

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036453**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.11.12

(21) Номер заявки
201790921

(22) Дата подачи заявки
2015.12.11

(51) Int. Cl. *A61K 31/404* (2006.01)
A61K 31/416 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)

(54) **ЗАМЕЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 2-АНИЛИНПИРИМИДИНА В КАЧЕСТВЕ
МОДУЛЯТОРОВ EGFR**

(31) **62/090,869; 62/166,883**

(32) **2014.12.11; 2015.05.27**

(33) **US**

(43) **2017.12.29**

(86) **PCT/US2015/065286**

(87) **WO 2016/094821 2016.06.16**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БЕТА ФАРМА, ИНК. (US); БЕТА
ФАРМА (ШАНХАЙ) КО., ЛТД. (CN)**

(72) Изобретатель:
**Пэн Цзижун, Костанцо Майкл Джон,
Греко Майкл Николас, Грин Майкл
Алан, Уайлд Виктория Линн, Чжан
Дунь (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) US-A1-20130053409
US-A1-20120316135
US-A1-20080146565
WO-A2-200147922
WO-A1-2010059711
US-B2-7943616

(57) В изобретении предложены новые замещенные производные 2-анилинпиримидина и их фармацевтически приемлемые соли, и композиции, подходящие для лечения или предотвращения заболеваний или состояний, опосредованных рецепторами эпидермального фактора роста (EGFR), включая, но не ограничиваясь ими, различные виды рака.

B1

036453

036453

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет в соответствии с параграфом 119(е) раздела 35 Свода законов США согласно предварительной заявке на патент США № 62/090869, поданной 11 декабря 2014 г., и предварительной заявке на патент США № 62/166883, поданной 27 мая 2015 г., каждая из которых полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки.

Область техники

Настоящее изобретение относится к замещенным производным 2-анилинпиримидина и их фармацевтически приемлемым солям и композициям, подходящим для лечения или предотвращения заболеваний или патологических состояний, таких как различные раковые заболевания, опосредованных мутантными формами рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR).

Уровень техники

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR, Her1, ErbB1) является важнейшим представителем семейства ErbB, состоящего из четырех структурно родственных рецепторов клеточной поверхности, где другие представители указанного семейства представляют собой Her2 (Neu, ErbB2), Her3 (ErbB3) и Her4 (ErbB4). Основные клеточные функции EGFR реализуются за счет присущей ему каталитической тирозинпротеинкиназной активности. Рецептор активируется за счет связывания с лигандами, представляющими собой факторы роста, такие как эпидермальный фактор роста (EGF) и трансформирующий фактор роста-альфа (TGF- α), которые вызывают превращение каталитически неактивных мономеров EGFR в каталитически активные гомо- и гетеродимеры. Указанные каталитически активные димеры затем иницируют внутриклеточную тирозинкиназную активность, приводящую к автофосфорилированию специфичных тирозиновых остатков EGFR и активации сигнальных белков ниже по каскаду. Затем сигнальные белки запускают множество сигнальных каскадов (MAPK, Akt и JNK), которые в конечном итоге регулируют важные биологические процессы клеточного роста, пролиферации, подвижности и выживаемости.

Аномально высокий уровень EGFR встречается на поверхности многих типов раковых клеток, при этом повышенный уровень EGFR связывают с прогрессированием заболевания, распространением рака и неблагоприятным клиническим прогнозом. Мутации EGFR могут приводить к избыточной экспрессии рецептора, его постоянной активации или продолжительной гиперактивности и вызывать неконтролируемый клеточный рост, т.е. рак. Соответственно, мутации EGFR были идентифицированы в нескольких типах злокачественных опухолей, включая метастатический рак легкого, рак головы и шеи, колоректальный рак и рак поджелудочной железы. При раке легкого мутации в основном встречаются в 18-21-м экзонах, которые кодируют АТФ (аденозинтрифосфат)связывающий карман киназного домена. Наиболее клинически значимые мутации EGFR, чувствительные к лекарственным средствам, представляют собой делеции в 19-м экзоне, которые приводят к выпадению общего аминокислотного мотива (LREA), и точечные мутации в 21-м экзоне, которые приводят к замещению лейцина на аргинин в положении 858 (L858R). Указанные две мутации вместе составляют примерно 85% мутаций EGFR, наблюдаемых при раке легкого. Обе мутации вызывают постоянную тирозинкиназную активность и в связи с этим являются онкогенными. Биохимические исследования показали, что указанные мутантные формы EGFR предпочтительно связываются с лекарственными средствами, представляющими собой ингибиторы тирозинкиназ, такими как эрлотиниб и gefitinib, по сравнению с ингибиторами аденозинтрифосфата (АТФ).

Эрлотиниб и gefitinib представляют собой пероральные ингибиторы тирозинкиназы EGFR, которые используются в качестве монотерапии первой линии для лечения пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) с активирующими мутациями в EGFR. Примерно у 70% указанных пациентов изначально наблюдается чувствительность к лечению, но, к сожалению, в дальнейшем развивается устойчивость, при этом среднее время до начала прогрессирования составляет 10-16 месяцев. По меньшей мере у 50% из указанных изначально чувствительных к лечению пациентов прогрессирование заболевания связано с развитием вторичной мутации T790M в 20-м экзоне EGFR (называемой мутацией гена-привратника). Эта дополнительная мутация T790M повышает аффинность киназного домена EGFR к АТФ, снижая таким образом ингибирующую активность АТФ-конкурентных ингибиторов типа gefitinib и эрлотиниба.

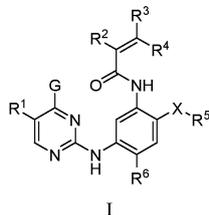
Недавно были разработаны необратимые ингибиторы тирозинкиназы EGFR, которые эффективно ингибируют киназный домен двойного мутанта T790M и, таким образом, позволяют избежать устойчивости, наблюдаемой в клинической практике при использовании обратимых ингибиторов. Указанные ингибиторы содержат реакционноспособные электрофильные функциональные группы, которые реагируют с нуклеофильной тиоловой группой цистеина в активном сайте. Высокоселективные необратимые ингибиторы могут быть получены путем использования собственной селективности нековалентного связывания конкретного каркаса молекулы в сочетании с положением конкретного цистеинового остатка в сайте связывания АТФ. Оба акриламидных фрагмента указанных ингибиторов подвергаются реакции Михаэля с Cys797 в сайте связывания АТФ EGFR^{T790M} с образованием ковалентной связи. Считается, что такой ковалентный механизм позволяет справиться с повышенной аффинностью двойного мутанта EGFR T790M к АТФ и приводит к эффективному ингибированию. Однако указанные ингибиторы могут вызывать различные нежелательные токсические эффекты. Таким образом, на сегодняшний день остае-

ся острая потребность в разработке новых ингибиторов для лечения различных связанных с EGFR раковых заболеваний.

Краткое описание изобретения

Согласно настоящему изобретению, предложены новые соединения в качестве ингибиторов тирозинкиназных EGFR, которые являются терапевтически подходящими для лечения или предотвращения ряда связанных с EGFR заболеваний или расстройств, таких как различные раковые заболевания.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения, предложены соединения формулы I



или их фармацевтически приемлемые соли, где G выбран из 1H-индол-3-ила, 1H-индазол-3-ила, 2H-индазол-3-ила и 4,5,6,7-тетрагидропиразоло[1,5-a]пиридин-3-ила, каждый из которых необязательно замещен одной или двумя C₁-C₂ алкильными группами или одной фторэтильной группой;

X представляет собой кислород;

R¹ выбран из водорода, галогена, метила, трифторметила и циано;

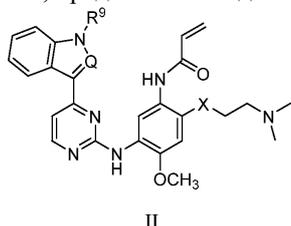
R², R³ и R⁴ являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из водорода, галогена и трифторметила;

R⁵ выбран из C₁-C₇ алкила, 3-6-членного гетероцикла, содержащего атом азота в кольце, необязательно замещенного C₁-C₄ алкильной группой, R⁷R⁸N-(C₁-C₇ алкила) и R⁷R⁸N-(C₃-C₆ циклоалкил-C₁-C₄ алкила), где R⁷ и R⁸ являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из водорода и C₁-C₇ алкила; и

R⁶ выбран из C₁-C₇ алкокси и C₁-C₇ алкила.

Согласно предпочтительным вариантам реализации изобретения, в формуле I G представляет собой

1H-индол-3-ильный или 1H-индазол-3-ильный фрагмент, имеющий формулу  и, согласно настоящему изобретению, предложено соединение формулы II



или его фармацевтически приемлемая соль,

где X представляет собой O;

Q представляет собой C-R¹⁰ или N;

R⁹ представляет собой CH₃ или CH₂CH₂F и

R¹⁰ представляет собой H или CH₃.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложены фармацевтические композиции, содержащие любое из соединений или его фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель.

Соединения и композиции согласно настоящему изобретению применимы для лечения заболеваний, расстройств или состояний, связанных с одной или более мутациями EGFR. Такие заболевания, расстройства или состояния включают заболевания, расстройства или состояния, описанные в настоящей заявке, такие как различные раковые заболевания.

Таким образом, согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложены способы лечения заболеваний или расстройств, связанных с активностью EGFR, таких как различные раковые заболевания, связанные с одной или более мутациями EGFR, или способы применения соединений или композиций в изготовлении лекарственных средств для лечения указанных заболеваний или расстройств.

Согласно другому аспекту, соединения согласно настоящему изобретению применимы для исследования киназ в биологических и патологических процессах; исследования путей передачи сигнала, опосредованных указанными киназами, и сравнительной оценки новых киназных ингибиторов.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложены способы синтеза соединений, описанных в настоящей заявке.

Другие аспекты или преимущества настоящего изобретения будут очевидны при ознакомлении с подробным описанием и формулой изобретения.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показаны результаты анализа подавления опухолевого роста H1975 у мышей для соединения примера 1.

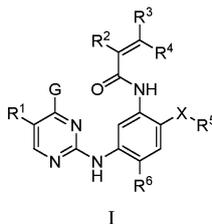
На фиг. 2 показаны результаты анализа подавления опухолевого роста H1975 у мышей для соединения примера 2.

На фиг. 3 показаны результаты анализа подавления опухолевого роста HCC827 у мышей для соединения примера 1.

На фиг. 4 показаны средние концентрации соединения примера 1 в плазме, головном мозге и опухолевых тканях у мышей после перорального введения указанного соединения в дозе 25 мг/кг на мышинной модели ксенотрансплантата HCC827.

Подробное описание изобретения

Согласно одному аспекту настоящего изобретения, предложено соединение формулы I



или его фармацевтически приемлемая соль,

где G выбран из группы, состоящей из замещенного или незамещенного 1Н-индол-3-ила, замещенного или незамещенного 1Н-индазол-3-ила, замещенного или незамещенного 2Н-индазол-3-ила, замещенного или незамещенного пиразоло[1,5-а]пиридин-3-ила и замещенного или незамещенного 4,5,6,7-тетрагидропиразоло[1,5-а]пиридин-3-ила;

X представляет собой кислород, серу или метилен;

R¹ представляет собой водород, галоген, метил, трифторметил или циано;

R², R³ и R⁴ являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена и трифторметила;

R⁵ выбран из группы, состоящей из низшего алкила, необязательно замещенного 3-6-членного гетероциклила, R⁷R⁸N-(низшего алкила) и R⁷R⁸N-(циклоалкилалкила), где R⁷ и R⁸ являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из водорода и низшего алкила; и

R⁶ представляет собой низший алкокси или низший алкил.

Согласно одному варианту реализации данного аспекта, G выбран из группы, состоящей из 1Н-индол-3-ила, 1-метил-1Н-индол-3-ила, 1-(2-фторэтил)-1Н-индол-3-ила, 1,2-диметил-1Н-индол-3-ила, пиразоло[1,5-а]пиридин-3-ила, 4,5,6,7-тетрагидропиразоло[1,5-а]пиридин-3-ила, 1-метил-1Н-индазол-3-ила и 2-метил-2Н-индазол-3-ила.

Согласно предпочтительному варианту реализации изобретения, G выбран из группы, состоящей из 1-метил-1Н-индол-3-ила, 1-(2-фторэтил)-1Н-индол-3-ила, 1,2-диметил-1Н-индол-3-ила, пиразоло[1,5-а]пиридин-3-ила и 1-метил-1Н-индазол-3-ила.

Согласно более предпочтительному варианту реализации изобретения, G представляет собой 1-метил-1Н-индол-3-ил, 1-(2-фторэтил)-1Н-индол-3-ил или 1,2-диметил-1Н-индол-3-ил и, более предпочтительно, 1-метил-1Н-индол-3-ил.

Согласно другому более предпочтительному варианту реализации изобретения, G представляет собой пиразоло[1,5-а]пиридин-3-ил.

Согласно другому более предпочтительному варианту реализации изобретения, G представляет собой 1-метил-1Н-индазол-3-ил.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, R⁵ выбран из группы, состоящей из C₁-C₆ алкила, замещенного или незамещенного азетидинила, замещенного или незамещенного пирролидинила, замещенного или незамещенного пиперидинила, R⁷R⁸N-(CH₂)_n- (n представляет собой целое число, выбранное из 1-5), R⁷R⁸N-(C₃-C₆ циклоалкил)-(CH₂)_m- (m=1, 2, 3), где R⁷ и R⁸ являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из водорода и низшего алкила.

Согласно предпочтительному варианту реализации данного аспекта, R⁵ выбран из группы, состоящей из метила, 1-(диметиламино)циклопропилметила, 3-(диметиламино)циклобутила, 1-метилазетидин-3-ила, (R)-1-метилпирролидин-3-ила, (S)-1-метилпирролидин-3-ила и 1-метилпиперидин-4-ила и 2-диметиламиноэтила.

Согласно более предпочтительному варианту реализации изобретения, R⁵ представляет собой 2-диметиламиноэтил (т.е. (CH₃)₂NCH₂CH₂-).

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, R¹ представляет собой водород, галоген или метил.

Согласно предпочтительному варианту реализации данного аспекта, R¹ представляет собой водород.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, R^2 представляет собой водород или галоген, где галоген предпочтительно представляет собой F или Cl.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, R^3 представляет собой водород, F, Cl или $-CF_3$.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, R^4 представляет собой водород.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, R^2 представляет собой водород, F или Cl; R^3 представляет собой водород, F, Cl или $-CF_3$ и R^4 представляет собой водород.

Согласно предпочтительному варианту реализации данного аспекта, все из R^2 , R^3 и R^4 представляют собой водород.

Согласно предпочтительному варианту реализации данного аспекта, R^6 представляет собой низший алкокси, предпочтительно, метокси или этокси.

Согласно более предпочтительному варианту реализации изобретения, R^6 представляет собой метокси.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, X иногда предпочтительно представляет собой кислород.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, X иногда предпочтительно представляет собой серу.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, X иногда предпочтительно представляет собой $-CH_2-$.

Специалисту в данной области техники очевидно, что подразумеваются любые допустимые и структурно возможные комбинации всех вариантов реализации изобретения или предпочтительных вариантов реализации изобретения, описанных в настоящей заявке, которые, таким образом, специально включены в настоящее изобретение.

Например, согласно некоторым вариантам реализации данного аспекта,

G выбран из группы, состоящей из 1H-индол-3-ила, 1-метил-1H-индол-3-ила, 1-(2-фторэтил)-1H-индол-3-ила, 1,2-диметил-1H-индол-3-ила, пиразоло[1,5-a]пиридин-3-ила, 4,5,6,7-тетрагидропирозоло[1,5-a]пиридин-3-ила, 1-метил-1H-индазол-3-ила и 2-метил-2H-индазол-3-ила;

X выбран из группы, состоящей из кислорода, серы и метилена;

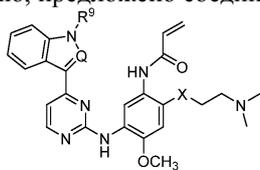
R^1 выбран из группы, состоящей из водорода, галогена, метила, трифторметила и циано;

R^2 , R^3 и R^4 являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена и трифторметила;

R^5 выбран из группы, состоящей из 1-(диметиламино)циклопропилметила, 3-(диметиламино)циклобутила, 1-метилазетидин-3-ила, (R)-1-метилпирролидин-3-ила, (S)-1-метилпирролидин-3-ила и 1-метилпиперидин-4-ила и 2-диметиламиноэтила; и

R^6 представляет собой низший алкокси.

Согласно предпочтительным вариантам реализации изобретения, G представляет собой 1H-индол-3-ильный или 1H-индазол-3-ильный фрагмент, имеющий формулу  и, согласно настоящему изобретению, предложено соединение формулы II



II

или его фармацевтически приемлемая соль,

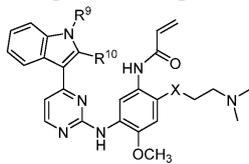
где X представляет собой O, S или CH_2 ;

Q представляет собой $C-R^{10}$ или N

R^9 представляет собой CH_3 или CH_2CH_2F и

R^{10} представляет собой H или CH_3 .

Согласно одному предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле II Q представляет собой $C-R^{10}$ и, согласно настоящему изобретению, предложено соединение формулы III



III

или его фармацевтически приемлемая соль,

где R^9 представляет собой CH_3 или CH_2CH_2F и

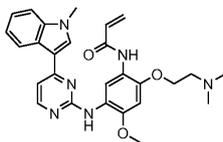
R^{10} представляет собой H или CH_3 .

Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения, в соединении формулы III R⁹ представляет собой CH₃ и R¹⁰ представляет собой H.

Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения, в соединении формулы III R⁹ представляет собой CH₃ и R¹⁰ представляет собой CH₃.

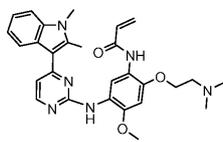
Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения, в соединении формулы III R⁹ представляет собой 2-фторэтил(FCH₂CH₂-) и R¹⁰ представляет собой H.

Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле III R⁹ представляет собой CH₃, R¹⁰ представляет собой H и X представляет собой O, при этом указанное соединение имеет структуру формулы 1



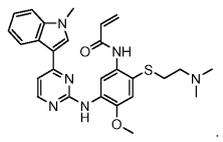
1

Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле III R⁹ представляет собой CH₃, R¹⁰ представляет собой CH₃ и X представляет собой O, при этом указанное соединение имеет структуру формулы 8



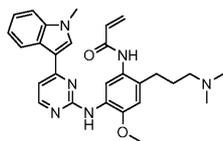
8

Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле III R⁹ представляет собой CH₃, R¹⁰ представляет собой H и X представляет собой S, при этом указанное соединение имеет структуру формулы 2



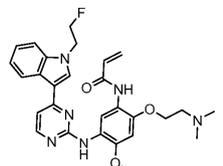
2

Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле III R⁹ представляет собой CH₃, R¹⁰ представляет собой H и X представляет собой CH₂, при этом указанное соединение имеет структуру формулы 4



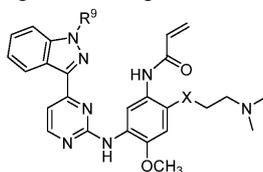
4

Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле III R⁹ представляет собой -CH₂CH₂F, R¹⁰ представляет собой H и X представляет собой O, при этом указанное соединение имеет структуру формулы 11



11

Согласно одному предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле II Q представляет собой N и, согласно настоящему изобретению, предложено соединение формулы IV

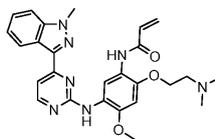


IV

или его фармацевтически приемлемая соль, где R⁹ представляет собой H или CH₃ и X представляет

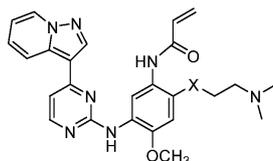
собой O, S или CH₂.

Согласно более предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле IV R⁹ представляет собой H или CH₃ и X представляет собой O, при этом указанное соединение имеет структуру формулы 10



10

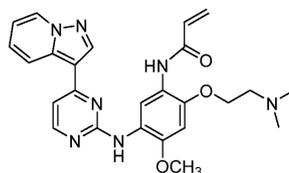
Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации изобретения, в формуле I G представляет собой пиразоло[1,5-a]пиридин-3-ил и, согласно настоящему изобретению, предложено соединение формулы V



V

или его фармацевтически приемлемая соль, где X представляет собой O, S или CH₂.

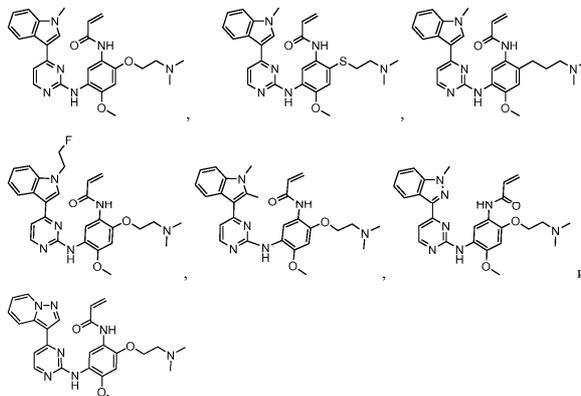
Согласно более предпочтительному варианту реализации изобретения, в формуле V X представляет собой O, при этом указанное соединение имеет структуру формулы 9



9

Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения, предложено соединение, выбранное из группы, состоящей из перечисленных примеров, или его фармацевтически приемлемая соль.

Более предпочтительные соединения перечислены ниже



Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложена фармацевтическая композиция, содержащая любое из соединений формул I-V или их фармацевтически приемлемых солей и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант, разбавитель и/или наполнитель.

Согласно одному варианту реализации данного аспекта, композиция также содержит второй терапевтический агент.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, второй терапевтический агент представляет собой другой модулятор EGFR.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложен способ лечения заболевания или расстройства, связанного с активностью EGFR, включающий введение пациенту, нуждающемуся в указанном лечении, терапевтически эффективного количества соединения любой из формул I-V или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции.

Согласно одному варианту реализации данного аспекта, заболевание или расстройство связано с

одной или более мутациями EGFR.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, мутация или мутации EGFR выбраны из активирующих мутаций L858R, delE746-A750, G719S; активирующей делеции 19-го экзона и мутации T790M, связанной с устойчивостью.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, заболевание или расстройство представляет собой рак.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, рак выбран из рака головного мозга, рака легкого, рака почки, рака кости, рака печени, рака мочевого пузыря, рака головы и шеи, рака пищевода, рака желудка, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака молочной железы, рака яичников, меланомы, рака кожи, рака надпочечника, рака шейки матки, лимфомы и опухолей щитовидной железы и их осложнений.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, способ применяется совместно с введением указанному пациенту второго терапевтического агента.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, второй терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент.

Согласно другому варианту реализации данного аспекта, второй терапевтический агент представляет собой другой модулятор EGFR.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложен способ ингибирования мутантного EGFR у субъекта, включающий приведение биологического образца указанного субъекта во взаимодействие с соединением одной из формул I-V согласно любому варианту реализации настоящего изобретения, описанному в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемой солью. Такое ингибирование может осуществляться *in vitro* или *in vivo*. В случае применения *in vivo* указанный способ может включать введение указанному субъекту соединения одной из формул I-V согласно любому варианту реализации настоящего изобретения, описанному в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемой соли. В случае применения *in vitro* такое ингибирование может проводиться в среде в любой емкости, как известно специалисту в данной области техники.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено применение соединения одной из формул I-V согласно любому варианту реализации настоящего изобретения, описанному в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции соединения одной из формул I-V согласно любому варианту реализации настоящего изобретения, описанной в настоящей заявке, для изготовления лекарственного средства для лечения заболевания или расстройства, связанного с активностью EGFR.

Согласно одному варианту реализации данного аспекта, заболевание или расстройство представляет собой рак, выбранный из группы, состоящей из рака головного мозга, рака легкого, рака почки, рака кости, рака печени, рака мочевого пузыря, рака головы и шеи, рака пищевода, рака желудка, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака молочной железы, рака яичников, меланомы, рака кожи, рака надпочечника, рака шейки матки, лимфомы и опухолей щитовидной железы и их осложнений. Согласно предпочтительному варианту реализации изобретения, рак представляет собой рак головного мозга или рак легкого. Рак легкого включает, но не ограничивается указанными, немелкоклеточный рак легкого и мелкоклеточный рак легкого.

При употреблении в настоящей заявке термины имеют обычное значение, известное специалисту в данной области техники, если иное специально не указано.

При употреблении в настоящей заявке термин "галоген" относится к F, Cl или Br.

Термин "низший алкил" относится к алкильной группе с прямой или разветвленной углеводородной цепью, содержащей от одного до семи атомов углерода, предпочтительно, от одного до четырех и, более предпочтительно, от одного до двух атомов углерода.

Термин "низший алкокси" относится к алкоксигруппам (-OR), содержащим от одного до семи, предпочтительно, от одного до четырех и, более предпочтительно, от одного до двух атомов углерода.

Термин "циано" относится к -CN.

Термин "фармацевтически приемлемый" при употреблении в настоящей заявке относится к таким соединениям, материалам, композициям и/или формам дозирования, которые по результатам тщательной медицинской проверки являются подходящими для применения в контакте с тканями пациентов и не проявляют избыточной токсичности, не вызывают раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соответствуют благоприятному отношению риск/польза и являются эффективными для их предполагаемого применения.

При употреблении в настоящей заявке термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к таким солям, которые по результатам тщательной медицинской проверки являются подходящими для применения в контакте с тканями человека и других животных и не обладают излишней токсичностью, не вызывают раздражения, аллергической реакции и т.д. и соответствуют благоприятному отношению риск/польза. Фармацевтически приемлемые соли соединений согласно настоящему изобретению включают соли, происходящие из подходящих неорганических и органических кислот и оснований. Примеры фармацевтически приемлемых нетоксичных солей присоединения кислот представляют собой соли, об-

разованные между аминогруппой и неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и перхлорная кислота, или с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота, или полученные с помощью других способов, используемых в данной области техники, таких как ионный обмен. Другие фармацевтически приемлемые соли включают адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, хемисульфат, гепаноат, гексаноат, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, п-толуолсульфонат, ундеканоат, валерат и т.д.

Когда для применения в терапии возможно вводить терапевтически эффективное количество соединения согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли в виде неочищенного химического вещества, активный ингредиент может быть представлен в виде фармацевтической композиции. Таким образом, изобретение дополнительно обеспечивает фармацевтические композиции, содержащие любые соединения согласно настоящему изобретению или их фармацевтически приемлемые соли и один или более, предпочтительно, от одного до трех фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей или других вспомогательных веществ. Носитель (носители), разбавитель (разбавители) или другое вспомогательное вещество (вещества) должно быть приемлемым с точки зрения совместимости с другими ингредиентами лекарственной формы и безвредным для субъекта, подлежащего лечению.

Фармацевтические лекарственные формы могут быть представлены в виде стандартных лекарственных форм, содержащих заранее определенное количество активного ингредиента на дозу. Как правило, фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению вводят от примерно 1 до примерно 5 раз в день или, альтернативно, в виде непрерывной инфузии. Такое введение можно использовать в качестве продолжительной или интенсивной терапии. Количество активного ингредиента, которое можно объединять с материалом носителя для получения одной формы дозирования, варьирует в зависимости от состояния, подлежащего лечению, тяжести указанного состояния, времени введения, способа введения, скорости выведения используемого соединения, продолжительности лечения и возраста, пола, массы тела и состояния здоровья пациента. Предпочтительные стандартные лекарственные формы представляют собой формы, содержащие суточную дозу или часть дозы, перечисленной выше в настоящей заявке, или подходящую фракцию дозы активного ингредиента. В целом, лечение начинают с малых доз, которые по существу ниже оптимальной дозы соединения. После этого дозу повышают с небольшим шагом до достижения оптимального эффекта при данных условиях. В целом, соединение наиболее предпочтительно вводят в концентрации, в целом обеспечивающей эффективные результаты и не вызывающей существенного вреда или негативных побочных эффектов.

В случаях, когда композиции согласно настоящему изобретению содержат комбинацию соединений согласно изобретению и одного или более, предпочтительно, одного или двух дополнительных терапевтических или профилактических агентов, доза указанных соединений и дополнительного агента обычно составляет между примерно 10 и 150%, более предпочтительно, между примерно 10 и 80% от дозы, которую в норме вводят при монотерапии.

Фармацевтические лекарственные формы могут быть адаптированы для введения с помощью любого подходящего способа, например, путем перорального введения (включая буккальное или сублингвальное введение), ректального, назального, местного (включая буккальное, сублингвальное или трансдермальное), вагинального или парентерального введения (включая подкожное, внутривенное, внутримышечное, внутрисуставное, интрасиновиальное, внутривенное, интратекальное введение, введение в пораженную область, внутривенные или внутривенные инъекции или инфузии). Такие лекарственные формы могут быть получены с помощью любого способа, известного в области фармации, например, путем приведения активного ингредиента во взаимодействие с носителем (носителями) или вспомогательным веществом (веществами). Пероральное введение или введение путем инъекции является предпочтительным.

Фармацевтические лекарственные формы, адаптированные для перорального введения, могут быть представлены в виде дискретных единиц, таких как капсулы или таблетки; порошки или гранулы; растворы или суспензии в водных или безводных жидкостях; пищевые пены или крема; или жидкие эмульсии по типу "масло в воде" или по типу "вода в масле".

Например, для перорального введения в виде таблетки или капсулы компонент активного лекарственного средства можно объединять с нетоксичным фармацевтически приемлемым инертным носителем для перорального введения, таким как этанол, глицерин, вода и т.д. Порошки получают путем измельчения соединения до подходящего мелкого размера и его смешивания с измельченным подобным образом фармацевтическим носителем, таким как пригодные для употребления в пищу углеводы, например крахмал или маннит. Также может быть включен ароматизатор, консервант, диспергирующий агент и краситель.

Капсулы получают путем приготовления порошковой смеси, как описано выше, и наполнения полученных желатиновых оболочек. Глиданты и скользящие вещества, такие как коллоидный диоксид кремния, тальк, стеарат магния, стеарат кальция или твердый полиэтиленгликоль, можно добавлять к порошковой смеси до процедуры заполнения. Дезинтегрирующий или солубилизирующий агент, такой как агар-агар, карбонат кальция или карбонат натрия, также можно добавлять для улучшения доступности лекарственного средства при приеме капсулы.

Более того, при желании или необходимости в смесь также могут быть включены подходящие связующие вещества, скользящие вещества, дезинтегрирующие агенты и красители. Подходящие связующие вещества включают крахмал, желатин, природные сахара, такие как глюкоза или бета-лактоза, сахаристые вещества из кукурузы, природные и синтетические смолы, такие как камедь, трагант или альгинат натрия, карбоксиметилцеллюлозу, полиэтиленгликоль и т.д. Скользящие вещества, используемые в указанных формах дозирования, включают олеат натрия, хлорид натрия и т.д. Дезинтегрирующие вещества включают, но не ограничиваются указанными, крахмал, метилцеллюлозу, агар, бетонит, ксантановую камедь и т.д. Лекарственные формы в виде таблеток получают, например, путем приготовления порошковой смеси, гранулирования или комкования, добавления скользящего вещества и дезинтегратора и прессования в таблетки. Порошковую смесь получают путем смешивания комкованных подходящим образом соединений с разбавителем или основой, описанной выше, и необязательно со связующим веществом, таким как карбоксиметилцеллюлоза, альгинат, желатин или поливинилпирролидон, агентом, замедляющим растворение, таким как парафин, ускорителем резорбции, таким как четвертичная соль, и/или агентом абсорбции, таким как бетонит, каолин или дикальция фосфат. Порошковую смесь можно гранулировать путем увлажнения с помощью связующего вещества, такого как сироп, крахмальная паста, раствор камеди или растворы целлюлозных или полимерных материалов, и продавливания через сито. В качестве альтернативы гранулированию порошковую смесь можно прогонять через таблеточную машину, в результате чего получают не полностью сформированные заготовки, распадающиеся на гранулы. Гранулы можно пластифицировать для предотвращения их прилипания к формообразующим элементам штампов таблеточной машины путем добавления стеариновой кислоты, стеарата, талька или минерального масла. Пластифицированную смесь затем прессуют в таблетки. Соединения согласно настоящему изобретению также можно объединять с легкосыпучим носителем и непосредственно прессовать в таблетки без прохождения этапов гранулирования или комкования. Может обеспечиваться прозрачное или непрозрачное защитное покрытие, включающее изолирующее покрытие на основе шеллака, сахарное покрытие или покрытие на основе полимерного материала и восковую политуру. К указанным покрытиям можно добавлять красящие вещества для отличия разных лекарственных форм.

Жидкости для перорального применения, такие как раствор, сиропы и эликсиры, могут быть получены в стандартной лекарственной форме таким образом, чтобы данное количество содержало заранее определенное количество соединения. Сиропы могут быть получены путем растворения соединения в подходящим образом ароматизированном водном растворе, тогда как эликсиры получают путем применения нетоксичного наполнителя. Также можно добавлять солубилизаторы и эмульгаторы, такие как этоксилированные изостеариловые спирты и эфиры сорбита полиоксиэтилена, консерванты, ароматическую добавку, такую как мало мяты перечной, или природные подсластители или сахарин или другие искусственные подсластители и т.д.

В подходящих случаях стандартные лекарственные формы для перорального введения могут быть микроинкапсулированными. Также можно получать лекарственные формы с замедленным или продолжительным высвобождением, например, путем покрытия или заключения материала в виде частиц в полимеры, воск и т.д.

Следует понимать, что помимо ингредиентов, в частности, перечисленных выше, лекарственные формы могут содержать другие агенты, которые обычно используются в области техники, имеющей отношение к соответствующему типу лекарственной формы, например агенты, подходящие для перорального введения, могут включать ароматизаторы.

Термин "пациент" или "субъект" включает человека и других млекопитающих.

Термин "млекопитающее" или "млекопитающее животное" включает, но не ограничивается указанными, людей, собак, кошек, лошадей, свиней, коров, обезьян, кроликов и мышей. Предпочтительно млекопитающее представляет собой человека.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству соединения или композиции, которое при введении субъекту для лечения заболевания является достаточным для осуществления такого лечения указанного заболевания. "Терапевтически эффективное количество" может варьировать в зависимости от конкретного соединения, заболевания и его тяжести, а также возраста, массы тела или других характеристик субъекта, подлежащего лечению, среди прочих. При употреблении в отношении единственного активного ингредиента, вводимого отдельно, термин относится только к указанному ингредиенту. При употреблении в отношении комбинации термин относится к общему количеству активных ингредиентов, приводящему к терапевтическому эффекту при последовательном или одновременном введении в указанной комбинации.

Термин "осуществление лечения" или "лечение" относится к (i) подавлению заболевания, расстрой-

ства или состояния, т.е. задержке его развития; (ii) устранению заболевания, расстройства или состояния, т.е. стимуляции регрессии указанного заболевания, расстройства и/или состояния; или (iii) предотвращению возникновения заболевания, расстройства или состояния у субъекта, который может иметь предрасположенность к развитию указанного заболевания, расстройства и/или состояния, но у которого указанное заболевание, расстройство и/или состояние еще не диагностировано. Таким образом, согласно одному варианту реализации изобретения, термин "осуществление лечения" или "лечение" относится к облегчению заболевания или расстройства, которое может включать облегчение одного или более физических параметров, которое при этом может быть незаметным для субъекта, подвергаемого лечению. Согласно другому варианту реализации изобретения, термин "осуществление лечения" или "лечение" включает физическое (например, путем стабилизации видимых симптомов) или физиологическое (например, путем стабилизации физического параметра) модулирование заболевания или расстройства, или как физическое, так и физиологическое модулирование указанного заболевания или расстройства. Согласно другому варианту реализации изобретения, термин "осуществление лечения" или "лечение" включает задержку возникновения заболевания или расстройства.

В случаях, когда термин "примерно" употребляется в отношении параметра, такого как количество, температура, время и т.д., указанный термин, как правило, указывает на то, что параметр может варьировать на $\pm 10\%$, предпочтительно, в пределах $\pm 5\%$ и, более предпочтительно, в пределах $\pm 2\%$. Специалисту в данной области техники очевидно, что если параметр не является критичным, то его значение, представленное в Примерах, часто приводится исключительно в целях иллюстрации и не ограничивает настоящее изобретение.

Употребление в настоящей заявке предмета в единственном числе включает как единственное, так и множественное число указанного предмета. В целом, при употреблении любой из формы единственного или множественного числа существительного указанная форма обозначает как единственное, так и множественное число указанного существительного.

Следующие далее неограничивающие примеры дополнительно иллюстрируют конкретные аспекты настоящего изобретения.

Примеры

Химический синтез.

Соединения согласно настоящему изобретению в целом получают в соответствии со схемами синтеза 1-8 иллюстративных неограничивающих примеров, описанных ниже.

Сокращения.

Могут использоваться следующие сокращения:

ТГФ=тетрагидрофуран;

Конц.=концентрированная;

DI EA=DIPEA=диизопропилэтиламин;

Насыщ.=насыщенный водный раствор;

КФХ=колоночная флэш-хроматография с использованием силикагеля;

ТФУ=трифторуксусная кислота;

RT=комнатной температуры;

DI=деионизированная;

ДМЭ=1,2-диметоксиэтан;

ДМФА=N,N-диметилформамид;

ДМСО=диметилсульфоксид;

ДМА=N,N-диметилацетамид;

НАТУ=гексафторфосфат O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония;

EtOAc=этилацетат;

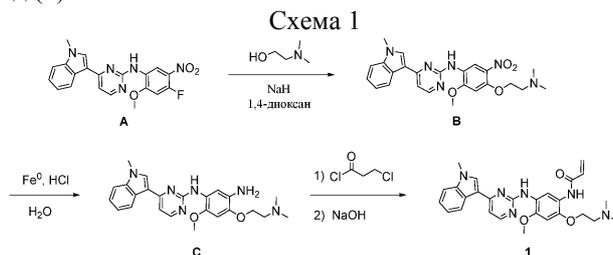
ч=час (часы);

NMM=N-метилморфолин;

Pd₂(dba)₃=трис-(дибензилиденацетон)дипалладий(0);

P(o-tol)₃=три(o-толил)фосфин.

Пример 1. N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-4-метокси-5-((4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (1).



N-(4-(2-(Диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-

амин (схема 1, промежуточное соединение В).

К суспензии, содержащей NaH (30 ммоль, 60% масляная дисперсия, предварительно промытая гексаном) и 50 мл 1,4-диоксана, по каплям добавляли 2-диметиламиноэтанол (27 ммоль, 2,7 мл) при перемешивании в атмосфере N₂. После перемешивания в течение 1 ч порциями добавляли суспензию А (5,4 ммоль) в 50 мл 1,4-диоксана в течение 15 мин под струей N₂. Полученную смесь перемешивали в течение ночи, затем выливали в воду и твердое вещество собирали, промывали водой и сушили в вакууме с получением 2,6 г продукта в виде твердого вещества желтого цвета. Очищенный образец получали в результате хроматографии (силикагель; градиент CH₂Cl₂-CH₃OH). ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,26 (s, 6H), 2,70 (t, 2H, J=6 Гц), 3,87 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 4,32 (t, 2H, J=6 Гц), 7,00-7,53 (m, 5H), 8,18-8,78 (m, 5H); C₂₄H₂₆N₆O₄ m/z MH⁺ 463.

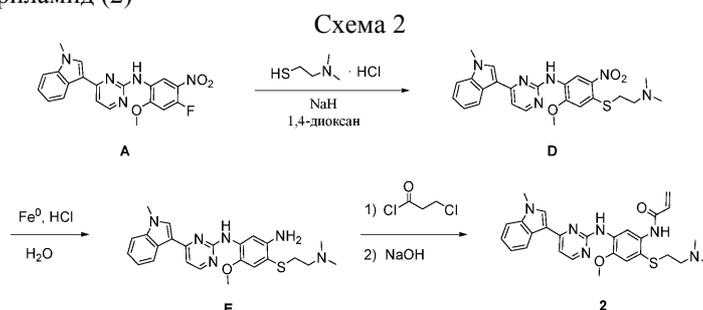
4-(2-(Диметиламино)этокси)-6-метокси-N1-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамин (схема 1, промежуточное соединение С).

Суспензию, содержащую 2,6 г промежуточного соединения В, 1,6 г Fe⁰, 30 мл этанола, 15 мл воды и 20 мл концентрированной HCl, нагревали до 78°C в течение 3 ч. Раствор охлаждали до комнатной температуры, значение pH доводили до 10 с помощью 10% водного раствора NaOH и разбавляли CH₂Cl₂. Смесь фильтровали через фильтр Dicalite и слои фильтрата разделяли. Водную фазу экстрагировали CH₂Cl₂ два раза и объединенные органические экстракты сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. В результате колоночной хроматографии (силикагель, градиент CH₂Cl₂-MeOH) получали 1,2 г промежуточного соединения С в виде твердого вещества. C₂₄H₂₈N₆O₂ m/z MH⁺ 433.

N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-4-метокси-5-((4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (1).

К раствору, содержащему промежуточное соединение С (2,8 ммоль) в 50 мл ТГФ и 10 мл воды, добавляли по каплям 3-хлорпропионилхлорид (2,8 ммоль) при перемешивании. Через 5 ч перемешивания добавляли NaOH (28 ммоль) и смесь нагревали при 65°C в течение 18 ч. После охлаждения до комнатной температуры ТГФ частично удаляли при пониженном давлении и смесь экстрагировали CH₂Cl₂, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. В результате хроматографии неочищенного продукта (силикагель, CH₂Cl₂-MeOH) получали 0,583 г соединения примера 1 в виде твердого вещества бежевого цвета. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,28 (s, 6H), 2,50-2,60 (m, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,90 (s, 3H), 4,19 (t, 2H, J=5,5 Гц), 5,73-5,77 (m, 1H), 6,21-6,27 (m, 1H), 6,44-6,50 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 7,11-7,53 (перекрывание: m, 3H), 7,90 (s, 1H), 8,27-8,30 (перекрывание: m, 3H), 8,55 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 9,84 (s, 1H) ppm; C₂₇H₃₀N₆O₃ m/z MH⁺ 487.

Пример 2. N-(2-((2-(Диметиламино)этил)тио)-4-метокси-5-((4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (2)



N-(4-((2-(Диметиламино)этил)тио)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 2, промежуточное соединение D).

К суспензии, содержащей NaH (54 ммоль, 60% масляная дисперсия, предварительно промытая гексаном) и 25 мл ДМФА, добавляли суспензию гидрохлорида 2-диметиламиноэтантола (27 ммоль) в 25 мл ДМФА под струей N₂. После перемешивания в течение 45 мин к указанной смеси добавляли порциями суспензию А (5,4 ммоль) в 25 мл ДМФА в течение 15 мин под струей N₂. Полученную в результате смесь перемешивали в течение ночи, затем выливали в воду и твердое вещество собирали, несколько раз промывали водой и сушили в вакууме с получением 2,5 г продукта в виде твердого вещества желтого цвета. C₂₄H₂₆N₆O₃S m/z MH⁺ 479.

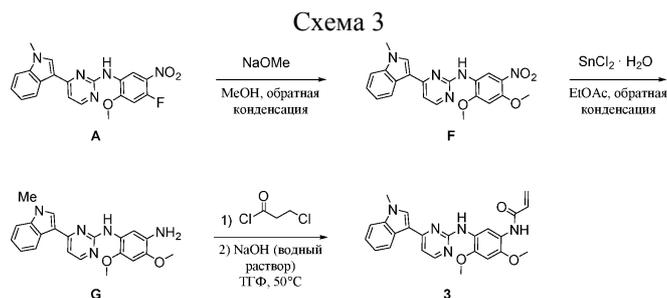
4-((2-(Диметиламино)этил)тио)-6-метокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамин (схема 2, промежуточное соединение E).

Суспензию, содержащую 2,5 г промежуточного соединения D, 3,0 г Fe⁰, 50 мл этанола, 20 мл воды и 7 мл концентрированной HCl, нагревали до 78°C в течение 3 ч. Раствор охлаждали до комнатной температуры, значение pH доводили до 10 с помощью 10% водного раствора NaOH и разбавляли CH₂Cl₂. Смесь фильтровали через фильтр Dicalite и слои фильтрата разделяли. Водную фазу экстрагировали CH₂Cl₂ два раза и объединенные органические экстракты сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. В результате колоночной хроматографии (силикагель, градиент CH₂Cl₂-MeOH) получали 1,2 г промежуточного соединения E в виде твердого вещества. C₂₄H₂₈N₆O₃S m/z MH⁺ 449.

N-(2-((2-(Диметиламино)этил)тио)-4-метокси-5-((4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (2).

К раствору, содержащему промежуточное соединение E (2,7 ммоль) в 50 мл ТГФ и 10 мл воды, добавляли по каплям 3-хлорпропионилхлорид (4,0 ммоль) при перемешивании. Через 2 ч перемешивания добавляли NaOH (27 ммоль) и смесь нагревали при 65°C в течение 18 ч. После охлаждения до комнатной температуры ТГФ частично удаляли при пониженном давлении и смесь экстрагировали CH₂Cl₂, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. В результате хроматографии неочищенного продукта (силикагель, градиент CH₂Cl₂-MeOH-NH₄OH) получали 0,622 г соединения примера 2 в виде твердого вещества не совсем белого цвета. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,19 (s, 6H), 2,34 (t, 2H, J=6,5 Гц), 2,98 (t, 2H, J=6,5 Гц), 3,91 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 5,50-6,57 (перекрывание: m, 3H), 7,12-9,88 (перекрывание: m, 10H), 10,17 (s, 1H) ppm. C₂₇H₃₀N₆O₂S m/z MH⁺ 503.

Пример 3. N-(2,4-Диметокси-5-((4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)-фенил) акриламид (3)



N-(2,4-Диметокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 3, промежуточное соединение F).

25% (по массе) раствор метоксида натрия в метаноле (40 мл, 175 ммоль) медленно выливали в перемешиваемую суспензию N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 1, промежуточное соединение A; 5,8 г, 14,7 ммоль) в метаноле (125 мл) при температуре окружающей среды и нагревали при температуре обратной конденсации в течение 4 дней под слоем азота. Твердое вещество во время указанных процедур не растворялось. Реакционную смесь охлаждали, полученный осадок выделяли посредством фильтрования, промывали холодным метанолом и сушили с получением 5,45 г N-(2,4-диметокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение F) в виде порошка желтого цвета. C₂₁H₁₉N₅O₄ m/z MH⁺ 406.

4,6-Диметокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамин (схема 3, промежуточное соединение G).

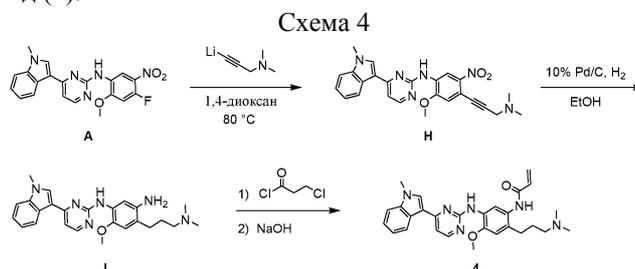
К перемешиваемой суспензии N-(2,4-диметокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение F; 3,2 г, 7,9 ммоль) в этилацетате (200 мл) добавляли дигидрат хлорида олова (8,9 г, 39,4 ммоль) при температуре окружающей среды и смесь нагревали при температуре обратной конденсации в атмосфере азота в течение 3 ч. Реакционной смеси позволяли охлаждаться, затем выливали в 5% (мас./об.) раствор бикарбоната натрия в дистиллированной воде (400 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Затем полученную гетерогенную смесь фильтровали через плотноупакованный диатомитовый фильтр Celite и промывали отфильтрованный осадок этилацетатом. Фильтрат переносили в разделительную воронку и жидкие фазы разделяли. Оставшийся раствор продукта в этилацетате промывали солевым раствором и сушили над безводным сульфатом кальция. В результате фильтрования и выпаривания получали 1,6 г неочищенного продукта. В результате очистки с помощью градиентной флэш-хроматографии (SiO₂, 0-70% гексаны/этилацетат в течение 20 мин) получали 0,9 г 4,6-диметокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамина (промежуточное соединение G) в виде пены желтого цвета. C₂₁H₂₁N₅O₂ m/z MH⁺ 376.

N-(2,4-Диметокси-5-((4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (3).

Хлорид 3-хлорпропаноила (90 мкл, 0,92 ммоль) быстро добавляли с помощью шприца к быстро перемешанному раствору 4,6-диметокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамина (промежуточное соединение G; 351 мг, 0,94 ммоль) и N-метилморфолина (0,11 мл, 1,0 ммоль) в этилацетате (9,4 мл) при температуре окружающей среды в атмосфере азота, при этом сразу наблюдалось образование осадка. Реакции позволяли протекать в течение 40 мин, реакционную смесь выпаривали до высыхания и растворяли в 10% (по объему) смеси дистиллированная вода/тетрагидрофуран. Добавляли твердый гидроксид натрия (3 г, 75 ммоль) и перемешанную смесь нагревали до 50°C в течение 17 ч. Реакционный раствор охлаждали, распределяли между солевым раствором и этилацетатом. Фазу этилацетата сушили над безводным сульфатом кальция, фильтровали и затем охлаждали на ледяной бане при перемешивании и медленно разбавляли гексанами для осаждения продукта. Указанный в заголовке материал выделяли посредством фильтрования и сушили с получением 189 мг соединения примера 3 в виде тонкодисперсного порошка светло-желтого цвета. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 3,88 (s, 6H), 3,90 (s, 3H), 5,70 (dd, 1H, J=10,15, 1,92 Гц), 6,22 (dd, 1H, J=16,95, 2,03 Гц), 6,70 (q, 1H, J=9,06 Гц), 6,85 (s, 1H), 7,11-

7,17 (m, 2H), 7,23 (t, 1H, J=6,96 Гц), 7,50 (d, 1H, J=8,23 Гц), 7,93 (s, 1H), 8,28 (m, 2H), 8,47 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 9,38 (s, 1H) ppm. ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО) δ 33,4, 56,5, 56,7, 97,3, 107,1, 110,8, 113,0, 118,5, 119,5, 121,3, 121,5, 122,3, 122,5, 125,9, 126,4, 132,8, 133,8, 138,1, 147,3, 148,3, 157,8, 160,8, 162,3, 163,5 ppm. $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_3$ m/z MH^+ 430.

Пример 4 N-(2-(3-(Диметиламино)пропил)-4-метокси-5-((4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (4).



N-(4-(3-(Диметиламино)проп-1-ин-1-ил)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 4, промежуточное соединение Н).

Раствор 3-диметиламино-1-пропина (1,37 мл, 12,7 ммоль) в 1,4-диоксане (60 мл) обрабатывали 1 М раствором бис-(триметилсилил)амида лития (12,7 мл, 12,7 ммоль) и перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре в атмосфере азота. Полученную реакционную смесь, которая образовывалась в виде белой суспензии, обрабатывали одной порцией N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение А; 1,00 г, 2,54 ммоль) и нагревали при 80°C при интенсивном перемешивании в атмосфере азота в течение 5 ч. Полученную реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, гасили путем добавления 10 мл воды и затем концентрировали в вакууме. Осадок распределяли между водой (100 мл) и CH_2Cl_2 (50 мл). Основной водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (2×50 мл) и объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (2×50 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 1,0 г неочищенного продукта в виде темного твердого вещества буро-коричневого цвета. Указанный материал очищали с помощью градиентной флэш-хроматографии на SiO_2 при элюировании 0-10% метанолом (содержащим 2% NH_4OH) в CH_2Cl_2 в течение 60 мин с получением 98 мг N-(4-(3-(диметиламино)проп-1-ин-1-ил)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение Н) в виде твердого вещества оранжевого цвета. $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_3$ m/z MH^+ 457.

4-(3-(Диметиламино)пропил)-6-метокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамин (схема 4, промежуточное соединение I).

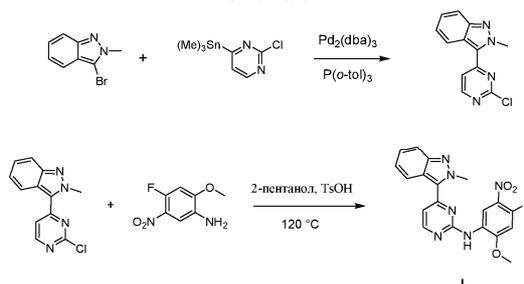
К раствору N-(4-(3-(диметиламино)проп-1-ин-1-ил)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение Н; 50 мг, 0,109 ммоль) в 10 мл смеси ТГФ/метанол (1:1) добавляли 10% Pd/C (10 мг) в атмосфере азота. Наполненный водородом баллон соединяли с реакционным сосудом и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 6 ч. Реакционную смесь фильтровали через диатомитовый фильтр Celite 545 и концентрировали в вакууме с получением 50 мг неочищенного продукта. Указанный материал очищали с помощью градиентной флэш-хроматографии на SiO_2 при элюировании 0-10% метанолом (содержащим 2% NH_4OH) в CH_2Cl_2 в течение 50 мин с получением 34 мг 4-(3-(диметиламино)пропил)-6-метокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамина (промежуточное соединение I) в виде пены. $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}$ m/z MH^+ 431.

N-(2-(3-(Диметиламино)пропил)-4-метокси-5-((4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (4).

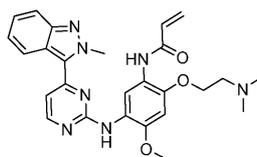
К раствору 4-(3-(диметиламино)пропил)-6-метокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамина (промежуточное соединение I; 34 мг, 0,079 ммоль) в 3,2 мл смеси ТГФ/вода (9:1) при комнатной температуре при перемешивании в атмосфере азота быстро добавляли хлорид 3-хлорпропаноила (18,2 мкл, 0,190 ммоль). Через 3 ч добавляли 1 М водный раствор NaOH (0,79 мл, 0,79 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 65°C в течение 17 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой (15 мл) и полученный осадок светло-серого цвета выделяли посредством фильтрования с получением 31 мг неочищенного продукта. Указанный материал очищали с помощью градиентной флэш-хроматографии на SiO_2 при элюировании 0-10% метанолом (содержащим 2% NH_4OH) в CH_2Cl_2 в течение 35 мин с получением 22 мг соединения примера 4 в виде твердого вещества не совсем белого цвета. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,81-1,92 (m, 2H), 2,16 (t, 2H, J=5,9 Гц), 2,27 (s, 6H), 2,69 (t, 2H, J=6,3 Гц), 3,89 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 5,71 (dd, 1H, J=10,1, 1,9 Гц), 6,25 (dd, 1H, J=16,9, 10,1 Гц), 6,48 (dd, 1H, J=16,9, 1,9 Гц), 6,66 (s, 1H), 7,17 (d, 1H, J=5,3 Гц), 7,22-7,43 (m, 3H), 7,72 (s, 1H), 8,05-8,12 (m, 1H), 8,37 (d, 1H, J=5,3 Гц), 8,85 (s, 1H), 9,33 (s, 1H), 10,95, (br s, 1H); $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_2$ m/z MH^+ 485.

Примеры 5-7.

Схема 5

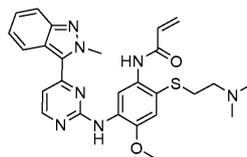


N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-4-метокси-5-((4-(2-метил-2Н-индазол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (5)



5

N-(2-((2-(Диметиламино)этил)тио)-4-метокси-5-((4-(2-метил-2Н-индазол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (6)



6

N-(2,4-Диметокси-5-((4-(2-метил-2Н-индазол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (7)

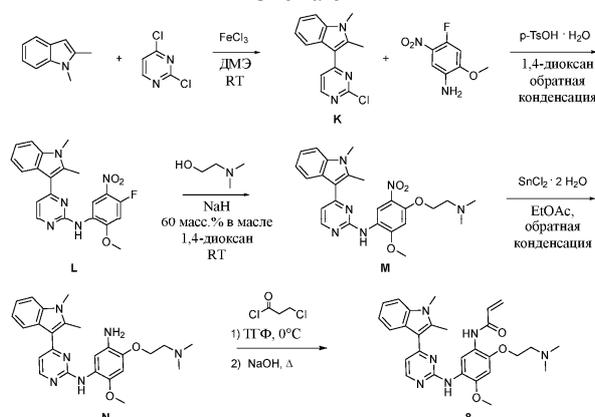


7

Процесс синтеза N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(2-метил-2Н-индазол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение J) показан выше на схеме 5. Соединения примеров 5-7 получали, как описано на схемах 1-3 соответственно, с использованием промежуточного соединения J вместо промежуточного соединения А в каждой из указанных схем.

Пример 8. N-(5-((4-(1,2-Диметил-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)-2-(2-(диметиламино)этокси)-4-метоксифенил)акриламид (8)

Схема 6



3-(2-Хлорпиримидин-4-ил)-1,2-диметил-1Н-индол (схема 6, промежуточное соединение К). К дегазированному чистому раствору желтого цвета, содержащему 1,2-диметил-1Н-индол (4,9 г, 33,8 ммоль) и 2,4-дихлорпиримидин (5,2 г, 33,9 ммоль), растворенный в безводном 1,2-диметоксиэтаноле (100 мл) при температуре окружающей среды быстро добавляли трихлорид железа (5,8 г, 34,7 ммоль) при перемешивании. Полученный непрозрачный раствор черного цвета перемешивали при температуре окружающей

среды в течение 3 ч в безводной атмосфере азота, затем медленно выливали в быстро перемешанный 5% (мас./об.) водный раствор NaHCO_3 (400 мл). Неочищенный продукт выделяли посредством фильтрования и промывали дистиллированной водой на фильтре. Осадок суспендировали в метаноле (200 мл) и выпаривали до высыхания для удаления избытка воды, затем растирали в горячем ацетонитриле, позволяли охлаждаться и фильтровали с выделением 6,2 г 3-(2-хлорпиримидин-4-ил)-1,2-диметил-1Н-индола (промежуточное соединение К) в виде порошка коричневого цвета. ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,77 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 7,23 (квинтет, 2H, $J=7,53$ Гц), 7,57 (d, 1H, $J=7,25$ Гц), 7,72 (d, 1H, $J=5,61$ Гц), 8,10 (d, 1H, $J=7,46$ Гц), 8,61 (d, 1H, $J=5,43$ Гц) ppm. ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО) δ 12,8, 30,3, 108,8, 110,8, 117,5, 120,0, 121,8, 122,5, 125,8, 137,4, 142,6, 159,8, 160,4, 165,2 ppm. $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClN}_3$ m/z MH^+ 258.

4-(1,2-Диметил-1Н-индол-3-ил)-N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)пиримидин-2-амин (схема 6, промежуточное соединение L).

В колбу на 100 мл с круглым дном, снабженную обратным конденсатором и впускным отверстием для насаивания азота, содержащую смесь 3-(2-хлорпиримидин-4-ил)-1,2-диметил-1Н-индола (1,47 г, 5,70 ммоль), 4-фтор-2-метокси-5-нитроанилина (1,06 г, 5,69 ммоль) и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты (1,31 г, 6,89 ммоль), добавляли 1,4-диоксан (57 мл, чистый для анализа). Суспензию нагревали до температуры обратной конденсации в атмосфере азота при перемешивании с помощью магнитной мешалки. При приближении температуры к температуре обратной конденсации суспендированное твердое вещество растворялось. Температуру обратной конденсации поддерживали в течение ночи, затем реакционную смесь охлаждали и выливали в быстро перемешиваемую дистиллированную воду (250 мл) для осаждения продукта. Неочищенный продукт выделяли посредством фильтрования, промывали водой и перекристаллизовывали из кипящего 2-пропанола с получением 2,06 г 4-(1,2-диметил-1Н-индол-3-ил)-N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение L) в виде тонкодисперсного порошка желтого цвета. ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,71 (s, 3H), 3,78 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 7,10-7,20 (m, 3H), 7,41 (d, 1H, $J=13,4$ Гц), 7,55 (d, 1H, $J=7,99$ Гц), 7,98 (d, 1H, $J=7,90$ Гц), 8,44 (d, 1H, $J=5,70$ Гц), 8,83 (br s, 1H), 8,93 (d, 1H, $J=8,38$ Гц). $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{FN}_5\text{O}_3$ m/z MH^+ 408.

4-(1,2-Диметил-1Н-индол-3-ил)-N-(4-(2-(диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)пиримидин-2-амин (схема 6, промежуточное соединение M).

К перемешиваемой суспензии 60% (по массе) натрия (173 мг, 4,33 ммоль) в безводном 1,4-диоксане при температуре окружающей среды добавляли 2-диметиламиноэтанол (0,43 мл, 4,27 ммоль) с помощью шприца в течение 5 мин. Легко наблюдалось выделение газа. Через десять мин после прекращения наблюдаемого выделения газа в стакан добавляли одной порцией чистый 4-(1,2-диметил-1Н-индол-3-ил)-N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение J) (351 мг, 0,86 ммоль) при быстром перемешивании. Реакционная суспензия сразу приобретала густой красно-коричневый цвет. Через 5 мин отбирали аликвоту реакционной смеси, гасили в дистиллированной воде и экстрагировали этилацетатом. Анализ указанного экстракта с помощью сверхэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (СЭЖХ-МС) показал завершение реакции. Содержимое стакана затем выливали в перемешиваемый раствор хлорида аммония (0,23 г, 4,30 ммоль) в дистиллированной воде (150 мл) для осаждения продукта. Осадок желтого цвета выделяли посредством фильтрования, промывали дистиллированной водой и позволяли высушиваться с получением 386 мг 4-(1,2-диметил-1Н-индол-3-ил)-N-(4-(2-(диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение M). $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_4$ m/z MH^+ =477.

N^1 -(4-(1,2-Диметил-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)-4-(2-(диметиламино)-этокси)-6-метоксибензол-1,3-диамин (схема 6, промежуточное соединение N).

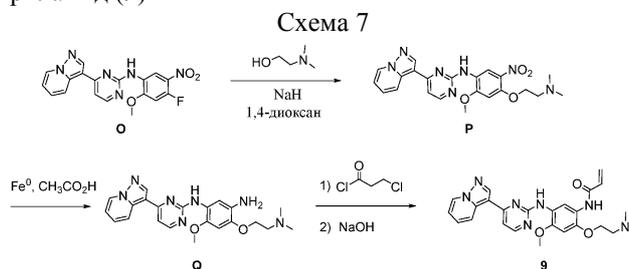
К перемешиваемой суспензии 4-(1,2-диметил-1Н-индол-3-ил)-N-(4-(2-(диметил-амино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение M; 386 мг, 0,81 ммоль) в этилацетате (40 мл) при температуре окружающей среды добавляли дигидрат хлорида олова (1,73 г, 7,67 ммоль) и смесь нагревали при температуре обратной конденсации в атмосфере азота в течение 17 ч. Реакции позволяли охлаждаться, затем выливали в 1% (мас./об.) раствор гидроксида натрия в дистиллированной воде (200 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Гетерогенную смесь фильтровали через плотноупакованный диатомитовый фильтр Celite и промывали отфильтрованный осадок этилацетатом. Фильтрат переносили в разделительную воронку и жидкие фазы разделяли. Оставшийся раствор продукта в этилацетате промывали солевым раствором, сушили над безводным сульфатом кальция, фильтровали и выпаривали с получением твердой пены коричневого цвета, которую очищали с помощью градиентной флэш-хроматографии (SiO_2 , 2% NH_4OH в смеси 0-20% MeOH /этилацетат, в течение 40 мин) с получением 186 мг N^1 -(4-(1,2-диметил-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)-4-(2-(диметиламино)-этокси)-6-метоксибензол-1,3-диамина (промежуточное соединение N) в виде твердого вещества желтого цвета. ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,34 (s, 6H), 2,70 (t, 2H, $J=6,90$ Гц), 2,75 (s, 3H), 3,58 (br s, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,83 (s, 3H), 4,07 (t, 2H, $J=5,34$ Гц), 6,57 (s, 1H), 6,95 (d, 1H, $J=5,19$ Гц), 7,17-7,27 (m, 2H), 7,32-7,35 (m, 1H), 7,55 (s, 1H), 8,09 (dd, 1H, $J=6,96, 1,77$ Гц), 8,18 (s, 1H), 8,38 (d, 1H, $J=5,22$ Гц) ppm. $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_2$ m/z MH^+ =447.

N-(5-((4-(1,2-Диметил-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)-2-(2-(диметил-амино)этокси)-4-ме-

токсифенил)акриламид (8).

N^1 -(4-(1,2-диметил-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)-4-(2-(диметиламино)этокси)-6-метоксибензол-1,3-диамин (схема 6, промежуточное соединение N) превращали в соединение примера 8 путем проведения реакции с 3-хлорпропионилхлоридом и последующей обработки NaOH с использованием процедур, описанных в способе получения соединения примера 1.

Пример 9. N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-4-метокси-5-((4-(пиразоло[1,5-а]пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (9)



N-(4-(2-(Диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(пиразоло[1,5-а]пиридин-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 7, промежуточное соединение P). К суспензии, содержащей NaH (21 ммоль, 60% масляная дисперсия, предварительно промытая гексанами) и 20 мл 1,4-диоксана, добавляли по каплям 2-диметиламиноэтанол (20 ммоль, 2,4 мл) при перемешивании в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 45 мин порциями добавляли суспензию соединения O (7,9 ммоль) при перемешивании под струей N_2 . Полученную смесь перемешивали в течение ночи, затем выливали в воду и твердое вещество собирали, промывали водой и сушили в вакууме с получением 1,7 г промежуточного соединения P в виде твердого вещества желтого цвета, которое использовали в следующем этапе без дополнительной очистки: $C_{22}H_{23}N_7O_4$ m/z MH^+ 450.

4-(2-(Диметиламино)этокси)-6-метокси- N^1 -(4-(пиразоло[1,5-а]пиридин-3-ил)бензол)-1,3-диамин (схема 9, промежуточное соединение Q).

Суспензию, содержащую 0,7 г промежуточного соединения P, 0,9 г Fe^0 , 7 мл этанола, 3 мл воды и 2 мл ледяной уксусной кислоты, нагревали до $78^\circ C$ в течение 1 ч. Раствор охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через фильтр Dicalite, значение pH доводили до 10 с помощью 1н. водного раствора NaOH и разбавляли CH_2Cl_2 . Слои фильтрата разделяли и водную фазу экстрагировали CH_2Cl_2 два раза и объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. В результате колоночной хроматографии (силикагель, градиент CH_2Cl_2 -MeOH) получали 0,28 г промежуточного соединения Q в виде твердого вещества рыжеватого цвета. $C_{22}H_{25}N_7O_2$ m/z MH^+ 420.

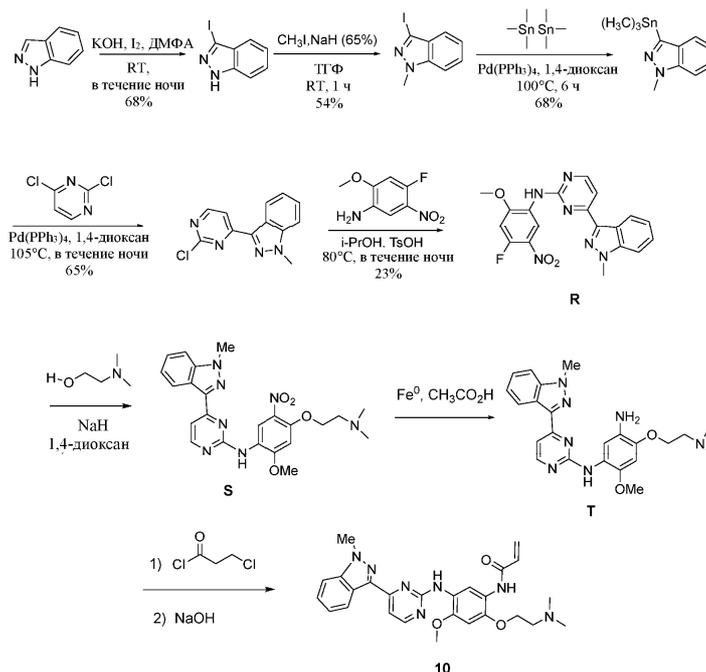
N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-4-метокси-5-(4-(пиразоло[1,5-а]пиридин-3-ил)бензол)-акриламид (9).

К раствору, содержащему промежуточное соединение Q (0,6 г, 1,4 ммоль) в 10 мл ТГФ и 4 мл воды, добавляли по каплям 3-хлорпропионилхлорид (0,15 мл, 1,6 ммоль) при перемешивании. После перемешивания в течение 22 ч добавляли NaOH (0,7 г, 17 ммоль) и смесь нагревали при $65^\circ C$ в течение 5 ч. После охлаждения до комнатной температуры удаляли ТГФ при пониженном давлении и смесь экстрагировали CH_2Cl_2 , сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. В результате хроматографии неочищенного продукта (силикагель, CH_2Cl_2 -MeOH) получали 0,294 г соединения примера 9 в виде твердого вещества бежевого цвета. $C_{25}H_{27}N_7O_3$ m/z MH^+ 474. 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO$) δ 2,28 (s, 6H), 2,61-2,62 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 4,20-4,22 (m, 2H), 5,69-5,73 (m, 1H), 6,20-6,22 (m, 1H), 6,42-6,48 (m, 1H), 6,90-7,11 (m, 2H), 7,15-7,40 (m, 2H), 8,10-8,59 (перекрывание: m, 4H), 8,72-8,96 (m, 2H), 10,13 (s, 1H) ppm.

Пример 10. N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-4-метокси-5-((4-(1-метил-1Н-индазол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (10).

N-(4-Фтор-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1Н-индазол-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 8, промежуточное соединение R). В трехгорлую колбу на 1000 мл с круглым дном, промытую азотом, при поддержании инертной атмосферы азота помещали раствор 1Н-индазола (10 г, 84,65 ммоль, 1,00 экв.) в N,N-диметилформамиде (500 мл), I_2 (21,5 г, 84,65 ммоль, 1,00 экв.). После этого добавляли несколькими порциями KOH (19 г, 338,62 ммоль, 4,00 экв.) при температуре $0^\circ C$. Полученный раствор перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Затем реакцию гасили путем добавления 200 мл водного раствора $Na_2S_2O_3$. Полученный раствор экстрагировали 3×500 мл этилацетата и органические слои объединяли. Полученную смесь промывали 3×500 мл солевым раствором. Смесь сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Полученную смесь промывали 1×100 мл гексана. В результате получали 14 г (68%) 3-йод-1Н-индазола в виде твердого вещества белого цвета.

Схема 8



10

В трехгорлую колбу на 500 мл с круглым дном, промытую азотом, при поддержании инертной атмосферы азота помещали раствор 3-йод-1H-индазола (14 г, 57,37 ммоль, 1,00 экв.) в тетрагидрофуране (200 мл). После этого добавляли несколькими порциями NaH (65%) (2,5 г, 1,20 экв.) при температуре 0°C. Смесь перемешивали в течение 30 мин при 0°C. К полученной смеси добавляли по каплям йодметан (9,7 г, 68,34 ммоль, 1,20 экв.) при перемешивании при температуре 0°C. Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем реакцию гасили путем добавления 300 мл смеси вода/лед. Полученный раствор экстрагировали 2×300 мл этилацетата и органические слои объединяли. Полученную смесь промывали 1×300 мл солевым раствором. Смесь сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Осадок наносили на колонку с силикагелем со смесью этилацетат/петролейный эфир (1:5). В результате получали 8 г (54%) 3-йод-1-метил-1H-индазола в виде твердого вещества желтого цвета.

В трехгорлую колбу на 500 мл с круглым дном, промытую азотом, при поддержании инертной атмосферы азота помещали раствор, содержащий 3-йод-1-метил-1H-индазол (5 г, 19,38 ммоль, 1,00 экв.) в 1,4-диоксане (200 мл), гексаметилдистаннан (12 г, 36,63 ммоль, 2,00 экв.) и тетраakis(трифенилфосфан)палладий (2,2 г, 1,90 ммоль, 0,10 экв.). Полученный раствор перемешивали в течение 6 ч при 100°C. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры с помощью бани вода/лед. Затем реакцию гасили путем добавления по каплям 30 мл водного раствора KF (1 н) при перемешивании. Полученный раствор перемешивали в течение 0,5 ч при комнатной температуре. Полученный раствор разбавляли 200 мл H₂O. Полученный раствор экстрагировали 2×200 мл этилацетата и органические слои объединяли. Полученную смесь промывали 3×200 мл солевым раствором. Смесь сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Осадок наносили на заполненную силикагелем колонку со смесью этилацетат/петролейный эфир (1:5). В результате получали 3,9 г (68%) 1-метил-3-(триметилстаннил)-1H-индазола в виде жидкости желтого цвета.

В трехгорлую колбу с круглым дном на 250 мл, промытую азотом, при поддержании инертной атмосферы азота помещали смесь, содержащую 1-метил-3-(триметилстаннил)-1H-индазол (3,9 г, 13,22 ммоль, 1,00 экв.), 1,4-диоксан (100 мл), 2,4-дихлорпиримидин (2,0 г, 13,42 ммоль, 1,00 экв.) и тетраakis(трифенилфосфан)палладий (1,5 г, 1,30 ммоль, 0,10 экв.). Полученный раствор перемешивали в течение ночи при температуре 105°C. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры на водяной/ледяной бане. Затем реакцию гасили путем добавления 200 мл смеси вода/лед. Твердое вещество собирали посредством фильтрования. Отфильтрованный осадок промывали 1×100 мл Et₂O. В результате получали 2,1 г (65%) 3-(2-хлорпиримидин-4-ил)-1-метил-1H-индазола в виде твердого вещества светло-желтого цвета.

В трехгорлую колбу с круглым дном на 250 мл помещали смесь, содержащую 3-(2-хлорпиримидин-4-ил)-1-метил-1H-индазол (2,9 г, 11,85 ммоль, 1,00 экв.), 4-фтор-2-метокси-5-нитроанилин (2,2 г, 11,82 ммоль, 1,00 экв.), 2-пропанол (80 мл), TsOH (2,4 г, 13,94 ммоль, 1,20 экв.). Полученный раствор перемешивали в течение ночи при температуре 80°C. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры на бане вода/лед. Твердое вещество собирали посредством фильтрования. Отфильтрованный осадок промывали 100 мл CH₃CN. Полученное твердое вещество сушили в печи. В результате получали 1,06 г

(23%) N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индазол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение R) в виде твердого вещества желтого цвета. (ES, m/z): $[M+H]^+ = 395$; 1H -NMR (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,96 (br, 1H), 8,87-8,85 (d, J=8,4 Гц, 2H), 8,56-8,54 (d, J=5,4 Гц, 1H), 8,49-8,46 (d, J=8,1 Гц, 1H), 7,77-,775 (d, J=8,4 Гц, 1H), 7,58-7,57 (d, J=5,1 Гц, 1H), 7,52-7,47 (t, J=7,2 Гц, 1H), 7,44-7,40 (d, J=13,5 Гц, 1H), 7,26-7,21 (t, J=7,5 Гц, 1H), 4,19 (s, 1H), 4,01 (s, 1H) ppm.

N-(4-(2-(Диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индазол-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 8, промежуточное соединение S).

К суспензии NaN (31 мг, 1,3 ммоль) в 10 мл 1,4-диоксана добавляли по каплям 2-диметиламиноэтанол (0,16 мл, 1,3 ммоль) при перемешивании в атмосфере N_2 . После перемешивания в течение 1,5 ч порциями добавляли промежуточное соединение R (0,2 г, 0,51 ммоль). Через 0,5 ч реакцию гасили водой и полученную смесь экстрагировали CH_2Cl_2 . Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением 0,23 г N-(4-(2-(диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индазол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение S): m/z $MH^+ = 464$.

4-(2-(Диметиламино)этокси)-6-метокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индазол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамин (схема 8, промежуточное соединение T).

Суспензию, содержащую N-(4-(2-(диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-метил-1H-индазол-3-ил)пиримидин-2-амин (0,23 г), 0,28 г Fe^0 , 10 мл смеси 70% этанол/ H_2O и 0,5 мл уксусной кислоты, нагревали при температуре обратной конденсации при перемешивании в течение 2 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, затем фильтровали. Значение pH фильтрата доводили до 10, затем экстрагировали CH_2Cl_2 . Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии (силикагель, градиент CH_2Cl_2 -1% $NH_4OH/MeOH$) с получением 4-(2-(диметиламино)этокси)-6-метокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индазол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамина (промежуточное соединение T) в виде твердого вещества не совсем белого цвета: m/z $MH^+ = 434$.

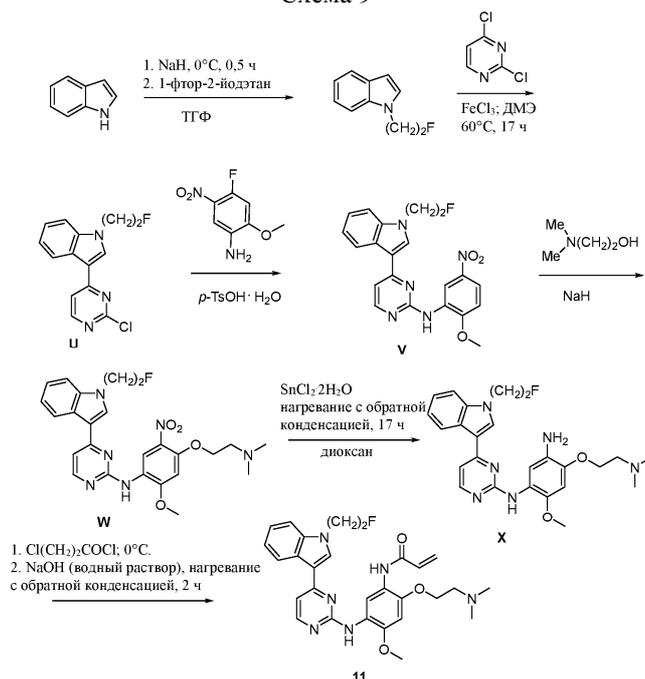
N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-4-метокси-5-((4-(1-метил-1H-индазол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)акриламид (пример 10).

К раствору 4-(2-(диметиламино)этокси)-6-метокси-N¹-(4-(1-метил-1H-индазол-3-ил)пиримидин-2-ил)бензол-1,3-диамина (60 мг, 0,14 ммоль), растворенного в 10 мл смеси ТГФ: H_2O (4:1), добавляли 3-хлорпропионилхлорид (17 мг, 0,14 ммоль). Через 4 ч добавляли NaOH (1,4 ммоль, 56 мг) и смесь нагревали при температуре обратной конденсации в течение 5 ч. ТГФ удаляли при пониженном давлении и водную фазу экстрагировали этилацетатом. Органические фазы объединяли, промывали H_2O , сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии (силикагель, градиент CH_2Cl_2 -MeOH) с получением соединения примера 10 в виде твердого вещества: $C_{26}H_{29}N_7O_3$; m/z $MH^+ = 488$. 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,28 (s, 6H), 2,51-2,63 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 4,14-4,44 (перекрывание: m, 5H), 5,68-5,76 (m, 1H), 6,11-6,19 (m, 1H), 6,43-6,48 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 7,11-7,17 (m, 1H), 7,37-7,45 (перекрывание: m, 2H), 7,68-7,07 (d, 1H, J=8,4 Гц), 8,39-8,43 (перекрывание: m, 4H), 9,75 (s, 1H) ppm.

Пример 11. N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-5-((4-(1-(2-фторэтил)-1H-индолил-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)-4-метоксифенил)акриламид (11).

1-(2-Фторэтил)-1H-индол (схема 9). Гидрид натрия (60% (по массе) в масле, 2,3 г, 57,5 ммоль), добавляли к перемешанному чистому бесцветному раствору индола (10,1 г, 86,2 ммоль) в безводном тетрагидрофуране при температуре 0°C со скоростью, позволяющей контролировать сопутствующее выделение водорода. Раствор перемешивали при 0°C под слоем N_2 до прекращения выделения газа, при этом реакционная смесь превращалась в тонкодисперсную суспензию белого цвета. Затем медленно добавляли с помощью шприца раствор 1-фтор-2-йодэтана (5 г, 29 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (6 мл), ледяную баню убирали и стакан нагревали до температуры обратной конденсации в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали, разбавляли раствором хлорида аммония (4,6 г, 86 ммоль) в дистиллированной воде (300 мл), переносили в разделительную воронку и экстрагировали этилацетатом. Экстракт сушили ($CaSO_4$) и выпаривали с получением масла желтого цвета, которое анализировали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 100% гексаны) с получением 4,2 г масла желтого цвета, которое по результатам ЖХ-МС характеризовалось как смесь индола с желаемым продуктом в отношении 60/40. Этот неочищенный продукт обрабатывали бензолсульфонилхлоридом, как следует далее, для изменения характеристик элюирования смеси с возможностью выделения желаемого продукта: к раствору выделенной ранее смеси индола с желаемым продуктом в отношении 60/40 и тетрабутилбисульфата аммония (1,2 г, 3,4 ммоль) в безводном толуоле (100 мл) при температуре 0°C добавляли раствор гидроксида натрия (24,7 г, 617,5 ммоль) в дистиллированной воде (25 мл). Затем к быстро перемешанной смеси при 0°C добавляли бензолсульфонилхлорид (5,5 мл, 43,1 ммоль) и реакции позволяли перемешиваться и нагреваться до температуры окружающей среды под слоем N_2 в течение ночи.

Схема 9



Реакционную смесь затем распределяли между этилацетатом и дистиллированной водой, органическую фазу сушили (CaSO₄) и для аккуратного отделения 1-фенилсульфонилндола от желаемого продукта проводили флэш-хроматографию (силикагель, 10% ацетон/гексаны) с получением 1,3 г 1-(2-фторэтил)-1Н-индола в виде чистой бесцветной жидкости. ¹Н ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 4,45 (t, 1H, J=4,9 Гц), 4,54 (t, 1H, J=4,9 Гц), 4,64 (t, 1H, J=4,6 Гц), 4,80 (t, 1H, J=4,4 Гц), 6,46 (dd, 1H, J=3,1, 0,8 Гц), 7,03 (m, 1H), 7,13 (m, 1H), 7,37 (d, 1H, J=3,2 Гц), 7,49 (d, 1H, J=8,3 Гц), 7,55 (m, 1H) ppm. ¹³С ЯМР (75 МГц, ДМСО) δ 46,4 (d, J_{CF}=19,5 Гц), 83,3 (d, J_{CF}=166,5 Гц), 101,4, 110,3, 119,6, 120,9, 121,6, 128,6, 129,3, 136,4 ppm. C₁₀H₁₀NF m/z MH⁺ 164.

3-(2-Хлорпиримидин-4-ил)-1-(2-фторэтил)-1Н-индол (схема 9, промежуточное соединение U).

К перемешиваемому дегазированному чистому бесцветному раствору, содержащему 1-(2-фторэтил)-1Н-индол и 2,4-дихлорпиримидин (1,2 г, 8,3 ммоль), растворенный в безводном 1,2-диметоксиэтане (80 мл), при температуре окружающей среды быстро добавляли трихлорид железа (1,3 г, 7,9 ммоль). Полученный черный непрозрачный раствор перемешивали при 60°C в течение 17 ч в безводной атмосфере азота, охлаждали и распределяли между этилацетатом и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органическую фазу сушили (CaSO₄) и выпаривали с получением 2,3 г масла фиолетового цвета, которое очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-90% этилацетат в гексанах) с получением 557,5 мг 3-(2-хлорпиримидин-4-ил)-1-(2-фторэтил)-1Н-индола (U) в виде порошка светлого желтого цвета. ¹Н ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 4,60 (t, 1H, J=4,7 Гц), 4,69 (t, 1H, J=4,8 Гц), 4,75 (t, 1H, J=4,4 Гц), 4,90 (t, 1H, J=4,4 Гц), 7,31 (m, 2H), 7,67 (m, 1H), 7,88 (d, 1H, J=5,5 Гц), 8,44 (m, 1H), 8,57 (m, 2H) ppm. ¹³С ЯМР (75 МГц, ДМСО) δ 47,2 (d, J_{CF}=19,8 Гц), 82,8 (d, J_{CF}=167,7 Гц), 111,6, 111,9, 115,0, 122,1, 122,3, 123,4, 125,8, 134,6, 137,8, 159,4, 160,8, 164,9 ppm. C₁₄H₁₁ClFN₃ m/z MH⁺ 276.

N-(4-Фтор-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-(2-фторэтил)-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 9, промежуточное соединение V).

К перемешиваемой суспензии 3-(2-хлорпиримидин-4-ил)-1-(2-фторэтил)-1Н-индола (U) (535,3 мг, 1,9 ммоль) и 4-фтор-2-метокси-5-нитроанилина (361,4 мг, 1,9 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) добавляли моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (442,8 мг, 2,3 ммоль) и нагревали до температуры обратной конденсации в атмосфере азота. При достижении температуры обратной конденсации суспендированное твердое вещество растворялось. Температуру обратной конденсации поддерживали в течение ночи, затем реакционную смесь охлаждали и выливали в быстро перемешанный 5% (мас./об.) раствор гидрокарбоната натрия в дистиллированной воде (200 мл) для осаждения продукта. Продукт выделяли посредством фильтрования, промывали водой и позволяли высушиваться с получением 921,4 мг N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-(2-фторэтил)-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (V) в виде тонкодисперсного порошка желтого цвета. C₂₁H₁₇F₂N₅O₃ m/z MH⁺=426.

N-(4-(2-(Диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-(2-фторэтил)-1Н-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (схема 9, промежуточное соединение W).

К перемешиваемой суспензии гидрида натрия (60% (по массе) в масле, 306,4 мг, 7,7 ммоль) в безводном 1,4-диоксане (24 мл) под слоем N₂ при температуре окружающей среды медленно добавляли 2-(диметиламино)этанол (0,8 мл, 7,7 ммоль). Позволяли образовываться анионам в течение 0,5 ч, затем

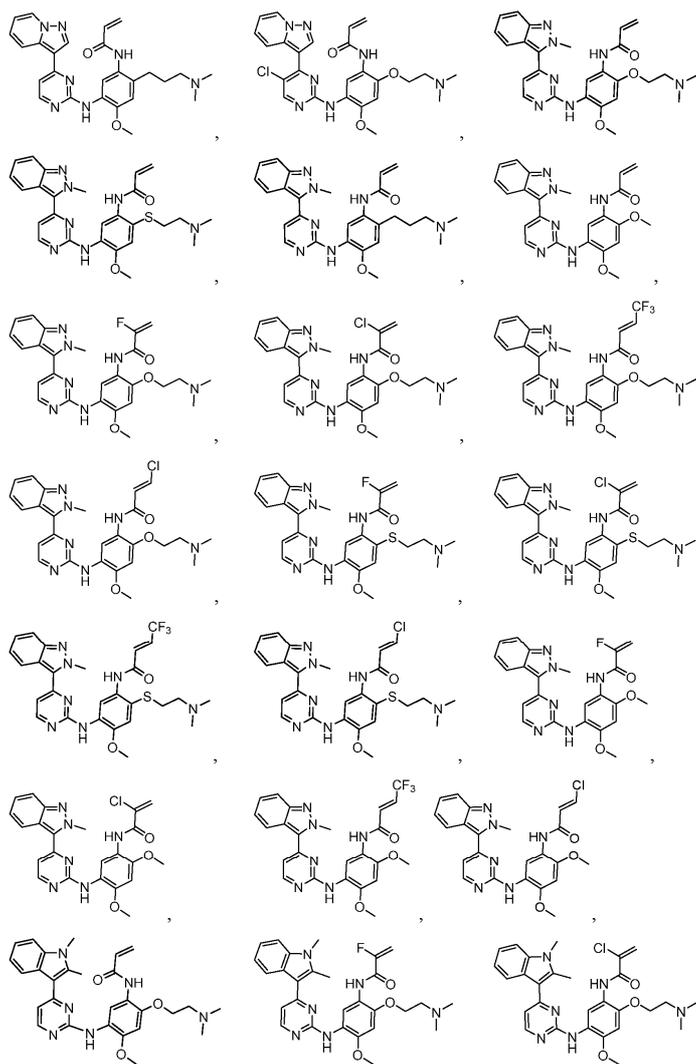
добавляли одной порцией N-(4-фтор-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-(2-фторэтил)-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (промежуточное соединение V, 652,0 мг, 1,53 ммоль). Реакционной смеси, которая сразу приобретала красный цвет, позволяли перемешиваться. Через 10 мин по результатам ЖХ-МС подтверждали завершение реакции. Добавляли дистиллированную воду (5 мл) для гашения реакции, затем смесь распределяли между этилацетатом и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органический экстракт сушили (CaSO₄) и выпаривали с получением твердого вещества желтого цвета. Указанное твердое вещество перекристаллизовывали из кипящей смеси этилацетат/гептан, при нагревании которой осаждался кристаллический порошок ярко-желтого цвета. Порошок выделяли посредством фильтрации, промывали гептаном и позволяли высохнуть с получением 572,0 мг N-(4-(2-(диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-(2-фторэтил)-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (W). ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,27 (s, 6H), 2,71 (t, 2H, J=5,7 Гц), 4,01 (s, 3H), 4,33 (t, 2H, J=5,6 Гц), 4,56 (t, 1H, J=4,6 Гц), 4,65 (t, 1H, J=4,6 Гц), 4,73 (t, 1H, J=4,2 Гц), 4,89 (t, 1H, J=4,6 Гц), 7,01 (s, 1H), 7,10 (m, 1H), 7,25 (m, 2H), 7,61 (d, 1H, J=8,4 Гц), 8,22 (s, 1H), 8,36 (m, 3H), 8,76 (s, 1H) ppm. ¹³C ЯМР (75 МГц, ДМСО) δ 46,2, 47,0 (d, J_{CF}=19, Гц), 57,3, 58,0, 69,0, 82,8 (d, J_{CF}=166,6 Гц), 99,2, 108,2, 111,1, 113,4, 119,2, 121,4, 122,4, 122,6, 122,8, 126,0, 131,3, 132,8, 137,6, 150,6, 156,2, 157,7, 160,5, 162,5 ppm. C₂₅H₂₇F N₆O₄ m/z MH⁺=495.

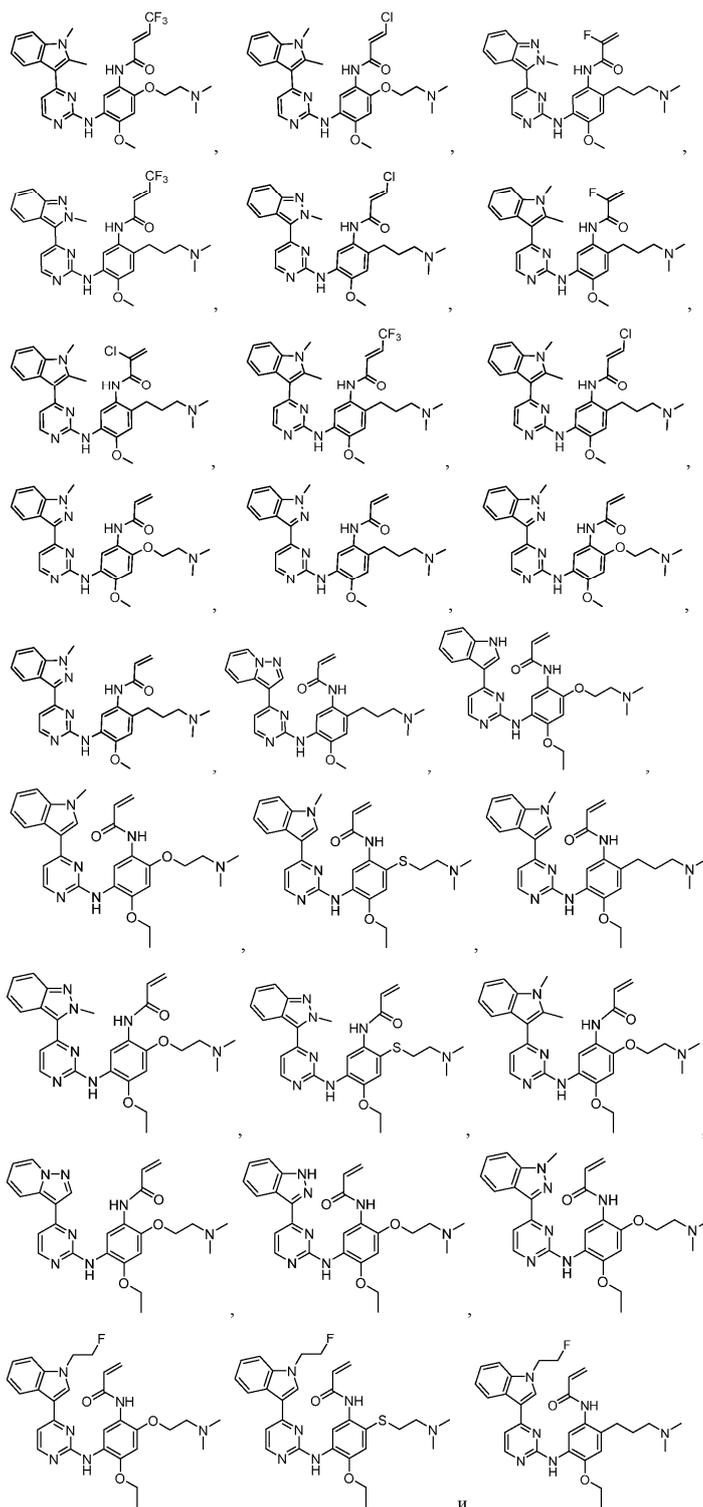
4-(2-(Диметиламино)этокси)-N1-(4-(1-(2-фторэтил)-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)-6-метоксибензол-1,3-диамин (схема 9, промежуточное соединение X).

К перемешиваемой суспензии желтого цвета N-(4-(2-(диметиламино)этокси)-2-метокси-5-нитрофенил)-4-(1-(2-фторэтил)-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-амин (W) (303,8 мг, 0,6 ммоль) в этилацетате (30 мл) при температуре окружающей среды добавляли дигидрат хлорида олова (708,3 мг, 3,1 ммоль) и нагревали при температуре обратной конденсации в атмосфере азота в течение 4 ч. Реакционной смеси позволяли охлаждаться, затем выливали в 5% (мас./об.) раствор гидрокарбоната натрия в дистиллированной воде (200 мл) и перемешивали в течение 0,5 ч. Полученную гетерогенную смесь затем фильтровали через плотноупакованный диатомитовый фильтр Celite и промывали отфильтрованный осадок этилацетатом. Фильтрат переносили в разделительную воронку и жидкие фазы разделяли. Оставшийся раствор продукта в этилацетате промывали насыщенным водным хлоридом натрия, сушили (CaSO₄) и выпаривали с получением масла красного цвета, которое очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 2% NH₄OH (водный) в смеси метанол/этилацетат; 0-10%), с выделением соединения X в виде 165,4 мг красного масла. C₂₅H₂₉FN₆O₂ m/z MH⁺=465.

N-(2-(2-(Диметиламино)этокси)-5-((4-(1-(2-фторэтил)-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)-4-метоксифенил)акриламид (11, схема 9).

3-Хлорпропаноилхлорид (38 мл, 0,4 ммоль) медленно добавляли с помощью шприца к быстро перемешиваемому раствору 4-(2-(диметиламино)этокси)-N1-(4-(1-(2-фторэтил)-1H-индол-3-ил)пиримидин-2-ил)-6-метоксибензол-1,3-диамина (промежуточное соединение X) в безводном тетрагидрофуране (20 мл) при температуре 0°C под слоем азота. В результате указанного добавления сразу образовывался осадок. Суспензию перемешивали при 0°C в течение дополнительных 5 мин, затем ледяную баню удаляли. После подтверждения полного превращения в промежуточное соединение, представляющее собой 3-хлорпропанамид, к реакционной суспензии добавляли раствор гидроксида натрия (726,0 мг, 18,2 ммоль) в дистиллированной воде (5,0 мл) и полученную смесь нагревали до температуры обратной конденсации в течение 1 ч, затем охлаждали и распределяли между солевым раствором и дополнительной порцией тетрагидрофурана. Органический экстракт сушили (CaSO₄) и выпаривали с получением 445,1 мг твердой пены оранжевого цвета, которую очищали с помощью градиентной флэш-хроматографии (силикагель, 2% водный раствор NH₄OH в смеси метанол/этилацетат; 0-10%) и кристаллизовали из смеси этилацетат/гептан с выделением 130 мг примера 11 в виде мелкодисперсного порошка светло-желтого цвета. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО) δ 2,28 (s, 6H), 2,58 (t, 2H, J=5,3 Гц), 3,86 (s, 3H), 4,19 (t, 2H, J=5,3 Гц), 4,58 (t, 1H, J=4,6 Гц), 4,67 (t, 1H, J=4,5 Гц), 4,72 (t, 1H, J=4,6 Гц), 4,88 (t, 1H, J=4,6 Гц), 5,75 (dd, 1H, J=10,4, 1,7 Гц), 6,22 (dd, 1H, J=17,0, 1,9 Гц), 6,48 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 7,14 (t, 1H, J=7,4 Гц), 7,22 (m, 2H), 7,60 (d, 1H, J=8,2 Гц), 7,94 (s, 1H), 8,30 (m, 2H), 8,56 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 9,83 (s, 1H) ppm. ¹³C ЯМР (75 МГц, ДМСО) δ 45,6, 46,9 (d, J_{CF}=19,9 Гц), 56,6, 57,9, 60,2, 69,4, 82,9 (d, J_{CF}=168,2 Гц), 101,6, 107,5, 111,1, 113,6, 116,9, 121,4, 122,3, 122,6, 123,2, 126,0, 126,6, 132,6, 133,2, 137,6, 145,3, 147,8, 158,0, 160,7, 162,1, 163,2 ppm. C₂₈H₃₁FN₆O₃ m/z MH⁺=519.





Биологические анализы.

Оценивали активность соединений формулы I как новых ингибиторов тирозинкиназы EGFR в отношении EGFR в соответствии с процедурами, описанными ниже.

Клеточные культуры.

Клетки A431 (на 3 пассаже) и NCI-H1975 (на 5 пассаже) получали в виде замороженных чистых культур из Американской коллекции типовых культур (ATCC) и культивировали во флаконах T175 в среде RPMI 1640 с добавлением 10% термоинактивированной эмбриональной бычьей сыворотки, 1X смеси пенициллин/стрептомицин/глутамин, 1 мМ пирувата натрия, 10 мМ 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты (HEPES) и 0,25% D-глюкозы (ростовая среда) в инкубаторе с 5% содержанием CO₂ при 30°C с увлажнением. Клеточный монослой разбивали путем обработки клеток 0,25% раствором трипсин/ЭДТА (Life Technologies) в течение 5 мин и полученную смесь нейтрализовали свежей ростовой средой. Собранные клетки осаждали посредством центрифугирования (200×g, 8 мин),

ресуспендировали в ростовой среде и отбирали аликвоту для подсчета клеток с помощью автоматизированного счетчика (Logos Biosystems). Клетки сохраняли нормальную морфологию и ростовые характеристики в течение всего периода исследования.

Анализ клеточной пролиферации.

Суспендированные клетки собирали посредством центрифугирования (200×g, 8 мин) и ресуспендировали в свежей среде с достижением концентрации 1,00 E+04 клеток/мл. 200 мкл клеточной суспензии добавляли в каждую лунку (2000 клеток/лунку) 96-луночного планшета с черными стенками и клеткам позволяли прикрепляться в течение ночи при нормальных условиях культивирования. После культивирования в течение ночи добавляли 1 мкл исследуемого соединения на лунку (n=3 для каждой концентрации) с достижением конечных концентраций 10, 3,33, 1,11, 0,370, 0,124, 0,0412, 0,0137, 0,0046 и 0,0015 мкМ. Конечная концентрация ДМСО в лунке составляла 0,5% (по объему). В анализ также были включены лунки, содержащие носитель, необработанные лунки и лунки, не содержащие клеток. Клетки культивировали в нормальных условиях в течение 72 ч, при этом ежедневно проводили визуальное наблюдение.

Клеточную пролиферацию измеряли с использованием красителя Alamar Blue (резазурин). Резазурин восстанавливается клеточными ферментами до резорурфина, который является флуоресцентным (возбуждение при длине волны 544 нм, испускание - при 612 нм). Интенсивность флуоресценции была пропорциональна количеству клеток. Исходный раствор резазурина готовили в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) с достижением исходной концентрации 440 мкМ. Исходный раствор резазурина добавляли в каждую лунку (по 40 мкл) на 67 ч (из 72 ч общего периода инкубирования). Планшет возвращали в нормальные условия культивирования и через 72 ч инкубирования измеряли флуоресценцию с помощью многорежимного считывателя для планшетов Cytation 3 (Biotek).

Анализ данных.

Значения измеренной флуоресценции нормировали по отношению к результатам считывания лунок, не содержащих клетки (фон), и общий рост за период времени 72 ч определяли относительно среднего значения для контрольных лунок, содержавших носитель. Значения среднего и стандартного отклонения определяли для каждого условия (n=3).

Табл. 1 содержит иллюстративные данные, полученные в результате исследования типичных соединений согласно настоящему изобретению, демонстрирующие превосходную селективность подавления роста клеток H1975 (с двойной мутацией) по сравнению с клетками A431 (дикого типа).

Таблица 1

Биологическая активность выбранных соединений в анализах клеточной пролиферации на клетках A431 (дикого типа) и H1975 (двойная мутация)

Пример	IC ₅₀ для A431 (мкМ) ^a	IC ₅₀ для H1975 (мкМ) ^a
1	+	+++
2	+	+++
3	+	++
4	+	+++
5	++	++
8	++	+++
9	+	+++
10	++	+++
11	++	+++

^a Значение IC₅₀, превышающее 1,0 мкМ, обозначено как "+"; значение IC₅₀ в диапазоне от 0,1 до 1,0 мкМ обозначено как "++" и значение IC₅₀ ниже 0,1 мкМ обозначено как "+++".

Противораковая активность соединений примеров 1 и 2 *in vivo* также показана на фиг. 1-4.

Противораковая активность соединения примера 1 на мышинной модели ксенотрансплантата H1975.

Противораковая активность соединения примера 1 *in vivo* в отношении опухолей с двойной мутацией L858R/T790M показана на фиг. 1. Соединение примера 1 анализировали в концентрации 6,25, 12,5 и 25 мг/кг на имплантированных подкожно ксенотрансплантатах немелкоклеточного рака легкого человека H1975 у самок бестимусных мышей. Соединение примера 1 вводили пероральным путем один раз в день в течение 14 дней (с 6-го по 19-й день). Во всех дозах соединение примера 1 хорошо переносилось и не приводило к связанным с лечением смертельным случаям. При лечении соединением примера 1 в концентрации 6,25, 12,5 и 25 мг/кг среднее время до достижения оценочного размера составляло 28,9, 31,6 и 34,3 дни соответственно, что обеспечивало статистически значимую (P<0,05) задержку опухолевого роста на 14, 16,7 и 19,3 дней соответственно. Лечение в концентрации 25 мг/кг приводило к 100% случаев полной регрессии опухолей и безопухолевой выживаемости у 10% мышей.

Противораковая активность соединения примера 2 на мышинной модели ксенотрансплантата H1975.

Противораковая активность соединения примера 2 *in vivo* в отношении опухолей с двойной мута-

цией L858R/T790M показана на фиг. 2. Соединение примера 2 анализировали в концентрации 50 и 100 мг/кг на имплантированных подкожно ксенотрансплантатах немелкоклеточной карциномы легкого человека H1975 у самок бестимульных мышей. Соединение примера 2 вводили пероральным путем один раз в день в течение 14 дней (с 7-го по 20-й день). При пероральном введении в концентрации 100 мг/кг соединение примера 2 хорошо переносилось и обеспечивало значимую ($P < 0,05$) противораковую активность по результатам % подавления опухолевого роста (% tumor growth inhibition, %TGI), составляющего 110,5, 116,6 и 116,6%. Указанные значения рассчитывали на основе среднего объема опухоли на 10, 14 и 17 дни соответственно. Время до достижения оценочного размера (750 мм^3) составляло 39,6 дней, что обеспечивало задержку опухолевого роста (T-C) на 22,2 дня, которая также являлась статистически значимой. Лечение приводило к 100% случаев полной регрессии опухолей и безопухоловой выживаемости у 12,5% мышей (tumor-free survival, TFS) по завершении исследования.

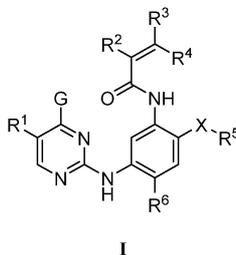
Противораковая активность соединения примера 1 на мышинной модели ксенотрансплантата HCC827.

Противораковая активность соединения примера 1 *in vivo* в отношении опухолей с активирующей мутацией delE746-A750 показана на фиг. 3. Соединение примера 1 анализировали в концентрации 6,25 мг/кг на подкожно имплантированных ксенотрансплантатах немелкоклеточной карциномы легкого человека HCC827 у самок бестимульных мышей. Соединение примера 1 вводили перорально один раз в день в течение 14 дней (с 13-го по 26-й день). При пероральном введении в дозе 6,25 мг/кг соединение примера 1 хорошо переносилось и не приводило к связанным с лечением смертельным случаям. При лечении соединением примера 1 среднее время до достижения оценочного размера составляло 61,5 дней, что обеспечивало статистически значимую ($P < 0,05$) задержку роста опухоли на 33,2 дня. Лечение приводило к 100% случаев полной регрессии опухоли по завершении дозирования. На фиг. 4 показана средняя концентрация соединения примера 1 в плазме, головном мозге и опухолевых тканях после введения пероральной дозы 25 мг/кг в указанной модели.

Следует понимать, что изложенные выше примеры и описание предпочтительных вариантов реализации являются иллюстративным и не ограничивают объем настоящего изобретения, который определяется формулой изобретения. Нетрудно понять, что в пределах настоящего изобретения возможно множество вариаций и комбинаций признаков, перечисленных выше, как изложено в формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I



или его фармацевтически приемлемая соль,

где G выбран из 1H-индол-3-ила, 1H-индазол-3-ила, 2H-индазол-3-ила и 4,5,6,7-тетрагидропиразоло[1,5-a]пиридин-3-ила, каждый из которых необязательно замещен одной или двумя C_1 - C_2 алкильными группами или одной фторэтильной группой;

X представляет собой кислород;

R^1 выбран из водорода, галогена, метила, трифторметила и циано;

R^2 , R^3 и R^4 являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из водорода, галогена и трифторметила;

R^5 выбран из C_1 - C_7 алкила, 3-6-членного гетероцикла, содержащего атом азота в кольце, необязательно замещенного C_1 - C_4 алкильной группой, R^7R^8N -(C_1 - C_7 алкила) и R^7R^8N -(C_3 - C_6 циклоалкил- C_1 - C_4 алкила), где R^7 и R^8 являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из водорода и C_1 - C_7 алкила; и

R^6 выбран из C_1 - C_7 алкокси и C_1 - C_7 алкила.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что G выбран из группы, состоящей из 1H-индол-3-ила, 1-метил-1H-индол-3-ила, 1-(2-фторэтил)-1H-индол-3-ила, 1,2-диметил-1H-индол-3-ила, 4,5,6,7-тетрагидропиразоло[1,5-a]пиридин-3-ила, 1-метил-1H-индазол-3-ила и 2-метил-2H-индазол-3-ила; R^1 представляет собой водород, галоген или метил; R^2 представляет собой водород или галоген; R^4 представляет собой водород; R^5 выбран из C_1 - C_6 алкила, 1-метилазетидинила, 1-метилпирролидинила, 1-метилпиперидинила, R^7R^8N -(CH_2)_n-(n=1-5), R^7R^8N -(C_3 - C_6 циклоалкил)-(CH₂)_m-(m=1-3), где R^7 и R^8 являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из водорода и C_1 - C_4 алкила.

3. Соединение по любому из пп.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, отличающееся тем, что

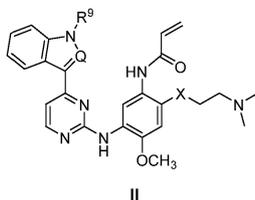
R^2 представляет собой водород, F или Cl;

R^3 представляет собой водород, F, Cl или $-CF_3$;

R^4 представляет собой водород и

R^5 выбран из метила, 1-(диметиламино)циклопропилметила, 3-(диметиламино)циклобутила, 1-метилазетидин-3-ила, (R)-1-метилпирролидин-3-ила, (S)-1-метилпирролидин-3-ила и 1-метилпиперидин-4-ила и 2-диметиламиноэтила.

4. Соединение по п.1, характеризующееся структурой формулы II



или его фармацевтически приемлемая соль,

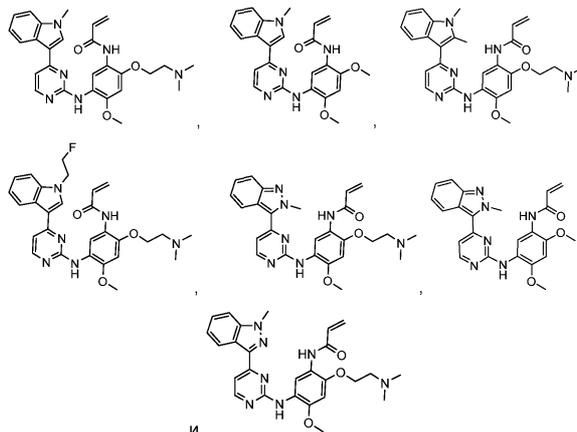
где X представляет собой O;

Q представляет собой C- R^{10} или N;

R^9 представляет собой CH_3 или CH_2CH_2F и

R^{10} представляет собой H или CH_3 .

5. Соединение по п.1, выбранное из группы, состоящей из

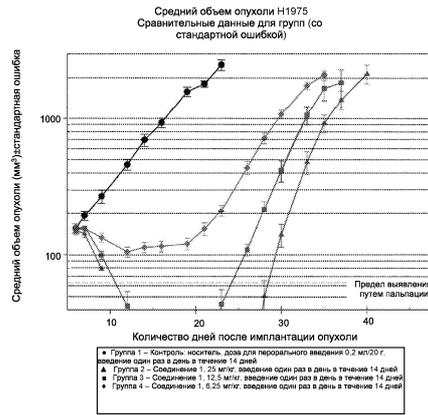


или его фармацевтически приемлемая соль.

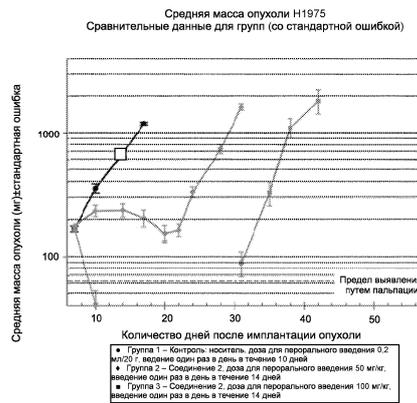
6. Композиция для лечения заболевания или расстройства, связанного с активностью рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), содержащая соединение по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант, разбавитель или наполнитель.

7. Способ лечения заболевания или расстройства, связанного с активностью EGFR, включающий введение пациенту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемой соли, или композиции по п.6.

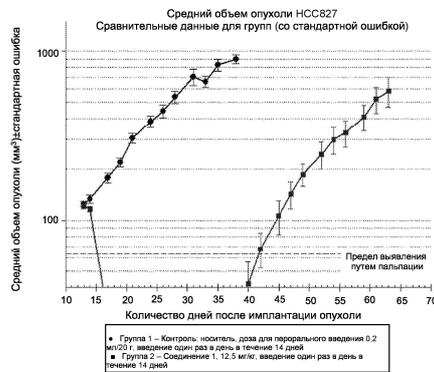
8. Способ по п.7, отличающийся тем, что указанное заболевание или расстройство представляет собой рак, выбранный из рака головного мозга, рака легкого, рака почки, рака кости, рака печени, рака мочевого пузыря, рака головы и шеи, рака пищевода, рака желудка, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака молочной железы, рака яичников, меланомы, рака кожи, рака надпочечника, рака шейки матки, лимфомы и опухолей щитовидной железы и их осложнений.



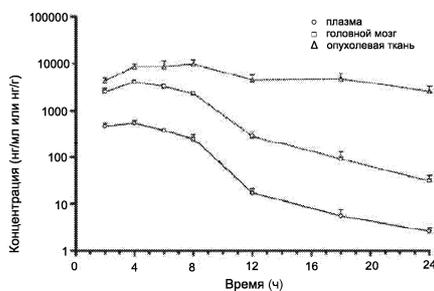
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4