

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040599**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.06.30

(21) Номер заявки
201792355

(22) Дата подачи заявки
2016.05.03

(51) Int. Cl. *A61K 31/4706* (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
C07D 215/233 (2006.01)
C07D 215/42 (2006.01)

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ФОРМЫ 1-((4-(4-ФТОР-2-МЕТИЛ-1Н-ИНДОЛ-5-ИЛОКСИ)-6-МЕТОКСИХИНОЛИН-7-ИЛОКСИ)МЕТИЛ)ЦИКЛОПРОПАНАМИНА ИЛИ ЕГО СОЛИ В КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА**

(31) 62/156,734; 62/205,272; 15/143,630

(32) 2015.05.04; 2015.08.14; 2016.05.02

(33) US

(43) 2018.06.29

(86) PCT/US2016/030483

(87) WO 2016/179123 2016.11.10

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АДВЕНЧЕН ФАРМАСЬЮТИКАЛС,
ЛЛС; ЧЭН ГОЦИН ПОЛ (US)**

(72) Изобретатель:
Чэн Гоцин Пол, Янь Чанжэнь (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) CN-A-102344438
US-A1-20080227811
WO-A2-2008112408
WO-A1-2014130612
US-A1-20100093727
WO-A1-2014032019

(57) Настоящее изобретение относится к применению кристаллической формы 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина или кристаллической формы соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина, где указанная соль выбрана из бис-гидрохлоридной соли, моногидрата бис-гидрохлоридной соли, бис-малеиновой соли и янтарнокислой соли, для лечения рака яичника, шейки матки и эндометрия в комбинированной терапии с паклитакселом или карбоплатином/паклитакселом.

B1**040599****040599****B1**

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительных заявок на патент США № 62/156734, поданной 4 мая 2015 г., и № 62/205272, поданной 14 августа 2015 г.

Область техники

Настоящее изобретение относится к новому способу синтеза 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина (AL3818).

Получена стабильная кристаллическая форма AL3818. Также получены соли AL3818 и их кристаллические формы. Также были исследованы противораковая и оптометрическая активность соединения AL3818 и его солей.

Уровень техники

Структура 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина (AL3818) как ингибитора ангиогенеза и ряд способов его получения описаны в документе WO2008112407.

Краткое описание изобретения

Сокращения и определения

Для удобства использования применяются следующие сокращения со значениями, указанными ниже.

EtOH: этанол, MeOH: метанол, IPA: изопропанол, EtOAc: этилацетат, RT: комнатная температура, DIPEA: диизопропилэтиламин, DCM: дихлорметан, DMF: NN-диметилформамид, DMAP: 4-N,N-диметиламинопиридин, MsCl: метансульфохлорид, THF: тетрагидрофуран, TFA: трифторуксусная кислота, TEA: триэтиламин, Pd/C: палладий на активированном угле,

эк: эквивалент, г: грамм, мг: миллиграмм, мл: миллилитр, мин: минуты, bis=di: два или двойной.

ДСК (DSC): дифференциальная сканирующая калориметрия, TGA (TGA): термогравиметрический анализ, XRPD: порошковая рентгеновская дифракция, Экзо: экзотерма, Эндо: эндотерма.

ОЛЛ: острый лимфоцитарный или лимфобластный лейкоз, ХЛЛ: хронический лимфоцитарный или лимфобластный лейкоз, ОМЛ: острый миелоцитарный или миелобластный лейкоз, ХМЛ: хронический миелоцитарный или миелобластный лейкоз.

Термин "C₁-C₆-алкил" в контексте настоящего описания, если не указано иное, включает от 1 до 6 одновалентных радикалов насыщенных углеводородов, имеющих прямые или разветвленные фрагменты, включая, в том числе, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил и др.

Термин "C₁-C₆-алкокси" в контексте настоящего описания, если не указано иное, включает группы -OC₁-C₆-алкил, причем C₁-C₆-алкил в соответствии с указанным выше определением представляет собой метокси или этокси.

Объем притязаний согласно изобретению

Настоящее изобретение относится к применению кристаллической формы 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина или кристаллической формы соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина, где указанная соль выбрана из бис-гидрохлоридной соли, моногидрата бис-гидрохлоридной соли, бис-малеиновой соли и янтарнокислой соли, для лечения рака яичника, шейки матки и эндометрия в комбинированной терапии с паклитакселем или карбоплатином/паклитакселем, где:

указанная кристаллическая форма 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет по меньшей мере одну из следующих характеристик:

температура плавления 208°C-210°C;

диапазон температуры плавления согласно ДСК (эндо): 207-220°C с пиком при температуре 216°C, кривая представлена на фиг. 1;

термограмма TGA, согласно которой не происходит значительной потери массы до температуры 205-215°C, кривая представлена на фиг. 2;

порошковая рентгеновская дифрактограмма XRPD, представленная на фиг. 3, содержащая 10 характеристических пиков с интенсивностью более 10%, выраженная следующими значениями d и углов:

Угол	Значение d		Угол	Значение d
13,344	6,62986		20,650	4,29771
15,858	5,58405		21,633	4,10463
16,799	5,27326		23,087	3,84934
17,640	5,02377		25,128	3,54112
18,770	4,72373		26,607	3,34755

указанная кристаллическая форма бис-гидрохлоридной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму XRPD, представленную на фиг. 6, содержащую 21 характеристический пик с интенсивностью в % более 10%, или 27 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	7,640	11,56173	19,5	14	22,814	3,89483	11,2
2	8,642	10,22328	20	15	23,398	3,79886	11,6
3	9,361	9,43969	13,3	16	24,455	3,63702	76,6
4	10,091	8,75881	100,0	17	25,524	3,48708	34,6
5	13,740	6,43957	26,4	18	26,703	3,33576	21,7
6	14,479	6,11252	54,7	19	27,337	3,25978	18,4
7	15,186	5,82962	10,1	20	28,061	3,17732	18,5
8	15,766	5,61643	20,3	21	28,801	3,09732	6,3
9	17,206	5,14957	7,4	22	29,845	2,99133	13,8
10	18,569	4,77448	18,6	23	31,331	2,85271	7,1
11	19,271	4,60215	11,0	24	31,621	2,82721	9,5
12	20,041	4,42696	49,5	25	32,840	2,72504	10,5
13	22,211	3,99909	58,4	26	33,714	2,65632	3,8
				27	38,348	2,34534	9,6

указанная кристаллическая форма моногидрата бис-гидрохлоридной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму XRPD, представленную на фиг. 9, содержащую 9 характеристических пиков с интенсивностью в % более 10%, или 12 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	5,506	16,03679	28,0
2	6,817	12,95694	100
3	8,087	10,92445	29,9
4	9,766	9,04936	20,6
5	13,318	6,64283	22,3
6	14,332	6,17523	7,0
7	16,159	5,48067	15,7
8	19,474	4,55451	8,8
9	20,920	4,24296	6,5
10	20,920	3,87321	28,2
11	25,087	3,54678	20,2
12	25,874	3,44064	22,7

указанная кристаллическая форма бис-малеиновой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму XRPD, представленную на фиг. 12, содержащую 22 характеристических пика с интенсивностью более 10% или 35 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	6,716	13,14986	29,7	19	22,876	3,88434	5,8
2	8,816	10,02189	34,3	20	23,204	3,83021	19,0
3	9,743	9,07069	15,3	21	23,622	3,76332	78,4
4	10,033	8,80923	21,4	22	24,418	3,64247	6,3
5	11,777	7,50803	21,2	23	26,140	3,40621	87,0
6	13,418	6,59342	6,2	24	26,958	3,30469	26,5
7	14,816	5,97445	11,0	25	27,383	3,25443	61,3
8	16,089	5,50434	9,5	26	28,154	3,16697	41,5
9	16,801	5,27279	24,5	27	29,554	3,02013	6,8
10	17,360	5,10409	87,9	28	30,611	2,91815	23,7
11	17,179	5,15755	70,7	29	31,373	2,84906	14,3
12	18,190	4,87308	20,2	30	33,457	2,67620	6,7
13	18,704	4,74028	16,7	31	34,541	2,59465	2,8
14	19,296	4,59623	5,0	32	35,137	2,55199	3,8
15	19,920	4,45371	12,6	33	35,734	2,51067	2,5
16	20,824	4,26227	65,5	34	37,129	2,41949	8,6
17	21,457	4,13785	100,0	35	39,704	2,26833	3,9
18	22,411	3,96393	4,5				

указанная кристаллическая форма янтарнокислой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму XRPD, представленную на фиг. 15, содержащую 11 характеристических пиков с интенсивностью более 10% или 19 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	5,765	15,31849	12,9	11	23,167	3,83630	1,8
2	8,038	10,98994	7,4	12	24,085	3,69200	16,9
3	11,639	7,59700	27,7	13	24,485	3,63268	14,6
4	12,950 6	6,83065	100	14	25,737	3,45874	13,7
5	16,141 5	5,48683	18,0	15	28,621	3,11637	6,4
6	17,483 5	5,06848	18,7	16	29,255	3,05025	22,1
7	18,385	4,82175	17,8	17	31,357	2,85048	0,9
8	19,394	4,57325	1,1	18	31,967	2,79743	2,1
9	20,756	4,27609	13,4	19	35,630	2,51780	2,4
10	22,034	4,03092	2,8				

Описание чертежей

Фиг. 1. Кривая ДСК кристаллической формы 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 2. Кривая ТГА кристаллической формы 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 3. Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифракции XRPD кристаллической формы 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 4. Кривая ДСК кристаллической формы бис-гидрохлоридной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 5. Кривая ДСК кристаллической формы бис-гидрохлоридной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 6. Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифракции XRPD кристаллической формы бис-гидрохлоридной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина

Фиг. 7. Кривая ДСК кристаллической формы бис-гидрохлоридгидратной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 8. Кривая ДСК кристаллической формы бис-гидрохлоридгидратной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 9. Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифракции XRPD кристаллической формы бис-гидрохлоридгидратной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 10. Кривая ДСК кристаллической формы бис-малеиновой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 11. Кривая ТГА кристаллической формы бис-малеиновой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 12. Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифракции XRPD кристаллической формы бис-малеиновой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 13. Кривая ДСК кристаллической формы янтарнокислой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 14. Кривая ТГА кристаллической формы янтарнокислой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 15. Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифракции XRPD кристаллической формы янтарнокислой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Фиг. 16. Действие AL3818 и его солей на бестимусных мышей с ксенотрансплантатом рака эндометрия человека клеточной линии Ishikawa.

Фиг. 17. Действие солей AL3818 в комбинации с карбоплатином (CBX)/паклитакселом (Taxol) на бестимусных мышей с ксенотрансплантатом рака эндометрия человека клеточной линии Ishikawa.

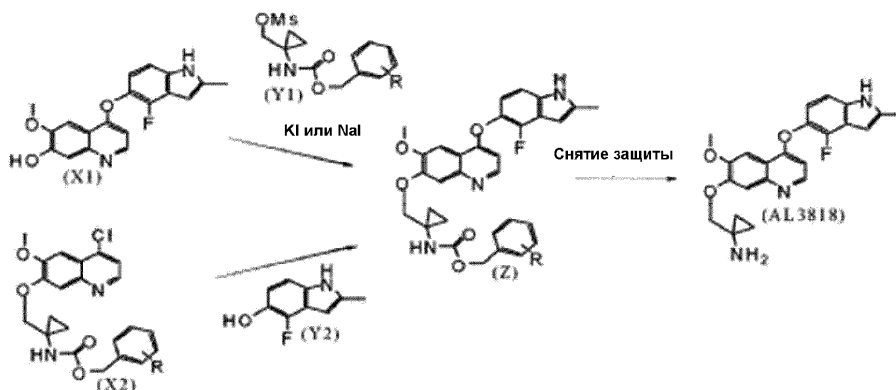
Фиг. 18. Действие AL3818 при пероральном введении на лазер-индуцированную хориоидальную неоваскуляризацию (laser-induced CNV).

Фиг. 19. Действие AL3818 (0,15 мг/кг массы тела) и интравитреального введения антитела против фактора роста эндотелия сосудов (anti-VEGF antibody) на лазер-индуцированную хориоидальную неоваскуляризацию (laser-induced CNV).

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к новому способу синтеза 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина (AL3818) путём конденсации промежуточного соединения (X1) с (Y1) в растворителе в присутствии KI или NaI, или промежуточного соединения (X2) с (Y2) в растворителе с получением промежуточного соединения (Z), с которого снимают защиту с получением конечного соединения (AL3818) на схеме 1.

Схема 1



При этом R выбран из H и C₁-C₆-алкокси, предпочтительно из H и -Ome.

Настоящее изобретение относится к получению стабильной кристаллической формы 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Настоящее изобретение относится к получению стабильных кристаллических форм солей 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Настоящее изобретение относится к солям бис-гидрохлоридной кислоты, бис-гидрохлоридгидратной, бис-малеиновой кислоты и янтарной кислоты, а также к стабильным кристаллическим формам этих кислот или стабильной кристаллической форме свободного основания 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина.

Настоящее изобретение относится к получению фармацевтической композиции, которая включает стабильную кристаллическую форму 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина и фармацевтически приемлемый носитель.

Настоящее изобретение относится к получению фармацевтической композиции, которая включает соли или стабильные кристаллические формы солей 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-меток-

сихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин и фармацевтически приемлемый носитель.

Настоящее изобретение относится к стабильной кристаллической форме или солям или стабильным кристаллическим формам солей 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин для способа лечения неопластического заболевания.

Настоящее изобретение относится к стабильной кристаллической форме или солям или стабильным кристаллическим формам солей 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин для применения для получения лекарственного средства для способа лечения неопластического заболевания.

Настоящее изобретение относится к стабильной кристаллической форме или солям или стабильным кристаллическим формам солей 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин для способа монотерапии или для комбинированной терапии с химиотерапевтическими агентами, выбранными из агентов на основе платины или таксана, для лечения солидных опухолей, выбранных из рака лёгких, почек, толстой кишки, желудка, кожи, головы/шеи, щитовидной железы, поджелудочной железы, печени, простаты, мочевого пузыря, мозга, молочной железы, яичника, шейки матки, эндометрия и саркомы; и рака крови, выбранного из ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ, ХМЛ и множественной миеломы.

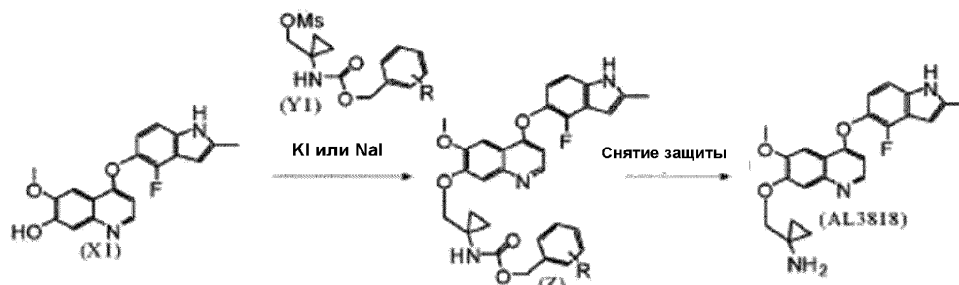
Настоящее изобретение относится к бис-гидрохлоридным, бис-гидрохлоридгидратным, бис-малеиновым, янтарнокислым солям и стабильным кристаллическим формам этих кислот или стабильной кристаллической форме свободного основания 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин для способа монотерапии или комбинированной терапии совместно с химиотерапевтическими агентами, выбранными из агентов на основе платины или таксана, для лечения солидных опухолей, выбранных из рака лёгких, почек, толстой кишки, желудка, меланомы, рака головы/шеи, щитовидной железы, поджелудочной железы, печени, простаты, мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы, яичника, шейки матки, эндометрия и саркомы; и рака крови, выбранного из ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ, ХМЛ и множественной миеломы.

Настоящее изобретение относится к бис-гидрохлоридным, бис-гидрохлоридгидратным, бис-малеиновым и янтарнокислым солям, и стабильным кристаллическим формам этих кислот или стабильной кристаллической форме свободного основания 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин для способа монотерапии или комбинированной терапии совместно с химиотерапевтическими агентами, выбранными из агентов на основе платины или таксана, для лечения рака лёгких, толстой кишки, желудка, щитовидной железы, поджелудочной железы, печени, простаты, молочной железы, яичника, шейки матки и эндометрия.

Настоящее изобретение относится к бис-гидрохлоридным, бис-гидрохлоридгидратным, бис-малеиновым, янтарнокислым солям и стабильным кристаллическим формам этих кислот или стабильной кристаллической форме свободного основания 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин для комбинированной терапии совместно с иммунотерапевтическими агентами, выбранными из PD-1 или PD-L1, SLAMF7, агентами для терапии онколитическими вирусами, привлекающими Т-клетки биспецифическими активаторами (BiTE) и агентами на основе химерных антигенных рецепторов (CAR) Т-клеток, такими как ниволумаб, пембролизумаб, ипилимумаб, блинатумаб, элотузумаб, даратумаб, талимоген лахерпарепевек для лечения солидных опухолей, выбранных из рака лёгких, почек, толстой кишки, желудка, меланомы, рака головы/шеи, щитовидной железы, поджелудочной железы, печени, простаты, мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы, яичника, шейки матки, эндометрия и саркомы; и рака крови, выбранного из ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ, ХМЛ и множественной миеломы.

Настоящее изобретение относится к новому способу синтеза 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин (AL3818) путём конденсации промежуточного соединения (X1) с (Y1) в растворителе в присутствии KI или NaI или промежуточного соединения (X2) с (Y2) в растворителе с образованием промежуточного соединения (Z), с которого снимают защиту с образованием конечного соединения (AL3818) в соответствии со способом А.

Способ А

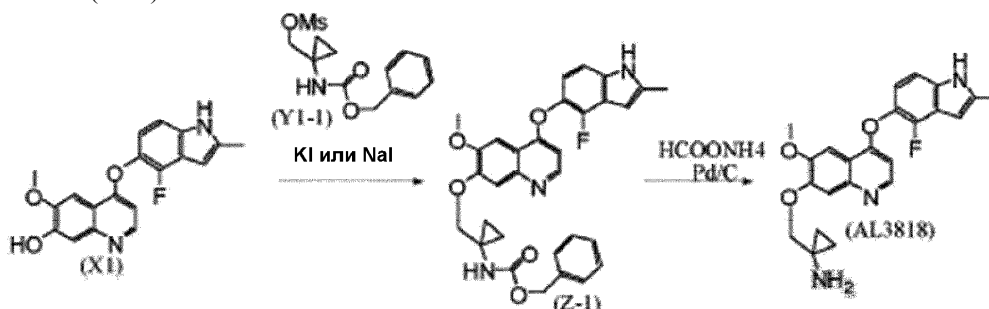


R выбран из H и C₁-C₆-алкокси.

Конечное соединение (AL3818) было получено в соответствии со способом A1, где R представляет

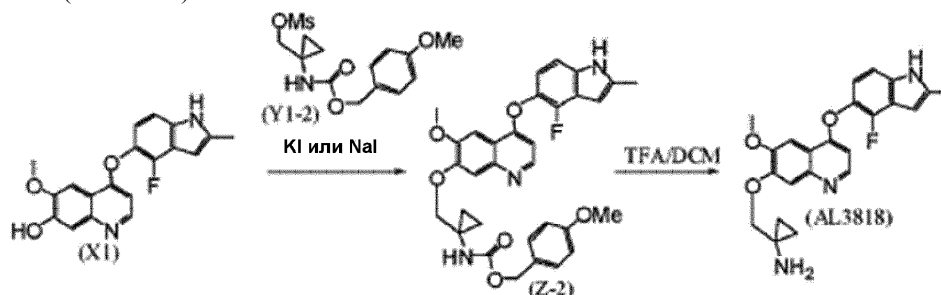
собой H, путем снятия защиты с промежуточного соединения (Z-1) с помощью HCOONH_4 (формиат аммония) и Pd/C в спиртовом растворителе, например MeOH, при температуре 25-80°C в течение 0,1-4 ч. Соединение (Z-1) было получено путем реакции промежуточного соединения (X1) с (Y1-1) в присутствии KI или NaI с K_2CO_3 в растворителе, например ацетоне или диметилфумарате, при температуре 60-160°C в течение 2-24 ч.

Способ A1 (R=H)



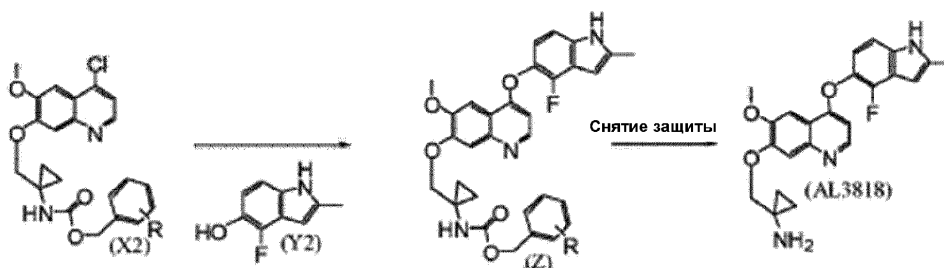
Конечное соединение (AL3818) было получено в соответствии со способом A2, где R представляет собой 4-OMe, путем снятия защиты с промежуточного соединения (Z-2) трифторуксусной кислотой в дихлорметане при температуре 0-30°C в течение 1-24 ч. (Z-2) получено путем реакции промежуточного соединения (X1) с (Y1-2) в присутствии KI или NaI с K_2CO_3 в растворителе, например ацетоне или диметилфумарате, при температуре 60-160°C в течение 2-24 ч.

Способ A2 (R=4-OMe)



Настоящее изобретение относится к новому способу синтеза 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамин (AL3818) путём реакции промежуточного соединения (X2) с (Y2) в растворителе с образованием промежуточного соединения (Z), с которого снимают защиту с получением конечного соединения (AL3818) в соответствии со способом B.

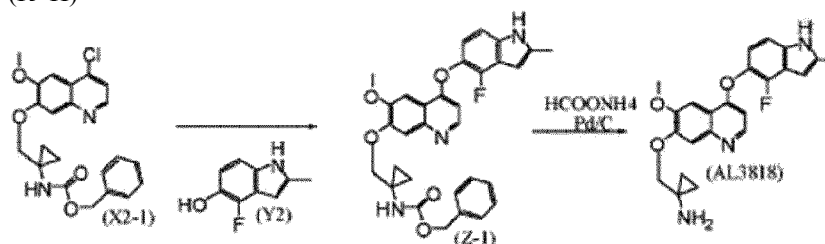
Способ B



R выбран из H и $\text{C}_1\text{-C}_6$ -алкокси.

Конечное соединение (AL3818) получено в соответствии со способом B1, где R представляет собой H, путем снятия защиты с промежуточного соединения (Z-1) с помощью HCOONH_4 (формиат аммония) и Pd/C в спиртовом растворителе, например MeOH, при температуре 25-80°C в течение 0,1-4 ч. (Z-1) получен в результате реакции промежуточного соединения (X2-1) с (Y2) в растворителе, например пиридине или лутидине, при температуре 60-160°C в течение 1-12 ч.

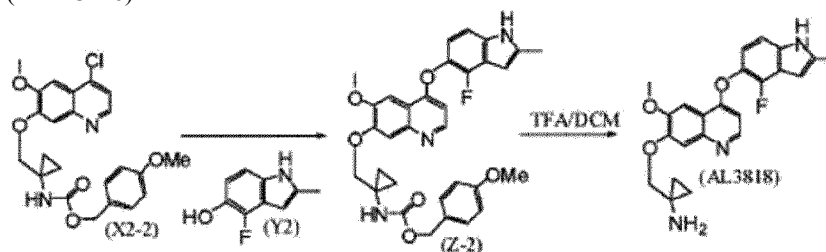
Способ B1 (R=H)



Конечное соединение (AL3818) было получено в соответствии со способом B2, где R представляет

собой 4-Оме, при депротекции промежуточного соединения (Z-2) с помощью трифторуксусной кислоты в дихлорметане при температуре 0-30°C в течение 1-24 ч. (Z-2) было получено путем реакции промежуточного соединения (X2-2) с (Y2) в растворителе, например пиридине или лутидине, при температуре 60-160°C в течение 1-12 ч.

Способ В2 (R=4-Оме)



Нижеприведённые примеры поясняют настоящее изобретение и не должны расцениваться как ограничивающие объем настоящего изобретения.

Пример 1

Описание способа А,

Способ А1. Способ получения 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина (AL3818).

К перемешанной смеси бензил-1-(гидроксиметил)циклопропилкарбамата (50 г) и дихлорметана (200 мл) добавляли диизопропилэтиламин (39 г). Полученный раствор охлаждали до 0-5°C льдом/водой и далее перемешивали при данной температуре в течение 15 мин. Добавляли метансульфонилхлорид (MsCl) (30 г) с помощью капельной воронки, сохраняя температуру ниже 5°C в течение 1,5 ч. После добавления MsCl полученную смесь перемешивали при температуре 0-5°C в течение 30 мин и гасили насыщенным раствором NaHCO₃ (150 мл). Раствор экстрагировали путём добавления 150 мл дихлорметана дважды. Смешанный слой дихлорметана промывали 0,1 N HCl (400 мл), затем соляным раствором. Сушили с помощью Na₂SO₄ и концентрировали до получения 60 г твердого вещества грязно-белого цвета, представляющего собой 1-(бензилоксикарбониламино)циклопропилметилметансульфонат (Y1-1), MS: (M+1) 300.

К перемешанной смеси (Y1-1) (16 г), X1 [(4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метокси-7-гидроксихинолина, 12 г], K₂CO₃ (21 г) и KI (21 г) добавляли диметилфумарат (100 мл), реакцию суспензию нагревали при 80°C в течение 10 ч, добавляли (Y1-1) (10 г) и продолжали нагревать при 80°C в течение 10 ч. Затем полученную смесь заливали водой (150 мл), экстрагировали 150 мл дихлорметаном дважды. Полученный слой дихлорметана промывали 2 N NaOH (100 мл), затем водой и соляным раствором. Сушили с помощью Na₂SO₄ и концентрировали, затем перекристаллизовывали от EtOH для получения жёлтого твёрдого вещества, представляющего собой бензил 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропилкарбамат (Z-1) 9,5 г. MS: (M+1) 542.

К перемешанной смеси (Z-1) (9,5 г), HCOONH₄ (4,7 г) и Pd/C (10%, влажность 50%, 4,7 г) добавляли MeOH, реакцию смесь нагревали при температуре 45°C в течение 1,5 ч. Охлаждали и отфильтровывали через целит, затем выпаривали. Добавляли 2N HCl (200 мл) и дважды экстрагировали с помощью дихлорметана/MeOH (10/1, 100 мл). Водный слой доводили 3N NaOH до значений pH 11-12 для получения твёрдого осадка. Твёрдый осадок фильтровали и промывали водой до нейтрального состояния и затем сушили в вакууме. Твёрдое вещество растворяли в смеси дихлорметан/MeOH (250 мл, 10/1), промывали водой и соляным раствором. Высушивали с помощью MgSO₄ и фильтровали, затем выпаривали до получения 5,5 г твёрдого неочищенного вещества светло-жёлтого цвета. Дальнейшую очистку проводили путём растворения неочищенного вещества в дихлорметане/MeOH (40 мл, 10/1) и измельчали в порошок в петролейном эфире (40 мл) в течение 2 ч при медленном перемешивании. Осадок фильтровали и сушили в печи до получения 4,4 г конечного кристаллического продукта (температура плавления: 203-208°C), который может быть далее очищен путём перекристаллизации от EtOH для получения более чистого окончательного вещества в той же кристаллической форме. MS: (M+1) 408; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 0,60-0,63 (d, 4H), 2,41 (s, 1H), 2,42-2,51 (t, 2H), 3,31 (s, 2H), 3,96 (s, 3H), 4,04 (s, 2H), 6,27 (s, 1H), 6,31-6,32 (m, 1H), 6,97-7,02 (t, 1H), 7,20-7,22 (d, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 8,40-8,42 (d, 1H), 11,41 (s, 1H). MP: 208-210°C; диапазон температур плавления по ДСК (эндо): 207-220°C с пиком при температуре 216°C. ТГА показал несольватированный материал с потерей массы при примерно 210°C (между 205-215°C).

Дифрактограмма, полученная методом XRPD, содержит 10 характеристических пиков с интенсивностью более 10%, выраженная следующими значениями d и углов:

Угол	Значение d		Угол	Значение d
13,344	6,62986		20,650	4,29771
15,858	5,58405		21,633	4,10463
16,799	5,27326		23,087	3,84934
17,640	5,02377		25,128	3,54112
18,770	4,72373		26,607	3,34755

Дифрактограмма, полученная методом XRPD, содержит 26 характеристических пиков с общей интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность (%)	№	Угол	Значение d	Интенсивность (%)
1	10,892	8,11623	2,1	14	25,128	3,54112	14,6
2	11,589	7,62991	6,1	15	25,669	3,46768	3,8
3	12,195	7,25174	5,9	16	26,607	3,34755	18,0
4	13,344	6,62986	36,2	17	26,607	3,34755	3,1
5	15,858	5,58405	31,5	18	29,050	3,07132	5,7
6	16,799	5,27326	77,9	19	29,797	2,99602	1,5
7	17,640	5,02377	18,8	20	30,681	2,91167	4,3
8	18,770	4,72373	11,9	21	31,853	2,80718	1,2
9	19,987	4,43884	7,2	22	33,524	2,67095	2,8
10	20,650	4,29771	42,0	23	34,789	2,57667	2,6
11	21,633	4,10463	15,3	24	35,873	2,50131	2,2
12	23,087	3,84934	100,0	25	37,391	2,40313	3,9
13	24,356	3,65157	3,5	26	38,637	2,32846	1,4

Кривые ДСК, ТГА и дифрактограмма XRPD представлены на фиг. 1, фиг. 2 и фиг. 3 соответственно.

Пример 2

Описание Способа А.

Способ А2. Способ получения 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина (AL3818).

Указанное соединение получали аналогично процессу получения (Z-1), описанному в примере 1, с использованием 4-метоксибензил 1-(гидроксиметил)циклопропилкарбамата сначала для получения (1-((4-метоксибензилокси)карбониламино)циклопропил)метил метансульфоната (Y1-2), затем для получения 4-метоксибензил 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропилкарбамата (Z-2), MS: (M+1) 572.

К перемешанной смеси (Z-2) (1,5 г) в дихлорметане (15 мл) при 0°C добавляли трифторуксусную кислоту (1,5 мл) в течение 30 мин и нагревали до комнатной температуры. Полученную в результате реакции смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и добавляли в воду (30 мл). Экстрагировали водный слой дихлорметаном дважды (100 мл × 2), затем доводили 2N NaOH до уровня pH 11-12. Смесь экстрагировали дихлорметаном (100 мл × 3), затем промывали соляным раствором (100 мл). Высушивали с помощью MgSO₄ и отфильтровывали. Выпаривали раствор до получения 1,05 г неочищенного конечного вещества. Затем очищали путём растворения неочищенного вещества в дихлорметане/MeOH, размельчали в порошок в петролейном эфире и высушивали в печи до получения 0,8 г чистого конечного вещества в такой же кристаллической форме.

Пример 3

Описание Способа А.

Способ В1.

Способ получения 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина (AL3818).

К смеси бензил-1-((4-хлор-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропил-карбамата (X2-1) (5 г), 4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-ол (Y2) (5 г) и диметиламинопиридина (4 г) добавляли 1,6-лутидин (15 мл). Полученную в результате реакции смесь взболтать и подогревать при 135°C в течение 5 ч, охлаждали, затем добавляли изопропиловый спирт, медленно перемешивали в течение 2 ч при комнатной темпера-

туре. Твёрдый осадок фильтровали, промывали изопропиловым спиртом, сушили до получения 5,2 г твёрдого вещества (Z-1). Затем по аналогии с процедурами снятия защиты, описанными в примере 1 для (Z-1), получали конечное соединение AL3818 в такой же кристаллической форме.

Пример 4

Описание Способа А.

Процесс В2. Способ получения 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина (AL3818).

(Z-2) получали по аналогии с процедурами, описанными в примере 3, с использованием 4-метоксифенил 1-((4-хлор-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропилкарбамата (X2-2) и (Y2). Затем по аналогии с процедурами снятия защиты с (Z-2), описанными в примере 2, получали конечное соединение AL3818 в такой же кристаллической форме.

Пример 5

Получение бис-гидрохлоридной кислой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина и её кристаллической формы.

В колбу 25 мл добавляли 250 мг свободного основания (AL3818), 4N HCl в диоксане 0,625 мл (2,5 ммоль, 4 эк.) в 10 мл EtOH, реакционную смесь нагревали при 75°C в течение 30 мин, охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Твёрдый осадок фильтровали и дважды промывали в ацетоне. Высушивали в печи при температуре 50°C в течение 4 ч, чтобы получить 126 мг твёрдого вещества белого цвета, представляющего собой бис-гидрохлоридную соль в кристаллической форме, которую затем перекристаллизовывали от EtOH для получения более чистого вещества в той же кристаллической форме. ¹H NMR(DMSO-d₆) δ 1,09-1,24 (m, 4H), 2,43 (s, 3H), 4,08 (s, 3H), 4,40 (s, 2H), 6,32 (s, 1H), 6,76 (s, 1H), 7,05-7,11 (t, 1H), 7,27-7,30 (d, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 8,64 (s, 2H), 8,70-8,73 (m, 1H), 11,51(s, 1H).

Хлорид-ионная хроматография показала 2 молекулярных соотношения ионов (16,1%). Диапазон температуры плавления согласно ДСК (экзо): 249-280°C с пиком при температуре 268°C. Кривая ТГА показала несольватированный материал с потерей массы при примерно 230°C (между 225-235°C).

Дифрактограмма, полученная методом XRPD, содержит 21 характеристический пик с интенсивностью более 10% или 27 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	7,640	11,56173	19,5	14	22,814	3,89483	11,2
2	8,642	10,22328	20	15	23,398	3,79886	11,6
3	9,361	9,43969	13,3	16	24,455	3,63702	76,6
4	10,091	8,75881	100,0	17	25,524	3,48708	34,6
5	13,740	6,43957	26,4	18	26,703	3,33576	21,7
6	14,479	6,11252	54,7	19	27,337	3,25978	18,4
7	15,186	5,82962	10,1	20	28,061	3,17732	18,5
8	15,766	5,61643	20,3	21	28,801	3,09732	6,3
9	17,206	5,14957	7,4	22	29,845	2,99133	13,8
10	18,569	4,77448	18,6	23	31,331	2,85271	7,1
11	19,271	4,60215	11,0	24	31,621	2,82721	9,5
12	20,041	4,42696	49,5	25	32,840	2,72504	10,5
13	22,211	3,99909	58,4	26	33,714	2,65632	3,8
				27	38,348	2,34534	9,6

Кривые ДСК, ТГА и дифрактограмма XRPD представлены на фиг. 4, фиг. 5 и фиг. 6, соответственно.

Пример 6

Получение бис-гидрохлоргидратной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метокси-хинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина и её кристаллической формы.

В колбу 10 мл помещали 140 мг соли 3818-2HCl, полученной согласно примеру 4 выше, и 0,7 мл (x5 с объёмом соли) 80% MeOH в H₂O. Получившуюся суспензию нагревали до 70°C до образования раствора, охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Твёрдый осадок фильтровали и промывали ацетоном дважды. Сушили в печи при 50°C в течение 4 ч до получения 110 мг твёрдого вещества грязно-белого цвета в кристаллической форме, представляющего собой бис-гидрохлорид-гидратную соль. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,09 (s, 2H), 1,22 (s, 2H), 2,44 (s, 1H), 2,52 (s, 2H), 4,09 (s, 3H), 4,44 (s, 2H), 6,32 (s, 1H), 6,81-6,82 (d, 1H), 7,08-7,14 (t, 1H), 7,29-7,32 (d, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 8,75-8,78 (d, 1H), 8,85 (s, 2H), 11,66 (s, 1H). Хлорид-ионная хроматография показала 2 молекулярных соотношения ионов (17,8 %). Диапазон температуры плавления согласно ДСК (экзо): 207-260°C с пиком при температуре 226°C. ТГА показал потерю массы 2,68% (-3%, 1 вода) до 120°C (между 115-125°C) и дальнейшую потерю массы при примерно 170°C (между 165-175°C). Дифрактограмма, полученная XRPD, содержит 9 характеристических пиков с интенсивностью более 10%, или 12 пиков с интенсивностью в %, выраженная следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	5,506	16,03679	28,0
2	6,817	12,95694	100
3	8,087	10,92445	29,9
4	9,766	9,04936	20,6
5	13,318	6,64283	22,3
6	14,332	6,17523	7,0
7	16,159	5,48067	15,7
8	19,474	4,55451	8,8
9	20,920	4,24296	6,5
10	20,920	3,87321	28,2
11	25,087	3,54678	20,2
12	25,874	3,44064	22,7

Кривые ДСК, ТГА и дифрактограмма XRPD представлены на фиг. 7, фиг. 8 и фиг. 9, соответственно.

Пример 7

Получение соли бис-малеиновой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина и её кристаллической формы.

В колбу 25 мл добавляли 50 мг свободного основания (AL3818) в 1,5 мл EtOH, реакционную смесь нагревали до 70°C с перемешиванием. К полученному раствору добавляли 36 мг (2,5 эк.) малеиновой кислоты и перемешивали при 70°C в течение 0,5 ч. Охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Твёрдый осадок фильтровали и дважды промывали ацетоном, затем сушили в печи при 50°C в течение 4 ч для получения 68 мг кристаллического твёрдого вещества, которое затем перекристаллизовывали от EtOH для получения более чистого вещества той же кристаллической формы, представляющего собой два (бис)малеиновую соль. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 0,73 (s, 2H), 0,88 (s, 2H), 3,43 (s, 2H), 3,53 (s, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,86 (s, 4H), 3,97 (s, 3H), 4,41 (s, 1H), 6,07 (s, 2H), 7,26 (s, 1H), 7,44-7,50 (t, 1H), 7,76-7,79 (d, 1H), 7,88 (s, 1H), 8,10-8,12 (d, 1H), 8,55 (s, 1H), 9,54 (s, 1H).

Ионная хроматография показала 2 молекулярных соотношения ионов (37,1%). Диапазон температуры плавления согласно ДСК (эндо): 165-202°C с пиком при температуре 183°C. Крива ТГА показала несольватированный материал с потерей массы при примерно 160°C (между 155-165°C). Дифрактограмма, полученная XRPD, содержит 22 характеристических пика с интенсивностью больше 10% или 35 пика с интенсивностью в %, выраженная следующими значениями d и углов.

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	6,716	13,14986	29,7	19	22,876	3,88434	5,8
2	8,816	10,02189	34,3	20	23,204	3,83021	19,0
3	9,743	9,07069	15,3	21	23,622	3,76332	78,4
4	10,033	8,80923	21,4	22	24,418	3,64247	6,3
5	11,777	7,50803	21,2	23	26,140	3,40621	87,0
6	13,418	6,59342	6,2	24	26,958	3,30469	26,5
7	14,816	5,97445	11,0	25	27,383	3,25443	61,3
8	16,089	5,50434	9,5	26	28,154	3,16697	41,5
9	16,801	5,27279	24,5	27	29,554	3,02013	6,8
10	17,360	5,10409	87,9	28	30,611	2,91815	23,7
11	17,179	5,15755	70,7	29	31,373	2,84906	14,3
12	18,190	4,87308	20,2	30	33,457	2,67620	6,7
13	18,704	4,74028	16,7	31	34,541	2,59465	2,8
14	19,296	4,59623	5,0	32	35,137	2,55199	3,8
15	19,920	4,45371	12,6	33	35,734	2,51067	2,5
16	20,824	4,26227	65,5	34	37,129	2,41949	8,6
17	21,457	4,13785	100,0	35	39,704	2,26833	3,9
18	22,411	3,96393	4,5				

Кривые ДСК, TGA и дифрактограмма XRPD представлены на фиг. 10, фиг. 11 и фиг. 12, соответственно.

Пример 8

Получение янтарнокислой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-6-метоксихинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина и её кристаллической формы.

В колбу 50 мл добавляли 100 мг свободного основания (AL3818) в 4 мл EtOH, реакционную смесь нагревали до 75°C с перемешиванием. В получившийся раствор добавляли янтарную кислоту в виде твёрдого вещества в количестве 36 мг (0,308 ммоль, 1,25 эк.) и перемешивали при 75°C в течение 0,5 ч. Охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Твёрдый осадок фильтровали и дважды промывали ацетоном, затем сушили в печи при 50°C в течение 4 ч до получения 84 мг твёрдого кристаллического вещества, которое затем перекристаллизовывали из EtOH для получения более чистого вещества той же кристаллической формы. ¹H NMR(DMSO-d₆) δ 0,72 (s, 4H), 2,37-2,42 (m, 7H), 3,99 (s, 3H), 4,10 (s, 2H), 6,27 (s, 1H), 6,32-6,33 (d, 1H), 6,97-7,02 (t, 1H), 7,20-7,23 (d, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 8,42 (s, 2H), 11,41 (s, 1H). Ионная хроматография показала 1 молекулярное соотношение ионов (23,2%). Диапазон температуры плавления согласно ДСК (эндо): 176-202°C с пиком при температуре 198°C. TGA показал несольватированный материал с потерей массы примерно при 180°C (между 175-185°C). Дифрактограмма, полученная XRPD, содержит 11 характеристических пиков с интенсивностью более 10% или 19 характеристических пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	5,765	15,31849	12,9	11	23,167	3,83630	1,8
2	8,038	10,98994	7,4	12	24,085	3,69200	16,9
3	11,639	7,59700	27,7	13	24,485	3,63268	14,6
4	12,950 6	6,83065	100	14	25,737	3,45874	13,7
5	16,141 5	5,48683	18,0	15	28,621	3,11637	6,4
6	17,483 5	5,06848	18,7	16	29,255	3,05025	22,1
7	18,385	4,82175	17,8	17	31,357	2,85048	0,9
8	19,394	4,57325	1,1	18	31,967	2,79743	2,1
9	20,756	4,27609	13,4	19	35,630	2,51780	2,4
10	22,034	4,03092	2,8				

Кривые ДСК, TGA и дифрактограмма XRPD представлены на фиг. 13, фиг. 14 и фиг. 15, соответственно.

Пример 9

Был проведён in vitro МТТ-тест (пролиферация) соединений из вышеприведённых примеров, который показал следующие результаты ингибирования:

Название образца	AL3818-H1 (2HCl)	AL3818-H2 (2HCl.HCl)	AL3818-S (янтарная)	AL3818-M (бис-малеиновая)	AL3818-F (свободное основание)
Линии раковых клеток	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)
PANC-1 (поджелудочная железа)	1,58	1,55	1,24	1,15	1,34
NC1-H157 (лёгкие)	7,18	2,29	2,28	2,02	1,83
MDA-MB-231 (молочные железы)	10,25	5,71	6,1	5,37	5,56
Hela (шейка матки)	3,7	4,07	4,66	3,94	3,23
PC-3 (простата)	5,53	3,88	4,41	3,62	5,11
BEL7404 (печень)	2,75	1,74	1,43	1,15	0,93
MKN45 (желудок)	1,77	3,9	4,16	2,65	3,11
Ishikawa (эндометрий)	5,67	1,56	1,32	1,34	1,04
Saos-2 (саркома)	4,68	4,98	5,68	5,49	5,13
SKOV3 (яичники)	5,34	5,7	7,6	6,56	5,97
SW579 (щитовидная железа)	2,33	1,29	2,61	1,15	1
HCT116 (толстая кишка)	3,45	3,34	3,94	4,62	3,25

Пример 10

На основе исследований, проведенных авторами изобретения с применением свободного основания AL3818, его 2HCl солей, его бис-малеиновой соли кислоты и янтарнокислой соли, ожидаются следующие результаты ингибирования опухолей в МТТ-тесте в соответствии с примером 9.

Ожидается 2-10 мкМ $\pm$ 1,7 мкМ активность в отношении ингибирования солидных опухолей различных клеточных линий, таких как рак прямой кишки, головы/шеи, мочевого пузыря, мозга, меланомы, а также раковых заболеваниях крови, таких как ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ, ХМЛ и множественная миелома.

Пример 11

In vivo тест на животных противоопухолевого действия на эндометриальную клеточную линию Ishikawa (ксенографт) проводился следующим образом.

Быстро растущая опухолевая ткань рака эндометрия Ishikawa была разрезана на кусочки размером 3 мм. В каждую голую мышь подкожно в правую подмышку было инокулировано по одному такому кусочку ткани. Животные были распределены по группам и наблюдались следующим образом:

- 1) AL3818-H1 (бис-гидрохлоридная соль, 2HCl), MW: 480, 3,54 мг/кг
- 2) AL3818-H2 (бис-гидрохлоридгидратная соль, 2HCl.H₂O), MW: 598, 3,67 мг/кг
- 3) AL3818-S (янтарнокислая соль), MW: 525, 3,87 мг/кг
- 4) AL3818-M (бис-малеиновая соль), MW: 639, 4,71 мг/кг
- 5) AL3818-F (свободное основание), MW: 407, 3 мг/кг
- 6) Контрольная группа

Лечение было начато, когда размер опухолей превысил 100 мм³ через 13 дней. В зависимости от размера опухоли животные со слишком большими или слишком маленькими опухолями были исключе-

ны из теста, и в тесте остались животные с приблизительно одинаковым размером опухолей. Затем животным в течение 14 дней перорально вводили 0,5 мл/20 г вещества в соответствии с указанными выше группами. Большой диаметр a (мм) и маленький диаметр b (мм) измерялись кронциркулем дважды в неделю в течение 13 дней после инокуляции. Объем опухоли рассчитывался по формуле: $TV = ab^2/2$. Относительный объем опухоли рассчитывался как: $RTV = V_t/V_0$, где V_0 представляет собой объем опухоли в первый день лечения; V_t представляет собой объем опухоли в каждый из дней измерения. Животных умерщвляли, а опухоли извлекали с применением диссекции через 30 дней после инокуляции (D18). Затем измеряли индивидуальную массу тела и массу опухоли и высчитывали по следующей формуле. Действия по ингибированию опухоли наблюдались в 50-95% случаев. Результаты показаны на фиг. 16.

Пример 12

На основе исследований, проведенных авторами изобретения с применением свободного основания AL3818, его HCl солей (моно или бис), его бис-малеиновой соли и янтарнокислой соли, ожидаются следующие результаты ингибирования опухолей *in vivo* (ксенографт) в соответствии с примером 11.

Ожидается *in vivo* 50%-100% действий по ингибированию солидных опухолей различных клеточных линий, таких как рак лёгких, прямой кишки, толстой кишки, желудка, головы/шеи, меланомы, рак щитовидной железы, поджелудочной железы, печени, простаты, мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы, яичника, шейки матки, эндометрия, саркома и рак крови - ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ, ХМЛ и множественная миелома.

Пример 13

Бис-HCl соль и бис-малеиновая соль AL3818 были также протестированы в сочетании с химиотерапией при использовании препаратов на основе платины, на основе таксана или обоих видов препаратов; таких как цисплатин, карбоплатин, паклитаксел или в комбинации цисплатин/паклитаксел, карбоплатин/паклитаксел. Опыт по комбинации карбоплатин/паклитаксел был проведён по аналогии с описанием примера 11. Ингибирующее действие на опухоли оценивают как от 50 до >100%. Результаты показаны на фиг. 17.

Пример 14

На основе исследований, проведенных авторами изобретения с применением свободного основания AL3818, его HCl солей (моно или бис), его бис-малеиновой соли и янтарнокислой соли, ожидаются следующие результаты ингибирования опухолей *in vivo* (ксенографты) в комбинации с химиотерапией (стандарт лечения, такой как химиотерапия на основе платины, таксана или обе) в соответствии с примером 13, особенно в комбинации с цисплатином, карбоплатином, паклитакселем или одновременно цисплатином/паклитакселем, карбоплатином/паклитакселем.

Ожидается регрессия опухолей от 50% до >100% *in vivo* при действии препаратов по ингибированию солидных опухолей различных клеточных линий, таких как рак лёгких, прямой кишки, толстой кишки, желудка, головы/шеи, кожи, щитовидной железы, поджелудочной железы, печени, простаты, мочевого пузыря, мозга, молочной железы, яичника, шейки матки, эндометрия, саркома и рак крови, такой как ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ, ХМЛ и множественная миелома.

Пример 15

На основе исследований, проведенных авторами изобретения с применением свободного основания AL3818, его HCl солей (моно или бис), его бис-малеиновой соли и янтарнокислой соли, ожидается следующее комбинированное действие *in vivo* совместно с иммунотерапевтическими агентами, выбранными из PD-1 или PD-L1, SLAMF7, агентов для онколитической вирусной терапии, агентов, привлекающих Т-клетки биспецифических активаторов (BiTE) и химерных антигенных рецепторов (CAR) Т-клеточной терапии, включающих, помимо прочего, ниволумаб, пембролизумаб, ипилимумаб, блинатумомаб, элутеумаб, даратумумаб, талимоген лахерпареппек, для лечения солидных опухолей, выбранных из рака лёгких, прямой кишки, толстой кишки, желудка, головы/шеи, меланомы, рака щитовидной железы, поджелудочной железы, печени, простаты, мочевого пузыря, мозга, молочной железы, яичника, шейки матки, эндометрия, саркома и рак крови, выбранном из ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ, ХМЛ и множественной миеломы.

Ожидается *in vivo* регрессия опухоли от 50% до >100% при ингибирующем действии на солидные опухоли различных клеточных линий, таких как рак лёгких, прямой кишки, толстой кишки, желудка, головы/шеи, меланомы, рак щитовидной железы, поджелудочной железы, печени, простаты, мочевого пузыря, мозга, молочной железы, яичника, шейки матки, эндометрия, саркома и рак крови, такой как ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ, ХМЛ и множественная миелома.

Пример 16

Модель лазерно-индуцированной хориоидальной неоваскуляризации (ХНВ) на мышах

(1) Эксперименты проводили на мышах C57 BL/6 в возрасте от 10 до 12 недель. ХНВ была индуцирована с помощью 532 нм диодного лазера, установленного на щелевую лампу, с использованием размера пятна 50 мкм, длительностью 100 мс и лазерной энергии 100 мВт. В каждый глаз было сделано 4 лазерных вспышки. Базовый раствор AL3818-H1 был приготовлен путём растворения соединения в воде в концентрации 25 мг/мл, а затем разведён для получения рабочего раствора в воде в концентрации или 250, или 25 мг/мл. Мышам вводили препарат перорально в дозировке 2,5 или 0,25 мг/кг массы тела, в объёме 200 мкл на 20 г массы тела, раз в день с первого дня использования лазера и в течение 10 дней

после. Контрольная группа мышей получала через зонд воду, которая использовалась для растворения соединения. В конце эксперимента мышам была сделана флуоресцентная ангиография для исключения геморрагических пятен и других механических повреждений, вызванных процедурой. Мышей умерщвляли и измеряли размер ХНВ с помощью иммунного окрашивания ПЭС/горизонтального среза сосудистой оболочки глаза, окрашиваемых ФИТЦ-конъюгированным изолектином В4 и антителом против ICAM2. В контрольных группах, получавших 0,25 мг/кг и 2,5 мг/кг препарата, исследовали 43, 44 и 49 глаз в области ПЭС/горизонтального среза сосудистой оболочки глаза. После иммунного окрашивания были сделаны снимки на флуоресцентном микроскопе Zeiss. Был измерен размер ХНВ с помощью программного обеспечения Image J. Результаты (фиг. 18) показывают, что у мышей, получивших лечение AL3818 в дозировке 0,25 или 2,5 мг/кг массы тела, наблюдалось уменьшение среднего размера лазерно-индуцированной ХНВ примерно на 70%.

(2) Также были исследованы возможные синергетические и аддитивные действия между AL3818-М и антителами против VEGF. Сразу же после лазерного воздействия мыши получили лечение моноклональным антителом против VEGF из системы R&D Systems (mAb AF564) в дозировке 1 мкг путём интравитреальной инъекции.

Было 4 экспериментальных группы: контрольная (получавшая воду), AL3818-М, анти-VEGF и AL3818-М+анти-VEGF. Всего было проанализировано 75 лазерных пятен. Мышам в контрольной группе или мышам в группе, получавшей только AL3818-М, была сделана интравитреальная инъекция физиологического раствора в объёме 2 мкл. Результаты (фиг. 19) показали, что для глаз, получавших лечение 0,15 мг/кг AL3818 и 1 мкг антитела против VEGF, наблюдалось уменьшение размера лазерно-индуцированной ХНВ примерно на 30% по сравнению с контрольной группой ($P < 0,01$, однофакторный дисперсионный анализ, апостериорный критерий Даннетта).

Пример 17

На основе исследований, проведенных авторами изобретения с применением свободного основания AL3818, его HCl солей (моно или бис), бис-малеиновой соли и янтарнокислой соли, в соответствии с примером 16 на животной модели *in vivo* ожидается эффективность действия при ХНВ, связанная с эффективным лечением оптометрических заболеваний, включающих, помимо прочего, ВМД (возрастную макулярную дегенерацию); или в комбинации данных соединений с антителом против VEGF или ловушкой для VEGF, включающих, помимо прочего, ранибизумаб или афлиберцеп, для создания синергетического эффекта лечения, также ожидается эффективность в соответствии с примером 16.

Пример 18

Проведено стандартное испытание на растворимость в воде, которое показало следующие результаты:

Название образца	AL3818-H1 (2HCl)	AL3818-H2 (2HCl.H ₂ O)	AL3818-S (Янтарная)	AL3818-M (2малеиновая)	AL3818-F (свободное основание)
	(мг/мл)	(мг/мл)	(мг/мл)	(мг/мл)	(мг/мл)
Растворимость в воде	6	7	0,1	0,5	0,02

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение кристаллической формы 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина или кристаллической формы соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина, где указанная соль выбрана из бис-гидрохлоридной соли, моногидрата бис-гидрохлоридной соли, бис-малеиновой соли и янтарнокислой соли, для лечения рака яичника, шейки матки и эндометрия в комбинированной терапии с паклитакселом или карбоплатином/паклитакселом, где:

указанная кристаллическая форма 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет по меньшей мере одну из следующих характеристик:

температура плавления 208°C-210°C;

диапазон температуры плавления согласно ДСК (эндо): 207-220°C с пиком при температуре 216°C, кривая представлена на фиг. 1;

термограмма ТГА, согласно которой не происходит значительной потери массы до температуры 205-215°C, кривая представлена на фиг. 2;

порошковая рентгеновская дифрактограмма XRPD, представленная на фиг. 3, содержащая 10 характеристических пиков с интенсивностью более 10%, выраженная следующими значениями d и углов:

Угол	Значение d		Угол	Значение d
13,344	6,62986		20,650	4,29771
15,858	5,58405		21,633	4,10463
16,799	5,27326		23,087	3,84934
17,640	5,02377		25,128	3,54112
18,770	4,72373		26,607	3,34755

указанная кристаллическая форма бис-гидрохлоридной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихиолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму XRPD, представленную на фиг. 6, содержащую 21 характеристический пик с интенсивностью в % более 10%, или 27 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	7,640	11,56173	19,5	14	22,814	3,89483	11,2
2	8,642	10,22328	20	15	23,398	3,79886	11,6
3	9,361	9,43969	13,3	16	24,455	3,63702	76,6
4	10,091	8,75881	100,0	17	25,524	3,48708	34,6
5	13,740	6,43957	26,4	18	26,703	3,33576	21,7
6	14,479	6,11252	54,7	19	27,337	3,25978	18,4
7	15,186	5,82962	10,1	20	28,061	3,17732	18,5
8	15,766	5,61643	20,3	21	28,801	3,09732	6,3
9	17,206	5,14957	7,4	22	29,845	2,99133	13,8
10	18,569	4,77448	18,6	23	31,331	2,85271	7,1
11	19,271	4,60215	11,0	24	31,621	2,82721	9,5
12	20,041	4,42696	49,5	25	32,840	2,72504	10,5
13	22,211	3,99909	58,4	26	33,714	2,65632	3,8
				27	38,348	2,34534	9,6

указанная кристаллическая форма моногидрата бис-гидрохлоридной соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихиолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму XRPD, представленную на фиг. 9, содержащую 9 характеристических пиков с интенсивностью в % более 10%, или 12 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	5,506	16,03679	28,0
2	6,817	12,95694	100
3	8,087	10,92445	29,9
4	9,766	9,04936	20,6
5	13,318	6,64283	22,3
6	14,332	6,17523	7,0
7	16,159	5,48067	15,7
8	19,474	4,55451	8,8
9	20,920	4,24296	6,5
10	20,920	3,87321	28,2
11	25,087	3,54678	20,2
12	25,874	3,44064	22,7

указанная кристаллическая форма бис-малеиновой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксихиолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму XRPD, представленную на фиг. 12, содержащую 22 характеристических пика с интенсивностью более 10% или 35 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	6,716	13,14986	29,7	19	22,876	3,88434	5,8
2	8,816	10,02189	34,3	20	23,204	3,83021	19,0
3	9,743	9,07069	15,3	21	23,622	3,76332	78,4
4	10,033	8,80923	21,4	22	24,418	3,64247	6,3
5	11,777	7,50803	21,2	23	26,140	3,40621	87,0
6	13,418	6,59342	6,2	24	26,958	3,30469	26,5
7	14,816	5,97445	11,0	25	27,383	3,25443	61,3
8	16,089	5,50434	9,5	26	28,154	3,16697	41,5
9	16,801	5,27279	24,5	27	29,554	3,02013	6,8
10	17,360	5,10409	87,9	28	30,611	2,91815	23,7
11	17,179	5,15755	70,7	29	31,373	2,84906	14,3
12	18,190	4,87308	20,2	30	33,457	2,67620	6,7
13	18,704	4,74028	16,7	31	34,541	2,59465	2,8
14	19,296	4,59623	5,0	32	35,137	2,55199	3,8
15	19,920	4,45371	12,6	33	35,734	2,51067	2,5
16	20,824	4,26227	65,5	34	37,129	2,41949	8,6
17	21,457	4,13785	100,0	35	39,704	2,26833	3,9
18	22,411	3,96393	4,5				

указанная кристаллическая форма янтарнокислой соли 1-((4-(4-фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-6-метоксифинолин-7-илокси)метил)циклопропанамина имеет порошковую рентгеновскую дифрактограмму XRPD, представленную на фиг. 15, содержащую 11 характеристических пиков с интенсивностью более 10%, или 19 пиков с интенсивностью в %, выраженной следующими значениями d и углов:

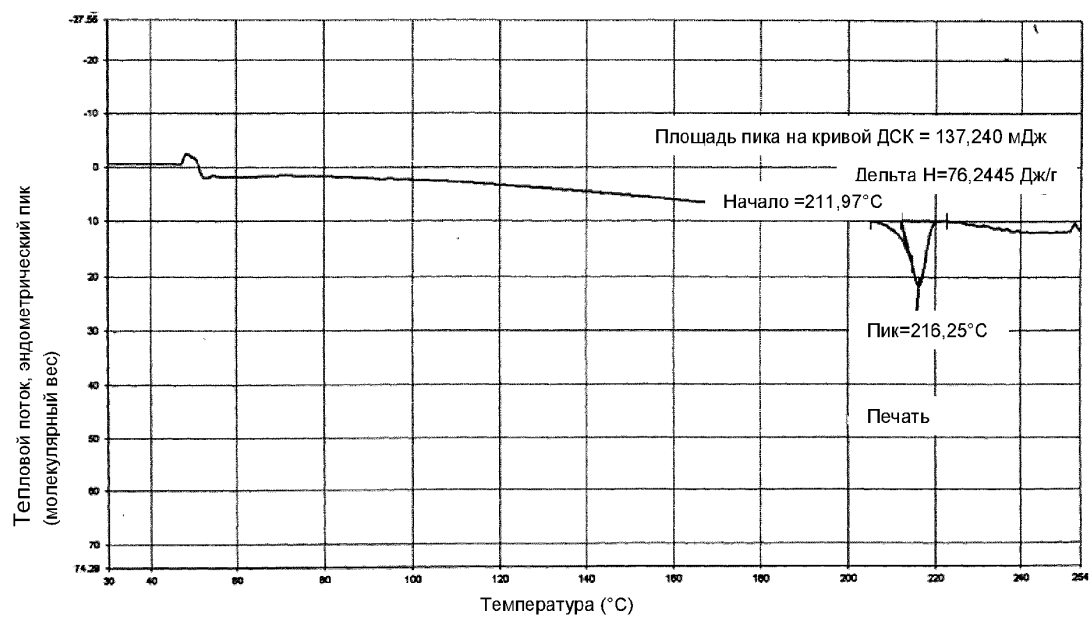
№	Угол	Значение d	Интенсивность, %	№	Угол	Значение d	Интенсивность, %
1	5,765	15,31849	12,9	11	23,167	3,83630	1,8
2	8,038	10,98994	7,4	12	24,085	3,69200	16,9
3	11,639	7,59700	27,7	13	24,485	3,63268	14,6
4	12,950 6	6,83065	100	14	25,737	3,45874	13,7
5	16,141 5	5,48683	18,0	15	28,621	3,11637	6,4
6	17,483 5	5,06848	18,7	16	29,255	3,05025	22,1
7	18,385	4,82175	17,8	17	31,357	2,85048	0,9
8	19,394	4,57325	1,1	18	31,967	2,79743	2,1
9	20,756	4,27609	13,4	19	35,630	2,51780	2,4
10	22,034	4,03092	2,8				

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что кристаллическая форма выбрана из кристаллической формы бис-гидрохлоридной соли, кристаллической формы моногидрата бис-гидрохлоридной соли, кристаллической формы бис-малеиновой соли и кристаллической формы янтарнокислой соли.

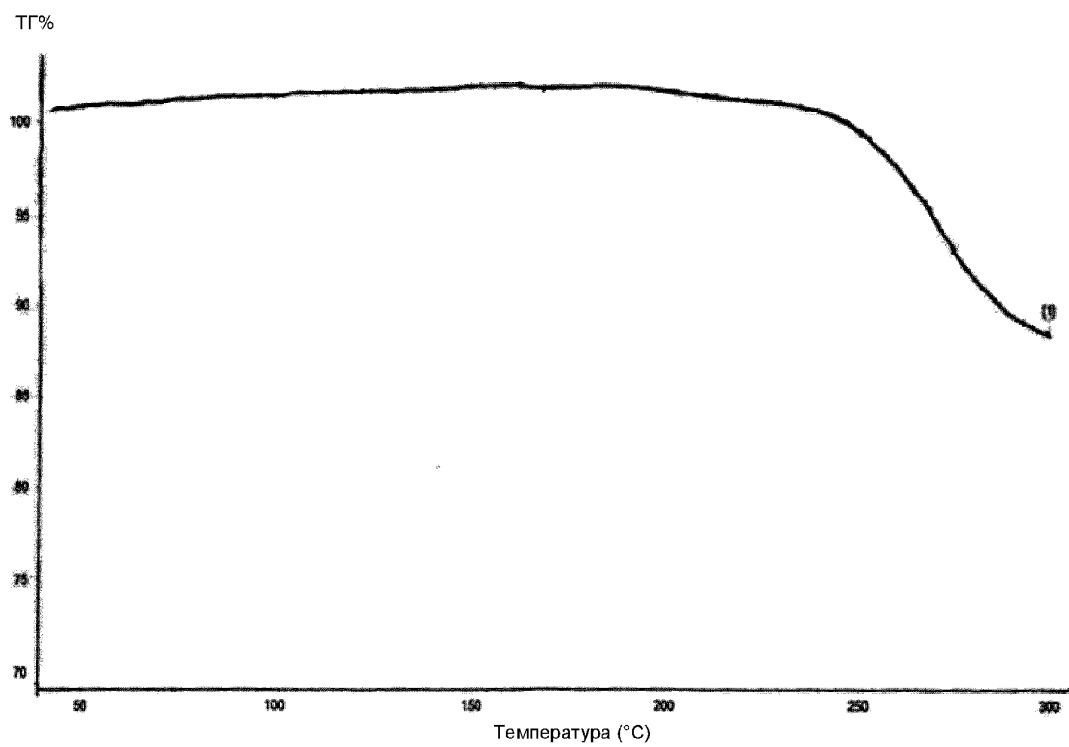
3. Применение по п.2, отличающееся тем, что кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму бис-гидрохлоридной соли.

4. Применение по п.2, отличающееся тем, что кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму моногидрата бис-гидрохлоридной соли.

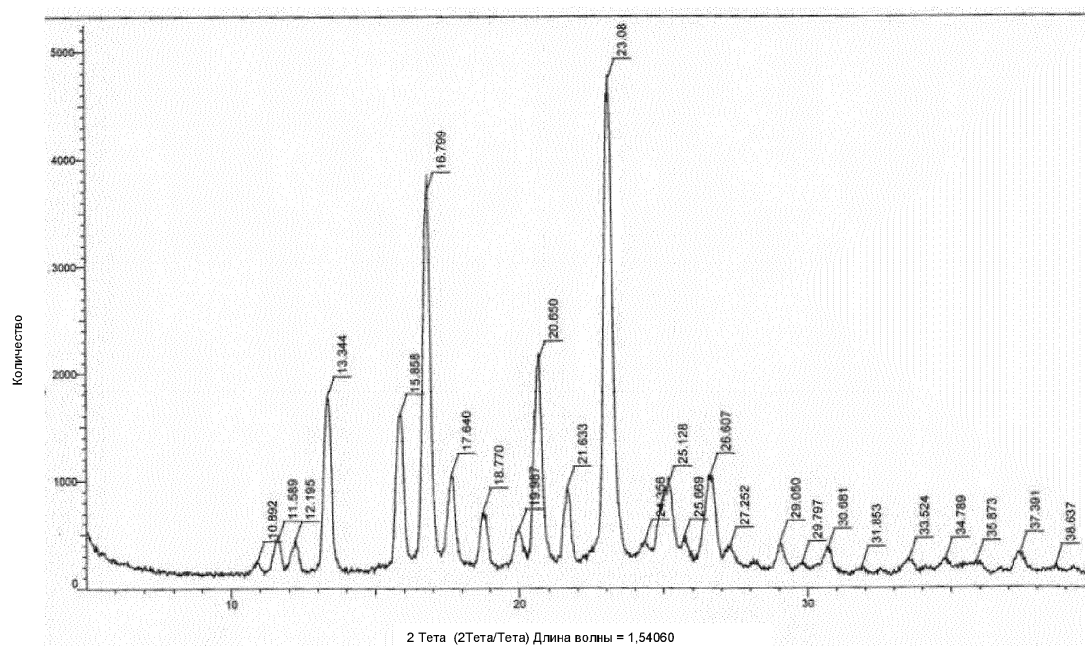
5. Применение по п.2, отличающееся тем, что кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму бис-малеиновой соли.



Фиг. 1

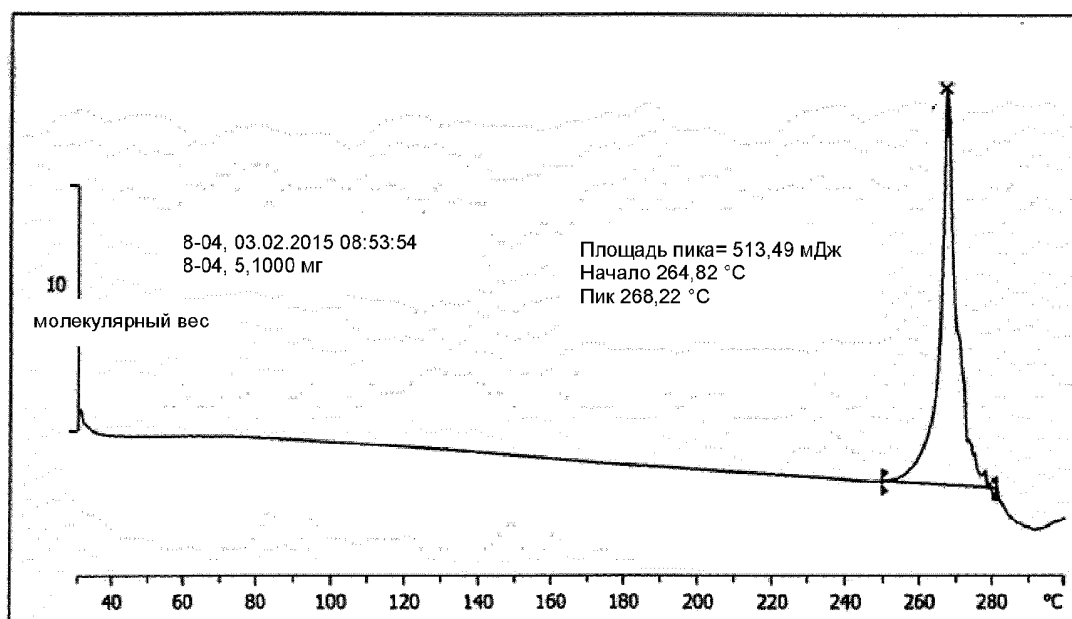


Фиг. 2



Фиг. 3

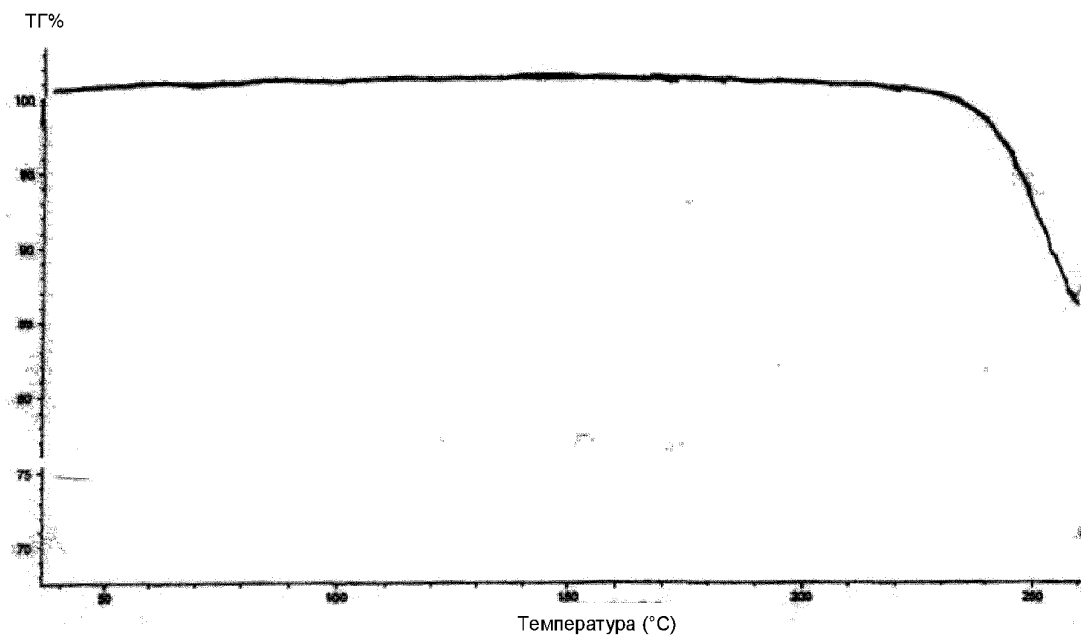
Экзо



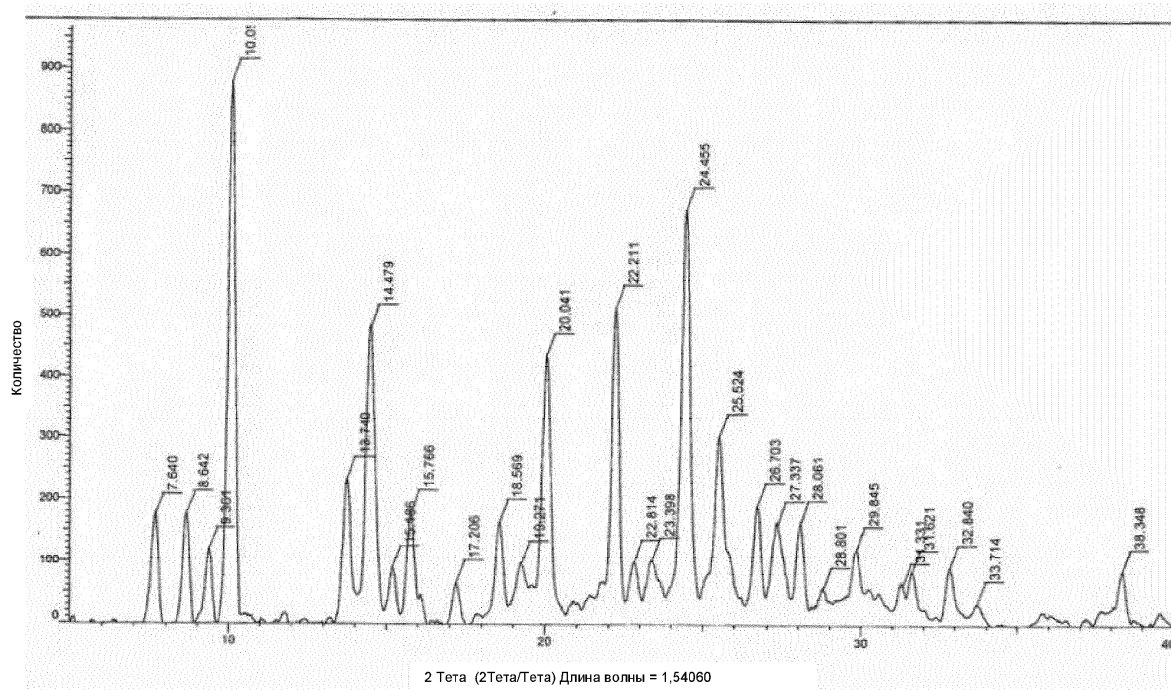
Lab: METTLER

STAR® SW 12.10

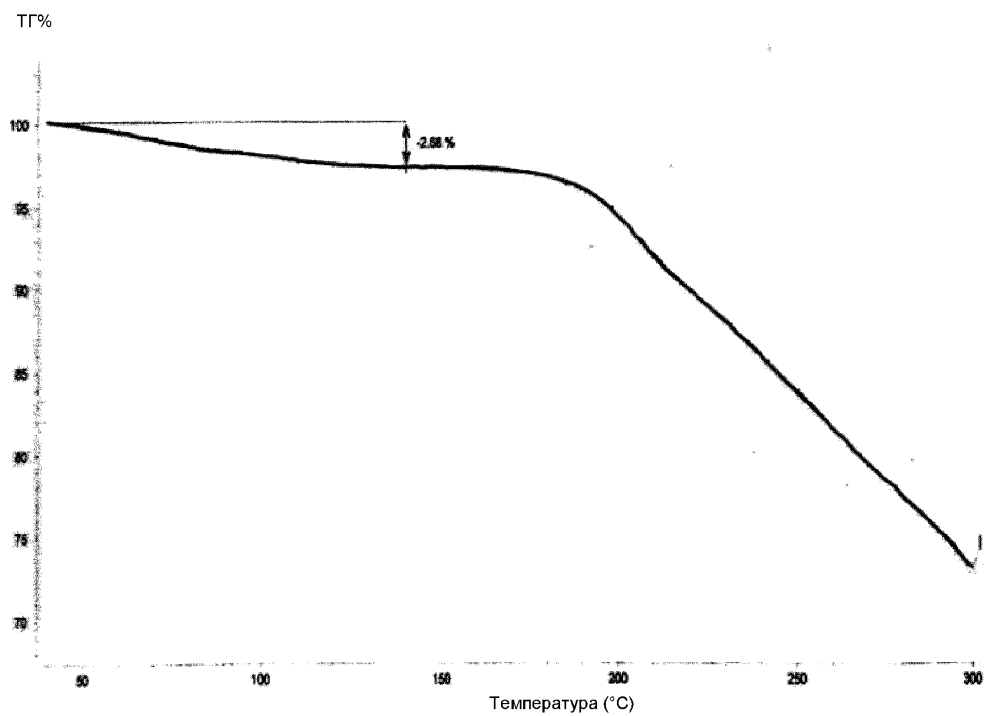
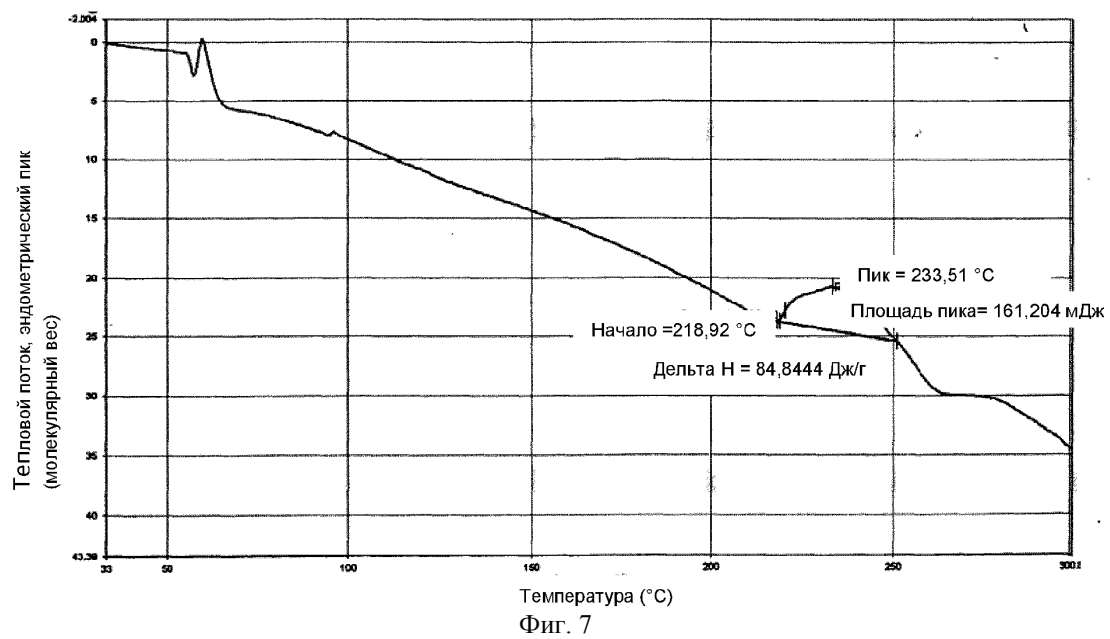
Фиг. 4

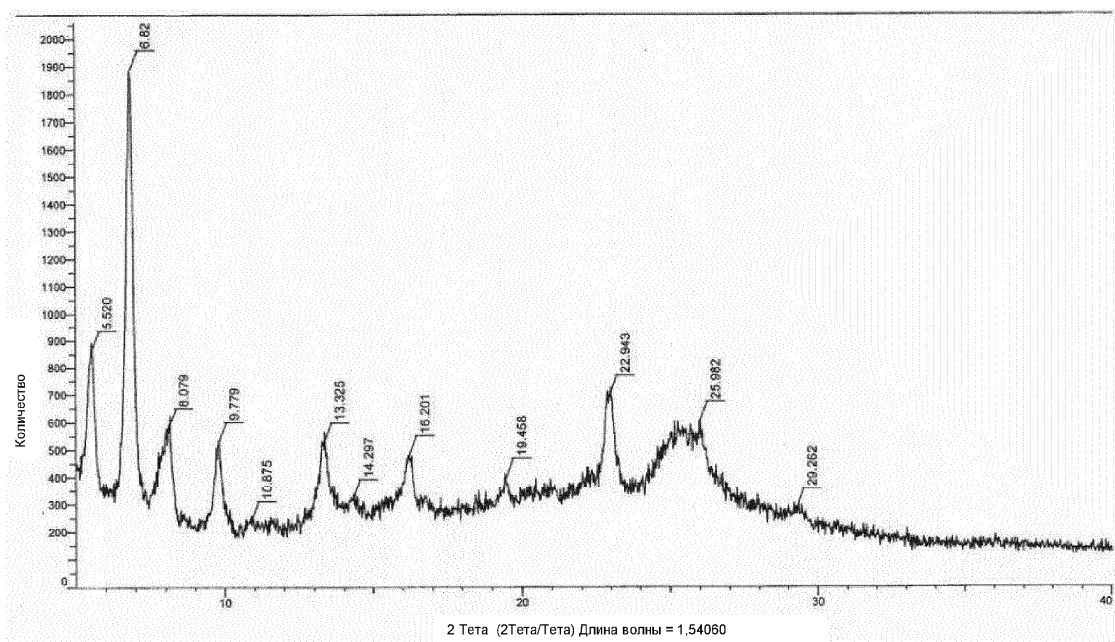


Фиг. 5

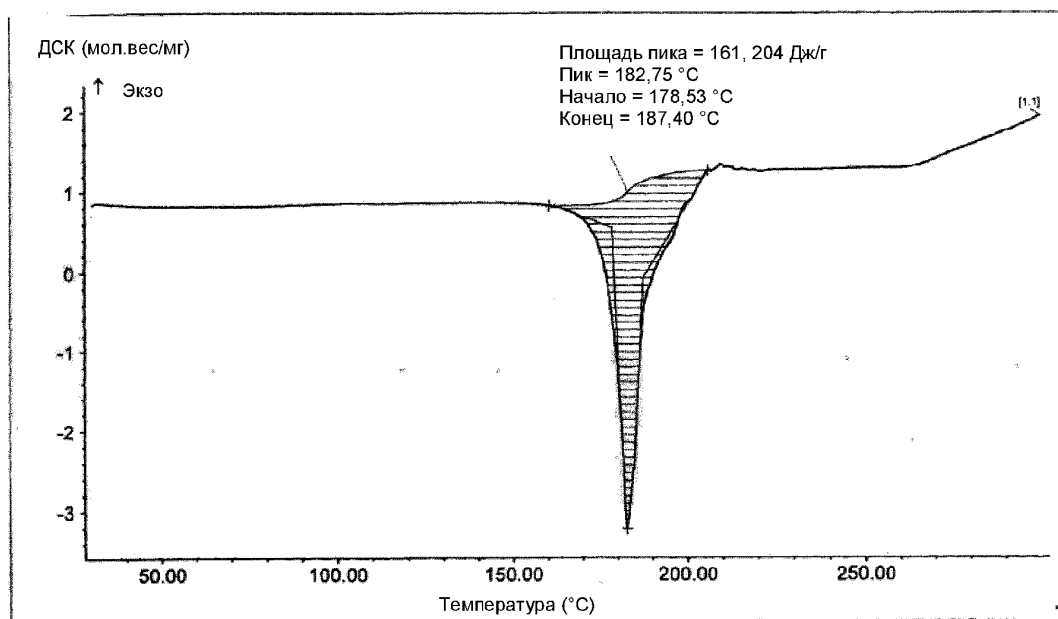


Фиг. 6

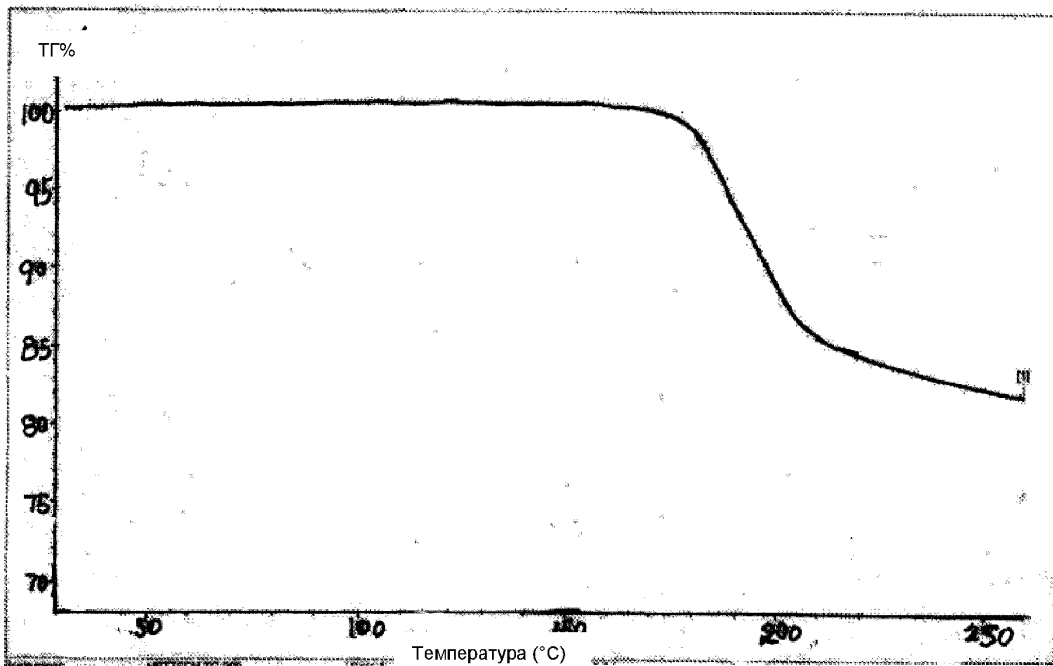




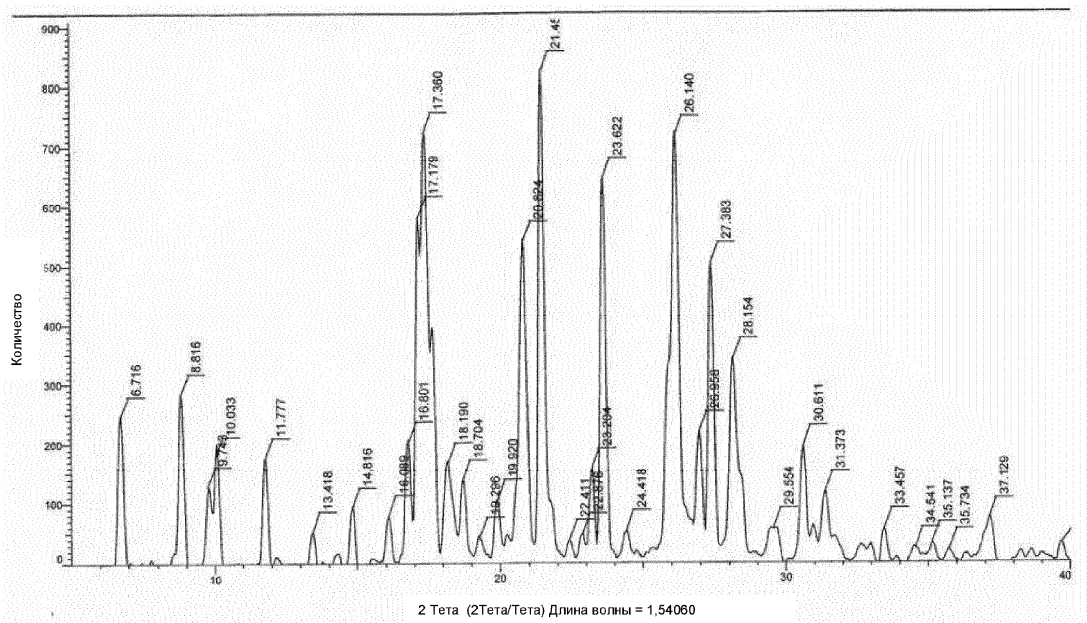
Фиг. 9



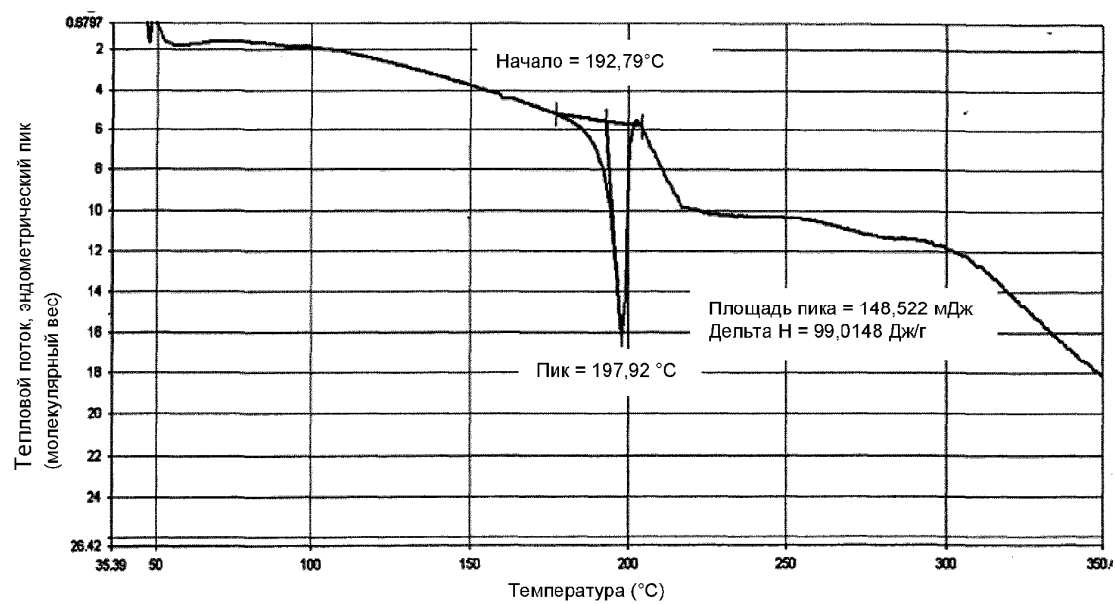
Фиг. 10



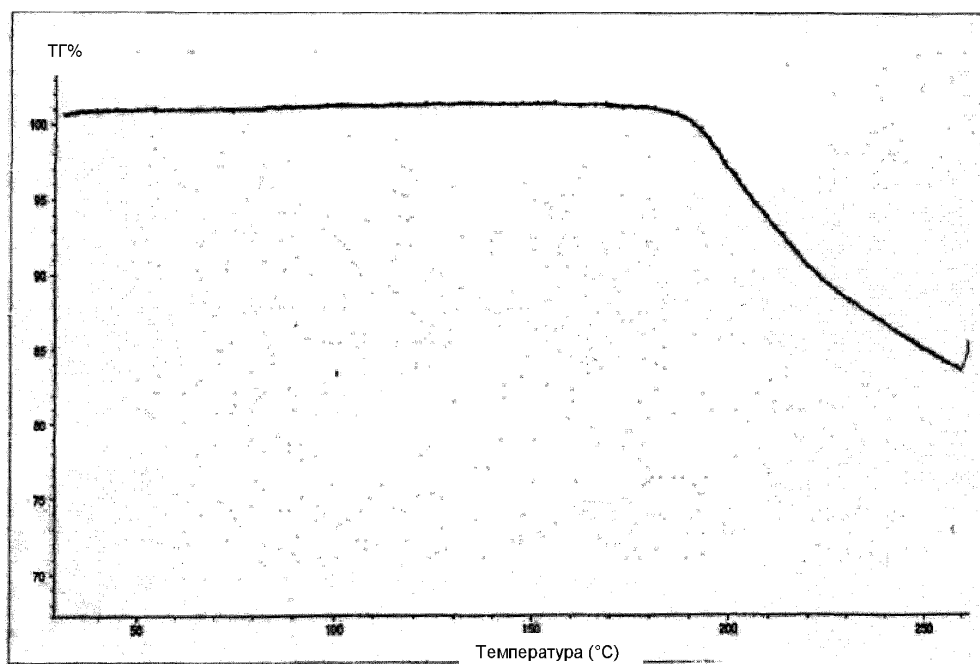
ФИГ. 11



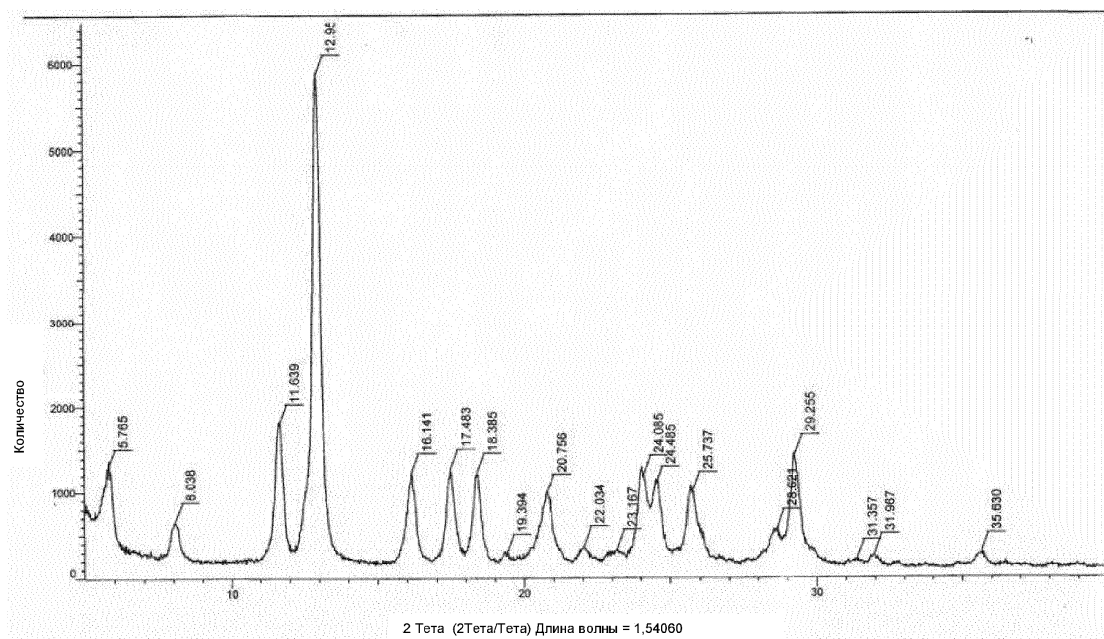
ФИГ. 12



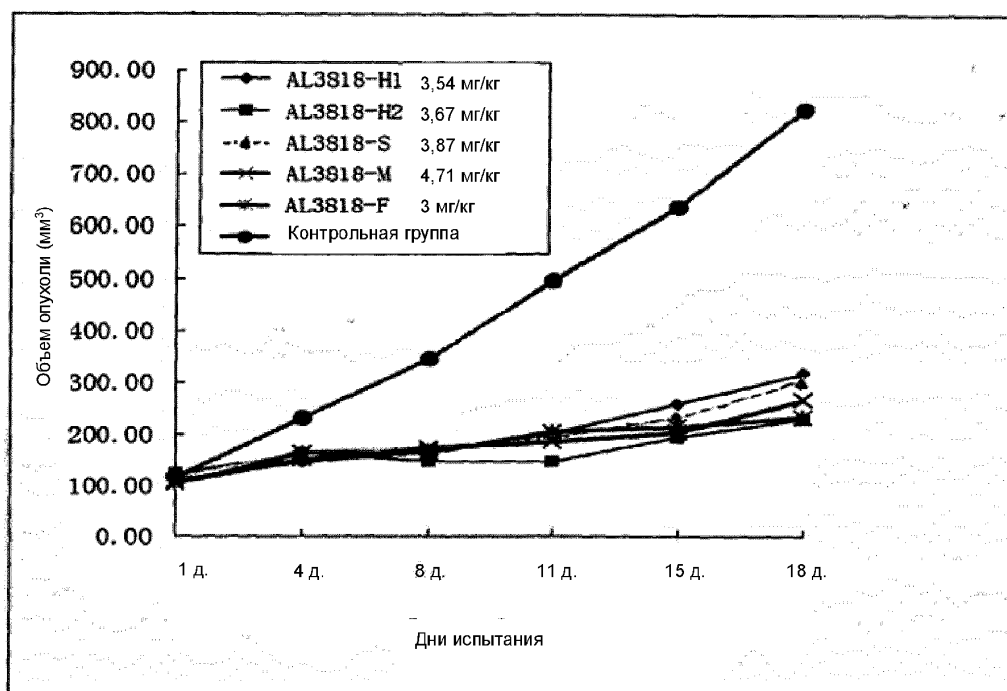
Фиг. 13



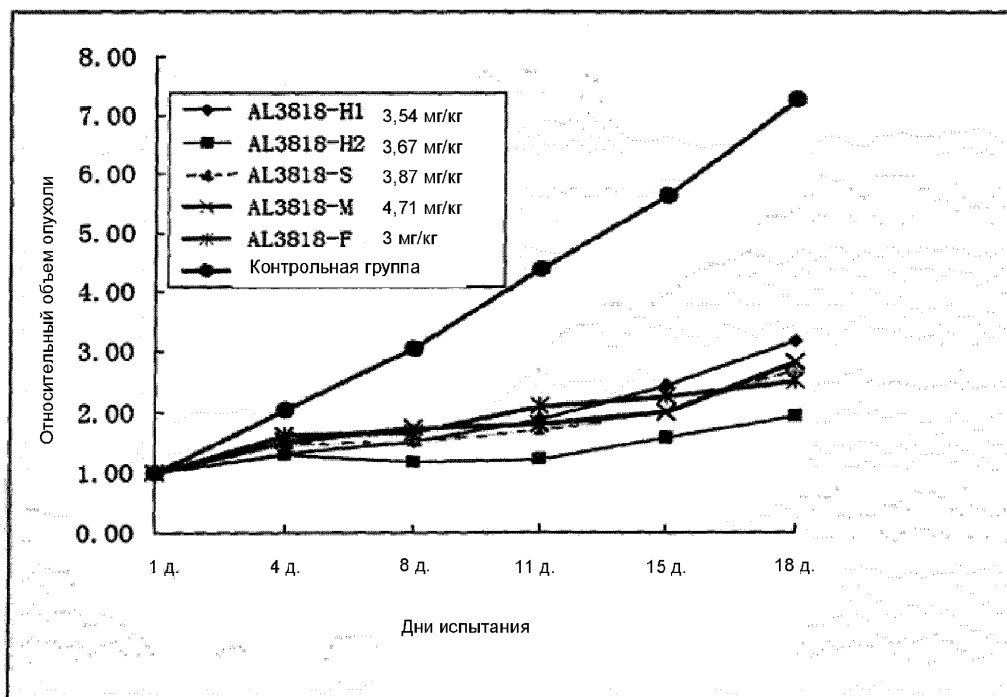
Фиг. 14



Фиг. 15

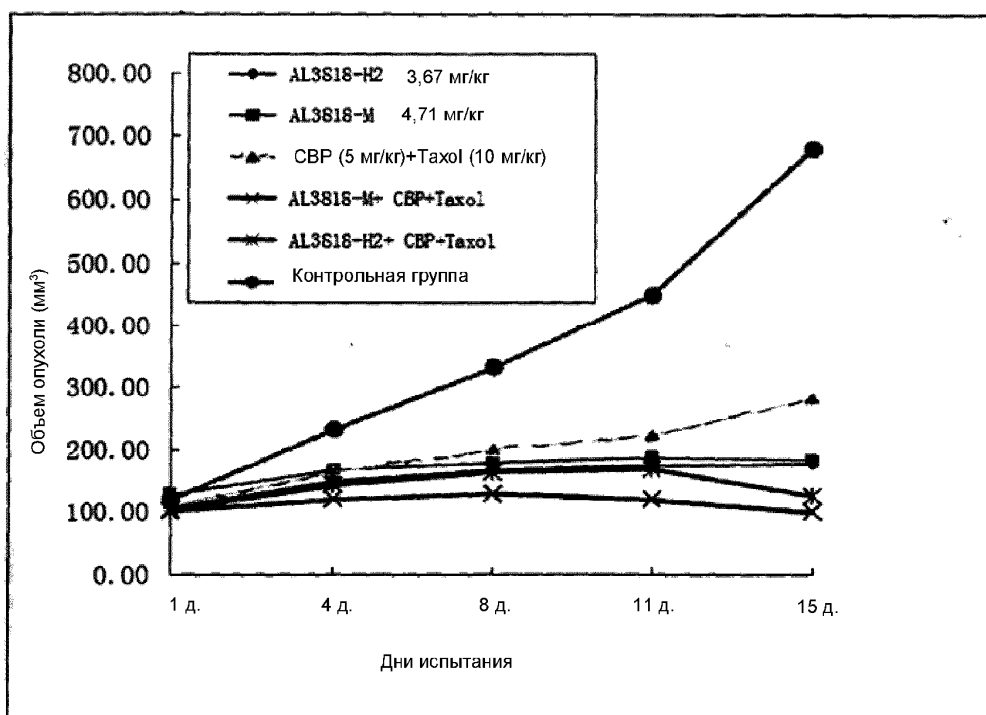


Действие AL3818 на объем опухоли у бестимусных мышей с ксенотрансплантом рака эндометрия человека клеточной линии Ishikawa

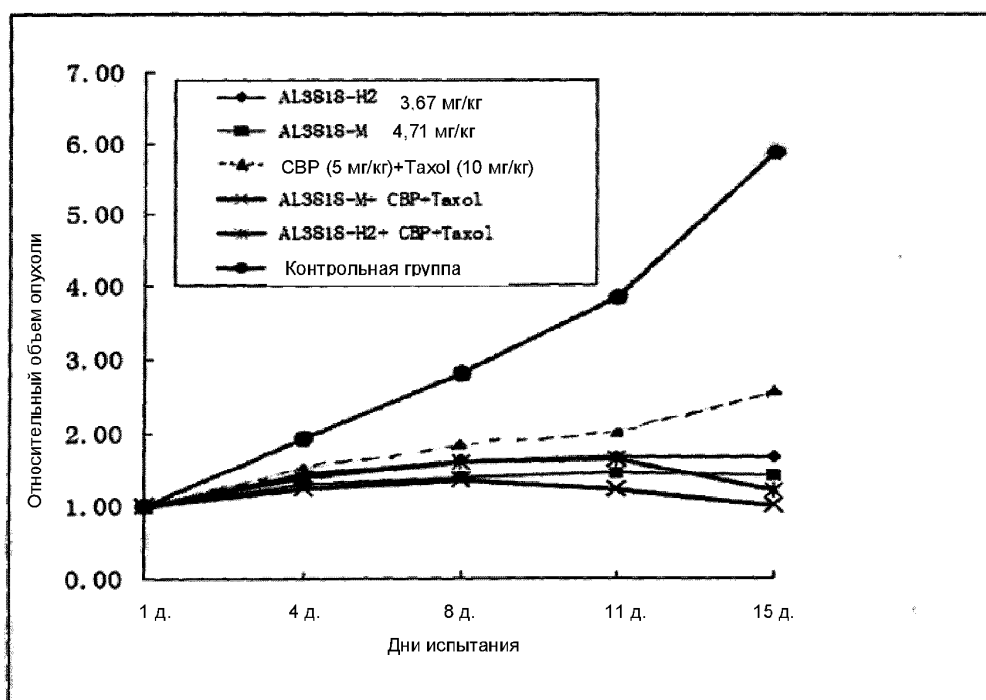


Действие AL3818 на относительный объем опухоли у бестимусных мышей с ксенотрансплантом рака эндометрия человека клеточной линии Ishikawa

Фиг. 16

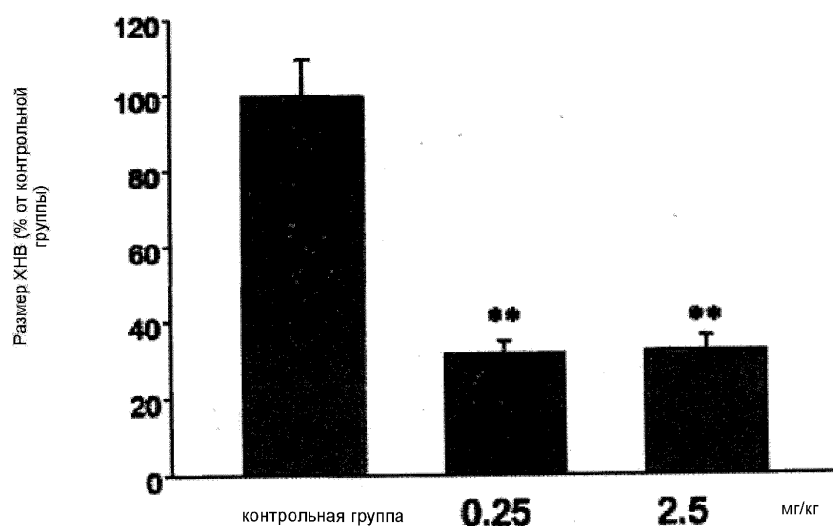


Действие солей AL3818 в комбинации с карбоплатином (CBP)/паклитаксолом (Taxol) на объем опухоли у бестимусных мышей с ксенотрансплантом рака эндометрия человека клеточной линии Ishikawa



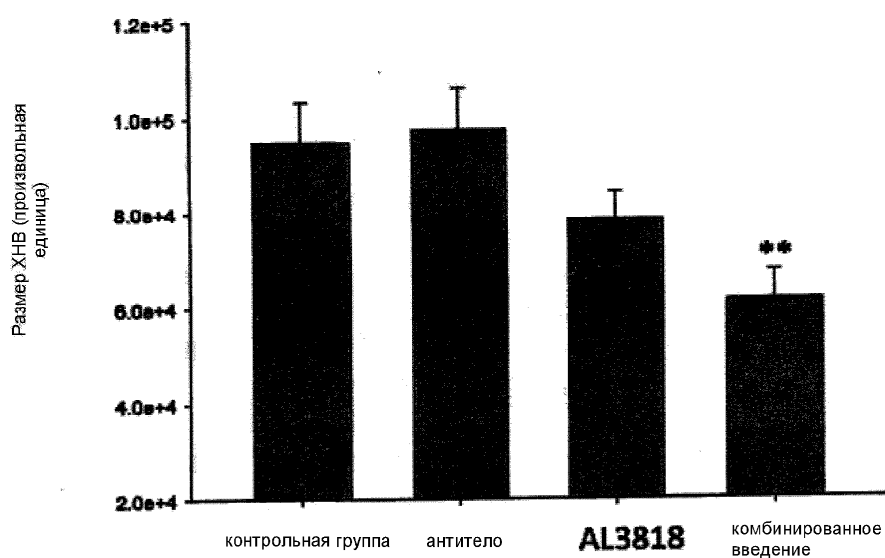
Действие солей AL3818 в комбинации с карбоплатином (CBP)/паклитаксолом (Taxol) на относительный объем опухоли у бестимусных мышей с ксенотрансплантом рака эндометрия человека клеточной линии Ishikawa

Фиг. 17



Действие AL3818 при пероральном введении на лазерно-индуцированную ХНВ

Фиг. 18



Действие AL3818 (0,15 мг/кг массы тела) антитела против VEGF, введенного интраветриально, на лазерно-индуцированную ХНВ

Фиг. 19



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2