

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 039764

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.03.11

(21) Номер заявки
202090115

(22) Дата подачи заявки
2018.06.28

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СОЛЬ N-(2,6-ДИЭТИЛФЕНИЛ)-8-({4-[4-(ДИМЕТИЛАМИНО)ПИПЕРИДИН-1-ИЛ]-2-МЕТОКСИФЕНИЛ}АМИНО)-1-МЕТИЛ-4,5-ДИГИДРО-1Н-ПИРАЗОЛО[4,3-Н]ХИНАЗОЛИН-3-КАРБОКСАМИДА, ЕЕ ПОЛУЧЕНИЕ И ПРЕПАРАТЫ, КОТОРЫЕ ЕЕ СОДЕРЖАТ

(31) 17305826.4

(32) 2017.06.29

(33) EP

(43) 2020.05.31

(86) PCT/EP2018/067394

(87) WO 2019/002454 2019.01.03

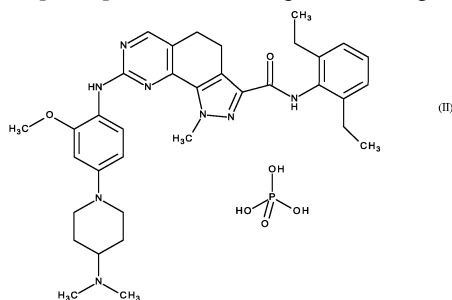
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НЕРВИАНО МЕДИКЛ САЙЕНСИЗ
С.Р.Л. (IT)

(72) Изобретатель:
Дзампьерни Массимо, Кальдарелли
Марина, Кандиани Илария, Д'Анелло
Маттео, Д'Аразмо Джермано (IT)

(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) EP-A1-2303891

(57) Новый N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-б]хиназолин-3-карбоксамид фосфат формулы (II)

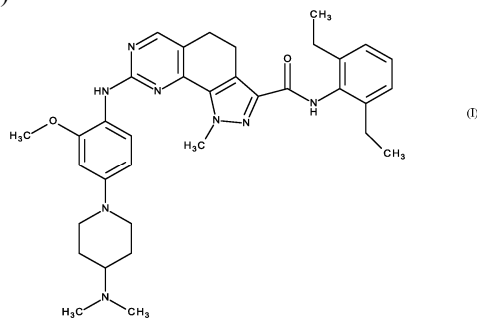


039764 B1

039764

B1

Настоящее изобретение относится к новой соли N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида формулы (I)



к способу ее получения, а также к фармацевтическим композициям, которые ее содержат.

N-(2,6-Диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида имеет очень ценные фармакологические свойства в области онкологии. Фактически было продемонстрировано, что N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида имеет способность ингибировать MPS1 (монополярное веретено 1) киназу, также известную как ТТК (тирозин- и серин/треониназа). Указанная способность обеспечивает терапевтическую пользу на молекулярном уровне при лечении нескольких разновидностей раковых заболеваний, нарушений пролиферации клеток, вирусных инфекций, аутоиммунных и нейродегенеративных нарушений. Среди раковых заболеваний, предполагаемых для лечения, можно упомянуть, не подразумевая какого-либо ограничения, карциному, такую как карцинома мочевого пузыря, молочной железы, толстой кишки, почки, печени, легкого, включая мелкоклеточный рак легкого, пищевода, желчного пузыря, яичника, поджелудочной железы, желудка, шейки матки, щитовидной железы, предстательной железы и кожи, включая плоскоклеточную карциному; опухоли кроветворной ткани лимфоидного происхождения, включая лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, волосатоклеточную лимфому и лимфому Беркитта; опухоли кроветворной ткани миелоидного происхождения, включая острые и хронические миелогенные лейкозы, миелодиспластический синдром и промиелоцитарный лейкоз; опухоли мезенхимального происхождения, включая фибросаркому и рабдомиосаркому; опухоли центральной и периферической нервной системы, включая астроцитому, нейробластому, глиому и невриному; другие опухоли, включая меланому, семиному, тератокарциному, остеосаркому, пигментную ксеродерму, кератоксантому, фолликулярный рак щитовидной железы и саркому Капоши, мезотелиому, опухоли с высокой степенью анеуплоидии и опухоли, которые сверхэкспрессируют компоненты контрольных точек митоза, такие как MPS1, MAD2, MAD1, BUB1, BUBR1, BUB3 и другие.

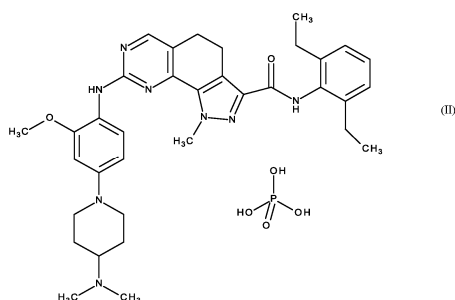
Среди нарушений пролиферации клеток, предполагаемых для лечения, можно упомянуть, не подразумевая какого-либо ограничения, доброкачественную гиперплазию простаты, семейный аденоматозный полипоз, нейрофиброматоз, псориаз, пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, связанную с атеросклерозом, фиброз легких, артрит, гломерулонефрит и послеоперационный стеноз и рестеноз.

Получение и терапевтическое применение N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида были описаны, например, в описании Европейского патента EP 2303891, содержание которого включено в эту заявку посредством ссылки.

Принимая во внимание фармацевтическую ценность указанного соединения, важно иметь возможность получать активное соединение с отличным выходом, с высокой чистотой и с отличной воспроизводимостью. Более того, принимая во внимание внутривенный способ введения, также важно иметь очень хорошие свойства растворимости. Буквально сразу было обнаружено, что основание, описанное в предыдущем уровне техники, демонстрирует проблемы с очищением, что приводит к неоптимальной чистоте, также демонстрирует слабую растворимость. После многочисленных исследований, удалось выявить новую соль, сочетающую различные преимущества, особенно, относящиеся к очищению, к воспроизводимости способа ее получения и к выходу, а также неожиданно имеющую преимущество очень значительного улучшения растворимости активного соединения. Более того, хотя она и является намного более растворимой в воде, указанная новая соль не демонстрирует более высокой гигроскопичности, чем свободное основание. Соответственно, указанная новая соль имеет все качества, необходимые для ее применения в качестве лекарственного средства, как с физико-химической, так и с фармакокинетической точки зрения.

Соответственно, настоящее изобретение относится к новой соли N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида, в частности к N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-

метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-б]хиназолин-3-карбоксаимд фосфату формулы (II)



Указанная новая соль имеет следующие преимущества: простой и воспроизводимый способ ее получения с отличным выходом; высокая химическая чистота, и низкая гигроскопичность; повышенная растворимость как в воде, так и в физиологической сыворотке, что повышает интерес к ней в качестве соли для внутривенного введения.

Изобретение также относится к способу получения N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-б]хиназолин-3-карбоксаимд фосфата.

Например, можно начать с исходного материала этил 8-[(4-бром-2-метоксифенил)амино]-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-б]хиназолин-3-карбоксилата, полученного в ЕР 2303891, который вступает в реакцию с 2,6-диэтиланилином в присутствии сильного основания, в результате чего получают 8-[(4-бром-2-метоксифенил)амино]-N-(2,6-диэтилфенил)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-б]хиназолин-3-карбоксаимд, который затем вступает в реакцию с N,N-диметилпиперидин-4-амином с получением соединения формулы (I), которое затем смешивают с 1-2 экв. раствора H_3PO_4 , в результате чего получают N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-б]хиназолин-3-карбоксаимд фосфат формулы (II).

Соединение формулы (II) в соответствии с изобретением имеет хорошую стабильность в динамике по времени в денатурирующих условиях (40°C/75% относительной влажности (ОВ)):

	t_0	1 месяц при 40 °C / 75 % ОВ в открытом флаконе
Химическая чистота фосфатной соли формулы (II) в %	99,5	99,4

При этом было установлено, что новая соль в соответствии с изобретением имела также улучшенные свойства растворимости: в предварительном испытании, образование соли *in situ* из аморфного основания при комнатной температуре показало, что фосфатная соль обладает способностью улучшать растворимость по меньшей мере в 25 раз больше, чем хлористоводородная соль, и по меньшей мере в 24000 раз больше, чем свободное основание:

Соединение	Расчетная концентрация раствора в воде (мг/мл в виде свободного основания)	Растворимость	
		1 час	24 часа
Свободное основание	10,0	<0,001	<0,001
Соль HCl <i>in situ</i>	27,6	1,05	0,87
Фосфатная соль <i>in situ</i>	27,5	>24,3	>24,7

Дальнейшие исследования с использованием кристаллической формы I фосфатной соли формулы (II) показали растворимость при комнатной температуре, составляющую по меньшей мере 130 мг/мл, в пересчете на свободное основание как в воде, так и в 0,9% NaCl:

Соединение	Растворитель	Расчетная концентрация раствора в воде или NaCl (мг/мл в виде свободного основания)	Растворимость	
			1 час	24 часа
Свободное основание	вода	10,0	<0,001	<0,001

Фосфатная соль	вода	150,0	87,5	130,2
Фосфатная соль	0,9 % NaCl	150,0	81,0	133,6

Во время сравнительного исследования соли было выявлено, что фосфатная соль значительно улучшает растворимость лекарственного вещества, обладая при этом низкой склонностью к гигроскопичности, как было продемонстрировано с помощью динамической сорбции паров, что показано ниже:

	Поглощение воды при 30 % ОВ	Поглощение воды при 60 % ОВ	Поглощение воды при 90 % ОВ
Свободное основание	0,4	1	2,8
Фосфатная соль	0,4	1,0	2,5

В преимущественном альтернативном варианте последняя стадия способа, применяемого для получения соединения формулы (II), может выполняться в органическом растворителе и, в частности, в полярном растворителе, таком как, например, ТГФ (тетрагидрофуран), EtOH, MeOH, (1- или 2-) пропанол, (1- или 2-) бутанол, трет-бутанол, 2-метоксиэтанол, диоксан, этилацетат, изопропилацетат, ацетонитрил, ацетон, МТВЕ (метил-трет-бутиловый эфир), МВК (метилизобутилкетон), ДМСО (диметилсульфоксид) и их смеси.

В этом случае, полученное соединение формулы (II) характеризуется полиморфной формой, которую называют Форма I.

Указанная новая Форма I характеризуется следующими брегговскими углами 2 тета (выраженными в °±0,2), полученными в соответствии с рентгеновской порошковой дифрактограммой: 2,76, 8,10, 10,79, 13,49, 16,13, 17,37, 17,62, 19,77, 21,94, 24,18, 24,66.

В другом преимущественном альтернативном варианте последнюю стадию способа, применяемого для получения соединения формулы (II), выполняют в воде, что приводит к получению новой гидратированной полиморфной формы, которую называют Форма II.

Указанная новая Форма II характеризуется следующими брегговскими углами 2 тета (выраженными в °±0,2), полученными в соответствии с рентгеновской порошковой дифрактограммой: 9,43, 9,86, 12,23, 13,70, 14,81, 18,01, 19,78, 20,73, 24,55, 24,82, 26,81.

Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим в качестве действующего вещества соединение формулы (II) в соответствии с изобретением, вместе с одним или большим количеством инертных, нетоксичных, подходящих вспомогательных веществ. Среди фармацевтических композиций в соответствии с изобретением можно упомянуть, в частности, те композиции, которые являются подходящими для перорального, парентерального (внутривенного или подкожного) или назального введения, в частности, таблетки или драже, гранулы, сублингвальные таблетки, капсулы, пастилки для рассасывания, суппозитории, кремы, мази, гели для нанесения на кожу, препараты для инъекций, питьевые суспензии и жевательные резинки.

Лекарственные формы, содержащие соединение формулы (II) в соответствии с изобретением, будут применяться при лечении раковых заболеваний, нарушений пролиферации клеток, вирусных инфекций, аутоиммунных и нейродегенеративных нарушений. Среди раковых заболеваний, предполагаемых для лечения, можно упомянуть, не подразумевая какого-либо ограничения, карциному, такую как карцинома мочевого пузыря, молочной железы, толстой кишки, почки, печени, легкого, включая мелкоклеточный рак легкого, пищевода, желчного пузыря, яичника, поджелудочной железы, желудка, шейки матки, щитовидной железы, предстательной железы, и кожи, включая плоскоклеточную карциному; опухоли кроветворной ткани лимфоидного происхождения, включая лейкоз, острый лимфоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, волосатоклеточную лимфому и лимфому Беркитта; опухоли кроветворной ткани миелоидного происхождения, включая острые и хронические миелогенные лейкозы, миелодиспластический синдром и промиелоцитарный лейкоз; опухоли мезенхимального происхождения, включая фибросаркому и рабдомиосаркому; опухоли центральной и периферической нервной системы, включая астроцитому, нейробластому, глиому и невриному; другие опухоли, включая меланому, семиному, тератокарциному, остеосаркому, пигментную ксеродерму, кератоксантому, фолликулярный рак щитовидной железы и саркому Капоши, мезотелиому, опухоли с высокой степенью анеуплоидии и опухоли, которые сверхэкспрессируют компоненты контрольных точек митоза, такие как MPS1, MAD2, MAD1, BUB1, BUBR1, BUB3 и другие.

Среди нарушений пролиферации клеток, предполагаемых для лечения, можно упомянуть, не подразумевая какого-либо ограничения, доброкачественную гиперплазию простаты, семейный аденоматозный полипоз, нейрофиброматоз, псориаз, пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, связанную с атеросклерозом, фиброз легких, артрит, гломерулонефрит и послеоперационный стеноз и рестеноз.

Подходящие дозы могут варьироваться в зависимости от природы и тяжести нарушения, пути введения, а также от возраста и веса пациента. Доза варьируется от 1 мг до 1 г в день, в пересчете на эквива-

лент свободного основания, за один или несколько приемов.

Краткое описание фигур

Фиг. 1 описывает рентгеновскую дифрактограмму аморфной формы свободного основания N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида.

Фиг. 2 описывает рентгеновскую дифрактограмму формы I N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида фосфата.

Фиг. 3 описывает ДСК диаграмму формы I N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида фосфата.

Фиг. 4 описывает рентгеновскую дифрактограмму формы II N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида фосфата.

Фиг. 5 описывает ДСК диаграмму формы II N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида фосфата.

Приведенные ниже примеры иллюстрируют изобретение, но никоим образом не ограничивают его.

Пример 1. N-(2,6-Диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида фосфат, форма I

Стадия А: 8-[(4-бром-2-метоксифенил)амино]-N-(2,6-диэтилфенил)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида

К раствору, содержащему 2,32 кг 8-[(4-бром-2-метоксифенил)амино]-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида в 34,8 л ТГФ, добавляют 0,877 л 2,6-диэтиланилина. Затем капля по капле при температуре -10°C добавляют 15,2 л LiHMDS. Реакционную смесь перемешивают на протяжении 1,5 ч и до завершения добавляют LiHMDS. Затем добавляют 30,17 л раствора NaCl, органическую фазу промывают дважды с использованием раствора NaCl и выпаривают. Затем к остатку добавляют раствор воды/ацетона и раствор нагревают с обратным холодильником, затем охлаждают при температуре 5°C. Осадок затем фильтруют, в результате чего получают указанный в заголовке продукт в виде светло-желтого порошка.

Точка плавления: 218-220°C

MS расщ.: 561,1608; MS выявленное: 561,1591

Стадия Б: N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида фосфат, Форма I

0,55 кг 8-[(4-бром-2-метоксифенил)амино]-N-(2,6-диэтилфенил)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида, полученного на стадии А, загружают в химический реактор с 6 л ТГФ. К перемешиваемой смеси, при комнатной температуре в атмосфере азота добавляют 3,3 г ацетата палладия и 13,7 г RuPhos в 3,9 л ТГФ.

0,15 кг 4-диметиламинопиперидина добавляют к реакционной смеси с 0,55 л ТГФ, внутреннюю температуру повышают до 50°C, и капля по капле добавляют 3,9 л 1M LiHMDS в ТГФ.

Реакционную смесь перемешивают при температуре 50°C на протяжении 4,5 часа, и затем охлаждают до комнатной температуры. Добавляют 12 л воды; фазы разделяют и водную фазу один раз экстрагируют с использованием 7 л МТВЕ.

Органические фазы промывают рассолом и затем дважды экстрагируют с использованием 10 %-го водного раствора лимонной кислоты. Фазы лимонной кислоты объединяют, и добавляют смесь МТВЕ/ТГФ в соотношении 2/1. Двухфазную смесь охлаждают до 10°C и добавляют 35%-й водный NaOH до достижения pH 9. Органическую фазу отделяют и обрабатывают смолой SPM32 при кипячении с обратным холодильником. Смолу отфильтровывают, промывая смесью МТВЕ/ТГФ в соотношении 2/1, и растворитель частично выпаривают. Добавляют абсолютный этанол и выпаривают; процедуру повторяют, и затем добавляют 12 л абсолютного этанола. Полученный раствор нагревают при температуре 60°C и капля по капле добавляют раствор 67 мл 85%-ой H₃PO₄, смешанной с 0,6 л абсолютного EtOH. Раствор выдерживают до тех пор, пока он не уменьшится приблизительно наполовину, и при этом образуется осадок. Суспензию нагревают до появления конденсата (78,0°C) на протяжении 18 мин и затем охлаждают до 23°C в течение 1 ч и 25 мин. Суспензию далее охлаждают до 5°C в течение 1 ч и выдерживают при температуре 5°C на протяжении 22,5 ч. Указанное в заголовке соединение выделяют с помощью фильтрования; влажный фильтрационный осадок промывают с использованием 2,5 л абсолютного EtOH, и сушат в условиях вакуума при температуре 50°C до получения постоянной массы. Указанное в заголовке соединение получают в виде желтого порошка.

Точка плавления с разложением 220-223°C.

Пример 2: N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида фосфат, Форма I

Стадия А: N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид (свободное основание)

Раствор, содержащий 213 мг Pd(OAc)₂ и 897 мг RuPhos в 177 мл ТГФ, добавляют к 21,53 г 8-[(4-бром-2-метоксифенил)амино]-N-(2,6-диэтилфенил)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида, полученного на стадии А Примера 1, в 250 мл ТГФ, при комнатной температуре в атмосфере азота. Смесь нагревают до температуры 40°C, после чего последовательно добавляют 152 мл LiHMDS 1M в ТГФ и 10,7 мл N,N-диметилпиперидин-4-амина. Реакцию выдерживают при температуре 40°C на протяжении 2,5 ч, а затем охлаждают до комнатной температуры. Затем добавляют 300 мл рассола, и отделившуюся органическую фазу промывают, используя 200 мл рассола.

Органическую фазу обрабатывают 2,8 г активированного угля; смесь фильтруют на дикалитовой панели, выпаривают до сухого состояния и очищают посредством хроматографии на силикагелем, элюируя смесью DCM/EtOH/NH₃ в соотношении 95:5:0.5. Объединенные фракции выпаривают до остатка, растворяют в EtOAc, промывают пять раз насыщенным раствором бикарбоната натрия и водой, а затем выпаривают до сухого состояния. Продукт сушат в сушильной камере при температуре 50°C на протяжении 7 ч и при температуре 40°C на протяжении 64 ч. Свободное основание получают в виде аморфного желтого порошка и характеризуют посредством его рентгеновской дифрактограммы (см. фиг. 1).

Стадия Б: N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид фосфат, Форма I

3,50 г N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамида в виде аморфного свободного основания, полученного на стадии А, в 105 мл абсолютного этанола нагревают до 60°C в атмосфере азота. К указанной смеси добавляли капля по капле свежеполученный раствор 0,682 г 85%-й фосфорной кислоты в 17,5 мл этанола на протяжении периода времени, составляющего 20 мин, в условиях эффективного перемешивания. Полученную суспензию нагревали с обратным холодильником (температура бани 82-84°C) на протяжении 5 мин, затем ей давали самопроизвольно остыть до комнатной температуры на протяжении периода времени, составляющего 2 ч и, наконец, выдерживали при температуре +4°C на протяжении 16 ч. Твердое вещество выделяли с помощью фильтрования, промывали с использованием 17,5 мл этанола на фильтре, и сушили при температуре +50°C в условиях вакуума на протяжении 10 ч, в результате чего получали указанное в заголовке соединение в виде желтого порошка.

Точка плавления с разложением 220-223°C.

Указанный в заголовке продукт N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид фосфат, Форма I Примеров 1 и 2, характеризуется посредством рентгеновской порошковой дифрактограммы, которую получали, применяя аппарат Thermo/ARL XTRA, и показанной на фиг. 2.

Указанный прибор основан на геометрии Брэгга-Брентано, и оборудован генератором излучения Cu K α , работающим при 45 кВ/40 мА (мощность 1,8 кВт), и твердотельным детектором с охлаждением посредством эффекта Пельтье. Спектральный диапазон составлял от 2 до 40° 2 θ с непрерывным сканированием, полученным со скоростью 1,20° 2 θ /мин. Образцы загружали на кремниевые малофонные пластины. Порошок выравнивали внутри держателя посредством осторожного спрессовывания с помощью предметного стекла микроскопа или других подходящих инструментов.

Результаты представлены в виде межплоскостного расстояния d, брэгговского угла 2 тета (выраженного в °±0,2) и относительной интенсивности (выраженной в процентах относительно наиболее интенсивной линии):

Пол. [$^{\circ}2\theta$]	Межплоскостное расстояние [Å]	Отн. инт. [%]
2,76	31,96	100,00
8,10	10,90	37,71
10,79	8,19	27,69
13,49	6,56	35,45
14,70	6,02	17,98
14,79	5,98	12,17
15,26	5,80	15,02
15,47	5,72	15,26
15,75	5,62	11,11
16,13	5,49	57,81
16,45	5,38	15,80
17,37	5,10	22,52
17,62	5,03	34,76
17,80	4,98	27,97
18,17	4,88	13,67
19,77	4,49	20,09
20,35	4,36	13,56
21,94	4,05	24,02
22,25	3,99	10,35
23,61	3,77	19,98
23,94	3,71	16,75
24,18	3,68	26,62
24,41	3,64	15,16
24,66	3,61	25,6
25,00	3,56	16,06

Брэгговские углы 2θ (выраженные в $\pm 0,2$), характерные для рентгеновской порошковой дифрактограммы, являются следующими: 2,76, 8,10, 10,79, 13,49, 16,13, 17,37, 17,62, 19,77, 21,94, 24,18, 24,66.

Указанное в заголовке соединение примеров 1 и 2, также было охарактеризовано посредством его диаграммы ДСК, которую получали на аппарате Perkin-Elmer DSC-7, используя вентилируемые алюминиевые ДСК тигли объемом 50 мкл, на которые загружали примерно 2-4 мг образца. Алюминиевый диск помещали поверх порошка, получая тонкий слой и улучшая теплообмен. Эталонном был пустой тигель того же вида. Индий, олово и свинец (LGC -аттестованные эталонные материалы) применяли для проверки калибровки аппарата относительно температурной шкалы и отклика энтальпии. Образцы анализировали в потоке азота со скоростью нагрева, составляющей $10^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. Начальные и максимальные температуры ($^{\circ}\text{C}$) обычно считались значимыми параметрами.

Полученная диаграмма показана на фиг. 3, где начало плавления составляет 229°C .

Пример 3. N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид фосфат, тетрагидрат, Форма II

304 мг соединения, полученного на стадии А примера 2, загружают в трехгорлую круглодонную колбу объемом 25 мл и добавляют 12 мл воды при комнатной температуре. Полученную суспензию перемешивают при нагревании до температуры $61-62^{\circ}\text{C}$; pH составляет примерно 5,3. После 1 ч перемешивания, добавляют 35,9 мкл H_3PO_4 плюс 5 мл воды и почти сразу же все содержимое переходит в раствор, и pH снижается до 3,1. Раствор нагревают до 70°C на протяжении 1 ч, для того чтобы обеспечить полное растворение, pH= 3,2. Нагревательную баню удаляют, и сосуд оставляют охлаждаться до комнатной температуры, затем перемешивали на протяжении 2 ч. Сосуд охлаждают до 5°C , оставляя его в холодильнике на протяжении ночи, что приводит к выпадению из раствора желтого осадка. Твердое вещество оставляли для осаждения в смеси при комнатной температуре, и раствор супернатанта удаляли. Оставшееся твердое вещество сушили в сушильной камере при температуре 50°C в условиях вакуума на протяжении 18 ч. Указанное в заголовке соединение получали в виде желтого твердого вещества.

Широкая эндотерма дегидратации: $35-125^{\circ}\text{C}$

Экзотерма кристаллизации ($T_{\text{начала}}$): 190°C

Указанный в заголовке продукт характеризуется своей рентгеновской порошковой дифрактограммой, которую получали, применяя аппарат Thermo/ARL XTRA. Указанный прибор основан на геометрии Брэгга-Брентано, и оборудован генератором излучения $\text{Cu K}\alpha$, работающим при 45 кВ/40 мА (мощность 1,8 кВт), и твердотельным детектором с охлаждением посредством эффекта Пельтье. Спектральный диапазон составлял от 2 до $40^{\circ} 2\theta$ с непрерывным сканированием, полученным со скоростью $1,20^{\circ} 2\theta/\text{мин}$, что позволяет идентифицировать следующие параметры кристалла: параметры элементарной ячейки: $a = 13,866(2)$ Å; $b = 18,824(2)$ Å; $c = 7,2575(7)$ Å; $\alpha = 92,014(8)^{\circ}$; $\beta = 91,813(7)^{\circ}$; $\gamma = 107,294(8)^{\circ}$ группа симметрии кристаллической решетки: P-1 (2) (триклинная) Указанный в заголовке продукт было также ха-

рактизовали посредством его рентгеновской порошковой дифрактограммы, показанной на фиг. 4, которую получали, применяя аппарат Thermo/ARL XTRA. Указанный прибор основан на геометрии Брэгга-Брентано, и оборудован генератором излучения Cu K α , работающим при 45 кВ/40 мА (мощность 1,8 кВт), и твердотельным детектором с охлаждением посредством эффекта Пельтье. Спектральный диапазон составлял от 2 до 40° 2 θ с непрерывным сканированием, полученным со скоростью 1,20° 2 θ /мин. Образцы загружали на кремниевые малофонные пластины. Порошок выравнивали внутри держателя посредством осторожного спрессовывания с помощью предметного стекла микроскопа или других подходящих инструментов.

Результаты представлены в виде межплоскостного расстояния d, брэгговского угла 2 тета (выраженного в ° $\pm$ 0,2) и относительной интенсивностью (выраженной в процентах относительно наиболее интенсивной линии):

Пол. [°2Тета]	Межплоскостное расстояние [Å]	Отн. инт. [%]
7,03	12,57	11,00
9,43	9,37	56,04
9,86	8,97	19,21
12,23	7,23	22,55
13,47	6,57	17,30
13,70	6,46	27,62
14,08	6,29	17,19
14,23	6,19	12,02
14,81	5,98	100,00
15,36	5,77	11,17
17,49	5,07	17,11
18,01	4,92	30,83
18,70	4,74	12,02
19,78	4,48	52,48
20,73	4,28	26,92
22,85	3,89	15,52
23,80	3,74	13,98
24,55	3,62	21,43
24,82	3,58	53,06
25,91	3,44	15,20
26,81	3,32	25,51
27,16	3,28	10,01
27,56	3,23	12,10

Брэгговские углы 2 тета (выраженные в ° $\pm$ 0,2), характерные для рентгеновской порошковой дифрактограммы: 9,43, 9,86, 12,23, 13,70, 14,81, 18,01, 19,78, 20,73, 24,55, 24,82, 26,81.

Соединение примера 3 также было охарактеризовано посредством его диаграммы ДСК, которую получали на аппарате Perkin-Elmer ДСК-7, применяя вентилируемые алюминиевые ДСК тигли объемом 50 мкл, на которые загружали примерно 2-4 мг образца. Алюминиевый диск помещали поверх порошка, получая тонкий слой и улучшая теплообмен. Эталонном был а пустой тигель того же вида. Индий, олово и свинец (LGC -аттестованные эталонные материалы) применяли для проверки калибровки аппарата относительно температурной шкалы и отклика энтальпии. Образцы анализировали в потоке азота со скоростью нагрева, составляющей 10°С/мин. Начальные и максимальные температуры (°С) обычно считались значимыми параметрами.

Полученная диаграмма показана на фиг. 5.

Пример 4. Чистота и стабильность N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид фосфата Формы I в условиях долгосрочного хранения

Чистоту и стабильность N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид фосфата Формы I испытывали в условиях долгосрочного хранения следующим образом:

Испытание	Внешний вид	Общее количество примесей (%)	Лекарственное вещество (%)	Кристаллическая форма (рентгеноструктурный анализ)
t ₀	Желтый порошок	0,06	99,94	Форма I
1 месяц, 5 °C	Желтый порошок	0,06	99,94	Не испытана
1 месяц, 25 °C /60 % ОВ	Желтый порошок	0,07	99,93	Не испытана
3 месяца, 5 °C	Желтый порошок	0,07	99,93	Не испытана
3 месяца, 25 °C /60 % ОВ	Желтый порошок	0,07	99,93	Не испытана
9 месяцев, 5 °C	Желтый порошок	0,07	99,93	Не испытана
12 месяцев, 5 °C	Желтый порошок	0,06	99,94	Форма I
24 месяца, 5 °C	Желтый порошок	0,09	99,91	Форма I

Результаты показали, что N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид фосфат Формы I является стабильным по меньшей мере до 24 месяцев.

Пример 5. Растворимость N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид фосфата Формы I

Условия испытания: примерно 730 мг испытуемого соединения суспендировали в 4 мл ВДИ (воды для инъекций) или в растворе соли (0,9%-й NaCl), для того чтобы испытать расчетную растворимость 150 мг/мл в виде свободного основания. Суспензии перемешивали с использованием магнитной мешалки на протяжении 24 часов при комнатной температуре, и защищали от света во флаконе из янтарного стекла. Концентрации испытуемого соединения определяли по истечении 1 и 24 ч.

Все отобранные количества суспензии/раствора центрифугировали, и лучшие растворы анализировали посредством ВЭЖХ после фильтрования и разбавления.

Полученные результаты подытожены в следующей таблице:

Соединение	Растворитель	Расчетная концентрация раствора в воде или NaCl (мг/мл в виде свободного основания)	Растворимость	
			1 час (мг/мл в виде свободного основания)	24 часа (мг/мл в виде свободного основания)
Свободное основание	вода	10,0	<0,001	<0,001
Фосфатная соль	вода	150,0	87,5	130,2
Фосфатная соль	0,9 %-я NaCl	150,0	81,0	133,6

Пример 6. Измерение гигроскопичности N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-h]хиназолин-3-карбоксамид фосфата, Форма I

Испытуемое соединение подвергают испытанию на гигроскопичность посредством использования аппарата динамической сорбции паров (DVS 1000 -Surface Measurement Systems).

Аппарат коротко определяют, как "микровесы с контролируемой подачей газа", где взвешенный образец подвергается действию изменений относительной влажности (ОВ) при постоянной и контролируемой температуре. При этом анализировали точно взвешенное количество продукта (обычно 5-10 мг).

Результаты представлены в следующей таблице:

	Поглощение воды при 30 % ОВ	Поглощение воды при 60 % ОВ	Поглощение воды при 90 % ОВ
Свободное основание	0,4	1	2,8
Фосфатная соль	0,4	1,0	2,5

Пример 7. Фармацевтические композиции А.

Таблетки

1000 таблеток, каждая содержащая дозу 35 мг соединения Примера 1	100 г
Пшеничный крахмал	20 г
Кукурузный крахмал	20 г
Лактоза	30 г
Магния стеарат	2 г
Диоксид кремния	1 г
Гидроксипропилцеллюлоза	2 г

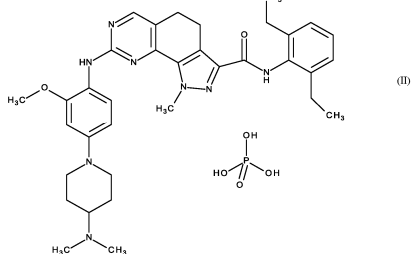
Б. Лиофилизаты во флаконах

Готовят нерасфасованный раствор, содержащий соединение примера 1, маннитол и Tween 80, затем лиофилизируют во флаконах, причем каждый содержит 35 мг соединения примера 1, 300 мг маннитола и 5 мг Tween 80.

При этом лиофилизат повторно суспендируют в 10 мл воды для инъекций.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-*b*]хиназолин-3-карбоксамид фосфат формулы (II)



2. Соединение по п.1, в виде кристаллической формы I, характеризующейся посредством ее рентгеновской порошковой дифрактограммы со следующими брэгговскими углами 2 тета (выраженными в $^{\circ}\pm 0,2$) 2,76, 8,10, 10,79, 13,49, 16,13, 17,37, 17,62, 19,77, 21,94, 24,18, 24,66.

3. Способ получения соединения формулы (II) по п.1 или 2, причем указанный способ включает проведение реакции исходного N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-*b*]хиназолин-3-карбоксамид с 1-2 экв. раствора H_3PO_4 в органическом растворителе.

4. Способ по п.3, где органический растворитель представляет собой EtOH.

5. Соединение по п.1, в виде кристаллической формы II, характеризующейся посредством ее рентгеновской порошковой дифрактограммы со следующими брэгговскими углами 2 тета (выраженными в $^{\circ}\pm 0,2$) 9,43, 9,86, 12,23, 13,70, 14,81, 18,01, 19,78, 20,73, 24,55, 24,82, 26,81.

6. Способ получения соединения формулы (II) по п.1 или 5, причем указанный способ включает проведение реакции исходного N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-*b*]хиназолин-3-карбоксамид с 1-2 экв. раствора H_3PO_4 в воде.

7. Фармацевтическая композиция, ингибирующая MPS1 (монополярное веретено 1) киназу, содержащая соединение формулы (II) по пп.1, 2 или 5 в сочетании с одним или большим количеством фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

8. Фармацевтическая композиция по п.7, где соединение формулы (II) представляет собой N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-*b*]хиназолин-3-карбоксамид фосфат Формы I.

9. Фармацевтическая композиция по п.7, где соединение формулы (II) представляет собой N-(2,6-диэтилфенил)-8-({4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил}амино)-1-метил-4,5-дигидро-1Н-пиразоло[4,3-*b*]хиназолин-3-карбоксамид фосфат Формы II.

10. Применение фармацевтической композиции по пп.7-9 для изготовления лекарственных средств, предназначенных для лечения раковых заболеваний.

11. Применение по п.10, где раковые заболевания выбраны из карцином, опухолей кроветворной ткани лимфоидного происхождения, опухолей кроветворной ткани миелоидного происхождения, опухолей мезенхимального происхождения, опухолей центральной и периферической нервной системы, меланомы, остеосаркомы и мезотелиомы.

12. Применение по п.11 для лечения карцином, выбранных из рака молочной железы, толстой кишки, почки, печени, легкого, мелкоклеточного рака легкого, рака яичника, поджелудочной железы, шейки матки, щитовидной железы, предстательной железы, кожи и плоскоклеточной карциномы; опухолей

кроветворной ткани лимфоидного происхождения, выбранных из острого лимфоидного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, В-клеточной лимфомы и Т-клеточной лимфомы; опухолей кроветворной ткани миелоидного происхождения, выбранных из острых миелогенных лейкозов и хронических миелогенных лейкозов; опухолей мезенхимального происхождения, выбранных из фибросаркомы и рабдомиосаркомы; и опухолей центральной и периферической нервной системы, выбранных из астроцитомы, нейробластомы и глиомы.

13. Комбинация, ингибирующая MPS1 (монополярное веретено 1) киназу, соединения формулы (II) по п.1 с противораковым средством, выбранным из генотоксичных веществ, митотических ядов и ингибиторов киназы.

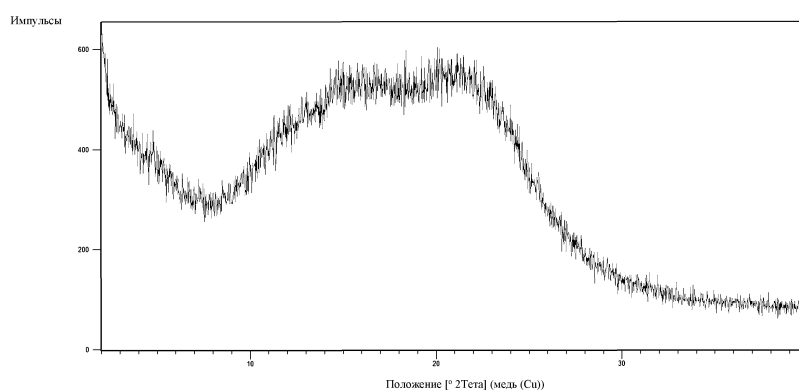
14. Комбинация по п.13, где противораковое средство выбрано из карбоплатина, цисплатина, производных таксола, винкристина, пеметрекседа, антител против запрограммированной гибели клеток 1 (PD1), азацитидина, мидостаурина, навитоклакса и эрлотиниба.

15. Комбинация по пп.13, 14, где соединение формулы (II) представляет собой N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксаимид фосфат Формы I.

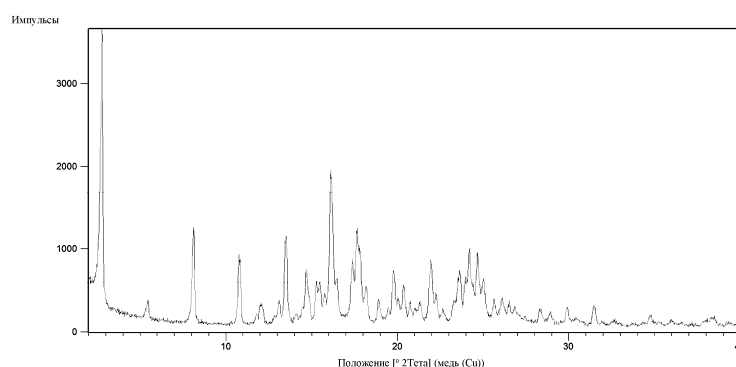
16. Комбинация по пп.13, 14, где соединение формулы (II) представляет собой N-(2,6-диэтилфенил)-8-(4-[4-(диметиламино)пиперидин-1-ил]-2-метоксифенил)амино)-1-метил-4,5-дигидро-1H-пиразоло[4,3-b]хиназолин-3-карбоксамид фосфат Формы II.

17. Применение комбинации по пп.13-16 для изготовления лекарственных средств, предназначенных для лечения раковых заболеваний.

18. Применение комбинации по пп.13-16 для изготовления лекарственных средств, предназначенных для лечения карциномы, опухолей кроветворной ткани лимфоидного происхождения, опухолей кроветворной ткани миелоидного происхождения и мезотелиомы.



Фиг. 1



Фиг. 2

