовались в клинике для лечения разнообразных заболеваний, таких как рак и хронические воспалительные заболевания, включая диабет и инсульт. См. Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001), *Proteinkinase Inhibitors for the Treatment of Disease: The Promise and the Problems, Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer Berlin Heidelberg, 167 (2005).

Протеинкиназы представляют собой большое и разнообразное семейство ферментов, которые катализируют фосфорилирование белков и играют критически важную роль в клеточной сигнализации. Протеинкиназы могут вызывать позитивные или негативные регуляторные эффекты, в зависимости от белков, которые являются их мишенями. Протеинкиназы вовлечены в специфические сигнальные пути, которые регулируют клеточные функции, такие как метаболизм, прохождение клеточного цикла, адгезия клеток, сосудистая функция, апоптоз и ангиогенез, но не ограничиваясь ими. Нарушения клеточной сигнализации связаны со многими заболеваниями, наиболее характерные из которых включают в себя рак и диабет. Регуляция передачи сигнала цитокинами и связь сигнальных молекул с протоонкогенами и генами-супрессорами опухолевого роста хорошо документирована. Сходным образом была показана связь между диабетом и связанными с ним состояниями, и нарушениями уровня протеинкиназы. См. например, Sridhar et al. *Pharmaceutical Research*, 17(11): 1345-1353 (2000). Вирусные инфекции и относящиеся к ним состояния также связаны с регуляцией протеинкиназы. Park et al. *Cell* 101 (7): 777-787 (2000).

Протеинкиназы могут быть разделены на большие группы на основе той аминокислоты (аминокислот), которые являются их мишенями (серин/треонин, тирозин, лизин и гистидин). Например, тирозинкиназы включают в себя рецепторные тирозинкиназы (РТК), такие как факторы роста, и нерцепторные тирозинкиназы, такие как семейство src-киназ. Существуют также протеинкиназы двойной специфичности, для которых мишенями являются и тирозин, и серин/треонин, такие как циклин-зависимые киназы (CDK) и митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК).

Поскольку протеинкиназы регулируют почти все клеточные процессы, включая в себя метаболизм, клеточную пролиферацию, клеточную дифференцировку и выживание клетки, они являются привлекательными мишенями для терапевтического вмешательства при различных болезненных состояниях. Например, контроль клеточного цикла и ангиогенез, в которых протеинкиназы играют центральную роль, являются клеточными процессами, связанными с многочисленными болезненными состояниями, такими как рак, воспалительные заболевания, патологический ангиогенез и заболевания, связанные с ним, атеросклероз, дегенерация желтого пятна, диабет, ожирение и боли, но не ограничиваясь ими.

Протеинкиназы стали привлекательными мишенями при лечении раковых заболеваний. Fabbro et al.. *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002). Было сделано

предположение, что вовлечение протеинкиназ в развитие злокачественного роста у человека может происходить путем: (1) перестройки генома (например, BCR-ABL при хроническом миелобластном лейкозе), (2) мутаций, ведущих к постоянной активности киназ, таких как при остром миелобластном лейкозе и желудочно-кишечных опухолях, (3) нарушения регуляции активности киназы вследствие активации онкогенов или утраты функции супрессии опухолей, такие как при раковых заболеваниях с участием онкогенного RAS, (4) нарушения регуляции активности киназы вследствие оверэкспрессии, как в случае EGFR и (5) эктопической экспрессии факторов роста, которая может вносить вклад в развитие и поддержание неопластического фенотипа.

10 Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98(2002).

Демонстрация сложности сигнальных путей протеинкиназы и сложность взаимосвязей и взаимодействий между ними и между различными протеинкиназами и киназными путями указала на важность развития фармацевтических агентов, способных действовать как модуляторы, регуляторы или ингибиторы протеинкиназы, которые имеют полезную

15 активность на многочисленные киназы или многочисленные киназные пути. Соответственно, остается потребность в новых модуляторах киназы.

Белок, именуемый mTOR (мишень рапамицина у млекопитающих), который также называется FRAP, RAFTI или RAPT1), представляет собой Ser/Thr-протеинкиназу из 2549 аминокислот, которая, как было показано, является одним из наиболее важных

20 белков пути mTOR/PI3K/Akt, который регулирует клеточный рост и пролиферацию. Georgakis and Younes *Expert Rev. Anticancer Ther.* 6(1): 131-140 (2006). mTOR существует в двух комплексах: mTORC1 и mTORC2. Тогда как mTORC1 чувствителен к аналогам рапамицина (таким как темсиролимус или эверолимус), mTORC2, в целом, нечувствителен к рапамицину. Стоит отметить, что рапамицин не является ингибитором TOR-киназы.

25 Несколько ингибиторов mTOR были оценены в клинических испытаниях по лечению рака или находятся в стадии оценки. Темсиролимус был утвержден для применения при карциноме клеток почки в 2007 г., а эверолимус был утвержден в 2009 г. для пациентов с карциномой клеток почек, которые улучшались при действии ингибиторов рецепторов факторов роста. Кроме того, сиролимус был утвержден в 1999 г. для

30 профилактики отторжения почечных трансплантатов. Интересный, но не ограничивающийся им, клинический успех этих ингибиторных соединений mTORC1 показывает пригодность ингибиторов mTOR для лечения рака и отторжения трансплантатов, и увеличивает потенциал соединений с ингибиторной активностью в отношении и mTORC1, и mTORC2.

35 Вследствие потенциальной применимости ингибиторов активности TOR-киназы, существует потребность в способах детектирования и/или измерения ингибирования активности TOR-киназы *in vivo*.

Цитирование или идентификация какого-либо источника в Разделе 2 данной заявки не должно рассматриваться как утверждение, что источник представляет собой

40 предшествующий уровень техники по отношению к данной заявке.

3. СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе представлены способы детектирования или измерения ингибирования активности TOR-киназы у пациентов, включающие измерение количества фосфорилированного 4EBP1 (также обозначаемый в данном документе как p4EBP1) в

45 биологическом образце от упомянутого пациента, например, образце периферической крови до и после введения ингибитора TOR-киназы упомянутому пациенту. В одном из вариантов осуществления количество p4EBP1 измеряли с помощью проточной цитометрии. Предполагается, что способы, представленные в данном документе,

пригодны для контроля ингибирования TOR-киназы у пациента.

Также в данном документе представлены способы определения зависимости «доза-эффект» при введении ингибитора TOR-киназы пациенту, при которых упомянутому пациенту вводят варьирующие дозы упомянутого ингибитора TOR-киназы и величина ингибирования активности TOR-киназы у упомянутого пациента, возникающая от каждой дозы упомянутого ингибитора TOR-киназы, определялась с использованием способа, представленного в данном документе.

Также в данном документе представлены способы определения того, чувствителен ли пациент к ингибитору TOR-киназы, включающие введение упомянутому пациенту упомянутого ингибитора TOR-киназы и определение того, ингибируется или нет активность TOR-киназы у упомянутого пациента, с помощью способа, представленного в данном документе.

Также в данном документе представлены способы определения эффективного количества ингибитора TOR-киназы для лечения или контроля заболевания у пациента, включающие введение упомянутому пациенту варьирующих доз упомянутого ингибитора TOR-киназы и определение у упомянутого пациента уровня ингибирования активности TOR-киназы, возникающего при действии каждой из доз упомянутого ингибитора TOR-киназы с помощью способа, представленного в данном документе.

Также в данном документе представлены способы лечения или контроля заболевания, связанного с TOR-киназой у пациента, страдающего заболеванием, связанным с TOR-киназой, включающие введение упомянутому пациенту эффективного количества ингибитора TOR-киназы, где эффективное количества упомянутого ингибитора TOR-киназы определяется с помощью способа, представленного в данном документе.

В определенных вариантах осуществления способы, представленные в данном документе, реализуются путем контакта биологического образца от пациента с ингибитором TOR-киназы *ex vivo*.

Также в данном документе представлены наборы, содержащие один или более контейнеров, заполненные реагентами для детектирования р4ЕВР1 с помощью проточной цитометрии, и инструкции для детектирования р4ЕВР1 с помощью проточной цитометрии.

Данные варианты осуществления могут быть поняты более полно по ссылке на детальное описание и примеры, которые направлены на представление неограничивающих вариантов осуществления.

4. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фиг.1. Представляет гистограммы, показывающие клеточные популяции необработанных клеток (затененные [кривые]), клеток, обработанных ДМСО (пунктирная линия), клеток, обработанных специфическим блокирующим пептидом (сплошная линия), и клеток, обработанных соединением 1 (точечная линия). (А) представляет клетки РС3, обработанные 10 мкМ соединения 1. (В) Представляет гистограммы, представляющие моноциты CD91+ из цельной крови нормальных здоровых добровольцев, обработанные *ex vivo* 30 мкМ соединения 1. (С) Представляет гистограммы, представляющие моноциты CD91+ из цельной крови пациентов, страдающих раком легких, обработанные *ex vivo* 30 мкМ соединения 1.

Фиг.2. Иллюстрирует воспроизводимость теста р4ЕВР1 в зависимости от вариаций р4ЕВР1 в моноцитах день за днем от тех же здоровых доноров (кровь забирали от 3 здоровых доноров в течение 3 последовательных дней). (А) Иллюстрирует среднюю интенсивность флуоресценции для всех 3 доноров в различные дни. (В) Иллюстрирует ингибирование соединением 1. (С) Представляет иллюстративную гистограмму,

представляющую клеточные популяции необработанных клеток (затененная), клеток, обработанных ДМСО (пунктирная линия), клеток, обработанных специфическим блокирующим пептидом (сплошная линия) и клеток, обработанных соединением 1 (точечная линия).

5 Фиг.3. Иллюстрирует стабильность сигнала р4ЕВР1 в зафиксированных замороженных клетках. Все образцы цельной крови были обработаны ДМСО или соединением 1 при 37°С в течение 2 часов, а РВМС были зафиксированы и заморожены без стабилизирующего буфера. (А) Представляет гистограммы моноцитов CD91+ из свежеприготовленной цельной крови. (В) Представляет столбчатую диаграмму,
10 иллюстрирующую стабильность сигнала р4ЕВР1 в популяции моноцитов CD91+ из замороженных клеток в течение периода в 1 месяц. (С) Представляет таблицу, суммирующую жизнеспособность и среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) обработанных клеток.

Фиг.4. (А) Иллюстрирует обработку *ex vivo* цельной крови от здоровых доноров
15 соединением 1 в течение 2 часов при комнатной температуре. Образцы обрабатывали в триплетах. Обработка 5 мкМ и 0,5 мкМ соединения 1 показала существенное ингибирование ($p < 0,005$). (В) Иллюстрирует обработку *ex vivo* цельной крови от здоровых доноров соединением 1 в указанных концентрациях в триплетах в течение 2 часов при комнатной температуре. Образцы обрабатывались в триплетах. Обработка
20 соединением 1 показала существенное ингибирование ($p < 0,005$) при 5 мкМ и 0,5 мкМ.

Фиг.5. Иллюстрирует, что р4ЕВР1 заингибирована в периферической крови пациентов. Каждая линия представляет пациента.

Фиг.6. Иллюстрирует, что р4ЕВР1 заингибирована в периферической крови пациентов. Каждая линия представляет пациента.

25 5. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

5.1 ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Термин «лечение», так как он использован в данном документе, обозначает частичное или полное облегчение симптомов, связанных с нарушением или заболеванием, или замедление, или прекращение дальнейшего развития или обострения таких симптомов.

30 Термин «эффективное количество» в связи с ингибитором TOR-киназы обозначает количество, способное частично или полностью облегчить симптомы, связанные с нарушением или заболеванием, или замедлить, или остановить дальнейшее развитие или обострение таких симптомов. Эффективное количество ингибитора TOR-киназы, например, в фармацевтических композициях, может находиться на уровне, который
35 вызывает желаемый эффект; например, около 0,005 мг/кг веса тела пациента до около 100 мг/кг веса тела пациента в разовой дозе и для перорального и для парентерального введения. Как будет ясно для специалистов в данной области техники, следует ожидать, что эффективное количество ингибитора TOR-киназы, описанного в данном документе, может варьировать в зависимости от тяжести излечиваемых показаний.

40 Термины «пациент» и «объект», так как они использованы в данном документе, включают в себя животное, включая таких животных как корова, обезьяна, лошадь, овца, свинья, цыпленок, индюк, перепел, кошка, собака, мышь, крыса, кролик или морская свинка, в одном из вариантов осуществления млекопитающее, в другом варианте осуществления - человек, но не ограничиваясь ими. В одном из вариантов
45 осуществления «пациент» или «объект» представляют собой человека, страдающего заболеванием, представленным в данном документе, таким как заболевания, связанные с TOR-киназой.

Термин «биологический образец», так как он используется в данном документе,

включает в себя образцы крови и образцы ткани, такие как образцы опухолей. В одном варианте осуществления биологический образец представляет собой образец периферической крови. В другом варианте осуществления биологический образец представляет собой плазму. В другом варианте осуществления биологический образец представляет собой плазму, богатую тромбоцитами.

Термин «ингибитор TOR-киназы», так как он использован в данном документе, означает соединение (например, малую молекулу) или биологическое соединение (например, белок), способные ингибировать активность TOR-киназы (т.е. *in vitro* или *in vivo*). В одном варианте осуществления ингибитор TOR-киназы представляет собой соединение, описанное в WO 2008/023161 (см., например, страницу 5, строка 5 до страницы 11, строка 15), WO 2009/007751 (см., например, страницу 9, строка 8 до страницы 26, строка 8), WO 2009/007749 (см., например, страницу 9, строка 21 до страницы 29, строка 23), WO 2009/007750 (см., например, страницу 9, строка 21 до страницы 32, строка 22), WO 2009/007748 (см., например, страницу 9, строка 6 до страницы 42, строка 28), WO 2008/032028 (см., например, страницу 11, строка 13 до страницы 21, строка 13), WO 2008/032086 (см., например, страницу 10, строка 21 до страницы 15, строка 22), WO 2008/032072 (см., например, страницу 11, строка 11 до страницы 16, строка 13), WO 2008/032033 (см., например, страницу 11, строка 3 до страницы 16, строка 5), WO 2008/032089 (см., например, страницу 11, строка 11 до страницы 16, строка 13), WO 2008/032060 (см., например, страницу 11, строка 3 до страницы 16, строка 6), WO 2008/032091 (см., например, страницу 11, строка 11 до страницы 16, строка 13), WO 2008/032036 (см., например, страницу 11, строка 13 до страницы 21, строка 13), WO 2008/032077 (см., например, страницу 10, строка 21 до страницы 15, строка 22), WO 2008/032064 (см., например, страницу 11, строка 3 до страницы 16, строка 5), WO 2008/032027 (см., например, страницу 10, строка 21 до страницы 15, строка 22), WO 2007/135398 (см., например, страницу 11, строка 28 до страницы 16, строка 6), WO 2007/129052 (см., например, страницу 10, строка 8 до страницы 13, строка 5), WO 2007/129044 (см., например, страницу 10, строка 22 до страницы 13, строка 20), WO 2007/080382 (см., например, страницу 9, строка 20 до страницы 32, строка 32), WO 2007/066102 (см., например, страницу 9, строка 22 до страницы 14, строка 17), WO 2007/066099 (см., например, страницу 9, строка 22 до страницы 14, строка 14), WO 2007/066103 (см., например, страницу 9, строка 22 до страницы 14, строка 16), WO 2007/060404 (см., например, страницу 5, строка 4 до страницы 7, строка 25), WO 2006/090169 (см., например, страницу 4, строки 1 - 25), WO 2006/090167 (см., например, страницу 3, строка 33 до страницы 6, строка 23), WO 2008/115974 (см., например, страницу 4, абзац [0012] до страницы 127, абзац [0257]), WO 2009/052145 (см., например, страницу 5, абзац [0015] до страницы 81, абзац [0082]), WO 2010/006072 (см., например, страницу 28, строка 1 до страницы 34, строка 1), WO 2007/044698 (см., например, страницу 3, абзац [0010] до конца страницы 7), WO 2007/044813 (см., например, страницу 3, абзац [0010] до середины страницы 7), WO 2007/044729 (см., например, страницу 3, абзац [0010] до конца страницы 10), WO 2007/129161 (см., например, страницу 2, строка 10 до страницы 9, строка 19), WO 2006/046031 (см., например, страницу 2, строка 15 до страницы 4, строка 12), WO 2003/072557 (см., например, страницу 1, строка 4 до страницы 2, строка 27), WO 2004/048365 (см., например, страницу 1, строка 4 до страницы 4, строка 17), WO 2004/078754 (см., например, страницу 1, строка 4 до страницы 2, строка 21), WO 2004/096797 (см., например, страницу 1, строка 4 до страницы 2, строка 34), WO 2005/021519 (см., например, страницу 1, строка 4 до страницы 4, строка 17) или US 2007/112005 (см.,

например, страницу 2, абзац [0012] до страницы 22, абзац [0065]), каждая из которых включена в данный документ по ссылке во всей их полноте. Ингибиторы TOR-киназы могут быть получены с помощью стандартной хорошо известной синтетической методологии, см. например, March, J. *Advanced Organic Chemistry; Reactions Mechanisms, and Structure*, 4th ed., 1992. Исходные материалы, пригодные для изготовления соединений формулы (III), и промежуточные вещества коммерчески доступны или могут быть изготовлены из коммерчески доступных материалов с помощью известных синтетических способов и реагентов. Конкретные способы изготовления ингибиторов TOR-киназы описаны в заявке США № 11/975652, поданной 18 октября 2007 года, заявке США № 11/975657, поданной 18 октября 2007 года и заявке США № 12/605791, поданной 26 октября 2009 года, каждая из которых включена в данный документ по ссылке во всей их полноте. В специфическом варианте осуществления ингибиторы TOR-киназы не включают в себя рапамицин или аналоги рапамицина (рапалоги).

5.2 СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Не будучи ограниченными теорией, полагали, что, поскольку 4EBP1 (4E-связывающий белок 1, также обозначаемый в данном документе как «p4EBP1») является непосредственным субстратом TOR-киназы (т.е. TOR-киназа катализирует фосфорилирование 4EBP1 в p4EBP1), ингибирование активности TOR-киназы *in vivo* может быть измерено путем определения уровня p4EBP1 у пациента (например, уровня в биологическом образце от пациента) перед и после лечения ингибитором TOR-киназы.

Соответственно, в данном документе предоставлены способы детектирования или измерения ингибирования активности TOR-киназы у пациента, включающие измерение количества p4EBP1 в биологическом образце от упомянутого пациента перед и после введения ингибитора TOR-киназы. В одном из вариантов осуществления количество p4EBP1 измеряли с помощью проточной цитометрии.

В одном из вариантов осуществления количество p4EBP1 измеряли в цельной крови пациента. В еще одном варианте осуществления количество p4EBP1 измеряли в одноядерных клетках периферической крови (PBMC) пациента. В еще одном варианте осуществления количество p4EBP1 измеряли в образце ткани пациента. В еще одном варианте осуществления измеряли количество p4EBP1 в образце опухоли пациента.

Также в данном документе представлены способы определения зависимости доза-ответ при введении ингибитора TOR-киназы пациенту, в которых упомянутому пациенту вводили варьирующие дозы упомянутого ингибитора TOR-киназы, а уровень ингибирования активности TOR-киназы у упомянутого пациента, возникающий от каждой дозы упомянутого ингибитора TOR-киназы, определяли с помощью способа, представленного в данном документе.

Также в данном документе представлены способы определения того, чувствителен ли пациент к ингибитору TOR-киназы, включающие введение упомянутому пациенту упомянутого ингибитора TOR-киназы и определение заингибирована или нет активность TOR-киназы у упомянутого пациента с помощью способа, представленного в данном документе.

Также в данном документе представлены способы определения эффективного количества ингибитора TOR-киназы для лечения или контроля заболевания у пациента, включающие введение упомянутому пациенту варьирующих доз упомянутого ингибитора TOR-киназы и определение уровня ингибирования активности TOR-киназы у упомянутого пациента, являющегося результатом каждой дозы упомянутого ингибитора TOR-киназы с помощью способа, представленного в данном документе.

Также в данном документе представлены способы лечения или контроля заболевания,

связанного с TOR-киназой, у пациентов, страдающих заболеванием, связанным с TOR, включающие введение упомянутому пациенту эффективного количества ингибитора TOR-киназы, где эффективное количество упомянутого ингибитора TOR определяется с помощью способа, представленного в данном документе.

5 В определенных вариантах осуществления способы, представленные в данном документе, выполняются путем контакта биологического образца от пациента с ингибитором TOR-киназы *ex vivo*. Например, вместо введения ингибитора TOR-киназы пациенту, способы, представленные в данном документе, могут содержать измерение количества p4EVP1 в биологическом образце от пациента, и контакт упомянутого
10 биологического образца с ингибитором TOR-киназы *ex vivo*, после чего следует измерение количества p4EVP1 в упомянутом биологическом образце после упомянутого контакта. Соответственно, в данном документе представлены способы детектирования или измерения ингибирования активности TOR-киназы в биологическом образце от пациента, включающие измерение количества p4EVP1 в упомянутом биологическом
15 образце перед и после контакта упомянутого биологического образца с ингибитором TOR-киназы *ex vivo*. В одном из вариантов осуществления количество p4EVP1 измеряют с помощью проточной цитометрии.

В определенных вариантах осуществления значение IC_{50} около 250 мкМ или менее, около 100 мкМ или менее, около 10 мкМ или менее, около 1 мкМ или менее или около
20 0,10 мкМ или менее показывает, что ингибитор TOR-киназы является эффективным в лечении заболевания, связанного с активностью TOR-киназы, таких как заболевания, представленные в данном документе.

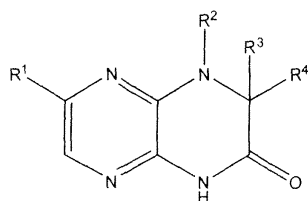
Также в данном документе представлены наборы, содержащие один или более контейнеров, заполненных реагентами для детектирования p4EVP1 с помощью
25 проточной цитометрии и инструкции для детектирования p4EVP1 с помощью проточной цитометрии. В одном из вариантов осуществления набор содержит один или более контейнеров, заполненных антителами к p4EVP1. В определенных вариантах осуществления антитела к p4EVP1 представляют собой мышинные антитела к p4EVP1 Alexa Fluor 647 или антитела к p4EVP1, конъюгированные с Alexa Fluor 488. В
30 определенных вариантах осуществления наборы, представленные в данном документе, также содержат один или более ингибиторов TOR-киназы, таких как представленные в данном документе, включенные по ссылке в данный документ, или те, которые известны в данной области техники.

В одном из вариантов осуществления пациент страдает солидной раковой опухолью.
35 В еще одном варианте осуществления пациент страдает раком крови. В специфическом варианте осуществления рак крови представляет собой лейкоз, такой как хронический лейкоз, острый лейкоз, эритролейкоз, лимфоцитарный лейкоз, миелолейкоз или миелогенный лейкоз. В еще одном варианте осуществления пациент страдает раком крови, иным, чем лимфобластный лейкоз (например, острый T-клеточный
40 лимфобластный лейкоз).

5.3 ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ИНГИБИТОРЫ TOR-КИНАЗЫ

Иллюстративные ингибиторы TOR-киназы включают в себя соединения, имеющие нижеследующую формулу (I), но не ограничиваются ими:

45



и их фармацевтически приемлемые соли, клатраты, сольваты, стереоизомеры, таутомеры и пролекарства, где:

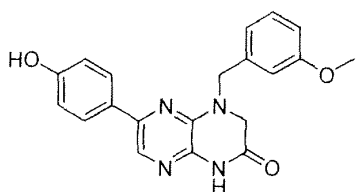
10 R^1 представляет собой замещенный или незамещенный C_{1-8} алкил, замещенный или незамещенный арил, замещенный или незамещенный циклоалкил, замещенный или незамещенный гетероцикл или замещенный или незамещенный гетероциклилалкил;

15 R^2 представляет собой H, замещенный или незамещенный C_{1-8} алкил, замещенный или незамещенный циклоалкил, замещенный или незамещенный гетероцикл, замещенный или незамещенный гетероциклилалкил, замещенный или незамещенный аралкил или замещенный или незамещенный циклоалкилалкил; и

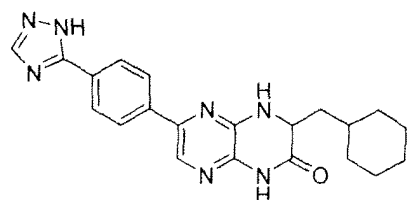
20 R^3 и R^4 представляют собой независимо друг от друга H, замещенный или незамещенный C_{1-8} алкил, замещенный или незамещенный арил, замещенный или незамещенный циклоалкил, замещенный или незамещенный гетероцикл, замещенный или незамещенный гетероциклилалкил, замещенный или незамещенный аралкил, замещенный или незамещенный циклоалкилалкил, или R^3 и R^4 , вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют замещенный или незамещенный циклоалкил или замещенный или незамещенный гетероцикл;

25 или R^2 и один из R^3 и R^4 , вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют замещенный или незамещенный гетероцикл.

В определенных вариантах осуществления ингибитор TOR-киназы не представляет собой соединение, описанное ниже, а именно:



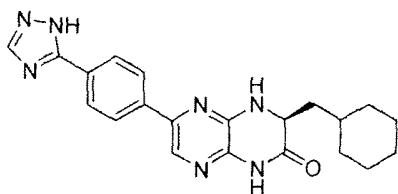
35 6-(4-гидроксифенил)-4-(3-метоксибензил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;



6-(4-(1H-1,2,4-триазол-5-ил)фенил)-3-(циклогексилметил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

или

45



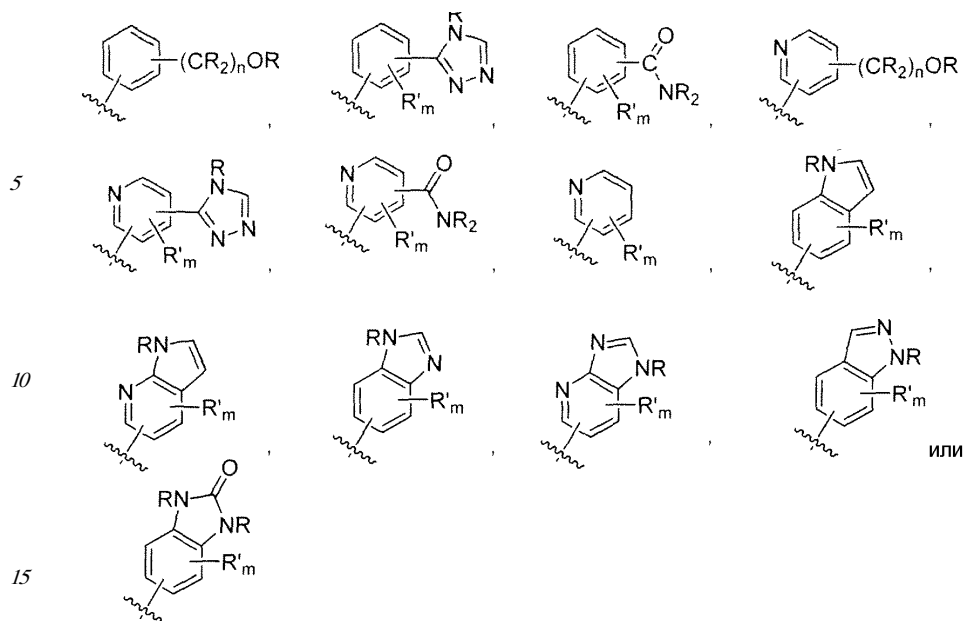
5 (R)-6-(4-(1H-1,2,4-триазол-5-ил)фенил)-3-(циклогексилметил)-3,4-дигидропиразино [2,3-b]пиразин-2(1H)-он.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R¹ представляет собой замещенный или незамещенный арил или замещенный или незамещенный гетероарил. В одном из вариантов осуществления R¹ представляет собой фенил, пиридил, пиридил, бензимидазол, индолил, индазол, 1H-пирроло[2,3-b]пиридил, 1H-имидазо [4,5-b]пиридил, 1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2(3H)-онил, 3H-имидазо[4,5-b]пиридил или пиразолил, каждый из которых может быть замещенным. В некоторых вариантах

15 осуществления R¹ представляет собой фенил, замещенный одним или более заместителями, независимо выбранным и из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C₁₋₈алкила (например, метила), замещенного или незамещенного гетероцикла (например, замещенного или незамещенного триазиола или пиразола), галогена (например, фтора), аминокарбонила, циано, гидроксиалкила (например, гидроксипропила) и гидрокси. В других вариантах осуществления R¹ представляет собой пиридил, замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C₁₋₈алкила, замещенного или незамещенного гетероцикла (например, замещенного или незамещенного триазиола), галогена, аминокарбонила, циано, гидроксиалкила, -OR и -NR₂, где каждый из R представляет собой независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил.

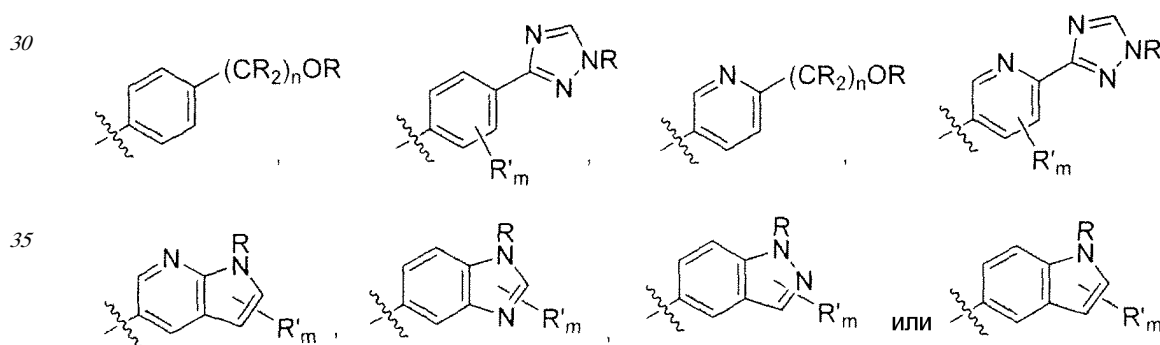
В других еще вариантах осуществления R¹ представляет собой 1H-пирроло[2,3-b]пиридил или бензимидазол, каждый из которых необязательно замещен одним или более заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C₁₋₈алкила и -NR₂, где каждый из R представляет собой независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R¹ представляет собой



где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄-алкил (например, метил); R' представляет собой в каждом случае независимо замещенный или незамещенный C₁₋₄-алкил, галоген (например, фтор), циано, -OR или -NR₂; m составляет 0-3; а n составляет 0-3. Специалистам в данной области техники понятно, что какие-либо заместители R' могут быть присоединены к какому-либо подходящему атому какого-либо из колец в системе сочлененных циклов. Также специалистам в данной области техники следует понимать, что соединительная связь R¹ (обозначенная пересекающей волнистой линией) может быть присоединена к какому-либо из колец системы сочлененных циклов.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R¹ представляет собой

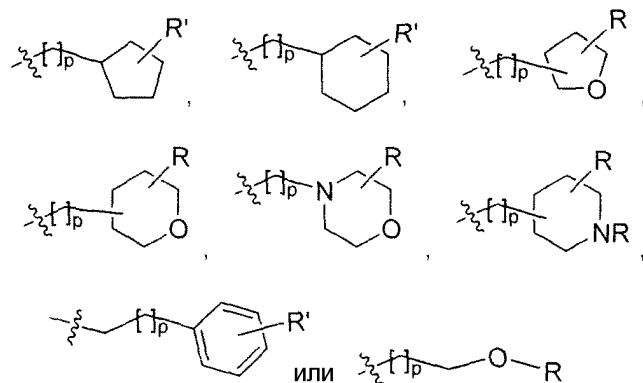


где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄-алкил; R' представляет собой в каждом случае независимо замещенный или незамещенный C₁₋₄-алкил, галоген, циано, -OR или -NR₂; m составляет 0-3; и n составляет 0-3.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R² представляет собой H, замещенный или незамещенный C₁₋₈-алкил, замещенный или незамещенный циклоалкил, замещенный или незамещенный гетероциклил, замещенный или незамещенный C₁₋₄-алкилгетероциклил, замещенный или незамещенный C₁₋₄-алкиларил или замещенный или незамещенный C₁₋₄-алкилциклоалкил. Например, R² представляет

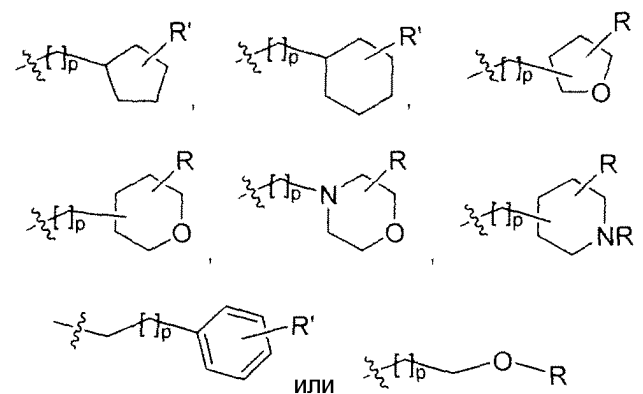
собой H, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, циклопентил, циклогексил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, (C₁₋₄алкил)фенил, (C₁₋₄алкил)циклопропил, (C₁₋₄алкил)циклобутил, (C₁₋₄алкил)циклопентил, (C₁₋₄алкил)циклогексил, (C₁₋₄алкил)пирролидил, (C₁₋₄алкил)пиперидил, (C₁₋₄алкил)пиперазинил, (C₁₋₄алкил)морфолинил, (C₁₋₄алкил)тетрагидрофуранил или (C₁₋₄алкил)тетрагидропиранил, каждый из которых необязательно может быть замещенным.

В других вариантах осуществления R² представляет собой H, C₁₋₄алкил, (C₁₋₄алкил)(OR),



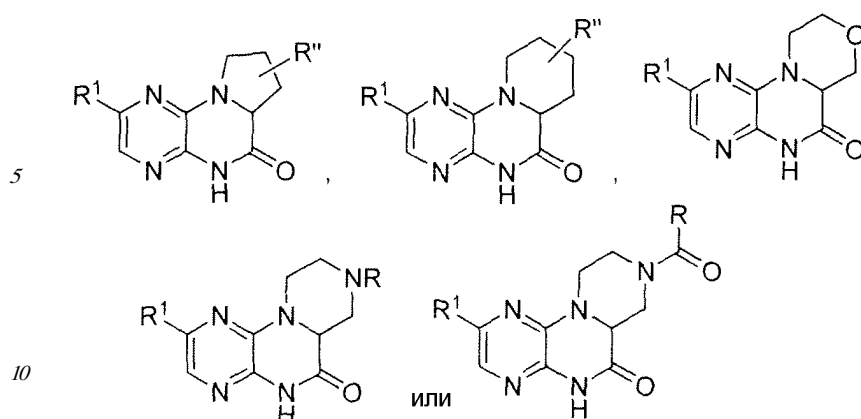
где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил (например, метил); R' представляет собой в каждом случае независимо H, -OR, циано или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил (например, метил); и p составляет 0-3.

В некоторых таких вариантах осуществления R² представляет собой H, C₁₋₄алкил, (C₁₋₄алкил)(OR),



где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₂алкил; R' представляет собой в каждом случае независимо H, -OR, циано или замещенный или незамещенный C₁₋₂алкил; и p составляет 0-1.

В некоторых других вариантах осуществления соединений формулы (I) R² и один из R³ и R⁴ вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют замещенный или незамещенный гетероцикл. Например, в некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) представляет собой



где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил; R'' представляет собой H, OR или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил; а R¹ такой, как определено в данном документе.

15 В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) R³ и R⁴ оба представляют собой H. В других вариантах один из R³ и R⁴ представляет собой H, а другой отличается от H. Кроме того, в других вариантах один из R³ и R⁴ представляет собой C₁₋₄алкил (например, метил), а другой представляет собой H. Кроме того, в других вариантах и R³, и R⁴ представляют собой C₁₋₄алкил (например, метил).

25 В некоторых вариантах осуществления, описанных выше, R¹ представляет собой замещенный или незамещенный арил или замещенный или незамещенный гетероарил. Например, R¹ представляет собой фенил, пиридил, пиримидил, бензимидазолил, индолил, индазолил, 1H-пирроло[2,3-b]пиридил, 1H-имидазо[4,5-b]пиридил, 1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2(3H)-онил, 3H-имидазо[4,5-b]пиридил или пиразолил, каждый из которых обязательно является замещенным. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой фенил, замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C₁₋₈алкила, замещенного или незамещенного гетероциклила, галогена, аминокарбонила, циано, гидроксиалкила и гидрокси. В других вариантах R¹ представляет собой пиридил, замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из циано, замещенного или незамещенного C₁₋₈алкила, замещенного или незамещенного гетероциклила, гидроксиалкила, галогена, аминокарбонила, -OR и -NR₂, где каждый из R представляет собой независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил. В других вариантах R представляет собой 1H-пирроло[2,3-b]пиридил или бензимидазолил, обязательно замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C₁₋₈алкила и -NR₂, где R представляет собой независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил.

45 В определенных вариантах осуществления соединения формулы (I) имеют группу R¹, описанную в данном документе, и группу R², описанную в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (I) соединение представляет собой

6-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-

- [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-этил-6-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(3-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(3-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(цис-4-метоксициклогексил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(3-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(транс-4-метоксициклогексил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-(2-метоксиэтил)-6-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(3-(1H-1,2,4-триазол-5-ил)фенил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 5-(8-(2-метоксиэтил)-6-оксо-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]пиразин-2-ил)-4-
 метилпиколинамид;
 3-(6-оксо-8-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2-ил)бензамид;
 3-(6-оксо-8-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2-ил)бензонитрил;
 5-(8-(транс-4-метоксициклогексил)-6-оксо-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]пиразин-
 2-ил)-4-метилпиколинамид;
 6-(1H-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(1H-индазол-6-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-
 b]пиразин-2(1H)-он;
 4-((1R,3S)-3-метоксициклопентил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-((1S,3R)-3-метоксициклопентил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-((1R,3R)-3-метоксициклопентил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-
 ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-((1S,3S)-3-метоксициклопентил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-этил-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-
 b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(1H-индол-6-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2(1H)-он;
 6-(1H-индол-5-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2(1H)-он;
 4-(((1R,3S)-3-метоксициклопентил)метил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-
 3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-(((1S,3R)-3-метоксициклопентил)метил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-
 3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(3-фтор-2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)
 этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(3-фтор-2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(2-метоксиэтил)-3,4-

- дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 3,3-диметил-6-(4-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((1R,3S)-3-метоксициклопентил)-3,4-
 5 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((1S,3R)-3-метоксициклопентил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(((1S,3S)-3-метоксициклопентил)метил)
 -3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 10 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(((1R,3R)-3-метоксициклопентил)метил)
 -3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((1S,3S)-3-метоксициклопентил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((1R,3R)-3-метоксициклопентил)-3,4-
 15 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(((1R,3S)-3-метоксициклопентил)метил)
 -3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(((1S,3R)-3-метоксициклопентил)метил)
 -3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 20 6-(3-фтор-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино
 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(3-фтор-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7'-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1'-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-
 25 1'H-спиро[циклопентан-1,2'-пиразино[2,3-b]пиразин]-3'(4'H)-он;
 7'-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1'-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-
 1'H-спиро[циклобутан-1,2'-пиразино[2,3-b]пиразин]-3'(4'H)-он;
 4-(циклопропилметил)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 30 7'-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1'H-спиро[циклопентан-1,2'-пиразино
 [2,3-b]пиразин]-3'(4'H)-он;
 7'-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1'H-спиро[циклобутан-1,2'-пиразино[2,3-
 b]пиразин]-3'(4'H)-он;
 7'-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1'H-спиро[циклопропан-1,2'-пиразино
 35 [2,3-b]пиразин]-3'(4'H)-он;
 (R)-6-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-((тетрагидрофуран-2-ил)метил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 (S)-6-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-((тетрагидрофуран-2-ил)метил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 40 6-(1H-индазол-5-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-
 b]пиразин-2(1H)-он;
 4-(6-оксо-8-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2-ил)бензамид;
 4-(2-метоксиэтил)-3,3-диметил-6-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-3,4-
 45 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-этил-3,3-диметил-6-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-3,4-дигидропиразино
 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)

-он;

3,3-диметил-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

(R)-6-(6-(1-гидроксиэтил)пиридин-3-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

3,3-диметил-6-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)-4-метилпиридин-3-ил)-4-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)-4-метилпиридин-3-ил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

3,3-диметил-6-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

3,3-диметил-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)-2-метилпиридин-3-ил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)-2-метилпиридин-3-ил)-4-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

(S)-6-(6-(1-гидроксиэтил)пиридин-3-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

3,3-диметил-6-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,3-диметил-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(4-(2-гидроксипропан-2-ил)фенил)-4-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(4-(2-гидроксипропан-2-ил)фенил)-4-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

4-(цис-4-метоксициклогексил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

4-(транс-4-метоксициклогексил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(4-(2-гидроксипропан-2-ил)фенил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

4-(2-метоксиэтил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

9-(6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-3-пиридил)-6,11,4a-тригидроморфолино[4,3-e]пиразино[2,3-b]пиразин-5-он;

6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

5-(8-(цис-4-метоксициклогексил)-6-оксо-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]пиразин-2-ил)-6-метилпиколинонитрил;

6-(6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

9-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)-3-(2-метоксиацетил)-6,11,4a-тригидропиперазино[1,2-e]пиразино[2,3-b]пиразин-5-он;

9-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)-6,11,4a-тригидропиперазино[1,2-e]пиразино

- [2,3-b]пиразин-5-он;
 9-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)-3-(2-метоксиэтил)-6,11,4а-
 тригидропиперазино[1,2-е]пиразино[2,3-b]пиразин-5-он;
 4-(циклопентилметил)-6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-
 5 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 9-(6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метил-3-пиридил)-6,11,4а-тригидроморфолино[4,3-е]
 пиразино[2,3-b]пиразин-5-он;
 4-(транс-4-гидроксициклогексил)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 10 4-(цис-4-гидроксициклогексил)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((тетрагидрофуран-3-ил)метил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-(циклопентилметил)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,4-
 15 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-неопентил-3,4-дигидропиразино[2,3-
 b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-изобутил-3,4-дигидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2(1H)-он;
 20 3-метил-6-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)
 этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(пиперидин-4-ил)-3,4-дигидропиразино
 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-3-ил)этил)-
 25 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 8-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)(3aS,2R)-2-метокси-5,10,3а-
 тригидропиразино[2,3-b]пирролидино[1,2-е]пиразин-4-он;
 8-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)(2R,3aR)-2-метокси-5,10,3а-
 тригидропиразино[2,3-b]пирролидино[1,2-е]пиразин-4-он;
 30 8-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)(2S,3aR)-2-метокси-5,10,3а-
 тригидропиразино[2,3-b]пирролидино[1,2-е]пиразин-4-он;
 8-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)(2S,3aS)-2-метокси-5,10,3а-
 тригидропиразино[2,3-b]пирролидино[1,2-е]пиразин-4-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(3-метоксипропил)-3,4-дигидропиразино
 35 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 (S)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((тетрагидрофуран-2-ил)метил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 (R)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((тетрагидрофуран-2-ил)метил)-
 3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 40 6-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)
 этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 9-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)-3-метил-6,11,4а-тригидропиперазино[1,2-
 е]пиразино[2,3-b]пиразин-5-он;
 9-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-6,11,4а-тригидроморфолино[4,3-е]пиразино[2,3-
 45 b]пиразин-5-он;
 9-(4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)-6,11,4а-тригидропиперидино[1,2-е]
 пиразино[2,3-b]пиразин-5-он;
 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-

дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(цис-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

5 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(2-морфолиноэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-фенетил-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

10 4-(циклогексилметил)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

15 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

(R)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(тетрагидрофуран-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

(S)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(тетрагидрофуран-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

20 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

(S)-6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3-метил-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

25 9-[6-(1-гидрокси-изопропил)-3-пиридил]-6,11,4a-тригидроморфолино[4,3-e]пиразино[2,3-b]пиразин-5-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

30 6-(2-амино-7-метил-1H-бензо[d]имидазол-5-ил)-4-(3-(трифторметил)бензил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(3-(трифторметил)бензил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

35 9-(4(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)-6,11,4a-тригидроморфолино[4,3-e]пиразино[2,3-b]пиразин-5-он;

6-(4-метил-2-(метиламино)-1H-бензо[d]имидазол-6-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

8-(4(4H-1,2,4-триазол-3-ил)-2-метилфенил)-5,10,3a-тригидропиразино[2,3-b]пирролидино[1,2-e]пиразин-4-он;

40 6-(4(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-этил-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(4(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

45 6-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(4(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(4(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(3-(трифторметил)бензил)-3,4-дигидропиразино

[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

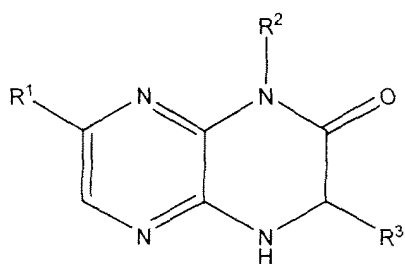
6-(4-метил-1H-бензо[d]имидазол-6-ил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(4-(2-гидроксипропан-2-ил)фенил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

6-(4-(1H-1,2,4-триазол-5-ил)фенил)-4-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

или их фармацевтически приемлемые соли.

Также иллюстративные ингибиторы TOR-киназы включают в себя, но не ограничиваются ими, соединения формулы (II):



(II)

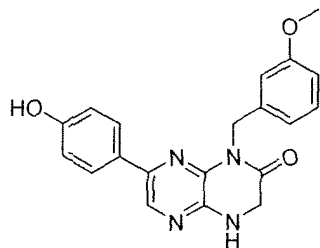
и их фармацевтически приемлемые соли, клатраты, сольваты, стереоизомеры, таутомеры и пролекарства, где:

R^1 представляет собой замещенный или незамещенный C_{1-8} алкил, замещенный или незамещенный арил, замещенный или незамещенный циклоалкил, замещенный или незамещенный гетероциклил или замещенный или незамещенный гетероциклилалкил;

R^2 представляет собой H, замещенный или незамещенный C_{1-8} алкил, замещенный или незамещенный циклоалкил, замещенный или незамещенный гетероциклил, замещенный или незамещенный гетероциклилалкил, замещенный или незамещенный арилалкил или замещенный или незамещенный циклоалкилалкил; и

R^3 представляет собой H или замещенный или незамещенный C_{1-8} алкил.

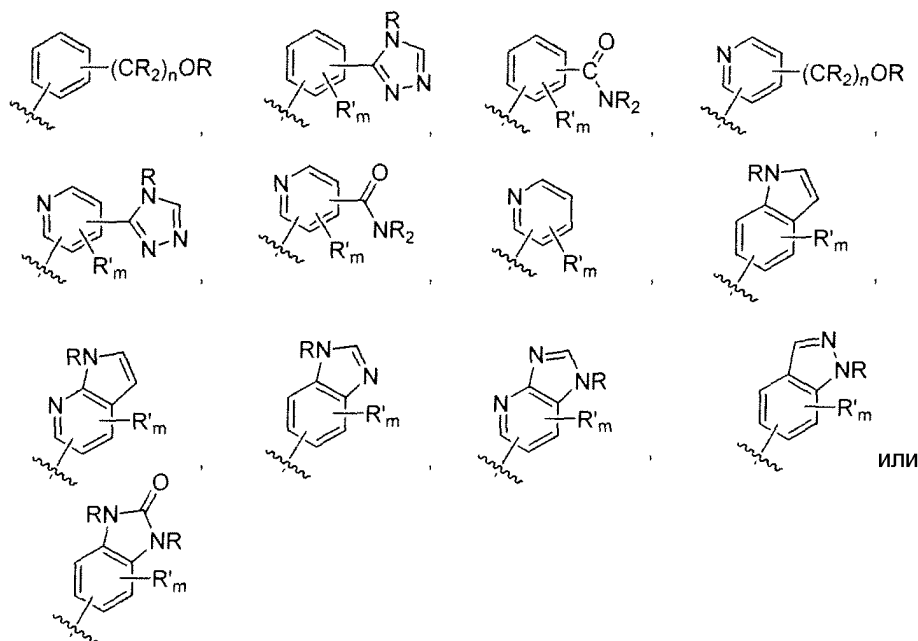
В определенных вариантах осуществления ингибитор TOR-киназы не представляет собой 7-(4-гидроксифенил)-1-(3-метоксибензил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, описанный ниже:



В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (II) R^1 представляет собой замещенный или незамещенный арил или замещенный или незамещенный гетероарил. Например, R^1 представляет собой фенил, пиридил, пиримидил, бензимидазолил, 1H-пирроло[2,3-b]пиридил, индазолил, индолил, 1H-имидазо[4,5-b]пиридил, 1H-имидазо[4,5-b]пиримидин-2(3H)-онил, 3H-имидазо[4,5-b]пиридил или пиазолил, каждый из которых необязательно может быть замещенным. В некоторых

вариантах осуществления R^1 представляет собой фенил, замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила (например, метила), замещенного или незамещенного гетероциклила (например, замещенного или незамещенного триазиолила или пиразолила), аминокарбонила, галогена (например, фтора), циано, гидроксильного алкила и гидрокси. В других вариантах осуществления R^1 представляет собой пиридил, замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила (например, метила), замещенного или незамещенного гетероциклила (например, замещенного или незамещенного триазиолила), галогена, аминокарбонила, циано, гидроксильного алкила (например, гидроксипропила), $-OR$ и $-NR_2$, где каждый из R представляет собой независимо H или замещенный или незамещенный C_{1-4} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой 1H-пирроло [2,3-b]пиридил или бензимидазол, необязательно замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C_{1-8} алкила и $-NR_2$, где R представляет собой независимо H или замещенный или незамещенный C_{1-4} алкил.

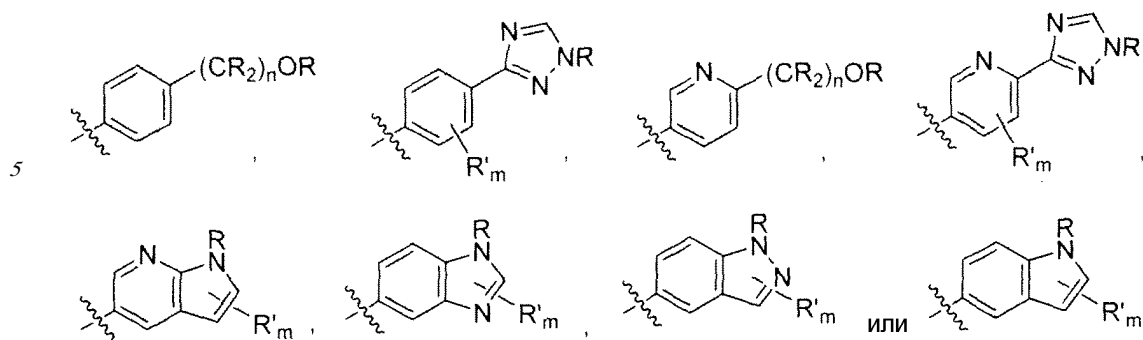
В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой



где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C_{1-4} алкил (например, метил); R' представляет собой в каждом случае независимо замещенный или незамещенный C_{1-4} алкил (например, метил), галоген (например, фтор), циано, $-OR$ или $-NR_2$; m составляет 0-3; и n составляет 0-3.

Специалистам в данной области техники понятно, что какие-либо заместители R' могут быть присоединены к какому-либо подходящему атому какого-либо из колец систем сочлененных циклов.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (II) R^1 представляет собой



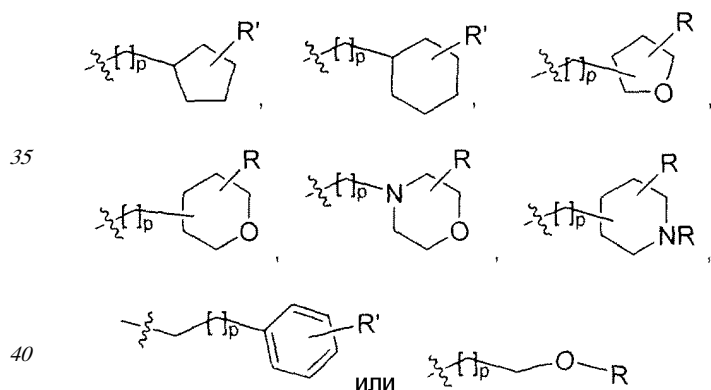
где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил; R' представляет собой в каждом случае независимо замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил, галоген, циано, -OR или -NR₂; m составляет 0-3; и n составляет 0-3.

15 В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (II) R² представляет собой H, замещенный или незамещенный C₁₋₈алкил, замещенный или незамещенный циклоалкил, замещенный или незамещенный гетероцикл, замещенный или незамещенный C₁₋₄алкилгетероцикл, замещенный или незамещенный C₁₋₄алкиларил

20 или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкилциклоалкил. Например, R² представляет собой H, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, циклопентил, циклогексил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, (C₁₋₄алкил)фенил, (C₁₋₄алкил)циклопропил, (C₁₋₄алкил)циклобутил, (C₁₋₄алкил)

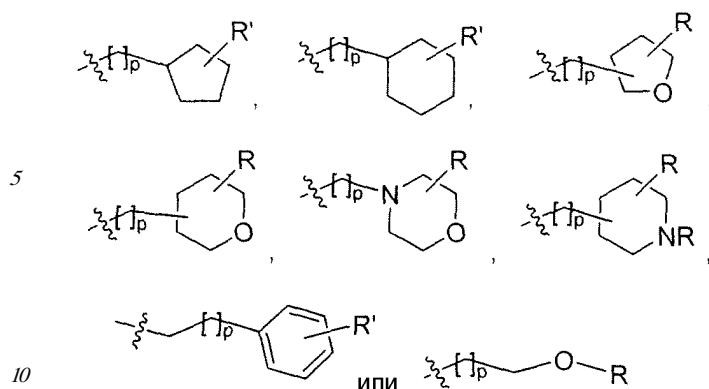
25 циклопентил, (C₁₋₄алкил)циклогексил, (C₁₋₄алкил)пирролидил, (C₁₋₄алкил)пиперидил, (C₁₋₄алкил)пиперазинил, (C₁₋₄алкил)морфолинил, (C₁₋₄алкил)тетрагидрофуранил или (C₁₋₄алкил)тетрагидропиранил, каждый из которых может быть необязательно замещенным.

30 В других вариантах осуществления R² представляет собой H, C₁₋₄алкил, (C₁₋₄алкил)(OR),



где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил (например, метил); R' представляет собой в каждом случае независимо H, -OR, циано или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил (например, метил); и p составляет 0-3.

45 В других вариантах осуществления соединений формулы (II) R² представляет собой H, C₁₋₄алкил, (C₁₋₄алкил)(OR),



где R представляет собой в каждом случае независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₂алкил; R' представляет собой в каждом случае независимо H, -OR, циано или замещенный или незамещенный C₁₋₂алкил; и p составляет 0-1.

В других вариантах осуществления соединений формулы (II) R³ представляет собой H.

В некоторых таких вариантах осуществления, описанных в данном документе, R¹ представляет собой замещенный или незамещенный арил или замещенный или незамещенный гетероарил. Например, R¹ представляет собой фенил, пиридил, пиридил, бензимидазолил, 1H-пирроло[2,3-b]пиридил, индазолил, индолил, 1H-имидазо[4,5-b]пиридин, пиридил, 1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2(3H)-онил, 3H-имидазо[4,5-b]пиридил или пиразолил, каждый из которых может быть необязательно замещенным.

В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой фенил, замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C₁₋₈алкила, замещенного или незамещенного гетероциклила, аминокарбонила, галогена, циано, гидроксильного алкила и гидрокси. В других вариантах R¹ представляет собой пиридил, замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из C₁₋₈алкила, замещенного или незамещенного гетероциклила, галогена, аминокарбонила, циано, гидроксильного алкила, -OR и -NR₂, где каждый из R представляет собой независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил. Кроме того, в других вариантах R¹ представляет собой 1H-пирроло[2,3-b]пиридил или бензимидазолил, необязательно замещенный одним или более заместителями, выбранными независимо из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C₁₋₈алкила и -NR₂, где R представляет собой независимо H или замещенный или незамещенный C₁₋₄алкил.

В определенных вариантах осуществления соединения формулы (II) имеют группу R¹, представленную в данном документе, и группу R², представленную в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления соединений формулы (II) соединение представляет собой

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(цис-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-

дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

1-этил-7-(1H-пирроло[3,2-b]пиридин-5-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(1H-бензо[d]имидазол-4-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-((транс-4-гидроксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(цис-4-гидроксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(цис-4-гидроксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-этил-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-((цис-4-гидроксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(1H-индол-4-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-((транс-4-гидроксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-((цис-4-гидроксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-гидроксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-изопропил-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(транс-4-гидроксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-изопропил-3,4-дигидропиразино

- [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 1-этил-7-(5-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(2-гидроксипиридин-4-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-
 5 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 1-изопропил-7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино
 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 5-(8-изопропил-7-оксо-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]пиразин-2-ил)-4-
 метилпиколинамид;
 10 7-(1H-индазол-4-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-
 b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(2-аминопиримидин-5-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(2-аминопиридин-4-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино
 15 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(6-(метиламино)пиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(6-гидроксипиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-
 дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 20 7-(4-(1H-пиразол-3-ил)фенил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-
 2(1H)-он;
 7-(пиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2(1H)-он;
 7-(1H-индазол-4-ил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 25 7-(1H-индазол-6-ил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(пиримидин-5-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-
 b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(6-метоксипиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино
 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 30 1-(2-метоксиэтил)-7-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2(1H)-он;
 1-этил-7-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)
 -он;
 1-этил-7-(1H-индазол-4-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 35 7-(пиридин-4-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2(1H)-он;
 7-(6-аминопиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино
 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 1-метил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-
 40 b]пиразин-2(1H)-он;
 2-(2-гидроксипропан-2-ил)-5-(8-(транс-4-метоксициклогексил)-7-оксо-5,6,7,8-
 тетрагидропиразино[2,3-b]пиразин-2-ил)пиридин 1-оксид;
 4-метил-5-(7-оксо-8-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-5,6,7,8-тетрагидропиразино
 [2,3-b]пиразин-2-ил)пиколинамид;
 45 5-(8-(цис-4-метоксициклогексил)метил)-7-оксо-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]
 пиразин-2-ил)-4-метилпиколинамид;
 7-(1H-пиразол-4-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-
 b]пиразин-2(1H)-он;

- 1-(транс-4-метоксициклогексил)-7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 3-((7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-2-оксо-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-1(2H)-ил)метил)бензонитрил;
- 5 1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 3-(7-оксо-8-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]пиразин-2-ил)бензамид;
 5-(8-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-7-оксо-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]пиразин-2-ил)-4-метилпиколинамид;
- 10 3-((7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-2-оксо-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-1(2H)-ил)метил)бензонитрил;
 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-((1R,3R)-3-метоксициклопентил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 15 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-((1S,3R)-3-метоксициклопентил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-((1S,3S)-3-метоксициклопентил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-((1R,3S)-3-метоксициклопентил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 20 7-(1H-индазол-6-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(2-морфолиноэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 25 1-(транс-4-гидроксициклогексил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 1-(цис-4-гидроксициклогексил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(2-морфолиноэтил)-3,4-дигидропиразино
- 30 [2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 1-изопропил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(1H-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 35 1-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 1-(транс-4-гидроксициклогексил)-7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 40 1-(цис-4-гидроксициклогексил)-7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 4-(7-оксо-8-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-5,6,7,8-тетрагидропиразино[2,3-b]пиразин-2-ил)бензамид;
 7-(1H-индазол-5-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 45 7-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
 7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

- 1-((1S,3R)-3-метоксициклопентил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 1-((1R,3R)-3-метоксициклопентил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 5 1-((1R,3S)-3-метоксициклопентил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он; 1-((1S,3S)-3-метоксициклопентил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(1H-индол-5-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 10 1-этил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(1H-индол-6-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 15 7-(4-(2-гидроксипропан-2-ил)фенил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 20 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-((цис-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 1-(2-метоксиэтил)-7-(4-метил-2-(метиламино)-1H-бензо[d]имидазол-6-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 25 7-(7-метил-2-оксо-2,3-дигидро-1H-бензо[d]имидазол-5-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 1-(2-метоксиэтил)-7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 30 1-бензил-7-(2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(3-фтор-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 35 7-(3-фтор-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(3-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 1-(транс-4-метоксициклогексил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 40 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он*;
- 7-(5-фтор-2-метил-4-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 45 7-(3-фтор-2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 1-(2-метоксиэтил)-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол)-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

- 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-((транс-4-метоксициклогексил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 1-(циклопентилметил)-7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 5 7-(4-(2-гидроксипропан-2-ил)фенил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- (S)-7-(6-(1-гидроксиэтил)пиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- (R)-7-(6-(1-гидроксиэтил)пиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 10 7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(4-(2-гидроксипропан-2-ил)фенил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 15 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(4-(трифторметил)бензил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(3-(трифторметил)бензил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(3-метоксипропил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 20 7-(4-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(2-метоксиэтил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 25 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(4-метил-2-(метиламино)-1H-бензо[d]имидазол-6-ил)-1-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(2-амино-4-метил-1H-бензо[d]имидазол-6-ил)-1-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 30 7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- (R)-7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3-метил-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 35 (S)-7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3-метил-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-3,3-диметил-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(2-амино-4-метил-1H-бензо[d]имидазол-6-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 40 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 7-(2-метил-4-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)фенил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 45 7-(4-(1H-1,2,4-триазол-5-ил)фенил)-1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
- 1-(1-гидроксипропан-2-ил)-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;

1-(2-гидроксиэтил)-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он;
или их фармацевтически приемлемые соли.

6. ПРИМЕРЫ

5 6.1 ИССЛЕДОВАНИЕ С ПОМОЩЬЮ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

Антитела

Использовали нижеследующие антитела: (i) Phospho-4EBP1 (T37/46), Alexa Fluor 647 Conjugate (фирма Cell Signaling, кат. # 5123); (ii) мышинное к человеку (Mouse Anti-human) CD3 (FITC) (фирма BD Biosciences, кат. # 555332); и (iii) мышинное к человеку CD91 (PE) (фирма BD Biosciences, кат. # 550497).

Реагенты

Использовали нижеследующие реагенты: (i) блокирующий пептид Фосфо-4EBP1 (100 мкг при 1 мг/мл), (фирма Cell Signaling Technology, кат. # 1052) (хранение при -20°C); (ii) пептидный буфер, блокирующий Фосфо-4EBP1, содержащий 20 мМ фосфата калия (рН 7,0), 50 мМ NaCl, 0,1 мМ ЭДТА, 1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (BSA) и 5% глицерина (хранение при -20°C); (iii) буфер BD Stain Buffer (BSA), кат. # 554657, фирма BD Biosciences, содержащий физиологический раствор, забуференный фосфатом Дульбекко (DPBS) рН 7,4, 0,2% (масс./об.) бычий сывороточный альбумин (BSA) и 0,09% азида натрия (NaN₃) (хранение при 4°C); (iv) буфер BD PhosFlow Lyse/fix (5x), кат. # 558049, фирма BD Biosciences, буферный раствор, содержащий <40% формальдегида и <50% диэтиленгликоля (хранение при комнатной температуре); (v) буфер BD PhosFlow Perm Buffer III, кат. # 558050, фирма BD Biosciences, буферный раствор, содержащий 90% метанола (хранение при комнатной температуре); (vi) фиксатор BD Stabilizing Fixative (3x), кат. # 338036, фирма BD Biosciences (хранение при комнатной температуре); (vii) 96-луночный микропланшет Microtest с U-образным дном; кат. # 353077, фирма Falcon; (viii) BD вакуумные пробирки для взятия крови (с гепарином), кат. # 367874 (пластик), кат. # 366480 (стекло); (ix) соединение 1, иллюстративный ингибитор TOR-киназы, найденный в международной патентной публикации № WO 2010/062571, опубликованной 3 июня 2010 г., содержание которой включено в данный документ по ссылке во всей его полноте (см., например, раздел 4.2, страницы 15-43 и таблица 1); (x) цельная кровь от нормальных здоровых добровольцев, полученная от Службы нормальной донорской крови TSRI Normal Blood Donor Service, Ла Джолла, СА; и (xi) цельная кровь от пациента, полученная от фирмы Conversant Biologies.

Обработка цельной крови

35 Цельную кровь собирали от здоровых доноров/пациентов в вакуумные пробирки, содержащие гепарин-натрий (фирма BD, кат. # 367874 (пластик), кат. # 366480 (стеклянные)). Были предприняты меры для тщательного перемешивания крови в пробирке для предотвращения свертывания.

40 Разбавления соединения готовили следующим образом: Соединение 1 растворяли в 100% ДМСО с получением исходных концентраций 30 мМ или 10 мМ, исходные концентрации 30 мМ или 10 мМ соединения 1 разбавляли в 100% ДМСО, чтобы получить исходные концентрации 5 мМ, 0,5 мМ и 0,1 мМ и разбавления 1:100 исходных концентраций 5 мМ, 0,5 мМ и 0,1 мМ выполняли в среде с конечными концентрациями соединения 1, которые составляли 50 мкМ, 5 мкМ и 1 мкМ, соответственно. Разбавления 45 содержали при комнатной температуре перед добавлением в кровь.

1,8 мл цельной крови переносили в коническую пробирку объемом 50 мл и обрабатывали 200 мкл соединения 1, разбавленного в среде, в течение 2 часов в темноте при комнатной температуре. Конечная концентрация соединения 1 составляла 5 мкМ,

0,5 мкМ и 0,1 мкМ, соответственно. Конечная концентрация ДМСО составляла 0,1%. Каждая обработка проводилась в триплетах.

Фиксация и пермеабелизация

5 За время ожидания окончания обработки крови буфер 5x BD Lyse/Fix Buffer (кат. #558049) разбавляли дистиллированной (или деионизированной) водой. Буфер 1x Lyse/Fix предварительно согревали на водяной бане при 37°C в течение 5-10 минут перед использованием.

Клетки лизировали/фиксировали немедленно после смешивания 1 объема крови с 20 объемами буфера 1x Lyse/fix (на 2 мл крови + соединение 1 добавляли 40 мл буфера 1x Lyse/fix) и тщательно смешивали, переворачивая пробирку несколько раз.

Смесь Lyse/fix и крови инкубировали в водяной бане при 37°C в течение 10 минут.

Клетки осаждали центрифугированием при 800xg в течение 5 минут, а супернатант удаляли отсасыванием.

15 Клетки суспендировали в 1,3 мл холодного PBS и переносили в эппендорфовскую пробирку на 1,5 мл. Клетки осаждали центрифугированием при 800xg в течение 5 минут, а супернатант удаляли отсасыванием.

Клетки отмывали 1 мл холодного PBS, осаждали при 800xg в течение 5 минут, а супернатант удаляли отсасыванием. (Клетки также могли быть заморожены при -80°C непосредственно на этой стадии для последующего использования. Если желательно, 20 клетки из 1,8 мл крови могут быть разделены на два флакона для двух комплектов реакций окрашивания). Для случая клеток, замороженных при -80°C, замороженные пробирки с клетками переносили на лед, а клетки суспендировали в 1 мл холодного PBS. Клетки осаждали центрифугированием при 800xg в течение 5 минут, а супернатант удаляли отсасыванием.

25 Клетки суспендировали и пермеабелизировали путем добавления 1 мл буфера Perm Buffer III (1-10x10⁶ клеток) и инкубировали на льду в течение 15 минут (Осадок клеток должен быть хорошо ресуспендирован до отсутствия агрегатов. Важно, чтобы клетки обрабатывались не более чем в течение 30 минут. Избыточная или недостаточная пермеабелизация клеток может влиять на общий сигнал фосфоэпитопа).

30 Клетки осаждали центрифугированием при 880xg в течение 5 минут, а супернатант удаляли отсасыванием.

Клетки отмывали 1 мл красящего буфера, центрифугировали при 880xg в течение 5 минут, а супернатант удаляли отсасыванием.

Добавление антител и сбор данных

35 Клетки пробно окрашивали поверхностными антителами, чтобы убедиться, что поверхностные маркеры совместимы с системой Perm Buffer III (если антитела не совместимы, надо попробовать поверхностное мечение антителами перед обработкой клеток Perm Buffer III. Фирма Becton Dickinson рекомендует использование 20 мкл каждого поверхностного антитела на каждые 100 мкл реакции).

40 Для клеток РВМС из 1,8 мл цельной крови осадок клеток из приведенной выше процедуры ресуспендировали в 30 мкл окрашивающего буфера (40 мкл окрашивающего буфера использовали только для окрашивания клеток CD91). 10 мкл анти-CD3 и 10 мкл анти-CD91 добавляли к клеткам, тщательно перемешивали и инкубировали при 45 комнатной температуре в течение 30 минут в темноте (клетки РС3 не нуждаются в поверхностном окрашивании).

За время ожидания, пока проходит поверхностное окрашивание, готовили 96-луночные планшеты с U-образным дном с фосфоантителами и блокирующим пептидом или буфером. Окрашивающий раствор р4ЕВР1, раствор блокирующего пептида и

контрольный раствор также готовили в период ожидания следующим образом: р4ЕВР1 окрашивающий раствор: 10 частей пептидного буфера + 2 части антител к р4ЕВР1; раствор блокирующего пептида: 10 частей блокирующего пептида + 2 части антител к р4ЕВР1; и контрольный раствор: 10 частей пептидного буфера + 2 части окрашивающего буфера.

12 мкл окрашивающего раствора, раствора блокирующего пептида или контрольного раствора добавляли в лунки планшета в соответствии с нижеследующим порядком:

	1	2	3	4	5		
10	A	Обработка ДМ-СО 1	Обработка 5 мкМ 1	Обработка 0,5 мкМ 1	Обработка 0,1 мкМ 1	Окрашивание р4ЕВР1	
	B	Обработка ДМ-СО 2	Обработка 5 мкМ 2	Обработка 0,5 мкМ 2	Обработка 0,1 мкМ 2		РСЗ ДМСО
	C	Обработка ДМ-СО 3	Обработка 5 мкМ 3	Обработка 0,5 мкМ 3	Обработка 0,1 мкМ 3		РСЗ - 5 мкМ
15	D	Обработка ДМ-СО 1	Обработка ДМ-СО 2	Обработка ДМСО 3	РСЗ ДМСО	РСЗ - 5 мкМ	р4ЕВР1-пептид
	E	Обработка ДМ-СО 1	Обработка ДМ-СО 2	Обработка ДМСО 3	РСЗ ДМСО	РСЗ - 5 мкМ	Контроль

88 мкл разбавленных клеток переносили в каждую лунку, следуя приведенной выше схеме планшета. Планшет осторожно встряхивали, чтобы перемешать окрашивающий буфер с клетками.

Планшет встряхивали при 25 об/мин в темноте при комнатной температуре в течение 30 минут. Клетки осаждали в планшете путем центрифугирования при 880xg в течение 5 минут. Супернатант быстро удаляли, переворачивая планшет и сбрасывая содержимое.

Планшет встряхивали, чтобы отделить осадок клеток в 96-луночном планшете. Клетки отмывали 200 мкл окрашивающего буфера на лунку. Клетки осаждали путем центрифугирования при 880xg в течение 5 минут. Супернатант быстро удаляли, переворачивая планшет и сбрасывая содержимое.

Планшет снова встряхивали при 25 об/мин в темноте при комнатной температуре в течение 30 минут. Клетки осаждали в планшете центрифугированием при 880xg в течение 5 минут. Супернатант быстро удаляли, переворачивая планшет и сбрасывая содержимое.

В ходе центрифугирования трехкратный концентрат стабилизирующего фиксатора фирмы BD разбавляли 1:3 деионизированной водой при комнатной температуре.

Планшет встряхивали, чтобы отделить клеточный осадок. Клетки ресуспендировали в 200 мкл 1x стабилизирующего фиксатора фирмы BD.

Планшет считывали в проточном цитометре FACS Calibur, снабженном аппаратом для считывания 96-луночных планшетов. Планшеты, которые не могут быть считаны немедленно, должны быть покрыты фольгой, чтобы защитить их от света, и храниться при 4°C. Планшеты должны быть считаны в течение 2-3 часов.

Анализ данных был проведен с использованием FlowJo (программное обеспечение для анализа проточной цитометрии) от фирмы Tree Star, Inc. Определяли среднюю/ срединную интенсивность флуоресценции и процент ингибирования фосфорилирования белков.

Результаты проиллюстрированы на фиг.1-4.

6.2 ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ НТН-РЕЗОНАНСНОГО ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ (НТН-FRET) mTOR

Ниже следует пример исследования, которое может быть использовано для определения ингибиторной активности тестируемого соединения в отношении mTOR. Тестируемые соединения растворяли в ДМСО и готовили 10 мМ исходные растворы, разбавляя их подходящим образом для экспериментов. Реагенты готовили следующим

образом:

«Простой буфер TOR» (использованный для разбавления фракции TOR с высоким содержанием глицерина): 10 мМ Трис pH 7,4, 100 мМ NaCl, 0,1% Tween-20, 1 мМ дитиотреитола (DTT). mTOR фирмы Invitrogen (кат. # PR8683A) разбавляли в этом

5 буфере до тестируемой концентрации 0,200 мкг/мл.

Раствор АТФ/субстрат: 0,075 мМ АТФ, 12,5 мМ MnCl₂, 50 мМ Hepes, pH 7,4, 50 мМ β-GOP, 250 нМ Microcystin LR, 0,25 мМ ЭДТА, 5 мМ DTT и 3,5 мкг/мл GST-p70S6.

Раствор реагента детектирования: 50 мМ HEPES, pH 7,4, 0,01% Triton X-100, 0,01% BSA, 0,1 мМ ЭДТА, 12,7 мкг/мл Cy5-αGST фирмы Amersham (кат. # PA92002V), 9 нг/мл

10 α-фосфо p70S6 (Thr389) (Cell Signaling Mouse Monoclonal #9206L), 627 нг/мл α-mouse Lance Eu (фирма Perkin Elmer кат. # AD0077).

К 20 мкл простого буфера mTOR добавляли 0,5 мкл тестируемого соединения в ДМСО. Чтобы запустить реакцию, 5 мкл раствора АТФ/субстрат добавляли к 20 мкл раствора простого буфера TOR (контроль) и к раствору соединения, приготовленного ранее.

15 Испытание останавливали через 60 минут путем добавления 5 мкл 60 мМ раствора ЭДТА; затем добавляли 10 мкл раствора реагента для детектирования, а смеси позволяли устояться в течение по меньшей мере 2 часов перед считыванием на Envision Microplate Reader фирмы Perkin-Elmer с целью детектировать LANCE Eu TR-FRET (возбуждение [на длине волны] 320 нм, а испускание на 495/520 нм).

20 6.3 КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Популяция пациентов содержала мужчин и женщин старше 18 лет.

Соединение 1 вводили перорально в непрерывном режиме один раз в день. Каждую дозу принимали утром, натощак с вечера (минимум 6 часов).

Каждый пациент получал единичную дозу соединения 1 (день -1), после чего следовал

25 24-часовой период покоя и 48-часовой период наблюдения и сбора фармакокинетических образцов, после чего следовал день 1 с ежедневными дозами в течение 28 дней.

Вводили нижеследующие исходные дозы: группа 1 = 7,5 мг; группа 2 = 15 мг; группа 3 = 30 мг; группа 4 = 45 мг. Исходные группы из одного пациента получали соединение 1 с увеличением дозы на 100% (т.е. удвоение дозы каждый раз) до первого случая

30 признаков токсичности второй стадии или выше, которые можно подозревать в связи с соединением 1.

Результаты проиллюстрированы на фиг.5 и 6.

Варианты осуществления, описанные в данном документе, не ограничивают сферы данного изобретения конкретными вариантами осуществления, описанными в примерах,

35 которые направлены на иллюстрирование некоторых аспектов описанных вариантов осуществления и каких-либо функционально эквивалентных вариантов осуществления, охваченных данным описанием. Действительно, различные модификации вариантов осуществления, описанных в данном документе, являются, в дополнение к показанным и описанным в данном документе, очевидными специалистам в данной области техники

40 и направлены на то, чтобы они попали в сферу прилагаемой формулы изобретения.

Процитировано множество ссылок, чье описание включено в данный документ по ссылкам во всей их полноте.

Формула изобретения

45 1. Способ детектирования или измерения ингибирования активности TOR-киназы у пациента, включающий использование проточной цитометрии для измерения количества фосфорилированного 4EVP1 в биологическом образце от упомянутого пациента перед и после введения ингибитора TOR-киназы, где ингибитор TOR-киназы представляет

собой 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или 1-этил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер.

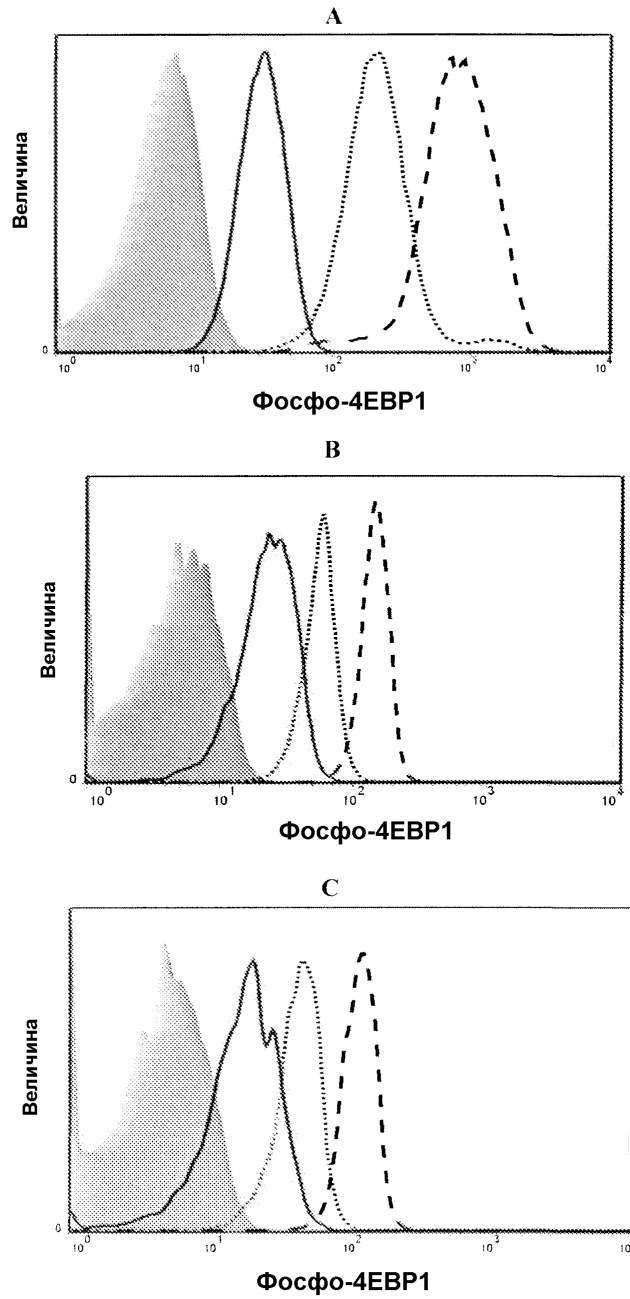
5 2. Способ определения взаимосвязи «доза-ответ» при введении ингибитора TOR-киназы пациенту, где упомянутому пациенту вводят варьирующие дозы упомянутого ингибитора TOR-киназы, а величину ингибирования активности TOR-киназы у упомянутого пациента, возникающую от каждой дозы упомянутого ингибитора TOR-киназы, определяют с помощью проточной цитометрии, чтобы измерить количество
10 фосфорилированного 4EBP1 в биологическом образце от упомянутого пациента перед и после каждого введения упомянутого ингибитора TOR-киназы, где ингибитор TOR-киназы представляет собой 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или 1-этил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2
15 (1H)-он, или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер.

3. Способ определения чувствительности пациента к ингибитору TOR-киназы, включающий введение упомянутому пациенту упомянутого ингибитора TOR-киназы и определение ингибирования TOR-киназы у упомянутого пациента с помощью проточной цитометрии, чтобы измерить количество фосфорилированного 4EBP1 в
20 биологическом образце от упомянутого пациента до и после введения упомянутого ингибитора TOR-киназы, где ингибитор TOR-киназы представляет собой 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или 1-этил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер.
25

4. Способ детектирования или измерения ингибирования активности TOR-киназы в биологическом образце от пациента, включающий использование проточной цитометрии для измерения количества фосфорилированного 4EBP1 в упомянутом биологическом образце до и после контакта упомянутого биологического образца с ингибитором TOR-киназы *ex vivo*, где ингибитор TOR-киназы представляет собой 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или 1-этил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер.
30

5. Набор для использования при проточной цитометрии для детектирования или измерения ингибирования активности TOR-киназы у пациента, включающий один или более контейнеров, заполненных реагентами для детектирования p4EBP1 с помощью проточной цитометрии, и инструкции по детектированию p4EBP1 с помощью проточной цитометрии, и дополнительно один или несколько ингибиторов TOR-киназы, где
40 ингибитор TOR-киназы представляет собой 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или 1-этил-7-(2-метил-6-(4H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он, или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер.
45

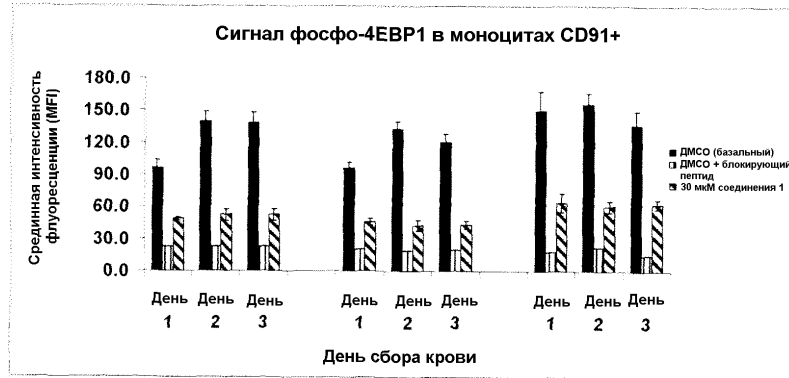
1/6



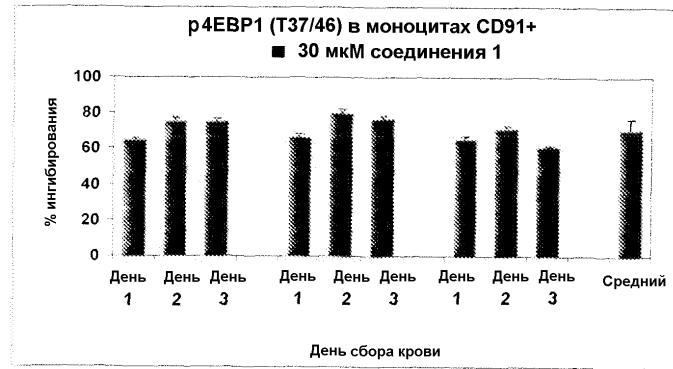
ФИГ. 1

2/6

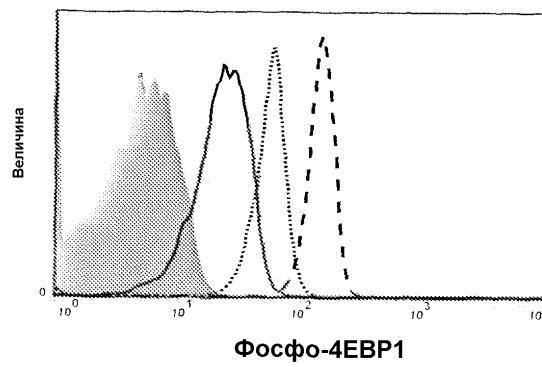
А



В

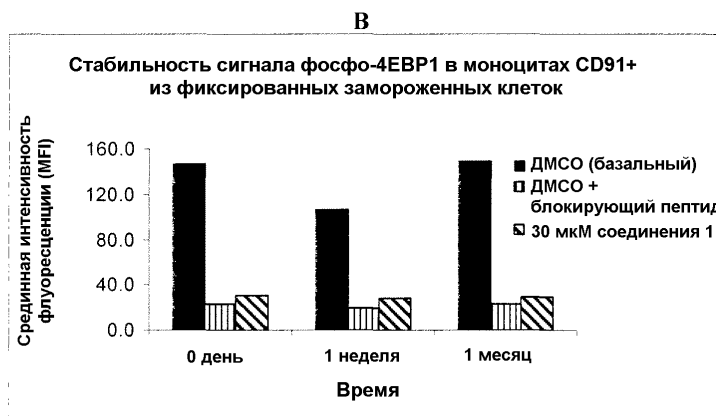
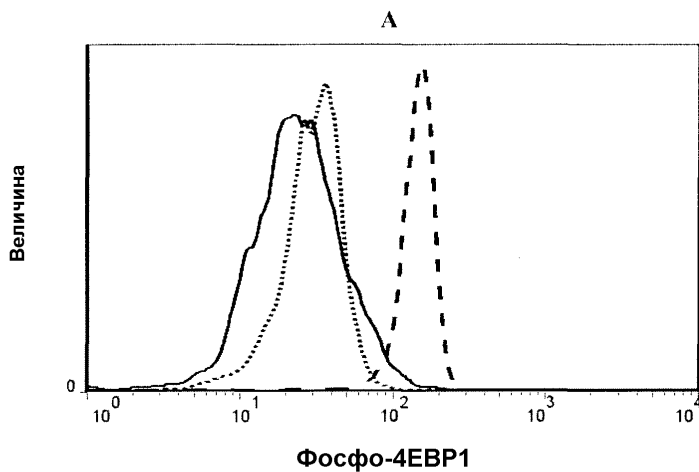


С



ФИГ. 2

3/6



С

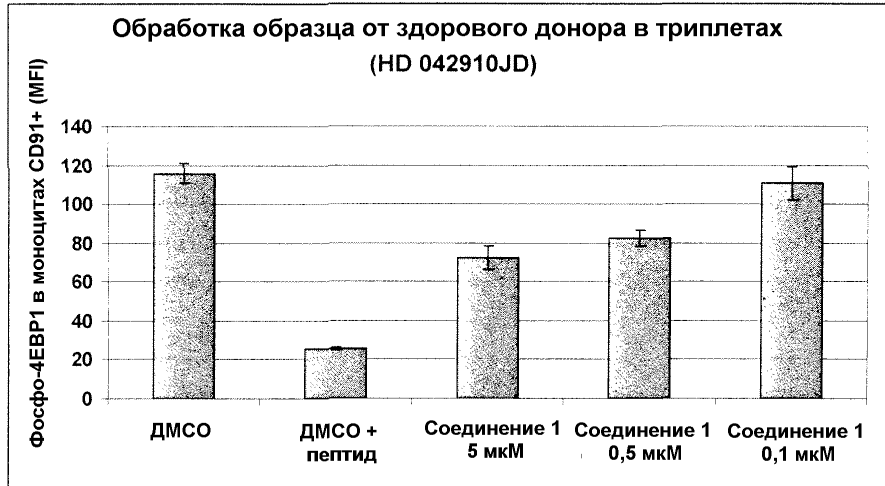
Фосфо-4EBP1 в моноцитах CD91+

Время	ДМСО (базальный)			ДМСО + блокирующий пептид			30 мкМ соединения 1			
	# жизнеспособных	#CD91+	MFI	# жизнеспособных	#CD91+	MFI	# жизнеспособных	#CD91+	MFI	%INH
0 день	49136	3218	147.0	49165	3339	23.8	49102	3082	30.6	94.5
1 неделя	49103	2832	106.6	49081	2565	20.1	49103	2675	28.5	90.3
1 месяц	47426	2720	149.5	47380	2680	23.4	47868	2679	29.5	95.2

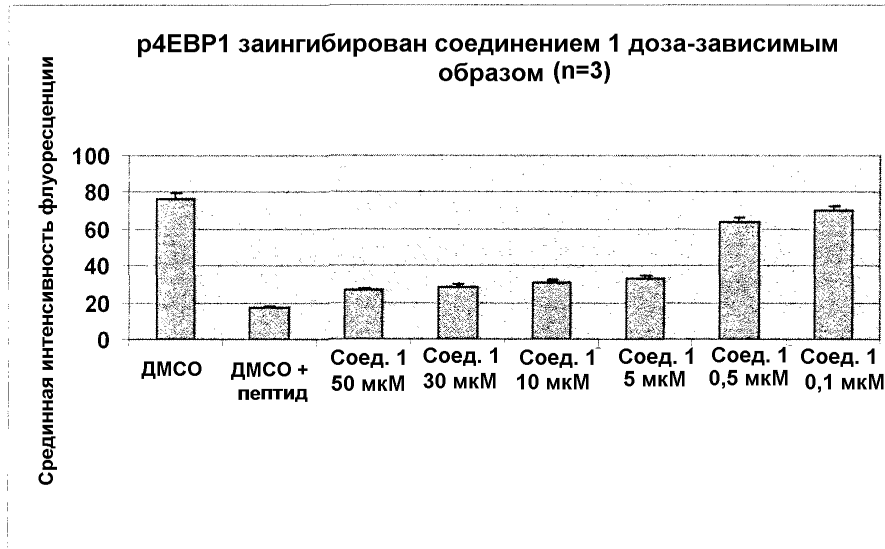
ФИГ. 3

4/6

А

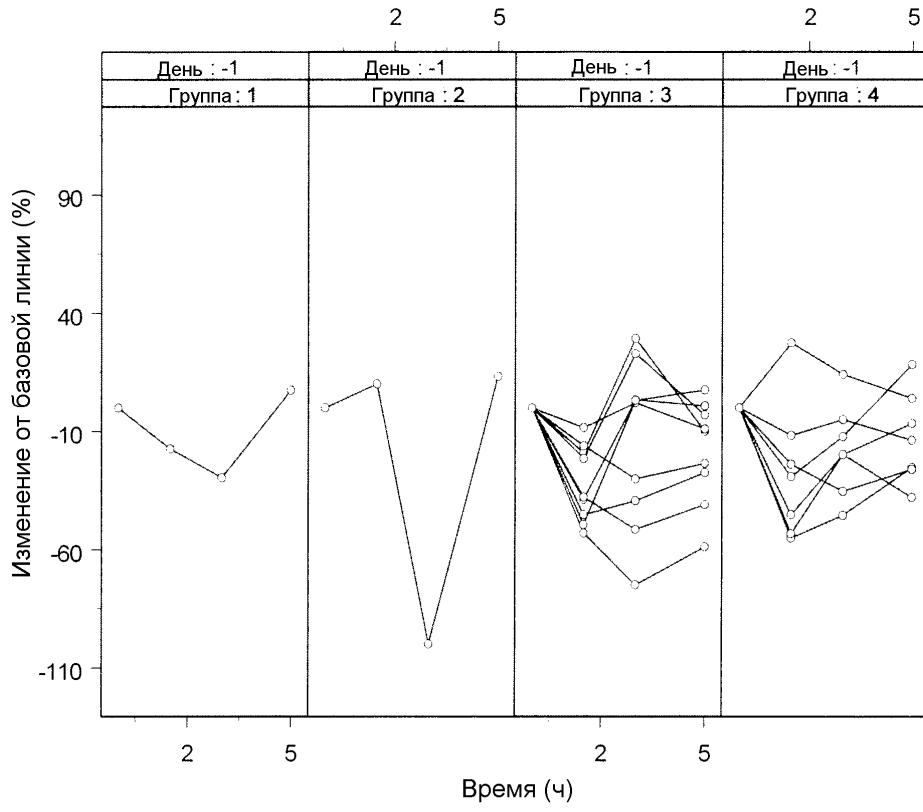


В



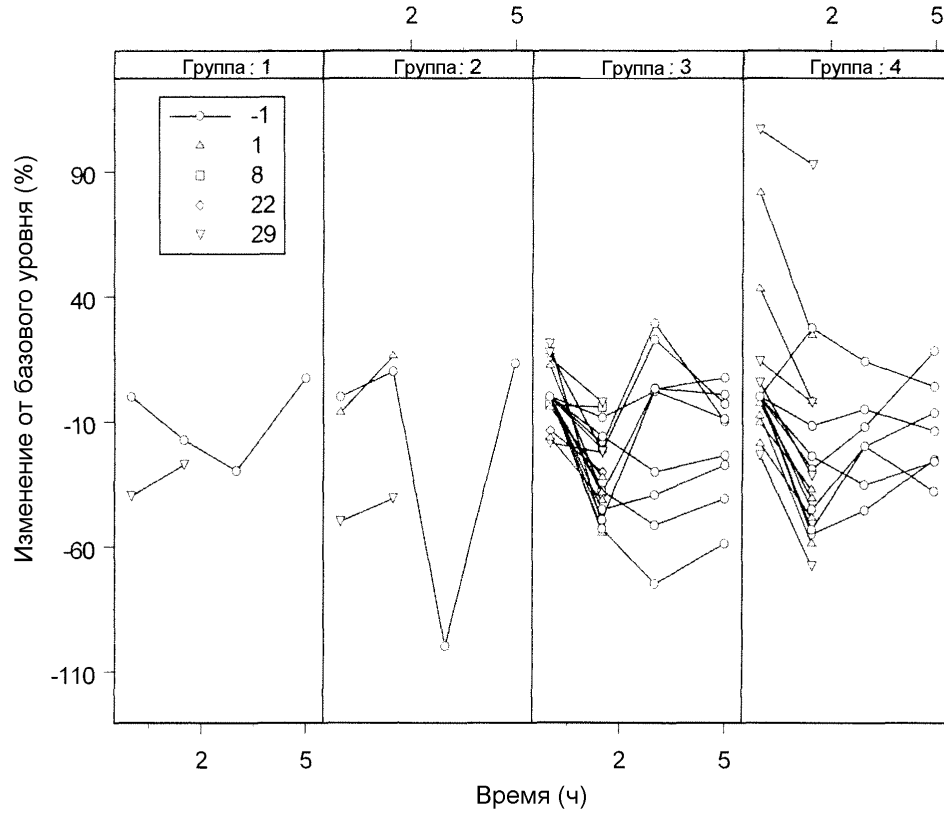
ФИГ. 4

5/6



ФИГ. 5

6/6



ФИГ. 6