

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **039630**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2022.02.18**

(21) Номер заявки  
**201992679**

(22) Дата подачи заявки  
**2018.05.17**

(51) Int. Cl. **C07D 403/12** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61K 31/675** (2006.01)

(54) **N-ЗАМЕЩЕННЫЕ ИНДОЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ**

(31) **PCT/EP2017/062008**

(32) **2017.05.18**

(33) **EP**

(43) **2020.05.31**

(86) **PCT/EP2018/062865**

(87) **WO 2018/210995 2018.11.22**

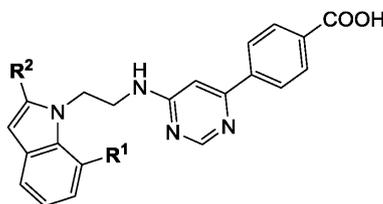
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ИДОРСИЯ ФАРМАСЬЮТИКЛЗ ЛТД  
(CH)**

(72) Изобретатель:  
**Фретц Хайнц, Лиотье Изабелла,  
Потье Жюльен, Рихард-Бильдштайн  
Сильвия, Сифферлен Тьерри (CH)**

(74) Представитель:  
**Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б.,  
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов  
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,  
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)**

(56) **WO-A1-2012127032  
EP-A1-1661896  
EP-A1-2014657**

(57) Настоящее изобретение относится к производным формулы (I)



Формула (I),

где R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> принимают значения, указанные в описании изобретения, к их получению, к их фармацевтически приемлемым солям и к их применению в качестве лекарственных препаратов, к фармацевтическим композициям, содержащим одно или несколько соединений формулы (I), и, в особенности, к их применению в качестве модуляторов рецепторов простагландина-2 EP2.

**B1**

**039630**

**039630**

**B1**

Настоящее изобретение относится к новым N-замещенным индольным производным формулы (I) и их применению в качестве лекарственных препаратов. Изобретение также касается родственных аспектов, включая способы получения соединений, фармацевтические композиции, содержащие одно или несколько соединений формулы (I), и их применение в качестве модуляторов PGE2 рецепторов EP2 (называемых также PTGER2, называемых также PGE2 рецепторы EP2 подтипа). Соединения формулы (I), в особенности, могут применяться в виде отдельных средств или, в особенности, в комбинации с одним или несколькими терапевтическими средствами, такими как, в особенности, модулятор PGE2 рецепторов EP4 (называемых также PTGER4, называемых также EP4R, называемых также PGE2 рецепторы EP4 подтипа); и/или химиотерапией, и/или радиотерапией, и/или иммунотерапией для предотвращения/профилактики или лечения злокачественных новообразований; в частности предотвращения/профилактики или лечения меланомы; рака легких; рака мочевого пузыря; карцином почек; злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта; рака эндометрия; рака яичников; рака шейки матки и нейробластомы.

Простагландин E2 (PGE2) является биоактивным липидом, который может вызывать широкий спектр биологических действий, связанных с воспалением и злокачественным новообразованием., PGE2 относится к простаноидному семейству липидов. Циклооксигеназа (COX) является скоростью-лимитирующим ферментом в синтезе ряда биологических медиаторов, называемых простааноидами, состоящего из простагландинов PGD2, PGE2, PGF2a, простаглицина PGI2 и тромбксана TXA2. Простааноиды функционируют через активацию семи трансмембранных связанных с G-белком рецепторов (GPCR), в частности EP1, EP2, EP3 и EP4 являются рецепторами для PGE2. Активация как EP2, так и EP4 посредством PGE2 вызывает стимуляцию аденилатциклазы, что приводит к повышению уровней цитоплазматического cAMP с иницированием многочисленных нисходящих событий через его прототипную эффекторную протеинкиназу A. Кроме того, PGE2 также способен к передаче сигналов посредством PI3K/AKT и Ras-МАРК/ERK сигнализации.

Злокачественные новообразования фигурируют среди основных причин смерти во всем мире. Опухоли состоят не только из аномально пролиферирующих злокачественных клеток, но также и функционально поддерживающего микроокружения. Это микроокружение опухоли состоит из сложного набора клеток, компонентов внеклеточного матрикса и сигнальных молекул и создается измененной связью между стромальными и опухолевыми клетками. По мере увеличения размеров опухолей они вызывают продуцирование разнообразных факторов, которые могут помочь росту опухоли, таких как ангиогенные факторы (способствующие вращанию кровеносных сосудов), или которые могут помочь избежать атаки иммунного ответа хозяина. PGE2 является таким иммуномодуляторным фактором, продуцируемым в опухолях.

Хорошо доказано, что COX2, главным образом через PGE2, содействует общему росту опухолей и повышающе регулируется и коррелирует с клиническим исходом в значительной процентной доле широко распространенных злокачественных новообразований, в особенности колоректального рака, рака желудка, пищевода, поджелудочной железы, молочной железы и рака яичников. Высокие уровни экспрессии COX-2 и PGE2 связывают с неопластической трансформацией, ростом клеток, ангиогенезом, инвазивностью, метастазированием и иммунной эвазией.

Обнаружение того, что COX2 сверхэкспрессируется и играет важную роль в канцерогенезе в случае злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), включая, среди прочих, рак пищевода, желудка и колоректальный рак, привело к тому, что COX-ингибиторы (коксибы), включая целекоксиб, и другие нестероидные противовоспалительные средства (NSAID), включая аспирин, являются одними из наиболее изученных противоопухолевых химиопрофилактических средств, находящихся на стадии разработки на сегодняшний день (для обзора см., например, Wang R и др., *Curr Pharm Des.* 2013; 19(1): 115-25; Garcia Rodriguez LA и др., *Recent Results Cancer Res.* 2013;191:67-93, Sahin IH и др., *Cancer Lett.* 2014, апрель 10; 345(2):249-57; Drew DA и др., *Nat Rev Cancer* 2016, 16:173; Brotons C и др., *Am J Cardiovasc Drugs.* 2015, апрель; 15(2):113).

В дополнение к COX2 и PGE2 также и EP рецепторы, в особенности EP2 и EP4, aberrантно сверхэкспрессируются в многочисленных типах злокачественных новообразований, в особенности в злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и поджелудочной железы. Кроме того, сверхэкспрессия PGE2, и/или EP2, и/или EP4 коррелирует с прогрессированием заболеваний в случае некоторых типов злокачественных новообразований, таких как плоскоклеточная карцинома пищевода (Kuo KT и др., *Ann Surg Onc* 2009; 16(2), 352-60); плоскоклеточная карцинома легкого (Alaa M и др., *Int J Oncol* 2009, 34(3); 805-12); рак предстательной железы (Miyata Y и др., *Urology* 2013, 81(1):136-42); Badawi AF и Badr MZ *Int J Cancer.* 2003, 103(1):84-90); плоскоклеточная карцинома головы и шеи (Gallo O и др., *Hum Pathol.* 2002, 33(7):708-14).

В соответствии с исследованиями, выполненными с коксибами, нокаут COX1, COX2, микросомальной простагландин E синтазы 1 (mPTGES1), EP2 или EP4 у мышей приводил к уменьшению частоты и прогрессирования опухолей в различных опухолевых моделях. Напротив, сверхэкспрессия COX2 или mPTGES1 у трансгенных мышей приводила к увеличению частоты опухолей и опухолевой нагрузки (для обзора см. Nakanishi M. и Rosenberg D.W., *Seminars in Immunopathology* 2013, 35: 123-137; Fischer SM и

др. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011 ноябрь; 4(11): 1728-35; Fulton AM и др. *Cancer Res* 2006; 66(20); 9794-97).

Несколько фармакологических исследований ингибирования роста и прогрессирования опухоли с применением антагонистов EP рецепторов или ингибиторов COX2 в различных опухолевых моделях были проведены на мышах. Среди прочего, EP антагонисты и/или ингибиторы COX2 снижали рост опухоли и метастазирование в экспериментальных моделях колоректального рака (например, Yang L и др. *Cancer Res* 2006, 66(19), 9665-9672; Pozzi A. и др. *JBC* 279(28); 29797-29804), карцином легких (Sharma S и др. *Cancer Res* 2005 65(12), 5211-5220), желудочно-кишечного злокачественного новообразования (Oshima H и др. *Gastroenterology* 2011, 140(2); 596-607; Fu SL и др. *World J Gastroenterol* 2004, 10(13); 1971-1974), рака молочной железы (Kundu N и др., *Breast Cancer Res Treat* 117, 2009; 235-242; Ma X и др., *Oncolmmunology* 2013; Xin X и др. *Lab Investigation* 2012, 1-14; Markosyan N и др.; *Breast Cancer Res* 2013, 15:R75), рака предстательной железы (Xu S и др., *Cell Biochem Biophys* 2014, Terada и др. *Cancer Res* 70(4) 2010; 1606-1615), рака поджелудочной железы (Al-Wadei HA и др., *PLOS One* 2012, 7(8):e43376; Funahashi H и др., *Cancer Res* 2007, 67(15):7068-71). Ингибиторы COX2 сначала были одобрены для лечения семейного аденоматозного полипоза (FAP), который является наследственным синдромом предрасположенности к колоректальному раку, но позже отказались от них в связи с побочными сердечно-сосудистыми эффектами. Механистически, PGE2 сигнализация главным образом вовлечена в перекрестные взаимодействия между опухолевыми и стромальными клетками, тем самым создавая микроокружение, которое благоприятно для роста опухоли. В частности, PGE2 сигнализация через EP2 и EP4 может, например, (i) подавлять цитотоксичность естественных клеток-киллеров и продуцирование ими цитокинов, (ii) исказить поляризацию опухоль-ассоциированных макрофагов в пользу опухоль-промотирующих M2 макрофагов (см., например, Nakanishi Y и др. *Carcinogenesis* 2011, 32:1333-39), (iii) регулировать активацию, экспансию и эффекторную функцию как Tregs (регуляторные Т-клетки), так и MDSC (супрессорные клетки миелоидного происхождения), которые являются мощными иммуносупрессивными клетками, накапливающимися в опухолях как пациентов, так и экспериментальных животных моделей (см., например, Sharma S и др., *Cancer Res* 2005, 5(12):5211-20; Sinha P и др. *Cancer Res* 2007, 67(9), 4507-4513; Obermajer N и др., *Blood* 2011, 118(20):5498-5505); (iv) понижая экспрессию IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  IL-12 и IL-2 в иммунных клетках, таких как естественные клетки-киллеры, Т-клетки, дендритные клетки и макрофаги, нарушая способность этих иммунных клеток индуцировать апоптоз опухолевых клеток и сдерживать онкогенез (см., например, Bao YS и др., *Int Immunopharmacol.* 2011; 11(10): 1599-605; Kim JG и Hahn YS, *Immunol Invest.* 2000; 29(3):257-69; Demeuere CE и др., *Eur J Immunol.* 1997;27(12):3526-31; Mitsuhashi M и др., *J Leukoc Biol.* 2004;76(2):322-32; Pockaj BA и др., *Ann Surg Oncol.* 2004; 11(3):328-39; (v) подавлять активацию, IL-2 отзываемость, экспансию и цитотоксичность Т-клеток, тем самым способствуя местной иммуносупрессии (см., например, Specht C и др., *Int J Cancer* 200191:705-712); (vi) ингибировать созревание дендритных клеток, их способность представлять антигены и продуцировать IL-12, что приводит к abortивной активации цитотоксических Т-клеток (см., например, Ahmadi M и др., *Cancer Res* 2008, 68(18):7250-9; Stolina M и др., *J Immunol* 2000, 164:361-70); (vii) регулировать ангиогенез опухоли (образование новых кровеносных сосудов для снабжения питательными веществами и кислородом) путем повышения подвижности клеток эндотелия и выживаемости, а также путем увеличения экспрессии VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) (см., например, Zhang Y и Daaka Y, *Blood* 2011; 118(19):5355-64; Jain S и др., *Cancer Res.* 2008; 68(19):7750-9; Wang и Klein, *Molecular Carcinogenesis* 2007, 46:912-923; (viii) повышать выживаемость опухолевых клеток (через PI3K/AKT и MAPK сигнализацию). Для обзора см., например, Kalinski P, *J Immunol* 2012, 188(1), 21-28; Obermajer N и др., *Oncoimmunology* 1(5), 762-4; Greenhough A и др., *carcinogenesis* 2009, 30(3), 377-86; Wang D и Dubois RN, *Gut* 2006, 55, 115-122; Harris SG и др., *Trends Immunol* 2002, 22, 144-150).

Было показано, что коксибы делают опухолевые клетки более чувствительными к лучевой и химиотерапии, и были выполнены или продолжаются несколько клинических исследований комбинирования коксибов с радио- и/или химиотерапией (для обзора см. например, Ghosh N и др., *Pharmacol Rep.* 2010, март-апрель; 62(2):233-44; Davis TW и др., *Am J Clin Oncol.* 003, 26(4):S58-61; см. также Higgins JP и др., *Cancer Biol Ther* 2009, 8:1440-49). Кроме того, существуют некоторые доказательства аддитивных эффектов и/или синергизма между коксибами и ингибиторами рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR) (см., например, Zhang X и др., *Clin Cancer Res.* 2005, 11(17):6261-9; Yamaguchi NH и др., *J Gastrointest Oncol.* 2014, 5(1):57-66); и ингибиторами ароматазы (см., например, Generali D и др., *Br J Cancer.* 2014; 111(1):46-54; Lustberg MB и др., *Clin Breast Cancer.* 2011, август; 11(4):221-7; Falandry C и др., *Breast Cancer Res Treat.* 2009, август; 116(3):501-8); Chow LW и др., *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008, 111(1-2): 13-7).

Более того, аддитивные/синергические эффекты были замечены в различных мышинных моделях опухолей, когда аспирин (ингибитор COX1/2) комбинировали с анти-VEGF антителом (Motz GT и др.; *Nat Med* 2014 20(6):607), и эта комбинация в настоящее время проходит клинические исследования (NCT02659384).

В последнее время было показано, что различные иммунотерапевтические подходы при комбинировании могут проявлять усиленную противоопухолевую эффективность. Таким образом, в связи с иммуномодулирующими свойствами PGE2, коксибы также применялись в комбинации с различными им-

муноотерапевтическими подходами. В частности, аддитивные или даже синергические эффекты можно было наблюдать при комбинировании коксибов с вакцинацией дендритными клетками в крысиной модели глиомы и в мышинной модели мезотелиомы или меланомы (Zhang H и др., *Oncol Res.* 2013; 20(10):447-55; Veltman JD и др., *BMC Cancer.* 2010; 10:464; Toomey D и др., *Vaccine.* 2008, 25 июня; 26(27-28):3540-9); с гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF) при опухолях головного мозга у мышей (Eberstal S и др., *Int J Cancer.* 2014, 1 июня; 134(11):2748-53); с гамма-интерфероном (IFN- $\gamma$ ) при опухолях головного мозга (Eberstal S и др., *Cancer Immunol Immunother.* 2012, 61(8): 1191-9); с вакцинацией дендритными клетками или с GM-CSF в мышинной модели рака молочной железы (Hahn T и др., *Int J Cancer.* 2006, 118(9):2220-31); и с аденовирусной терапией интерфероном бета (IFN- $\beta$ ) в мышинной модели мезотелиомы (DeLong P и др., *Cancer Res.* 2003, 15 ноября; 63(22):7845-52). По указанным соображениям, аддитивные или даже синергические эффекты коксибов и/или EP2 и/или EP4 антагонистов также можно предвидеть со средствами, действующими на цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4 (CTLA-4), такими как антитела анти-CTLA-4; антитела анти-TIM-3, антитела анти-Lag-3; антитела анти-TIGIT; или, в частности, со средствами, действующими на белок программируемой смерти клетки 1 (PD1), такими как антитела анти-PD1 или анти-PDL1 (лиганд-1 программируемой гибели клетки) (Yongkui Li и др. *Oncoimmunology* 2016, 5(2):e1074374; Zelenay S и др., *Cell* 2015, 162; 1-14; WO2013/090552, что указывает на синергический эффект двойной EP2 и EP4 блокады в комбинации со средствами, действующими на PD1).

Аденозин является другим эндогенным фактором с противовоспалительными свойствами, который генерируется через активность эктонуклеотидаз, CD39 и CD73, экспрессируемых на различных типах клеток, включая регуляторные Т-клетки (Treg) (Mandapathil M и др., *J Biol Chem.* 2010; 285(10):7176-86). Иммунные клетки также отвечают на аденозин, потому что они несут рецепторы для ADO, которые являются в основном A2a/A2b типа (Hoskin DW, и др., *Int J Oncol* 2008, 32:527-535). Сигнализация через аденозиновые рецепторы и EP2/EP4 рецепторы сходится на цитоплазматической аденилатциклазе, приводя к повышающей регуляции cAMP. Было показано, что аденозин и PGE2 действуют совместно в супрессии иммунных ответов, опосредованных регуляторными Т-клетками (Mandapathil M и др., *J Biol Chem.* 2010; 285(36):27571-80; Caiazzo E и др., *Biochem Pharmacol.* 2016; 112:72-81).

Таким образом, настоящие EP2 и/или EP4 антагонисты могут быть полезными, отдельно или в комбинации с одним или несколькими терапевтическими средствами и/или химиотерапией, и/или радиотерапией, и/или иммунотерапией; в частности в комбинации с химиотерапией, радиотерапией, ингибиторами EGFR, ингибиторами ароматазы, антиангиогенными лекарственными препаратами, ингибиторами аденозина, иммунотерапией, такой как, в особенности, блокада PD1 и/или PDL1, или другими типами таргетной терапии; для предотвращения/профилактики или лечения злокачественных новообразований, в особенности для предотвращения/профилактики или лечения рака кожи, включая меланому, включая метастатическую меланому; рака легких, включая немелкоклеточный рак легких; рака мочевого пузыря, включая рак самого мочевого пузыря, уротелиально-клеточную карциному; карцином почек, включая почечно-клеточную карциному, метастатическую почечно-клеточную карциному, метастатическую светлоклеточную карциному почек; злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта, включая колоректальный рак, метастатический колоректальный рак, семейный аденоматозный полипоз (FAP), рак пищевода, рак желудка, рак желчного пузыря, холангиокарциному, гепатоцеллюлярную карциному и рак поджелудочной железы, такой как аденокарцинома поджелудочной железы или дуктальная карцинома поджелудочной железы; рака эндометрия; рака яичников; рака шейки матки; нейробластомы; рака предстательной железы, включая кастрационно-резистентный рак предстательной железы; опухолей головного мозга, включая метастазы в головной мозг, злокачественные глиомы, мультиформную глиобластому, медуллобластому, менингиомы; рака молочной железы, включая трижды негативную карциному молочной железы; опухолей ротовой полости; опухолей носоглотки; торакального рака; рака головы и шеи; лейкозов, включая острый миелоидный лейкоз, Т-клеточный лейкоз взрослых; карцином; аденокарцином; тиреоидной карциномы, включая папиллярную тиреоидную карциному; хориокарциномы; саркомы Юинга; остеосаркомы; рабдомиосаркомы; саркомы Капоши; лимфом, включая лимфому Беркитта, лимфому Ходжкина, лимфому MALT-типа; множественных миелом; и опухолей, индуцированных вирусом.

Кроме того, селективные или двойные EP2 и/или EP4 антагонисты могут быть полезными в случае некоторых других заболеваний или расстройств, отвечающих, например, на лечение ингибиторами COX2, с тем преимуществом, что EP2 и/или EP4 антагонисты не должны обладать потенциальными сердечно-сосудистыми побочными эффектами, наблюдаемыми с COX2 ингибиторами, которые, главным образом, обусловлены влиянием на синтез PGI2 и TXA2 (см., например, Boyd MJ и др., *bioorganic and medicinal chemistry letters* 21, 484, 2011). Например, блокада продуцирования простагландина ингибиторами COX является популярным способом лечения боли, включая, в особенности, воспалительную боль и болезненную менструацию. Таким образом, EP2 и/или EP4 и/или двойные EP2/EP4 антагонисты могут быть полезными для лечения боли, в особенности воспалительной боли. На примере EP2 нокаутных мышей показано, что EP2 антагонисты можно применять для лечения воспалительной гипералгезии (Reinold H и др., *J Clin Invest* 2005, 115(3):673-9). Кроме того, EP4 антагонисты оказывают положительное

влияние *in vivo* в моделях воспалительной боли (например, Murase A, Eur J Pharmacol 2008; Clark P, J Pharmacol Exp Ther. 2008; Maubach KA Br J Pharmacol. 2009; Colucci J Bioorg Med Chem Lett. 2010, Boyd MJ и др., Bioorg Med Chem Lett 2011, Chn Q и др. Br J Pharmacol 2010, Nakao K и др., J Pharmacol Exp Ther. 2007, август; 322(2):686-94). Введение EP2 в комбинации с антагонистом EP4 показало значительное, но частичное подавление воспаления суставов в мышинной модели коллаген-индуцированного артрита (Honda T и др. J Exp Med 2006, 203(2):325-35).

EP2 и/или двойные EP2/EP4 антагонисты можно применять для снижения женской фертильности, т.е. было показано, что они предотвращают беременность при применении в качестве контрацептива на макаках (Peluffo MC и др. Hum Reprod 2014). EP2 нокаутные мыши имеют сниженную фертильность, меньшие размеры помета и уменьшенную экспансию кумулюса (Matsumoto и др., Biology of reproduction 2001, 64; 1557-65; Hitzaki и др., PNAS 1999, 96(18), 10501-10506; Tilley SL J Clin Invest 1999, 103(11): 1539-45; Kennedy CR и др., Nat Med 1999 5(2):217-20).

Существует также обоснование того, что EP2 и/или EP4 антагонисты можно применять для предотвращения или лечения эндометриоза: например, EP2, EP3 и EP4 и COX2 сверхэкспрессируются в эндометриодных клеточных линиях и тканях (например, Santulli P и др. J Clin Endocrinol Metab 2014, 99(3):881-90); было показано, что лечение антагонистами ингибирует адгезию эндометриальных клеток *in vitro* (Lee J и др. Biol Reprod 2013, 88(3):77; Lee J и др. Fertil Steril 2011, 93(8):2498-506); кроме того, было показано, что COX2 ингибиторы уменьшают поражения эндометрия у мышей посредством EP2 (Chuang PC и др., Am J Pathol 2010, 176(2):850-60); и лечение антагонистами, как также было показано, индуцирует апоптоз клеток эндометрия *in vitro* (Banu SK и др., Mol endocrinol 2009, 23(8) 1291-305).

Двойные EP2/EP4 антагонисты или комбинацию селективных антагонистов EP2 с селективными антагонистами EP4 потенциально можно применять в случае аутоиммунных расстройств; например, было показано, что они эффективны в мышинной модели в случае рассеянного склероза (MS) (Esaki Y и др. PNAS 2010, 107(27): 12233-8; Schiffmann S и др., Biochem Pharmacol. 2014, 87(4): 625-35; см. также Kofler DM и др. J Clin Invest 2014, 124(6):2513-22). Активация EP2/EP4 сигнализации в клетках *in vitro* (Kojima F и др. Prostaglandins Other Lipid Mediat 2009, 89:26-33) связывает двойные или селективные EP2 и/или EP4 антагонисты с лечением ревматоидного артрита. Кроме того, сообщалось о повышенных уровнях PGE<sub>2</sub> в синовиальной жидкости и хрящах пациентов с остеоартритом (ОА) и было показано, что PGE<sub>2</sub> стимулирует деградацию матрикса в остеоартритных хондроцитах посредством рецептора EP4 (Attur M и др., J Immunol. 2008;181(7):5082-8).

Сверхэкспрессию EP4 связывают с усиленной воспалительной реакцией в атеросклеротических бляшках пациентов (Cipollone F и др., Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005, 25(9): 1925-31), поэтому применение EP4 и/или двойных EP2/EP4 антагонистов может быть показано для стабилизации бляшек и предотвращения/профилактики острых ишемических синдромов. Кроме того, дефицит EP4 подавляет ранний атеросклероз, ставя под угрозу выживаемость макрофагов (Babaev VR и др., Cell Metab. 2008 декабрь; 8(6):492-501).

EP2 и/или двойные EP2/EP4 антагонисты также могут быть полезными для лечения пневмонии: внутрилегочное введение апоптотических клеток продемонстрировало, что PGE<sub>2</sub> через EP2 вызывает последующее ухудшение рекрутинга лейкоцитов в легкие и клиренса *Streptococcus pneumoniae*, а также усиленную генерацию IL-10 *in vivo* (Medeiros AI и др. J Exp Med 2009 206(1):61-8).

Кроме того, EP2 и/или двойные EP2/EP4 антагонисты могут быть полезными для лечения нейродегенеративных заболеваний (для обзора см. Cimino PJ и др., Curr Med Chem. 2008; 15(19): 1863-9). EP2 рецептор ускоряет прогрессирование воспаления в мышинной модели амиотрофического латерального склероза (ALS) (Liang X и др., Ann Neurol 2008, 64(3):304-14); также было показано, что COX2 ингибиторы проявляют нейропротекторные свойства в моделях удара, болезни Паркинсона и ALS на грызунах (для обзора см. Liang X и др. J Mol Neurosci 2007, 33(1):94-9), сниженную нейротоксичность наблюдали в EP2 нокаутных мышах, которые получали паркинсонический токсикант (Jin J и др., J Neuroinflammation 2007, 4:2), PGE<sub>2</sub> через EP2 усугубляет нейродегенерацию в культивируемых клетках крыс (Takadera T и др., Life Sci 2006, 78(16): 1878-83); сниженную амилоидную нагрузку наблюдали в мышинной модели болезни Альцгеймера в сочетании с EP2 нокаутными мышами (Liang X и др. J Neurosci 2005, 25(44): 10180-7; Keene CD и др., Am J Pathol. 2010, 177(1):346-54). EP2 нулевые мыши защищены от CD14-зависимого/опосредованного врожденным иммунитетом нейронального повреждения при нейродегенеративном заболевании (Shie FS и др. Glia 2005, 52(1):70-7); PGE<sub>2</sub> через EP2 усиливает экспрессию белка-предшественника амилоида (APP) в культивируемых крысиных микроглиальных клетках (Pooler AM и др. Neurosci. Lett. 2004, 362(2): 127-30). EP2 антагонист ограничивает окислительное повреждение от активации врожденного иммунитета (внутричерепная инъекция LPS) в головном мозге и может применяться в случае деменции Альцгеймера или деменции, связанной с ВИЧ (Montine TJ и др., J Neurochem 2002, 83(2):463-70). В мышинной модели болезни Альцгеймера когнитивная функция может быть улучшена путем генетического и фармакологического ингибирования EP4 (Hoshino T и др., J Neurochem 2012, 120(5):795-805).

EP2 и/или двойные EP2/EP4 антагонисты также могут быть полезными для лечения аутосомнодоминантной поликистозной болезни почек (ADPKD): PGE<sub>2</sub> через EP2 индуцирует цистогенез эпители-

альных клеток почек человека; и было найдено, что EP2 сверхэкспрессируется в образцах от больных (Elberg G и др., *Am J Physiol Renal Physiol* 2007, 293(5):F1622-32).

EP4 и/или двойные EP2/EP4 антагонисты также могут быть полезными для лечения остеопороза: PGE2 стимулирует резорбцию кости, главным образом, через EP4 и частично через EP2 (Suzawa T и др., *Endocrinology*. 2000, апрель; 141(4): 1554-9), EP4 нокаутные мыши показали ослабленную резорбцию кости (Miyaura C и др., *J Biol Chem* 2000, 275(26): 19819-23), и EP4 антагонисты показали частичное ингибирование PGE(2)-стимулированного остеокластогенеза и остеокластической резорбции кости (Tomita M и др., *Bone*. 2002, январь; 30(1):159-63).

WO2008/152093 раскрывает селективные модуляторы EP2 рецепторов, которые содержат индольное кольцо, присоединенное к остальной части молекулы в положении 3, и пиримидиновый фрагмент, который, однако, не замещен непосредственно присоединенным ароматическим заместителем. WO2006/044732 раскрывает пиримидиновые соединения, которые являются модуляторами PGD2 и, как заявлено, являются полезными, например, для лечения аллергических заболеваний. WO2008/006583 раскрывает пиримидиновые производные, которые являются ингибиторами ALK-5. WO2006/044732 и WO2008/039882 раскрывают определенные пиримидиновые производные в качестве антагонистов рецептора простагландина D2. Пиримидин-2-ильные производные раскрыты в документах WO2013/020945, WO2012/127032, WO2011/144742, *Bioorg. Med. Chem* 2011, 21(13) 4108-4114 и *Bioorg. Med. Chem* 2011, 21(1) 66-75. Определенные индол-1-ацетамидные соединения известны в качестве библиотечных соединений, например, CAS 1448123-30-5 и CAS 1448075-88-4. Дальнейшие соединения, которые, как заявлено, являются активными в качестве противоопухолевых средств, раскрыты в документах WO2006/128129, WO2008/008059 и *Bioorg. Med. Chem* 2013, 21(2), 540-546. WO2013/163190 и WO2015/058031 раскрывают определенные ингибиторы ДНК-ПК, взаимодействующие с процессами репарации ДНК. Раскрытые соединения, как полагают, полезны для сенсбилизации опухолевых клеток, и для повышения эффективности как противоопухолевой химиотерапии, так и радиотерапии.

Настоящее изобретение обеспечивает новые N-замещенные индольные производных формулы (I), которые являются модуляторами рецепторов простагландина-2 EP2. Таким образом, соединения настоящего изобретения, в виде отдельных средств или, в особенности, в комбинации с одним или несколькими терапевтическими средствами, такими как, в особенности, модулятор PGE2 рецепторов EP4, могут быть полезными для предотвращения/профилактики или лечения заболеваний, которые отвечают на блокировку рецепторов EP2 (или, при применении в комбинации с модулятором PGE2 рецепторов EP4, на блокировку как EP2, так и EP4 рецепторов), таких как, в особенности, злокачественные новообразования; а также боль, включая, в особенности, воспалительную боль и болезненную менструацию; эндометриоз; острые ишемические синдромы у больных с атеросклерозом; пневмония; нейродегенеративные заболевания, включая амиотрофический латеральный склероз, удар; болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и связанная с ВИЧ деменция; аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек; и для контроля женской фертильности.

1) Первый аспект изобретения относится к соединениям формулы (I)



Формула (I),

где R<sup>1</sup> представляет собой водород или метил;

R<sup>2</sup> представляет собой метил, бром, хлор или циано.

Настоящее изобретение также включает изотопно-меченые, в особенности <sup>2</sup>H (дейтерий) меченые, соединения формулы (I) в соответствии с вариантами осуществления 1) - 7), причем такие соединения являются идентичными соединениям формулы (I) за исключением того, что один или каждый из большего числа атомов был заменен на атом, имеющий тот же самый атомный номер, но атомную массу, отличную от атомной массы, обычно встречаемой в природе. Изотопно-меченые, в особенности <sup>2</sup>H (дейтерий) меченые, соединения формулы (I) и их соли включены в объем настоящего изобретения. Замещение водорода более тяжелым изотопом <sup>2</sup>H (дейтерий) может привести к большей метаболической стабильности, приводящей, например, к увеличенному *in-vivo* периоду полувыведения или сниженной необходимой дозировке, или может привести к снижению ингибированию ферментов цитохрома P450, в результате чего, например, улучшается профиль безопасности. В одном варианте осуществления изобретения соединения формулы (I) не являются изотопно-мечеными или они мечены только одним или несколькими атомами дейтерия. В подварианте осуществления соединения формулы (I) вообще не являются изотопно-мечеными. Изотопно-меченные соединения формулы (I) можно получить по аналогии со способами, описанными в настоящей заявке далее, но с использованием подходящего изотопного варианта подходящих реагентов или исходных веществ.

В данной заявке на патент, связь, начерченная пунктирной линией, показывает точку присоединения начерченного радикала. Например, начерченный ниже радикал  представляет собой 2-метил-1H-индол-1-ильную группу.

Если для соединений, солей, фармацевтических композиций, заболеваний и т.п. используется форма множественного числа, то подразумевается также одно единственное соединение, соль или т.п.

Любую ссылку на соединения формулы (I) в соответствии с вариантами осуществления 1) - 7) следует понимать как относящуюся также к солям (и, в особенности, фармацевтически приемлемым солям) таких соединений, в зависимости от конкретного случая и целесообразности.

Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, которые сохраняют желаемую биологическую активность соединения изобретения и демонстрируют минимальные нежелательные токсические воздействия. Такие соли включают соли присоединения неорганических или органических кислот и/или оснований, в зависимости от присутствия основных и/или кислотных групп в соединении изобретения. В качестве справочной информации см., например, "Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use.", P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (ред.), Wiley-VCH, 2008; и "Pharmaceutical Salts and Co-crystals", Johan Wouters и Luc Quééré (ред.), RSC Publishing, 2012.

Определения, представленные в настоящей заявке, предназначены для применения равным образом как к соединениям формулы (I), как определено в любом из вариантов осуществления 1) - 6), так и, с учетом соответствующих изменений, по всему описанию и формуле изобретения, если только иное недвусмысленным образом изложенное определение не обеспечивает более широкое или более узкое определение. Совершенно ясно, что определение или предпочтительное определение термина определяет и может заменять соответствующий термин независимо от (и в комбинации с) любого(ым) определения(ем) или предпочтительного(ым) определения(ем) любого или всех других терминов в соответствии с определением в настоящей заявке.

В случаях, когда заместитель указывается в качестве необязательного, следует понимать, что такой заместитель может отсутствовать, и в этом случае все положения, имеющие свободную валентность (к которым такой необязательный заместитель мог бы быть присоединен; такие как, например, кольцевые атомы углерода и/или кольцевые атомы азота в ароматическом кольце, которые имеют свободную валентность) замещены водородом в требуемых случаях. Подобным образом, в случае, когда термин "необязательно" используется в контексте кольцевого(ых) гетероатома(ов), термин означает, что либо соответствующий(е) необязательный(е) гетероатом(ы) или т.п. отсутствует(ют) (т.е. определенный фрагмент не содержит гетероатом(ы)/означает карбоцикл/или т.п.), либо соответствующий(е) необязательный(е) гетероатом(ы) или т.п. присутствует(ют) согласно приведенному четкому определению.

Термин "галоген" означает фтор, хлор, бром или йод; в особенности фтор, хлор или бром; предпочтительно фтор или хлор.

Термин "алкил", используемый отдельно или в комбинации, относится к насыщенной углеводородной группе с прямой или разветвленной цепью, содержащей от одного до шести атомов углерода. Термин "(C<sub>x-y</sub>)алкил" (x и y каждый представляет собой целое число) относится к алкильной группе согласно приведенному выше определению, содержащей от x до y атомов углерода. Например, (C<sub>1-6</sub>)алкильная группа содержит от одного до шести атомов углерода. Примерами алкильных групп являются метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, трет-бутил, 3-метилбутил, 2,2-диметилпропил и 3,3-диметилбутил. Во избежание каких-либо сомнений следует отметить, что, в случае если группа называется, например, пропил или бутил, то подразумевается n-пропил, соответственно n-бутил. Предпочтительными являются метил и этил. Наиболее предпочтительным является метил.

Термин "алкокси", используемый отдельно или в комбинации, относится к группе алкил-О-, где алкильная группа соответствует приведенному выше определению. Термин "(C<sub>x-y</sub>)алкокси" (x и y, каждый, представляет собой целое число) относится к алкокси группе согласно приведенному выше определению, содержащей от x до y атомов углерода. Например, (C<sub>1-4</sub>)алкокси группа означает группу формулы (C<sub>1-4</sub>)алкил-О-, где термин "(C<sub>1-4</sub>)алкил" имеет приведенное ранее значение. Примерами алкокси групп являются метокси, этокси, n-пропокси, изопропокси, n-бутокси, изобутокси, втор-бутокси и трет-бутокси. Предпочтительными являются этокси и, в особенности, метокси.

Термин "фторалкил", используемый отдельно или в комбинации, относится к алкильной группе согласно приведенному выше определению, содержащей от одного до трех атомов углерода, в которой один или несколько (и возможно все) из атомов водорода заменены на фтор. Термин "(C<sub>x-y</sub>)фторалкил" (x и y, каждый, представляет собой целое число) относится к фторалкильной группе согласно приведенному выше определению, содержащей от x до y атомов углерода. Например, (C<sub>1-3</sub>)фторалкильная группа содержит от одного до трех атомов углерода, и в ней от одного до семи атомов водорода заменены на фтор. Репрезентативные примеры фторалкильных групп включают трифторметил, 2-фторэтил, 2,2-дифторэтил и 2,2,2-трифторэтил. Предпочтительными являются (C<sub>1</sub>)фторалкильные группы, такие как трифторметил.

Термин "фторалкокси", используемый отдельно или в комбинации, относится к алкокси группе со-

гласно приведенному выше определению, содержащей от одного до трех атомов углерода, в которой один или несколько (и возможно все) из атомов водорода заменены на фтор. Термин "(C<sub>x-y</sub>)фторалкокси" (x и y, каждый, представляет собой целое число) относится к фторалкокси группе согласно приведенному выше определению, содержащей от x до y атомов углерода. Например, (C<sub>1-3</sub>)фторалкокси группа содержит от одного до трех атомов углерода, и в ней от одного до семи атомов водорода заменены на фтор. Репрезентативные примеры фторалкокси групп включают трифторметокси, дифторметокси, 2-фторэтокси, 2,2-дифторэтокси и 2,2,2-трифторэтокси. Предпочтительными являются (C<sub>1</sub>)фторалкокси группы, такие как трифторметокси и дифторметокси, а также 2,2,2-трифторэтокси.

Термин "циклоалкил", используемый отдельно или в комбинации, относится к насыщенному моноциклическому углеводородному кольцу, содержащему от 3 до 6 атомов углерода. Термин "(C<sub>x-y</sub>)циклоалкил" (x и y, каждый, представляет собой целое число) относится к циклоалкильной группе согласно приведенному выше определению, содержащей от x до y атомов углерода. Например, (C<sub>3-6</sub>)циклоалкильная группа содержит от 3 до 6 атомов углерода. Примерами циклоалкильных групп являются циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил и циклогептил. Предпочтительными являются циклопропил, циклобутил и циклопентил, в особенности, циклопропил.

Термин "циано" относится к группе -CN.

Выражение "соединения формулы (I) замещены функциональной группой карбоновой кислоты -COOH" следует понимать в том смысле, что такая группа карбоновой кислоты может присутствовать в форме пролекарственной группы. Такие пролекарства включены в объем настоящего изобретения. В некоторых случаях соединения, содержащие такие пролекарственные группы карбоновой кислоты, могут как таковые проявлять биологическую активность на EP2 рецепторе, в то время как в других случаях такие соединения, содержащие такие пролекарственные группы карбоновой кислоты, требуют (например, ферментативного) расщепления пролекарства для проявления биологической активности на EP2 рецепторе. Пролекарства функциональной группы карбоновой кислоты хорошо известны в данной области техники (см., например, J. Rautio (ред.) Prodrugs and Targeted Delivery: Towards Better ADME Properties, том 47, Wiley 2010, ISBN: 978-3-527-32603-7; H. Maag in Stella, V., Borchardt, R., Hageman, M., Oliyai, R., Maag, H., Tilley, J. (ред.) Prodrugs: Challenges and Rewards, Springer 2007, ISBN 978-0-387-49785-3).

Отдельными примерами пролекарств, например, подходящих для таких -COOH групп, являются:

сложноэфирные группы -CO-O-P<sup>1</sup>, где P<sup>1</sup> означает, например, (C<sub>1-4</sub>)алкил; (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил, где (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил необязательно содержит кольцевой атом кислорода; (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил-(C<sub>1-3</sub>)алкил, где (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил необязательно содержит кольцевой атом кислорода; (C<sub>1-3</sub>)фторалкил; гидрокси-(C<sub>2-4</sub>)алкил; или (C<sub>1-4</sub>)алкокси-(C<sub>2-4</sub>)алкил (в особенности, P<sup>1</sup> означает (C<sub>1-4</sub>)алкил, в частности метил или этил);

группы -CO-NH-SO<sub>2</sub>-R<sup>S3</sup>, где R<sup>S3</sup> представляет собой (C<sub>1-4</sub>)алкил, (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил, где (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил необязательно содержит кольцевой атом кислорода; (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил-(C<sub>1-3</sub>)алкил, где (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил необязательно содержит кольцевой атом кислорода; (C<sub>1-3</sub>)фторалкил, фенил, -NH<sub>2</sub>; (в особенности, R<sup>S3</sup> означает (C<sub>1-4</sub>)алкил, (C<sub>3-6</sub>)циклоалкил или фенил; в частности метил);

группы -CO-R<sup>O1</sup>, где R<sup>O1</sup> представляет собой -O-CH<sub>2</sub>-CO-R<sup>O4</sup>, где R<sup>O4</sup> представляет собой гидрокси или (C<sub>1-4</sub>)алкокси, или -N[(C<sub>1-4</sub>)алкил]<sub>2</sub> (в особенности, -CO-O-CH<sub>2</sub>-COOH, -CO-O-CH<sub>2</sub>-CO-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>);

группы -CO-R<sup>O1</sup>, где R<sup>O1</sup> представляет собой -O-CH<sub>2</sub>-O-CO-R<sup>O5</sup>, где R<sup>O5</sup> представляет собой (C<sub>1-4</sub>)алкил или (C<sub>1-4</sub>)алкокси (в особенности, -CO-O-CH<sub>2</sub>-O-CO-O-этил, -CO-O-CH<sub>2</sub>-O-CO-пропил);

группы -CO-R<sup>O1</sup>, где R<sup>O1</sup> представляет собой -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N[(C<sub>1-4</sub>)алкил]<sub>2</sub> (в особенности, -CO-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); и

группы -CO-R<sup>O1</sup>, где R<sup>O1</sup> представляет собой 5-метил-2-оксо-[1,3]диоксол-4-ил)-метилокси-.

Каждый раз, когда для описания области числовых значений применяют слово "между", то его следует понимать значащим то, что конечные точки указанного диапазона явно включены в такой диапазон. Например, если температурный диапазон описывается значениями между 40 и 80°C, то это означает, что конечные точки 40°C и 80°C включены в такой диапазон; или если переменная определена как целое число между 1 и 4, это означает, что переменная представляет собой целое число 1, 2, 3 или 4.

Если не используют в отношении температур, то термин "приблизительно", находящийся перед числовым значением "X", в данной заявке относится к интервалу, который распространяется от X минус 10% X до X плюс 10% X, и предпочтительно к интервалу, который распространяется от X минус 5% X до X плюс 5% X. В отдельном случае, касающемся температур, термин "приблизительно", находящийся перед температурой "Y", в данной заявке относится к интервалу, который распространяется от температуры Y минус 10°C до Y плюс 10°C, и предпочтительно к интервалу, который распространяется от Y минус 5°C до Y плюс 5°C. Кроме того, термин "комнатная температура", как используется в настоящей заявке, относится к температуре приблизительно 25°C.

Дополнительные варианты осуществления изобретения представлены ниже

2) Второй вариант осуществления относится к соединениям в соответствии с вариантом осуществления 1), где R<sup>1</sup> представляет собой водород.

3) Другой вариант осуществления относится к соединениям в соответствии с вариантом осуществления 1), где R<sup>1</sup> представляет собой метил.

4) Другой вариант осуществления относится к соединениям в соответствии с любым из вариантов

осуществления 1) - 3), где R<sup>2</sup> представляет собой метил.

5) Другой вариант осуществления относится к соединениям в соответствии с любым из вариантов осуществления 1) - 3), где R<sup>2</sup> представляет собой хлор или бром (в особенности, хлор).

6) Другой вариант осуществления относится к соединениям в соответствии с любым из вариантов осуществления 1) - 3), где R<sup>2</sup> представляет собой циано.

7) Другой вариант осуществления относится к наиболее предпочтительным соединениям в соответствии с вариантом осуществления 1), которые выбирают из следующих соединений:

- 4-{6-[2-(2-метилиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота;
- 4-{6-[2-(2-цианоиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота;
- 4-{6-[2-(2,7-диметилиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота;
- 4-{6-[2-(2-хлориндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота и
- 4-{6-[2-(2-броминдол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота.

Соединения формулы (I) в соответствии с вариантами осуществления 1) - 7) и их фармацевтически приемлемые соли можно применять в качестве лекарственных средств, например, в форме фармацевтических композиций для энтерального (как, в особенности, перорального, например, в форме таблетки или капсулы) или парентерального введения (включая местное нанесение или ингаляцию).

Изготовление фармацевтических композиций можно осуществлять способом, известным любому специалисту в данной области техники (см., например, Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 21-е издание (2005), часть 5, "Pharmaceutical Manufacturing" [опубликовано Lippincott Williams & Wilkins]) путем введения описанных соединений формулы (I) или их фармацевтически приемлемых солей, необязательно в комбинации с другими терапевтически ценными веществами, в галеновую лекарственную форму вместе с пригодными, нетоксичными, инертными, терапевтически совместимыми твердыми или жидкими веществами-носителями и, при необходимости, обычными фармацевтическими вспомогательными веществами.

Настоящее изобретение также относится к способу предотвращения/профилактики или лечения заболевания или расстройства, упомянутого в настоящей заявке, включающему введение субъекту фармацевтически активного количества соединения формулы (I) в соответствии с вариантами осуществления 1) - 7).

В предпочтительном варианте осуществления изобретения вводимое количество находится в диапазоне между 1 и 2000 мг в сутки, в частности между 5 и 1000 мг в сутки, более предпочтительно между 25 и 500 мг в сутки, в особенности между 50 и 200 мг в сутки.

Каждый раз, когда для описания области числовых значений применяют слово "между", то его следует понимать значащим то, что конечные точки указанного диапазона явно включены в такой диапазон. Например, если температурный диапазон описывается значениями между 40 и 80°C, то это означает, что конечные точки 40°C и 80°C включены в такой диапазон; или если переменная определена как целое число между 1 и 4, это означает, что переменная представляет собой целое число 1, 2, 3 или 4.

Если не используют в отношении температур, то термин "приблизительно", находящийся перед числовым значением "X", в данной заявке относится к интервалу, который распространяется от X минус 10% X до X плюс 10% X, и предпочтительно к интервалу, который распространяется от X минус 5% X до X плюс 5% X. В отдельном случае, касающемся температур, термин "приблизительно", находящийся перед температурой "Y", в данной заявке относится к интервалу, который распространяется от температуры Y минус 10°C до Y плюс 10°C, и предпочтительно к интервалу, который распространяется от Y минус 5°C до Y плюс 5°C.

Во избежание каких-либо сомнений следует отметить, что, если соединения описываются как пригодные для предотвращения/профилактики или лечения определенных заболеваний, такие соединения подобным образом пригодны для применения для приготовления лекарственного средства для предотвращения/профилактики или лечения указанных заболеваний. Подобным образом, такие соединения также пригодны для способа предотвращения/профилактики или лечения таких заболеваний, включающего введение субъекту (млекопитающему, в особенности человеку), нуждающемуся в этом, эффективного количества такого соединения.

Соединения формулы (I) в соответствии с вариантами осуществления 1) - 7) являются полезными для предотвращения/профилактики или лечения расстройств, касающихся рецепторов EP2 и/или, при применении в комбинации с модулятором PGE2 рецепторов EP4, касающихся как EP2, так и EP4 рецепторов.

Соединениями, ингибирующими рецептор EP4, являются, в частности, такие соединения как 4-[[4-(5-метокси-2-пиридинил)фенокси]метил]-5-метил-N-[(2-метилфенил)сульфонил]-2-фуранкарбоксамид (BGC-20-1531, BGC20-1531; WO2004/067524); N-[[2,4-(2-этил-4,6-диметил-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-1-ил)фенилэтиламино]карбонил]-4-метилбензолсульфонамид (Grapiprant, AAT-007, CJ-023423, MR-10A7, RQ-00000007, RQ-07, RQ-7-; WO2002/032900); 4-[(1S)-1-[[[3-(дифторметил)-1-метил-5-[3-(трифторметил)фенокси]-1H-пиразол-4-ил]карбонил]амино]этил]бензойная кислота (E-7046, ER-886046-00; WO2012/039972); CR-6086 (WO2012/076063); ONO-4578 (WO2016/111347); и 4-[1(S)-[5-хлор-2-(3-фторфенокси)пиридин-3-илкарбоксамидо]этил]бензойная кислота (AAT-008, RQ-08, RQ-00000008;

WO2005/021508); а также соединения, раскрытые в

|                |                |                |                |
|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                | WO2017/066633; | WO2017/014323; | WO2016/111347; |
| WO2016/021742; | WO2015/179615; | WO2015/147020; | WO2015/091475; |
| WO2015/094912; | WO2015/094902; | WO2014/200075; | WO2014/186218; |
| WO2014/126746; | WO2014/122267; | WO2014/086739; | WO2014/004230; |
| WO2014/004229; | WO2013/004290; | WO2012/103071; | WO2012/076063; |
| WO2012/043634; | WO2012/039972; | WO2010/034110; | WO2010/032123; |
| WO2010/019796; | WO2009/139373; | WO2009/005076; | WO2008/123207; |
| WO2008/116304; | WO2008/104055; | WO2008/017164; | WO2007/143825; |
| WO2007/121578; | WO2006/122403; | WO2005/105733; | WO2005/105732; |
| WO2005/037812; | WO2005/021508; | WO2004/067524; | WO2003/099857; |
| WO2003/086390; | WO2003/087061; | WO2002/064564; | WO2002/050032; |

WO2002/050033; WO2002/032422; WO2001/072302.

Определенные соединения формулы (I) в соответствии с вариантами осуществления 1) - 7) демонстрируют свою биологическую активность в качестве модуляторов рецепторов простагландина-2 EP2 в биологическом окружении (т.е. в присутствии одного или нескольких ферментов, способных разрушать ковалентную связь, присоединенную к карбонильной группе, таких как амидаза, эстераза или любой пригодный их эквивалент, способный снимать пролекарственную группу с группы карбоновой кислоты).

Заболеваниями или расстройствами, касающимися EP2 и/или, если такое соединение применяют в комбинации с модулятором PGE2 рецепторов EP4, касающимися как EP2 рецепторов, так и EP4 рецепторов, являются, в особенности, злокачественное новообразование (в особенности, меланома, включая метастатическую меланому; рак легких, включая немелкоклеточный рак легких; рак мочевого пузыря, включая рак самого мочевого пузыря, уротелиально-клеточную карциному; карциномы почек, включая почечно-клеточную карциному, метастатическую почечно-клеточную карциному, метастатическую светлоклеточную карциному почек; злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта, включая колоректальный рак, метастатический колоректальный рак, семейный аденоматозный полипоз (FAP), рак пищевода, рак желудка, рак желчного пузыря, холангиокарциному, гепатоцеллюлярную карциному и рак поджелудочной железы, такой как аденокарцинома поджелудочной железы или дуктальная карцинома поджелудочной железы; рак эндометрия; рак яичников; рак шейки матки; нейробластома; рак предстательной железы, включая кастрационно-резистентный рак предстательной железы; опухоли головного мозга, включая метастазы в головной мозг, злокачественные глиомы, мультиформную глиобластому, медуллобластому, менингиомы; рак молочной железы, включая трижды негативную карциному молочной железы; опухоли ротовой полости; опухоли носоглотки; торакальный рак; рак головы и шеи; лейкозы, включая острый миелоидный лейкоз, Т-клеточный лейкоз взрослых; карциномы; аденокарциномы; тиреоидная карцинома, включая папиллярную тиреоидную карциному; хориокарцинома; саркома Юинга; остеосаркома; рабдомиосаркома; саркома Капоши; лимфомы, включая лимфому Беркитта, лимфому Ходжкина, лимфому MALT-типа; множественные миеломы; и опухоли, индуцированные вирусом; в особенности меланома; рак легких; рак мочевого пузыря; карциномы почек; злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта; рак эндометрия; рак яичников; рак шейки матки; и нейробластома);

а также дальнейшие заболевания или расстройства, касающиеся EP2 и/или EP4 рецепторов, такие как:

боль (в особенности, воспалительная боль и болезненная менструация);

эндометриоз;

аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек;

острые ишемические синдромы у больных с атеросклерозом;

пневмония; и

нейродегенеративные заболевания, включая амиотрофический латеральный склероз, удар; болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и связанная с ВИЧ деменция;

и, в дополнение к этому, EP2 и/или EP4 антагонисты можно применять для контроля женской фертильности.

Дальнейшими заболеваниями или расстройствами, касающимися EP2 и/или EP4 рецепторов, являются аутоиммунные нарушения, такие как, в особенности, рассеянный склероз, ревматоидный артрит и остеоартрит; и остеопороз.

Соединения формулы (I) в соответствии с любым из вариантов осуществления 1) - 7), в частности, являются полезными в качестве терапевтических средств для предотвращения/профилактики или лечения злокачественного новообразования. Их можно применять в виде отдельных терапевтических средств, однако для предотвращения/профилактики или лечения злокачественного новообразования указанные соединения предпочтительно применяют в комбинации с модулятором PGE2 рецепторов EP4; и, кроме того, необязательно в комбинации с одним или несколькими химиотерапевтическими средствами

и/или радиотерапией, и/или таргетной терапией. Такое комбинированное лечение можно осуществлять одновременно, раздельно или в течение некоторого времени.

Таким образом, изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим фармацевтически приемлемое вещество-носитель, и:

соединение формулы (I) в соответствии с любым из вариантов осуществления 1) - 7); и/или модулятор PGE2 рецепторов EP4; и/или и одно или несколько цитотоксических химиотерапевтических средств.

Таким образом, изобретение, кроме того, относится к набору, содержащему фармацевтическую композицию, где указанная композиция содержит фармацевтически приемлемое вещество-носитель, и:

соединение формулы (I) в соответствии с любым из вариантов осуществления 1) - 7);

и инструкции, как применять указанную фармацевтическую композицию для предотвращения/профилактики или лечения злокачественного новообразования в комбинации с химиотерапией и/или радиотерапией и/или таргетной терапией.

Термины "радиотерапия" или "лучевая терапия" или "радиационная онкология" относятся к медицинскому применению ионизирующего излучения для предотвращения/профилактики (адьювантная терапия) и/или лечения злокачественного новообразования; включая наружную и внутреннюю радиотерапию.

Термин "таргетная терапия" относится к предотвращению/профилактике (адьювантная терапия) и/или лечению злокачественного новообразования одним или несколькими антинеопластическими средствами, таким как малые молекулы или антитела, которые действуют на конкретные типы злокачественных клеток или стромальных клеток. Некоторые типы таргетной терапии блокируют действие определенных ферментов, белков или других молекул, вовлеченных в рост и распространение злокачественных клеток. Другие типы таргетной терапии помогают иммунной системе убивать злокачественные клетки (иммунотерапия); или ингибируют ангиогенез, рост и образование новых кровеносных сосудов в опухоли; или доставляют токсичные вещества непосредственно в злокачественные клетки и убивают их. Примером таргетной терапии, которая, в частности, является пригодной для комбинирования с соединениями настоящего изобретения, является иммунотерапия, в особенности иммунотерапия, таргетированная на рецептор программируемой смерти клетки 1 (PD-1 рецептор) или его лиганд PD-L1 (Zelenay и др., 2015, Cell 7(52), 1-14; Yongkui Li и др., Oncoimmunology 2016, 5(2):e1074374).

При применении в комбинации с соединениями формулы (I) термин "таргетная терапия", в особенности, относится к средствам, таким как:

а) Ингибиторы рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) или блокирующие антитела (например, gefitinib, erlotinib, afatinib, icotinib, lapatinib, panitumumab, zalutumumab, nimotuzumab, matuzumab и cetuximab);

б) ингибиторы RAS/RAF/MEK пути (например, vemurafenib, sorafenib, dabrafenib, GDC-0879, PLX-4720, LGX818, RG7304, траметиниб (GSK1120212), кобиметиниб (GDC-0973/XL518), биниметиниб (MEK162, ARRY-162), селуметиниб (AZD6244));

в) ингибиторы ароматазы (например, эксеместан, летрозол, анастрозол, ворозол, форместан, фадрозол);

г) ингибиторы ангиогенеза, в особенности ингибиторы VEGF сигнализации, такие как бевацумаб (авастин), рамуцирумаб, сорафениб или акситиниб;

д) ингибиторы иммунных контрольных точек (например, анти-PD1 антитела, такие как пембролизумаб (ламбролизумаб, MK-3475), ниволумаб, пидилизумаб (CT-011), AMP-514/MED10680, PDR001, SHR-1210; REGN2810, BGBA317; слитные белки, таргетированные на PD-1, такие как AMP-224; малые молекулы - анти-PD1 средства, такие как, например, соединения, раскрытые в WO2015/033299, WO2015/044900 и WO2015/034820; анти-PD1L антитела, такие как BMS-936559, атезолизумаб (MPDL3280A, RG7446), MEDI4736, авелумаб (MSB0010718C), дурвалумаб (MEDI4736); анти-PDL2 антитела, такие как AMP224; анти-CTLA-4 антитела, такие как ипилимумаб, тремилумаб; анти-лимфоцитактивирующий ген 3 (LAG-3) - антитела, такие как BMS-986016, IMP701, MK-4280, ImmuFact IMP321; анти-T-клеточный иммуноглобулин муцин-3 (TIM-3) - антитела, такие как MBG453; анти-CD137/4-1BB антитела, такие как BMS-663513/урелумаб, PF-05082566; анти-T-клеточный иммунорецептор с Ig и ITIM доменами (TIGIT) - антитела, такие как RG6058 (анти-TIGIT, MTIG7192A);

е) методы, включающие вакцинацию (например, вакцинация дендритными клетками, вакцинация пептидом или белком (например, gp100 пептидом или MAGE-A3 пептидом);

ж) повторное введение полученных от больных или аллогенных (чужих) злокачественных клеток, генетически модифицированных для секреции иммуномодулирующих факторов, таких как вакцина на основе трансфицированных геном гранулоцитарного-моноцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF) опухолевых клеток (GVAX) или вакцина на основе трансфицированных геном лиганда fms-подобной тирозинкиназы-1 (Flt-3) опухолевых клеток (FVAX), или вакцина на основе GM-CSF опухолевых клеток, обогащенных Toll-подобным рецептором (TEGVAX);

з) адаптивная иммунотерапия на основе T-клеток, включая сконструированные T-клетки с химерным антигенным рецептором (CAR) (например, CTL019);

i) терапия на основе цитокинов или иммуноцитокинов (например, альфа-интерферон, бета-интерферон, гамма-интерферон, интерлейкин 2, интерлейкин 15);

j) агонисты Toll-подобных рецепторов (TLR) (например, резиквимод, имиквимод, глюкопиранозил-липид А, CpG олигодезоксинуклеотиды);

к) аналоги галидомида (например, леналидомид, помалидомид);

l) ингибиторы индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и/или триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO) (например, RG6078/NLG919/GDC-0919; индоксимод/1MT (1-метилтриптофан), INCB024360/эпакадостат, PF-06840003 (EOS200271), F001287);

m) активаторы Т-клеточных костимулирующих рецепторов (например, анти-OX40/CD134 (надсемейство рецепторов факторов некроза опухоли, член 4, такие как RG7888 (MOXR0916), 9B12; MEDI6469, GSK3174998, MEDI0562), анти-OX40-лиганд/CD252; анти-семейный ген глюкокортикоид-индуцированного TNFR (GITR) (такие как TRX518, MEDI1873, МК-4166, BMS-986156), анти-CD40 (суперсемейство рецепторов TNF, член 5) антитела (такие как дацетузумаб (SGN-40), HCD122, CP-870,893, RG7876, ADC-1013, APX005M, SEA-CD40); анти-CD40-лиганд антитела (такие как BG9588); анти-CD27 антитела, такие как варлилумаб);

n) молекулы, связывающие опухолеспецифический антиген, а также поверхностный маркер Т-клеток, такие как биспецифические антитела (например, RG7802, таргетированное на CEA и CD3) или фрагменты антител, миметические белки - антитела, такие как сконструированные белки с анкириновым повтором (DARPINS), привлекающий Т-клетки биспецифический активатор (BITE, например, AMG103, AMG330);

o) антитела или ингибиторы с низкой молекулярной массой, таргетированные на рецептор колоние-стимулирующего фактора-1 (CSF-1R) (например, эмактузумаб (RG7155), кабирализумаб (FPA-008), PLX3397);

p) агенты, таргетированные на контрольные точки иммунных клеток, естественных клеток-киллеров, такие как антитела против иммуноглобулиноподобных рецепторов клеток-киллеров (KIR), например лирилумаб (IPH2102/BMS-986015);

q) агенты, таргетированные на аденозиновые рецепторы или эктонуклеазы CD39 и CD73, которые превращают АТФ в аденозин, такие как MEDI9447 (анти-CD73 антитело), PBF-509; CPI-444 (антагонист рецептора аденозина А2а).

При применении в комбинации с соединениями формулы (I) ингибиторы иммунных контрольных точек, такие как перечисленные в пункте d), и, в особенности, те, которые таргетированы на рецептор программируемой смерти клетки 1 (PD-1 рецептор) или его лиганд PD-L1, являются предпочтительными.

Термин "химиотерапия" относится к лечению злокачественного новообразования одним или несколькими цитотоксическими антинеопластическими средствами ("цитотоксическими химиотерапевтическими средствами"). Химиотерапию часто применяют в сочетании с другими типами лечения злокачественных новообразований, такими как лучевая терапия или хирургическое вмешательство. Термин, в особенности, относится к обычным цитотоксическим химиотерапевтическим средствам, действие которых вызывает гибель клеток, которые делятся слишком быстро, что является одним из главных свойств большинства злокачественных клеток. При химиотерапии можно применять один лекарственный препарат за прием (однокомпонентная химиотерапия) или несколько лекарственных препаратов сразу (комбинированная химиотерапия или полихимиотерапия). Химиотерапия с использованием лекарственных препаратов, которые обретают цитотоксическую активность только при воздействии света, называется фотохимиотерапией или фотодинамической терапией.

Термин "цитотоксическое химиотерапевтическое средство" или "химиотерапевтическое средство" в контексте данной заявки относится к активному антинеопластическому средству, индуцирующему апоптоз или некротическую гибель клеток. При применении в комбинации с соединениями формулы (I) термин, в особенности, относится к обычным цитотоксическим химиотерапевтическим средствам, таким как:

a) алкилирующие средства (например, мехлорэтамин, хлорамбуцил, циклофосфамид, ифосфамид, стрептозоцин, кармустин, ломустин, мелфалан, дакарбазин, темозоломид, фотемустин, тиотепа или алтратамин; в особенности циклофосфамид, кармустин, мелфалан, дакарбазин или темозоломид);

b) лекарственные препараты на основе платины (в особенности, цисплатин, карбоплатин или оксалиплатин);

c) антиметаболитные лекарственные препараты (например, 5-фторурацил, фолиевая кислота/лейковорин, капецитабин, 6-меркаптопурин, метотрексат, гемцитабин, цитарабин, флударабин или пеметрексед; в особенности 5-фторурацил, фолиевая кислота/лейковорин, капецитабин, метотрексат, гемцитабин или пеметрексед);

d) противоопухолевые антибиотики (например, даунорубин, доксорубин, эпирубин, идарубин, актиномицин-D, блеомицин, митомицин-C или митоксантрон; в особенности доксорубин);

e) ингибиторы митоза (например, паклитаксел, доцетаксел, иксабепилон, винбластин, винкристин, винорелбин, виндезин или эстрамустин; в особенности, паклитаксел, доцетаксел, иксабепилон или винкристин); или

f) ингибиторы топоизомеразы (например, этопозид, тенипозид, топотекан, иринотекан, дифломотекан или эломотекан; в особенности этопозид или иринотекан).

При применении в комбинации с соединениями формулы (I) предпочтительными цитотоксическими химиотерапевтическими средствами являются вышеупомянутые алкилирующие средства (в особенности, фотемустин, циклофосфамид, ифосфамид, кармустин, дакарбазин и их пролекарства, такие как, в особенности, темозоломид или фармацевтически приемлемые соли этих соединений; в частности темозоломид); ингибиторы митоза (в особенности, паклитаксел, доцетаксел, иксабепилон; или фармацевтически приемлемые соли этих соединений; в частности паклитаксел); лекарственные препараты на основе платины (в особенности, цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин); а также этопозид и гемцитабин.

Химиотерапию можно осуществлять с лечебной целью, или она может быть предназначена для продления жизни или смягчения симптомов.

Комбинированный метод лечения с применением химиотерапии означает применение лекарственных препаратов вместе с другими типами лечения злокачественных новообразований, такими как лучевая терапия или хирургическое вмешательство.

Индукционная химиотерапия является терапией "первой линии" злокачественного новообразования химиотерапевтическим лекарственным препаратом. Этот тип химиотерапии применяют для лечебной цели.

Закрепляющую химиотерапию осуществляют после ремиссии с целью продлить общее время жизни без признаков заболевания и улучшить общую выживаемость. Лекарственный препарат, вводимый в данном случае, представляет собой тот же лекарственный препарат, с помощью которого была достигнута ремиссия.

Усиленная химиотерапия идентична закрепляющей химиотерапии, но применяют лекарственный препарат другой, чем применяли для индукционной химиотерапии.

Комбинированная химиотерапия включает лечение пациента несколькими различными лекарственными препаратами одновременно. Лекарственные препараты различаются по механизму действия и побочным эффектам. Самым большим преимуществом является минимизация шансов развития резистентности к какому-либо одному препарату. Также лекарственные препараты часто можно применять в более низких дозах, что снижает токсичность.

Неоадьювантную химиотерапию осуществляют до местного лечения, такого как хирургическое вмешательство, и она предназначена для уменьшения первичной опухоли. Ее также осуществляют при злокачественных новообразованиях с высоким риском микрометастатического заболевания.

Адьювантную химиотерапию осуществляют после местного лечения (радиотерапии или хирургического вмешательства). Ее можно применять при отсутствии достаточных доказательств наличия злокачественного новообразования, но при присутствии риска рецидива. Она также полезна для индуцирования гибели любых раковых клеток, которые распространились в другие части тела. Эти микрометастазы можно лечить адьювантной химиотерапией и можно уменьшить частоту рецидивов, вызванных этими рассредоточенными клетками.

Поддерживающая химиотерапия представляет собой повторное лечение низкими дозами для продления ремиссии.

Спасательную химиотерапию или паллиативную химиотерапию осуществляют без лечебной цели, а просто, чтобы уменьшить опухолевую нагрузку и увеличить продолжительность жизни. Для этих режимов в целом ожидается лучший профиль токсичности.

Термин "одновременно", когда он относится к типу введения, означает в настоящей заявке то, что указанный тип введения заключается во введении (применении) двух или большего числа активных компонентов и/или методов лечения в приблизительно одно и то же время; причем следует понимать, что одновременное введение (применение) приведет к воздействию на субъекта двух или большего числа активных компонентов и/или методов лечения в одно и то же время. Когда введение осуществляется одновременно, указанные два или большее число активных компонентов можно вводить в комбинации фиксированных доз, или в эквивалентной комбинации нефиксированных доз (например, с использованием двух или большего числа различных фармацевтических композиций, подлежащих введению одним и тем же путем введения в приблизительно одно и то же время), или с помощью комбинации нефиксированных доз с использованием двух или большего числа различных путей введения; где указанное введение приводит к практически одновременному воздействию на субъекта двух или большего числа активных компонентов и/или методов лечения. Например, при применении в комбинации с химиотерапией и/или пригодной таргетной терапией EP2/EP4 антагонисты настоящего изобретения предполагается применять "одновременно".

Термин "комбинация фиксированных доз", когда он относится к типу введения, означает в настоящей заявке то, что указанный тип введения заключается во введении одной единственной фармацевтической композиции, содержащей два или большее число активных компонентов.

Термин "раздельно", когда он относится к типу введения, означает в настоящей заявке то, что указанный тип введения заключается во введении (применении) двух или большего числа активных компонентов и/или методов лечения в разные моменты времени; причем следует понимать, что раздельное

введение (применение) приведет к фазе лечения (например, по меньшей мере 1 ч, особенно по меньшей мере 6 ч, в особенности по меньшей мере 12 ч), в которой субъект подвергается воздействию двух или большего числа активных компонентов и/или методов лечения в одно и то же время; но раздельное введение (применение) также может привести к фазе лечения, в которой в течение определенного периода времени (например, по меньшей мере 12 ч, в особенности по меньшей мере одного дня) субъект подвергается воздействию только одного из двух или большего числа активных компонентов и/или методов лечения. Раздельное введение (применение), в особенности, относится к ситуациям, в которых по меньшей мере один из активных компонентов и/или методов лечения вводят (применяют) с периодичностью, которая существенно отличается от ежедневного (такого как один раз или два раза в день) введения (применения) (например, где один активный компонент и/или метод лечения вводят (применяют), например, один раз или два раза в день и другой вводят (применяют), например, раз в два дня, или один раз в неделю, или с еще большими промежутками). Например, при применении в комбинации с радиотерапией, EP2/EP4 антагонисты настоящего изобретения предполагается применять "раздельно".

Под введением "в течение некоторого времени" в настоящей заявке подразумевается последовательное введение (применение) двух или большего числа активных компонентов и/или методов лечения в разное время. Термин, в частности, относится к методу введения (применения), в соответствии с которым все введение (применение) одного из активных компонентов и/или методов лечения завершают до начала введения (применения) другого/других. Таким образом, можно вводить (применять) один из активных компонентов и/или методов лечения в течение нескольких месяцев перед введением (применением) другого(их) активного(ых) компонента(ов) и/или метода(ов) лечения.

Введение "в течение некоторого времени" также охватывает ситуации, в которых соединение формулы (I) будет применяться для лечения, которое начинается после прекращения первоначального химиотерапевтического (например, индукционной химиотерапии), и/или радиотерапевтического лечения, и/или лечения посредством таргетной терапии, где необязательно указанное лечение будет осуществляться в комбинации с дополнительным/продолжающимся химиотерапевтическим и/или радиотерапевтическим лечением и/или лечением посредством таргетной терапии (например, в комбинации с закрепляющей химиотерапией, усиленной химиотерапией, адъювантной химиотерапией или поддерживающей химиотерапией; или их радиотерапевтическими эквивалентами); где такое дополнительное/продолжающееся химиотерапевтическое и/или радиотерапевтическое лечение и/или лечение посредством таргетной терапии будет осуществляться одновременно, раздельно или в течение некоторого времени в смысле "осуществления не с той же самой периодичностью".

Соединения формулы (I), как определено в вариантах осуществления 1) - 7), в особенности, в комбинации с модулятором PGE2 рецепторов EP4, также являются полезными в способе модулирования иммунного ответа у субъекта, имеющего опухоль, включающем введение эффективного количества соединения формулы (I); где указанное эффективное количество реактивирует иммунную систему в опухоли указанного субъекта; где, в особенности, указанное эффективное количество:

противодействует поляризации опухоль-ассоциированных макрофагов в пользу опухоль-промотирующих M2 макрофагов; и/или

понижающе регулирует активацию, экспансию и/или эффекторную функцию иммуносупрессивных клеток, которые накапливаются в опухоли (в особенности, регуляторных Т-клеток (Tregs) и/или супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC)); и/или

повышающе регулирует IFN- $\gamma$  и/или TNF- $\alpha$  и/или IL-12 и/или IL-2 экспрессию в иммунных клетках, таких как естественные клетки-киллеры, Т-клетки, дендритные клетки и макрофаги (что приводит к индукции апоптоза опухолевых клеток и/или сдерживанию онкогенеза); и/или

непосредственно или косвенно противодействует подавленной активации, IL-2 отзывчивости и экспансии цитотоксических Т-клеток (тем самым уменьшая местную иммуносупрессию).

Соединения формулы (I), как определено в вариантах осуществления 1) - 7), в особенности, в комбинации с модулятором PGE2 рецепторов EP4, также являются полезными в способе уменьшения скорости роста опухоли и/или уменьшения размера опухоли у субъекта, имеющего опухоль, включающем введение эффективного количества соединения формулы (I); где указанное эффективное количество понижает регулирует ангиогенез опухоли (в особенности, путем уменьшения подвижности клеток эндотелия и/или выживаемости, и/или путем уменьшения экспрессии VEGF (фактор роста эндотелия сосудов)); и/или где указанное эффективное количество снижает выживаемость опухолевых клеток и/или индуцирует апоптоз опухолевых клеток (в особенности, путем ингибирования PI3K/AKT и MAPK сигнализации).

Соединения формулы (I), как определено в вариантах осуществления 1) - 7), в особенности, в комбинации с модулятором PGE2 рецепторов EP4 также являются полезными в способе модулирования иммунного ответа у субъекта, имеющего опухоль, включающем введение эффективного количества соединения формулы (I); где указанное эффективное количество реактивирует иммунную систему в опухоли указанного субъекта; где указанное эффективное количество активизирует цитотоксичность и продуцирование цитокинов естественных клеток-киллеров и/или цитотоксических Т-клеток.

### Экспериментальный раздел

#### I. Химия

Все температуры указаны в °С. Коммерчески доступные исходные вещества использовали в том виде, как они были получены, без дополнительной очистки. Если не указано иное, все реакции проводили в высушенной в сушильном шкафу стеклянной посуде в атмосфере азота. Соединения очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле или с помощью препаративной ВЭЖХ. Соединения, описанные в изобретении, характеризовали данными, полученными при выполнении ЖХ-МС (время удержания  $t_R$  приведено в мин; молекулярная масса, полученная из масс-спектра, приведена в г/моль), используя условия, перечисленные ниже. В случаях, когда соединения настоящего изобретения наблюдаются в виде смеси конформационных изомеров, что особенно заметно по их ЖХ-МС спектрам, приведено время удержания наиболее распространенного конформера.

Оборудование для аналитической ЖХ-МС:

ВЭЖХ насос: Бинарный градиентный насос, Agilent G4220A или эквивалентный

Автодозатор: Gilson LH215 (с инжектором Gilson 845z) или эквивалентный

Колоночное отделение: Dionex TCC-3000RS или эквивалентное

Дегазатор: Dionex SRD-3200 или эквивалентный

Подпиточный насос: Dionex HPG-3200SD или эквивалентный

ДМД: Agilent G4212A или эквивалентный

МС детектор: Одноквадрупольный масс-анализатор, Thermo Finnigan MSQPlus или эквивалентный

ИДСР: Sedere SEDEX 90 или эквивалентный

ЖХ-МС Метод А

Колонка: Zorbax SB-aq (3.5 мкм, 4.6×50 мм). Условия: MeCN [элюент А]; вода + 0.04% ТФУ [элюент В]. Градиент: 95% В → 5% В за 1,5 мин (поток: 4.5 мл/мин). Детектирование: УФ/Видим. + МС,  $t_R$  приведено в мин.

Оборудование для препаративной ВЭЖХ:

ВЭЖХ насос: Gilson 333/334, оснащенный Gilson LH215

Дегазатор: Dionex SRD-3200

Подпиточный насос: Dionex ISO-3100A

ДМД: Dionex DAD-3000

МС детектор: одноквадрупольный масс-анализатор, Thermo Finnigan MSQ Plus

Разделитель потока: MRA100-000

ИДСР: Polymer Laboratories PL-ELS 1000

Препаративная ВЭЖХ с основными условиями

Колонка: Waters XBridge (10 мкм, 75×30 мм). Условия: MeCN [элюент А]; вода + 0.5% NH<sub>4</sub>OH (25% водн.) [элюент В]; градиент см. табл. 1 (поток: 75 мл/мин), исходное процентное содержание элюента А (х) определяют в зависимости от полярности соединения, подвергаемого очистке. Детектирование: УФ/Видим. + МС

Таблица 1

| t (мин)      | 0     | 0.01  | 4.0 | 6.0 | 6.2   | 6.6   |
|--------------|-------|-------|-----|-----|-------|-------|
| Элюент А (%) | х     | х     | 95  | 95  | х     | х     |
| Элюент В (%) | 100-х | 100-х | 5   | 5   | 100-х | 100-х |

Препаративная ВЭЖХ с кислотными условиями

Колонка: Waters Atlantis ТЗ (10 мкм, 75×30 мм). Условия: MeCN [элюент А]; вода + 0.5% HCO<sub>2</sub>H [элюент В]; градиент см. табл. 2 (поток: 75 мл/мин), исходное процентное содержание элюента А (х) определяют в зависимости от полярности соединения, подвергаемого очистке. Детектирование: УФ/Видим. + МС

Таблица 2

| t (мин)      | 0     | 0.01  | 4.0 | 6.0 | 6.2   | 6.6   |
|--------------|-------|-------|-----|-----|-------|-------|
| Элюент А (%) | х     | х     | 95  | 95  | х     | х     |
| Элюент В (%) | 100-х | 100-х | 5   | 5   | 100-х | 100-х |

## Сокращения (применяемые выше или ниже):

|                   |                                                 |
|-------------------|-------------------------------------------------|
| водн.             | водный                                          |
| атм.              | атмосфера                                       |
| вос               | <i>трет</i> -бутилоксикарбонил                  |
| д                 | дни                                             |
| ДХМ               | дихлорметан                                     |
| DIPEA             | диизопропилэтиламин, основание Хюнига           |
| ДМФА              | диметилформамид                                 |
| ДМСО              | диметилсульфоксид                               |
| Et <sub>2</sub> O | диэтиловый эфир                                 |
| EtOAc             | этилацетат                                      |
| EtOH              | этанол                                          |
| Прим.             | пример                                          |
| ФХ                | флэш-хроматография на силикагеле                |
| ч                 | час(-ы)                                         |
| hept              | гептан(-ы)                                      |
| ВЭЖХ              | высокоэффективная жидкостная хроматография      |
| ЖХ-МС             | жидкостная хроматография – масс-спектрометрия   |
| Лит.              | литература                                      |
| MeCN              | ацетонитрил                                     |
| MeOH              | метанол                                         |
| мл                | миллилитр                                       |
| мин               | минута(-ы)                                      |
| МВ                | микроволновый(-ая)                              |
| Ph                | фенил                                           |
| PPh <sub>3</sub>  | трифенилфосфин                                  |
| преп.             | препаративный(-ая)                              |
| PM                | реакционная смесь                               |
| КТ                | комнатная температура                           |
| с                 | секунда(-ы)                                     |
| насыщ.            | насыщенный (если не указано иное: насыщ. водн.) |
| tBu               | <i>трет</i> -бутил = третичный бутил            |
| TEA               | триэтиламин                                     |
| ТФУ               | трифторуксусная кислота                         |
| ТГФ               | тетрагидрофуран                                 |
| ТСХ               | тонкослойная хроматография                      |
| t <sub>R</sub>    | время удержания                                 |
| трифлат           | трифторметансульфонат                           |

**А - Получение пиримидингалогенидных производных формулы (III)**

А.1. 6-Хлор-N-(2-(2-метил-1H-индол-1-ил)этил)пиримидин-4-амин.

К раствору 4,6-дихлорпиримидина (3.00 г, 20.1 ммоль) в 2-пропаноле (50 мл) при КТ добавляют 2-(2-метил-1H-индол-1-ил)этан-1-амин (3.68 г, 21.1 ммоль) и ТЕА (3.08 мл, 22.2 ммоль). Полученную в результате смесь нагревают в сосуде с обратным холодильником в течение 2 ч, затем дают охладиться до КТ и концентрируют при пониженном давлении. Остаток распределяют между насыщ. водн. раствором NaHCO<sub>3</sub> и EtOAc. Слои разделяют и водный слой экстрагируют еще раз с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывают водой, соевым раствором, сушат над MgSO<sub>4</sub>, фильтруют и раствори-

тель удаляют в вакууме, получая целевой продукт в виде желтого порошка (5.45 г, 94%). ЖХ-МС А:  $t_R = 0.87$  мин;  $[M+H]^+ = 287.13$ .

А.1.1. 2-(2-Метил-1Н-индол-1-ил)этан-1-амин.

К раствору 2-метилиндола (10.04 г, 75 ммоль) в толуоле (200 мл) добавляют гидрохлорид 2-хлор-этиламина (17.4 г, 150 ммоль), свежемельченый в порошок NaOH (21.00 г, 525 ммоль) и гидросульфат тетрабутиламмония (2.037 г, 6 ммоль). Полученную в результате смесь нагревают в сосуде с обратным холодильником и перемешивают в течение 17 ч. Затем ее охлаждают до КТ и фильтруют через фильтровальную бумагу. Остаток два раза растирают с толуолом и фильтруют. Фильтрат концентрируют при пониженном давлении и остаток очищают с помощью ФХ, используя градиент ДХМ/MeOH, от 100:0 до 95:5. После концентрирования содержащих продукт фракций указанное в заголовке соединение (13.2 г, 99%) получают в виде желтой смолы: ЖХ-МС А:  $t_R = 0.54$  мин;  $[M+H]^+ = 175.31$ .

А.2. 1-(2-((6-Хлорпиримидин-4-ил)амино)этил)-1Н-индол-2-карбонитрил.

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с синтезом А.1., описанным выше, используя 2,2,2-трифторацетат 2-(2-циано-1Н-индол-1-ил)этан-1-аминия; ЖХ-МС А:  $t_R = 0.85$  мин;  $[M+H]^+ = 298.05$ .

А.2.1. 2,2,2-Трифторацетат 2-(2-циано-1Н-индол-1-ил)этан-1-аминия.

Раствор трет-бутил (2-(2-циано-1Н-индол-1-ил)этил)карбамата (2.08 г, 6.56 ммоль) в ДХМ (20 мл) обрабатывают ТФУ (20 мл) и РМ перемешивают в течение 1 ч при КТ. Растворители удаляют в вакууме. Остаток три раза растирают в Et<sub>2</sub>O с получением указанного в заголовке соединения в виде бежевого порошка (1.56 г, 81%). ЖХ-МС А:  $t_R = 0.82$  мин;  $[M+H]^+ = 186.25$ .

А.2.2. трет-Бутил (2-(2-циано-1Н-индол-1-ил)этил)карбамат.

К раствору 1Н-индол-2-карбонитрила (0.80 г, 5.63 ммоль) в ДМФА (25 мл) порциями добавляют NaH (0.27 г, 6.75 ммоль), и РМ перемешивают при КТ в течение 15 мин. По каплям добавляют раствор N-Вос-2-бромэтиламина (1.30 г, 5.63 ммоль) в ДМФА (10 мл), и РМ нагревают до 85°C и перемешивают при этой температуре в течение 17 ч, затем охлаждают до КТ и распределяют между Et<sub>2</sub>O и H<sub>2</sub>O. Водный слой повторно экстрагируют с помощью Et<sub>2</sub>O (×3). Объединенные органические слои сушат над MgSO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения в виде коричневого масла. ЖХ-МС А:  $t_R = 0.90$  мин;  $[M+H+Вос]^+ = 186.27$ .

А.3. 6-Хлор-N-(2-(2,7-диметил-1Н-индол-1-ил)этил)пиримидин-4-амин.

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с синтезом А.1., описанным выше, используя 2-(2-метил-1Н-индол-1-ил)этан-1-амин; ЖХ-МСА:  $t_R = 0.91$  мин;  $[M+H]^+ = 301.19$ .

А.3.1. 2-(2-Метил-1Н-индол-1-ил)этан-1-амин.

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с синтезом А.1.1., описанным выше, используя 2,7-диметилиндол; ЖХ-МС А:  $t_R = 0.58$  мин;  $[M+H]^+ = 189.26$ .

### **В - Получение примеров**

Общая методика А: сочетание Сузуки с использованием Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>

Смесь соответствующего пиримидингалогенидного производного (II) (0.15 ммоль), 4-карбоксихлорбензойной кислоты (0.18 ммоль) и 2М К<sub>2</sub>СО<sub>3</sub> (0.3 мл, 0.6 ммоль) в этаноле (3 мл) продувают с помощью аргона, добавляют тетракис-(трифенилфосфин)-палладий (0.0075 ммоль) и РМ нагревают при 90°C в течение ночи. Альтернативно, реакцию можно выполнить в микроволновом приборе при 120°C в течение 10-30 мин. РМ фильтруют через 0.45 мкм стеклянный микроволоконный фильтр, промывают смесью EtOH/MeCN и ДМФА. Фильтрат очищают либо с помощью препаративной ВЭЖХ, либо с помощью ФХ. Альтернативно, его разбавляют водой, при необходимости корректируют pH и экстрагируют (3×) с помощью EtOAc. Объединенные органические экстракты сушат (MgSO<sub>4</sub>) и концентрируют при пониженном давлении. Остаток очищают с помощью препаративной ВЭЖХ или с помощью ФХ.

Пример 1. 4-{6-[2-(2-Метилиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с общей методикой А, описанной выше, используя 6-хлор-N-(2-(2-метил-1Н-индол-1-ил)этил)пиримидин-4-амин (А.1.), в виде не совсем белого твердого вещества; ЖХ-МС А:  $t_R = 0.67$  мин;  $[M+H]^+ = 373.09$ .

Пример 2. 4-{6-[2-(2-Цианоиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с общей методикой А, описанной выше, используя 1-(2-((6-хлорпиримидин-4-ил)амино)этил)-1Н-индол-2-карбонитрил (А.2.), в виде белого твердого вещества; ЖХ-МС А:  $t_R = 0.56$  мин;  $[M+H]^+ = 384.16$ .

Пример 3. 4-{6-[2-(2,7-Диметилиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с общей методикой А, описанной выше, используя 6-хлор-N-(2-(2,7-диметил-1Н-индол-1-ил)этил)пиримидин-4-амин (А.3.), в виде бледно-желтого твердого вещества; ЖХ-МС А:  $t_R = 0.69$  мин;  $[M+H]^+ = 386.92$ .

Пример 4. 4-{6-[2-(2-Хлориндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота

В МВ-пробирку загружают трет-бутил 4-(6-((2-(2-оксоиндолин-1-ил)этил)амино)пиримидин-4-ил)бензоат (200 мг, 0.465 ммоль), ДХМ (3 мл) и РОСl<sub>3</sub> (0.0848 мл, 0.929 ммоль), ее укупоривают и перемешивают при нагревании с обратным холодильником в течение 6 ч. РМ охлаждают до 0°C и осторожно

гасят 32% NaOH до основного значения pH, затем осторожно добавляют дополнительное количество воды. Водный слой экстрагируют с помощью ДХМ (×3). Органические слои промывают солевым раствором, сушат над MgSO<sub>4</sub>. Фильтруют и концентрируют при пониженном давлении. Добавляют MeOH и растворитель удаляют при пониженном давлении. Остаток растворяют в этаноле (2 мл) и H<sub>2</sub>O (1 мл), добавляют моногидрат гидроксида лития (101 мг, 2.38 ммоль) и смесь нагревают при 105°C в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтруют через 0.45 мкм стеклянный микроволоконный фильтр и очищают с помощью основной преп. ВЭЖХ с получением сырого указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (16 мг, 9%). ЖХ-МС А: t<sub>R</sub> = 0.69 мин; [M+H]<sup>+</sup> = 393.13.

а) трет-Бутил 4-(6-((2-(2-оксоиндолин-1-ил)этил)амино)пиримидин-4-ил)бензоат

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с общей методикой А, описанной выше, используя 1-(2-((6-хлорпиримидин-4-ил)амино)этил)индолин-2-он и 4-трет-бутоксикарбонилфенилбороновую кислоту; ЖХ-МС А: t<sub>R</sub> = 0.75 мин; [M+H]<sup>+</sup> = 431.07.

б) 1-(2-((6-Хлорпиримидин-4-ил)амино)этил)индолин-2-он

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с синтезом А.1. описанным выше, используя 1-(2-аминоэтил)индолин-2-он; ЖХ-МС А: t<sub>R</sub> = 0.70 мин; [M+H]<sup>+</sup> = 289.13.

Пример 5. 4-{6-[2-(2-Броминдол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойная кислота

В МВ-пробирку загружают этил 4-(6-((2-(2-оксоиндолин-1-ил)этил)амино)пиримидин-4-ил)бензоат (60 мг, 0.149 ммоль), ДХМ (2 мл) и РОВ<sub>3</sub> (64 мг, 0.224 ммоль), ее укупоривают и перемешивают при нагревании с обратным холодильником в течение 1 ч. РМ охлаждают до КТ, добавляют имидазол (12.3 мг, 0.179 ммоль), и РМ нагревают в сосуде с обратным холодильником в течение 48 ч. РМ охлаждают и осторожно гасят насыщ. водн. NaHCO<sub>3</sub> и экстрагируют с помощью ДХМ (×3). Органические слои промывают солевым раствором, сушат над MgSO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют при пониженном давлении. Остаток растворяют в этаноле (2 мл) и H<sub>2</sub>O (1 мл), добавляют моногидрат гидроксида лития (35 мг, 0.83 ммоль) и смесь нагревают в сосуде с обратным холодильником в течение ночи. Реакционную смесь фильтруют через 0.45 мкм стеклянный микроволоконный фильтр и очищают с помощью основной преп. ВЭЖХ с получением сырого указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (1 мг, 1%). ЖХ-МС А: t<sub>R</sub> = 0.69 мин; [M+H]<sup>+</sup> = 438.85.

а) Этил 4-(6-((2-(2-оксоиндолин-1-ил)этил)амино)пиримидин-4-ил)бензоат

Указанное в заголовке соединение получают в соответствии с общей методикой А, описанной выше, используя 1-(2-((6-хлорпиримидин-4-ил)амино)этил)индолин-2-он (пример 4-б) и 4-этоксикарбонилфенилбороновую кислоту; ЖХ-МС А: t<sub>R</sub> = 0.69 мин; [M+H]<sup>+</sup> = 402.94.

#### Биологические анализы in vitro

Значения антагонистической активности соединений формулы (I) на EP2 и EP4 рецепторы определяют в соответствии со следующими экспериментальными методами.

В анализе используют PathHunter™ HEK 293 PTGER2 и PTGER4 b-аррестинные клеточные линии от DiscoverX. Система основана на процедуре комплементации фрагментов фермента. Два комплементарных фрагмента фермента b-галактозидазы экспрессируют в стабильно трансфицированных клетках. Большую часть b-гал, называемую АФ - акцептором фермента, конденсируют с С-концом b-аррестина 2. Меньший фрагмент, называемый ProLink™ маркером, конденсируют с PTGER2 (EP2) или PTRGER4 (EP4) по С-концу. При активации b-аррестин рекрутируется, что запускает взаимодействие ProLink и АФ, позволяя комплементацию двух фрагментов b-гал и образование функционального фермента, который способен гидролизовать субстрат и генерировать хемилуминесцентный сигнал.

Анализ на основе hEP2 b-аррестина:

HEK 293 PTGER2 b-аррестинные клетки (DiscoverX 93-021-4C1) отделяют от чашек для культивирования буфером для диссоциации клеток (Invitrogen, 13151-014) и собирают в среде для роста (CP: DMEM + GlutaMax-I (Invitrogen 32430)/10% FCS, 1% пенициллина/стрептомицина). Высевают 5000 клеток на лунку 384 луночного планшета (белый с белым дном, Greiner 781080) в 20 мкл CP на лунку. Планшет инкубируют при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 24 ч.

Базовые растворы тестируемых соединений готовят с концентрацией 10 мМ в ДМСО и серийно разбавляют в ДМСО до концентраций, необходимых для кривых зависимости "доза ингибирования-эффект" (интервал тестируемых концентраций: 10 мкМ - 2 нМ или 1 мкМ - 0.2 нМ).

PGE2 (Сауман 14010, базовый раствор: 10 мМ в ДМСО) используют в качестве агониста при конечной концентрации 5 мкМ, соответствующей EC80.

5 микролитров разбавленных соединений переносят в аналитический планшет. Планшет предварительно инкубируют в течение 15 мин при 37°C. Затем пять микролитров PGE2 (конечная конц. 5 мкМ) переносят в аналитический планшет. Планшет инкубируют 120 мин при 37°C.

Компоненты набора для детектирования PathHunter Glo оттаивают и смешивают в соответствии с инструкциями производителя: 1 часть субстрата Galacton Star с 5 частями раствора Emerald ИТМ и 19 частями аналитического буфера PathHunter Cell, соответственно. 12 мкл реагента переносят в аналитический планшет и инкубируют в течение 1 ч при комнатной температуре в темноте. Импульсы люминесценции считывают на ридере BMG Fluostar Optima в соответствии с инструкциями производителя.

Для каждой концентрации соединения рассчитывают процентное значение активности в сравнении с контрольным значением ДМСО в виде среднего  $\pm$  STDEV (каждую концентрацию измеряют в двух повторностях).

IC<sub>50</sub> значения и кривые генерируют посредством программного обеспечения XLfit (IDBS), используя модель Dose-Response One Site model 203. Когда соединения были измерены несколько раз, приведены средние значения.

#### **Анализ на основе hEP4 b-аррестина:**

НЕК 293 PTGER4 b-аррестиновые клетки (DiscoverX 93-030-4C1) отделяют от чашек для культивирования буфером для диссоциации клеток (Invitrogen, 13151-014) и собирают в среде для роста (CP: DMEM + Glutamax-I (Invitrogen 32430)/10% FCS, 1% пенициллина/стрептомицина). Высевают 5000 клеток на лунку 384 луночного планшета (белый с белым дном, Greiner 781080) в 20 мкл CP на лунку. Планшет инкубируют при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 24 ч.

Базовые растворы тестируемых соединений приготавливают с концентрацией 10 мМ в ДМСО и серийно разбавляют в ДМСО до концентраций, необходимых для кривых зависимости "доза ингибирования-эффект" (интервал тестируемых концентраций: 10 мкМ - 2 нМ или 1 мкМ - 0.2 нМ).

PGE2 (Сауман 14010, базовый раствор: 100 мкМ в ДМСО) используют в качестве агониста при конечной концентрации 20 нМ, соответствующей EC80.

Пять микролитров разбавленных соединений переносят в аналитический планшет. Планшет предварительно инкубируют в течение 15 мин при 37°C. Затем пять микролитров PGE2 (конечная конц. 20 нМ) переносят в аналитический планшет. Планшет инкубируют 120 мин при 37°C.

Компоненты набора для детектирования PathHunter Glo оттаивают и смешивают в соответствии с инструкциями производителя: 1 часть субстрата Galacton Star с 5 частями раствора Emerald ИТМ и 19 частями аналитического буфера PathHunter Cell, соответственно. 12 мкл реагента переносят в аналитический планшет и инкубируют в течение 1 ч при комнатной температуре в темноте. Импульсы люминесценции считывают на ридере BMG Fluostar Optima в соответствии с инструкциями производителя.

Для каждой концентрации соединения рассчитывают процентное значение активности в сравнении с контрольным значением ДМСО в виде среднего  $\pm$  STDEV (каждую концентрацию измеряют в двух повторностях).

IC<sub>50</sub> значения и кривые генерируют посредством программного обеспечения XLfit (IDBS), используя модель Dose-Response One Site model 203. Когда соединения были измерены несколько раз, приведены средние значения.

Значения антагонистической активности соединений формулы (I) на EP2 и EP4 рецепторы также определяют в соответствии со следующим экспериментальным методом.

Используют линии человеческих опухолевых клеток, эндогенно экспрессирующих либо EP4, либо EP2, и контролируют накопление cAMP в клетках при PGE2 стимуляции. Клетки SF295 глиобластомы экспрессируют высокие эндогенные уровни EP2 и не экспрессируют EP4, в то время как клетки BT549 рака молочной железы экспрессируют высокие эндогенные уровни EP4 и очень низкие уровни EP2.

В качестве метода детектирования cAMP используют HTRF (гомогенная флуоресценция с временным разрешением), работающая с набором Cisbio (HTRF cAMP dynamic 2 kit 20'000 tests Cisbio Cat. #62AM4PECS), который основан на конкурентном иммуноанализе с использованием криплат-меченого анти-cAMP антитела и d2-меченого cAMP. Нативный cAMP, продуцируемый клетками, или немеченый cAMP (для стандартной кривой) конкурирует с экзогенно добавленным d2-меченым cAMP (акцептор) за связывание с моноклональным антителом анти-cAMP-Eu3<sup>+</sup> криплат (донор). Сигнал FRET (резонансный перенос энергии флуоресценции) получают только в том случае, если меченое анти-cAMP антитело связывает d2 меченый cAMP, таким образом, специальный сигнал (т.е. перенос энергии) обратно пропорционален концентрации cAMP в стандарте или образце.

#### **Анализ на основе hEP2 cAMP:**

Клетки SF295 (NCI/№ 0503170) отделяют от чашек для культивирования буфером для диссоциации клеток (Invitrogen, 13151-014) и собирают в среде для роста (CP: RPMI1640 (Invitrogen 21875)/10% FCS, 1% пенициллина/стрептомицина). Клетки подсчитывают, промывают и ресуспендируют в аналитическом буфере (АБ; HBSS, 20 мМ HEPES, 0.2% BSA; 2 мМ IBMX). 4'000 клеток в 5 мкл АБ высевают на лунку небольшого объема 384 луночного планшета (черный с плоским дном, Greiner 784076).

Базовые растворы тестируемых соединений приготавливают с концентрацией 10 мМ в ДМСО и серийно разбавляют в ДМСО до концентраций, необходимых для кривых зависимости "доза ингибирования-эффект" (интервал тестируемых концентраций: 30 мкМ - 0.4 нМ; 30 мкМ - 0.015 нМ или 1 мкМ - 0.01 нМ).

PGE2 (Сауман 14010, базовый раствор: 75 мкМ в ДМСО) используют в качестве агониста при конечной концентрации 75 нМ, соответствующей EC80.

2.5 мкл разбавленного соединения переносят в аналитический планшет. Планшет предварительно инкубируют в течение 45 мин при комнатной температуре. Вслед за этим в аналитический планшет переносят 2.5 мкл PGE2 (конечная конц. 75 нМ). Планшет инкубируют 30 мин при комнатной температуре.

Добавляют 5 мкл каждого реагента, донора (анти-cAMP криптан) и акцептора (cAMP-d2) и планшет инкубируют еще 1 ч при комнатной температуре в темноте и затем считывают с использованием ридера BMG LABTECH PHERAstar (возбуждение: 337 нм, эмиссия: 620 и 665 нм).

Полученные дельта F (флуоресценция) значения (665 нм/620 нм) пересчитывают в % cAMP значения с использованием измерений cAMP калибратора, поставляемого в комплекте. Для каждой концентрации соединения рассчитывают процентное cAMP в сравнении с контрольным значением ДМСО в виде среднего  $\pm$  STDEV (каждую концентрацию измеряют в двух повторностях).

IC<sub>50</sub> значения и кривые генерируют посредством программного обеспечения XLfit (IDBS), используя модель Dose-Response One Site model 203. Когда соединения были измерены несколько раз, приведены средние значения.

#### Анализ на основе hEP4 cAMP:

Клетки BT549 (NCI/№ 0507282) отделяют от чашек для культивирования буфером для диссоциации клеток (Invitrogen, 13151-014) и собирают в среде для роста (CP: RPMI1640 (Invitrogen 21875)/10% FCS, 1% пенициллина/стрептомицина). Клетки подсчитывают, промывают и ресуспендируют в аналитическом буфере (АБ; HBSS, 20 mM HEPES, 0.2% BSA; 2 mM IBMX). 4'000 клеток в 5 мкл АБ высевают на лунку небольшого объема 384 луночного планшета (черный с плоским дном, Greiner 784076).

Базовые растворы тестируемых соединений приготавливают с концентрацией 10 mM в ДМСО и серийно разбавляют в ДМСО до концентраций, необходимых для кривых зависимости "доза ингибирования-эффект" (интервал тестируемых концентраций: 30 мкМ - 0.4 нМ; 30 мкМ - 0.015 нМ или 1 мкМ - 0.01 нМ).

PGE2 (Cauman 14010, базовый раствор: 6 мкМ в ДМСО) используют в качестве агониста при конечной концентрации 6 нМ, соответствующей EC80.

2.5 мкл разбавленного соединения переносят в аналитический планшет. Планшет предварительно инкубируют в течение 45 мин при комнатной температуре. Вслед за этим в аналитический планшет переносят 2.5 мкл PGE2 (конечная конц. 6 нМ). Планшет инкубируют 30 мин при комнатной температуре. Добавляют 5 мкл каждого реагента, донора (анти-cAMP криптан) и акцептора (cAMP-d2) и планшет инкубируют еще 1 ч при комнатной температуре в темноте и затем считывают с использованием ридера BMG LABTECH PHERAstar (возбуждение: 337 нм, эмиссия: 620 и 665 нм).

Полученные дельта F (флуоресценция) значения (665 нм/620 нм) пересчитывают в % cAMP значения с использованием измерений cAMP калибратора, поставляемого в комплекте. Для каждой концентрации соединения рассчитывают процентное cAMP в сравнении с контрольным значением ДМСО в виде среднего  $\pm$  STDEV (каждую концентрацию измеряют в двух повторностях).

IC<sub>50</sub> значения и кривые генерируют посредством программного обеспечения XLfit (IDBS), используя модель Dose-Response One Site model 203. Когда соединения были измерены несколько раз, приведены средние значения.

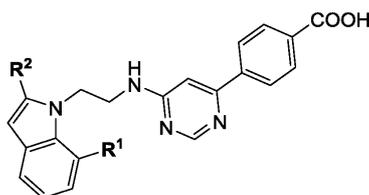
Значения антагонистической активности иллюстративных соединений представлены в табл. 3.

Таблица 3

| Прим. | hEP2 бета-аррестин IC <sub>50</sub> [нМ] | hEP2 cAMP IC <sub>50</sub> (нМ) | hEP4 бета-аррестин IC <sub>50</sub> (нМ) | hEP4 cAMP IC <sub>50</sub> (нМ) |
|-------|------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------|
| 1     | 13                                       | 15                              | 5970                                     | 5718                            |
| 2     | 11                                       | 10                              | 2059                                     | 1350                            |
| 3     | 8                                        | 5                               | 11020                                    | 5660                            |
| 4     | 3                                        | 2                               | 2965                                     | 2615                            |
| 5     | 17                                       |                                 | 4973                                     |                                 |

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

##### 1. Соединение формулы (I)



Формула (I),

где R<sup>1</sup> представляет собой водород или метил;

R<sup>2</sup> представляет собой метил, бром, хлор или циано;

- или его фармацевтически приемлемая соль.
2. Соединение по п.1, где  $R^1$  представляет собой водород; или его фармацевтически приемлемая соль.
3. Соединение по п.1, где  $R^1$  представляет собой метил; или его фармацевтически приемлемая соль.
4. Соединение по любому из пп.1-3, где  $R^2$  представляет собой метил; или его фармацевтически приемлемая соль.
5. Соединение по любому из пп.1-3, где  $R^2$  представляет собой хлор; или его фармацевтически приемлемая соль.
6. Соединение по любому из пп.1-3, где  $R^2$  представляет собой циано; или его фармацевтически приемлемая соль.
7. Соединение по п.1, выбранное из группы, состоящей из:  
4-{6-[2-(2-метилиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойной кислоты;  
4-{6-[2-(2-цианоиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойной кислоты;  
4-{6-[2-(2,7-диметилиндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойной кислоты;  
4-{6-[2-(2-хлориндол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойной кислоты; и  
4-{6-[2-(2-броминдол-1-ил)этиламино]пиримидин-4-ил}бензойной кислоты;  
или его фармацевтически приемлемая соль.
8. Фармацевтическая композиция, модулирующая PGE2 рецептор EP2, содержащая в качестве активного начала соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один терапевтически инертный наполнитель.
9. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного средства, которое является модулятором PGE2 рецептора EP2.
10. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для предотвращения или лечения заболеваний, выбранных из группы, состоящей из злокачественного новообразования; боли; эндометриоза; аутосомно-доминантной поликистозной болезни почек; пневмонии и нейродегенеративных заболеваний.
11. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для предотвращения или лечения злокачественного новообразования, выбранного из меланомы; рака легких; рака мочевого пузыря; карцином почек; злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта; рака эндометрия; рака яичников; рака шейки матки и нейробластомы.
12. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства для предотвращения или лечения заболеваний, выбранных из группы, состоящей из злокачественного новообразования; боли; эндометриоза; аутосомно-доминантной поликистозной болезни почек; пневмонии и нейродегенеративных заболеваний.
13. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения злокачественного новообразования, где указанное злокачественное новообразование печат путем модуляции иммунного ответа, включающего реактивацию иммунной системы в опухоли.
14. Способ модулирования иммунного ответа у субъекта, имеющего опухоль, включающий введение эффективного количества соединения формулы (I) по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли; где указанное эффективное количество реактивирует иммунную систему в опухоли указанного субъекта.
15. Способ профилактики или лечения злокачественного новообразования; боли; эндометриоза; аутосомно-доминантной поликистозной болезни почек; пневмонии и нейродегенеративных заболеваний; включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы (I) по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли.

