

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042609**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.03

(21) Номер заявки
202092000

(22) Дата подачи заявки
2019.02.25

(51) Int. Cl. *A61K 31/4164* (2006.01)
C07D 235/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ ДИМЕРИЗАЦИИ EGFR И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

(31) **62/634,452**

(32) **2018.02.23**

(33) **US**

(43) **2020.12.09**

(86) **PCT/US2019/019391**

(87) **WO 2019/165358 2019.08.29**

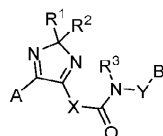
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ДЗЕ РИДЖЕНТС ОФ ДЗЕ
ЮНИВЕРСИТИ ОФ МИЧИГАН (US)**

(72) Изобретатель:
**Наяти Мукеш К., Лоуренс Теодор С.,
Уайтхед Кристофер, Реч Джейсон
Кристофер, Уотч Бреннан Тэйлор (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A2-2014176475
PUBCHEM-CID: 22428840 Create Date: 05
December 2007 (05.12.2007) pages 1-5, pg 2, structure
PUBCHEM-CID: 50744574 Create Date: 22
February 2011 (22.02.2011) pages 1-5; pg 2, structure

(57) В данном изобретении представлены соединения формулы I



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль, где группы A, B, R¹, R², R³, X и Y определены в формуле изобретения и описании, модулирующие EGFR, и способы их использования, например, для лечения рака, а также содержащая их фармацевтическая композиция.

B1

042609

042609

B1

Уровень техники

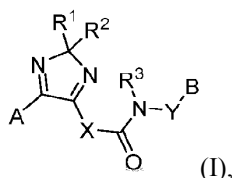
Малые молекулы ингибиторы тирозинкиназы EGFR (TKI) эрлотиниб, gefitinib и afatinib оказались наиболее успешными в качестве отдельных агентов при лечении аденокарцином легких с соматическими мутациями (такими как L858R или делеция в экзоне 19, то есть E746-A750), которые вызывают чувствительность к этому классу лекарственных средств, которая встречается у 7-20% пациентов в зависимости от этнической принадлежности и пола (19). К сожалению, ответ редко длится более года, поскольку практически у всех пациентов развивается устойчивость к терапии (20). Необратимый ингибитор третьего поколения, осимертиниб (AZD9291), эффективен при лечении пациентов, ранее не подвергавшихся лечению, а также пациентов с резистентностью к TKI первого или второго поколения (7). Однако в течение года лечения осимертинибом у большинства пациентов развивается другая мутация в киназном домене EGFR (C797S), который является сайтом связывания лекарственного средства (12, 21, 22). Хотя сообщалось о нескольких подходах к нацеливанию на резистентный к осимертинибу EGFR (12, 13, 23), на данный момент не существует варианта лечения TKI для этих пациентов с этой мутацией C797S. Химотерапия представляет собой единственный вариант.

Ввиду вышеизложенного существует потребность в противораковом терапевтическом препарате, который нацелен на EGFR способом, отличным от ингибирования тирозинкиназной активности EGFR. Также существует потребность в терапевтическом препарате, который лечит рак без развития устойчивости после первоначального применения.

Сущность изобретения

В данном документе предложены соединения и способы модуляции EGFR. Более конкретно, предложены модуляторы EGFR и применение таких модуляторов для лечения или предотвращения заболеваний, или нарушений, связанных с aberrантной активностью EGFR, например рака.

В одном из аспектов в описании представлены соединения или их фармацевтически приемлемые соли формулы I



где X представляет собой O-C₀₋₆алкилен, S-C₀₋₆алкилен или NR³-C₀₋₆алкилен; Y представляет собой C₀₋₆алкилен; A представляет собой C₆₋₁₀арил, и указанный арил необязательно замещен 1-3 R⁴; B представляет собой 9-10-членный гетероарил, имеющий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S; R¹ и R² каждый независимо представляют собой C₁₋₆алкил, или R¹ и R² вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 4-8-членное циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо, где гетероциклоалкильное кольцо содержит 1 или 2 кольцевых гетероатома, выбранных из O, S и N, и при этом указанное циклоалкильное кольцо или гетероциклоалкильное кольцо необязательно замещено 1-2 R⁶; каждый R³ независимо представляет собой H или C₁₋₆алкил; каждый R⁴ и R⁵ независимо представляет собой C₁₋₆алкил, C₁₋₆галогеналкил, галоген или C₁₋₆алкокси; и R⁶ представляет собой C₁₋₆алкил, C₁₋₆галогеналкил, (C=O)R³, (C=O)OR³, CON(R³)₂, C₀₋₃алкилен-C₃₋₈циклоалкил, C₀₋₃алкилен-C₆₋₁₀арил или C₀₋₃алкилен-(5-10-членный гетероарил, содержащий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S), при этом арил или гетероарил необязательно замещен 1-3 R⁵.

В данном документе также представлены способы использования раскрытых соединений для модуляции EGFR. Другие аспекты раскрытия включают способы использования раскрытых соединений для ингибирования димеризации EGFR и способы использования раскрытых соединений для индукции деградации EGFR.

Другие аспекты раскрытия включают соединение, раскрытое в данном документе, для использования при приготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания, или расстройства, связанного с aberrантной активностью EGFR у субъекта, и использование соединения, раскрытого в данном документе, в способе лечения или предотвращения заболевания, или расстройства, связанного с aberrантной активностью EGFR у субъекта.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 проиллюстрировано (слева), что обработка наибольшим пептидом, который ингибирует димеризацию EGFR, влияет на EGFR специфичную опухоль (отмечено *), больше по сравнению с соседней нормальной тканью; и (справа) схема деградации EGFR. EGFR представлен внеклеточным доменом, соединенным трансмембранной частью с двудольным киназным доменом (маленькая капля=p-доля, большая капля=c-доля) и гибким C-концевым хвостом. Связывание EGF способствует образованию активного (асимметричного) димера между внеклеточными доменами и/или между p- и c-долями двух мономеров. EGFR в такой конформации остается стабильным и индуцирует фосфорилирование C-концевого хвоста, что способствует прогрессированию опухоли. Ингибиторы тирозинкиназы (например, осимертиниб), ингибируют рекрутирование АТФ и способствуют неактивной (симметричной) димеризации между p-долями двух мономеров. EGFR в этой конформации остается в киназ-неактивной конфор-

мации, но стабильность белка сохраняется. Инактивация активности EGFR коррелирует с ингибированием роста опухоли. Петля между С-спиралью и 4 листами с-доли и h-спираль n-доли EGFR участвуют в EGF-индуцированном образовании активного димера. Эта модель предполагает, что дисраптин или соединение 8C связывается в этом кармане и препятствует индуцированному EGF образованию активного димера. Лиганд и мономер EGFR связанный с соединением 8C быстро разлагается. Потеря белка EGFR коррелирует с гибелью клеток. Толщина стрелки показывает влияние соединения 8C на опухолевые клетки по сравнению с нормальными клетками.

Фиг. 2 иллюстрирует (А) схематическую диаграмму асимметричного активного димера EGFR. Одного мономера EGFR, связанного с EGF, достаточно для индукции димеризации. Модель дисраптина, связанного с с-долей EGFR (код PDB: 2RFD), показана на вставке и (В) предполагаемое взаимодействие между очищенным доменом киназы EGFR и дисраптином.

Фиг. 3 иллюстрирует (А) влияние обработки дисраптином на EGF-индуцированную димеризацию в клетках NCI-H1975; (В) влияние дисраптина на его целевой EGFR в ксенографтах NCI-H1975; (С) эффективность дисраптина *in vivo*, и (D) долгосрочное влияние лечения на гистологию опухоли, экспрессию EGFR и митотический индекс (измеренный по шкале Ki-67).

Фиг. 4 иллюстрирует (А) схему предварительного скрининга лидов и структуры двух предварительных лидов, C95 и C67; (В) полученный SAR в сочетании с микросомальной стабильностью (показано в синем прямоугольнике), а также структурой наиболее селективно эффективной молекулы, названной соединением 8C; (С) влияние двух предварительных лидов и соединения 8C на EGF-стимулированную димеризацию EGFR в эрлотиниб-резистентной линии клеток рака легких NCI-H1975, как описано на фиг. 3А (готовили лизаты и проводили иммуноблоттинг с антителами к EGFR); и (D) влияние выбранных трех лидов (1 мкМ) на равновесный белок EGFR по оценке через 24 часа после лечения.

Фиг. 5 иллюстрирует (А) соединение 8C конкурирует с дисраптином за связывание с EGFR; (В) влияние соединения 8C на термостабильность очищенного EGFR, что подтверждается анализом на термическую стабильность; и (С) влияние концентрации соединения 8C на термическую стабильность EGFR при 44 °C в присутствии от 0 до 10 мкМ соединения 8C.

Фиг. 6 иллюстрирует (А) влияние соединения 8C на термическую стабильность EGFR в целомом клеточном лизате из клеток Ba/F3-AZD; (В) активность соединения 8C как определено против резистентных к осимертинибу клеток Ba/F3, экспрессирующих специфические мутации EGFR; (С) влияние соединения 8C на EGF-индуцированную димеризацию EGFR, как описано на фиг. 3А; (С-D) влияние обработки соединением 8C на EGFR-индуцированный димер и на уровень белка EGFR; (Е) значения IC₅₀ в ответ на эрлотиниб, осимертиниб и соединение 8C в таблице для двух устойчивых к осимертинибу линий клеток Ba/F3.

Фиг. 7 иллюстрирует (А) специфичность и эффективность соединения 8C, определенную против группы устойчивых к осимертинибу клеток и сравненную с нормальными фибробластами легких (MRC5) с использованием анализа клоногенной выживаемости; (В) влияние концентрации соединения 8C на EGF-индуцированную димеризацию EGFR в устойчивых к осимертинибу клетках PC9, как проиллюстрировано на фиг. 6; (С) влияние обработки соединением 8C на EGFR-индуцированный димер и на уровень белка EGFR в клетках PC9-AZR.

Фиг. 8 иллюстрирует (А) фармакокинетику однократной дозы 100 мг/кг соединения 8C, введенной внутривенно бестимусным мышам, имеющим ксенографты опухоли человека NCI-H1975 (>150 мм³); и (В) фармакокинетику однократной дозы 100 мг/кг соединения 8C, введенной через желудочный зонд, бестимусным мышам, имеющим ксенографты опухоли человека NCI-H1975 (>150 мм³).

Фиг. 9 иллюстрирует (А) базальную биолюминесценцию и эффект предварительного лида соединения 95 в различные моменты времени у мышей, имеющих ксенографты опухоли человека NCI-H1975; и (В) количественное и нанесенное на график изменение в биолюминесценции.

Фиг. 10 иллюстрирует изменение среднего объема опухоли во времени у бестимусных мышей, имеющих UMSCC74B, модель опухоли головы и шеи (~100 мм³) и получавших соединение 8C (30 мг/кг, ежедневно в течение одной недели) или носитель (5% ДМСО в PBS). В каждой группе было по меньшей мере 5 мышей. Объем опухоли и массу тела регистрировали 3-4 раза в неделю и наносили на график. Средняя потеря массы тела во время лечения составила менее 10%. Величина ошибки представляет собой стандартную ошибку среднего значения.

Фиг. 11 иллюстрирует эффект соединения 8C на модель опухоли, устойчивой к осимертинибу. Бестимусных мышей с асцитной опухолью Ba/F3, устойчивой к осимертинибу, обрабатывали либо носителем, либо осимертинибом, либо соединением 8C. Влияние лечения на EGFR, pEGFR и другие молекулы определяли с помощью иммуноблоттинга.

Фиг. 12 иллюстрирует патологическую оценку PDX FFPE-легких в первичной опухоли, 1-м и 2-м ксенографтах UMLCA7 и анализ экспрессии белка EGFR с использованием ИHC в двух других PDX. Обратите внимание на избыточную экспрессию EGFR в плоскоклеточной карциноме (UMLT16), но не в образце PDX крупноклеточной карциномы (UMLT14) (20X).

Фиг. 13 иллюстрирует, что лечение модели рака поджелудочной железы у мышей соединением 8C показало значительно сниженную склонность к развитию PanIn (внутриэпителиальная неоплазия подже-

лудочной железы), типа поражения протока поджелудочной железы. А - гистологическое исследование ткани поджелудочной железы показывает значительно меньшее поражение у обработанных мышей по сравнению с контролем, что количественно определяется в В.

Фиг. 14 иллюстрирует, что ксенографты мышей, несущие модель опухоли головы и шеи UM-SCC74B, обработанные соединением 8С, показали значительно меньшие опухоли по сравнению с контрольными мышами, которые получали либо носитель для лечения, либо цетуксимаб.

Подробное описание сущности изобретения

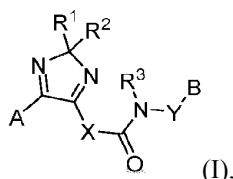
Хотя ингибирование киназной активности онкогенных белков с помощью малых молекул и антител было основой усилий по разработке противоопухолевых лекарственных средств, что привело к появлению нескольких одобренных FDA способов лечения рака, клиническая эффективность агентов, нацеленных на киназы, была непостоянной (22, 24). Было показано, что EGFR проявляет функции организующего каркаса в дополнение к своей тирозинкиназной активности (24-36). Это демонстрируется либо экспрессией мутанта EGFR с мертвой киназой активностью (KD) (например, K745A, V741G и Y740F), либо экспрессией ErbB3 (который не обладает киназной активностью) в клетках Ba/F3, которые не экспрессируют эти рецепторы (37-39). Экспрессия этих дефектных по киназе мутантов способствует выживанию клеток, указывая на то, что эти рецепторы все еще могут передавать сигнал выживания, возможно, путем образования димеров, предполагая, что EGFR имеет функции, выходящие за рамки киназной активности (39).

Известно, что димеры EGFR относительно стабильны по сравнению с мономерами (40). Димеры способны создать нисходящую митогенную передачу сигналов (41). Не будучи связанными теорией, предполагается, что блокирование димеризации EGFR ускорит деградацию EGFR, и что этот подход будет эффективен против опухолей, которые управляются устойчивым к TKI EGFR (14, 24, 27). Вкратце, было продемонстрировано, что стабильность EGFR белка, связанного с EGF (то есть фосфорилированного-EGFR, преобладающего в большинстве опухолей), регулируется образованием димеров через сегмент в киназном домене EGFR, который находится между спиралью α C и β 4 листами с- доли и h-спирали п-доли киназного домена EGFR (15, 42). Стабильность белка EGFR в нормальных клетках в первую очередь не регулируется этой димерной поверхностью, поскольку в отсутствие EGF EGFR не образует асимметричный димер (43). Это различие между опухолевыми и нормальными клетками обеспечивает новое белок-белковое взаимодействие для нацеливания.

Чтобы проверить эту идею, было создано более десятка пептидов, имитирующих эту связывающую поверхность. Самый эффективный пептид, содержащий шесть аминокислот из петли α C- β 4 EGFR, был назван дисраптин (17). Дисраптин способен ингибировать EGF-индуцированную димеризацию EGFR. Этот пептид связывается непосредственно с EGFR, и на это связывание существенно не влияют повторные промывки HEPES по сравнению с контрольным (скремблированным) пептидом. Хотя дисраптин эффективен в модели ксенографта легких, устойчивой к ингибиторам тирозинкиназы (TKI) (14), доставка пептидов людям остается сложной задачей (44).

В данном документе представлены соединения, которые модулируют EGFR, например, соединения, которые блокируют димеризацию EGFR, индуцируют деградацию EGFR и убивают клетки, управляемые EGFR. Эти соединения полезны для профилактики или лечения множества заболеваний и расстройств, например, при лечении рака.

В качестве таковых в данном документе предложены соединения или их фармацевтически приемлемые соли, имеющие структуру формулы I

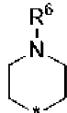


где X представляет собой O- C_{0-6} алкилен, S- C_{0-6} алкилен или NR³- C_{0-6} алкилен; Y представляет собой C_{0-6} алкилен; A представляет собой C_{6-10} арил, и указанный арил необязательно замещен 1-3 R⁴; B представляет собой 9-10-членный гетероарил, содержащий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S; каждый R¹ и R² независимо представляют собой C_{1-6} алкил, или R¹ и R² вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 4-8-членное циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо, при этом гетероциклоалкильное кольцо имеет 1 или 2 кольцевых гетероатома, выбранных из O, S и N, и при этом указанное циклоалкильное кольцо или гетероциклоалкильное кольцо необязательно замещено 1-2 R⁶; каждый R³ независимо представляет собой H или C_{1-6} алкил; каждый R⁴ и R⁵ независимо представляет собой C_{1-6} алкил, C_{1-6} галогеналкил, галоген или C_{1-6} алкокси; и R⁶ представляет собой C_{1-6} алкил, C_{1-6} галогеналкил, (C=O)R³, (C=O)OR³, CON(R³)₂, C_{0-3} алкилен- C_{3-8} циклоалкил, C_{0-3} алкилен- C_{6-10} арил или C_{0-3} алкилен-(5-10-членный гетероарил, содержащий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S), при этом арил или гетероарил необязательно замещен 1-3 R⁵.

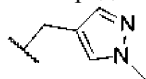
В различных вариантах реализации каждый из R¹ и R² независимо представляют собой C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах реализации каждый из R¹ и R² представляет собой метил.

В различных вариантах реализации R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 4-8-членный циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо. В некоторых вариантах реализации R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 5 или 6-членный циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо. В некоторых вариантах реализации R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют циклогексильное кольцо.

В различных вариантах реализации R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкильное кольцо, имеющее структуру

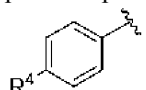


где * обозначает место присоединения к остальной части соединения формулы I. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{1-6} алкил, C_{1-6} галогеналкил, $(C=O)R^3$, $(C=O)OR^3$, $CON(R^3)_2$, C_{0-3} алкилен- C_{3-8} циклоалкил, C_{0-3} алкилен- C_{6-10} арил или C_{0-3} алкилен-(5-10-членный гетероарил, имеющий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S), где арил или гетероарил необязательно замещены 1-3 R^5 . В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{1-6} алкил, $(C=O)R^3$, $(C=O)OR^3$, или $CON(R^3)_2$. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой метил, этил, пропил, изопропил, изобутил или изопентил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой метил. В некоторых вариантах реализации R^6 является дейтерированным. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{1-6} галогеналкил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой 3,3,3-трифторпропил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{0-3} алкилен- C_{3-8} циклоалкил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой циклобутил, циклопентил или циклогексил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой циклобутил или циклопентил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{0-3} алкилен- C_{6-10} арил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой бензил. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{0-3} алкилен-(5-10-членный гетероарил, имеющий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S), где гетероарил необязательно замещен 1-3 R^5 . В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{1-6} алкилен-(5-10-членный гетероарил, имеющий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S), где гетероарил необязательно замещен 1-3 R^5 . В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{0-3} алкилен-(5-10-членный гетероарил, имеющий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S), где гетероарил замещен 1-3 R^5 . В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{0-3} алкилен-(5-10-членный гетероарил, имеющий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S), где гетероарил является незамещенным. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой



В некоторых вариантах реализации A представляет собой фенил.

В некоторых вариантах реализации B представляет собой хинолинил. В некоторых вариантах реализации A замещен одним R^4 . В некоторых вариантах реализации A имеет структуру



В некоторых вариантах реализации A замещен двумя R^4 . В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^4 представляет собой C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^4 представляет собой метил. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^4 представляет собой галоген. В некоторых вариантах реализации R^4 представляет собой бром. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^4 представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^4 представляет собой метокси.

В некоторых вариантах реализации B замещен одним R^5 . В некоторых вариантах реализации B замещен двумя R^5 . В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^5 представляет собой галоген. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^5 представляет собой фтор или хлор. В некоторых вариантах реализации один R^5 представляет собой фтор, а другой R^5 представляет собой хлор. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^5 представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один R^5 представляет собой метокси. В некоторых вариантах реализации один R^5 представляет собой галоген, а другой R^5 представляет собой C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах реализации один R^5 представляет собой хлор, а другой R^5 представляет собой метокси.

В некоторых вариантах реализации каждый R^4 и R^5 независимо представляет собой C_{1-6} алкил, галоген или C_{1-6} алкокси. В некоторых вариантах реализации R^6 представляет собой C_{1-6} алкил, $(C=O)R^3$, $(C=O)OR^3$, или $CON(R^3)_2$.

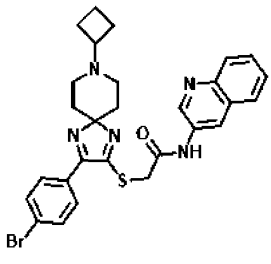
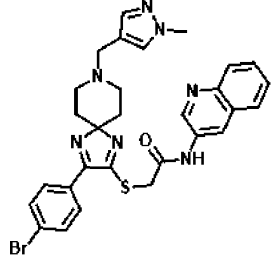
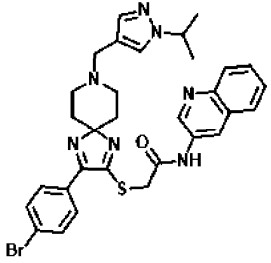
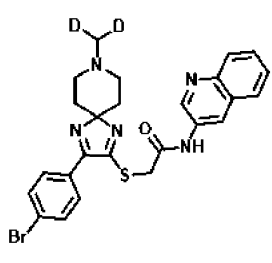
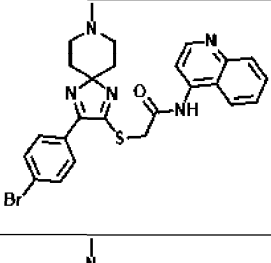
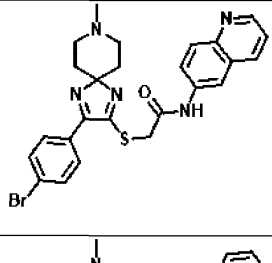
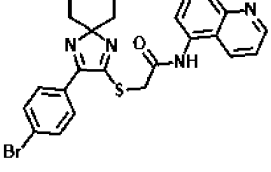
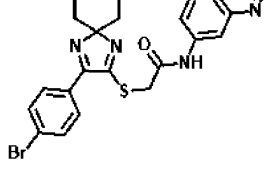
В различных вариантах реализации X представляет собой O- C_{0-6} алкилен или S- C_{0-6} алкилен. В некоторых вариантах реализации X представляет собой S- C_{0-6} алкилен. В некоторых вариантах реализации X

представляет собой O, S, O-CH₂- или S-CH₂-. В различных вариантах реализации Y представляет собой C₀₋₂алкилен. В некоторых вариантах реализации Y равен нулю или представляет собой CH₂. В некоторых вариантах реализации X представляет собой NR³-CH₂, O-CH₂- или S-CH₂-, и Y равен нулю. В некоторых вариантах реализации X представляет собой NR³-CH₂, O-CH₂- или S-CH₂-, и Y представляет собой CH₂. В некоторых вариантах реализации R³ представляет собой H.

Рассматриваемые конкретные соединения включают соединения, перечисленные в табл. 2, или их фармацевтически приемлемые соли.

Таблица 2

Идент. №	Структура	Идент. №	Структура
33a		33b	
33c		33d	
33e		33f	
33g		33h	

33i		33j	
33k		33l	
34a		34b	
34c		34d	

34e		34f	
35a		35b	
35c		35d	
35e		35f	
35g		35h	
35i			

В некоторых случаях соединение представляет собой соединение, указанное в табл. 2, или его соль.

Соединение 8С показало значительное улучшение фармакологических свойств, а также биологической активности (микросомальный период полураспада более 46 минут, субмикромольные значения IC_{50} в клоногенном клеточном анализе). Соединение 8С ингибирует EGF-индуцированную димеризацию EGFR, напрямую связывается с очищенным EGFR и селективно активно в управляемых EGFR клеточных линиях, устойчивых к осимертинибу, и в моделях ксенографтов.

Определения.

Используемый в данном документе термин "алкил" относится к насыщенным углеводородным группам с прямой и разветвленной цепью, содержащим от одного до тридцати атомов углерода, например, от одного до двадцати атомов углерода или от одного до десяти атомов углерода. Термин C_n означает, что алкильная группа имеет "n" атомов углерода. Например, C_4 -алкил относится к алкильной группе, имеющей 4 атома углерода. C_1 - C_7 алкил относится к алкильной группе, имеющей ряд атомов углерода, охватывающих весь диапазон (например, от 1 до 7 атомов углерода), а также все подгруппы (например, 1-6, 2-7, 1-5, 3-6, 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 7 атомов углерода). Неограничивающие примеры алкильных групп включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил (2-метилпропил), трет-бутил (1,1-

диметилэтил), 3,3-диметилпентил и 2-этилгексил. Если не указано иное, алкильная группа может быть незамещенной алкильной группой или замещенной алкильной группой.

Используемый в данном документе термин "алкилен" относится к алкильной группе, имеющей заместитель. Например, термин "алкиленгалоген" относится к алкильной группе, замещенной галогеном. Например, алкиленовая группа может быть $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ или $-\text{CH}_2-$. Термин C_n означает, что алкиленовая группа имеет "n" атомов углерода. Например, C_{1-6} алкилен относится к алкиленовой группе, имеющей ряд атомов углерода, охватывающих весь диапазон, а также все подгруппы, как ранее описано для "алкильных" групп. Если не указано иное, алкиленовая группа может быть незамещенной алкиленовой группой или замещенной алкиленовой группой.

Используемый в данном документе термин "циклоалкил" относится к алифатической циклической углеводородной группе, содержащей от трех до восьми атомов углерода (например, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода). Термин C_n означает, что циклоалкильная группа имеет "n" атомов углерода. Например, C_5 -циклоалкил относится к циклоалкильной группе, которая имеет 5 атомов углерода в кольце. C_6 - C_8 циклоалкил относится к циклоалкильным группам, имеющим число атомов углерода, охватывающее весь диапазон (например, 6-8 атомов углерода), а также все подгруппы (например, 6-7, 7-8, 6, 7 и 8 атомов углерода). Неограничивающие примеры циклоалкильных групп включают циклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил, циклогептил и циклооктил. Если не указано иное, циклоалкильная группа может быть незамещенной циклоалкильной группой или замещенной циклоалкильной группой. Описанные в данном документе циклоалкильные группы могут быть изолированы или конденсированы с другой циклоалкильной группой, гетероциклоалкильной группой, арильной группой и/или гетероарильной группой. Когда циклоалкильная группа конденсируется с другой циклоалкильной группой, тогда каждая из циклоалкильных групп может содержать от трех до восьми атомов углерода, если не указано иное. Если не указано иное, циклоалкильная группа может быть незамещенной или замещенной.

Используемый в данном документе термин "гетероциклоалкил" определяется аналогично циклоалкилу, за исключением того, что кольцо содержит от одного до трех гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В частности, термин "гетероциклоалкил" относится к кольцу, содержащему всего от трех до двенадцати атомов (например, 3-8, 5-8, 3-6, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12), из которых 1, 2 или 3 атома кольца представляют собой гетероатомы, независимо выбранные из группы, состоящей из кислорода, азота и серы, а остальные атомы в кольце представляют собой атомы углерода. Неограничивающие примеры гетероциклоалкильных групп включают пиперидин, пиразолидин, тетрагидрофуран, тетрагидропиран, дигидрофуран, морфолин и тому подобное.

Циклоалкильные и гетероциклоалкильные группы могут быть насыщенными или частично ненасыщенными кольцевыми системами, необязательно замещенными, например, одной-тремя группами, независимо выбранными из алкила, алкилена, $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, NH_2 , оксо ($=\text{O}$), арила, алкиленгалогена, галогена и OH. Гетероциклоалкильные группы необязательно могут быть дополнительно N-замещены алкилом (например, метилом или этилом), алкилен-OH, алкиленарилом и алкиленгетероарилом. Описанные в данном документе гетероциклоалкильные группы могут быть изолированы или конденсированы с другой гетероциклоалкильной группой, циклоалкильной группой, арильной группой и/или гетероарильной группой. Когда гетероциклоалкильная группа конденсируется с другой гетероциклоалкильной группой, тогда каждая из гетероциклоалкильных групп может содержать от трех до двенадцати общих кольцевых атомов и от одного до трех гетероатомов. Если не указано иное, гетероциклоалкильная группа может быть незамещенной или замещенной.

Используемый в данном документе термин "арил" относится к моноциклической или бициклической ароматической группе, имеющей от 6 до 10 атомов в кольце. Если не указано иное, арильная группа может быть незамещенной или замещенной одной, или более, в частности, одной-четырьмя группами, независимо выбранными, например, из галогена, алкила, алкенила, OCF_3 , NO_2 , CN, NC, OH, алкокси, amino, CO_2H , CO_2 алкила, арила и гетероарила. Арильные группы могут быть изолированы (например, фенил) или конденсированы с другой арильной группой (например, нафтил, антраценил), циклоалкильной группой (например, тетрагидронафтил), гетероциклоалкильной группой и/или гетероарильной группой.

Используемый в данном документе термин "гетероарил" относится к моноциклическому или бициклическому ароматическому кольцу, имеющему 5-10 всех кольцевых атомов и содержащему от одного до четырех гетероатомов, выбранных из атома азота, кислорода и серы в ароматическом кольце. Если не указано иное, гетероарильная группа может быть незамещенной или замещенной одним, или более, в частности, одним-четырьмя заместителями, например, галогеном, алкилом, алкенилом, OCF_3 , NO_2 , CN, NC, OH, алкокси, amino, CO_2H , CO_2 алкилом, арилом и гетероарилом. В некоторых случаях гетероарильная группа замещена одной или более алкильными, и алкоксигруппами. Примеры гетероарильных групп включают, но не ограничиваются ими, тиенил, фурил, пиридил, пирролил, оксазолил, триазилил, триазолил, изотиазолил, изоксазолил, имидазолил, пиразинил, пиримидинил, тиазолил и тиadiaзолил.

Используемый в данном документе термин "алкокси" или "алкоксил" относится к группе "-O-алкил". Алкокси или алкоксильная группа могут быть незамещенными или замещенными.

Используемый в данном документе термин "терапевтически эффективное количество" означает ко-

личество соединения или комбинации терапевтически активных соединений, которое облегчает, ослабляет или устраняет один, или более симптомов конкретного заболевания или состояния (например, рака), или предотвращает или задерживает появление одного или более симптомов определенного заболевания или состояния.

В контексте настоящего описания термины "пациент" и "субъект" могут использоваться взаимозаменяемо и означать животных, таких как собаки, кошки, коровы, лошади и овцы (например, животные, не относящиеся к человеку) и людей. Конкретные пациенты или субъекты являются млекопитающими (например, людьми).

Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый" означает, что указанное вещество, такое как соединение по настоящему раскрытию, или композиция, содержащая соединение, или конкретное вспомогательное вещество, безопасны и подходят для введения пациенту или субъекту. Термин "фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество" относится к среде, которая не влияет на эффективность биологической активности активного ингредиента(ов) и не токсична для хозяина, которому ее вводят.

Раскрытые в данном документе соединения могут быть в виде фармацевтически приемлемых солей. Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к таким солям, которые в рамках здравого медицинского заключения подходят для использования в контакте с тканями людей и низших животных без токсичности, раздражения, аллергического ответа и тому подобное, и они соответствуют разумному соотношению польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, S. M. Berge и другие подробно описывают фармацевтически приемлемые соли в J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19, включенной в настоящий документ в качестве ссылки. Фармацевтически приемлемые соли соединений данного изобретения, включают соли, полученные из подходящих неорганических и органических кислот и оснований. Примерами фармацевтически приемлемых нетоксичных кислотно-аддитивных солей являются соли аминокислот, образованной с неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и хлорная кислота, или с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, трифторуксусная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота, или с использованием других методов, используемых в данной области техники, таких как ионный обмен. Другие фармацевтически приемлемые соли включают адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанепропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, фумарат, глюконогептонат, глицерофосфат, глюконат, глутамат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидроидид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, п-толуолсульфонат, ундеканат, соли валериановой кислоты и тому подобное. Соли соединений, содержащих карбоновую кислоту или другую кислотную функциональную группу, могут быть получены взаимодействием с подходящим основанием. Такие соли включают, но не ограничиваются ими, соли щелочного металла, щелочноземельного металла, алюминия, аммония, соли $N^+(C_{1-4}алкил)_4$ и соли органических оснований, таких как триметиламин, триэтиламин, морфолин, пирдин, пиперидин, пиколлин, дициклогексиламин, N, N'-дибензилэтилендиамин, 2-гидроксиэтиламин, бис-(2-гидроксиэтил)амин, три-(2-гидроксиэтил)амин, прокаин, дибензилпиперидин, дегидроабиетиламин, N, N'-бисдегидроабиетиламин, N-метилглюкамин, коллидин, хинин, хинолин и основные аминокислоты, такие как лизин и аргинин. Данное изобретение также предусматривает кватернизацию любых основных азотсодержащих групп соединений, раскрытых в данном документе. Водно- или маслорастворимые, или диспергируемые продукты могут быть получены с помощью такой кватернизации. Типичные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция, магния и тому подобное. Другие фармацевтически приемлемые соли включают, когда это целесообразно, нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и амина, образованные с использованием противоионов, таких как галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, низший алкилсульфонат и арилсульфонат.

Используемые в данном документе термины "лечение", "лечить" или "лечение" и т.п. включают профилактическое (например, профилактическое) и паллиативное лечение.

Используемый в данном документе термин "вспомогательное вещество" означает любую фармацевтически приемлемую добавку, носитель, разбавитель, адъювант или другой ингредиент, кроме активного фармацевтического ингредиента (АФИ).

Синтез соединений раскрытия.

Описанные в данном документе соединения могут быть получены различными способами с использованием коммерчески доступных исходных материалов, соединений, известных в литературе, или из легко получаемых промежуточных соединений, с использованием стандартных способов и процедур синтеза, известных специалистам в данной области техники, или способов, описанных в данном документе. Синтез описанных в данном документе соединений может быть осуществлен, как правило, следуя

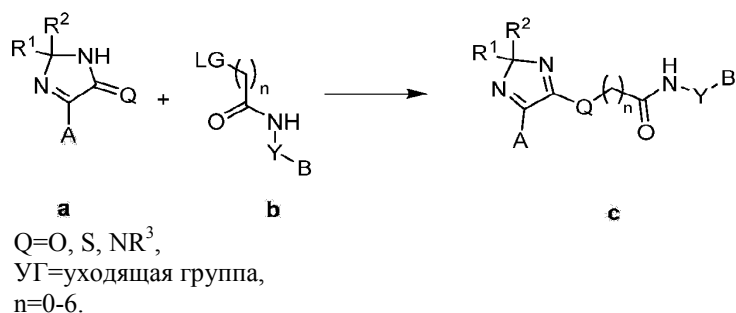
схемам синтеза, как описано в разделе "Примеры", с модификацией для конкретных желаемых заместителей.

Стандартные способы и методики синтеза для получения органических молекул, а также превращений и манипуляций с функциональными группами, легко получают из соответствующей научной литературы или из стандартных учебников в данной области техники. Не ограничиваясь одним или более источниками, классические источники, такие как Smith, M. B., March, J., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5th edition, John Wiley & Sons: New York, 2001; и Greene, T.W., Wuts, P.G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999, являются полезными и признанными справочными пособиями по органическому синтезу, известными специалистам в данной области техники. Следующие ниже описания синтетических способов предназначены для иллюстрации, но не для ограничения общих процедур получения соединений настоящего раскрытия.

Раскрытые в данном документе способы синтеза могут допускать наличие большого количества функциональных групп; поэтому можно использовать различные замещенные исходные материалы. Способы обычно обеспечивают желаемое конечное соединение в конце или почти в конце всего процесса, хотя в некоторых случаях может быть желательно дальнейшее превращение соединения в его фармацевтически приемлемую соль.

Обычно соединения формулы (I) можно синтезировать согласно схеме 1.

Схема 1.



Соединения, имеющие структуру с, можно синтезировать, используя процедуру, представленную на схеме 1. Взаимодействие замещенного производного 2,5-дигидроимидазола а с амидным соединением b в подходящем растворителе, например, ацетонитриле, приводит к соединению, как описано в данном документе, т.е. соединению формулы (I), имеющему структуру с. Амидное соединение b содержит подходящую уходящую группу YG, выбранную в зависимости от природы группы Q, например, галоген или тозилат. Соответствующие реакции дальнейшей дериватизации соединений, имеющих структуру с, могут быть выбраны в зависимости от природы заместителей R¹, R², A, Y и B.

Сочетание соединений а и b может быть катализировано соответствующими реагентами, выбранными на основе природы соединений а и b. Например, когда YG соединения b представляет собой галоген (например, когда YG представляет собой хлор), сочетание соединений а и b может катализироваться основанием, например, карбонатом натрия или карбонатом калия. Иногда для реакции сочетания катализатор может и не требоваться.

Иногда перед сочетанием с соединением, имеющим структуру b, соединение а, имеющее Q, выбранный из O, S и NR³, может быть преобразовано в соединение, имеющее Q, выбранный из другого члена группы, состоящей из O, S и NR³, обработкой подходящим реагентом. Например, соединение, имеющее структуру а с Q=O, может быть преобразовано в соединение, имеющее структуру а с Q=S, обработкой реагентом для тианирования, например, реагентом Лавессона или пентасульфидом фосфора. Такое соединение затем может быть приведено в сочетание с соединением, имеющим структуру b, с получением соединения, описанного в данном документе, т.е., соединения формулы (I), имеющего структуру с.

Соединения а и b можно приобрести коммерчески или получить различными способами из коммерчески доступных исходных материалов. Например, амидные соединения, имеющие структуру b, могут быть получены взаимодействием, например, ацилхлорида с амином.

Дальнейшие реакции дериватизации для превращения соединений, имеющих структуру с, в другие соединения, описанные в данном документе, могут быть выбраны на основе природы заместителей R¹, R², A, Y и B в соединении с и желаемой функциональности производного соединения. Например, R¹ и R² вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, могут образовывать гетероциклическое кольцо, например, пиперидиновое кольцо, которое можно дополнительно дериватизировать способами, известными в данной области техники (например, метилированием, добавлением защитных групп, и т.д.) с образованием множества других соединений Формулы (I), описанных в данном документе.

Фармацевтические композиции, дозировка и способы введения.

Кроме того, предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие соединение, описанное в

данном документе (например, соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли) и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Описанные в данном документе соединения можно вводить субъекту в терапевтически эффективном количестве (например, в количестве, достаточном для предотвращения или облегчения симптомов заболевания или расстройства, связанного с aberrантным EGFR). Соединения можно вводить отдельно или как часть фармацевтически приемлемой композиции или состава. Кроме того, соединения можно вводить все сразу, несколько раз или доставлять, по существу, равномерно в течение периода времени. Также следует отметить, что доза соединения может меняться со временем.

Конкретный режим введения для конкретного субъекта будет частично зависеть от соединения, количества вводимого соединения, пути введения, а также причины и степени любых побочных эффектов. Количество соединения, вводимого субъекту (например, млекопитающему, такому как человек) в соответствии с раскрытием, должно быть достаточным для достижения желаемого ответа в течение разумного периода времени. Дозировка обычно зависит от пути, времени и частоты введения. Соответственно, клиницист определяет дозировку и изменяет путь введения для получения оптимального терапевтического эффекта, и обычные способы определения диапазона известны специалистам в данной области техники.

Чисто в качестве иллюстрации способ включает введение, например, от около 0,1 до около 100 мг/кг соединения, как описано в данном документе, в зависимости от факторов, упомянутых выше. В других вариантах реализации дозировка составляет от около 1 до около 100 мг/кг; или от около 5 до около 100 мг/кг; или от около 10 до около 100 мг/кг. Некоторые состояния требуют длительного лечения, которое может или не может повлечь за собой введение более низких доз соединения в течение нескольких введений. Если желательно, дозу соединения вводят в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более субдоз, вводимых отдельно с соответствующими интервалами в течение дня, необязательно в стандартных лекарственных формах. Период лечения будет зависеть от конкретного состояния и может длиться от одного дня до нескольких месяцев.

Подходящие способы введения физиологически приемлемой композиции, такой как фармацевтическая композиция, содержащая описанные в данном документе соединения (например, соединения формулы (I)), хорошо известны в данной области техники. Хотя для введения соединения можно использовать более одного пути, конкретный путь может обеспечить более немедленную и более эффективную реакцию, чем другой путь. В зависимости от обстоятельств фармацевтическая композиция, содержащая соединение, наносится или закапывается в полости тела, всасывается через кожу или слизистые оболочки, проглатывается, вдыхается и/или вводится в кровоток. Например, в определенных обстоятельствах будет желательно доставить фармацевтическую композицию, содержащую агент, перорально, посредством инъекции или одним из следующих способов: внутривенным, внутрибрюшинным, внутримозговым (внутрипаренхиматозным), внутрицеребровентрикулярным, внутримышечным, внутриглазным, внутриартериальным, интрапортальным, внутриочаговым, интрамедуллярным, интратекальным, внутрижелудочковым, трансдермальным, подкожным, внутрибрюшинным, интраназальным, энтеральным, местным, сублингвальным, уретральным, вагинальным или ректальным. Соединение можно вводить с помощью систем с замедленным высвобождением или с помощью устройств для имплантации.

Для облегчения введения соединения, в различных аспектах, входит в состав физиологически приемлемой композиции, содержащей носитель (например, носитель, адъювант или разбавитель). Конкретный используемый носитель ограничен только химико-физическими соображениями, такими как растворимость и отсутствие реакционной способности с соединением, а также путем введения. Физиологически приемлемые носители хорошо известны в данной области техники. Примерные фармацевтические формы, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий (например, см. патент США № 5466468). Составы для инъекций дополнительно описаны, например, в *Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa., Banker and Chalmers, eds., p. 238-250 (1982), и *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4th ed., p. 622-630 (1986)). Фармацевтическая композиция, содержащая соединение, в одном аспекте помещается в контейнеры вместе с упаковочным материалом, который предоставляет инструкции относительно использования таких фармацевтических композиций. Обычно такие инструкции включают текст, описывающий концентрацию реагента, а также, в некоторых вариантах реализации, относительные количества вспомогательных ингредиентов или разбавителей (например, воды, физиологического раствора или PBS), которые могут быть необходимы для восстановления фармацевтической композиции.

Композиции, подходящие для парентерального введения, могут включать физиологически приемлемые стерильные водные или неводные растворы, дисперсии, суспензии или эмульсии и стерильные порошки для восстановления в стерильные растворы или дисперсии для инъекций. Примеры подходящих водных и неводных носителей, разбавителей, растворителей или носителей включают воду, этанол, полиолы (пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, глицерин и т.п.), их подходящие смеси, растительные масла (например, оливковое масло) и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат. Подходящая текучесть может поддерживаться, например, путем использования покрытия, такого как

лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и путем использования поверхностно-активных веществ.

Эти композиции могут также содержать адъюванты, такие как консерванты, смачивающие, эмульгирующие и диспергирующие агенты. Загрязнение микроорганизмами можно предотвратить путем добавления различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, сорбиновой кислоты и т.п. Также может быть желательно включить изотонические агенты, например, сахара, хлорид натрия и тому подобное. Пролонгированная абсорбция инъектируемых композиций может быть достигнута путем использования агентов, замедляющих абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

Твердые дозирочные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, порошки и гранулы. В таких твердых лекарственных формах активное соединение смешано по меньшей мере с одним инертным обычным вспомогательным веществом (или носителем), таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат, или (a) наполнителями или вспомогательными веществами, например, крахмалом, лактозой, сахарозой, маннитом и кремниевой кислотой; (b) связывающими веществами, такими как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и гуммиарабик; (c) увлажнителями, например глицерин; (d) дезинтегрирующими агентами, такими как, например, агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые сложные силикаты и карбонат натрия; (e) замедлителями растворения, например парафином; (f) ускорителями абсорбции, например, соединениями четвертичного аммония; (g) смачивающими агентами, такими как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина; (h) адсорбентами, например каолином и бентонитом; и (i) смазывающими веществами, такими как, например, тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия или их смеси. В случае капсул и таблеток дозирочные формы могут также содержать буферные агенты. Твердые композиции подобного типа могут быть также использованы в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах, используя такие формообразующие, как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и тому подобное.

Твердые дозирочные формы такие как таблетки, драже, капсулы, пилюли и гранулы могут быть приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолнубильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области техники. Твердые лекарственные формы могут также содержать рентгеноконтрастные агенты. Кроме того, твердые лекарственные формы могут представлять собой композиции для заливки, так что они высвобождают активное соединение или соединения в определенной части кишечного тракта замедленным образом. Примерами композиций для заливки, которые могут быть использованы, являются полимерные вещества и воски. Активные соединения могут также находиться в микроинкапсулированной форме с одним или более вспомогательными веществами.

Жидкие дозирочные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к активным соединениям жидкая дозирочная форма может содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области, такие как, вода или другие растворители, сольбуилирующие агенты и эмульгаторы, например, этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла, в частности, хлопковое масло, арахисовое масло, кукурузное масло, масло из проростков, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбитана, и их смеси, и тому подобное.

Кроме инертных разбавителей композиции могут также включать вспомогательные средства, такие как смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подсластители, вкусовые агенты и ароматизирующие агенты. Суспензии, помимо активного соединения, могут содержать суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбитол и сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант или смеси этих веществ, и тому подобное.

После приготовления растворы будут вводиться способом, совместимым с лекарственной композицией, и в таком количестве, которое является терапевтически эффективным. Композиции легко вводятся в различных лекарственных формах, таких как растворы для инъекций, капсулы с высвобождением лекарства и т.п. Для парентерального введения в водном растворе, например, раствор должен быть соответствующим образом забуферен, если необходимо, и жидкий разбавитель сначала должен быть изотоническим с помощью достаточного количества физиологического раствора или глюкозы. Эти конкретные водные растворы особенно подходят для внутривенного, внутримышечного, подкожного и внутрибрюшинного введения.

В юрисдикциях, которые запрещают патентование способов, которые практикуются на человеческом теле, значение термина "введение" композиции субъекту-человеку должно ограничиваться назначением контролируемого вещества, которое субъект-человек будет вводить самостоятельно любым способом (например, перорально, ингаляционно, посредством местного применения, инъекции, введения и т.д.). Предполагается максимально широкое разумное толкование, соответствующее законам или поста-

новлениям, определяющим патентоспособный объект. В юрисдикциях, которые не запрещают патентование способов, которые практикуются на человеческом теле, значение термина "введение" композиции включает как способы, применяемые на человеческом теле, так и вышеупомянутые действия.

Способы применения.

Описанные в данном документе соединения могут модулировать EGFR. В некоторых вариантах реализации соединения ингибируют димеризацию EGFR. В различных вариантах реализации соединения вызывают деградацию EGFR.

Хотя EGFR был четко идентифицирован как онкоген и важная молекулярная мишень при раке, все еще существует большая потребность и возможность в улучшенном подходе к модуляции активности этого онкогена. Используя проникающий в клетку пептид, который блокирует димеризацию (дисраптин) или миРНК, было показано, что деградация EGFR имеет глубокий эффект на выживаемость клеток, даже в TKI резистентных клетках (14, 23, 25, 26). Не ограничиваясь теорией, предполагается, что деградация активного EGFR (находящегося в больших количествах в опухолях) под действием малой молекулы, которая ингибирует димеризацию, является селективной, поскольку большинство нормальных клеток не экспрессируют высокие уровни EGF/EGFR и поэтому образуют симметричные димеры, которые, как ожидается, не будут подвержены влиянию Соединения 8С. Этот подход эффективен даже в TKI-резистентных опухолевых клетках, потому что димерный интерфейс в TKI-устойчивых опухолях остается неизменным (см. фиг. 1А и 1В). Описанный в данном документе подход уникален по сравнению с одобренными в настоящее время способами лечения. Деградируя белок EGFR, а не просто подавляя его киназную активность, на доклинических моделях был продемонстрирован широкий спектр активности, в то же время улучшая способность нацеливаться на опухолевую ткань из-за того, что этот агент влияет только на EGF-связанный EGFR, уровень которого выше в опухолевых клетках по сравнению с нормальной тканью, тем самым улучшая профиль безопасности и терапевтическое окно.

Подход деградации EGFR, а не просто ингибирования его киназной активности преодолевает устойчивость к осимертинибу, которая неизменно развивается у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. В то время как основное внимание в этой заявке уделяется раку легких, существуют дополнительные и важные клинические возможности для других видов рака, которые вызваны EGFR, таких как рак головы и шеи, колоректальный рак и глиобластома. Таким образом, целенаправленная селективная деградация онкопротеина в опухолях представляет собой новый механизм, выходящий за рамки ингибирования киназной активности, и этот подход может быть применим к другим онкогенным белкам (HYPERLINK\ "_ENREF_22" \o "Cuneo, 2015 #23" 22, HYPERLINK\ "_ENREF_25" \o "Raina, 2016 #26" 25, HYPERLINK\ "_ENREF_26" \o "Crews, 2016 #27" 26, HYPERLINK\ "_ENREF_46" \o "Corcoran, 2012 #71" 46).

Раскрытые в данном документе соединения особенно полезны для лечения или профилактики заболеваний, или нарушений, вызванных aberrантной активностью EGFR.

Используемый в данном документе термин "абerrантная активность EGFR" относится к активности, связанной с мутацией и сверхэкспрессией рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). Такая мутация и сверхэкспрессия связаны с развитием множества видов рака (Shan et al., Cell 2012, 149(4) 860-870).

Учитывая важность биологических ролей EGFR, соединения по данному описанию полезны для ряда применений в различных условиях. Например, что наиболее упрощенно, активные агенты по данному изобретению могут быть использованы для ингибирования димеризации EGFR в клетке. В этом отношении данные раскрытия предлагают способ ингибирования димеризации EGFR в клетке. Способ включает приведение клетки в контакт с соединением по данному изобретению или его фармацевтически приемлемой солью в количестве, эффективном для ингибирования димеризации. В некоторых аспектах, клетка является частью *in vitro* или *ex vivo* клеточной культуры или *in vitro* или *ex vivo* образца ткани. В некоторых аспектах клетка является клеткой *in vivo*. В некоторых вариантах реализации способ предназначен для исследовательских целей, а в других вариантах реализации способ предназначен для терапевтических целей.

Ингибирование димеризации EGFR приводит к увеличению деградации EGFR. Соответственно, данные раскрытия дополнительно предоставляют способ увеличения деградации EGFR в клетке. Способ включает приведение клетки в контакт с соединением по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой солью в количестве, эффективном для усиления деградации. В некоторых аспектах, клетка является частью *in vitro* или *ex vivo* клеточной культуры или *in vitro* или *ex vivo* образца ткани. В некоторых аспектах клетка является клеткой *in vivo*. В некоторых вариантах реализации способ предназначен для исследовательских целей, а в других вариантах реализации способ предназначен для терапевтических целей.

Как показано в данном документе, соединение, которое ингибирует димеризацию EGFR, увеличивает гибель опухолевых клеток. Таким образом, в настоящем описании предложен способ увеличения гибели опухолевых клеток у субъекта. Способ включает введение субъекту соединения по данному изобретению или его фармацевтически приемлемой соли в количестве, эффективном для увеличения гибели опухолевых клеток.

В соответствии с вышеизложенным в данном описании дополнительно предложен способ лечения рака у субъекта. Способ включает введение субъекту соединения по данному изобретению или его фармацевтически приемлемой соли в количестве, эффективном для лечения рака у субъекта.

Используемый в данном документе термин "лечить", а также относящиеся к нему слова не обязательно означают 100% или полное лечение. Скорее, существуют различные степени лечения, которые специалист в данной области техники признает имеющими потенциальную пользу или терапевтический эффект. В этом отношении способы лечения рака согласно настоящему описанию могут обеспечивать любое количество или любой уровень лечения рака. Кроме того, лечение, обеспечиваемое способом по данному раскрытию, может включать лечение одного или более состояний, или симптомов рака, подлежащего лечению. Кроме того, лечение, обеспечиваемое способами по данному раскрытию, может включать замедление прогрессирования рака. Например, с помощью способов можно лечить рак за счет уменьшения роста опухоли или рака, уменьшения метастазирования опухолевых клеток, увеличения гибели опухолевых или раковых клеток и т.п.

Рак, излечиваемый описанными в данном документе способами, может быть любым раком, например, любым злокачественным новообразованием или опухолью, вызванной аномальным и неконтролируемым делением клеток, которое может распространяться на другие части тела через лимфатическую систему или кровоток. В некоторых вариантах реализации рак представляет собой рак, при котором EGFR экспрессируется клетками рака. В некоторых аспектах рак представляет собой рак, при котором белок EGFR чрезмерно экспрессируется, ген, кодирующий EGFR, амплифицируется и/или экспрессируется мутантный белок EGFR (например, усеченный EGFR, точно-мутированный EGFR).

В некоторых аспектах рак выбран из группы, состоящей из острого лимфоцитарного рака, острого миелоидного лейкоза, альвеолярной рабдомиосаркомы, рака костей, рака мозга, рака груди, рака заднего прохода, анального канала или аноректума, рака глаза, рака внутрипеченочного желчного протока, рака суставов, рака шеи, желчного пузыря или плевры, рака носа, полости носа или среднего уха, рака полости рта, рака вульвы, лейкоза (например, хронический лимфоцитарный лейкоз), хронического миелоидного рака, рака толстой кишки, рака пищевода, рака шейки матки, карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, лимфомы Ходжкина, рака гипоталамуса, рака почек, рака гортани, рака печени, рака легких, злокачественной мезотелиомы, меланомы, множественной миеломы, рака носоглотки, неходжкинской лимфомы, рака яичников, рака поджелудочной железы, брюшины, сальника и брыжейки, рака глотки, рака простаты, рака прямой кишки, рака почек (например, почечно-клеточная карцинома (ГЖР)), рака тонкой кишки, рака мягких тканей, рака желудка, рака яичек, рака щитовидной железы, рака мочеочника и рака мочевого пузыря. В конкретных аспектах рак выбран из группы, состоящей из: рака головы и шеи, яичников, шейки матки, мочевого пузыря и пищевода, рака поджелудочной железы, желудочно-кишечного тракта, рака желудка, груди, эндометрия и колоректального рака, гепатоцеллюлярной карциномы, глиобластомы, рака мочевого пузыря, рака легких, например, немелкоклеточный рак легкого (HMPX), бронхиолоальвеолярная карцинома. В конкретных аспектах рак представляет собой рак, устойчивый к осимертинибу. В некоторых случаях рак представляет собой рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, меланому, рак толстой кишки, рак почек, лейкоз или рак груди. В некоторых случаях рак представляет собой меланому, рак толстой кишки, рак почек, лейкоз или рак груди.

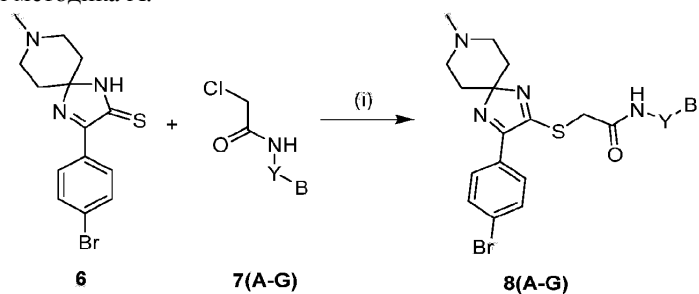
Использование соединений раскрыто в данном документе в описании получения лекарственного средства для модуляции EGFR или для лечения, или профилактики заболевания или расстройства, связанного с aberrантной активностью EGFR.

Раскрытие в данном документе будет легче понять со ссылкой на следующие ниже примеры.

Принимая во внимание множество возможных вариантов реализации, к которым могут применяться принципы данного изобретения, следует понимать, что проиллюстрированные варианты реализации являются только примерами и не должны рассматриваться как ограничивающие объем данного изобретения.

Примеры

Пример 1. Общая методика А.



Условия реакции:

(i) 2М водн. K_2CO_3 , ацетонитрил, 40°C,

7А гидрохлорид 2-хлор-N-(6-метоксипиридин-2-ил)ацетамид,

7В 2-хлор-N-(6-хлорпиридин-3-ил)ацетамид,

7С 2-хлор-N-хинолин-3-ил-ацетамид,
 7D гидрохлорид 2-хлор-N-(пиридин-4-ил)ацетамид,
 7E 2-хлор-N-циклогексилацетамид,
 7F 2-хлор-N-циклогексилацетамид.
 7G N-бензил-2-хлорацетамид.

К раствору 3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-3-ен-2-тиона 6 в безводном ацетонитриле добавляли ацетамид 7А-Г (1 экв.). Реакционную смесь нагревали до 40°C. Затем к реакционной смеси добавляли 2М водный раствор карбоната калия (1 экв.). Реакцию поддерживали при 40°C до тех пор, пока ТСХ не показала полную реакцию исходных материалов и новое пятно R_f (обычно 2-6 часов). После завершения реакции по ТСХ реакционную смесь обрабатывали. Неочищенную реакционную смесь выливали в делительную воронку и добавляли этилацетат и воду. Органический слой отделяли и затем промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (1 х). Затем органический слой сушили над безводным $MgSO_4$, фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением сырого продукта. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией. Неочищенный продукт загружали на колонку с силикагелем, используя минимальное количество этилацетата. Колонку помещали поверх другой предварительно уравновешенной колонки с силикагелем. Обычно для элюирования продукта использовали градиент этилацетата в гептане (1-100%) или метанола в дихлорметане (0-10%). Фракции продукта концентрировали при пониженном давлении с получением желаемого продукта.

Пример 2. Синтез соединения 8А. (2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(6-метоксипиридин-3-ил)ацетамид).

Использовали общую методику А, используя ацетамид 7А. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией при элюировании 10% раствором метанола/дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 10,30 (с, 1H), 8,31 (д, $J=2,29$ Гц, 1H), 7,74-7,86 (м, 5H), 6,78 (д, $J=8,87$ Гц, 1H), 4,14 (с, 2H), 3,79 (с, 3H), 2,50-2,67 (м, 4H), 2,24 (с, 3H), 1,55-1,75 (м, 4H); МС (ЭСИ+m/z 503,10, ЭСИ-m/z 501,10); ТСХ: (90:10:0,5, ДХМ:MeOH:NH₄OH) $R_f=0,56$.

Пример 3. Синтез соединения 8В. (2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(6-хлорпиридин-3-ил)ацетамид).

Использовали общую методику А, используя ацетамид 7В. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией при элюировании 10% раствором метанола/дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 10,72 (с, 1H), 8,63 (с, 1H), 8,10 (уш. д, $J=9,15$ Гц, 1H), 7,85 (кв, $J=8,23$ Гц, 4H), 7,53 (д, $J=8,60$ Гц, 1H), 4,24 (с, 2H), 2,56-2,81 (м, 4H), 2,27 (уш. с, 3H), 1,55-1,85 (м, 4H); МС (ЭСИ+m/z 507,95, ЭСИ-m/z 505,95); ТСХ: (95:5:0,5, ДХМ:MeOH:NH₄OH) $R_f=0,17$.

Пример 4. Синтез соединения 8С. (2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид).

Использовали общую методику А, используя ацетамид 7С. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией при элюировании 10% раствором метанола/дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 10,89 (уш. С, 1H), 8,95 (с, 1H), 8,67 (с, 1H), 7,96 (уш. д, $J=8,33$ Гц, 1H), 7,92 (уш. д, $J=8,33$ Гц, 1H), 7,78-7,87 (м, 4H), 7,52-7,72 (м, 2H), 4,29 (с, 2H), 2,43-2,52 (м, 4H), 2,18 (уш. с, 3H), 1,55-1,85 (м, 4H); МС (ЭСИ+m/z 523,05, ЭСИ-m/z 521,00); ТСХ: (90:10:0,5, ДХМ:MeOH:NH₄OH) $R_f=0,47$.

Пример 5. Синтез соединения 8D. (2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(пиридин-4-ил)ацетамид).

Использовали общую методику А, используя ацетамид 7D. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией при элюировании 13% раствором метанола/дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 10,66 (с, 1H), 8,41 (уш. д, $J=6,13$ Гц, 2H), 7,78 (кв, $J=8,51$ Гц, 4H), 7,52 (д, $J=6,04$ Гц, 2H), 4,18 (с, 2H), 2,50-2,73 (м, 4H), 2,19 (уш. С, 3H), 1,28-1,91 (м, 4H); МС (ЭСИ+m/z 473,05, ЭСИ-m/z 471,05); ТСХ: (90:10:0,5, ДХМ:MeOH:NH₄OH) $R_f=0,24$.

Пример 6. Синтез соединения 8Е. (2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-циклогексилацетамид).

Использовали общую методику А, используя ацетамид 7Е. Следуя процедуре обработки в общей методике А, получали указанное в заголовке соединение без очистки на колонке. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 8,04 (уш. д, $J=7,78$ Гц, 1H), 7,78 (кв., $J=8,63$ Гц, 4H), 3,89 (с, 2H), 3,45-3,55 (м, 1H), 2,50-2,71 (м, 4H), 2,29 (с, 3H), 1,58-1,80 (м, 7H), 1,51 (уш. д, $J=12,44$ Гц, 1H), 1,05-1,28 (м, 6 H)); МС (ЭСИ+m/z 478,90, ЭСИ-m/z 476,90); ТСХ: (90:10:0,5, ДХМ:MeOH:NH₄OH) $R_f=0,60$.

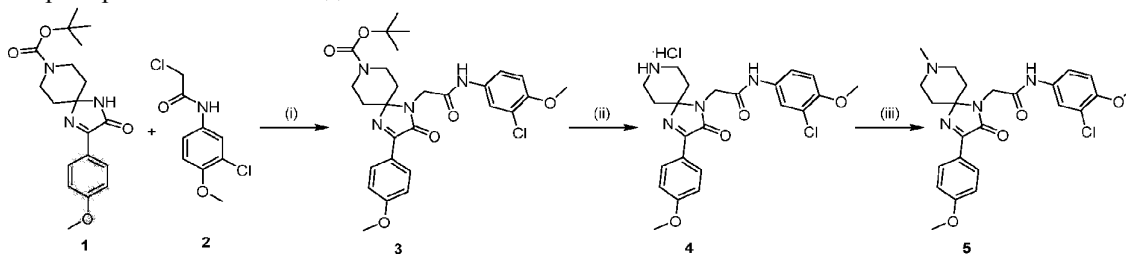
Пример 7. Синтез соединения 8F. (2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5] дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-циклопентилацетамид).

Использовали общую методику А, используя ацетамид 7F. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией при элюировании 10% раствором метанола/дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 8,15 (уш. д, $J=6,77$ Гц, 1H), 7,79 (кв., $J=8,42$ Гц, 4H), 3,92-4,01 (м, 1H), 3,91 (с, 2H), 2,50-2,71 (м, 4H), 2,32 (с, 3H), 1,58-1,82 (м, 8H), 1,45-1,54 (м, 2H), 1,38 (тд, $J=6,27$, 12,35 Гц, 2H); МС (ЭСИ+m/z 464,10, ЭСИ-m/z 462,15); ТСХ: (90:10:0,5, ДХМ:MeOH:NH₄OH) $R_f=0,62$.

Пример 8. Синтез соединения 8G. (N-бензил-2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)ацетамид).

Использовали общую методику А, используя ацетамид 7G. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией при элюировании 10% раствором метанола/дихлорметана с получением указанного в заголовке соединения. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,65 (уш. т, $J=5,81$ Гц, 1H), 7,73-7,82 (м, 4H), 7,17-7,30 (м, 5H), 4,27 (д, $J=5,95$ Гц, 2H), 3,99 (с, 2H), 2,50-2,73 (м, 5 H), 2,28 (с, 3H), 1,66 (уш. с, 3H); МС (ЭСИ+ m/z 486,00, ЭСИ- m/z 484,10); ТСХ: (90:10:0,5, ДХМ:МеОН: NH_4OH) $R_f=0,59$.

Примеры 9-11. Синтез соединений 3-5.



(i) NaH, ДМФА, 40°C;

(ii) 4M HCl в диоксане;

(iii) 37 мас.% водный раствор формальдегида, NaBH(OAc)_3 , МеОН.

Пример 9. Синтез соединения 3. (трет-бутил-4-(2-((3-хлор-4-метоксифенил)амино)-2-оксоэтил)-2-(4-метоксифенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоновая кислота).

К раствору трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата, 1 в безводном ДМФА добавляли гидрид натрия (2 экв.). Реакционную смесь нагревали до 40°C в течение тридцати минут. Затем к реакционной смеси добавляли 2-хлор-N-(3-хлор-4-метоксифенил)ацетамид гидрохлорид, 2 (1,76 экв.). Реакционную смесь выдерживали при 40°C и перемешивали в потоке N_2 . Через пять часов реакционная смесь была очищена, хотя ТСХ показала, что исходный материал остался. Неочищенную реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и затем наносили на силикагель. Сухой загруженный материал помещали в колонку сухой загрузки и уплотняли. Колонку с сухой загрузкой помещали сверху предварительно уравновешенной (1% этилацетат в гептане) колонки с силикагелем. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии, элюируя градиентом 1-100% этилацетата в гептане. Желаемые фракции (элюирование 50% этилацетатом) собирали и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) 8,67 (с, 1H), 8,46 (д, $J=8,97$ Гц, 2H), 7,55 (д, $J=2,56$ Гц, 1H), 7,27-7,39 (м, 1H), 6,99 (д, $J=8,97$ Гц, 2H), 6,84 (д, $J=8,87$ Гц, 1H), 4,01-4,22 (м, 2H), 3,88 (с, 3H), 3,86 (с, 3H), 3,39 (м, 2H), 2,21 (дт, $J=4,80$, 12,69 Гц, 2H), 1,50 (с, 9H), 1,19-1,40 (м, 4H); МС (ЭСИ+ m/z 501, ЭСИ- m/z 556,15); ТСХ: (50:50 ЭА:гептан) $R_f=0,21$.

Пример 10. Синтез соединения 4. (N-(3-хлор-4-метоксифенил)-2-(3-(4-метоксифенил)-2-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-3-ен-1-ил)ацетамид гидрохлорид).

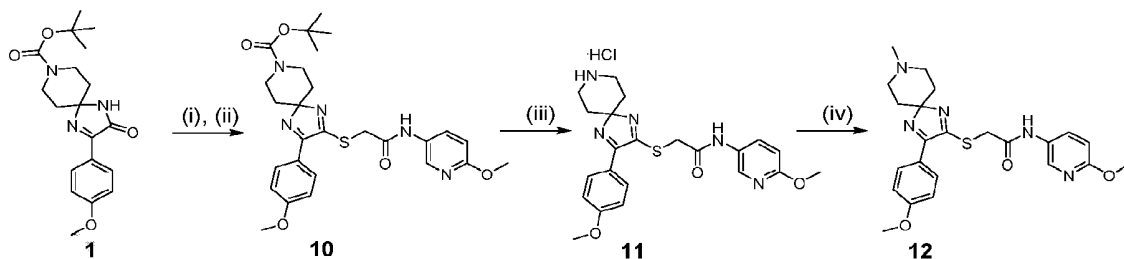
К раствору 3, трет-бутил-4-(2-((3-хлор-4-метоксифенил)амино)-2-оксоэтил)-2-(4-метоксифенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата в безводном диоксане добавляли 4M HCl в диоксане (3,3 экв.). Через один час по ТСХ не наблюдали прохождения реакции, поэтому добавляли дополнительную порцию 4M HCl в диоксане (3,3 экв.). Через час наблюдалось новое пятно (базовая линия), но исходный материал оставался. Добавляли дополнительную порцию 4M HCl в диоксане (3,3 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение ночи. В течение ночи в реакционной смеси образовывался желтый осадок. Твердое вещество фильтровали через воронку с фриттой и промывали избытком диоксана. Твердое вещество переносили в ампулу и сушили при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) 10,48 (с, 1H), 9,22 (уш. д, $J=9,70$ Гц, 1H), 8,93 (уш. д, $J=10,70$ Гц, 1H), 8,39 (д, $J=8,97$ Гц, 2H), 7,78 (д, $J=2,47$ Гц, 1H), 7,45 (дд, $J=2,52$, 9,01 Гц, 1H), 7,07-7,14 (м, 3H), 4,98 (уш. с, 2H), 4,25 (с, 2H), 3,84 (с, 3H), 3,81 (с, 3H), 3,39-3,48 (м, 2H), 3,25-3,39 (м, 2H), 1,55 (уш. д, $J=13,45$ Гц, 2H); МС (ЭСИ+ m/z 457,10, ЭСИ- m/z 455,10); ТСХ: (95:5:0,5, ДХМ:МеОН: NH_4OH) $R_f=0,03$.

Пример 11. Синтез соединения 5. (N-(3-хлор-4-метоксифенил)-2-(3-(4-метоксифенил)-8-метил-2-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-3-ен-1-ил)ацетамид).

К раствору 4, N-(3-хлор-4-метоксифенил)-2-(3-(4-метоксифенил)-2-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-3-ен-1-ил)ацетамид гидрохлорида в метаноле добавляли водный раствор формальдегида (37% масс, раствор, 7 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 минут, затем добавляли триацетоксиборгидрид натрия (3 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. На следующее утро ТСХ (95:5:0,5, ДХМ:МеОН: NH_4OH) показала, что реакция завершилась с появлением нового пятна с более высоким R_f . Неочищенную реакционную смесь выливали в делительную воронку. В делительную воронку добавляли дихлорметан. Органический слой промывали насыщенным водным Na-

HCO_3 (1 х), а затем насыщенным водным раствором хлорида натрия (1 х). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) 10,15 (с, 1H), 8,34 (д, $J=8,97$ Гц, 2H), 7,74 (д, $J=2,47$ Гц, 1H), 7,39 (дд, $J=2,56, 8,97$ Гц, 1H), 7,03-7,12 (м, 3H), 4,24 (с, 2H), 3,81 (с, 3H), 3,80 (с, 3H), 2,78 (уш. С, 2H), 2,29 (уш. С, 3H), 2,15-2,26 (м, 2H) 1,13-1,33 (м, 3H); МС (ЭСИ+ m/z 471,10); ТСХ: (95:5:0,5, ДХМ:MeOH: NH_4OH) $R_f=0,23$.

Примеры 12-14. Синтез соединений 10, 11 и 12.



(i) реагент Лавессона, ТГФ;

(ii) 2, 9, 2М водн.раствор K_2CO_3 , ацетонитрил;

(iii) 4М HCl в диоксане;

(iv) 37 мас.% водный раствор формальдегида, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, MeOH.

Пример 12. Синтез соединения 10. (трет-Бутил 2-(4-метоксифенил)-3-((2-((6-метоксипиридин-3-ил)амино)-2-оксоэтилтио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилат).

К раствору трет-бутил-2-(4-метоксифенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата, 1 в безводном ТГФ добавляли реагент Лавессона (1 экв.). Реакционной смеси давали перемешиваться в течение 48 часов при комнатной температуре перед тем, как неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией. Неочищенную реакционную смесь наносили в сухом виде на силикагель. Сухой загруженный материал помещали в колонку сухой загрузки и уплотняли. Колонку с сухой загрузкой помещали сверху предварительно уравновешенной (2% этилацетат в гептане) колонки с силикагелем. Неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии, элюируя градиентом 2-100% этилацетата в гептане. Желаемые фракции (элюирование 50% этилацетатом) собирали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного твердого вещества. Твердое вещество растирали со смесью гептана, дихлорметана и этилацетата (3:2:1 об.об.) и фильтровали через воронку с фриттой, получая 9-трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилат. МС (ЭСИ+ m/z 376,9, ЭСИ- m/z 374,9); ТСХ: (95:0,5:0,5, ДХМ:MeOH: NH_4OH) $R_f=0,68$.

Затем к раствору трет-бутил-2-(4-метоксифенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата 9 в безводном ацетонитриле добавляли гидрохлорид 2-хлор-N-(3-хлор-4-метоксифенил)ацетамида, 2 (1 экв.). Реакционную смесь нагревали до 40°C . Затем к реакционной смеси добавляли 2М водный раствор карбоната калия (2 экв.). Реакция продолжалась при 40°C в течение ночи, пока ТСХ не показала израсходование исходных веществ и не наблюдались два новых пятна с более низким R_f . Неочищенную реакционную смесь выливали в делительную воронку. В воронку добавляли этилацетат и воду. Отделяли органический слой, а затем промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (1 раз). Затем органический слой сушили над безводным MgSO_4 , фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением сырого продукта. Неочищенный продукт загружали на колонку с силикагелем, используя минимальное количество дихлорметана. Колонку помещали поверх другой предварительно уравновешенной колонки с силикагелем. Для элюирования продукта с помощью флэш-хроматографии использовали градиент этилацетат в гептане (1-35%). Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) 10,30 (с, 1H), 8,32 (д, $J=2,38$ Гц, 1H), 7,84-7,91 (м, 3H), 7,12 (д, $J=8,97$ Гц, 2H), 6,80 (д, $J=8,97$ Гц, 2H), 4,15 (с, 2H), 3,84 (с, 3H), 3,82 (с, 3H), 3,63-3,72 (м, 2H), 3,47-3,56 (м, 2H), 1,72 (уш. т, $J=8,78$ Гц, 2H), 1,42 (уш. с, 11H); МС (ЭСИ+ m/z 540,20, ЭСИ- m/z 538,15); ТСХ: (50:50, ЭА:Гепт) $R_f=0,29$.

Пример 13. Синтез соединения 11. (гидрохлорид 2-((3-(4-метоксифенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(6-метоксипиридин-3-ил)ацетамида).

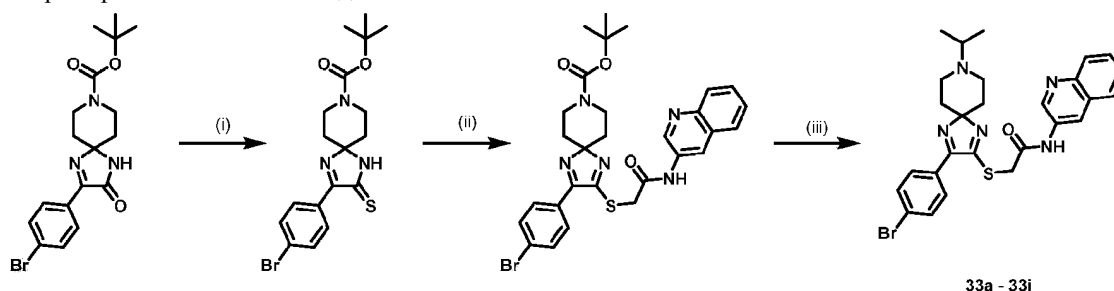
К раствору 10, трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-((2-((6-метоксипиридин-3-ил)амино)-2-оксоэтилтио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата в безводном диоксане добавляли 4М HCl в диоксане (3 экв.). Через два часа при ТСХ не обнаруживалось исходных веществ, и образовалось новое пятно (базовая линия). В реакционной смеси образовывался желтый осадок. Твердое вещество фильтровали через воронку с фриттой и промывали избытком диоксана. Твердое вещество было неочищенным, поэтому его загружали на колонку с диоксидом кремния, используя минимальное количество дихлорметана. Для элюирования продукта с помощью флэш-хроматографии использовали градиент метанол в дихлорметане (0-15%). Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении с по-

лучением указанного в заголовке соединения. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) 10,40 (с, 1H), 8,45-8,60 (уш.с, 1H), 8,25-8,43 (м, 1H), 7,85-7,93 (м, 3H), 7,12 (д, $J=8,87$ Гц, 2H), 6,80 (д, $J=8,78$ Гц, 2H), 4,18 (с, 2H), 3,84 (с, 3H), 3,81 (с, 3H), 3,22-3,56 (м, 4H), 1,84-2,01 (м, 2H), 1,60-1,75 (м, 2H); МС (ЭСИ+ m/z 440,10, ЭСИ- m/z 438,10); ТСХ: (50:50, ЭА:Гепт.) $R_f=0,25$.

Пример 14. Синтез Соединения 12. 2-((3-(4-метоксифенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(6-метоксипиридин-3-ил)ацетамид.

К раствору 11, гидрохлорида 2-((3-(4-метоксифенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(6-метоксипиридин-3-ил)ацетамида в 95:5 дихлорметан:метанол добавляли водный формальдегид (37% масс, раствор, 7 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение одного часа, затем добавляли триацетоксиборгидрид натрия (3 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. На следующее утро ТСХ (95:5:0,5, ДХМ:MeOH:NH₄OH) показала, что реакция завершилась с появлением нового пятна с более высоким R_f . Неочищенную реакционную смесь выливали в делительную воронку. В делительную воронку добавляли дихлорметан и воду. Органический слой отделяли и промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (1 раз). Затем органический слой сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт содержал примеси, поэтому его загружали на колонку с диоксидом кремния, используя минимальное количество дихлорметана. Для элюирования продукта с помощью флэш-хроматографии использовали градиент метанол в дихлорметане (0-10%). Фракции с продуктом концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,33 (с, 1H), 8,35 (д, $J=2,38$ Гц, 1H), 7,85-7,91 (м, 3H), 7,12 (д, $J=8,02$ Гц, 2H), 6,81 (д, $J=9,06$ Гц, 1H), 4,16 (с, 2H), 3,85 (с, 3H), 3,82 (с, 3H), 2,53-2,81 (м, 4H), 2,15-2,40 (м, 2H), 1,92 (с, 3H), 1,50-1,80 (м, 2H); МС (ЭСИ+ m/z 454,10, ЭСИ- m/z 452,10); ТСХ: (95:5:0,5, ДХМ:MeOH:NH₄OH) $R_f=0,22$.

Примеры 15-28. Синтез соединений 33a-33l.



Условия реакции:

- (i) реагент Лавессона, ТГФ,
- (ii) 2-бром-1-(хинолин-3-ил)этан-1-он, Net₃, ДХМ,
- (iii) HCl, ДХМ, затем электрофил NaBH(OAc)₃, ДНХ.

Общие условия реакции для (i).

К раствору трет-бутил-2-(4-бромфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.) в ТГФ (0,1 М), и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил-2-(4-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата.

Общие условия реакции для (ii).

К раствору трет-бутил-2-(4-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органический слой сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил-2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата.

Общие условия реакции для (iii).

К раствору трет-бутил-2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ (0,1 М) и триэтиламин (5 экв.), и добавляли соответствующий электрофил (3 экв.), затем NaBH(OAc)₃ (3 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением желаемого продукта.

Примеры 15-28.

Соединение 33a. 2-((3-(4-бромфенил)-8-изопропил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,81 (с, 1H), 8,97-8,90 (м, 1H), 8,00-7,95 (м, 1H), 7,95-7,90 (м, 1H), 7,89-7,83 (м, 2H), 7,83-7,77 (м, 2H), 7,71-7,63 (м, 1H), 7,62-7,55 (м, 1H), 4,26 (с, 2H), 2,73-2,60 (м, 4H), 1,88-1,71 (м, 2H), 1,62-1,40 (м, 2H), 0,90 (с, 3H), 0,88 (с, 3H).

Соединение 33b. 2-((3-(4-бромфенил)-8-изопентил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 7,99-7,94 (м, 1H), 7,94-7,90 (м, 1H), 7,88-7,83 (м, 2H), 7,83-7,78 (м, 2H), 7,69-7,62 (м, 1H), 7,62-7,54 (м, 1H), 4,26 (с, 2H), 3,48-3,36 (м, 4H), 2,67-2,56 (м, 2H), 2,31-2,12 (м, 2H), 1,62-1,38 (м, 2H), 1,28-1,15 (м, 2H), 0,81 (д, $J=6,5$ Гц, 6H).

Соединение 33c. 2-((8-бензил-3-(4-бромфенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, Метанол- d_4) δ 8,17 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 7,95 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 7,25-7,19 (м, 1H), 7,12-7,02 (м, 3H), 6,96-6,87 (м, 3H), 6,85-6,78 (м, 1H), 6,43-6,30 (м, 3H), 6,30-6,17 (м, 2H), 3,42-3,34 (м, 2H), 2,76-2,60 (м, 4H), 2,10-1,95 (м, 2H), 1,95-1,78 (м, 2H).

Соединение 33d. 2-((3-(4-бромфенил)-8-этил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,82 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,97 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,93 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,85 (д, $J=8,5$ Гц, 2H), 7,81 (д, $J=8,5$ Гц, 2H), 7,69-7,63 (м, 1H), 7,62-7,53 (м, 1H), 4,27 (с, 2H), 2,66 (с, 4H), 2,48-2,33 (м, 2H), 1,90-1,40 (м, 2H), 1,02-0,91 (м, 3H).

Соединение 33e. 2-((3-(4-бромфенил)-8-пропил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,99-7,95 (м, 1H), 7,93 (дд, $J=8,1$, 1,5 Гц, 1H), 7,88-7,83 (м, 2H), 7,83-7,78 (м, 2H), 7,66 (ддд, $J=8,4$, 6,8, 1,5 Гц, 1H), 7,58 (ддд, $J=8,2$, 6,9, 1,3 Гц, 1H), 4,26 (с, 2H), 2,67-2,55 (м, 4H), 2,29-2,16 (м, 2H), 1,90-1,69 (м, 2H), 1,63-1,41 (м, 2H), 1,40-1,29 (м, 2H), 0,79 (т, $J=7,3$ Гц, 3H).

Соединение 33f. 2-((3-(4-бромфенил)-8-изобутил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,95 (д, $J=2,6$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,00-7,94 (м, 1H), 7,94-7,90 (м, 1H), 7,87-7,83 (м, 2H), 7,83-7,78 (м, 2H), 7,69-7,62 (м, 1H), 7,62-7,54 (м, 1H), 4,26 (с, 2H), 2,65-2,52 (м, 4H), 2,06-1,93 (м, 2H), 1,92-1,75 (м, 2H), 1,72-1,37 (м, 3H), 0,80 (д, $J=6,5$ Гц, 6H).

Соединение 33g. 2-((3-(4-бромфенил)-8-(3,3,3-трифторпропил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,00-7,95 (м, 1H), 7,95-7,91 (м, 1H), 7,88-7,83 (м, 2H), 7,83-7,78 (м, 2H), 7,66 (ддд, $J=8,4$, 6,9, 1,5 Гц, 1H), 7,58 (ддд, $J=8,1$, 6,9, 1,3 Гц, 1H), 4,28 (с, 2H), 2,68-2,54 (м, 6H), 1,96-1,40 (м, 6H).

Соединение 33h. 2-((3-(4-бромфенил)-8-циклопентил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,82 (с, 1H), 8,96 (с, 1H), 8,68 (с, 1H), 8,03-7,90 (м, 2H), 7,90-7,77 (м, 4H), 7,73-7,63 (м, 1H), 7,62-7,54 (м, 1H), 4,25 (с, 2H), 2,77-2,23 (м, 5H), 2,03-0,83 (м, 12H).

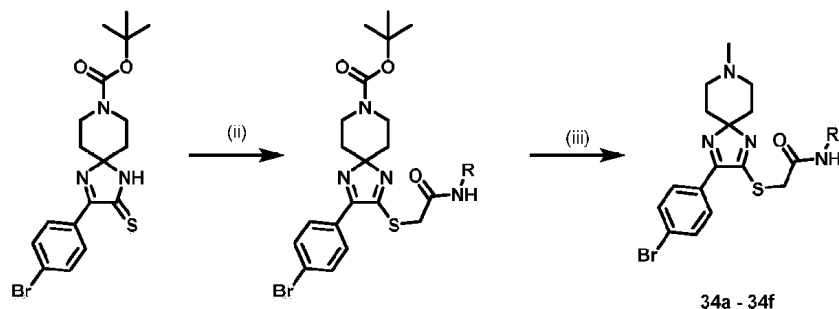
Соединение 33i. 2-((3-(4-бромфенил)-8-циклобутил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,81 (с, 1H), 8,96 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,00-7,96 (м, 1H), 7,95-7,90 (м, 1H), 7,88-7,83 (м, 2H), 7,83-7,77 (м, 2H), 7,66 (ддд, $J=8,4$, 6,9, 1,5 Гц, 1H), 7,58 (ддд, $J=8,2$, 6,9, 1,4 Гц, 1H), 4,25 (с, 2H), 2,67-2,54 (м, 1H), 2,49-2,28 (м, 1H), 1,91-1,61 (м, 5H), 1,63-1,10 (м, 4H).

Соединение 33j. 2-((3-(4-бромфенил)-8-((1-метил-1H-пиразол-4-ил)метил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, Хлороформ- d) δ 9,88 (с, 1H), 8,85-8,76 (м, 1H), 8,65 (д, $J=2,6$ Гц, 1H), 8,11-8,02 (м, 1H), 7,87-7,77 (м, 3H), 7,70-7,61 (м, 3H), 7,56 (ддд, $J=8,1$, 6,9, 1,2 Гц, 1H), 7,47 (д, $J=0,7$ Гц, 1H), 7,37 (с, 1H), 4,00 (с, 2H), 3,91 (с, 3H), 3,62 (с, 2H), 3,04-2,72 (м, 4H), 2,40-2,07 (м, 2H), 1,78 (с, 2H).

Соединение 33k. 2-((3-(4-бромфенил)-8-((1-изопропил-1H-пиразол-4-ил)метил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, Хлороформ- d) δ 9,89 (с, 1H), 8,80 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,66 (д, $J=2,6$ Гц, 1H), 8,08-7,98 (м, 1H), 7,87-7,76 (м, 3H), 7,69-7,63 (м, 3H), 7,56 (ддд, $J=8,2$, 6,9, 1,2 Гц, 1H), 7,50 (д, $J=0,9$ Гц, 1H), 7,44 (с, 1H), 4,50 (р, $J=6,7$ Гц, 1H), 4,01 (с, 2H), 3,62 (с, 2H), 3,09-2,76 (м, 4H), 2,40-2,12 (м, 2H), 1,74 (д, $J=35,2$ Гц, 2H), 1,53 (д, $J=6,7$ Гц, 5H).

Соединение 33l. 2-((3-(4-бромфенил)-8-(метил- d_2)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,97 (дд, $J=8,3$, 1,1 Гц, 1H), 7,93 (дд, $J=8,1$, 1,4 Гц, 1H), 7,89-7,83 (м, 2H), 7,83-7,78 (м, 2H), 7,66 (ддд, $J=8,4$, 6,9, 1,5 Гц, 1H), 7,58 (ддд, $J=8,1$, 6,9, 1,3 Гц, 1H), 4,28 (с, 2H), 2,74-2,54 (м, 5H), 1,98-1,36 (м, 4H).

Примеры 29-34. Синтез соединений 34a-34f.



Условия реакции:

(i) электрофил, Net_3 , ДХМ,

(iii) HCl , ДХМ, затем формальдегид, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, ДХМ.

Синтез соединения 34a. 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-4-ил)ацетамид.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-4-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 10 часов. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои объединяли, сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-6-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,65 (с, 1H), 8,80 (дд, $J=4,2, 1,7$ Гц, 1H), 8,34 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,33-8,27 (м, 1H), 8,04-7,92 (м, 1H), 7,92-7,76 (м, 5H), 7,49 (дд, $J=8,3, 4,2$ Гц, 1H), 4,27 (с, 2H), 3,70-3,58 (м, 2H), 3,57-3,46 (м, 2H), 1,74 (д, $J=12,6, 8,4, 3,9$ Гц, 2H), 1,56-1,44 (м, 2H), 1,37 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-6-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 4 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли формальдегид (5 экв.) и триэтиламин (5 экв.), затем $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (3 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-6-ил)ацетамида. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,67 (с, 1H), 8,80 (дд, $J=4,2, 1,7$ Гц, 1H), 8,35 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,29 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,99 (д, $J=9,1$ Гц, 1H), 7,89-7,77 (м, 5H), 7,49 (дд, $J=8,3, 4,2$ Гц, 1H), 4,26 (с, 2H), 2,67-2,54 (м, 4H), 2,22 (с, 3H), 1,85-1,40 (м, 4H).

Синтез соединения 34b. 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-6-ил)ацетамид.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-6-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 10 часов. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои объединяли, сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-6-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,65 (с, 1H), 8,80 (дд, $J=4,2, 1,7$ Гц, 1H), 8,34 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,33-8,27 (м, 1H), 8,04-7,92 (м, 1H), 7,92-7,76 (м, 5H), 7,49 (дд, $J=8,3, 4,2$ Гц, 1H), 4,27 (с, 2H), 3,70-3,58 (м, 2H), 3,57-3,46 (м, 2H), 1,74 (д, $J=12,6, 8,4, 3,9$ Гц, 2H), 1,56-1,44 (м, 2H), 1,37 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-6-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 4 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли формальдегид (5 экв.) и триэтиламин (5 экв.), затем $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-6-ил)ацетамида. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,67 (с, 1H), 8,80 (дд, $J=4,2, 1,7$ Гц, 1H), 8,35 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,29 (д, $J=8,1$ Гц, 1H), 7,99 (д, $J=9,1$ Гц, 1H), 7,89-7,77 (м, 5H), 7,49 (дд, $J=8,3, 4,2$ Гц, 1H), 4,26 (с, 2H), 2,67-2,54 (м, 4H), 2,22 (с, 3H), 1,85-1,40 (м, 4H).

Синтез соединения 34с. 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-5-ил)ацетамид.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-5-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 10 часов. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои объединяли, сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-5-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-5-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 4 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли формальдегид (5 экв.) и триэтиламин (5 экв.), затем NaBH(OAc)3 (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-5-ил)ацетамида. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,41 (с, 1H), 8,93 (дд, J=4,2, 1,6 Гц, 1H), 8,52 (ддд, J=8,6, 1,7, 0,9 Гц, 1H), 7,96-7,71 (м, 7H), 7,57 (дд, J=8,6, 4,2 Гц, 1H), 4,36 (с, 2H), 2,75-2,56 (м, 4H), 2,25 (с, 3H), 1,89-1,59 (м, 4H).

Синтез соединения 34d. 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-7-ил)ацетамид.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-7-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 10 часов. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои объединяли, сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-7-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-7-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 4 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли формальдегид (5 экв.) и триэтиламин (5 экв.), затем NaBH(OAc)3 (3 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-7-ил)ацетамида. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,69 (с, 1H), 8,85 (дд, J=4,2, 1,8 Гц, 1H), 8,40 (д, J=2,0 Гц, 1H), 8,28 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,94 (д, J=8,9 Гц, 1H), 7,91-7,84 (м, 2H), 7,83-7,77 (м, 2H), 7,73 (дд, J=8,8, 2,1 Гц, 1H), 7,43 (дд, J=8,2, 4,2 Гц, 1H), 4,28 (с, 2H), 2,67-2,55 (м, 4H), 2,20 (с, 3H), 1,91-1,38 (м, 4H).

Синтез соединения 34е. 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-8-ил)ацетамид.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-8-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 10 часов. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои объединяли, сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-8-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата.

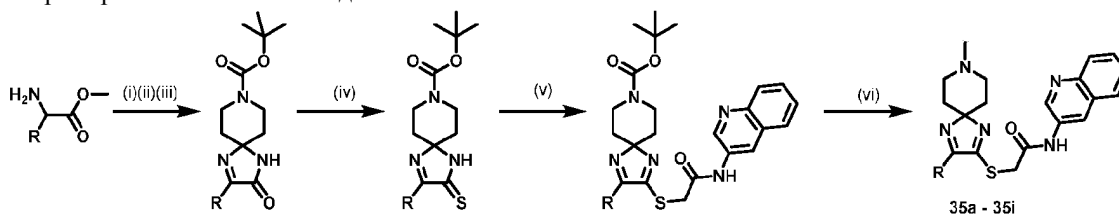
К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-8-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 4 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли формальдегид (5 экв.) и триэтиламин (5 экв.), затем NaBH(OAc)3 (3 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-8-ил)ацетамида. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,65 (с, 1H), 8,85 (дд, J=4,2, 1,7 Гц, 1H), 8,60 (дд, J=7,6, 1,3 Гц, 1H), 8,42 (дд, J=8,3, 1,7 Гц, 1H), 7,90-7,79 (м, 4H), 7,69 (дд, J=8,3, 1,4 Гц, 1H), 7,64 (дд, J=8,3, 4,2 Гц, 1H), 7,62-7,56 (м, 1H), 4,34 (с, 2H), 2,50-2,37 (м, 4H), 2,07 (с, 3H), 1,86-1,17 (м, 4H).

Синтез соединения 34f. 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-метил-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-метил-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 10 часов. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои объединяли, сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-(метил(хинолин-3-ил)амино)-2-оксоэтил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата.

К раствору трет-бутил 2-(4-бромфенил)-3-((2-(метил(хинолин-3-ил)амино)-2-оксоэтил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.) и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 4 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ, и добавляли формальдегид (5 экв.) и триэтиламин (5 экв.), затем NaBH(OAc)₃ (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-метил-N-(хинолин-3-ил)ацетамида. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,03 (с, 1H), 8,51 (с, 1H), 8,10 (д, J=8,5 Гц, 1H), 8,00 (дд, J=8,4, 1,4 Гц, 1H), 7,89-7,63 (м, 6H), 4,01 (с, 2H), 3,37 (с, 3H), 3,30 (с, 3H), 2,65-2,16 (м, 7H), 1,89-1,18 (м, 4H).

Примеры 35-43. Синтез соединений 35a-35i.



Условия реакции:

- (i) NH_4OH , вода,
- (ii) Вос-пиперидион, этанол,
- (iii) NBS, MeCN,
- (iv) реагент Лавессона, ТГФ,
- (v) 2-бром-1-(хинолин-3-ил)этан-1-он, NEt_3 , ДХМ,
- (vi) HCl, ДХМ, затем формальдегид, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, ДХМ.

Синтез соединения 35a. 2-((3-(4-фторфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

Метиламино(4-фторфенил)ацетат HCl перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-(4-фторфенил)ацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-(4-фторфенил)ацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.), и реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали ДХМ. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-фторфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,28 (с, 1H), 8,48-8,37 (м, 2H), 7,41-7,31 (м, 2H), 3,71-3,50 (м, 4H), 1,79-1,69 (м, 2H), 1,68-1,56 (м, 2H), 1,44 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(4-фторфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.) и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-фторфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,60 (с, 1H), 8,38 (дд, J=8,5, 5,7 Гц, 2H), 7,34 (т, J=8,7 Гц, 2H), 3,80-3,70 (м, 2H), 3,60-3,45 (м, 2H), 1,86-1,67 (м, 4H), 1,45 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(4-фторфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические

слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-фторфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата.

К раствору трет-бутил 2-(4-фторфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем NaBH(OAc)3 (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-фторфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамида. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,80 (с, 1H), 8,94 (д, J=2,5 Гц, 1H), 8,74-8,64 (м, 1H), 7,99-7,95 (м, 1H), 7,95-7,92 (м, 1H), 7,91-7,88 (м, 2H), 7,70-7,51 (м, 4H), 4,27 (с, 2H), 3,34 (с, 3H), 2,64-2,55 (м, 4H), 2,26-2,11 (м, 2H), 1,91-1,42 (м, 4H).

Синтез соединения 35b. 2-((8-метил-3-фенил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

Гидрохлорид метил 2-амино-2-фенилацетата перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-фенилацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-фенилацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.), и реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов, и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали ДХМ. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 3-оксо-2-фенил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,26 (с, 1H), 8,47-8,23 (м, 2H), 7,61-7,48 (м, 3H), 3,70-3,50 (м, 4H), 1,80-1,68 (м, 2H), 1,68-1,58 (м, 2H), 1,44 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 3-оксо-2-фенил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.), и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-фенил-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,58 (с, 1H), 8,30-8,23 (м, 2H), 7,60-7,46 (м, 3H), 3,81-3,70 (м, 2H), 3,60-3,44 (м, 2H), 1,86-1,62 (м, 4H), 1,45 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-фенил-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-3-фенил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата.

К раствору трет-бутил 2-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-3-фенил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем NaBH(OAc)3 (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((8-метил-3-фенил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамида. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,81 (с, 1H), 8,94 (д, J=2,5 Гц, 1H), 8,67 (д, J=2,5 Гц, 1H), 8,02-7,90 (м, 4H), 7,66 (ддд, J=8,4, 6,9, 1,5 Гц, 1H), 7,58 (ддд, J=8,1, 6,8, 1,3 Гц, 1H), 7,49-7,39 (м, 2H), 4,28 (с, 2H), 2,75-2,56 (м, 4H), 2,24 (с, 3H), 1,99-1,40 (м, 4H).

Синтез соединения 35с. 2-((3-(4-хлор-3-фторфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

Гидрохлорид метил 2-амино-2-(4-хлор-3-фторфенил)ацетат перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-(4-хлор-3-фторфенил)ацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-(4-хлор-3-фторфенил)ацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-Бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.) и реакционную смесь нагревали

до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов, и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали ДХМ. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-хлор-3-фторфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,37 (с, 1H), 8,29 (дд, $J=10,4$, 1,8 Гц, 1H), 8,20 (ддд, $J=8,4$, 1,8, 0,8 Гц, 1H), 7,78 (дд, $J=8,4$, 7,7 Гц, 1H), 3,69-3,52 (м, 4H), 1,73 (д, $J=6,8$ Гц, 4H), 1,44 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(4-хлор-3-фторфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.), и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-хлор-3-фторфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,58 (с, 1H), 8,30-8,23 (м, 2H), 7,60-7,46 (м, 3H), 3,81-3,70 (м, 2H), 3,60-3,44 (м, 2H), 1,86-1,62 (м, 4H), 1,45 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(4-хлор-3-фторфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-хлор-3-фторфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,78 (с, 1H), 8,91 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,71-8,61 (м, 1H), 8,00-7,95 (м, 1H), 7,95-7,91 (м, 1H), 7,90-7,83 (м, 2H), 7,81-7,76 (м, 1H), 7,67 (ддд, $J=8,4$, 6,9, 1,5 Гц, 1H), 7,58 (ддд, $J=8,2$, 6,9, 1,3 Гц, 1H), 4,29 (с, 2H), 3,70-3,58 (м, 2H), 3,58-3,45 (м, 2H), 1,82-1,65 (м, 2H), 1,60-1,43 (м, 2H), 1,38 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(4-хлор-3-фторфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ, и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем NaBH(OAc)3 (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-хлор-3-фторфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамида. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 7,99-7,95 (м, 1H), 7,93 (д, $J=7,7$ Гц, 1H), 7,89-7,82 (м, 2H), 7,80-7,75 (м, 1H), 7,66 (ддд, $J=8,5$, 6,9, 1,5 Гц, 1H), 7,58 (ддд, $J=8,1$, 6,8, 1,3 Гц, 1H), 4,29 (с, 2H), 2,63-2,55 (м, 4H), 2,20 (с, 3H), 1,93-1,38 (м, 4H).

Синтез соединения 35d. 2-((3-(3-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

Метил 2-амино-2-(3-бромфенил)ацетат перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-(3-бромфенил)ацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-(3-бромфенил)ацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.) и реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали ДХМ. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(3-бромфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,33 (с, 1H), 8,54-8,48 (м, 1H), 8,39-8,25 (м, 1H), 7,80 (д, $J=8,0$, 2,1, 1,1 Гц, 1H), 7,57-7,44 (м, 1H), 3,60 (д, $J=19,5$ Гц, 4H), 1,73 (д, $J=7,4$ Гц, 2H), 1,69-1,55 (м, 2H), 1,44 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(3-бромфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.) и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(3-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,63 (с, 1H), 8,51-8,42 (м, 1H), 8,27 (д.т, $J=7,8$, 1,3 Гц, 1H), 7,77 (ддд, $J=8,0$, 2,1, 1,1 Гц, 1H), 7,51-7,44 (м, 1H), 3,82-3,68 (м, 2H), 3,61-3,43 (м, 2H), 1,86-1,66 (м, 4H), 1,45 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(3-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1

экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(3-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,78 (с, 1H), 8,91 (д, $J=2,6$ Гц, 1H), 8,70-8,59 (м, 1H), 8,05 (т, $J=1,8$ Гц, 1H), 8,00-7,95 (м, 1H), 7,95-7,90 (м, 2H), 7,84 (ддд, $J=8,1, 2,1, 1,0$ Гц, 1H), 7,67 (ддд, $J=8,4, 6,9, 1,5$ Гц, 1H), 7,61-7,54 (м, 2H), 4,28 (с, 2H), 3,71-3,58 (м, 2H), 3,57-3,46 (м, 2H), 1,80-1,68 (м, 2H), 1,60-1,42 (м, 2H), 1,38 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(3-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем NaBH(OAc)3 (3 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(3-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамида. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,79 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,03 (т, $J=1,8$ Гц, 1H), 7,99-7,93 (м, 1H), 7,93-7,88 (м, 2H), 7,83 (ддд, $J=8,1, 2,1, 1,0$ Гц, 1H), 7,66 (ддд, $J=8,4, 6,9, 1,5$ Гц, 1H), 7,62-7,54 (м, 2H), 4,28 (с, 2H), 2,59 (с, 4H), 2,21 (с, 3H), 1,94-1,48 (м, 4H).

Синтез соединения 35e. 2-((8-метил-3-(нафталин-2-ил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

Гидрохлорид метил метил amino(2-нафтил)ацетат перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-(нафталин-2-ил)ацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-(нафталин-2-ил)ацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.) и реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали ДХМ. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(нафталин-2-ил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,35 (с, 1H), 9,18-9,11 (м, 1H), 8,28 (дд, $J=8,6, 1,6$ Гц, 1H), 8,12-7,96 (м, 3H), 7,68-7,57 (м, 2H), 3,77-3,64 (м, 2H), 3,64-3,51 (м, 1H), 1,86-1,73 (м, 2H), 1,73-1,62 (м, 2H), 1,45 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(нафталин-2-ил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.) и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(нафталин-2-ил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата.

К раствору трет-бутил 2-(нафталин-2-ил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(нафталин-2-ил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,93 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,73-8,64 (м, 1H), 8,59-8,52 (м, 1H), 8,17-8,09 (м, 2H), 8,09-7,88 (м, 4H), 7,74-7,63 (м, 3H), 7,62-7,55 (м, 1H), 4,32 (с, 2H), 3,68 (с, 2H), 3,61-3,46 (м, 2H), 1,88-1,71 (м, 2H), 1,57-1,43 (м, 1H), 1,39 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(нафталин-2-ил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем NaBH(OAc)3 (3 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((8-метил-3-(нафталин-2-ил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамида. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,79 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 7,99-7,95 (м, 1H), 7,95-

7,91 (м, 1Н), 7,91-7,85 (м, 2Н), 7,66 (ддд, J=8,4, 6,9, 1,5 Гц, 1Н), 7,58 (ддд, J=8,1, 6,8, 1,3 Гц, 1Н), 7,16-7,10 (м, 2Н), 4,26 (с, 2Н), 3,86 (с, 3Н), 3,32 (с, 3Н), 2,65-2,53 (м, 4Н), 2,24-2,15 (м, 2Н), 1,89-1,29 (м, 4Н).

Синтез соединения 35f. 2-((3-(4-метоксифенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

Гидрохлорид метил амино(4-метоксифенил)ацетат перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-(4-метоксифенил)ацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-(4-метоксифенил)ацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.) и реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали ДХМ. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,20 (с, 1Н), 8,39-8,29 (м, 2Н), 7,11-7,01 (м, 2Н), 3,83 (с, 3Н), 3,71-3,48 (м, 4Н), 1,78-1,67 (м, 2Н), 1,67-1,54 (м, 2Н), 1,44 (с, 9Н).

К раствору трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.) и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата.

К раствору трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,77 (с, 1Н), 8,92 (д, J=2,5 Гц, 1Н), 8,70-8,61 (м, 1Н), 7,99-7,93 (м, 1Н), 7,93-7,87 (м, 2Н), 7,66 (ддд, J=8,4, 6,9, 1,5 Гц, 1Н), 7,58 (ддд, J=8,1, 6,8, 1,3 Гц, 1Н), 7,20-7,08 (м, 2Н), 4,27 (с, 2Н), 3,86 (с, 3Н), 3,73-3,57 (м, 2Н), 3,57-3,42 (м, 2Н), 1,81-1,67 (м, 2Н), 1,50-1,40 (м, 2Н), 1,37 (с, 9Н).

К раствору трет-бутил 2-(4-метоксифенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем NaBH(OAc)₃ (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(4-метоксифенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамида. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,79 (с, 1Н), 8,94 (д, J=2,5 Гц, 1Н), 8,67 (д, J=2,5 Гц, 1Н), 7,99-7,95 (м, 1Н), 7,95-7,91 (м, 1Н), 7,91-7,85 (м, 2Н), 7,66 (ддд, J=8,4, 6,9, 1,5 Гц, 1Н), 7,58 (ддд, J=8,1, 6,8, 1,3 Гц, 1Н), 7,16-7,10 (м, 2Н), 4,26 (с, 2Н), 3,86 (с, 3Н), 2,65-2,53 (м, 4Н), 2,20 (с, 3Н), 1,89-1,29 (м, 4Н).

Синтез соединения 35g. 2-((3-(2-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

Метил 2-амино-2-(2-бромфенил)ацетат перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-(2-бромфенил)ацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-(2-бромфенил)ацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.) и реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали ДХМ. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(2-бромфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,23 (с, 1Н), 7,82-7,74 (м, 1Н), 7,64-7,40 (м, 3Н), 3,73-3,49 (м, 4Н), 1,78-1,68 (м, 4Н), 1,44 (с, 9Н).

К раствору трет-бутил 2-(2-бромфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.) и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью

колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(2-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,55 (с, 1H), 7,73 (д.т., $J=7,8$, 0,9 Гц, 1H), 7,53-7,40 (м, 3H), 3,85-3,72 (м, 2H), 3,55-3,43 (м, 2H), 1,90-1,70 (м, 4H), 1,44 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(2-бромфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,78 (с, 1H), 8,90 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,65 (д, $J=2,4$ Гц, 1H), 8,01-7,91 (м, 2H), 7,83 (дд, $J=8,2$, 1,2 Гц, 1H), 7,66 (ддд, $J=8,4$, 6,9, 1,5 Гц, 1H), 7,63-7,47 (м, 4H), 4,23 (с, 2H), 3,68-3,53 (м, 4H), 1,83-1,68 (м, 2H), 1,68-1,54 (м, 2H), 1,40 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(2-бромфенил)-3-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в ДХМ) с получением 2-((3-(2-бромфенил)-8-метил-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамида. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,79 (с, 1H), 8,91 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,66 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 7,95 (ддд, $J=12,8$, 8,2, 1,3 Гц, 2H), 7,88-7,76 (м, 1H), 7,66 (ддд, $J=8,4$, 6,9, 1,5 Гц, 1H), 7,62-7,46 (м, 4H), 4,22 (с, 2H), 2,72-2,53 (м, 4H), 2,24 (с, 3H), 1,94-1,64 (м, 4H).

Синтез соединения 35h: 2-((8-метил-3-(4-(трифторметил)фенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хинолин-3-ил)ацетамид.

Гидрохлорид метил 2-амино-2-[4-(трифторметил)фенил]ацетат перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-(4-(трифторметил)фенил)ацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-(4-(трифторметил)фенил)ацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.) и реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ДХМ (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали ДХМ. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 3-оксо-2-(4-(трифторметил)фенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,36 (с, 1H), 8,53 (д, $J=8,1$ Гц, 2H), 7,91 (д, $J=8,1$ Гц, 2H), 3,72-3,52 (м, 4H), 1,85-1,60 (м, 4H), 1,45 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 3-оксо-2-(4-(трифторметил)фенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.) и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-3-(4-(трифторметил)фенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,66 (с, 1H), 8,58 (д, $J=2,0$ Гц, 1H), 8,27 (дд, $J=8,4$, 2,0 Гц, 1H), 7,80 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,83-3,71 (м, 2H), 3,61-3,45 (м, 2H), 1,89-1,66 (м, 4H), 1,45 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 3-тиоксо-2-(4-(трифторметил)фенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хинолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли ДХМ и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-3-(4-(трифторметил)фенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,97-8,88 (м, 1H), 8,79-8,58 (м, 1H), 8,19-8,08 (м, 1H), 8,08-7,86 (м, 4H), 7,77-7,52 (м, 2H), 4,29 (с, 2H), 3,72-3,46 (м, 4H), 1,82-1,67 (м, 2H), 1,61-1,43 (м, 2H), 1,38 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-((2-оксо-2-(хинолин-3-иламино)этил)тио)-3-(4-(трифторметил)фенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в ДХМ (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакцион-

ную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в DXM) с получением 2-((8-метил-3-(4-(трифторметил)фенил)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-2-ил)тио)-N-(хиолин-3-ил)ацетамида.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,09 (т, $J=1,2$ Гц, 1H), 8,01-7,91 (м, 2H), 7,91-7,83 (м, 2H), 7,67 (ддд, $J=8,4, 6,9, 1,5$ Гц, 1H), 7,59 (ддд, $J=8,1, 6,8, 1,3$ Гц, 1H), 4,29 (с, 2H), 2,70-2,57 (м, 4H), 2,23 (с, 3H), 1,98-1,46 (м, 4H).

Синтез соединения 35i: трет-бутил 2-(3,4-дихлорфенил)-3-((хиолин-3-илкарбамоил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилат.

Гидрохлорид метил 2-амино-2-(3,4-дихлорфенил)ацетат перемешивали в 28% растворе гидроксида аммония (5 мл/г) в течение 96 часов, в результате чего образовывался 2-амино-2-(3,4-дихлорфенил)ацетамид в виде белого осадка, который собирали с помощью фильтрации и использовали без дополнительной очистки. К раствору 2-амино-2-(3,4-дихлорфенил)ацетамида (1 экв.) в этаноле (0,1 М) добавляли трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилат (1 экв.), и реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в DXM (0,1 М) и добавляли N-бромсукцинимид (1 экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия. Полученную смесь экстрагировали DXM . Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью FCC (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(3,4-дихлорфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,37 (с, 1H), 8,55 (д, $J=1,9$ Гц, 1H), 8,29 (дд, $J=8,4, 1,9$ Гц, 1H), 7,82 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,70-3,51 (м, 4H), 1,81-1,58 (м, 4H), 1,44 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(3,4-дихлорфенил)-3-оксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в ТГФ (0,1 М) добавляли реагент Лавессона (0,6 экв.) и реакционную смесь нагревали до 60°C до завершения реакции по ТСХ. Реакционную смесь концентрировали на силикагеле и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(3,4-дихлорфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,66 (с, 1H), 8,58 (д, $J=2,0$ Гц, 1H), 8,27 (дд, $J=8,4, 2,0$ Гц, 1H), 7,80 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,83-3,71 (м, 2H), 3,61-3,45 (м, 2H), 1,89-1,66 (м, 4H), 1,45 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(3,4-дихлорфенил)-3-тиоксо-1,4,8-триазаспиро[4,5]дец-1-ен-8-карбоксилата (1 экв.) в DXM (0,1 М) добавляли 2-бром-N-(хиолин-3-ил)ацетамид (1 экв.) и триэтиламин (3 эквивалента). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли DXM и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% EtOAc в смеси изомеров гексана) с получением трет-бутил 2-(3,4-дихлорфенил)-3-((2-оксо-2-(хиолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,97-8,88 (м, 1H), 8,79-8,58 (м, 1H), 8,19-8,08 (м, 1H), 8,08-7,86 (м, 4H), 7,77-7,52 (м, 2H), 4,29 (с, 2H), 3,72-3,46 (м, 4H), 1,82-1,67 (м, 2H), 1,61-1,43 (м, 2H), 1,38 (с, 9H).

К раствору трет-бутил 2-(3,4-дихлорфенил)-3-((2-оксо-2-(хиолин-3-иламино)этил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата (1 экв.) в DXM (0,1 М) добавляли 4 М HCl в диоксане (2 экв.), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 часов. Реакционную смесь концентрировали. Полученный остаток растворяли в ТГФ и добавляли триэтиламин (5 экв.) и формальдегид (3 экв.), затем $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (3 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Органические слои сушили, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-30% MeOH в DXM) с получением трет-бутил 2-(3,4-дихлорфенил)-3-((хиолин-3-илкарбамоил)тио)-1,4,8-триазаспиро[4,5]дека-1,3-диен-8-карбоксилата. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,80 (с, 1H), 8,94 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,67 (д, $J=2,5$ Гц, 1H), 8,09 (т, $J=1,2$ Гц, 1H), 8,01-7,91 (м, 2H), 7,91-7,83 (м, 2H), 7,67 (ддд, $J=8,4, 6,9, 1,5$ Гц, 1H), 7,59 (ддд, $J=8,1, 6,8, 1,3$ Гц, 1H), 4,29 (с, 2H), 2,70-2,57 (м, 4H), 2,23 (с, 3H), 1,98-1,46 (м, 4H).

Фармакокинетические исследования.

Пример 44. Взаимодействие между очищенным киназным доменом EGFR и дисраптином.

Киназный домен WT-EGFR (aa696-1022, активная киназа) экспрессировали и очищали из клеток насекомых SF9. 100 нг чистого EGFR инкубировали с биотин-конъюгированным дисраптином, и связанный EGFR улавливали с использованием гранул CarpAvidin после промывки цитратным буфером. Специфичность этого взаимодействия подтверждали совместным инкубированием этой реакции с увеличивающимся количеством небитинилированного дисраптина. Связанный белок EGFR высвобождали в буфере Лэммли и разделяли с помощью ДНС-ПААГ. Связанный с дисраптином EGFR количественно определяли с использованием программного обеспечения ImageJ, что показано под блотом. Конкурент-

ное ингибирование связывания Дисраптин-EGFR с помощью cold-Дисраптина указывает на то, что Дисраптин связывается напрямую с EGFR (см. фиг. 2B).

Пример 45. Влияние обработки Дисраптином на димеризацию, вызванную EGF, в клетках NCI-H1975.

Клетки NCI-H1975 обрабатывали в течение 1 часа 10 мкМ Дисраптином и дополнительно 30 минут EGF (30 нг/мл) и 30 минут дисукцинимидилсубератом (DSS, 150 мкМ) для сшивания взаимодействующих белков. Готовили лизаты и проводили иммуноблоттинг с антителами к EGFR. (см. фиг. 3A).

Пример 46. Влияние Дисраптина на его целевой EGFR в ксенографтах NCI-H1975.

Мышам с ксенографтами NCI-H1975 вводили дисраптин (10 мг/кг, в/б) в 1 и 2 дни. На 3 день опухоли удаляли и готовили для иммуноблоттинга (см. фиг. 3B). Влияние Дисраптина на ксенографты NCI-H1975 оценивали после лечения с помощью инъекций Дисраптина (10 мг/кг, в/б) в течение двух дней подряд (понедельник-вторник) в течение двух недель. Объем опухоли наносили на график для каждого условия лечения. Рандомизированный пептид использовали в качестве контроля (см. фиг. 3C). Долгосрочный эффект лечения на гистологию опухоли, экспрессию EGFR и митотический индекс (измеренный по шкале Ki-67) оценивали путем иммуноокрашивания опухолей через 2 недели лечения (см. фиг. 3D).

Пример 47. Разработка соединения 8C и подтверждение биологической активности.

Было показано, что дисраптин эффективен против модели ксенографта NCI-H1975, устойчивой к TKI (эрлотиниб) (см. фиг. 3A-D) (14). Однако из-за медленной ФК и других проблем при разработке пептидных лекарственных средств была предпринята программа поиска новых лекарственных веществ для получения малой молекулы, которая имеет аналогичный механизм действия, но превосходящую фармакокинетику (см. фиг. 4A-D). На основе активной поверхности димера EGFR, использования виртуального скрининга, приобретения коммерческой библиотеки и индивидуального синтеза была разработана новая серия молекул, которая включает предварительные лиды соединения 95 (C95) и 67 (C67) (см. фиг. 4A-D). Оба эти предварительные лиды активны *in vivo* против устойчивой к эрлотинибу модели ксенографта NCI-H1975. Для испытания *in vivo* активности ингибирования димера EGFR использовали устойчивые к TKI репортерные клетки NCI-H1975 EGFR. Данные ксенографты опухоли показывают индукцию биолюминесценции при потере активности EGFR (47). Однократная инъекция 100 мг/кг C95 приводила к 2,5-кратной индукции репортера EGFR, которая длилась 48 часов (см. фиг. 9). Было подтверждено, что влияние обработки C95 на снижение уровня EGFR коррелирует с изменением биолюминесценции. Эти данные демонстрируют, что агенты, которые могут индуцировать деграцию EGFR, могут быть эффективны в опухолях, устойчивых к TKI.

Соединение 8C примерно в 20 раз более стабильно по сравнению с его предварительным лидом (C95) в микросомах печени как мыши, так и человека. Тестирование эффективности соединения 8C в UMSCC74B, управляемой EGFR агрессивной модели опухоли головы и шеи. Мышам с опухолями вводили дозу 30 мг/кг ежедневно (понедельник-пятница) в течение одной недели. Эта доза была выбрана на основе ФК профиля для однократной дозы (см. фиг. 8A). Это лечение было безопасным и привело к значительной задержке роста опухоли (см. фиг. 10).

Устойчивые к осимертинибу клетки Ва/F3, опосредованные асцитом (посредством внутривенной инъекции клеток), и модели солидных опухолей (посредством подкожной инъекции клеток) у безгипертонических мышей также использовали для исследований эффективности. Первоначальные исследования были выполнены на модели асцита, и эффект соединения 8C сравнивали с равной дозой осимертиниба (30 мг/кг). Хотя лечение было начато только после того, как опухолевая нагрузка стала высокой, однократная доза Соединения 8C в дозе 30 мг/кг продлила жизнь этих мышей по сравнению с группой, получавшей осимертиниб ($p=0,072$, данные не показаны). Эффект лечения на EGFR был подтвержден в клетках, собранных у той же мыши перед обработкой, через 18 часов и 24 часа после обработки (см. фиг. 11).

Пример 48. Прямое взаимодействие между киназным доменом EGFR и соединением 8C.

Для определения конкурирует ли Соединение 8C за один и тот же сайт связывания на EGFR, бусы, связанные с биотином-дисраптином-авидином, инкубировали с очищенным EGFR в присутствии или в отсутствие соединения 8C в течение 15 минут при 37°C. Бусы агарозы отцентрифугировали, и неспецифический белок удаляли промыванием в цитратном буфере. Связанный белок высвобождали в буфере Лэммли и разделяли с помощью ДНС-ПААГ. Конкурентное ингибирование связывания Дисраптин-EGFR соединением 8C предполагает аналогичный механизм действия этой молекулы (см. фиг. 5A).

Влияние Соединения 8C на термостабильность очищенного EGFR подтверждено анализом термостабильности. 100 нг очищенного EGFR инкубировали либо с ДМСО, либо с соединением 8C (10 мкМ) в течение 30 минут при 4°C. Образцы подвергали тепловой инактивации (от 20 до 44°C) в течение 3 минут. Растворимую фракцию отделяли от агрегата центрифугированием при 13000 об/мин при 4°C в течение 10 минут. Около 20 нг растворимого белка разделяли на 4-12% бис-трис-геле и подвергали блоттингу с антителами к EGFR. Интенсивность полосы EGFR, количественно определяли с помощью программы ImageJ и наносили на график (см. фиг. 5B). Влияние концентрации соединения 8C на термическую стабильность EGFR при 44°C определяли в присутствии от 0 до 10 мкМ соединения 8C. Растворимую фракцию EGFR определяли количественно и наносили на график, как описано выше (см. фиг. 5C).

Предварительные данные демонстрируют, что соединение 8С, вероятно, будет связываться с тем же сайтом на молекуле EGFR, что и Дисраптин (см. фиг. 5А), и может термически стабилизировать EGFR дикого типа, а также устойчивый к осимертинибу EGFR (C797S). Как показано на фиг. 5В и 5С, инкубация соединения 8С с очищенным киназным доменом EGFR дикого типа сдвигает кривую плавления, предполагая взаимодействие между EGFR и соединением 8С. Для определения влияния соединения 8С на мутант EGFR, устойчивый к осимертинибу, использовали клеточный анализ. Осимертиниб или соединение 8С инкубировали с лизатом цельных клеток, полученным из клеток Ва/Ф3 (C797S-EGFR). Аликвоты нагревали до различных температур в присутствии либо ДМСО, 10 мкМ осимертиниба, либо соединения 8С. После охлаждения образцы центрифугировали, фракцию растворимого белка собирали и разделяли с помощью иммуноблоттинга с антителами к EGFR (см. фиг. 6А). Осимертиниб был эффективен в сдвиге температуры плавления очищенного WT-EGFR (см. фиг. 5В), но он оказал минимальное влияние на мутантный белок EGFR C797S (см. фиг. 6А). Как и ожидалось, соединение 8С было эффективным в сдвиге температуры плавления EGFR, устойчивого к осимертинибу. Эти данные предполагают потенциальное взаимодействие между Соединением 8С с EGFR, даже в EGFR-C797S.

На основании этих данных было выдвинуто предположение, что соединение 8С будет оставаться эффективным в клетках, которые приобрели устойчивость к осимертинибу из-за мутации C797S. Используя эти изогенные типы клеток 6-Ва/Ф3 (которые включают чувствительные и устойчивые к ТК1 клетки, табл. 2), было продемонстрировано, что соединение 8С остается активным в наномолярном диапазоне в каждой клеточной линии. Это ожидается от этого класса агентов, поскольку их действие не зависит от мутаций киназы EGFR. Эффект соединения 8С на ингибирование EGF-индуцированной димеризации EGFR и экспрессии белка также был подтвержден во всех данных клетках. Представленные данные относятся к резистентным к осимертинибу клеткам Ва/Ф3 с мутацией C797S (см. фиг. 6В-6Е).

Пример 49. Подтверждение избирательной активности соединения 8С в линиях клеток рака легких.

Для проверки селективности соединения 8С, линии клеток рака легких, устойчивых к осимертинибу (PC9-AZR и HCC827-AZR), наряду с нормальными фибробластами легких (MRC5), обрабатывали различными концентрациями, и выживаемость клеток определяли с использованием анализа клоногенной выживаемости (см. фиг. 7А и табл. 3 ниже). Приведенные предварительные данные предполагают, что соединение 8С избирательно убивает раковые клетки, которые управляются EGFR. Было определено, коррелирует ли ответ на соединение 8С с ингибированием EGF-индуцированной димеризации и деградации EGFR. Для этого клетки PC9-AZR обрабатывали в течение 1 часа 1 мкМ соединения 8С и дополнительно 30 минут EGF (30 нг/мл) и 30 минут дисукцинимидилсубератом (DSS, 150 мкМ) для сшивания взаимодействующих белков. Готовили лизаты и проводили иммуноблоттинг с антителами к EGFR. На фиг. 7В продемонстрировано, что 1 мкМ соединения 8С может ингибировать димеризацию EGFR и вызывать деградацию EGFR. В целом, эти результаты подтверждают выводы о клетках Ва/Ф3.

Пример 50. Анализ жизнеспособности.

Жизнеспособность клеток после обработки оценивали с помощью реагента CellTiter-Blue® в соответствии с протоколом производителя в клетках RKO, UM10B, UM1, MCR5 и UMCC92. Вкратце, 10000 клеток высевали в 96-луночный планшет в четырех повторах. Через день после посева клетки обрабатывали диапазоном концентраций (от 0,1 до 30 мкмоль). Через 3 дня после обработки клетки инкубировали с реагентом CellTiter-Blue® в течение 4 часов. Только жизнеспособные клетки превращают редокс-краситель (резазурин) во флуоресцентный продукт (резофурин). Эмиссию флуоресценции (возбуждение 560 нМ) измеряли при 590 нМ. Значение IC₅₀ рассчитывали, как среднюю концентрацию соединений, необходимую для ингибирования пролиферации клеток, измеренную по флуоресценции при 590 нМ на 50 процентов по сравнению с контролями, обработанными носителем. Результаты представлены в табл. 3 и табл. 4 ниже.

Таблица 3

Идент. №	Титр клеток Синий		Клоногенная IC ₅₀ (мкМ)				
	% Жизнеспособности клеток (24 часа)	Конц (мкМ)	РКО	UM10B	UM1	MCR5	UMCC92
13	59,4	30	25,2	6,9		335	
14	99,7	30		465		28	
15	119	30	50,7	17,2		37,0	
16	122	30	43,9	38,0		1316	
17	109	30		44,0		61,0	
18	48	30	6,7	2,5		25,9	
19	68	7,5	3,1	2,6		4,1	
20	54	15	1,8	4,0		2,4	
21	73	15	85	4,3		0,3	
22	55	7,5	0,8	0,3		2,3	0,2
23	103	30	2,2	5,3		5,4	
24	72	30	5,4	4,3		7,6	
25	78	30	3,7	2,6		69,3	2,1
26	88	30	2,6	1,1		1,3	
27	76	30	19	8,8		4,1	
28	15	15	6,5	1,0		1,3	
29	89	30	1,4	0,7		3,3	
8A	58	30	8,8		1,0		
8B	50	15	5,3		0,8		
8C	68	3,75	1,6		0,5	18,6	0,2
8D	64	7,5	7,3		0,8		
8E	84	30	14,1		1,9		
8F	62	30	17,4		1,0		
8G	40	30	8,5		1,6		
10	81	30	21,8		1,7		
11	52	30	26		1,3		
12	78	30	34		1,2		
30	112	30		6,5		73	
31	99	30		7,7		7,8	
32	104	30	8	4		15	
3	70	30	9,8		7,8		
4	61	15	7,6		1,0		
5	60	15	11,6		0,9		34

Таблица 4

Идент. №	BaF3-EGFR LTC IC50 мкМ
33A	0,45
33B	0,82
33C	0,79
33D	0,71
33E	0,61
33F	0,50
33G	2,6
33H	0,85
33I	1,75
33J	1,95
33K	2,20
33L	2,85
35G	5,95
35H	1,85
35I	1,57

Идент. №	BaF3-EGFR LTC IC50 мкМ
34A	2,00
34B	2,60
34C	6,50
34D	1,42
34E	4,80
34F	0,70
35A	0,56
35B	0,80
35C	0,55
35D	0,28
35E	1,13
35F	2,55

Пример 51. Фармакокинетика *in vivo* соединения 8C в опухоли и плазме.

Кратковременное фармакокинетическое исследование введения агента путем внутрибрюшинной инъекции показало, что соединение 8C селективно накапливается в опухоли, несмотря на то, что оно быстро выводится из плазмы (см. фиг. 8A и 8B). Пиковая концентрация соединения 8C, достигаемая в опухоли ($69,7 \pm 15,68$ мкМ в течение ≥ 7 часов), намного превышает концентрацию, необходимую для уничтожения 99% устойчивых к TKI опухолевых клеток. IC₅₀ и IC₉₀ для PC9-AZR и HCC827-AZR находятся в диапазоне от ~1,5 до ~4 мкМ (см. фиг. 7A). Интересно отметить, что максимальная концентрация в плазме составляла $5,4 \pm 1,5$ мкМ в течение 30 минут. Период полувыведения соединения 8C из плазмы составляет 7,96 часа, но период полураспада в опухоли намного превышает 24 часа (см. фиг. 8A). Длительное накопление лекарственного средства в опухолях, несмотря на быстрое системное выведение, идеально подходит для терапевтического применения. Данные в 24-часовой временной точке указывают на то, что агент может подходить для ежедневного введения. После наблюдения за избирательным накоплением соединения 8C в опухолях, инъецированных внутрибрюшинно, определяли, доступно ли соединение 8C перорально. Для перорального введения соединение 8C составляли в 20% растворе твина 80 в PBS (об./об.) после короткой обработки ультразвуком. Мышам вводили 100 мг/кг через желудочный зонд. Определяли концентрации соединения 8C в образцах опухоли и плазмы через 7 часов, 15 часов и 24 часа, и отображали на фиг. 8B.

Для внутрибрюшинной инъекции соединение 8C составляли в концентрации 10 мг/мл в PBS с 5% ДМСО путем доведения pH до 5,5. Для перорального введения гомогенная суспензия была приготовлена в 20% растворе твина 80 после короткой обработки ультразвуком. Первоначально однократную дозу соединения 8C 100 мг/кг вводили внутрибрюшинно (фиг. 8A) или через зонд безтимусным мышам, несущим человеческие ксенографты опухоли NCI-H1975 (> 150 мм³) (фиг. 8B). Мышей умерщвляли через 0, 30 минут, 1, 3, 7, 15 и 24 часа. Собирали образцы опухоли и плазмы. В случае мышей, которым перорально вводили зонд, образцы плазмы и опухоли собирали только через 7, 15 и через 24 часа. Определяли концентрацию соединения 8C в плазме и опухоли, и полученные данные наносили на график в единицах молярной концентрации.

Пример 52. Валидация репортера EGFR *in vivo*.

Этот подход был подтвержден с соединением C95. Вкратце, как только опухоли достигли размера около 100 мм³, мышей визуализировали для получения базальной биoluminesценции и эффекта предварительного лида соединения 95, в различные моменты времени (см. фиг. 9A). Изменение биoluminesценции было количественно оценено и нанесено на график (см. фиг. 9B). Наконец, влияние лечения на уровень белка EGFR было подтверждено с помощью иммуноблоттинга через 48 часов лечения.

Пример 53. Активность *in vivo* соединения 8C.

Безтимусных мышей, несущих либо UMSCC74B (~100 мм²), обрабатывали (30 мг/кг, ежедневно в течение одной недели) или носителем (5% ДМСО в PBS). В каждой группе было по меньшей мере 5 мышей. Объем опухоли и массу тела регистрировали 3-4 раза в неделю, и строили график изменения среднего объема опухоли во времени. Средняя потеря массы тела во время лечения составила менее 10%. Величина ошибки представляет собой стандартную ошибку среднего.

Для группы лечения соединением 8C 0 день определяют, как первый день лечения. У контрольных мышей с носителем 0 день определяли, как день, когда объем опухоли был наиболее близок к среднему объему опухоли в группах лечения соединением 8C в день начала лечения. Чтобы оценить, различались ли темпы роста объема опухоли в зависимости от лечения, модели смешанного эффекта были подогнаны со случайным перехватом на уровне мыши, чтобы учесть коррелированные результаты во времени внутри опухоли и между 2 опухолями внутри мыши. Монотерапия вызвала значительное снижение скорости роста опухоли после одной недели приема препарата (см. фиг. 10). Скорость роста опухоли была значительно ниже в группе лечения соединением 8C по сравнению с согласованной по времени контрольной группой ($p=0,013$) и общей контрольной группой ($p<0,001$).

Пример 54. Эффект соединения 8C в модели опухоли, устойчивой к осимертинибу.

Для испытания активности соединения 8C против опухолей, резистентных к осимертинибу EGFR, была разработана модель асцитной опухоли с использованием клеток Ba/F3-AZR (L858R+T790M+C797S-EGFR), как сообщалось ранее (65). 5 миллионов клеток Ba/F3-AZR вводили внутрибрюшинно 6-недельным самкам бестимусных мышей. У мышей развилась асцитическая опухоль и средняя продолжительность жизни составила 20 дней. Чтобы проверить эффективность соединения 8C по сравнению с осимертинибом, инъецированным 15 мышам вводили клетки Ba/F3-AZR. Через 18 дней после инъекции опухолевых клеток мышей случайным образом разделили на три группы. Мышам вводили носитель, однократную пероральную дозу 30 мг/кг осимертиниба или 30 мг/кг соединения 8C посредством внутрибрюшинной инъекции. Следили за здоровьем мышей и мышей умерщвляли в соответствии с рекомендациями ULAM по конечной стадии. Хотя лечение было начато после того, как опухоль стала большой, однократная доза соединения 8C 30 мг/кг продлила жизнь этих мышей по сравнению с группой, получавшей осимертиниб. Разницы между контрольной группой носителя и группой лечения осимертинибом не отмечалось. Разницу между осимертинибом и соединением 8C рассчитывали с использованием логрангового критерия ($p=0,072$). Чтобы проверить влияние лечения на мишень, опухолевые клетки собирали у одной мыши до лечения, через 18 часов и 24 часа после лечения. Клетки промывали PBS и обрабатывали, как описано на фиг. 3, а результаты иммуноблоттинга, показывающие влияние обработки на EGFR, pEGFR и другие молекулы, представлены на фиг. 11.

Пример 55. Предварительное испытание безопасности соединения 8C в модели мыши.

Предварительный тест на безопасность суточной дозы 30 мг/кг в течение одной недели был проведен на мышах C57BL6. Во время лечения контролировали общее состояние здоровья и массу группы из 6 мышей. Наблюдалась умеренная потеря массы тела $3,5\pm 2,4\%$ после одной недели лечения, но мыши полностью восстановили массу через 2 дня после прекращения лечения.

Пример 56. Скрининг клеточной линии NCI 60.

Активность соединения 8C тестировали против 60 различных линий опухолевых клеток человека в Национальном институте рака с использованием стандартного протокола скрининга NCI 60. Процент ингибирования роста для наиболее эффективных клеточных линий приведен в табл. 5 ниже.

Таблица 5

Панель	Клеточная линия	Процент роста
Меланома	SK-MEL-5	-96,2
Рак толстой кишки	HCT-116	-90,7
Меланома	M14	-83,8
Рак почки	786-0	-81,7
Меланома	UACC-62	-78,9
Меланома	LOX IMVI	-78,5
Рак толстой кишки	COLO 205	-76,2
Меланома	MALME-3M	-75,5
Меланома	SK-MEL-28	-70,1
Рак толстой кишки	HT29	-67,1
Лейкемия	K-562	-61,5
Меланома	UACC-257	-61,2
Рак толстой кишки	HCC-2998	-51,3
Рак молочной железы	MDA-MB-468	-43,8
Рак молочной железы	MCF7	-42,7
Лейкемия	HL-60(TB)	-40,7
Рак молочной железы	MDA-MB-231/ATCC	-40,5

Пример 57. Влияние соединения 8C на модели опухоли поджелудочной железы.

Мышам КС в возрасте 6 недель вводили соединение 8C через желудочный зонд (30 мг/кг массы тела, ежедневно). Полученный эффект на уровни PanIn наблюдали по сравнению с контрольными мышами, которым не вводили соединение 8C. Мыши, получавшие соединение 8C, показали значительно сниженную склонность к развитию PanIn (панкреатическая интраэпителиальная неоплазия), типа поражения протока поджелудочной железы, как показано на фиг. 13.

Пример 58. Влияние соединения 8C на модели опухоли головы и шеи.

Мышиные ксенографты UMSCC74B, линии опухолевых клеток головы и шеи, обрабатывали соединением 8C через желудочный зонд (30 мг/кг массы тела, два раза в неделю). Результирующий эффект на объем опухоли наблюдали по сравнению с контрольными мышами, которым не вводили соединение 8C, и контрольными мышами, которым вводили цетуксимаб. Мыши, получавшие соединение 8C, показали значительно уменьшенный объем опухоли по сравнению с обоими контролями, как показано на фиг. 14.

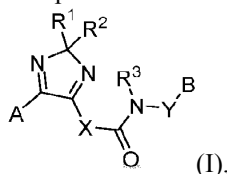
Список использованных источников

1. Midha et al. Am J Cancer Res. 2015;5:2892-911.
2. Dahabreh et al. Clin Cancer Res. 2010;16:291-303.
3. Rudin et al. Clin Cancer Res. 2009;15:5646-61.
4. Balak et al. Clin Cancer Res. 2006;12:6494-501.
5. Yun et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105:2070-5.
6. Bublil et al. Faseb J. 2010;24:4744-55.
7. Soria et al. N Engl J Med. 2018;378:113-25.
8. Niederst et al. Clin Cancer Res. 2015;21:3924-33.
9. Thress et al. Nat Med. 2015;21:560-2.
10. Yu et al. JAMA Oncol. 2015;1:981-3.
11. Arulananda et al. Journal of Thoracic Oncology. 2017;12:1728-32.
12. Jia Y et al. Nature. 2016;534:129-32.
13. Kong et al. Biochem Biophys Res Commun. 2017;488:266-72.
14. Ahsan et al. Neoplasia. 2014;16:105-14.
15. Ahsan et al. J Biol Chem. 2013;288:26879-86.
16. Lichtner et al. Cancer Research. 2001;61:5790-5.
17. WO2012087943-A2; US2012190622; WO2012087943; EP2655401; US9029502; US2015218277.
18. WO2014176475
19. Amador et al. Cancer Research. 2004;64:9139-43.
20. Wheeler et al. Nature Reviews Clinical Oncology. 2010;7:493-507.
21. Pao et al. PLoS Med. 2005;2:e73.
22. Cuneo et al. Pharmacol Ther. 2015;154:67-77.
23. Burslem et al. Cell Chem Biol. 2018;25:67-+.
24. Ray et al. Oncotarget. 2016.
25. Raina et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016;113:7124-9.
26. Crews et al. J Med Chem. 2016;59:5129-30.
27. Ray et al. Neoplasia. 2015;17:697-703.
28. Bondeson et al. Nature Chemical Biology. 2015;11:611-U120.
29. Shukla et al. Neoplasia. 2014;16:115-28.
30. Hines et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110:8942-7.

31. Ray et al. Neoplasia. 2011;13:570-8.
32. Argiris et al. Clin Cancer Res. 2011;17:5755-64.
33. Ahsan et al. Cancer Res. 2010;70:2862-69.
34. Feng et al. Oncogene. 2007;26:3431-9.
35. Piao et al. Cancer Gene Ther. 2009;16:256-65.
36. Wang et al. J Gene Med. 2013;15:42-50.
37. Spivakkroizman et al. J Biol Chem. 1992;267:8056-63.
38. Ewald et al. Exp Cell Res. 2003;282:121-31.
39. Walker et al. Mol Cell Biol. 1998;18:7192-204.
40. Coban O et al. Biophys J. 2015;108:1013-26.
41. Chung et al. Nature. 2010;464:783-U163.
42. Zhang et al. Nature. 2007;450:741-4.
43. Zhang et al. Cell. 2006;125:1137-49.
44. Torchilin et al. Drug Discov Today. 2003;8:259-66.
45. Ripphausen et al. Drug Discov Today. 2011;16:372-6.
46. Corcoran et al. Cancer Discovery. 2012;2:227-35.
47. Khan et al. Analytical Biochemistry. 2011;417:57-64.
48. Chmielecki et al. Sci Transl Med. 2011;3:90ra59.
49. Lovly et al. Nat Med. 2014;20:1027-34.
50. Ichihara et al. Cancer Research. 2017;77:2990-3000.
51. Yu et al. The AAPS journal. 2011;13:417-26.
52. Sun et al. J Med Chem. 2011;54:3306-18.
53. Cai et al. J Med Chem. 2011;54:2714-26.
54. Zheng et al. Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. 2011;39:627-35.
55. Fang et al. Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. 2008;36:1153-65.
56. Fang et al. J Clin Pharmacol. 2007;47:227-37.
57. Zou et al. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2012;8:855-72.
58. Han et al. Cancer Lett. 2012;318:124-34.
59. Weihua et al. Cancer Cell. 2008;13:385-93.
60. Wei et al. Cell. 2013;154:1269-84.
61. Li et al. Autophagy. 2010;6:1066-77.
62. Leighl et al. Clin Lung Cancer. 2017;18:34-42.
63. Pan et al. PLoS One. 2015;10.
64. Sangodkar et al. J Clin Invest. 2012;122:2637-51.
65. Ma et al. Blood Cancer J. 2013;3.
66. Morgan et al. Front Oncol. 2017;7.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, имеющее структуру формулы I



где X представляет собой O-C₀₋₆алкилен, S-C₀₋₆алкилен или NR³-C₀₋₆алкилен;

Y представляет собой C₀₋₆алкилен;

A представляет собой C₆₋₁₀арил, и указанный арил необязательно замещен 1-3 R⁴;

B представляет собой 10-членный гетероарил, содержащий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S; каждый R¹ и R² независимо представляют собой C₁₋₆алкил, или R¹ и R² вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 4-8-членное циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо, при этом гетероциклоалкильное кольцо имеет 1 или 2 кольцевых гетероатома, выбранных из O, S и N, и при этом указанное циклоалкильное кольцо или гетероциклоалкильное кольцо необязательно замещено 1-2 R⁶;

каждый R³ независимо представляет собой H или C₁₋₆алкил;

каждый R^4 и R^5 независимо представляет собой C_{1-6} алкил, C_{1-6} галогеналкил, галоген или C_{1-6} алкокси; и

R^6 представляет собой C_{1-6} алкил, C_{1-6} галогеналкил, $(C=O)R^3$, $(C=O)OR^3$, $CON(R^3)_2$, C_{0-3} алкилен- C_{3-8} циклоалкил, C_{0-3} алкилен- C_{6-10} арил или C_{0-3} алкилен-(5-10-членный гетероарил, содержащий 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S), при этом арил или гетероарил необязательно замещен 1-3 R^5 .

2. Соединение или соль по п.1, отличающееся тем, что каждый R^1 и R^2 независимо представляет собой C_{1-6} алкил.

3. Соединение или соль по п.2, отличающееся тем, что каждый R^1 и R^2 представляет собой метил.

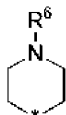
4. Соединение или соль по п.1, отличающееся тем, что R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 4-8-членное циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо.

5. Соединение или соль по п.4, отличающееся тем, что R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют 5 или 6-членное циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо.

6. Соединение или соль по п.5, отличающееся тем, что 5 или 6-членное циклоалкильное или гетероциклоалкильное кольцо является незамещенным.

7. Соединение или соль по п.5, отличающееся тем, что R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют циклогексильное кольцо.

8. Соединение или соль по п.5, отличающееся тем, что R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют гетероциклоалкильное кольцо, имеющее структуру



где * обозначает место присоединения к остальной части соединения формулы I.

9. Соединение или соль по любому из пп.1-8, отличающееся тем, что каждый R^4 и R^5 независимо представляет собой C_{1-6} алкил, галоген или C_{1-6} алкокси.

10. Соединение или соль по любому из пп.1-9, отличающееся тем, что R^6 представляет собой C_{1-6} алкил, $(C=O)R^3$, $(C=O)OR^3$ или $CON(R^3)_2$.

11. Соединение или соль по любому из пп.4-10, отличающееся тем, что R^6 представляет собой C_{1-6} алкил.

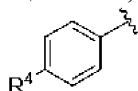
12. Соединение или соль по п.10, отличающееся тем, что R^6 представляет собой метил.

13. Соединение или соль по любому из пп.1-12, отличающееся тем, что А представляет собой фенил.

14. Соединение или соль по любому из пп.1-13, отличающееся тем, что В представляет собой хинолинил.

15. Соединение или соль по любому из пп.1-14, отличающееся тем, что А замещен одним R^4 .

16. Соединение или соль по п.15, отличающееся тем, что А имеет структуру



17. Соединение или соль по любому из пп.1-14, отличающееся тем, что А замещено двумя R^4 .

18. Соединение или соль по любому из пп.1-17, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^4 представляет собой C_{1-6} алкил.

19. Соединение или соль по п.18, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^4 представляет собой метил.

20. Соединение или соль по любому из пп.1-17, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^4 представляет собой галоген.

21. Соединение или соль по п.20, отличающееся тем, что R^4 представляет собой бром.

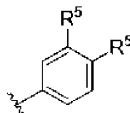
22. Соединение или соль по любому из пп.1-17, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^4 представляет собой C_{1-6} алкокси.

23. Соединение или соль по п.22, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^4 представляет собой метокси.

24. Соединение или соль по любому из пп.1-23, отличающееся тем, что В замещен одним R^5 .

25. Соединение или соль по любому из пп.1-23, отличающееся тем, что В замещен двумя R^5 .

26. Соединение по п.25, отличающееся тем, что В имеет структуру



27. Соединение или соль по любому из пп.1-26, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^5 представляет собой галоген.

28. Соединение или соль по п.27, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^5 представляет собой фтор или хлор.

29. Соединение или соль по п.23 или 26, отличающееся тем, что один R^5 представляет собой фтор, а другой R^5 представляет собой хлор.

30. Соединение или соль по любому из пп.1-26, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^5 представляет собой C_{1-6} алкокси.

31. Соединение или соль по п.30, отличающееся тем, что по меньшей мере один R^5 представляет собой метокси.

32. Соединение или соль по п.23 или 26, отличающееся тем, что один R^5 представляет собой галоген, а другой R^5 представляет собой C_{1-6} алкокси.

33. Соединение или соль по п.32, отличающееся тем, что один R^5 представляет собой хлор, а другой R^5 представляет собой метокси.

34. Соединение или соль по любому из пп.1-33, отличающееся тем, что X представляет собой $O-C_{0-6}$ алкилен или $S-C_{0-6}$ алкилен.

35. Соединение или соль по п.34, отличающееся тем, что X представляет собой $S-C_{0-6}$ алкилен.

36. Соединение или соль по п.34, отличающееся тем, что X представляет собой O, S, $O-CH_2-$ или $S-CH_2-$.

37. Соединение или соль по любому из пп.1-36, отличающееся тем, что Y представляет собой C_{0-2} алкилен.

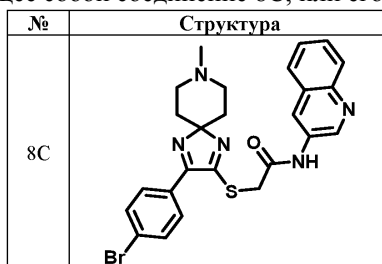
38. Соединение или соль по п.37, отличающееся тем, что Y отсутствует или представляет собой CH_2 .

39. Соединение по п.38, отличающееся тем, что X представляет собой NR^3-CH_2 , $O-CH_2-$ или $S-CH_2-$, и Y отсутствует.

40. Соединение или соль по п.38, отличающееся тем, что X представляет собой NR^3-CH_2 , $O-CH_2-$ или $S-CH_2-$, и Y представляет собой CH_2 .

41. Соединение или соль по любому из пп.1-40, отличающееся тем, что R^3 представляет собой H.

42. Соединение, представляющее собой соединение 8C, или его фармацевтически приемлемая соль



43. Соединение, указанное в табл. 2, или его фармацевтически приемлемая соль

Таблица 2

№	Структура	№	Структура
33a		33b	
33c		33d	

33e	
33g	
33i	
33k	
33f	
33h	
33j	
33l	

34a		34b	
34c		34d	
34e		34f	
35a		35b	
35c		35d	
35e		35f	
35g		35h	
35i			

44. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение или соль по любому из пп.1-43, и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество.

45. Способ ингибирования функции EGFR, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения или соли по любому из пп.1-43.

46. Способ по п.45, отличающийся тем, что ингибирование включает ингибирование димеризации EGFR.

47. Способ по п.45 или 46, отличающийся тем, что ингибирование включает индукцию деградации EGFR.

48. Способ лечения или профилактики заболевания или расстройства, связанного с aberrантной активностью EGFR, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения или соли по любому из пп.1-43.

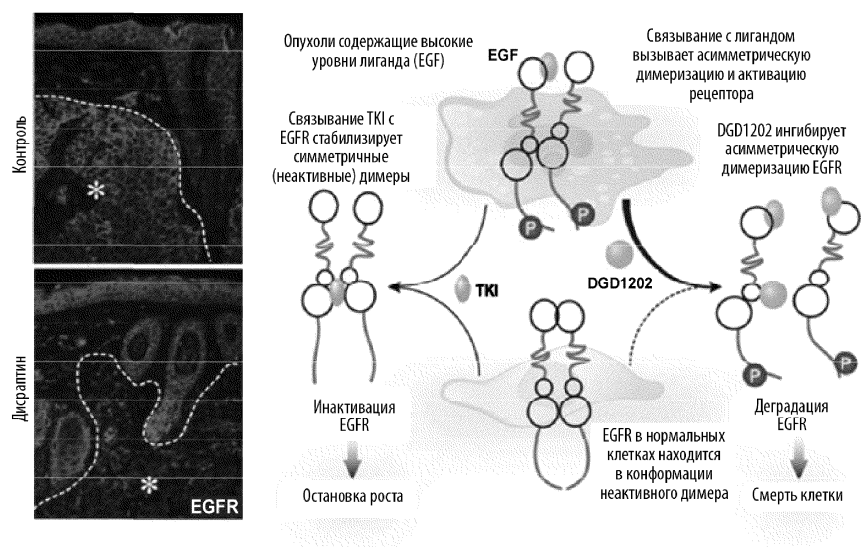
49. Способ по п.48, отличающийся тем, что заболевание или расстройство представляет собой рак.

50. Способ по п.49, отличающийся тем, что рак выбран из рака легких, колоректального рака, глиобластомы и рака головы и шеи.

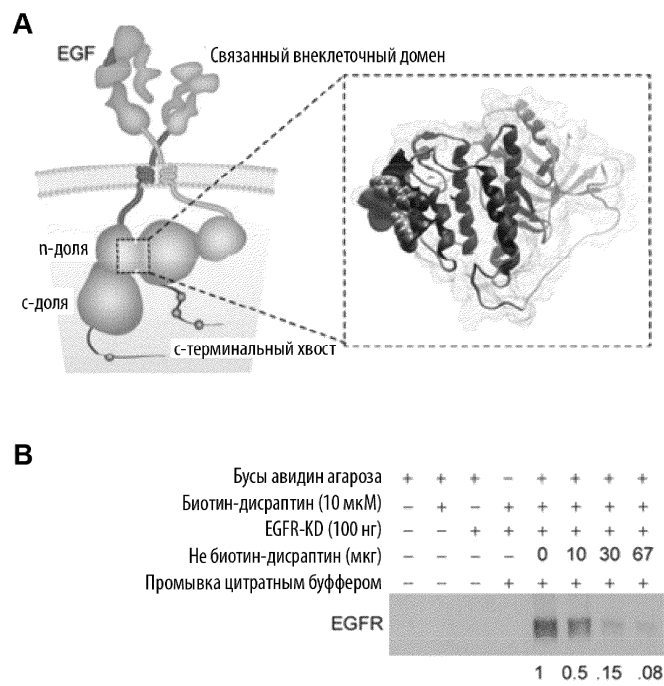
51. Способ по п.49, отличающийся тем, что рак представляет собой меланому, рак толстой кишки, рак почек, лейкемию или рак груди.

52. Способ по любому из пп.49-51, отличающийся тем, что рак является устойчивым к осимертинибу.

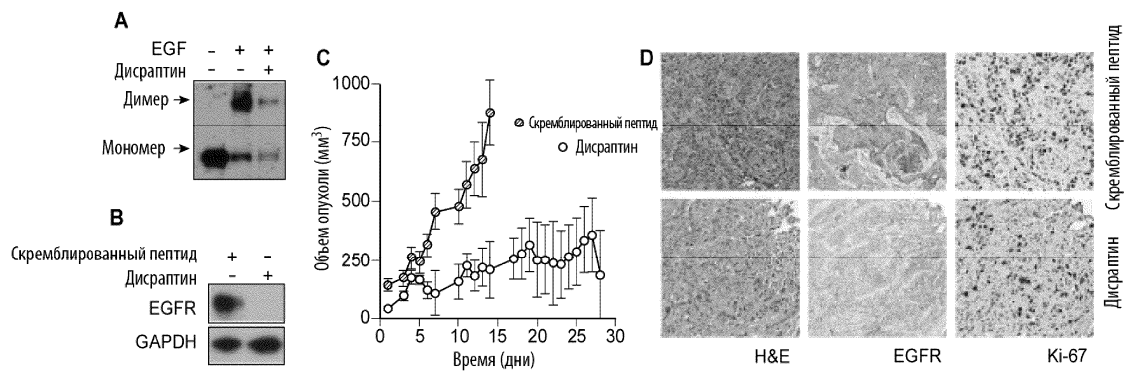
53. Способ по любому из пп.45-52, отличающийся тем, что субъект представляет собой человека.



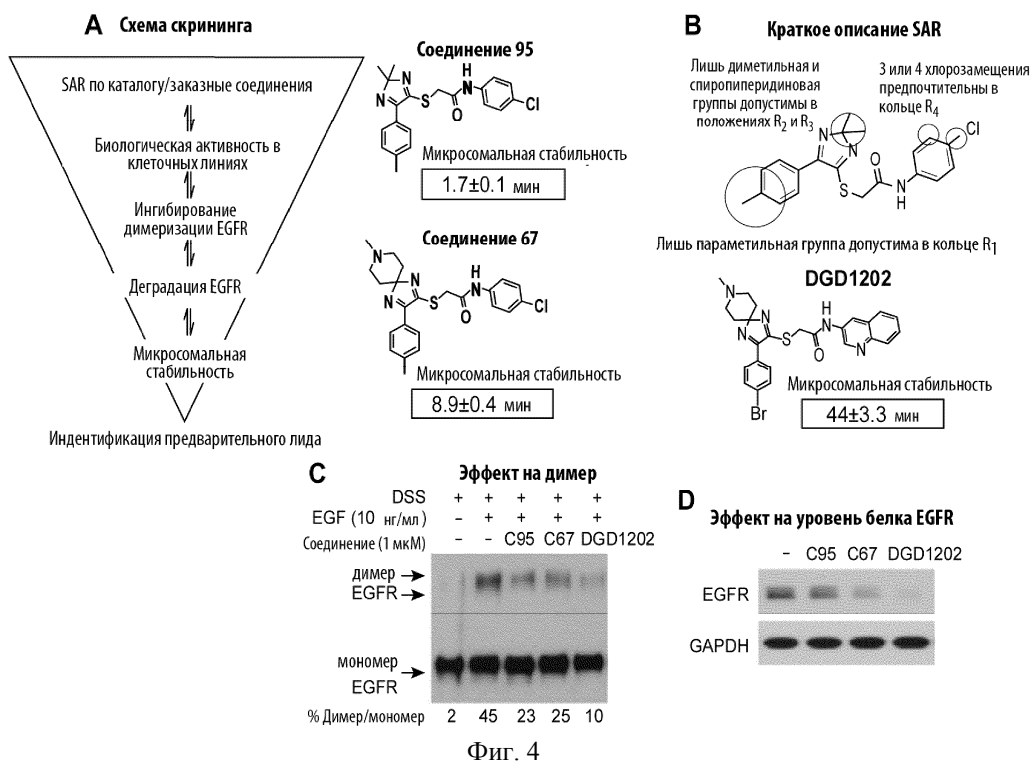
Фиг. 1



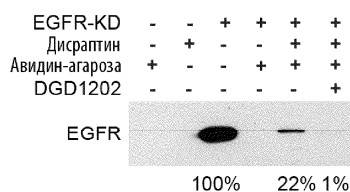
Фиг. 2



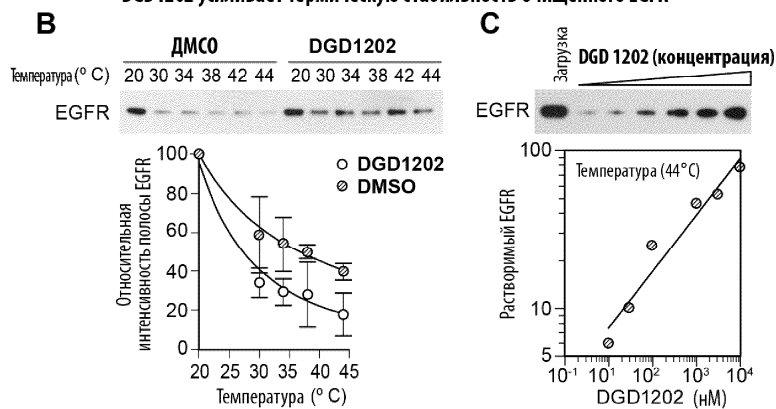
Фиг. 3



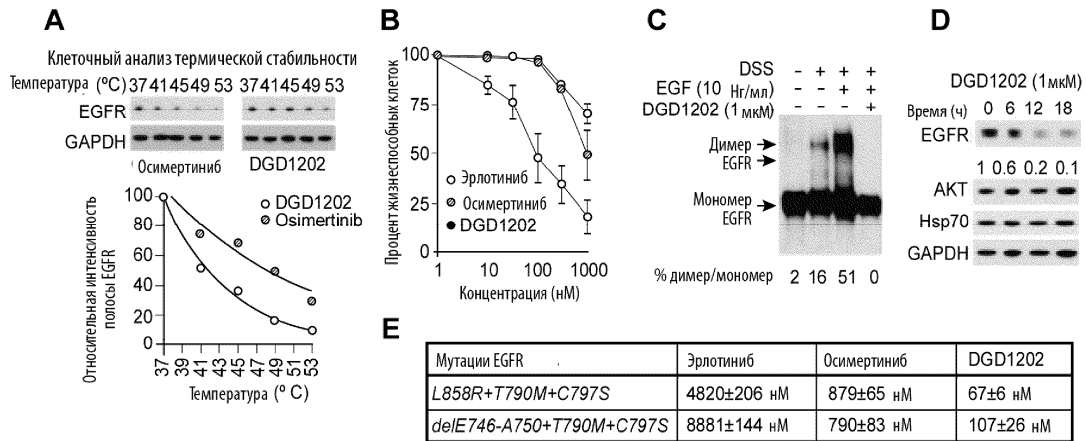
А DGD1202 конкурирует с дисраптином за связывание с EGFR



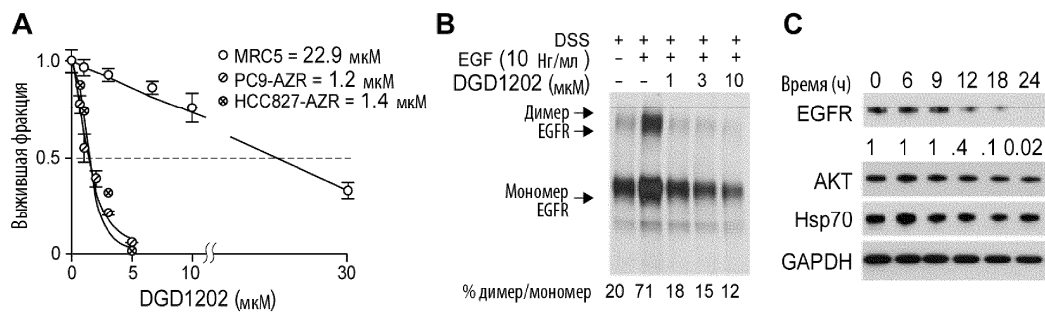
DGD1202 усиливает термическую стабильность очищенного EGFR



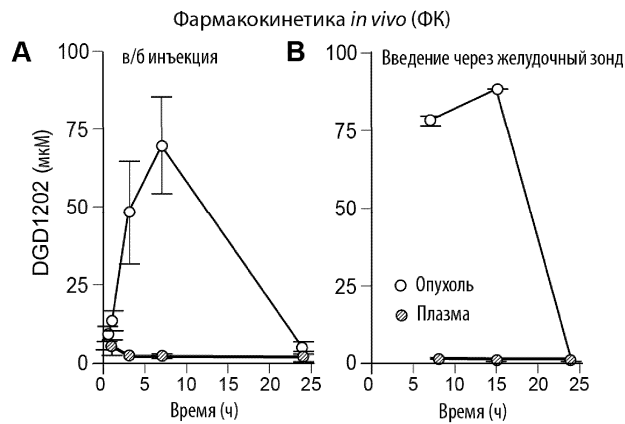
Фиг. 5



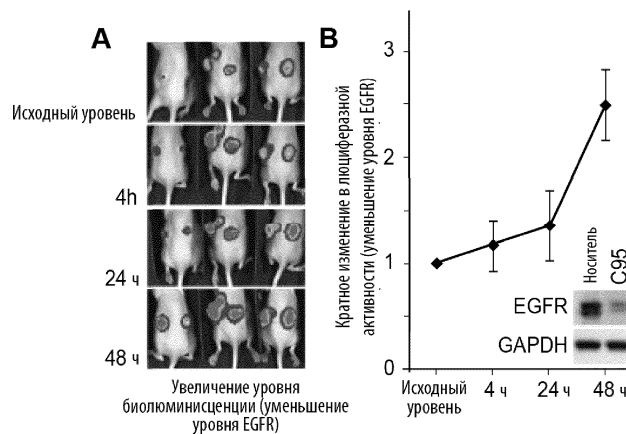
Фиг. 6



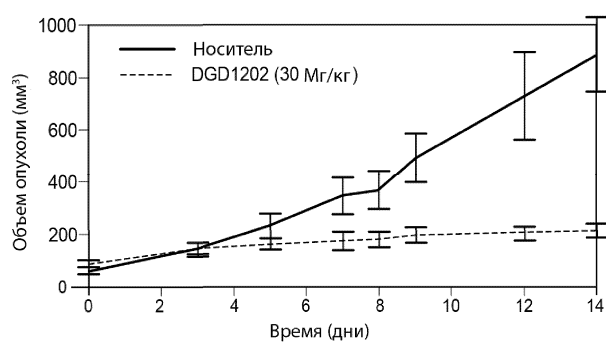
Фиг. 7



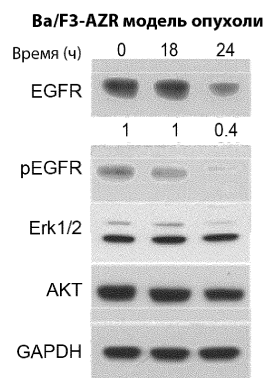
Фиг. 8



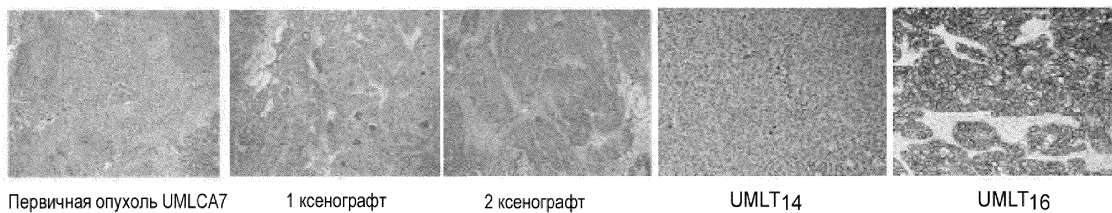
Фиг. 9



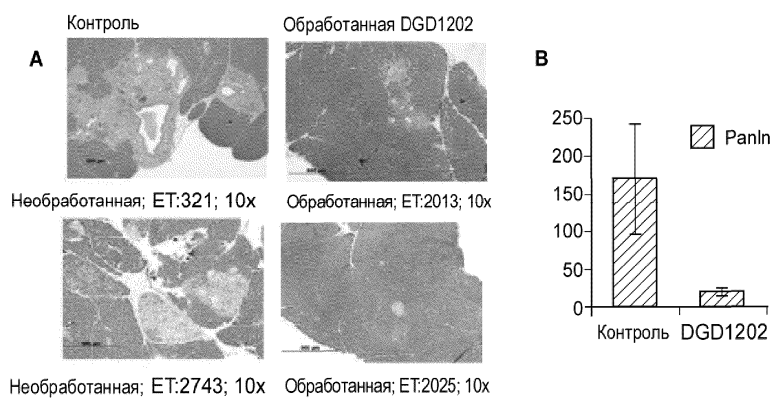
Фиг. 10



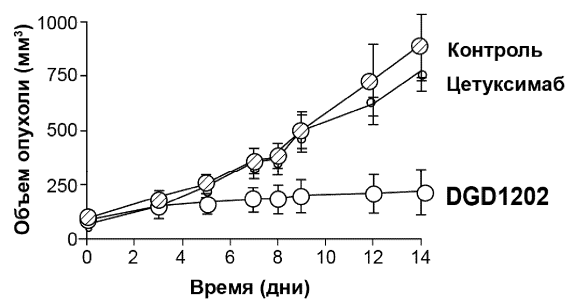
Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13



DGD1202 (30 мг/кг) дважды в неделю, понедельник и четверг

Фиг. 14



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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