

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

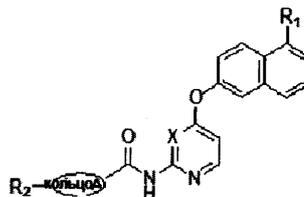
(11) **037876**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента 2021.05.31	(51) Int. Cl. <i>C07D 401/12</i> (2006.01) <i>C07D 213/75</i> (2006.01) <i>C07D 413/12</i> (2006.01) <i>C07D 417/12</i> (2006.01) <i>C07D 403/12</i> (2006.01) <i>C07D 405/12</i> (2006.01) <i>A61K 31/4427</i> (2006.01) <i>A61K 31/44</i> (2006.01) <i>A61K 31/4439</i> (2006.01) <i>A61K 31/4545</i> (2006.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)
(21) Номер заявки 201800445	
(22) Дата подачи заявки 2017.02.17	

(54) СОЕДИНЕНИЕ В ВИДЕ АМИНОЗАМЕЩЕННОГО ШЕСТИЧЛЕННОГО ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКОГО КОЛЬЦА С ГЕТЕРОАТОМОМ АЗОТА, ЕГО ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

(31) 201610094401.7	(56) CN-A-101687801 CN-A-101365682
(32) 2016.02.19	
(33) CN	
(43) 2019.02.28	
(86) PCT/CN2017/073966	
(87) WO 2017/140269 2017.08.24	
(71)(73) Заявитель и патентовладелец: ШАНХАЙ ИНСТИТУТ ОФ МАТЕРИА МЕДИЦА, ЧИНИЗ АКАДЕМИ ОФ САЙЕНС (CN)	
(72) Изобретатель: Чжан Ао, Гэн Мейи, Син Ли, Ан Цзин, Сонг Зилан, Пэн Сиа, Гу Вонтин, Динь Цзян (CN)	
(74) Представитель: Кузнецова О.И. (BY)	

(57) Изобретение представляет соединение в виде аминозамещенного шестичленного гетероциклического кольца с гетероатомом азота и его получение и использование. В частности, соединение в настоящем изобретении представлено ниже общей формулой I, в которой определение каждой группы представлено, как описано в описании. Соединение настоящего изобретения обладает превосходной ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназы и может таким образом использоваться для получения серии лекарств для лечения заболеваний на фоне ингибирующей активности в отношении тирозинкиназы.



Формула (I)

B1**037876****037876****B1**

Область, к которой относится изобретение

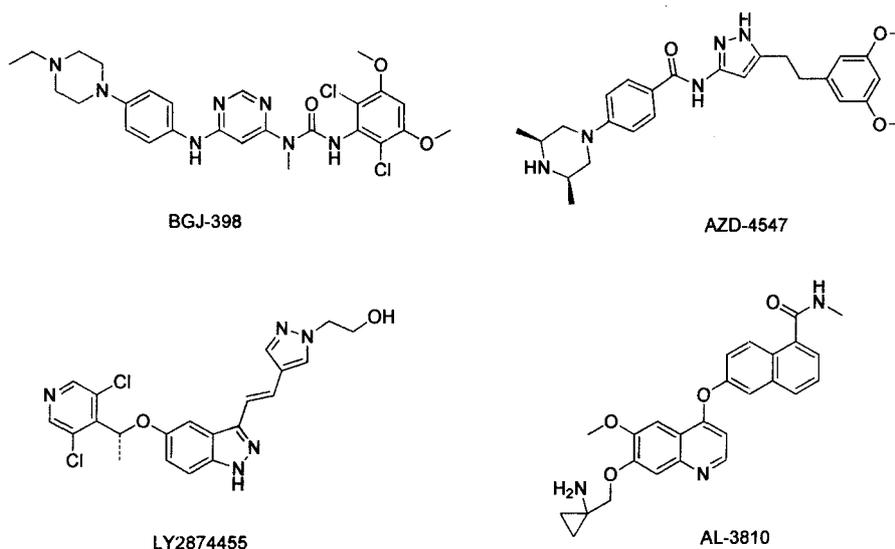
Изобретение относится к замещенным соединениям на основе аминопиридина, обладающим селективной ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназы и фармацевтически приемлемой соли или растворителя, процессу получения, а также использованию при получении лекарственного препарата для предотвращения или лечения заболеваний, связанных с рецепторами фактора роста фибробластов, такими как аномальная пролиферация, морфологические изменения клеток и гиперкинезия, а также заболеваний, связанных с ангиогенезом или метастазированием злокачественных опухолей, в частности, при получении лекарственных препаратов для лечения или предотвращения роста опухоли или метастазирования.

Уровень техники, к которой относится изобретение

Рецепторы фактора роста фибробластов (FGFR) представляют собой рецепторные тирозинкиназы, семейство которых включает рецепторы FGFR1, FGFR2, FGFR3 и FGFR4. К основным их структурам относится внеклеточный домен, трансмембранная область и тирозинкиназный домен. Внеклеточный домен состоит из трех иммуноглобулиноподобных доменов, включающих кислотный структурный каркас, мембранный домен и расцепленный внутриклеточный тирозинкиназный домен. Как и другие тирозинкиназы, при связывании лиганда с FGFR рецептор димеризуется, и образовавшийся тройной комплекс (FGF-FGFR-HPSG) приводит к изменению структуры FGFR, что приводит к внутримолекулярному фосфорилированию внутриклеточных доменов тирозинкиназы и терминальной части карбоновой кислоты с последующим присоединением субстрата рецептора FGFR (FRS2 α) и фосфолипазы C (PLC γ) для активации ряда нисходящих сигнальных путей, таких как Ras/митоген-активируемый протеинкиназный (МАРК) каскад и сигнальный путь фосфоинозитид-3-киназы (PI3K)/Akt, что, в свою очередь, стимулирует некоторые физиологические процессы в клетке, такие как клеточная пролиферация, подавление программы гибели клеток, клеточная миграция и ангиогенез.

Активация FGFR тесно связана с возникновением, развитием и резистентностью различных опухолей. Рецепторы FGFR участвуют в онкогенезе в основном посредством трех механизмов: хромосомной транслокации, генной мутации, амплификации генов или сверхэкспрессии. Хромосомные транслокации гена FGFR1 или его гибридного гена преимущественно наблюдаются при множественной миеломе; как мутировавшие гены FGFR2, так и FGFR3 экспрессируются в плоскоклеточной карциноме легких, а мутация гена FGFR4 Y367C в трансмембранной области обеспечивает непрерывную активацию клеток рака молочной железы. Известно, что амплификация FGFR встречается при различных видах злокачественных опухолей, амплификация FGFR1 выявляется у пациентов с раком прямой кишки, легких и почек, кроме того, примерно в 10% случаев рака молочной железы, особенно у эстроген-рецептор-положительных пациентов, сайт FGFR1 8p11-12 амплифицирован, в то время как у пациентов с раком желудка и прямой кишки также выявляется амплификация FGFR2, амплификация FGFR3 является наиболее распространенной среди пациентов, страдающих раком мочевого пузыря. В связи с изложенным исследованием ингибиторов, нацеленных на киназу FGFR, имеют большое значение для лечения злокачественных опухолей.

В последние годы актуальным вопросом исследований, касающихся противоопухолевой терапии, является разработка низкомолекулярных ингибиторов тирозинкиназ (TKI), терапевтическая мишень которых - рецепторы FGFR. Некоторые из ингибиторов FGFR находятся на стадии клинического исследования и могут быть классифицированы как селективные или неселективные ингибиторы FGFR в зависимости от диапазона действия. Эти соединения ингибируют преимущественно активацию FGFR, воздействуя на участок связывания с АТФ внутриклеточного киназного домена FGFR, и могут быть использованы в отношении типов опухолей со сверхэкспрессией рецепторов FGFR, мутациями FGFR или экспрессией гибридных белков FGFR. AZD4547, BGJ398, LY2874455 и AL-3810 являются селективными ингибиторами FGFR, которые используются в клинической практике и обладают выраженной противоопухолевой активностью. По имеющимся данным AZD-4547, BGJ-398 и AL-3810 являются сильными ингибиторами рецепторов FGFR1-3, в то время как LY2874455 является ингибитором для всех рецепторов FGFR (действующим в отношении FGFR1-4).



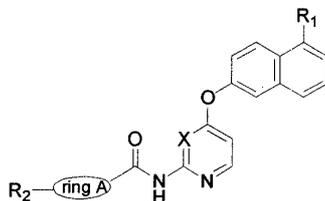
Из-за высокой степени схожести структуры рецепторов PDGFR, VEGFR и FGFR, большинство ингибиторов тирозинкиназ (TKI) FGFR обладают ингибирующей активностью в отношении PDGFR, а также VEGFR, вызывая значительные токсические побочные эффекты. В ходе разработки ингибиторов FGFR все еще встречаются серьезные трудности. Это связано с ограничениями, связанными со структурой ингибиторов FGFR.

Таким образом, в данной области существует необходимость разработки ингибиторов FGFR, имеющих новые структуры.

Сущность изобретения

Целью настоящего изобретения является создание нового класса ингибиторов киназ FGFR, которые обладают совершенной новой структурой и высокой активностью.

В первом аспекте настоящего изобретения предложено соединение, которому соответствует приведенная ниже формула I, или его фармацевтически приемлемая соль



Формула (I)

где X выбирается из группы, содержащей CH и N ;

кольцо A (ring A) может быть выбрано из группы, состоящей из замещенного или незамещенного 6-10-членного арила, замещенного и незамещенного 5-12-членного гетероарила, где "замещенный" означает, что один или более атомов водорода в группе замещены заместителями, выбранными из группы, в составе которой находятся C_1 - C_8 алкил, C_1 - C_8 алкокси, C_1 - C_8 алкиламино, галоген, галогенированный C_1 - C_8 алкил;

R_1 выбирается из $-CONHR_3$ или $-COOR_3$;

R_2 выбирается из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C_1 - C_8 алкила, замещенного или незамещенного C_1 - C_8 алкокси, замещенной или незамещенной 4-10-членной гетероциклической группы, замещенной или незамещенной аминогруппы, замещенной или незамещенной C_1 - C_8 алкиламиногруппы, $-NHCOR_3$; где группа заместителей дополнительно замещается одним или несколькими заместителями, выбираемыми из группы, состоящей из C_1 - C_8 алкила, гидрокси, гидрокси C_1 - C_8 алкила, $-COOR_3$, аминозамещенной C_3 - C_{10} циклоалкильной группы, 4-10-членной гетероциклоалкильной группы, которая является незамещенной или замещенной одним или более атомов галогена, гидроксильной группой или C_1 - C_8 алкилом;

R_3 выбирается из водорода, C_1 - C_8 алкила, C_2 - C_{10} алкенила.

В другом предпочтительном варианте осуществления в соединении I кольцо A выбирается из замещенного или незамещенного 6-10-членного арила, замещенного или незамещенного 5-10-членного гетероарила.

В другом предпочтительном варианте осуществления в соединении I кольцо A выбирается из замещенного или незамещенного 6-10-членного арила, замещенного или незамещенного 5-6-членного гетероарила.

В другом предпочтительном варианте осуществления в соединении I кольцо A представляет собой замещенную или незамещенную группу, которая выбирается из группы, состоящей из бензольного кольца, нафталинового кольца, пиридинового кольца, пиразинового кольца, тиюфенового кольца, фуранового кольца, имидазольного кольца, пиррольного кольца, оксазольного кольца, тиазольного кольца, пирозольного кольца, индольного кольца, пиримидинового кольца, бензофуранового кольца, бензотиазольного кольца, бензимидазольного кольца, хинолинового кольца, изохинолинового кольца.

В другом предпочтительном варианте осуществления в соединении I кольцо A выбирается из группы, в состав которой входят замещенное или незамещенное бензольное кольцо, замещенное или незамещенное тиазольное кольцо, замещенное или незамещенное оксазольное кольцо, замещенное или незамещенное пиримидиновое кольцо.

В другом предпочтительном варианте осуществления в формуле I соединения R₂ выбирается из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C₁-C₄ алкила, замещенного или незамещенного C₁-C₄ алкокси, замещенной или незамещенной 5-6-членной гетероциклической группы, замещенной или незамещенной аминогруппы, замещенной или незамещенной C₁-C₄ алкиламиногруппы, -NHCOR₃; где "замещенный" означает, что группа дополнительно замещается одним или несколькими заместителями, выбираемыми из группы, включающей C₁-C₈ алкил, гидроксил, гидроксил C₁-C₈ алкил, -COOR₃, аминозамещенный C₃-C₁₀ циклоалкил, 4-10-членный гетероциклоалкил, который необязательно замещен одним или более атомами галогена, гидроксилем или C₁-C₈ алкилом.

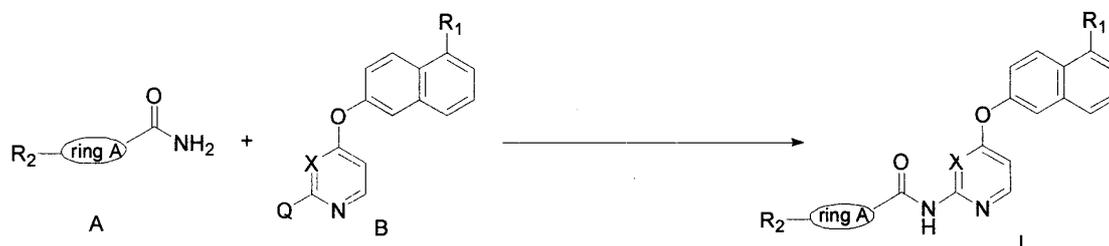
В другом предпочтительном варианте осуществления в формуле I соединения R₃ выбирается из водорода, C₁-C₆ алкила, C₂-C₆ алкенила.

В другом предпочтительном варианте осуществления в формуле I соединения R₃ выбирается из водорода, C₁-C₄ алкила, C₂-C₄ алкенила.

В другом предпочтительном варианте осуществления в формуле I соединения R₃ выбирается из водорода, метила, этила.

В другом предпочтительном варианте осуществления соединение выбирается из группы, включающей соединения S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19, S20, S21, S22, S23 и S24.

Второй аспект настоящего изобретения предлагает способ получения соединения, описанного в первом аспекте настоящего изобретения, который включает следующие этапы:



В инертном растворителе соединение с формулой A вступает в реакцию с соединением, имеющим формулу B, с получением соединения, соответствующего формуле I;

где Q представляет собой замещаемую группу, преимущественно галоген; кольцо A, X, R₁ и R₂ определены в соответствии с первым аспектом изобретения.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения реакция проводится в присутствии таких соединений как Pd₂(dba)₃ [трис(добензилиденацетон)дипалладий], ксантофос[9,9-диметил-4,5-бис(дифенилфосфино)ксантен] или карбонат цезия.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения реакция включает растворение соединения A, соединения B (1,0-1,5 экв.), Pd₂(dba)₃ [трис(добензилиденацетон)дипалладий] (0,05-0,2 экв.), ксантофос[9,9-диметил-4,5-бис(дифенилфосфино)ксантена] (0,1-0,5 экв.) и карбоната цезия (1-3 экв.) в инертном растворителе и проведение реакции под защитой азота.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения инертным растворителем является 1,4-диоксан.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения реакция проводится при 100°C.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения время реакции процесса составляет 1-10 ч.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения после завершения реакции для экстракции используются дихлорметан и вода, а органическую фазу промывают насыщенным раствором соли и высушивают над безводным сульфатом натрия, затем производится очистка смешанного образца через колонку с получением соединения.

В третьем аспекте настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция, включающая терапевтически эффективное количество соединения, описанного в первом аспекте настоящего изобретения, или фармацевтически приемлемую соль, пролекарство, гидрат или его сольват и, необязательно, фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция является фармацевтической композицией для лечения опухолей или фармацевтической композицией для лечения заболеваний, связанных с активностью тирозинкиназы (предпочтительно FGFR, более предпочтительно FGFR1).

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция используется для лечения заболеваний, связанных с аномальной экспрессией генов молекул сигнальных путей FGF/FGFR.

В четвертом аспекте настоящего изобретения предлагается использование соединения, представленного в первом аспекте изобретения, или фармацевтически приемлемой соли, пролекарства, гидрата или его сольвата для приготовления лекарственного препарата для профилактики и/или лечения заболеваний, связанных с FGFR.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения заболевания, связанные с опухолями, выбираются из группы, включающей рак молочных желез, рак легких, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак толстой кишки, миелому, рак печени, меланому, раковые образования головы и шеи, рак щитовидной железы, почечно-клеточный рак, глиобластому и рак яичка; предпочтительно рак молочной железы, немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак толстой кишки, множественную миелому, рак печени, меланому, раковые образования головы и шеи, рак щитовидной железы, почечно-клеточный рак, глиобластому и рак яичка; более предпочтительно немелкоклеточный рак легкого, рак желудка, множественную миелому.

В пятом аспекте настоящего изобретения предлагается белковый ингибитор ферментативной активности тирозинкиназы, содержащий эффективное для ингибирования количество соединения в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли, пролекарства, гидрата или сольвата.

В шестом аспекте настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция для лечения заболеваний, связанных со злокачественными новообразованиями (раком) или активностью протеинтирозинкиназы, где в качестве активного ингредиента фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество соединения, соответствующее первому аспекту настоящего изобретения, или его фармацевтически приемлемую соль, пролекарство, гидрат или сольват.

В седьмом аспекте настоящего изобретения предлагается метод лечения или предотвращения возникновения злокачественных новообразований или заболеваний, связанных с активностью протеинтирозинкиназы, который включает введение пациенту, у которого проводится лечение или профилактика, терапевтически или профилактически эффективного количества соединения согласно первому аспекту изобретения или фармакологически приемлемой соли, пролекарства, гидрата или его сольвата или фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением.

Следует понимать, что в настоящем изобретении каждая из технических характеристик, конкретно описанных выше и ниже (например, в примерах), могут быть объединены между собой, тем самым составляя новые или предпочтительные технические решения, которые необязательно должны быть указаны в данном документе.

Варианты осуществления изобретения

После проведения длительных и интенсивных исследований авторы настоящего изобретения обнаружили, что соединение с новой структурой и аминопиридиновым ядром может быть получено путем замещения хинолина на аминопиридин в рамках опубликованных сведений о AL-3810, являющимся ингибитором FGFR. Исходя из вышеизложенного новый класс производных аминопиридина с лучшей ингибирующей FGFR активностью и метаболическими свойствами может быть получен путем введения ароматических колец, замещенных различными водорастворимыми группами. Настоящее изобретение выполнено исходя из этого.

Термины.

Используемый в данном документе термин "гетероциклическая группа" представляет собой циклическую группу, имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N и S.

В данном случае предпочтительно, чтобы алкильная группа являлась алифатической алкильной группой, и она может представлять собой линейную алкильную группу, разветвленную алкильную группу, спироциклоалкильную группу, мостиковую циклоалкильную группу, олефиновую алкильную группу, алкиновую группу, циклоалкильную группу, циклоалкенил, циклоалкинил, алкоксиалкил, алкоксиалкил, циклоалкилалкил, включая в том числе метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, трет-бутил, циклопропил, циклобутан, циклопентил, циклогексан, аллил, пропаргил, циклобутенил, циклогексенил. Выражение "C₁-C₈" предназначено для указания соответствующей группы, содержащей 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, например, "C₁-C₈-алкил" означает алкильную группу, имеющую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, "C₂-C₁₀ алкенил" означает алкенильную группу, имеющую 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомов углерода.

В данном документе алкенильная группа предпочтительно представляет собой винильную группу, пропениловую группу, бутенильную группу, стироловую группу, фенилпропениловую группу или т.п.

В данном документе, циклоалкильная группа может представлять собой насыщенный или частично ненасыщенный моноциклический или полициклический углеводородный заместитель, включающий от 3 до 20 атомов углерода, предпочтительно содержащий от 3 до 12 атомов углерода, более предпочтительно циклоалкильную группу, включающую от 3 до 10 атомов углерода. Неограничивающие примеры моноциклических циклоалкильных групп включают циклопропил, циклобутил, циклопентенил, циклогексил, циклооктил и т.п.; и полициклические циклоалкильные группы включают спиро-, конденсированный или мостиковый циклоалкил.

Гетероциклическая группа относится к насыщенному или частично насыщенному моноциклическому или полициклическому заместителю, включающему 4-10-членную гетероциклическую группу, гетероциклическая группа представляет собой насыщенное или ненасыщенное моноциклическое кольцо, парациклическое кольцо, спирокольцо, конденсированное кольцо, мостиковое кольцо, которое включает один или несколько гетероатомов (азот, кислород или сера) или т.п. Описанная в данном документе гетероциклическая группа включает, помимо прочего, группу, выбранную из группы, состоящей из морфолинового кольца, пиперидинового кольца, пиперазинового кольца, N-алкильного или ацилзамещенного пиперазинового кольца, гомопиперазинового кольца, N-алкильного или ацилзамещенного гомопиперазинового кольца, пиррола, тетрагидропиррола, 7H-пурина и т.п.

Арильная группа относится к 6-10-членному моноциклическому или конденсированному полициклическому кольцу (т.е. кольцу, имеющему пару соседних атомов углерода), также группа имеет сопряженную π -электронную систему, такую как фенильная группа или нафтил. Арильное кольцо может быть слито с гетероциклическим, гетероарильным или циклоалкильным кольцом, неограничивающие примеры, включая бензимидазол, бензотиазол, бензоксазол, бензизоксазол, бензопиразол, хинолин, бензоиндолы, бензодигидрофуран.

Гетероарильная группа относится к гетероароматической системе, содержащей от 1 до 4 гетероатомов и от 5 до 14 кольцевых атомов, где гетероатомы представляют собой кислород, серу и азот. Гетероарильная группа представляет собой предпочтительно 5- или 6-членную группу, например фурил, тиенил, пиридил, пирролил, N-алкилпирролил, пиримидинил, пиазинил, имидазолил, тетразолил и т.п. Гетероарильная группа может быть слита с арильной группой, гетероциклической группой или циклоалкильным кольцом, где кольцо, к которому присоединена первичная структура, представляет собой гетероарильное кольцо.

Если не указано иное, структурная формула, описанная в данном документе, предназначена для включения всех таутомерных, оптических и стереоизомерных форм (например, энантиомеров, диастереомеров, геометрических изомеров или конформаций), например, конфигурации R, S, содержащие асимметричные центры, (Z), (E) изомеры двойных связей и конформеры (Z), (E). Таким образом, в объем настоящего изобретения входят все отдельные стереохимические изомеры, таутомеры, энантиомеры, диастереомеры, геометрические изомеры, конформеры или смесь таутомеров соединения настоящего изобретения.

Термин "таутомер" означает, что структурные изомеры с разной энергией могут превышать низкий энергетический барьер, что приводит к взаимобращению. Например, таутомеры, полученные в результате перемещения протона (т.е. протонных сдвигов), представляют собой взаимные превращения путем переноса протонов, например 1H-карбазол и 2H-карбазол, 1H-бензо[d]имидазол и 3H-бензо[d]имидазол. Валентные таутомеры образуются в результате взаимных превращений посредством перестройки связывающего электрона.

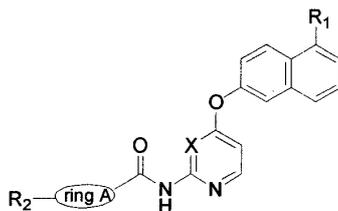
В данном документе фармацевтически приемлемая соль без конкретного ограничения предпочтительно включает соли неорганических кислот, соли органических кислот, алкилсульфонаты и арилсульфонаты; соли неорганических кислот включают гидрохлориды, гидробромиды, нитраты, сульфаты, фосфаты и т.д.; соли органических кислот включают формиаты, ацетаты, пропионаты, бензоаты, малеаты, фумараты, сукцинаты, тартраты, цитраты и т.д.; алкилсульфонаты включают метилсульфонаты, этилсульфонаты и т.д.; арилсульфонаты включают бензолсульфонаты, p-толуолсульфонаты и т.п.

В данном документе фармацевтически приемлемый сольват соединения, представленного общей формулой (I), без конкретного ограничения, предпочтительно включает сольват соединения, представленного общей формулой (I) с растворителями, такими как вода, этанол, изопропанол, диэтиловый эфир, ацетон.

Соединение формулы (I).

Изобретатели разработали и синтезировали серию новых соединений путем изучения связи структура-активность между кристаллической структурой FGFR и другими ингибиторами тирозинкиназы. После скрининга этих соединений на молекулярных, клеточных и животных моделях было обнаружено, что эти соединения могут в значительной степени ингибировать активность киназы FGFR на молекулярном уровне. Кроме того, оно может оказывать существенное ингибирующее воздействие на FGFR-индуцированную пролиферацию различных раковых клеток на клеточном уровне, а также в значительной степени подавлять рост опухолей у животных.

В частности, в настоящем изобретении предложено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль



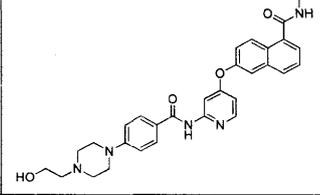
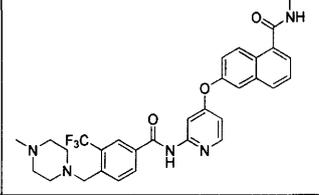
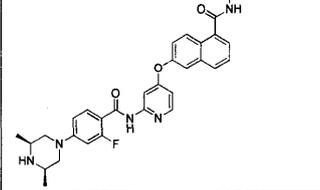
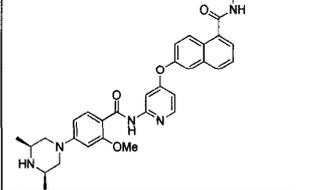
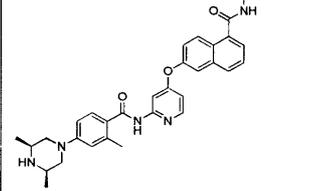
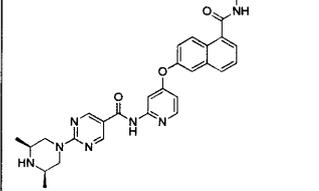
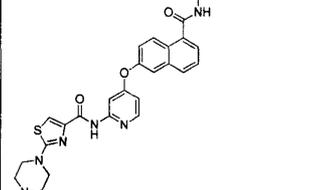
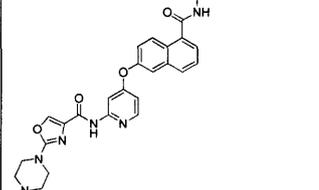
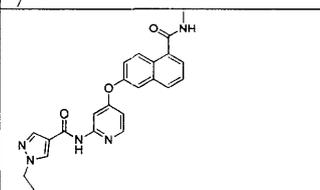
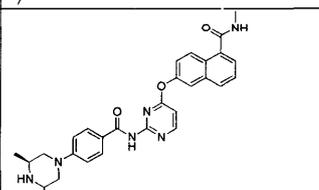
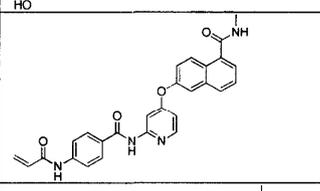
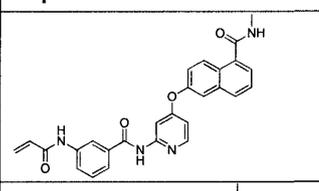
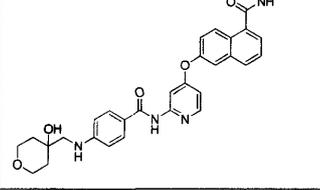
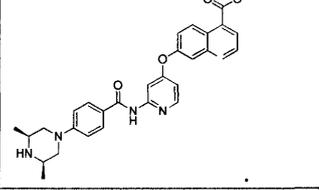
Формула (I)

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения X, кольцо A, R₁, R₂ и R₃ являются соответствующей группой в определенном соединении, описанном в примерах.

Предпочтительно, чтобы аминопиридиновое соединение формулы (I) настоящего изобретения выбиралось из соединений, приведенных в табл. 1 ниже.

Таблица 1

Соединение	Структура	Соединение	Структура
S1		S2	
S3		S4	
S5		S6	
S7		S8	
S9		S10	

S11		S12	
S13		S14	
S15		S16	
S17		S18	
S19		S20	
S21		S22	
S23		S24	

Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I).

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество из выбранных одного или нескольких аминопиридиновых соединений формулы (I), фармацевтически приемлемых солей, пролекарств или их гидратов или сольватов и, необязательно, фармацевтически приемлемый носитель, который может использоваться для лечения ассоциированного заболевания, такого как рак или подобного ему. Фармацевтическая композиция может быть приготовлена в различных формах в зависимости от пути введения.

Одно или несколько аминопиридиновых соединений формулы (I), фармацевтически приемлемых солей, пролекарств и его гидратов или сольватов или фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество одного или нескольких аминопиридиновых соединений (I), фармацевтически приемлемых солей, пролекарств, а также их гидратов или сольватов, могут использоваться как ингибиторы протеинтирозинкиназы, главным образом, в качестве ингибитора FGFR для лечения злокачественных новообразований.

FGFR преимущественно в виде FGFR1.

Фармацевтически приемлемая соль соединения настоящего изобретения может быть получена по-

средством прямой реакции образования соли между свободным основанием соединения с неорганической или органической кислотой. Неорганическая или органическая кислота может быть выбрана из группы, состоящей из соляной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, азотной кислоты, фтористоводородной кислоты, бромистоводородной кислоты, муравьиной кислоты, уксусной кислоты, пикриновой кислоты, лимонной кислоты, малеиновой кислоты, метансульфоново́й кислоты, трифторметансульфоново́й кислоты, этансульфоново́й кислоты, п-толуолсульфоново́й кислоты и т.п.

Соединения по данному изобретению обладают превосходной ингибирующей активностью в отношении киназ FGFR, таких как FGFR1 и FGFR2. Следовательно, соединение по настоящему изобретению и кристаллические формы, фармацевтически приемлемые неорганические или органические соли, гидраты или сольваты и фармацевтическая композиция, содержащая соединение по настоящему изобретению в качестве основного активного ингредиента, могут быть использованы для лечения, профилактики и смягчения течения заболеваний, связанных с активностью или экспрессией FGFR, например профилактика и/или лечение заболеваний, связанных с аномальной экспрессией молекул сигнального пути FGF/FGFR. Согласно известному уровню техники соединения по настоящему изобретению, может использоваться для лечения следующих заболеваний: заболевания, связанные с опухолями, включая рак молочной железы, рак легких, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак толстой кишки, множественную миелому, ОМЛ, рак печени, меланому, раковые образования головы и шеи, рак щитовидной железы, почечно-клеточный рак, глиобластома и рак яичка. Главным образом, опухоль выбирается из группы, включающей рак молочной железы, немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак толстой кишки, множественную миелому, рак печени, меланому, раковые образования головы и шеи, рак щитовидной железы, почечно-клеточный рак, глиобластома и рак яичка. В наиболее частном случае злокачественные новообразования, к которым относится немелкоклеточный рак легкого, рак желудка или множественная миелома.

Фармацевтическая композиция как объект данного изобретения включает соединение по данному изобретению или его фармацевтически приемлемые соли в безопасном и эффективном диапазоне доз и фармацевтически приемлемые эксципиенты или носители, где "безопасная и эффективная доза" означает, что количество соединения является достаточным для значительного улучшения состояния, не вызывая значительных побочных эффектов. Как правило, фармацевтическая композиция содержит 1-2000 мг соединения по изобретению на дозу, предпочтительно 5-200 мг соединения по изобретению на дозу. Предпочтительно "доза" представляет собой капсулу или таблетку.

"Фармацевтически приемлемый носитель" означает один или несколько совместимых твердых или жидких наполнителей или гелеподобных материалов, которые пригодны для использования человеком, и которые должны иметь достаточную чистоту и достаточно низкую токсичность. "Совместимость" означает, что каждый компонент композиции может смешиваться с соединениями по настоящему изобретению и друг с другом без значительного снижения эффективности соединений. Некоторые примеры фармацевтически приемлемых носителей включают целлюлозу и ее производные (например, натрий-карбоксиметилцеллюлоза, натрий этилцеллюлоза, ацетатцеллюлоза и т.д.), желатин, тальк, твердые смазки (например, стеариновая кислота, стеарат магния), сульфат кальция, растительные масла (например, соевое масло, кунжутное масло, арахисовое масло, оливковое масло и т.д.), полиолы (такие как пропиленгликоль, глицерин, маннит, сорбит и т.д.), эмульгаторы (например, Tween®), смачивающий агент (например, додецилсульфат натрия), красящие агенты, ароматизирующие агенты, стабилизаторы, антиоксиданты, консерванты, апирогенная вода и т.д.

Не существует особых ограничений для режимов введения соединений или фармацевтических композиций по настоящему изобретению, и репрезентативный способ введения включает (но не ограничивается) пероральное, внутриопухолевое, ректальное, парентеральное (внутривенное, внутримышечное или подкожное) и местное введение.

Твердые лекарственные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых дозированных формах активные соединения смешивают по меньшей мере с одним из общепринятых инертных эксципиентов (или носителей), таких как цитрат натрия или СаНРО₄, или смешивают с любым из следующих компонентов: (a) наполнители или средства, улучшающие совместимость, например крахмал, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота; (b) связующие вещества, например гидроксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и гуммиарабик; (c) увлажнитель, такой как глицерин; (d) дезинтегрирующие агенты, такие как агар, карбонат кальция, картофельный крахмал или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые композиционные силикаты и карбонат натрия; (e) агенты, замедляющие растворение, такие как парафин; (f) ускорители абсорбции, например четвертичные аммониевые соединения; (g) смачивающие агенты, такие как цетиловый спирт, моностеарат глицерина; (h) адсорбенты, например каолин; и (i) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарин кальциевый, стеарат магния, твердый полиэтиленгликоль, лаурилсульфат натрия или их смеси. В капсулах, таблетках и пилюлях дозированные формы могут также содержать буферные средства.

Твердые дозированные формы, такие как таблетки, сахарные пилюли, капсулы, пилюли и гранулы,

могут быть получены с использованием материалов для покрытий и оболочек, таких как кишечнорастворимые покрытия, и любых других материалов, известных в данной области техники. Они могут содержать матирующий агент. Высвобождение активных соединений или соединений в композициях может происходить в замедленном режиме в определенной части желудочно-кишечного тракта. К примерам покрывающих компонентов относятся полимеры и воски. При необходимости, активные соединения и один или несколько описанных выше эксципиентов могут формировать микрокапсулы.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы или настойки. В дополнение к активным соединениям жидкие лекарственные формы могут содержать любые традиционные инертные разбавители, известные в данной области, такие как вода или другие растворители, солюбилизаторы и эмульгаторы, например этанол, изопропанол, этилкарбонат, этилацетат, пропиленгликоль, 1,3-бутандиол, диметилформамид, а также масло, в частности хлопковое масло, арахисовое масло, кукурузное масло, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло или их комбинации.

Помимо этих инертных разбавителей композиции могут также содержать добавки, такие как смазывающие агенты, эмульгаторы и суспендирующие средства, подсластители, вкусовые агенты и ароматизаторы.

В дополнение к активным соединениям, суспензия может содержать суспендирующее средство, например этоксилированный изооктадеканол, полиоксиэтиленсорбит и сложные эфиры сорбита, микрокристаллическую целлюлозу, метанол алюминия и агар или их комбинации.

Композиции для парентерального введения могут включать физиологически приемлемые стерильные водные или безводные растворы, дисперсии, суспензии или эмульсии, а также стерильные порошки, которые могут быть повторно растворены в стерильных инъекционных растворах или дисперсиях. Подходящие водные и неводные носители, разбавители, растворители или эксципиенты включают воду, этанол, полиолы и их любые подходящие смеси.

Лекарственные формы для местного введения соединений по настоящему изобретению включают мази, порошки, пластыри, аэрозоли и ингаляторы. Активные ингредиенты смешивают с физиологически приемлемыми носителями и любыми консервантами, буферами или пропеллентами, в случае необходимости, в стерильных условиях.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить отдельно или в сочетании с любыми другими фармацевтически приемлемыми соединениями.

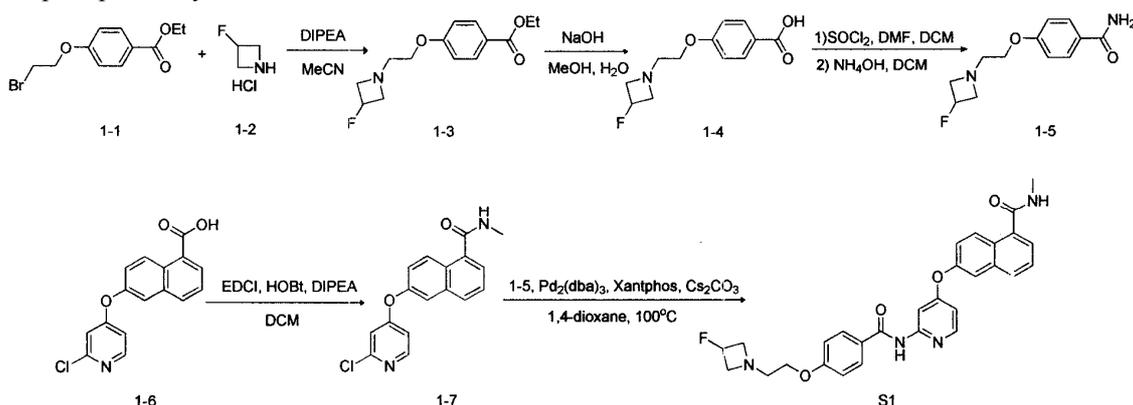
Когда используют фармацевтические композиции, безопасное и эффективное количество соединения по настоящему изобретению вводят млекопитающему (например, человеку), который в этом нуждается, при этом доза введения является фармацевтически эффективной дозой. Для человека весом 60 кг суточная доза обычно составляет 1-2000 мг, предпочтительно 5-500 мг. Разумеется, конкретная доза должна зависеть от различных факторов, таких как способ введения, состояния здоровья пациента, которые находятся в компетенции опытного врача.

Далее настоящее изобретение будет проиллюстрировано со ссылкой на конкретные примеры. Следует понимать, что эти примеры предназначены только для иллюстрации изобретения, но не для ограничения границ изобретения. Экспериментальные методы, не включающие особых условий, описанные в следующих примерах, обычно выполняются в обычных условиях или в соответствии с инструкциями производителя. Если не указано иное, доли и проценты рассчитываются по весу.

I. Примеры получения соединения.

¹H-NMR определяли Varian Mercury AMX300; MS определяли посредством VG ZAB-MS или VG-7070, источник EI (70 эВ) (если не указано иное); все растворители перед использованием были подвергнуты повторной дистилляции, безводные растворители получают путем сушки в соответствии со стандартным способом; если не указано иное, все реакции проводятся под защитой азота и отслеживаются посредством ТСХ, вся процедура после обработки включает промывку насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушку безводным сульфатом натрия; очистка продукта, если не указано иное, проводилась с использованием колоночной хроматографии с силикагелем (200-300 меш); где силикагель (200-300 меш) произведен химическим заводом Qingdao Ocean, а тонкослойная пластина с силикагелем GF254 произведена компанией Yantai Jiangyou Silica Development Co., Ltd.

Пример 1. Получение соединения S1.



Метод синтеза для соединения 1-1 осуществлялся со ссылкой на метод, представленный в WO 2011140009.

Синтез соединения 1-3.

Соединение 1-1, соединение 1-2 (1,5 экв.) взвешивали в одногорлой колбе, растворяли в ацетонитриле, затем добавляли DIPEA, реакцию проводили при 70°C в течение ночи. По завершении реакции выполняли экстрагирование дихлорметаном и водой, органическую фазу промывали насыщенным раствором соли, сушили над безводным сульфатом натрия. Смесь наносили на колонку и элюировали PE:EA = 5:1 для получения соединения 1-3.

Синтез соединения 1-4.

Соединение 1-3 растворяли в метаноле и добавляли 2 экв. водного раствора гидроксида натрия, затем реакционную смесь нагревали при 60°C в течение 4 ч. После завершения реакции реакционный раствор охлаждали до комнатной температуры и pH доводили до 5-6 с помощью 2N HCl. Большое количество твердого вещества осаждали и фильтровали с отсасыванием с получением соединения 1-4.

Синтез соединения 1-5.

Соединение 1-5 растворяли в дихлорметане, DMF [N,N-диметилформамид] (10 экв.), на ледяной бане добавляли сульфоксид (4 экв.) и нагревали смесь до комнатной температуры в течение 2 ч. После завершения реакции реакционный раствор выпаривали до сухого состояния *in vacuo*, растворяли в DCM и добавляли в раствор аммиака в дихлорметане, охлажденном до 0°C, подвергали взаимодействию при комнатной температуре в течение 5 ч. По завершении реакции его экстрагировали дихлорметаном и водой и органическую фазу промывали насыщенным раствором соли, сушили над безводным сульфатом натрия. Смесь наносили на колонку и элюировали CH₂Cl₂:MeOH=50:1 с получением соединения 1-5.

Соединение 1-6 было синтезировано со ссылкой на J. Med. Chem. 2008, 51, 1649-1667.

Синтез соединения 1-7.

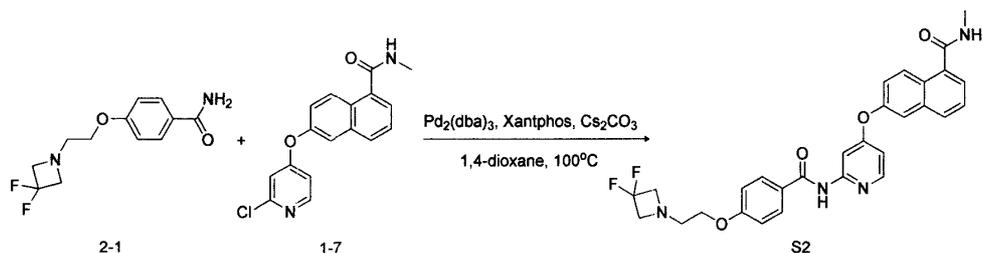
Соединение 1-6, гидрохлорид метиламина (2,5 экв.), EDCI [1-этил-(3-диметиламинопропил)карбодимид гидрохлорид] (1,5 экв.), HOBT [1-гидроксibenзотриазол] (1 экв.) взвешивали в одногорлой колбе и растворяли в дихлорметане, затем добавляли DIPEA [диизопропилэтиламин] (2,5 экв.) и оставляли реагировать в течение ночи при комнатной температуре. По завершении реакции выполняли экстрагирование дихлорметаном и водой, органическую фазу промывали насыщенным раствором соли, сушили над безводным сульфатом натрия. Смесь наносили на колонку и элюировали PE:EA (об.:об.) = 1:1 для получения соединения 1-7.

Синтез соединения S1.

Соединение 1-5, соединение 1-7 (1,2 экв.), Pd₂(dba)₃ [трис(добензилиденацетон)дипалладий] (0,1 экв.), ксантфос [4,5-бисдифенилфосфин-9, 9-диметилоксантен] (0,2 экв.), карбонат цезия (2 экв.) растворяли в 1,4-диоксане в атмосфере азота и подвергали взаимодействию при 100°C в течение 5 ч. По завершении реакции его экстрагировали дихлорметаном и водой, органическую фазу промывали насыщенным раствором соли, сушили над безводным сульфатом натрия. Смесь наносили на колонку и элюировали CH₂Cl₂:MeOH=50:1 с получением соединения S1.

Данные анализа S1: ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 8,66 (s, 1H), 8,39 (d, J = 9,1 Гц, 1H), 8,12 (d, J = 5,6 Гц, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,82 (t, J = 8,8 Гц, 3H), 7,56 (s, 2H), 7,45 (t, J = 7,6 Гц, 1H), 7,33 (d, J = 9,9 Гц, 1H), 6,92 (d, J = 8,6 Гц, 2H), 6,66 (d, J = 4,2 Гц, 1H), 6,22 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 5,28 - 5,18 (m, 0,5H), 5,09 - 4,97 (m, 0,5H), 4,03 (t, J = 5,1 Гц, 2H), 3,85 - 3,72 (m, 2H), 3,36 - 3,21 (m, 2H), 3,07 (d, J = 4,8 Гц, 3H), 2,92 (t, J = 5,0 Гц, 2H).

Пример 2. Получение соединения S2.

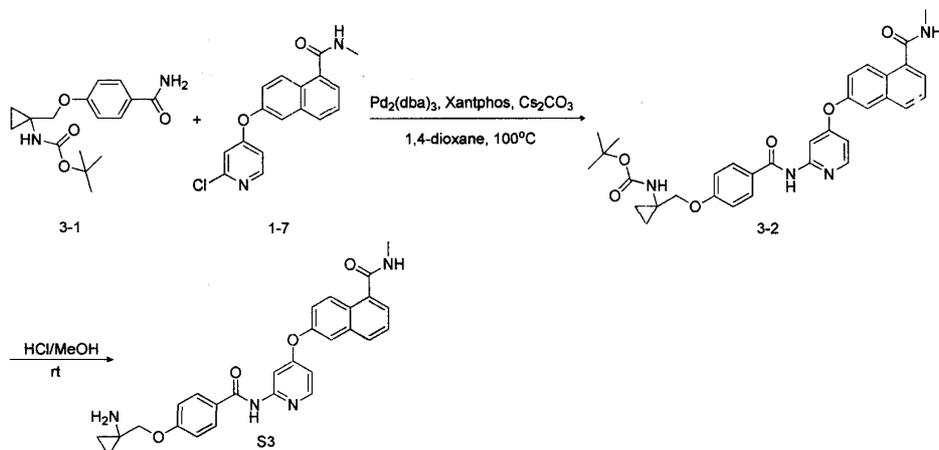


Процесс синтеза соединения 2-1 происходил аналогично соединению 1-5.

Процесс синтеза соединения S2 происходил аналогично S1.

Данные анализа S2: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8,53 (s, 1H), 8,36 (d, $J = 9,0$ Гц, 1H), 8,10 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,79 (t, $J = 7,7$ Гц, 3H), 7,53 (d, $J = 7,1$ Гц, 2H), 7,42 (t, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,34 - 7,26 (m, 1H), 6,88 (d, $J = 8,7$ Гц, 2H), 6,62 (d, $J = 4,7$ Гц, 1H), 6,01 (s, 1H), 4,03 (t, $J = 5,0$ Гц, 2H), 3,68 (t, $J = 12,0$ Гц, 4H), 3,05 (d, $J = 4,9$ Гц, 3H), 2,94 (t, $J = 4,9$ Гц, 2H).

Пример 3. Получение соединения S3



Процесс синтеза соединения 3-1 происходил аналогично соединению 1-5.

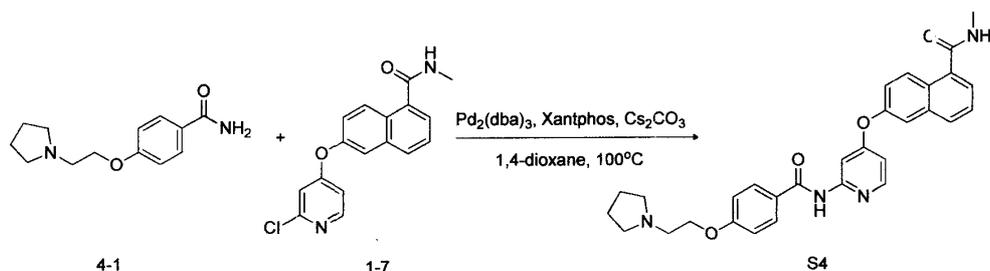
Процесс синтеза соединения 3-2 происходил аналогично S1.

Синтез соединения S3.

Соединение 3-2 растворяли в метаноле и добавляли 2N раствор соляной кислоты в метаноле (30 экв.), выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. После завершения реакции реакцию смесь выпаривали до сухого состояния *in vacuo* и экстрагировали насыщенным раствором бикарбоната натрия и DCM, органическую фазу промывали насыщенным раствором соли, сушили над безводным сульфатом натрия. Смесь наносили на колонку и элюировали $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}=30:1$ для получения соединения S3.

Данные анализа S3: ^1H ЯМР (300 МГц CDCl_3) δ 8,58 (s, 1H), 8,41 (d, $J = 9,1$ Гц, 1H), 8,15 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,84 (t, $J = 7,7$ Гц, 3H), 7,57 (s, 2H), 7,51 - 7,42 (m, 1H), 7,35 (d, $J = 9,7$ Гц, 1H), 6,95 (d, $J = 8,2$ Гц, 2H), 6,67 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 3,88 (s, 2H), 3,09 (d, $J = 4,0$ Гц, 3H), 0,77 (s, 2H), 0,65 (s, 2H).

Пример 4. Получение соединения S4

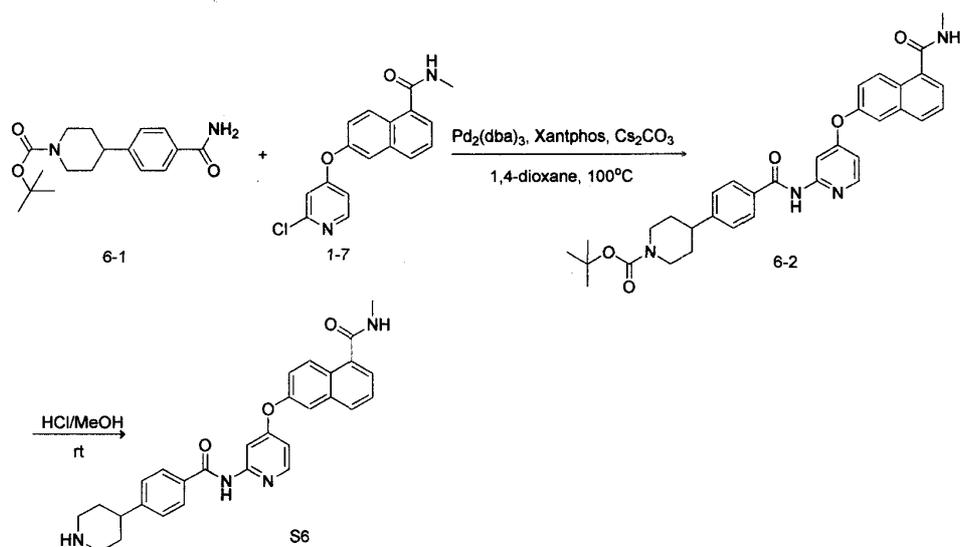


Процесс синтеза соединения 4-1 происходил аналогично 1-5.

Процесс синтеза соединения S4 происходил аналогично S1.

Данные анализа S4: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8,87 (s, 1H), 8,34 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 8,06 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,79 (t, $J = 7,0$ Гц, 3H), 7,55 - 7,46 (m, 2H), 7,40 (t, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,33 - 7,26 (m, 1H),

Пример 6. Получение соединения S6



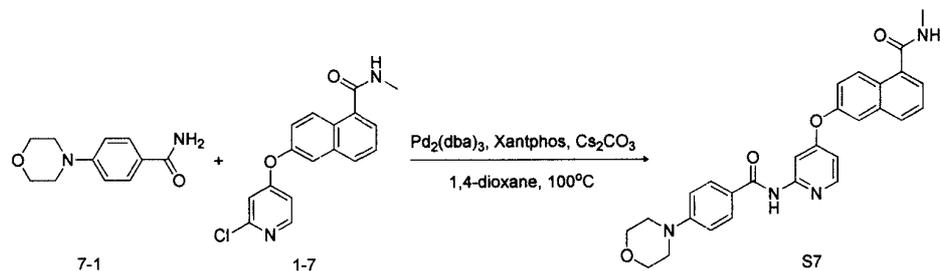
Синтез соединения 6-1 осуществлялся со ссылкой на метод, представленный в WO 2001060846.

Процесс синтеза соединения 6-2 происходил аналогично S1.

Процесс синтеза S6 происходил аналогично S3.

Данные анализа S6: ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 8,83 (s, 1H), 8,31 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 8,10 - 7,93 (m, 2H), 7,73 (dd, J = 13,3, 8,3 Гц, 3H), 7,46 (d, J = 7,7 Гц, 2H), 7,40 - 7,33 (m, 1H), 7,24 (d, J = 9,9 Гц, 2H), 6,57 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 6,36 (s, 1H), 3,20 (d, J = 11,8 Гц, 2H), 2,97 (d, J = 4,4 Гц, 3H), 2,69 (dd, J = 25,0, 13,5 Гц, 2H), 1,73 (dd, J = 31,8, 11,6 Гц, 4H).

Пример 7. Получение соединения S7

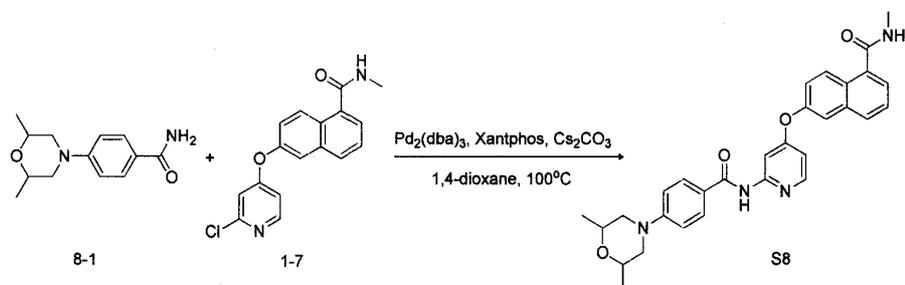


Процесс синтеза соединения 7-1 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения S7 происходил аналогично S1.

Данные анализа S7: ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 8,55 (s, 1H), 8,40 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 8,15 (d, J = 5,8 Гц, 1H), 8,03 (d, J = 1,7 Гц, 1H), 7,82 (dd, J = 17,4, 8,4 Гц, 3H), 7,57 (d, J = 5,6 Гц, 2H), 7,51 - 7,43 (m, 1H), 7,35 (dd, J = 9,1, 2,3 Гц, 1H), 6,89 (d, J = 8,8 Гц, 2H), 6,66 (dd, J = 5,7, 2,1 Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 3,92 - 3,81 (m, 4H), 3,36 - 3,23 (m, 4H), 3,09 (d, J = 4,9 Гц, 3H).

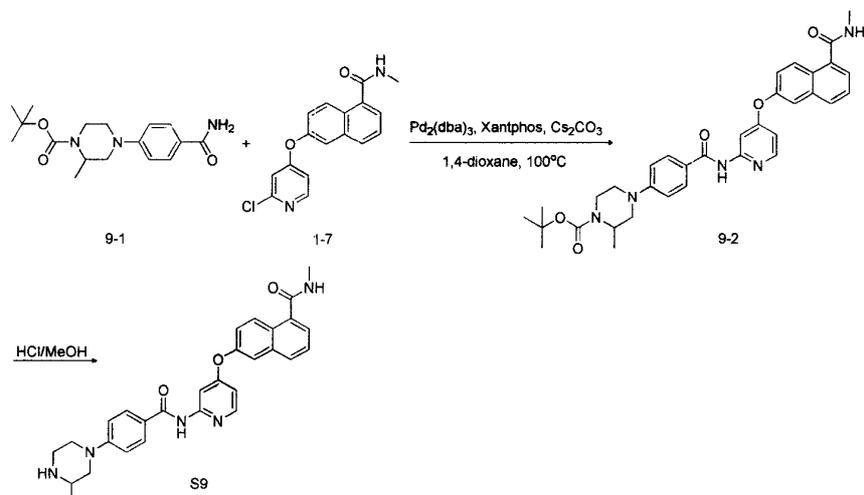
Пример 8. Получение соединения S8



Процесс синтеза соединения 8-1 происходил аналогично 5-5. Процесс синтеза соединения S8 происходил аналогично S1.

Данные анализа S8: ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 8,55 (s, 1H), 8,40 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 8,15 (d, J = 5,7 Гц, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,81 (dd, J = 21,6, 8,4 Гц, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,47 (t, J = 7,6 Гц, 1H), 7,35 (d, J = 8,8 Гц, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,88 (d, J = 8,6 Гц, 1H), 6,66 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 6,14 (d, J = 4,4 Гц, 1H), 3,87 - 3,71 (m, 1H), 3,59 (d, J = 12,0 Гц, 1H), 3,09 (d, J = 4,7 Гц, 1H), 2,51 (t, J = 11,3 Гц, 1H), 1,27 (d, J = 6,2 Гц, 1H).

Пример 9. Получение соединения S9



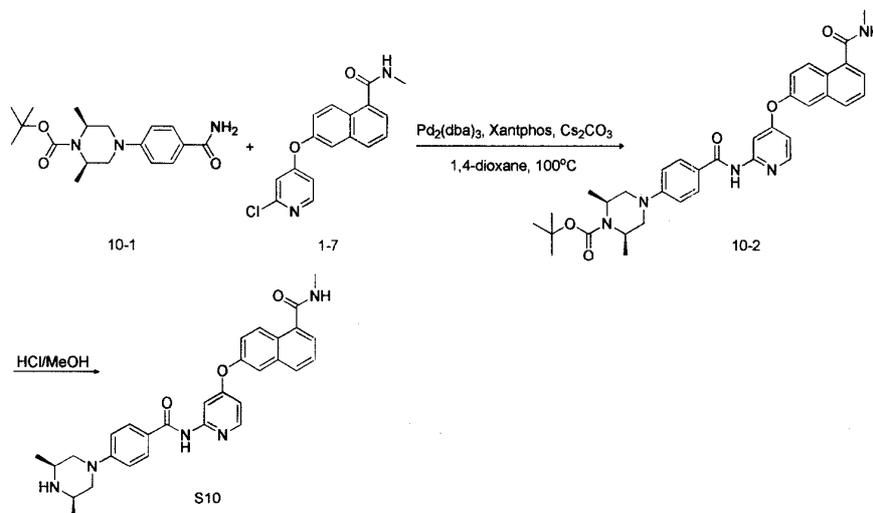
Процесс синтеза соединения 9-1 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения 9-2 происходил аналогично S1.

Процесс синтеза соединения S9 происходил аналогично S3.

Данные анализа S9: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8,54 (s, 1H), 8,39 (d, $J = 8,9$ Гц, 1H), 8,15 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,84 (d, $J = 8,5$ Гц, 1H), 7,76 (d, $J = 8,5$ Гц, 2H), 7,56 (s, 2H), 7,46 (t, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,34 (d, $J = 9,0$ Гц, 1H), 6,88 (d, $J = 8,7$ Гц, 2H), 6,66 (d, $J = 5,9$ Гц, 1H), 6,17 (s, 1H), 3,67 (d, $J = 11,9$ Гц, 2H), 3,18-3,01 (m, 5H), 2,96 (d, $J = 13,2$ Гц, 2H), 2,82 (t, $J = 11,4$ Гц, 1H), 2,46 (t, $J = 11,3$ Гц, 1H), 1,14 (d, $J = 6,2$ Гц, 3H).

Пример 10. Получение соединения S10

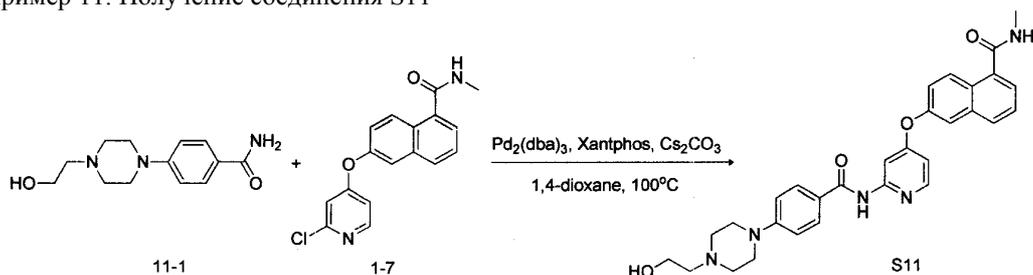


Процесс синтеза соединения 10-1 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения 10-2 происходил аналогично S1. Процесс синтеза соединения S10 происходил аналогично S3.

Данные анализа S10: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8,51 (s, 1H), 8,40 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 8,15 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 8,1$ Гц, 1H), 7,76 (d, $J = 8,6$ Гц, 2H), 7,57 (d, $J = 5,9$ Гц, 2H), 7,46 (t, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,38 - 7,31 (m, 1H), 6,89 (d, $J = 8,7$ Гц, 2H), 6,70 - 6,62 (m, 1H), 6,13 (d, $J = 3,6$ Гц, 1H), 3,67 (d, $J = 11,1$ Гц, 2H), 3,09 (d, $J = 4,7$ Гц, 3H), 2,99 (td, $J = 9,1, 4,4$ Гц, 2H), 2,41 (t, $J = 11,2$ Гц, 2H), 1,15 (d, $J = 6,2$ Гц, 6H).

Пример 11. Получение соединения S11

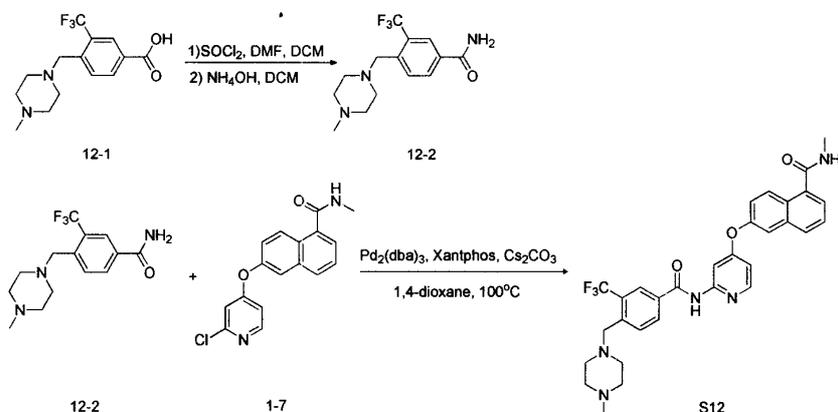


Процесс синтеза соединения 11-1 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения S11 происходил аналогично S1.

Данные анализа S11: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8,27 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 8,06 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,79 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,72 (d, $J = 8,6$ Гц, 2H), 7,52 (d, $J = 6,8$ Гц, 2H), 7,42 (t, $J = 7,5$ Гц, 1H), 7,27 (d, $J = 5,5$ Гц, 2H), 6,84 (d, $J = 8,8$ Гц, 2H), 6,64 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 3,62 (t, $J = 5,3$ Гц, 2H), 3,28 (s, 6H), 2,61 (s, 5H), 2,54 (t, $J = 5,4$ Гц, 2H).

Пример 12. Получение соединения S12



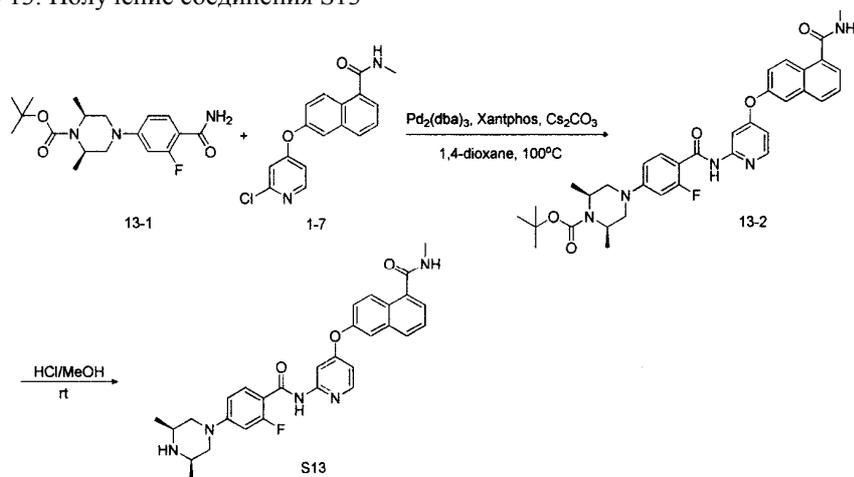
Синтез соединения 12-1 осуществлялся со ссылкой на метод, представленный в WO 2013170774.

Процесс синтеза соединения 12-2 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения S12 происходил аналогично S1.

Данные анализа S12: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8,71 (s, 1H), 8,43 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 8,15 (d, $J = 5,8$ Гц, 2H), 8,03 (d, $J = 6,7$ Гц, 1H), 8,00 - 7,92 (m, 2H), 7,86 (d, $J = 8,1$ Гц, 1H), 7,59 (d, $J = 6,7$ Гц, 2H), 7,49 (t, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,35 (d, $J = 9,1$ Гц, 1H), 6,69 (d, $J = 5,3$ Гц, 1H), 3,71 (s, 2H), 3,11 (d, $J = 4,8$ Гц, 3H), 2,54 (s, 8H), 2,32 (s, 4H).

Пример 13. Получение соединения S13



Процесс синтеза соединения 13-1 происходил аналогично 5-5.

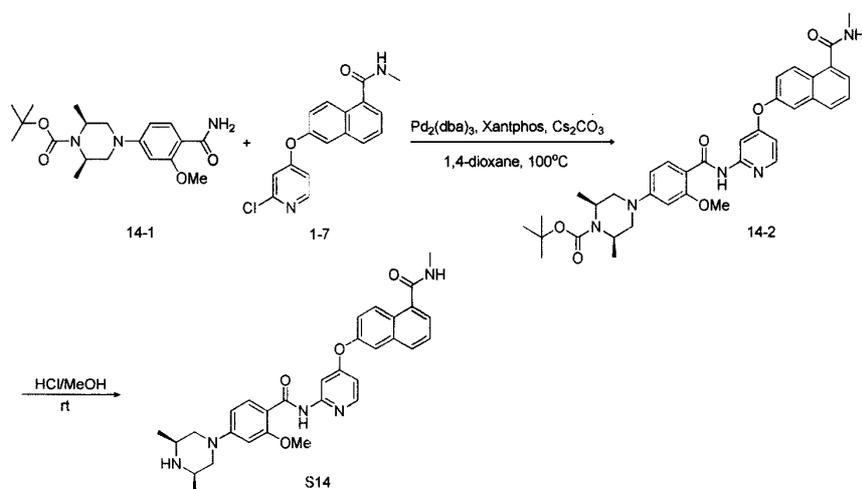
Процесс синтеза соединения 13-2 происходил аналогично S1.

Процесс синтеза соединения S13 происходил аналогично S3.

Данные анализа S13: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 12,38 (s, 1H), 8,40 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 8,21 - 8,10 (m, 2H), 8,05 (s, 1H), 7,84 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 7,55 (d, $J = 6,4$ Гц, 2H), 7,45 (t, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,34 (d, $J = 11,1$

Гц, 1H), 6,93 (dd, J = 17,1, 8,9 Гц, 2H), 6,64 (d, J = 5,5 Гц, 1H), 6,23 (s, 1H), 3,48 (s, 2H), 3,12 - 3,03 (m, 5H), 2,84 (s, 3H), 2,53 (t, J = 10,8 Гц, 2H), 1,14 (d, J = 6,3 Гц, 6H).

Пример 14. Получение соединения S14



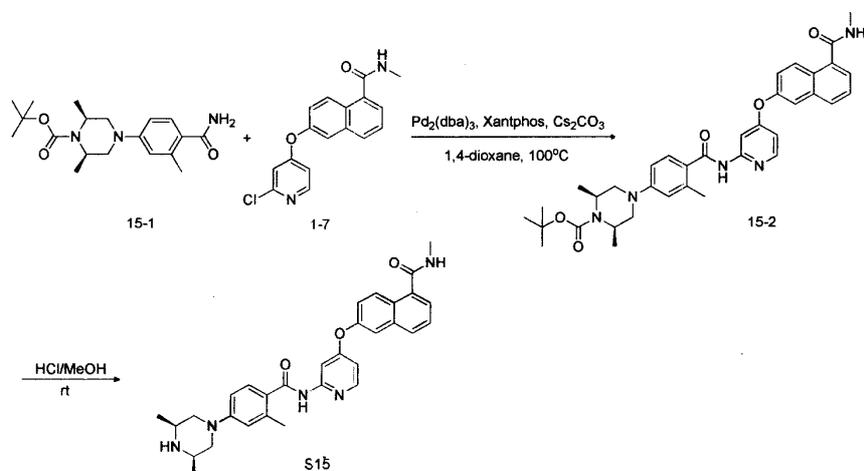
Процесс синтеза соединения 14-1 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения 14-2 происходил аналогично S1.

Процесс синтеза соединения S13 происходил аналогично S3.

Данные анализа S14: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 10,28 (s, 1H), 8,37 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 5,7 Гц, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,98 (d, J = 8,9 Гц, 1H), 7,82 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 7,53 (d, J = 6,9 Гц, 2H), 7,45 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 7,34 (d, J = 9,3 Гц, 1H), 6,63 (d, J = 6,3 Гц, 1H), 6,53 (d, J = 8,8 Гц, 1H), 6,36 (s, 1H), 6,27 (d, J = 4,6 Гц, 1H), 4,05 (s, 3H), 3,64 (d, J = 11,9 Гц, 2H), 3,05 (d, J = 4,8 Гц, 3H), 2,98 (d, J = 6,6 Гц, 2H), 2,42 (t, J = 11,2 Гц, 2H), 1,15 (d, J = 6,2 Гц, 6H).

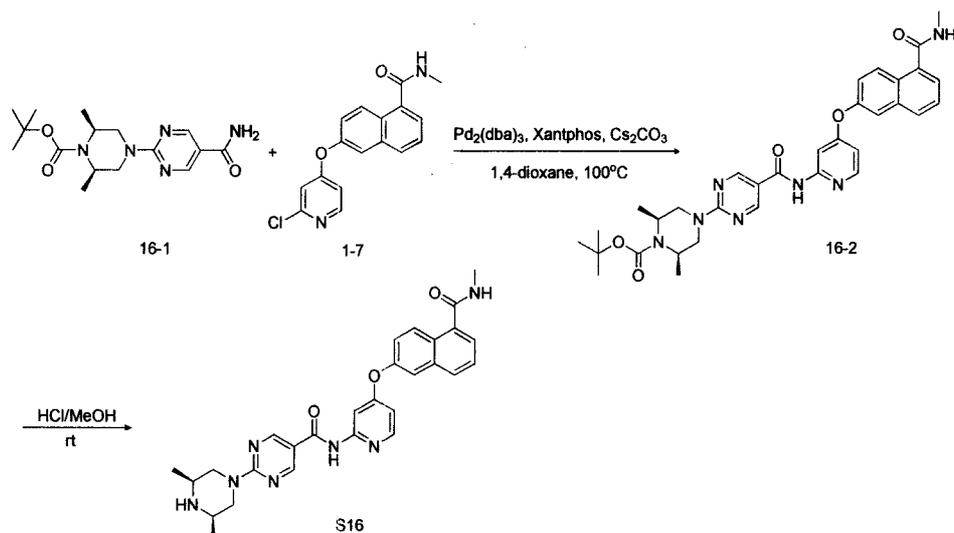
Пример 15. Получение соединения S15



Процесс синтеза соединения 15-1 происходил аналогично 5-5. Процесс синтеза соединения 15-2 происходил аналогично S1. Процесс синтеза соединения S15 происходил аналогично S3.

Данные анализа S15: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8,40 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 8,12 (d, J = 5,6 Гц, 1H), 7,91 (d, J = 8,9 Гц, 1H), 7,79 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 7,50 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 7,491 - 7,43 (m, 2H), 7,24 (d, J = 2,3 Гц, 1H), 6,75 (d, J = 7,7 Гц, 2H), 6,41 (d, J = 8,8 Гц, 1H), 6,27 (s, 1H), 6,13 (s, 1H), 3,67 (d, J = 10,9 Гц, 2H), 3,12 - 3,03 (m, 5H), 2,45 (t, J = 11,2 Гц, 2H), 2,25 (s, 3H), 1,17 (d, J = 6,8 Гц, 6H).

Пример 16. Получение соединения S16



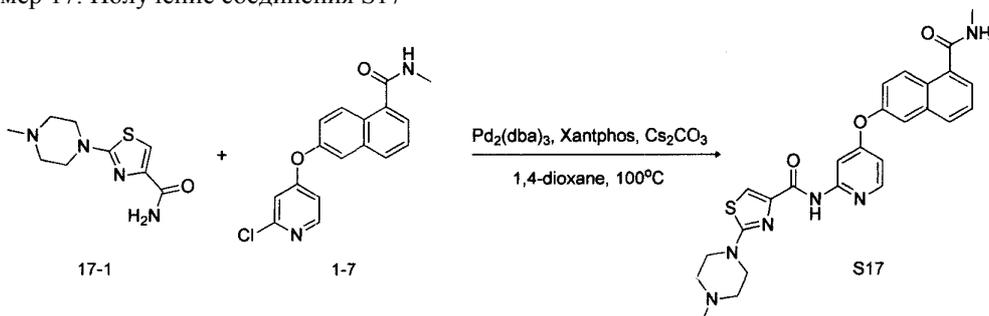
Процесс синтеза соединения 16-1 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения 16-2 происходил аналогично S1.

Процесс синтеза соединения S16 происходил аналогично S3.

Данные анализа S16: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 8,77 (s, 2H), 8,49 - 8,36 (m, 2H), 8,15 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 7,57 (d, $J = 6,8$ Гц, 2H), 7,51 - 7,44 (m, 1H), 7,34 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 6,67 (d, $J = 3,5$ Гц, 1H), 6,11 (d, $J = 5,7$ Гц, 1H), 4,77 (d, $J = 12,7$ Гц, 2H), 3,10 (d, $J = 4,7$ Гц, 3H), 2,94 - 2,81 (m, 2H), 2,54 (t, $J = 11,7$ Гц, 2H), 1,25 (s, 1H), 1,16 (d, $J = 6,2$ Гц, 6H).

Пример 17. Получение соединения S17

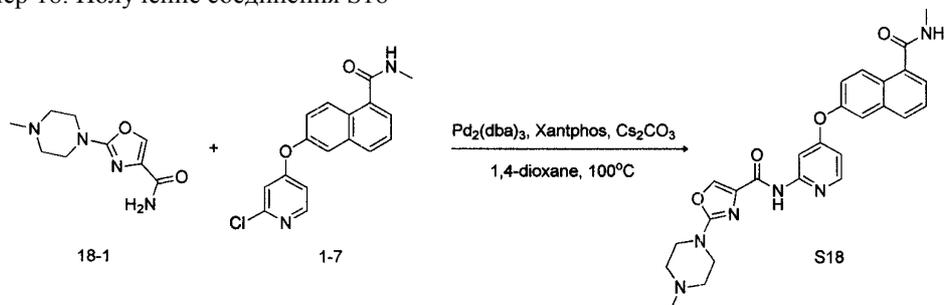


Процесс синтеза соединения 17-1 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения S17 происходил аналогично S1.

Данные анализа S17: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 9,61 (s, 1H), 8,40 (d, $J = 9,0$ Гц, 1H), 8,19 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H), 8,02 (d, $J = 1,8$ Гц, 1H), 7,85 (d, $J = 8,3$ Гц, 1H), 7,57 (d, $J = 6,7$ Гц, 2H), 7,47 (t, $J = 7,5$ Гц, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,36 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 6,71 - 6,64 (m, 1H), 6,08 (d, $J = 4,5$ Гц, 1H), 3,58 - 3,52 (m, 4H), 3,10 (d, $J = 4,9$ Гц, 3H), 2,56 - 2,49 (m, 4H), 2,36 (s, 3H).

Пример 18. Получение соединения S18

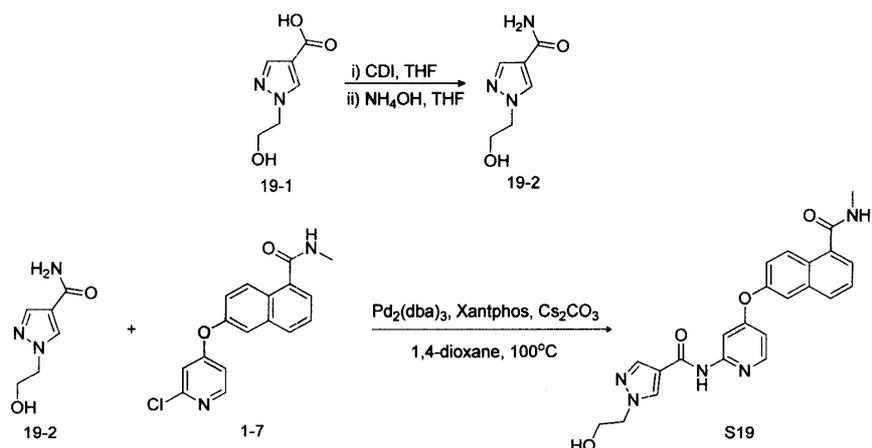


Процесс синтеза соединения 18-1 происходил аналогично 5-5.

Процесс синтеза соединения S18 происходил аналогично S1.

Данные анализа S18: ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 9,26 (s, 1H), 8,40 (d, $J = 9,2$ Гц, 1H), 8,18 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 8,2$ Гц, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,58 (d, $J = 7,1$ Гц, 2H), 7,47 (t, $J = 7,8$ Гц, 1H), 7,35 (d, $J = 9,3$ Гц, 1H), 6,67 (d, $J = 3,8$ Гц, 1H), 6,05 (d, $J = 14,5$ Гц, 1H), 3,56 (s, 4H), 3,10 (d, $J = 4,8$ Гц, 3H), 2,49 (s, 4H), 2,34 (s, 3H).

Пример 19. Получение соединения S19



Синтез соединения 19-1 осуществлялся со ссылкой на метод, представленный в WO 2012040137.

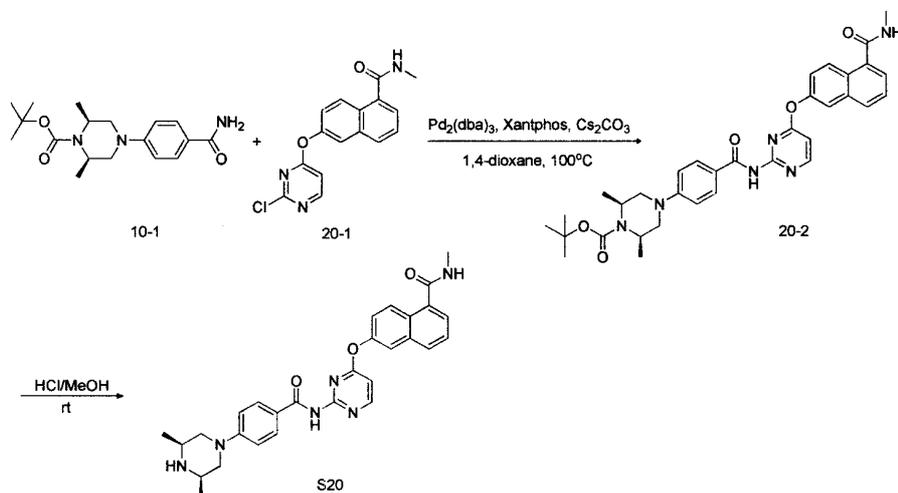
Синтез соединения 19-2.

1 экв. CDI [карбонилдиимдазол] растворяли в сухом THF [тетрагидрофуран], к нему добавляли соединение 19-1, смесь выдерживали при 40°C в течение 30 мин, а затем добавляли раствор водного аммиака (20 экв.) в тетрагидрофуране, смесь выдерживали при 30°C в течение ночи. По завершении реакции выполняли экстрагирование дихлорметаном и водой, органическую фазу промывали насыщенным раствором соли, сушили над безводным сульфатом натрия и затем непосредственно добавляли для проведения следующего этапа.

Процесс синтеза соединения S19 происходил аналогично S1.

Данные анализа S19: ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 10,62 (s, 1H), 8,63 - 8,51 (m, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,33 (d, J = 9,3 Гц, 1H), 8,27 (d, J = 5,7 Гц, 1H), 8,10 (s, 1H), 8,02 (dd, J = 6,9; 2,0 Гц, 1H), 7,82 (dd, J = 6,8; 1,9 Гц, 2H), 7,59 (d, J = 7,0 Гц, 2H), 7,45 (dd, J = 9,2; 2,5 Гц, 1H), 6,80 (dd, J = 5,8; 2,0 Гц, 1H), 4,94 (t, J = 5,3 Гц, 1H), 4,14 (t, J = 5,2 Гц, 2H), 3,72 (q, J = 5,4 Гц, 2H), 2,86 (d, J = 4,4 Гц, 3H).

Пример 20. Получение соединения S20



Процесс синтеза соединения 20-1 происходил аналогично 1-7.

Процесс синтеза соединения 20-2 происходил аналогично S1.

Процесс синтеза соединения S20 происходил аналогично S3.

Данные анализа S20: ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 9,19 (s, 1H), 8,34 (d, J = 5,3 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 7,68 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 7,60 (d, J = 8,3 Гц, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,41 (dd, J = 11,5; 5,6 Гц, 2H), 7,30 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 7,15 (d, J = 9,0 Гц, 1H), 6,63 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,41 (d, J = 5,6 Гц, 1H), 3,45 (d, J = 12,3 Гц, 2H), 2,91 - 2,79 (m, 5H), 2,48 - 2,32 (m, 2H), 1,09 (d, J = 6,2 Гц, 6H).

рецептора FGFR1.

Метод эксперимента.

1. Субстрат для ферментативных реакций μ Poly(Glu,Tyr) 4:1 разбавляли PBS при отсутствии ионов калия (10 мМ натрий-фосфатный буфер, 150 мМ NaCl, pH 7,2-7,4) до 20 мкг/мл, на энзимную пластину наносили 125 мкл в лунку и инкубировали при 37°C в течение 12-16 ч. Жидкость из лунки удалялась. Пластины промывали трижды с использованием T-PBS (0,1% Tween-20 в PBS при отсутствии калия, 200 мкл на лунку), по 5 мин каждый раз. Пластина elisa (твердофазный иммуноферментный анализ) просушивалась при 37°C на протяжении 1-2 ч.

2. В каждую лунку добавлялось по 49 мкл раствора ATP, разведенного в реакционном буфере (50 мМ HEPES pH 7,4; 50 мМ MgCl₂; 0,5 мМ MnCl₂; 0,2 мМ Na₃VO₄, 1 мМ DTT) и в каждую лунку добавлялось по 1 мкл исследуемого соединения, затем для запуска реакции добавлялось 50 мкл рекомбинантного белка киназного домена рецептора FGFR1, разведенного в реакционном буфере, для каждого эксперимента требовалось наличие двух контрольных лунок без ATP. Реакция выполнялась с использованием лабораторного встряхивателя Shaker (100 об/мин) при 37°C в течение 1 ч. Жидкость из лунок удалялась, а пластина трижды промывалась с использованием T-PBS.

3. Добавлялся титр антител PY99 (антитела разбавлены 1:500 в T-PBS с использованием BSA 5 мг/мл), 100 мкл на лунку и встряхивался в шейкере 0,5 ч при 37°C. Жидкость из лунок удалялась, а пластина трижды промывалась с использованием T-PBS.

4. Добавлялся титр вторичных антимышиных антител козы, меченных пероксидазой хрена (антитела разбавлены 1:2000 в T-PBS с использованием BSA 5 мг/мл), 100 мкл на лунку и встряхивался в шейкере 0,5 ч при 37°C. Жидкость из лунок удалялась, а пластина трижды промывалась с использованием T-PBS.

5. Добавлялся раствор OPD для окрашивания 2 мг/мл (разбавленный 0,1М натрий-цитратным буфером (citric acid-sodium citrate buffer), содержащим 0,03% H₂O₂ (pH 5,4)), 100 мкл на лунку, и выдерживался в течение 1-10 мин при 25°C в темноте.

6. Реакцию останавливали посредством 2М H₂SO₄, 50 мкл на лунку, и считывание пластины проводили с использованием настраиваемого микропланшетного считывателя VERSAmax при 490 нм.

7. Анализ результатов.

Значения IC₅₀ были получены посредством регрессионного анализа на основе четырех параметров с использованием программного обеспечения микропланшетного считывателя.

Уровень ингибирования активности тирозинкиназы рецептора FGFR1 продемонстрирован в следующей таблице:

Соединение	Уровень ингибирования (%), 0,1 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)	Соединение	Уровень ингибирования (%), 0,1 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
S1	72	<0.1	S2	80	<0.1
S3	90	<0.01	S4	74	<0.01
S5	87	<0.01	S6	84	<0.01
S7	91	<0.01	S8	93	<0.01
S9	95	<0.01	S10	94	<0.01
S11	89	<0.01	S12	44	<1
S13	23	>1	S14	40	<1
S15	71	<0.1	S16	58	<0.1
S17	59	<0.1	S18	65	<0.1
S19	86	<0.01	S20	94	<0.01
S21	78	<0.1	S22	84	<0.1
S23	86	<0.01	S24	87	<0.01

Результаты исследований на молекулярном уровне показывают, что данные соединения обладают сильной ингибирующей активностью в отношении FGFR, а для половины соединений значение IC₅₀ составляет менее 10 нМ.

2). Оценка активности соединения в отношении клеток с рецепторной тирозинкиназой FGFR.

Метод эксперимента.

Ингибирующее действие соединения на пролиферацию клеток линии SNU16 исследовали при помощи комплекта для подсчета клеток ССК-8 (Dojindo). При этом были пройдены следующие этапы: клетки линии SNU16, находящиеся в фазе логарифмического роста, высевались в 96-луночный культу-

ральный планшет с соответствующей плотностью, 90 мкл для каждой лунки. После культивирования в течение ночи добавляли различные концентрации препаратов и обрабатывали в течение 72 ч, вместе с тем была установлена контрольная лунка (отрицательный контроль). Через 72 ч воздействие соединения на пролиферацию клеток наблюдали при помощи комплекта для подсчета клеток ССК-8 (Dojindo). В каждую лунку добавили по 10 мкл реагента ССК-8. После инкубации в течение 2-4 ч в термостате при температуре 37°C осуществили считывание посредством микропланшетного считывателя SpectraMax 190 при длине волны 450 нм.

Уровень ингибирования (%) соединения в отношении роста опухолевых клеток рассчитывался с использованием следующей формулы:

$$\text{Уровень ингибирования (\%)} = \frac{(\text{OD, контрольная лунка} - \text{OD, лунка с препаратом}) / \text{OD, контрольная лунка} \times 100\%.$$

Значения IC₅₀ были получены посредством регрессионного анализа на основе четырех параметров с использованием программного обеспечения микропланшетного считывателя.

Уровни ингибирования пролиферации клеток SNU16 соединениями следующие:

Концентрация(нМ) Образцы	1000	100	10	IC ₅₀ (нМ)
	Уровень ингибирования (%)			
S4	59.0	61.0	55.3	29.2
	60.4	60.5	48.3	
S5	57.8	60.1	60.4	13.8
	58.8	61.0	61.3	
S6	59.6	63.5	45.1	15.9
	63.1	64.1	43.3	
S7	60.5	53.3	30.1	NT ^a
	62.5	52.6	31.9	
S8	48.1	36.3	23.2	NT ^a
	45.6	36.3	24.3	
S9	73.3	73.2	70.9	13.8
	71.1	71.0	67.6	
S10	59.7	62.1	59.6	6.1
	60.9	63.4	60.8	
S16	61.6	55.3	26.4	NT ^a
	63.1	54.8	26.7	
S21	43.5	28.5	27.8	NT ^a

NT^a = не исследовано.

Результаты исследований ингибирования в отношении пролиферации клеток линии SNU16 показывают, что данные соединения обладают сильной ингибирующей активностью для FGFR, а некоторые соединения имеют значение IC₅₀ менее 10 нМ.

3). Исследование ингибирования в отношении FGFR2 и фосфорилирования нисходящих сигнальных молекул.

Результаты были продемонстрированы на чертеже. Результаты показывают, что данное соединение способно воздействовать на FGFR на клеточном уровне и ингибировать передачу сигнала на соответствующий нисходящий сигнальный путь.

4). Скрининг-тест *in vitro* в отношении ингибирования активности тирозинкиназы.

Метод скрининга.

Твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Тирозинкиназа: ферментный спектр. Время действия: 1 ч.

Таблица 1

№ соединения (нМ)	Уровень ингибирования тирозинкиназы, (%)					
	c-Met	VEGFR-1	VEGFR-2	EGFR	ErbB2	ErbB4
S10(1000 нМ)	29,5	100,0	98,7	11,3	22,2	7,0
S10(10 нМ)	11,2	75,6	90,4	9,6	17,4	2,0

№ соединения (нМ)	Уровень ингибирования (%)						
	c- Src	ABL	EPH- A2	IGF1R	PDGFR- α	PDGFR- β	RET
S10 (1000 нМ)	43,6	28,8	7,7	11,0	87,1	87,8	90,5
S10(10 нМ)	20,3	17,5	4,2	23,5	50,2	56,4	13,2

5). Экспериментальное исследование фармакокинетики некоторых соединений у крыс.

1) Режим дозирования.

Семь крыс SD самцов, весом 200-220 г, были случайным образом разделены на две группы, по 4 или 3 в каждой группе. Соединение S10 вводили внутривенно или внутривенно. Конкретная схема приводится в следующей таблице:

Группа	Количество животных	Соединение	Способ введения	Доза (мг/кг)	Объемная доза (мл/кг)
1	4	S10	чреззондовое введение	10	10
2	3	S10	внутривенное введение	5	5

Крысы голодали в течение 12 ч перед проведением теста и имели неограниченный доступ к воде (ad libitum). Крыс одинаково покормили через 2 ч после введения.

Время забора образца крови и подготовки образца:

внутрижелудочное введение: 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 и 24 ч после введения;

внутривенное введение: 5 мин, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 и 24 ч после введения;

0,3 мл венозной крови собирали в указанные моменты времени через венозное сплетение глазных вен крыс, помещали в пробирку с гепарином и центрифугировали в течение 5 мин при 11000 об/мин, плазма отделялась и замораживалась в холодильнике при -20°C .

2) Исследование образцов и анализ данных S10 в плазме крыс определяли посредством LC/MS/MS.

Фармакокинетические параметры после введения рассчитывались по некомпартментной модели программного обеспечения WinNonlin 6.3 (Pharsight, США).

Пиковая концентрация C_{\max} и время достижения максимума T_{\max} являются измеряемыми значениями.

Площадь под кривой препарат-время AUC_{0-t} : рассчитывается с использованием метода трапеций; $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/k_e$,

C_t - концентрация препарата в крови в последний измеряемый момент времени;

k_e - константа скорости элиминации;

период полувыведения $t_{1/2} = 0,693/k_e$;

скорость клиренса $CL = D/AUC_{0-\infty}$;

объем распределения в стационарном состоянии $V_{ss} = CL \times MRT$;

абсолютная биодоступность $F = (AUC_{\text{внутрижелудочно}} \times D_{\text{внутривенно}}) / (AUC_{\text{внутривенно}} \times D_{\text{внутрижелудочно}}) \times 100\%$.

3) Результаты теста

Соединение	Внутрижелудочно 10 мг/кг					Внутривенно 5 мг/кг		
	T_{\max} (ч)	C_{\max} (нг/мл)	AUC_{0-t} (нг·ч/мл)	$t_{1/2}$ (ч)	F(%)	CL (л/ч/кг)	V_{ss} (л/кг)	$t_{1/2}$ (ч)
S10	4,5	399	3431	3,55	79,6	2,45	11,3	3,69

6). Ингибирующее действие соединения на рост подкожного трансплантата опухоли рака легкого человека NCI-H1581 у бестимусных мышей.

1) Клеточная линия.

Клеточная линия рака легкого человека NCI-H1581 хранилась в нашей лаборатории. Клеточный штамм инокулировали в правую подмышечную область бестимусных мышей, количество инокулированных клеток составило 5×10^6 на 1 мышшь для образования трансплантированной опухоли, которую непосредственно инокулировали и использовали.

2) Метод эксперимента.

Ткань опухоли в период благополучного роста разрезали на части 1,5 мм и инокулировали подкожно в правую подмышечную область бестимусным мышам в стерильных условиях. Диаметр транспланти-

рованной бестимусным мышам опухоли измеряли при помощи штангенциркуля, животные были разделены на группы случайным образом, когда средний объем опухолей составил около 150-160 мм³. Группы S10 (10 мг/кг, 5 мг/кг и 2,5 мг/кг) получали препарат перорально один раз в день на протяжении двух недель. Контрольной группе растворителя вводилось равное количество воды для инъекций. Диаметр трансплантированной опухоли измерялся дважды в неделю на протяжении всего эксперимента, кроме того, измерялся также вес тела мышей. Формула расчета объема опухоли (TV): $TV=1/2 \times a \times b^2$, где а и b представляют длину и ширину опухоли соответственно. Относительный объем опухоли (RTV) рассчитывали на основе измеренных результатов по следующей формуле: $RTV = V_t/V_0$, где V₀ - объем опухоли, измеренный при разделении на группы и дозировке (d₀), а V_t - объем опухоли при каждом измерении. Индекс оценки противоопухолевой активности представляет собой относительную скорость пролиферации опухоли T/C (%), а формула выглядит следующим образом: $T/C (\%) = (T_{RTV}/C_{RTV}) \times 100\%$, T_{RTV}: RTV, группа, получающая лечение; C_{RTV}: RTV, отрицательная контрольная группа.

3) Результаты.

Результаты эксперимента представлены в следующей таблице. Группы S10 (10 мг/кг, 5 мг/кг и 2,5 мг/кг) получали перорально препарат один раз в день в течение двух недель, что значительно угнетало рост подкожно трансплантированной опухоли рака легких человека, клетки линии NCI-H1581, у бестимусных мышей. На 14-й день достигнутый уровень ингибирования опухоли T/C, в процентах, составил 10,03%, 17,18% и 40,19% соответственно. Во время эксперимента животные в каждой группе находились в хорошем состоянии, все мыши оставались живы.

Терапевтическое действие соединения S10 в отношении трансплантированной бестимусным мышам опухоли в виде клеток рака легкого человека NCI-H1581

Группа	Доза, способ введения	Количество животных		Вес тела (г)		TV (мм ³ , среднее ±SD)		RTV	T/C (%)	
		d ₀	d ₁₄	d ₀	d ₁₄	d ₀	d ₁₄	(среднее ±SD)		
Контроль растворителя	0,4 мл/20 г раз в день/14	перорально	12	12	19,8	25,5	157±64	3122 ±1136	20,81 ±6,53	
			10 мг/кг	раз в день/14	перорально	6	6	19.9	23.0	155±45
S10	5 мг/кг раз в день/14	перорально	6	6	19.0	21.5	154±53	524±122	3.57±0.91*	17.18
			2.5 мг/кг	раз в день/14	перорально	6	6	19.8	21.8	157±43

7). Ингибирующее действие соединения S10 на рост подкожного трансплантата опухоли рака желудка человека SNU-16 бестимусных мышей.

1) Клеточная линия.

Клеточная линия рака желудка человека SNU-16 хранилась в нашей лаборатории. Клеточная линия инокулировалась в правую подмышечную область бестимусных мышей, количество инокулированных клеток для формирования трансплантированной опухоли составило 5×10⁶ на 1 мышшь, опухоль перевивалась in vivo бестимусным мышам двух поколений, а затем использовалась.

2) Метод эксперимента.

Ткань опухоли в период благополучного роста разрезали на части 1,5 мм и инокулировали подкожно в правую подмышечную область бестимусным мышам в стерильных условиях. Диаметр трансплантированной бестимусным мышам опухоли измеряли при помощи штангенциркуля, животные были разделены на группы случайным образом, когда средний объем опухолей составил около 100 мм³. Группам S10 (30 мг/кг и 10 мг/кг) препарат вводился перорально один раз в день в течение 21 дня; группе AZD4547 (10 мг/кг) введение осуществлялось перорально один раз в день на протяжении 21 дня; группа контроля растворителя получала такой же объем воды для инъекций. Диаметр трансплантированной опухоли измерялся дважды в неделю на протяжении всего эксперимента, кроме того, измерялся также вес тела мышей. Формула расчета объема опухоли (TV): $TV=1/2 \times a \times b^2$, где а и b представляют длину и ширину опухоли соответственно. Относительный объем опухоли (RTV) рассчитывали на основе измеренных результатов по следующей формуле: $RTV = V_t/V_0$, где V₀ - объем опухоли, измеренный при разделении на группы и дозировке (d₀), а V_t - объем опухоли при каждом измерении. Индекс оценки проти-

вопухолевой активности представляет собой относительную скорость пролиферации опухоли T/C (%), а формула выглядит следующим образом: $T/C (\%) = (T_{RTV}/C_{RTV}) \times 100\%$, T_{RTV} : RTV, группа, получающая лечение; C_{RTV} : RTV, отрицательная контрольная группа.

3) Результаты.

Результаты эксперимента перечислены в следующей таблице. Группы S10 (30 мг/кг и 10 мг/кг) получали перорально препарат один раз в день в течение 21 дня, что значительно угнетало рост подкожно трансплантированной опухоли рака желудка человека, клетки линии SNU-16, у бестимусных мышей. На 21-й день достигнутый уровень T/C, в процентах, составил 8,67%, и 25,35% соответственно. Группа положительного контроля AZD4547 (10 мг/кг) получала его перорально один раз в день в течение 21 дня, что привело к частичному угнетению роста подкожно трансплантированной опухоли рака желудка человека SNU-16 бестимусных мышей. На 21-й день достигнутый уровень T/C, в процентах, составил 59,80%. Во время эксперимента уменьшался только средний вес мышей в группе S10 (30 мг/кг), но мыши находились в удовлетворительном состоянии и не погибли. Ингибирующее действие соединения S10 на рост подкожного трансплантата опухоли рака желудка человека SNU-16 у бестимусных мышей было значительно лучше по сравнению с соединением AZD4547.

Терапевтическое действие соединения S10 в отношении трансплантированной опухоли в виде клеток рака желудка человека NCI-H1581 бестимусных мышей

Группа	Доза, способ введения	Количество животных	Вес тела (г)		TV (мм ³ , среднее±SD)		RTV среднее±SD	T/C (%)		
			o		TV (мм ³ , среднее±SD)					
			d ₀	d ₂₁	d ₀	d ₂₁				
Контроль растворителя	0,2 мл/мышь раз в день/21	перорально	1	12	20, 6	21, 0	101±3 ±386	1319	13,73±4,20	
			2	2	20, 1	22, 4	103±1 8	790±24 7		8,21±3,91*
AZD4547	10 мг/кг раз в день/21	перорально	6	6	20, 21.	22, 17.	103±1 106±2	790±24 125±47	8,21±3,91*	59,8 0
			6	6	2, 2	0, 2	106±3	322±10	1.19±0.38**	8.67
S10	10 мг/кг раз в день/21	перорально	6	6	19, 9	21, 4	106±3 3	322±10 7	3.48±2.29**	25.3 5

8). По сравнению с E7090 (ингибитор FGFR, I фаза клинического исследования), где также имеется аминопиридиновое ядро, в то время как боковая цепь представляет собой индол, ингибирующее действие соединения S10 на рост трансплантированной опухоли рака легкого человека NCI-H1581 бестимусных мышей было более очевидным, и результаты сравнения показаны в таблице ниже.

Номер соединения	Доза (мг/кг)	относительная скорость пролиферации опухолевых клеток T/C (%)
S10	2.5	40
	5	17
	10	10
E7090	6.25	46
	12.5	21
	25	13
	50	8

T/C - относительная скорость пролиферации опухолевых клеток, и чем меньше значение, тем выше противоопухолевая активность. Когда доза соединения S10 составляла 2,5 мг/кг, значение T/C было равно 40%, когда доза соединения E7090 составляла 6,25 мг/кг, значение T/C было равно 46%, это указывает на то, что для достижения сходного противоопухолевого действия соединение E7090 должно вводиться в дозировке в 2-3 превышающей дозировку S10. При сравнении с другими результатами также продемонстрировано, что подавляющее действие соединения S10 на рост у мышей трансплантированной опухоли рака легкого человека линии NCI-H1581 было значительно выше, чем для соединения E7090.

9). По сравнению с E7090 подавляющее действие соединения S10 на рост у бестимусных мышей трансплантированной опухоли рака желудка человека клетки линии SNU-16 было более значительным, результаты сравнения приводятся в следующей таблице:

где гетероарил относится к гетероароматической системе, содержащей от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N и S;

где термин "гетероциклическая группа" представляет собой циклическую группу, имеющую 1, 2, 3, 4 или 5 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N и S.

2. Соединение по п.1, где согласно формуле I соединения R_2 выбран из группы, состоящей из замещенного или незамещенного C_1 - C_4 алкила, замещенного или незамещенного C_1 - C_4 алкокси, замещенной или незамещенной 5-6-членной гетероциклической группы, замещенной или незамещенной аминогруппы, замещенной или незамещенной C_1 - C_4 алкиламиногруппы, $-NHCOR_3$;

где заместитель выбран из одного или нескольких из группы, включающей C_1 - C_8 алкил, гидроксил, гидроксид C_1 - C_8 алкил, $-COOR_3$, аминозамещенный C_3 - C_{10} циклоалкил, 4-10-членный гетероциклоалкил, который незамещен или замещен одним или более атомами галогена, гидроксилем или C_1 - C_8 алкилом.

3. Соединение по п.1, где согласно формуле I соединения кольцо A выбрано из замещенного или незамещенного 6-10-членного арила или замещенного или незамещенного 5-10-членного гетероарила.

4. Соединение по п.1, где согласно формуле I соединения кольцо A представляет собой замещенную или незамещенную группу, выбранную из группы бензольного кольца, нафталинового кольца, пиридинового кольца, пиримидинового кольца, тиофенового кольца, фуранового кольца, имидазольного кольца, пиррольного кольца, оксазольного кольца, тиазольного кольца, пиразольного кольца, индольного кольца, пиримидинового кольца, бензофуранового кольца, бензотиазольного кольца, бензимидазольного кольца, хинолинового кольца, изохинолинового кольца.

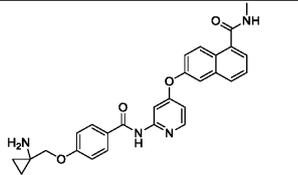
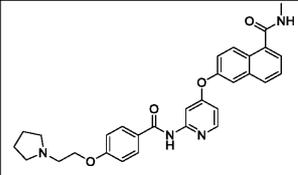
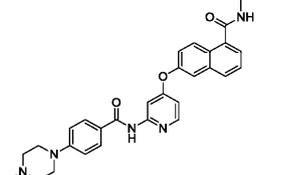
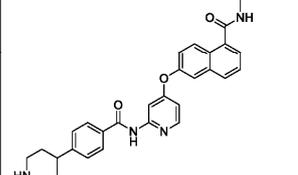
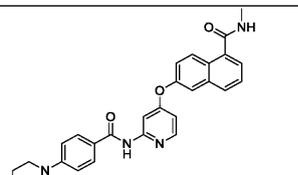
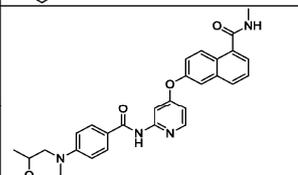
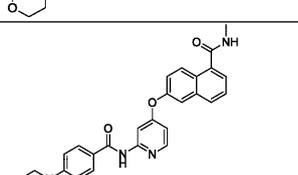
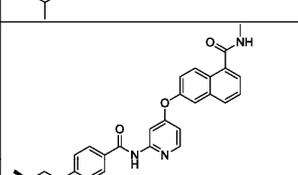
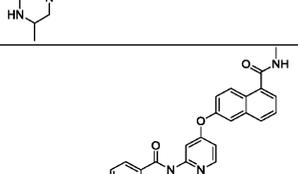
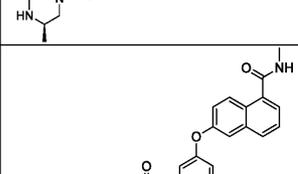
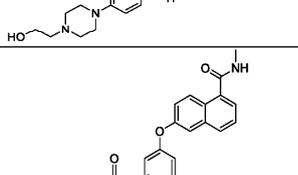
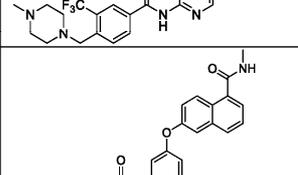
5. Соединение по п.1, где R_3 выбран из водорода, C_1 - C_4 алкила или C_2 - C_4 алкенила.

6. Соединение по п.1, где согласно формуле I соединения кольцо A выбрано из группы замещенное или незамещенное бензольное кольцо, замещенное или незамещенное тиазольное кольцо, замещенное или незамещенное оксазольное кольцо, замещенное или незамещенное пиримидиновое кольцо.

7. Соединение по п.1, где согласно формуле I соединения R_3 выбран из группы водорода, метила и винила.

8. Соединение по п.1, где соединение выбрано из следующей группы:

Соединение	Структура	Соединение	Структура
S1		S2	

S3		S4	
S5		S6	
S7		S8	
S9		S10	
S11		S12	
S13		S14	

торому проводят лечение или профилактику, терапевтически или профилактически эффективного количества соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-8 или фармацевтической композиции по п.13.

