

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293044 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.14

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.04.07

(54) [1,3]ДИАЗИНО[5,4-d]ПИРИМИДИНЫ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ HER2

(31) 20171221.3

(72) Изобретатель:

(32) 2020.04.24

Вильдинг Биргит, Бёзе Дитрих,
Энгельхардт Харальд, Фукс Юлиан,
Ноймюллер Ральф, Петронцкий
Марк, Шарн Дирк, Трой Маттиас
(DE)

(33) EP

(86) PCT/EP2021/059015

(87) WO 2021/213800 2021.10.28

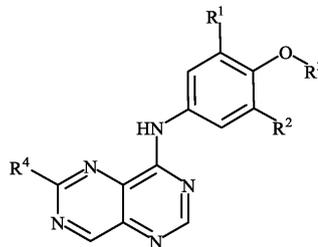
(71) Заявитель:

БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Изобретение относится к новым [1,3]дiazино[5,4-d]пиримидинам и производным формулы (I)



в которой группы R¹, R², R³ и R⁴ имеют значения, указанные в формуле изобретения и описании, к их применению в качестве ингибиторов HER2 и к их мутантам, фармацевтическим композициям, которые содержат такие соединения и к их применению в качестве лекарственных средств, в особенности в качестве средств для лечения и/или профилактики онкологических заболеваний.

A1

202293044

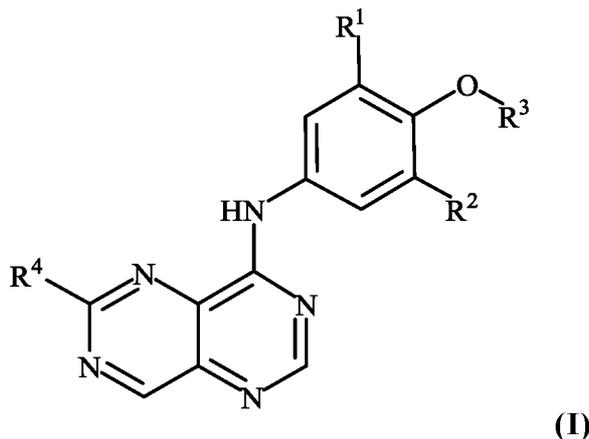
202293044

A1

[1,3]ДИАЗИНО[5,4-d]ПИРИМИДИНЫ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ HER2

5 Область, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новым [1,3]диазино[5,4-d]пиридинам и производным формулы (I)



10 в которой группы R^1 , R^2 , R^3 и R^4 имеют значения, указанные в формуле изобретения и описании, к их применению в качестве ингибиторов HER2 и к их мутантам, фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения и к их применению в качестве лекарственных средств, особенно в качестве средств для лечения и/или профилактики онкологических заболеваний.

15 Предпосылки к созданию изобретения

Семейство ERBB трансмембранных рецепторных тирозинкиназ (RTK) состоит из четырех членов EGFR (ERBB1), HER2 (Neu, ERBB2), HER3 (ERBB3) и HER4 (ERBB4), которые выполняют важные функции во время развития (Citri и соавт., Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2006, 7(7), 505-516; Hynes и соавт., Curr. Opin. Cell Biol., 2009, 21(2), 177-184; Wang, Z., Methods Mol. Biol., 2017, 1652, 3-35.). Передача сигналов ERBB инициируется при связывании внеклеточных доменов EGFR, HER3 или HER4 с их соответствующими лигандами и последующей гомо- или гетеродимеризации членов семейства ERBB. HER2, лиганд для которого не идентифицирован, является предпочтительным партнером по димеризации для других членов ERBB. После образования активного комплекса лиганд-рецептор внутриклеточные тирозинкиназные домены EGFR, HER2, HER3 или HER4

25

активируются путем ауто- или трансфосфорилирования и впоследствии вызывают каскад передачи сигнала, в первую очередь приводя в действие пути митоген-активируемой протеинкиназы (MAP) и/или фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) (Citri и соавт., Nat. Rev. Mol. Cell. Biol., 2006, 7(7), 505-516; Hynes и соавт., Curr. Opin. Cell Biol., 2009, 21(2), 177-184; Wang, Z., Methods Mol. Biol., 2017, 1652, 3-35).

Аберрантная передача сигналов ERBB вовлечена в несколько патологических состояний, включая рак или неврологические заболевания. При раке передача сигналов ERBB гиперактивируется из-за мутаций, которые делают RTK конститутивно активным, способствуя димеризации или смещая равновесие в сторону активного конформера киназы и/или посредством амплификации и последующей сверхэкспрессии RTK. Оба онкогенных механизма увеличивают чистый выход передачи сигналов ERBB и тем самым способствуют выживанию, росту и пролиферации клеток (Arteaga и соавт., Cancer Cell, 2014, 25(3), 282-303).

Аберрантная передача сигналов HER2 наблюдается при большом количестве злокачественных новообразований у человека. Онкогенные мутации описаны для внеклеточной, (юкта-)мембранной и внутриклеточной областей белка. В совокупности эти мутации делают HER2 конститутивно активным, способствуя возникновению рака, поддержанию и росту опухоли (Connell и соавт., ESMO Open, 2017, 2(5), e000279). Точно так же сверхэкспрессия HER2 увеличивает передачу сигналов HER2 и лежит в основе неопластической трансформации и поддержания опухоли при различных показаниях, включая рак молочной железы, желудка или легких.

Следовательно, вмешательство в онкогенную передачу сигналов HER2 приводит к ингибированию роста опухоли. Таргетная терапия включает направленные на HER2 антитела (включая трастузумаб и пертузумаб), направленные на HER2 конъюгаты антитело-лекарственное средство (трастузумаб-DM1 (T-DM1, адо-трастузумаб эмтанзин)) и малые молекулы, ингибирующие домен киназы HER2 (афатиниб, нератиниб, лапатиниб).

В целом, опухоли, вызванные онкогенными мутациями HER2 или сверхэкспрессией HER2 дикого типа (например, из-за амплификации гена), могут получить пользу от HER2-специфического ингибитора тирозинкиназы (TKI). В совокупности изменения HER2 затрагивают до 6-7% всех видов рака

человека и ТК1 (ингибитор тирозинкиназы), щадящий EGFR дикого типа, может стать эффективным терапевтическим вариантом.

Несмотря на то, что существуют ингибиторы HER2 дикого типа, которые являются селективными по сравнению с EGFR дикого типа, такие как тукатиниб, эти ингибиторы не обладают эффективностью в отношении HER2, несущего мутации экзона 20. Другие селективные ингибиторы HER2 дикого типа были раскрыты в документах предшествующего уровня техники WO 2003/049740, WO 2007/059257, WO 2005/044302 и WO2019/042409.

Мутации экзона 20 HER2 составляют подмножество мутаций HER2 с приобретением функции, которые приводят к повышенной активности киназы (Wang и соавт. Cancer Cell, 2006, 10(1), 25-38). Эта повышенная активность киназы HER2 питает нижележащие сигнальные каскады, которые стимулируют неопластическую трансформацию посредством стимулирования роста, пролиферации и выживания мутантных клеток.

Исследования на генетически модифицированных моделях мышей показали, что наиболее распространенная мутация экзона 20 HER2 при НМРЛ, дупликация 4 аминокислот YVMA (p.A775_G776insYVMA), необходима и достаточна для запуска онкогенного роста (Perera и соавт., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009, 106(2), 474-479). Прекращение экспрессии HER2-YVMA связано с уменьшением размера опухоли, что позволяет предположить, что этот онкогенный вариант HER2 необходим для поддержания опухоли (Perera и соавт. 2009). Кроме того, это исследование продемонстрировало, что на мышинной модели блокатор pan-ERBB афатиниб эффективен *in vivo* и может препятствовать онкогенной передаче сигналов HER2-YVMA (Perera и соавт. 2009).

Онкогенные мутации в HER2 при НМРЛ преимущественно затрагивают тирозинкиназный домен HER2 и кластер в экзоне 20 гена ERBB2 (Stephens и соавт., Nature, 2004, 431(7008), 525-526). 2 - 4% пациентов с раком легких несут активирующие мутации в экзоне 20 HER2. Клинически одобренные ERBB, нацеленные на ингибиторы тирозинкиназы, неэффективны у этих пациентов, поскольку они ограничены токсичностью, опосредованной EGFR дикого типа, ограничивающей дозу. Афатиниб и другие блокаторы pan-ERBB показали ограниченную эффективность у пациентов с НМРЛ с мутацией экзона 20 HER2, в основном из-за ограничений в достижении эффективной дозы. В частности,

токсичность, опосредованная EGFR дикого типа, ограничивает эффективное дозирование.

Аллитиниб, ибрутиниб, нератиниб, poziотиниб и пиротиниб являются известными ингибиторами ran-ERBB мутантного экзона 20 HER2. 5
Дополнительные ингибиторы мутантного экзона 20 HER2 были раскрыты в документах предшествующего уровня техники WO 2015/175632, WO 2015/195228, WO 2016/183278 и WO 2019/046775.

В медицине существует большая неудовлетворенная потребность в соединениях, которые избирательно нацелены на мутантные белки экзона 20 10
HER2, сохраняя при этом EGFR дикого типа, чтобы преодолеть недостатки опосредованной EGFR дикого типа токсичности, ограничивающей дозу.

Было обнаружено, что соединения в соответствии с настоящим изобретением связываются с тирозинкиназным доменом дикого типа и мутантным экзоном 20 HER2 ортостерическим и ковалентным образом, сохраняя 15
при этом EGFR дикого типа, и действуют как селективные ингибиторы HER2 дикого типа и мутантного HER2, несущих мутации в экзоне 20.

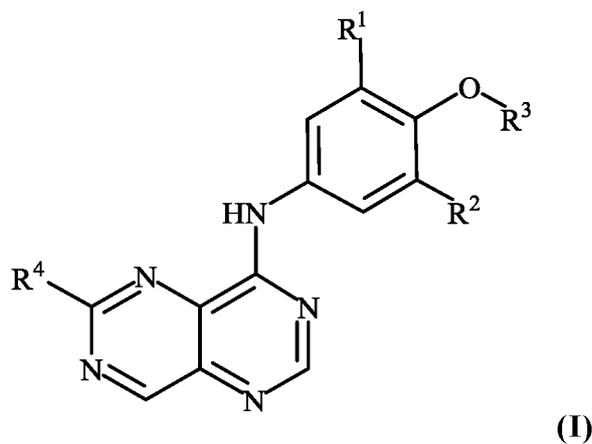
Краткое изложение сущности изобретения

Задачей настоящего изобретения является создание новых ингибиторов мутантного экзона 20 HER2, которые являются селективными по отношению к 20
EGFR дикого типа. Соединения в соответствии с изобретением действуют как селективные ингибиторы экзона 20 HER2 и демонстрируют улучшенный профиль эффективности сбережения EGFR дикого типа в дополнение к высокой селективности сравнительно с EGFR дикого типа по сравнению с соединениями предшествующего уровня техники. Кроме того, некоторые соединения в 25
соответствии с настоящим изобретением проявляют улучшенный фармакокинетический и фармакологический профиль, такой как хорошая метаболическая стабильность.

Соединения в соответствии с изобретением пригодны для профилактики и/или лечения заболевания и/или состояния, характеризующегося чрезмерной 30
или аномальной пролиферацией клеток, особенно при лечении и/или профилактике рака.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к новым [1,3]диазино[5,4-*d*]пиримидинам и производным формулы (I)



в которой

5 R^1 выбирают из группы, включающей в себя водород, $-CH_3$, $-CCH_3$, $-OCH_3$ и галоген;

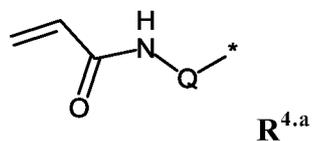
R^2 представляет собой водород или галоген;

R^3 выбирают из группы, включающей в себя формулы (i.1), (i.2), (i.3) и (i.4);

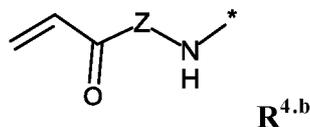
10

<p>(i.1)</p>	<p>(i.2)</p>
<p>(i.3)</p>	<p>(i.4)</p>

R^4 выбирают из группы, включающей в себя $R^{4.a}$ и $R^{4.b}$



или



в которой

5 Q означает 4 - 6-членный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом;

Z означает 4 - 6-членный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом;

R^5 представляет собой -H или -CH₃;

10 и по меньшей мере один из R^1 и R^2 не является водородом.

Предпочтительные варианты осуществления

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^1 выбирают из группы, включающей в себя -CH₃, -CCH₃, -OCH₃ и галоген.

15 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^1 выбирают из группы, включающей в себя -CH₃, -CCH₃, -OCH₃, хлор и фтор.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^1 представляет собой -CH₃.

20 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^1 представляет собой -CCH₃.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^1 представляет собой -OCH₃.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^1 представляет собой хлор.

25 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^1 представляет собой фтор.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^1 представляет собой водород.

30 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^2 выбирают из группы, включающей в себя водород, фтор и хлор.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^2 представляет собой водород.

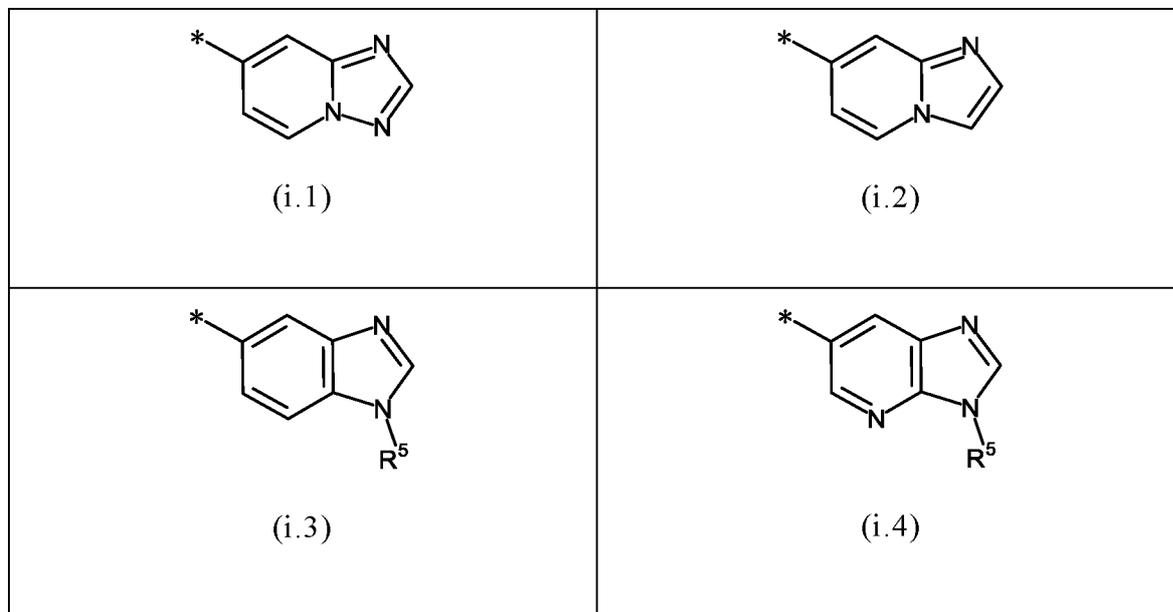
В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^2 представляет собой галоген.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^2 представляет собой фтор или хлор.

5 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^2 представляет собой фтор.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^2 представляет собой хлор.

10 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 выбирают из группы, включающей в себя формулы (i.1), (i.2), (i.3) и (i.4).



В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу, включающую в себя формулы (i.1) или (i.3).

15 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу, включающую в себя формулы (i.2) или (i.4).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу, включающую в себя формулы (i.1) или (i.2).

20 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу, включающую в себя формулы (i.1) или (i.4).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу, включающую в себя формулы (i.2) или (i.3).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу, включающую в себя формулы (i.3) или (i.4).

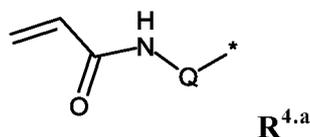
В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу формулы (i.1).

5 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу формулы (i.2).

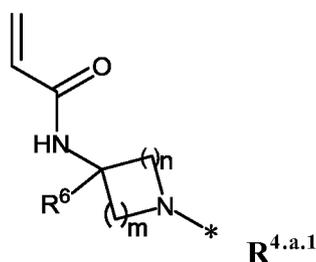
В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу формулы (i.3).

10 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^3 представляет собой группу формулы (i.4).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^4 представляет собой $R^{4.a}$, где $R^{4.a}$ представляет собой



15 В другом варианте осуществления настоящего изобретения $R^{4.a}$ представляет собой $R^{4.a.1}$, где $R^{4.a.1}$ представляет собой



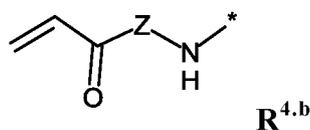
в которой

R^6 представляет собой -H или -CH₃,

20 n представляет собой 1 или 2;

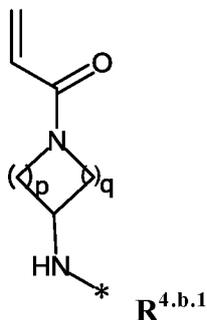
m представляет собой 1 или 2.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^4 представляет собой $R^{4.b}$, где $R^{4.b}$ представляет собой



25

В другом варианте осуществления настоящего изобретения $R^{4,b}$ представляет собой $R^{4,b.1}$, где $R^{4,b.1}$ представляет собой



5

в которой

p представляет собой 1 или 2;

q представляет собой 1 или 2.

10 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^5 представляет собой -H.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^5 представляет собой -CH₃.

15 В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^6 представляет собой -H.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^6 представляет собой -CH₃.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения m означает 1.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения m означает 2.

20 В другом варианте осуществления настоящего изобретения n означает 1

В другом варианте осуществления настоящего изобретения n означает 2.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения m означает 1 и n означает 1 или m означает 2, а n означает 2.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения r означает 1.

25 В другом варианте осуществления настоящего изобретения r означает 2.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения q означает 1.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения q означает 2.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q означает 4 - 6-членный насыщенный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом.

5 В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q означает 6-членный частично ненасыщенный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q означает азетидинил.

10 В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q означает пирролидинил.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q означает пиперидинил.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q означает азетидинил, где один атом углерода кольца замещен метилом.

15 В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q означает пирролидинил, где один атом углерода кольца замещен метилом.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q означает пиперидинил, где один атом углерода кольца замещен метилом.

20 В другом варианте осуществления настоящего изобретения Z означает 4 - 6-членный насыщенный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Z означает 4 - 6-членный частично ненасыщенный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом.

25 В другом варианте осуществления настоящего изобретения Z означает азетидинил.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Z означает пирролидинил.

30 В другом варианте осуществления настоящего изобретения Z означает пиперидинил.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Z означает азетидинил, где один атом углерода кольца замещен метилом.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения Z означает пирролидинил, где один атом углерода кольца замещен метилом.

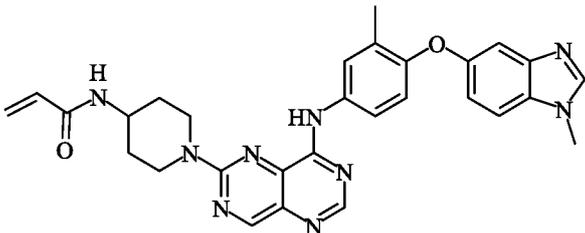
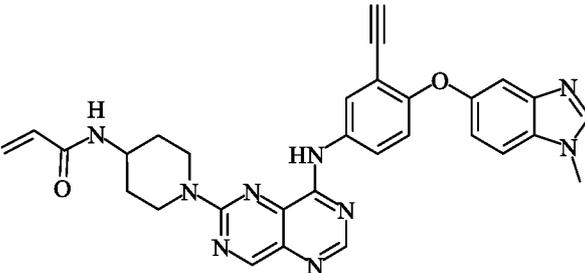
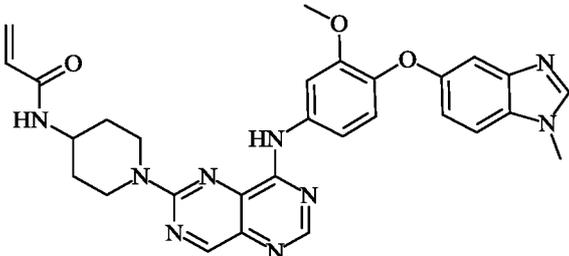
В другом варианте осуществления настоящего изобретения Z означает пиперидинил, где один атом углерода кольца замещен метилом.

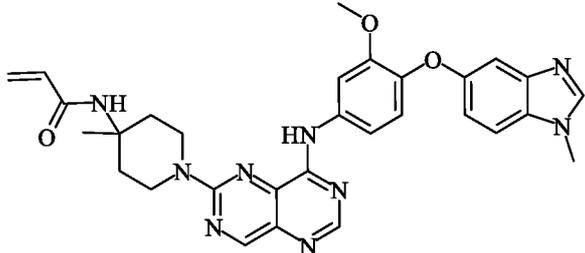
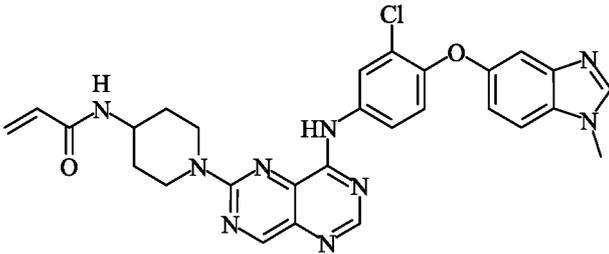
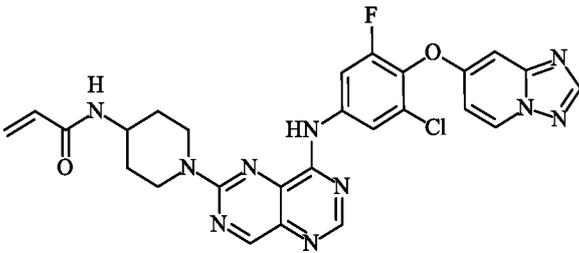
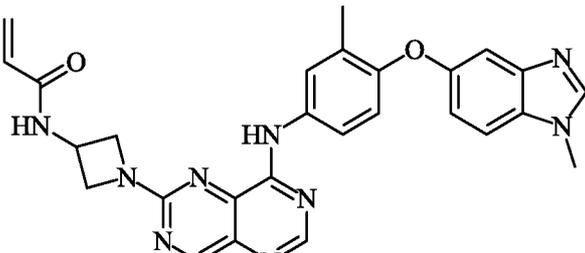
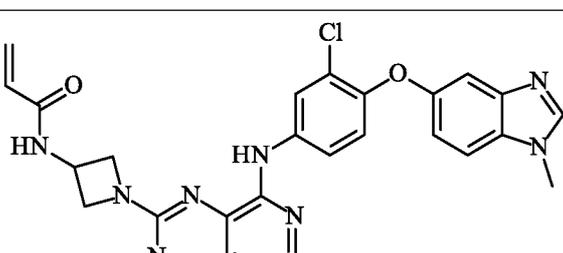
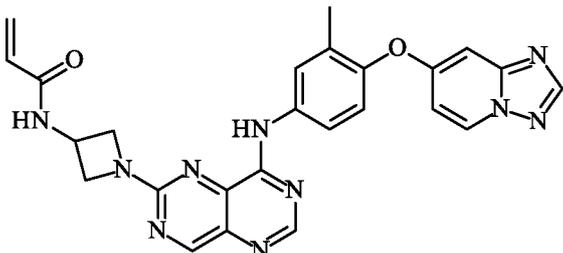
В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q и Z означают 4 - 6-членный насыщенный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом.

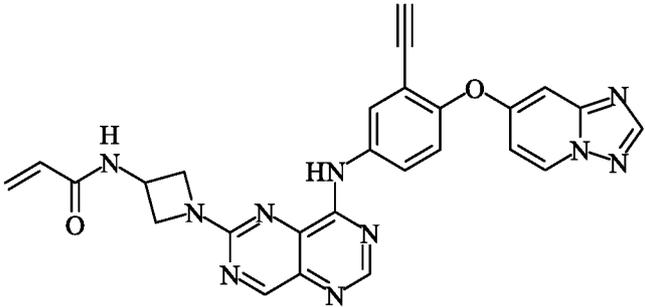
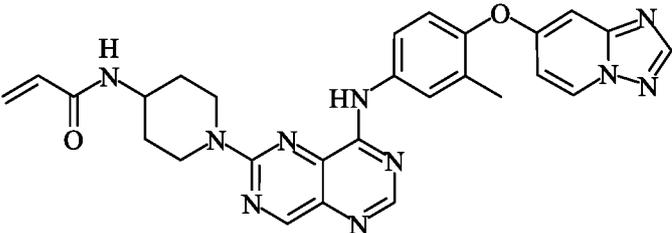
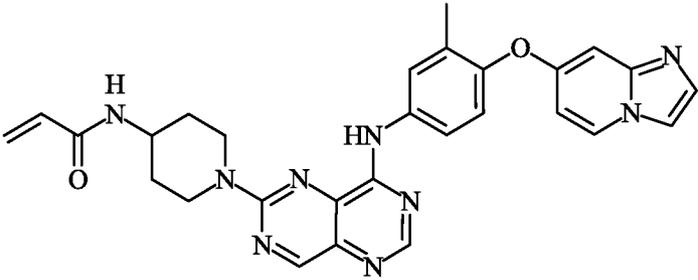
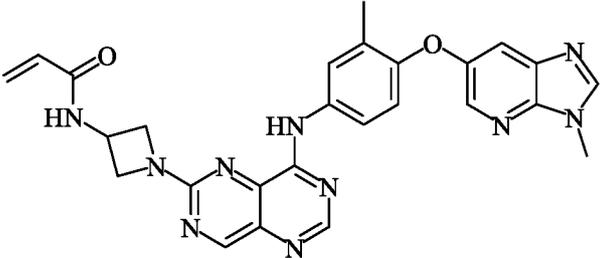
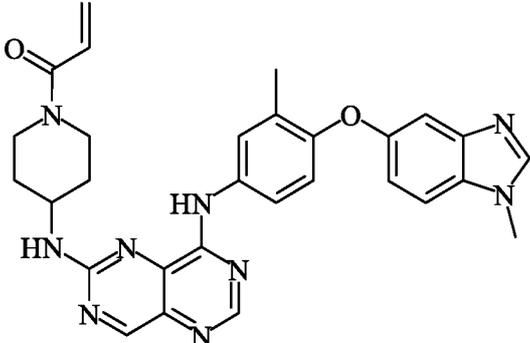
В другом варианте осуществления настоящего изобретения Q и Z означают 4 - 6-членный частично ненасыщенный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом.

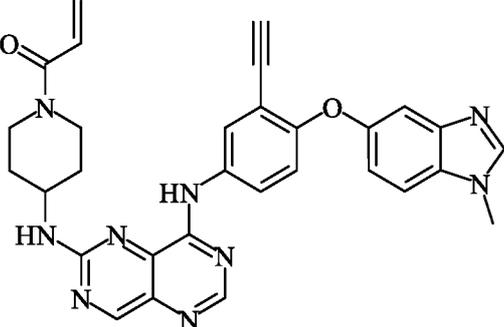
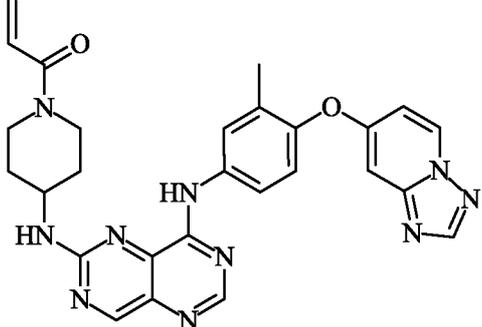
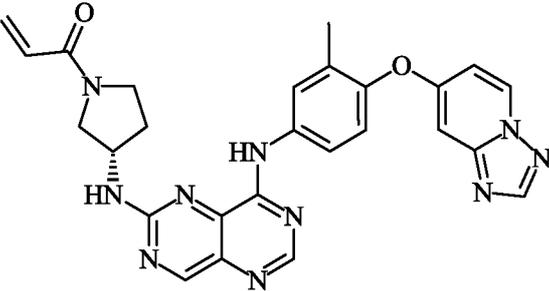
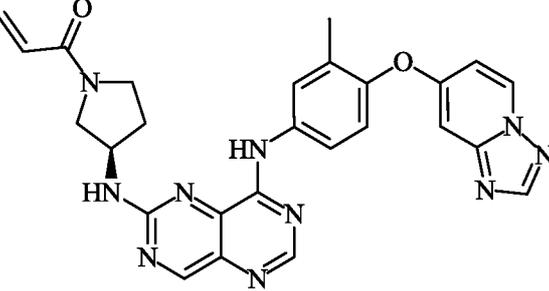
Любое и каждое из определений R¹, R², R³, R⁴, R^{4.a}, R^{4.a.1}, R^{4.b}, R^{4.b.1}, R⁵, R⁶, m, n, p, q, Q и Z можно сочетать друг с другом.

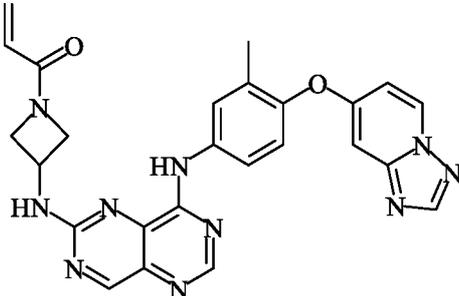
Предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются указанные выше соединения формулы (I), выбранные из группы, включающей в себя примеры I-01 - I-19.

Пример	Структура
I-01	
I-02	
I-03	

Пример	Структура
I-04	
I-05	
I-06	
I-07	
I-08	
I-09	

Пример	Структура
I-10	
I-11	
I-12	
I-13	
I-14	

Пример	Структура
I-15	
I-16	
I-17	
I-18	

Пример	Структура
I-19	

или их фармацевтически приемлемая соль.

5 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются приведенные выше соединения формулы (I), выбранные из группы, включающей в себя примеры I-01 - I-19.

10 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли приведенных выше соединений формулы (I), выбранные из группы, включающей в себя примеры I-01 I-19.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются приведенные выше соединения формулы (I), выбранные из группы, включающей в себя примеры I-01 - I-13.

15 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли приведенных выше соединений формулы (I), выбранные из группы, включающей в себя примеры I-01 - I-13.

20 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются приведенные выше соединения формулы (I), выбранные из группы, включающей в себя примеры I-14 - I-19.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли приведенных выше соединений формулы (I), выбранные из группы, включающей в себя примеры I-14 - I-19.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения является соединение примера I-18.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения является соединение примера I-19.

5 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-01.

10 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-02.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-03.

15 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-04.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-05.

20 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-06.

25 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-07.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-08.

30 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-09.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-10.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-11.

5 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-12.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-13.

10 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-14.

15 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-15.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-16.

20 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-17.

Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-18.

25 Еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения являются фармацевтически приемлемые соли соединения примера I-19.

30 Другой вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемую соль и одно или большее количество фармацевтически приемлемых веществ.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в качестве лекарственного средства.

5 Другой вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения пациента, страдающего от рака, включая рак головного мозга, рак молочной железы, рак желчевыводящих путей, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, колоректальный рак, рак эндометрия, рак кожи, опухоль пищевода, опухоль головы и шеи, рак желудочно-кишечного
10 тракта, опухоль желчного пузыря, рак почки, рак печени, рак легких или рак предстательной железы.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения пациента, страдающего от рака молочной железы, рака
15 мочевого пузыря, колоректального рака, рака желудочно-кишечного тракта, рака пищевода или рака легких.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения пациента, страдающего от рака/опухоли/карциномы легкого:
20 например, такого как немелкоклеточный рак легких (НКРЛ) (плоскоклеточный рак, веретенноклеточный рак, аденокарцинома, крупноклеточный рак, светлоклеточный рак, бронхоальвеолярный рак), мелкоклеточный рак легких (МКРЛ) (овсяноклеточный рак, промежуточно-клеточный рак, комбинированный овсяноклеточный рак).

25 Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для лечения пациента, страдающего от НКРЛ.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей вдобавок к соединению формулы
30 (I), фармацевтически активное соединение, выбранное из группы, включающей в себя цитостатическое и цитотоксическое активное вещество.

Кроме того, настоящее изобретение относится к гидратам, сольватам, полиморфам, метаболитам и пролекарствам соединений формулы (I).

В другом варианте осуществления изобретение относится к фармацевтически приемлемой соли соединения формулы **(I)**.

В другом аспекте изобретение относится к способу ингибирования HER2 дикого типа и/или мутантного типа в клетке, включающему в себя приведение
5 клетки в контакт с соединением формулы **(I)**. В другом варианте осуществления изобретение относится к способу ингибирования HER2, несущего мутации экзона 20, в клетке, предпочтительно включающему в себя приведение клетки в контакт с соединением формулы **(I)**.

В другом аспекте изобретение относится к способу ингибирования
10 фосфорилирования HER2 дикого типа и/или мутантного HER2 в клетке, включающему в себя приведение клетки в контакт с соединением формулы **(I)**. В другом варианте осуществления изобретение относится к способу ингибирования фосфорилирования мутанта экзона 20 HER2 в клетке, включающему в себя приведение клетки в контакт с соединением формулы **(I)**.

В другом аспекте изобретение относится к применению соединения
15 формулы **(I)** – или его фармацевтически приемлемой соли – для лечения и/или профилактики заболевания и/или состояния, где ингибирование HER2 дикого типа и/или мутантного HER2 имеет терапевтический эффект. В другом варианте осуществления изобретение относится к применению соединения формулы **(I)** –
20 или его фармацевтически приемлемой соли – для лечения и/или профилактики заболевания и/или состояния, при котором ингибирование мутантного белка экзона 20 HER2 имеет терапевтическое значение.

В другом аспекте изобретение относится к соединению формулы **(I)** – или его фармацевтически приемлемой соли – для применения в способе
25 ингибирования HER2 дикого типа и/или мутантного HER2 у нуждающегося в этом субъекта, включающем в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы **(I)** – или его фармацевтически приемлемой соли. В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы **(I)** – или его фармацевтически приемлемой соли – для
30 применения в способе ингибирования мутантного экзона 20 HER2, у нуждающегося в этом человеческого субъекта, включающем в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы **(I)** – или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом аспекте изобретение относится к соединению формулы (I), – или его фармацевтически приемлемой соли – для лечения и/или профилактики рака. В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I) – или его фармацевтически приемлемой соли – для лечения и/или профилактики рака, при этом рак характеризуется сверхэкспрессией HER2 и/или амплификацией HER2. В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I) – или его фармацевтически приемлемой соли – для лечения и/или профилактики рака, при этом рак представляет собой мутантный рак по экзону 20 HER2. В другом варианте осуществления изобретение относится к соединению формулы (I) – или его фармацевтически приемлемой соли – для лечения и/или профилактики рака, при этом рак со сверхэкспрессией HER2, амплифицированный HER2 и/или мутантный рак по экзону 20 HER2 выбран из рака головного мозга, рака молочной железы, рак желчевыводящих путей, рака мочевого пузыря, рака шейки матки, колоректального рака, рака эндометрия, рака кожи, опухоли пищевода, опухоли головы и шеи, рака желудочно-кишечного тракта, опухоли желчного пузыря, рака почки, рака печени, рака легких и рака предстательной железы.

В другом аспекте изобретение относится к способу лечения и/или профилактики упомянутых выше заболеваний и состояний, включающих в себя введение терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) - или его фармацевтически приемлемой соли – человеку.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к соединению формулы (I) – или его фармацевтически приемлемой соли – для применения в лечении и/или профилактике указанных выше заболеваний и состояний.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I) – или его фармацевтически приемлемой соли – для приготовления лекарственного средства для лечения и/или профилактики указанных выше заболеваний и состояний.

Кроме того, соединениями в соответствии с изобретением можно лечить следующие виды рака, опухоли и другие пролиферативные заболевания, не ограничиваясь ими:

Рак/опухоли/карциномы головы и шеи: например, опухоли/карциномы/рак полости носа, придаточных пазух носа, носоглотки, полости рта (включая губу, десну, альвеолярный отросток, ретромолярный треугольник, дно полости рта,

язык, твердое небо, слизистую оболочку щеки), ротоглотки (включая основание языка, миндалины, небные дужки, мягкое небо, миндалинковую пазуху, стенку глотки), среднее ухо, гортань (включая надгортанную, голосовую и подсвязочную области, голосовые связки), гортаноглотку, слюнные железы (включая малые слюнные железы);

рак/опухоли/карциномы легких: например, немелкоклеточный рак легких (НМКРЛ) (плоскоклеточный рак, веретеноклеточный рак, аденокарцинома, крупноклеточный рак, светлоклеточный рак, бронхиоальвеолярный рак), мелкоклеточный рак легкого (МКРЛ) (овсяноклеточный рак, промежуточно-клеточный рак, комбинированный овсяноклеточный рак);

новообразования средостения: например, нейrogenные опухоли (включая нейрофибромому, неврилемому, злокачественную шванному, нейросаркому, ганглионейробластому, ганглионеврому, нейробластому, феохромоцитому, параганглиому), герминогенные опухоли (включая семиному, тератому, несеминому), опухоли тимуса (включая тимому, тимолипому, карциному тимуса, карциноид тимуса), мезенхимальные опухоли (включая фибромому, фибросаркому, липому, липосаркому, миксому, мезотелиому, лейомиому, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, ксантогранулему, мезенхимому, гемангиому, гемангиоэндотелиому, гемангиоперицитому, лимфангиому, лимфангиоперицитому, лимфангиомиому);

рак/опухоли/карциномы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ): например, опухоли/карциномы/рак пищевода, желудка, поджелудочной железы, печени и желчевыводящих путей (включая гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК), например, детскую ГЦК, фиброламеллярную ГЦК, комбинированную ГЦК, веретеноклеточную ГЦК, светлоклеточную ГЦК, гигантоклеточную ГЦК, карциносаркому ГЦК, склерозирующую ГЦК; гепатобластому; холангиокарциному; холангиоцеллюлярную карциному; цистаденокарциному печени; ангиосаркому, гемангиоэндотелиому, лейомиосаркому, злокачественную шванному, фибросаркому, опухоль Клацкина), желчного пузыря, внепеченочных желчных протоков, тонкой кишки (включая двенадцатиперстную кишку, тощую кишку, подвздошную кишку), толстой кишки (включая слепую кишку, ободочную кишку, прямую кишку, анус; колоректальный рак, опухоль желудочно-кишечной стромы (GIST)), мочеполовой системы (включая почки, например, почечной лоханки, почечно-клеточный рак (ПКР), нефробластома

(опухоль Вильмса), гипернефрома, опухоль Гравица; мочеточника; мочевого пузыря, например, урахальный рак, уротелиальный рак; уретры, например, дистальный, бульбомембранозный, простатический; предстательной железы (андрогензависимый, андрогеннезависимый, резистентный к кастрации, гормоннезависимый, гормонорефрактальный), полового члена);

рак/опухоли/карциномы яичек: например, семиномы, несеминомы;

гинекологический рак/опухоли/карциномы: например, опухоли/карциномы/рак яичника, маточной трубы, брюшины, шейки матки, вульвы, влагалища, тела матки (включая эндометрий, дно);

рак/опухоли/карциномы груди: например, карцинома молочной железы (инфильтрирующая протоковая, коллоидная, лобулярная инвазивная, тубулярная, аденокистозная, папиллярная, медуллярная, муцинозная), гормон-рецептор-положительный рак молочной железы (эстроген-рецептор-положительный рак молочной железы, прогестерон-рецептор-положительный рак молочной железы), HER2-положительный рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы, болезнь Педжета молочной железы;

рак/опухоли/карциномы эндокринной системы: например, опухоли/карциномы/рак эндокринных желез, щитовидной железы (карциномы/опухоли щитовидной железы; папиллярные, фолликулярные, анапластические, медуллярные), паращитовидной железы (карцинома/опухоль паращитовидной железы), коры надпочечников (корковая карцинома/опухоли надпочечников), гипофиза (включая пролактиному, краниофарингиому), вилочковой железы, надпочечников, шишковидной железы, каротидного тела, опухоли островковых клеток, параганглия, эндокринные опухоли поджелудочной железы (ЭО; нефторсодержащая ЭО, ППома, гастринома, инсулинома, ВИППома, глюкагонома, соматостатинома, GRFома, АСТНома), карциноидные опухоли;

саркомы мягких тканей: например, фибросаркома, фиброзная гистиоцитома, липосаркома, лейомиосаркома, рабдомиосаркома, ангиосаркома, лимфангиосаркома, саркома Капоши, гломусная опухоль, гемангиоперицитома, синовиальная саркома, гигантоклеточная опухоль сухожильного влагалища, солитарная фиброзная опухоль плевры и брюшины, диффузная мезотелиома, злокачественная опухоль оболочек периферических нервов (MPNST), зернистоклеточная опухоль, светлоклеточная саркома, меланоцитарная шваннома, плексосаркома, нейробластома, ганглионейробластома,

нейроэпителиома, экстраскелетная саркома Юинга, параганглиома, экстраскелетная хондросаркома, экстраскелетная остеосаркома, мезенхимома, альвеолярная саркома мягких тканей, эпителиоидная саркома, внепочечная рабдоидная опухоль, десмопластическая мелкоклеточная опухоль;

5 саркомы костей: например, миелома, ретикулярно-клеточная саркома, хондросаркома (включая центральную, периферическую, светлоклеточную, мезенхимальную хондросаркому), остеосаркома (включая паростальную, периостальную, высокодифференцированную поверхностную, мелкоклеточную, радиационно-индуцированную остеосаркому, саркому Педжета), опухоль
10 Юинга, злокачественная гигантоклеточная опухоль, адамантинома, (фиброзная) гистиоцитома, фибросаркома, хордома, мелкокруглоклеточная саркома, гемангиоэндотелиома, гемангиоперицитомы, остеохондрома, остеоид-остеома, остеобластома, эозинофильная гранулема, хондробластома;

мезотелиома: например, мезотелиома плевры, мезотелиома брюшины;

15 рак кожи: например, базально-клеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома, карцинома из клеток Меркеля, меланома (в том числе кожная, поверхностно-распространяющаяся, злокачественное лентиго, акральное лентиго, узловая, внутриглазная меланома), актинический кератоз, рак
век;

20 новообразования центральной нервной системы и головного мозга: например, астроцитомы (церебральные, мозжечковые, диффузные, фибриллярные, анапластические, пилоцитарные, протоплазматические, гемистоцитарные), глиобластомы, глиомы, олигодендроглиомы, олигоастроцитомы, эпендимомы, эпендимобластомы, опухоли сосудистого
25 сплетения, медуллобластомы, менингиомы, шванномы, гемангиобластомы, гемангиомы, гемангиоперицитомы, невромы, ганглионевромы, нейробластомы, ретинобластомы, невриномы (например, акустические), опухоли оси
позвоночника;

лимфомы и лейкозы: например, В-клеточные неходжкинские лимфомы
30 (НХЛ) (включая мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (МЛЛ), лимфоплазмоцитоидную лимфому (ЛПЛ), мантийно-клеточную лимфому (МКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), диффузную крупноклеточную лимфому (ДККЛ), лимфому Беркитта (ЛБ)), Т-клеточные неходжкинские лимфомы (включая анапластическую крупноклеточную лимфому (АККЛ), Т-клеточный

лейкоз/лимфому взрослых (ТКЛВ), кожную Т-клеточную лимфому (КТКЛ), периферическую Т-клеточную лимфому (ПТКЛ)), лимфобластная Т-клеточная лимфома (Т-ЛБЛ), Т-клеточная лимфома взрослых, лимфобластная В-клеточная лимфома (В-ЛБЛ), иммуноцитома, хронический В-клеточный лимфолейкоз (VchlorineL), хронический Т-клеточный лимфолейкоз (TchlorineL), Б-мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (В-МЛЛ), кожная Т-клеточная лимфома (СТЛС), первичная лимфома центральной нервной системы (PCNSL), иммунобластома, болезнь Ходжкина (БХ) (включая БХ с преобладанием узловых лимфоцитов (NLRPHD), узловой склероз БХ (NSHD), смешанноклеточная БХ (МСНД), классическая БХ с лимфоидным преобладанием, БХ с лимфоидным истощением (LDHD)), крупнозернистый лимфоцитарный лейкоз (LGL), хронический миелогенный лейкоз (СМЛ), острый миелогенный/миелоидный лейкоз (AML), острый лимфатический/лимфобластный лейкоз (ALL), острый промиелоцитарный лейкоз (APL), хронический лимфоцитарный/лимфатический лейкоз (СLL), пролимфоцитарный лейкоз (PLL), волосатоклеточный лейкоз, хронический миелогенный/миелоидный лейкоз (СМЛ), миелома, плазмоцитома, множественная миелома (ММ), плазмоцитома, миелодиспластические синдромы (MDS), хронический миеломоноцитарный лейкоз (СММЛ);

рак неизвестной первичной локализации (СUP).

Подразумевают, что все виды рака/опухоли/карциномы, приведенные выше, которые характеризуются их специфическим расположением/происхождением в организме, включают в себя как первичные опухоли, так и метастатические опухоли, происходящие от них.

Все виды рака/опухоли/карциномы, приведенные выше, могут быть дополнительно дифференцированы по их гистопатологической классификации:

эпителиальный рак, например, плоскоклеточная карцинома (SCC) (карцинома *in situ*, поверхностно инвазивная, веррукозная карцинома, псевдосаркома, анапластическая, переходо-клеточная, лимфоэпителиальная), аденокарцинома (АК) (высокодифференцированная, муцинозная, папиллярная, плеоморфная гигантоклеточная, протоковая, мелкоклеточная, перстневидноклеточная, веретенноклеточная, светлоклеточная, овсяноклеточная, коллоидная, аденосквамозная, мукоэпидермоидная, аденоидно-кистозная), муцинозная цистаденокарцинома, ацинарная клеточная карцинома, крупноклеточная карцинома, мелкоклеточная карцинома, нейроэндокринные

опухоли (мелкоклеточная карцинома, параганглиома, карциноид); онкоцитарная карцинома;

неэпителиальный рак, например, саркомы (фибросаркома, хондросаркома, рабдомиосаркома, лейомиосаркома, гемангиосаркома, гигантоклеточная саркома, лимфосаркома, фиброзная гистиоцитома, липосаркома, ангиосаркома, лимфангиосаркома, нейрофибросаркома), лимфома, меланома, герминогенные опухоли, гематологические новообразования, смешанные и недифференцированные карциномы.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к соединению формулы **(I)** – или его фармацевтически приемлемой соли – для применения в лечении и/или профилактике рака, где соединение вводят в комбинации с цитостатическим и/или цитотоксическим активным веществом и/или в комбинации с лучевой терапией и/или иммунотерапией.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к комбинации соединения формулы **(I)** – или его фармацевтически приемлемой соли – с цитостатическим и/или цитотоксическим активным веществом и/или в комбинации с лучевой терапией и/или иммунотерапией для применения в лечении и/или профилактике рака.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения и/или профилактики рака, где указанный способ содержит введение соединения формулы **(I)** – или их фармацевтически приемлемая соль – в комбинации с цитостатическим и/или цитотоксическим активным веществом и/или в комбинации с лучевой терапией и/или иммунотерапией и/или таргетной терапией.

Соединения в соответствии с изобретением могут быть использованы сами по себе или в комбинации с одним или несколькими другими фармакологически активными веществами, такими как существующие в уровне техники или стандартные - соединения, такие как, например, ингибиторы клеточной пролиферации, антиангиогенные вещества, стероиды или иммуномодуляторы/ингибиторы контрольных точек и т.п.

Фармакологически активные вещества, которые можно вводить в комбинации с соединениями в соответствии с изобретением, включают в себя, не ограничиваясь этим, гормоны, аналоги гормонов и антигормоны (например, тамоксифен, торемифен, ралоксифен, фулвестрант, мегестрола ацетат, флутамид,

нилутамид, бикалутамид, аминоклютетимид, ципротерона ацетат, финастерид, бусерелина ацетат, флудрокортисон, флуоксиместерон, медроксипрогестерон, октреотид), ингибиторы ароматазы (например, анастрозол, летрозол, лиарозол, ворозол, экземестан, атаместан), агонисты и антагонисты ЛГРГ (например, гозерелина ацетат, лупролид), ингибиторы факторов роста и/или их соответствующих рецепторов (факторы роста, такие как, например, фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), эпидермальный фактор роста (EGF), инсулиноподобные факторы роста (IGF), человеческий эпидермальный фактор роста (HER, например, HER2, HER3, HER4) и фактор роста гепатоцитов (HGF), и/или их соответствующие рецепторы), ингибиторы представляют собой, например, антитела против фактора роста, антитела против рецептора фактора роста и ингибиторы тирозинкиназы, такие как, например, цетуксимаб, гефитиниб, афатиниб, нинтеданиб, иматиниб, лапатиниб, бозутиниб, бевацизумаб, пертузумаб и трастузумаб); антиметаболиты (например, антифолаты, такие как метотрексат, ралтитрексед, аналоги пиримидина, такие как 5-фторурацил (5-фторU), аналоги рибонуклеозидов и дезоксирибонуклеозидов, капецитабин и гемцитабин, аналоги пуринов и аденозинов, такие как меркаптопурин, тиогуанин, кладрибин и пентостатин, цитарабин (ара C), флударабин); 20 противоопухолевые антибиотики (например, антрациклины, такие как доксорубицин, доксил (пегилированный липосомальный доксорубицин гидрохлорид, миоцет (непегилированный липосомальный доксорубицин), даунорубицин, эпирубицин и идарубицин, митомицин-C, блеомицин, дактиномицин, пликамицин, стрептозоцин); производные платины (например, 25 цисплатин, оксалиплатин, карбоплатин); алкилирующие агенты (например, эстрамустин, меклоретамин, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, дакарбазин, циклофосфамид, ифосфамид, темозоломид, нитрозомочевины, такие как, например, кармустин и ломустин, тиотепа); антимитотические средства (например, алкалоиды барвинка, такие как, например, винбластин, виндезин, 30 винорелбин и винкристин, и таксаны, такие как паклитаксел, доцетаксел); ингибиторы ангиогенеза (например, тасквинимод), ингибиторы тубулина; ингибиторы синтеза ДНК, ингибиторы PARP, ингибиторы топоизомеразы (например, эпиподофиллотоксины, такие как, например, этопозид и этопифос, тенипозид, амсакрин, топотекан, иринотекан, митоксантрон), ингибиторы

серин/треонинкиназы (например, ингибиторы PDK 1, ингибиторы Raf, ингибиторы A-Raf, ингибиторы B-Raf, ингибиторы C-Raf, ингибиторы mTOR, ингибиторы mTORC1/2, ингибиторы PI3K, ингибиторы PI3K α , двойные ингибиторы mTOR/PI3K, ингибиторы STK 33, ингибиторы АКТ, ингибиторы PLK 1, ингибиторы CDK, ингибиторы киназы Auroga), ингибиторы тирозинкиназы (например, PTK2/FAK ингибиторы), ингибиторы взаимодействия белок-белок (например, активатор IAP, Mcl-1, MDM2/MDMX), ингибиторы MEK, ингибиторы ERK, ингибиторы KRAS (например, ингибиторы KRAS G12C), ингибиторы сигнального пути (например, ингибиторы SOS1), ингибиторы FLT3, ингибиторы BRD4, ингибиторы IGF-1R, агонисты TRAILR2, ингибиторы Vcl-xL, ингибиторы Vcl-2, ингибиторы Vcl-2/Vcl-xL, ингибиторы рецептора ErbB, ингибиторы BCR-ABL, ингибиторы ABL, ингибиторы Src, аналоги рапамицина (например, эверолимус, темсиролимус, ридафоролимус, сиролимус), ингибиторы синтеза андрогенов, ингибиторы рецепторов андрогенов, ингибиторы DNMT, ингибиторы HDAC, ингибиторы ANG1/2, ингибиторы CYP17, радиофармацевтические вещества, ингибиторы протеасом, иммунотерапевтические средства, такие как ингибиторы иммунных контрольных точек (например, CTLA4, PD1, PD-L1, PD-L2, LAG3 и TIM3 связывающие молекулы/иммуноглобулины, такие как, например, ипилимумаб, ниволумаб, пембролизумаб), энхансеры ADCC (антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность) (например, антитела против CD33, антитела против CD37, антитела против CD20), рекрутеры Т-клеток (например, биспецифические рекрутеры Т-клеток (BiTEs®), такие как, например, CD3 x BCMA, CD3 x CD33, CD3 x CD19), PSMA x CD3), противоопухолевые вакцины и различные химиотерапевтические средства, такие как амифостин, анагрелид, клодронат, филграстин, интерферон, интерферон альфа, лейковорин, прокарбазин, левамизол, месна, митотан, памидронат и порфимер.

В другом аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение формулы (I) – или его фармацевтически приемлемую соль – и необязательно по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) – или его фармацевтически приемлемую

соль – и по меньшей мере одно другое цитостатическое и/или цитотоксическое активное вещество.

Пригодные препараты для введения соединений в соответствии с изобретением будут очевидны специалистам в данной области и включают в себя, например, таблетки, пилюли, капсулы, суппозитории, таблетки для
5 рассасывания, пастилки, растворы – в частности, растворы для инъекций (п/к, в/в, в/м) и инфузии (инъекционные) – сиропы, саше, эмульсии, ингаляционные препараты или диспергируемые порошки.

Подходящие таблетки можно получить, например, путем смешивания
10 одного или нескольких соединений формулы (I) с известными вспомогательными веществами, например, инертными разбавителями, носителями, разрыхлителями, адьювантами, поверхностно-активными веществами, связующими и/или смазывающими веществами.

Диапазон доз соединений формулы (I), применяемых в сутки, обычно
15 составляет от 1 до 2000 мг, предпочтительно от 10 до 1000 мг.

Дозировка для внутривенного введения составляет от 1 мг до 1000 мг с различной скоростью инфузии, предпочтительно от 5 мг до 500 мг с различной скоростью инфузии.

Однако иногда может возникнуть необходимость отклониться от указанных
20 количеств в зависимости от массы тела, возраста, пути введения, тяжести заболевания, индивидуальной реакции на лекарственное средство, природы его состава и времени или интервала, в течение которого лекарственное средство вводят (непрерывное или прерывистое лечение с одной или несколькими дозами в сутки). Таким образом, в некоторых случаях может быть достаточно
25 использовать меньшую дозу, чем указанная выше минимальная доза, тогда как в других случаях может потребоваться превышение верхнего предела. При введении больших количеств может быть целесообразно разделить их на несколько меньших доз, распределенных в течение суток.

Общие определения

30 Терминам, не определенным в настоящей заявке конкретно, следует придавать значения, которые им придал бы специалист в данной области в свете раскрытия и контекста. Однако при использовании в описании, если не указано иное, следующие термины имеют указанное значение, и соблюдаются следующие соглашения.

В группах, радикалах или фрагментах, определенных ниже, количество атомов углерода часто указывают перед группой, например, C₁₋₆-алкил означает алкильную группу или радикал, содержащий от 1 до 6 атомов углерода.

5 В таких группах, как OH, NH₂, S(O), S(O)₂, CN (циано), COOH, CF₃, CH₃, CSH, OCH₃ или т.п., специалист в данной области техники может увидеть радикальную точку (точки) присоединения к молекуле из свободных валентностей самой группы.

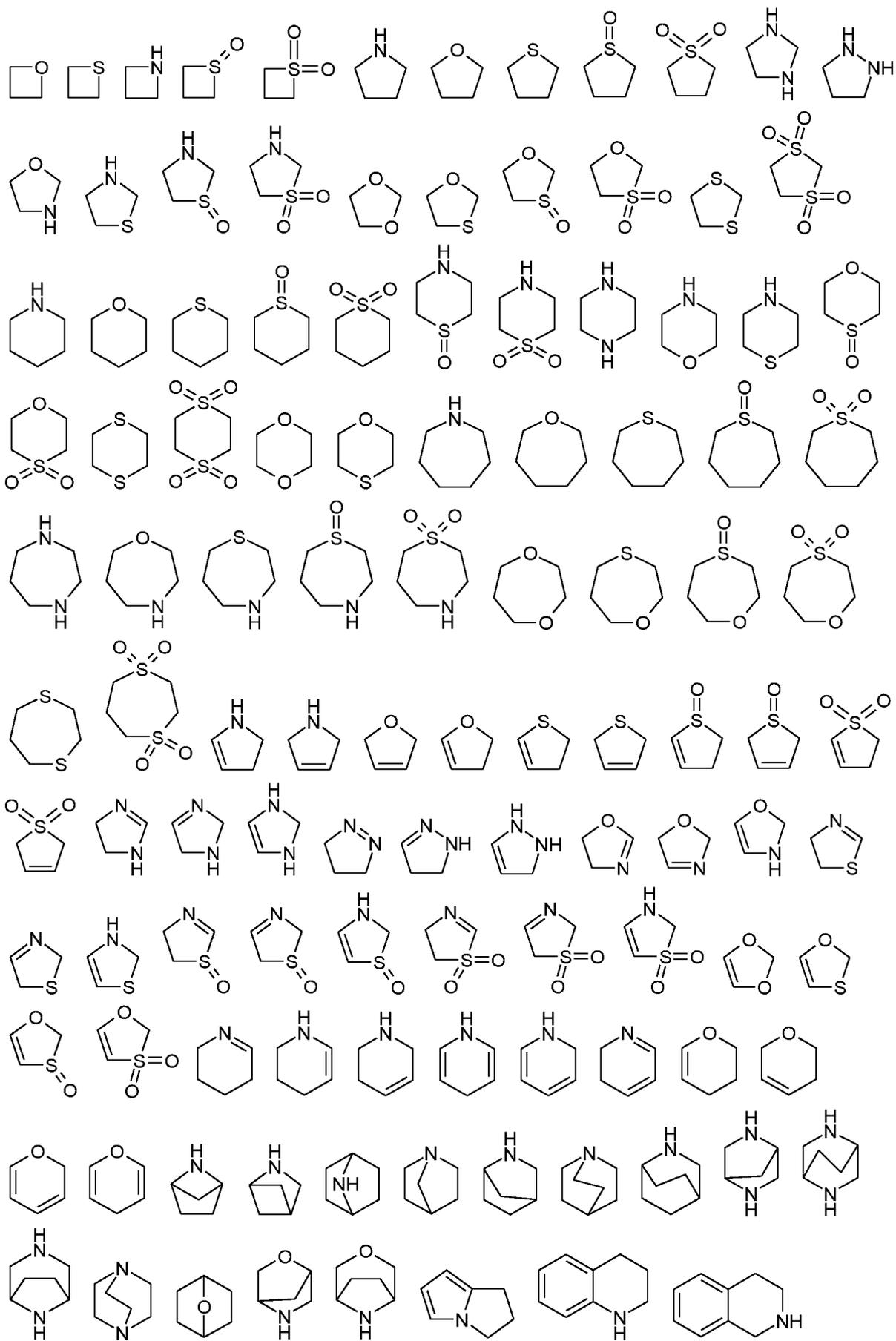
10 В случае, если соединение в соответствии с настоящим изобретением изображено в виде химического названия и формулы, в случае любого несоответствия формула имеет преимущественную силу. Звездочка может быть использована в подформулах для обозначения связи, которая связана с основной молекулой, как определено.

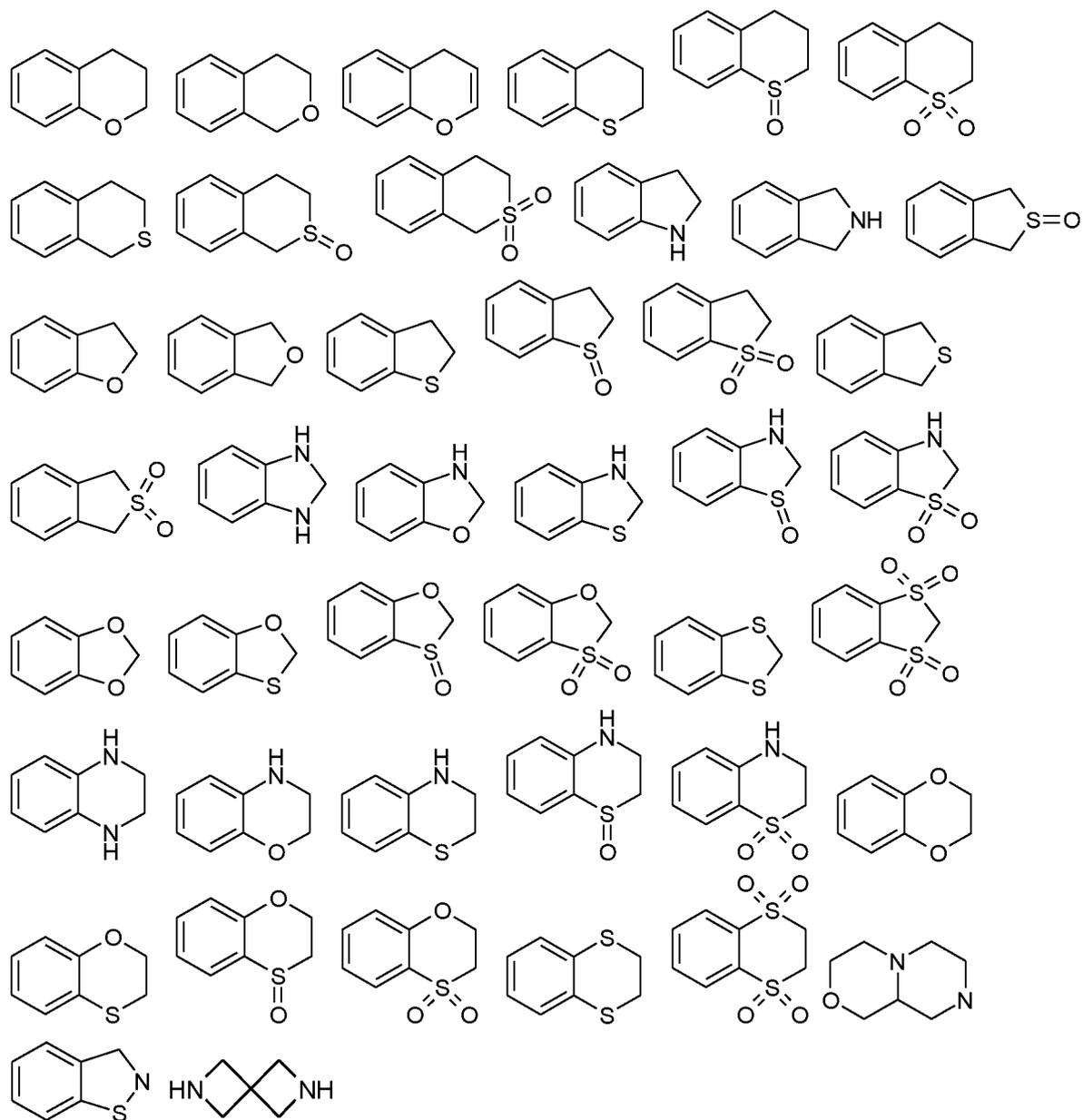
Нумерация атомов заместителя начинается с атома, ближайшего к ядру или группе, к которой присоединен заместитель.

15 Термин «галоген» означает атомы фтора, хлора, брома и/или йода. Предпочтительно, галоген относится к фтору и/или хлору.

20 Термин «гетероциклил» или «гетероцикл» означает насыщенную или ненасыщенную моно- или полициклическую кольцевую систему, необязательно включающую в себя ароматическую кольцевую систему, содержащую один или несколько гетероатомов, выбранных из N, O или S(O)_r, где r = 0, 1 или 2, состоящую из от 3 до 14 атомов в кольце, где ни один из гетероатомов не является частью ароматического кольца. Предполагают, что термин «гетероциклил» или «гетероцикл» включает в себя все возможные изомерные формы.

25 Таким образом, термин «гетероциклил» или «гетероцикл» включает в себя следующие типичные структуры, которые не изображены как радикалы, поскольку каждая форма необязательно присоединена через ковалентную связь к любому атому, пока сохраняются соответствующие валентности:





5

10 Многие из приведенных выше терминов могут многократно использоваться в определении формулы или группы и в каждом случае независимо друг от друга иметь одно из приведенных выше значений.

15 Термин «замещенный», используемый в данном документе, означает, что любой один или несколько атомов водорода в указанном атоме замещены атомом, выбранным из указанной группы, при условии, что нормальная валентность указанного атома не превышена, и что замещение приводит к стабильному соединению.

Если конкретно не указано, то в описании и прилагаемой формуле изобретения, приведенная химическая формула или название должны

охватывать таутомеры и все стерео-, оптические и геометрические изомеры (например, энантиомеры, диастереомеры, E/Z-изомеры и т.д.) и их рацематы, а также их смеси в различных пропорциях отдельных энантиомеров, смеси диастереомеров или смеси любых из вышеуказанных форм, где такие изомеры и энантиомеры существуют, а также соли, включая их фармацевтически приемлемые соли и их сольваты, такие как, например, гидраты, включая сольваты свободных соединений или сольваты соли соединения.

Как правило, практически чистые стереоизомеры могут быть получены в соответствии с принципами синтеза, известными специалисту в данной области, например, разделением соответствующих смесей, используя стереохимически чистые исходные вещества и/или путем стереоселективного синтеза. Из уровня техники известно, как получить оптически активные формы, например, путем разделения рацемических форм или путем синтеза, например, исходя из оптически активных исходных веществ и/или с использованием хиральных реагентов.

Энантиомерно чистые соединения в соответствии с настоящим изобретением или промежуточные соединения могут быть получены посредством асимметричного синтеза, например, путем получения и последующего разделения соответствующих диастереомерных соединений или промежуточных соединений, которые могут быть разделены известными способами (например, хроматографическим разделением или кристаллизацией) и/или путем использования хиральных реагентов, таких как хиральные исходные вещества, хиральные катализаторы или хиральные вспомогательные вещества.

Кроме того, специалисту в данной области известно, как получить энантиомерно чистые соединения из соответствующих рацемических смесей, например, путем хроматографического разделения соответствующих рацемических смесей на хиральных неподвижных фазах; или путем разделения рацемической смеси с использованием подходящего разделяющего агента, например, посредством образования диастереомерной соли рацемического соединения с оптически активными кислотами или основаниями, последующим разделением солей и высвобождением желаемого соединения из соли; или путем дериватизации соответствующих рацемических соединений оптически активными хиральными вспомогательными реагентами с последующим разделением диастереомеров и удалением хиральной вспомогательной группы;

или путем кинетического разделения рацемата (например, путем ферментативного разделения); энантиоселективной кристаллизацией из конгломерата энантиоморфных кристаллов в подходящих условиях; или путем (фракционной) кристаллизации из подходящего растворителя в присутствии оптически активного хирального вспомогательного вещества.

Фраза «фармацевтически приемлемый» использована в настоящей заявке для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые, в рамках здравого медицинского заключения, подходят для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений и соизмеримы с разумным соотношением польза/риск.

Используемый в настоящей заявке термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к производным раскрытых соединений, в которых исходное соединение модифицировано путем получения его кислотных или основных солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и тому подобное.

Например, такие соли включают в себя соли бензолсульфоновой кислоты, бензойной кислоты, лимонной кислоты, этансульфоновой кислоты, фумаровой кислоты, гентизиновой кислоты, бромистоводородной кислоты, соляной кислоты, малеиновой кислоты, яблочной кислоты, малоновой кислоты, миндальной кислоты, метансульфоновой кислоты, 4-метил-бензолсульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, салициловой кислоты, янтарной кислоты, серной кислоты и винной кислоты.

Фармацевтически приемлемые соли в соответствии с настоящим изобретением могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную часть, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены реакцией свободной кислоты или основания этих соединений с достаточным количеством соответствующего основания или кислоты в воде или органическом разбавителе, таком как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, или их смесь.

Соли других кислот, кроме приведенных выше, которые, например, применимы для очистки или выделения соединений в соответствии с настоящим

изобретением (например, трифторацетатных солей), также являются частью настоящего изобретения.

5 Группы или заместители часто выбирают из ряда альтернативных групп/заместителей с соответствующим обозначением группы (например, R^a , R^b и т.д.). Если такая группа используется повторно для определения соединения в соответствии с изобретением в различных частях молекулы, следует отметить, что различные применения следует рассматривать как полностью независимые друг от друга.

10 Термин «терапевтически эффективное количество», используемый в настоящей заявке, относится к количеству вещества, которое способно устранять симптомы заболевания или предотвращать или облегчать эти симптомы, или которое продлевает выживание подвергаемого лечению пациента.

15 Используемый в настоящей заявке термин «пролекарство» относится к (i) неактивной форме лекарственного средства, которое проявляет свои эффекты после метаболических процессов в организме, превращающих его в пригодную для использования или активную форму, или к (ii) веществу, которое обеспечивает фармакологически активный метаболит, хотя само по себе неактивно (т.е. неактивный предшественник).

20 Термин «пролекарство» означает ковалентно связанное производное, носитель или предшественник исходного соединения или активного лекарственного вещества, которое подвергается по меньшей мере некоторой биотрансформации до проявления его фармакологического эффекта(ов). Такие пролекарства имеют или метаболически расщепляемые, или каким-то иным способом превращаемые группы, и быстро преобразовываются *in vivo* с
25 получением исходного соединения, например, посредством гидролиза в крови или посредством активации через окисление, как в случае тиоэфирных групп. Наиболее обычные пролекарства включают в себя сложноэфирные и амидные аналоги исходных соединений. Пролекарство составляют с целью достичь
30 улучшенной химической стабильности, улучшенной переносимости пациентом и совместимости, улучшенной биодоступности, пролонгированной продолжительности действия, улучшенной селективности к органам, улучшенной технологии приготовления (например, повышенной водорастворимости) и/или уменьшенного числа побочных эффектов (например, токсичности). В целом, пролекарства сами по себе обладают слабой

биологической активностью или вообще ее не имеют и являются стабильными в обычных условиях. Пролекарства можно быстро получить из исходных соединений, используя способы, известные в данной области техники, такие как описанные в A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen and Н. Bundgaard (ред.), Gordon & Breach, 1991, particularly Chapter 5: «Design and Applications of Prodrugs»; Design of Prodrugs, Н. Bundgaard (ред.), Elsevier, 1985; Prodrugs: Topical and Ocular Drug Delivery, К.В. Sloan (ред.), Marcel Dekker, 1998; Methods in Enzymology, К. Widder и соавт. (ред.), Vol. 42, Academic Press, 1985, в особенности, на сс. 309-396; Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5-е изд., М. Wolff (ред.), John Wiley & Sons, 1995, в особенности том 1 и сс. 172-178 и сс. 949-982; Pro-Drugs as Novel Delivery Systems, Т. Higuchi and V. Stella (ред.), Am. Chem. Soc., 1975; Bioreversible Carriers in Drug Design, E.B. Roche (ред.), Elsevier, 1987, причем каждый из этих документов полностью включен в объем данной заявки посредством ссылок.

Используемый в настоящей заявке термин «фармацевтически приемлемое пролекарство» означает пролекарство соединения в соответствии с изобретением, которое в соответствии с основными положениями медицины является подходящим для применения при соприкосновении с тканями людей и низших животных без проявления какой-либо чрезмерной токсичности, раздражающего воздействия, аллергической реакции, и т.п., соответствует приемлемому соотношению польза/риск, и является эффективным для предназначенного применения, а также цвиттерионные формы, где это возможно.

Термин «соединение, селективное по отношению к EGFR дикого типа», используемый в настоящей заявке, относится к соединению, проявляющему более высокую эффективность в отношении HER2 по сравнению с EGFR, где эффективность соединения может быть определена в биологическом анализе, таком как анализ пролиферации ВА/Ф3, или анализ пролиферации линии опухолевых клеток, как описано ниже.

Термин «сохранение EGFR дикого типа» или «сохраняющая активность EGFR дикого типа», используемый в настоящей заявке, относится к низкой эффективности соединения в отношении EGFR дикого типа, например, в диапазоне эффективности примеров от I-01 до I-19, который можно определить в

биологическом анализе, таком как анализ пролиферации ВА/Ф3, или анализ пролиферации линии опухолевых клеток, как описано ниже.

Используемый в настоящей заявке термин «рак с амплификацией HER2» относится к раку, при котором раковые клетки демонстрируют более 2 копий гена ERBB2.

Термин «рак со сверхэкспрессией HER2», используемый в настоящей заявке, относится к раку, при котором раковые клетки экспрессируют HER2 на уровнях, определяемых иммуногистохимией и/или методами анализа матричной РНК ERBB2.

Термин «мутантный HER2», используемый в настоящей заявке, относится к мутантному белку HER2 и согласованному мутантному варианту ДНК, тогда как «мутантный экзон 20 HER2», используемый в настоящей заявке, относится к мутантному белку HER2 экзона 20 и согласованному мутантному варианту ДНК.

Термин «HER2-мутантный рак» или «рак с мутациями HER2» относится к раку, при котором раковые или опухолевые клетки несут мутацию(и) HER2, включая, помимо прочего, мутации, перечисленные в Таблице 1 и Таблице 2.

Термин «рак с мутацией экзона 20 HER2» или «мутантный рак экзона 20 HER2», используемый в настоящей заявке, относится к раку, при котором раковые или опухолевые клетки несут по меньшей мере одну мутацию экзона 20 HER2, включая, но не ограничиваясь, мутации, перечисленные в таблице 1.

Экзон 20 ERBB2 (HER2) кодирует часть киназного домена и находится в диапазоне от 769 до 835 аминокислот. Каждая мутация, вставка, дупликация или делеция в этой области определяется как мутация экзона 20, включая мутации, перечисленные в таблице 1. Кроме того, онкогенные мутации HER2 существуют за пределами экзона 20, включая мутации, перечисленные в таблице 2.

Таблица 1. Мутации экзона 20 ERBB2 (HER2) («р.» относится к белку HER2)

p.A772_G773insMMAY
p.Y772_A775_dup (YVMA)
p.A775_G776insYVMA
p.Y772insYVMA
p.M774delinsWLV
p.A775_G776insSVMA
p.A775_G776insVVMA
p.A775_G776insYVMS
p.A775_G776insC

p.A776_delinsVC
p.A776_delinsLC
p.A776_delinsVV
p.A776_delinsAVGC
p.A776_delinsIC
p.A776_V777delinsCVC
p.V777_insE
p.G778_P780dup (GSP)

Таблица 2. Альтернативные мутации HER2 («р.» относится к белку HER2)

p.S310F
p.R678Q
p.L755S
p.S310Y
p.V842I
p.D769Y
p.D769H
p.R103Q
p.G1056S
p.I767M
p.L869R
p.L869R
p.T733I
p.T862A
p.V697L
p.R929W
p.D277H
p.D277Y
p.G660D

5

Список сокращений

APCI	химическая ионизация при атмосферном давлении
водн.	водный
Вос	<i>трет</i> -бутилоксикарбонил
ДМФА	<i>N,N</i> -диметилформаид
ДМСО	диметилсульфоксид
ЭР	электрораспыление
ЭРИ	ионизация электрораспылением
ФБС	фетальная бычья сыворотка
ч	час(ы)

ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ЖХ	жидкостная хроматография
мин	минуты
МС	масс-спектрометрия
МСД	масс-селективный детектор
ОФ	обращенная фаза
нас.	насыщенный
<i>трет</i>	третичный
ТГФ	тетрагидрофуран
ТСХ	тонкослойная хроматография
Ву	время удерживания
УЭЖХ	Ультразффективная жидкостная хроматография
УФ	ультрафиолет

Признаки и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из следующих подробных примеров, которые иллюстрируют принципы изобретения на примере, не ограничивая его объем:

5 **Получение соединений в соответствии с изобретением**

Общие положения

Соединения в соответствии с настоящим изобретением и их промежуточные соединения могут быть получены с использованием способов синтеза, известных специалисту в данной области техники и описанных в литературных источниках по органическому синтезу. Предпочтительно соединения получают аналогично способам получения, более подробно описанным ниже, в частности, как описано в экспериментальной части. В некоторых случаях порядок проведения стадий реакции может варьироваться. Также могут быть использованы варианты реакционных способов, которые известны специалисту в данной области, но подробно не описаны в настоящей заявке.

Общие способы получения соединений в соответствии с изобретением станут очевидны специалисту в данной области при изучении следующих схем. Исходные материалы могут быть получены способами, описанными в литературных источниках или в настоящей заявке, или могут быть получены аналогичным или сходным способом. Любые функциональные группы в

исходных материалах или промежуточных соединениях могут быть защищены с использованием обычных защитных групп. Эти защитные группы могут быть снова отщеплены на подходящей стадии последовательности реакций с использованием методов, известных специалистам в данной области.

5 **Общие схемы реакций и краткое изложение путей синтеза**

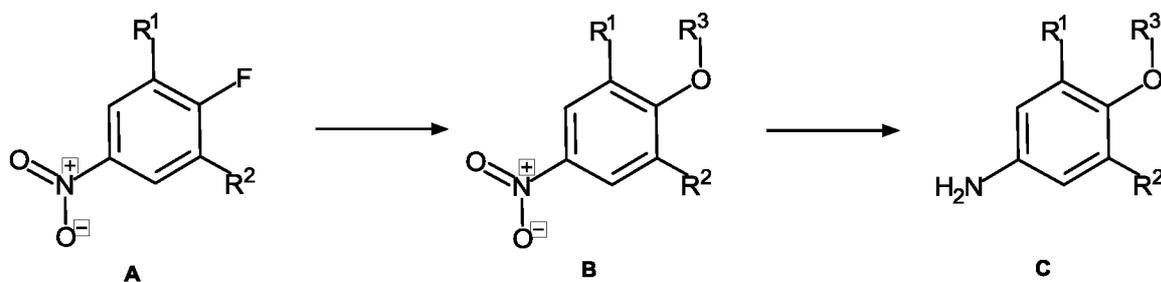


Схема 1. Синтез соединений С

10

Соединения **С** в соответствии с изобретением могут быть синтезированы исходя из коммерчески доступных пара-фторнитробензолов (**А**) и спиртов, которые вступают в реакцию замещения и последующего восстановления нитрогруппы с образованием соответствующих аминов **С** (см., например, Ishikawa и соавт., J. Med. Chem. 2011, 54 (23), 8030-8050; McDaniel и соавт., J. Med. Chem. 2017, 60 (20), 8369-8384).

15

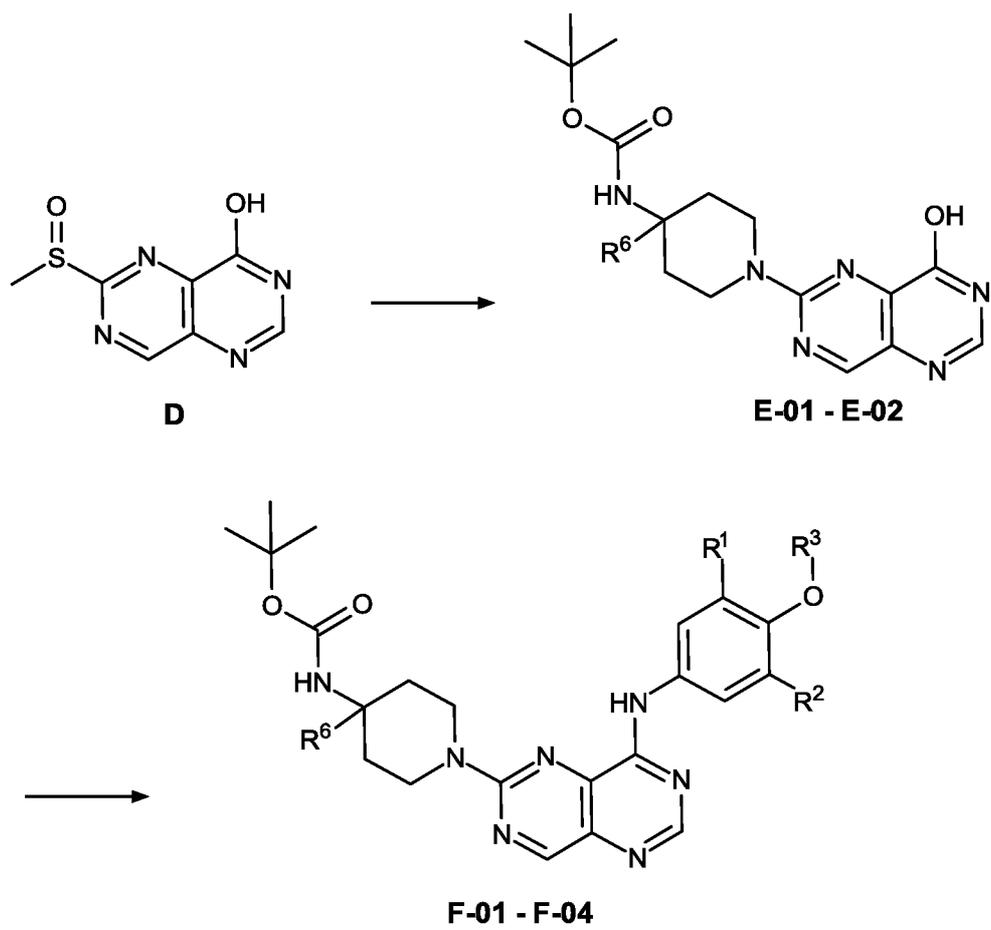


Схема 2. Общий способ 1 для синтеза соединений F-01 – F-04

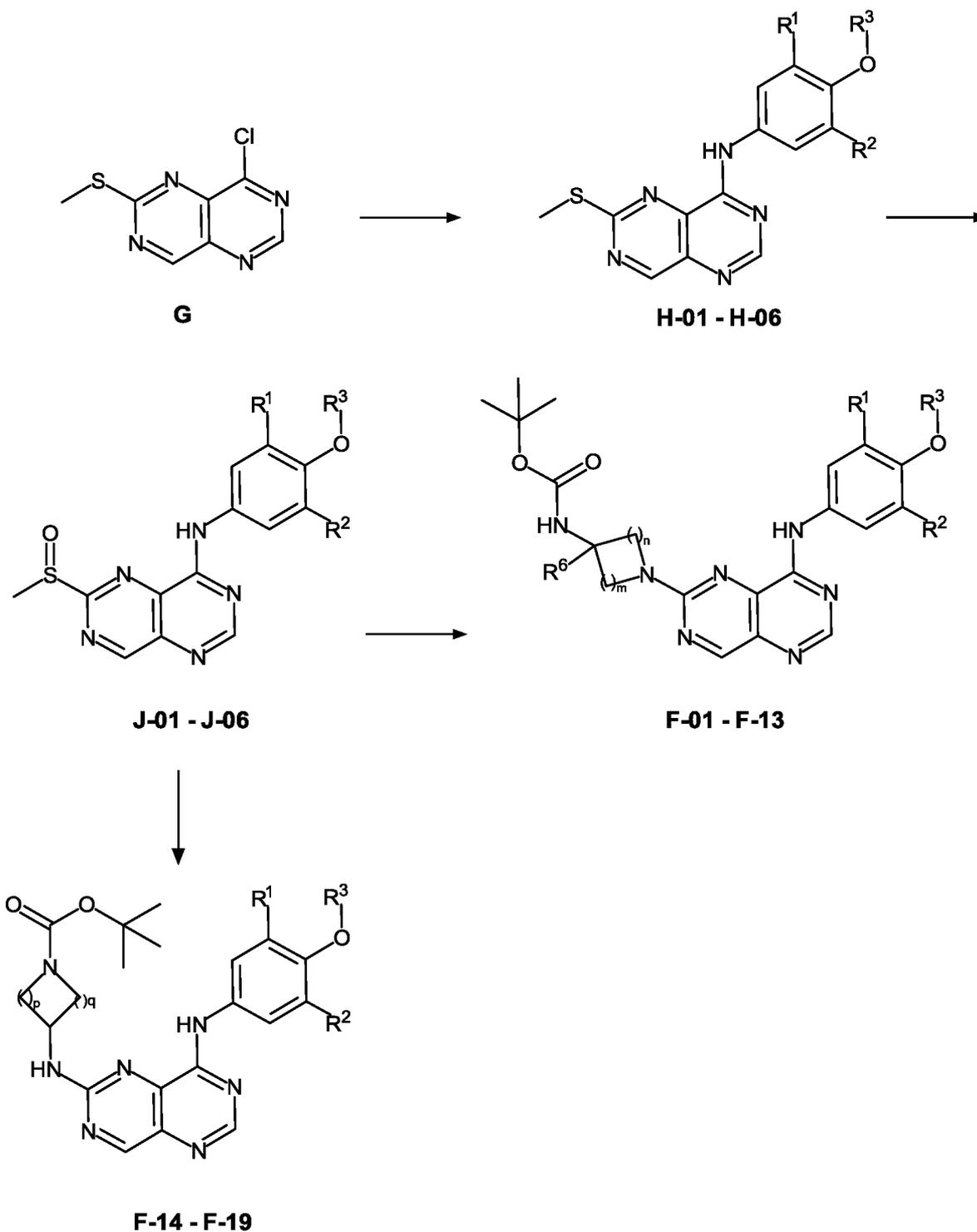
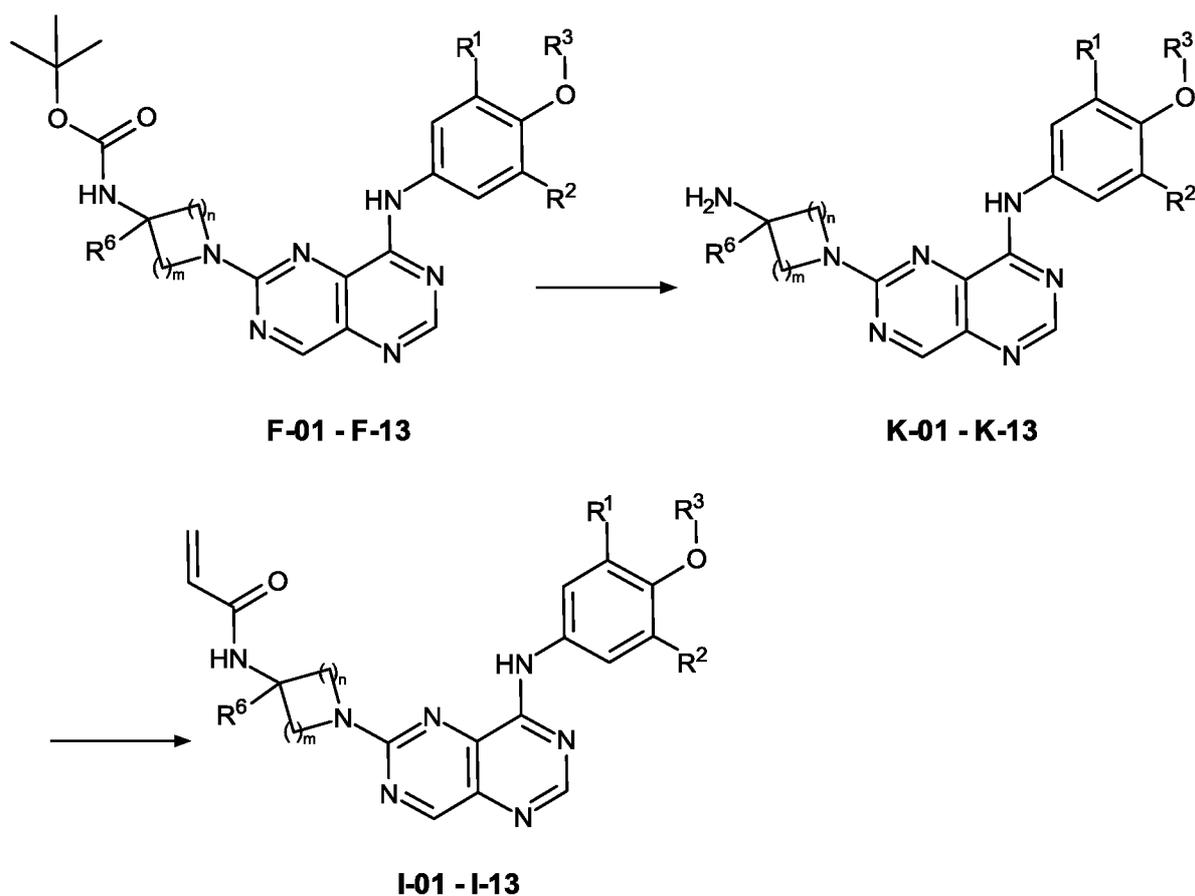


Схема 3. Общий способ 2 для синтеза соединений F-01 – F-19

- 5 Соединения **F** в соответствии с изобретением могут быть синтезированы в соответствии с общим способом 1 из соединения **D** (см., например, Wang и соавт. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2016, 26 (11), 2589-2593, Wan и соавт., *Org. Lett.*

2006, 8, 11, 2425-2428). Альтернативно, соединения **F** в соответствии с изобретением могут быть синтезированы в соответствии с общим способом 2 из соединений **G**, которые замещены соответствующим анилином (см., например, Wang и соавт., Bioorg. Med. Chem. Lett. 2016, 26 (11), 2589-2593, Wan и соавт., Org. Lett. 2006, 8, 11, 2425-2428). Алкилсульфид **H** окисляется до сульфоксида **J** или сульфона и замещается замещенными или незамещенными аминами (см., например, Del Bello и соавт., Bioorg. Med. Chem. 2015, 23 (17), 5725-5733).



10

Схема 4а. Синтез соединений I-01 – I-13

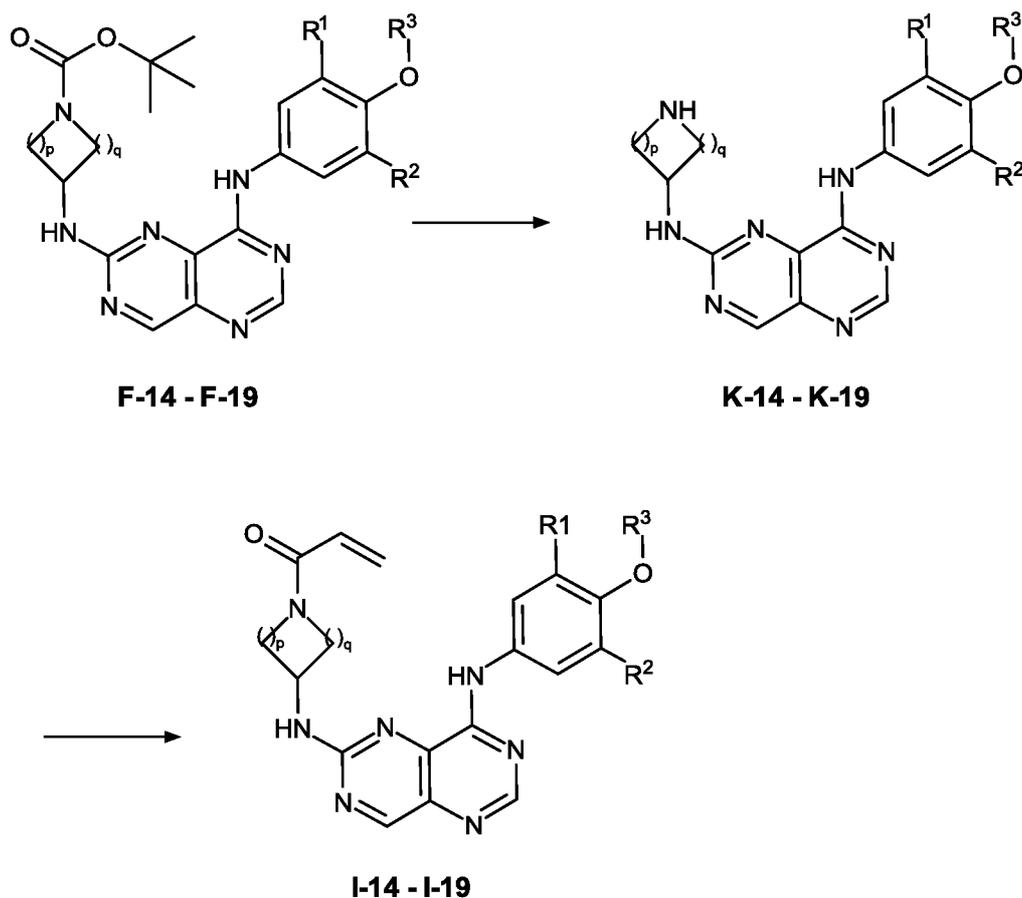


Схема 4b. Синтез соединений I-14 – I-19

Соединения формулы (I) в соответствии с изобретением могут быть
5 синтезированы из соединений F путем снятия защиты с Вос-защищенного
замещенного или незамещенного амина и последующей реакции с
акрилоилхлоридом или акрилоилангидридом (см., например, Zhang и соавт., Eur.
J. Med. Chem. 2019, 178, 417-432).

Если не указано иное, все реакции проводят в коммерчески доступном
10 оборудовании с использованием методов, обычно используемых в химических
лабораториях. Исходные материалы, чувствительные к воздуху и/или влаге,
хранят в среде защитного газа, а соответствующие реакции и манипуляции с
ними проводят в атмосфере защитного газа (азота или аргона).

Предлагаемые в изобретении соединения названы в соответствии с
15 правилами CAS с использованием программного обеспечения AutoNom
(Beilstein) или MarvinSketch (ChemAxon, версия продукта 17.24.3). Если
соединение должно быть представлено как структурной формулой, так и его

номенклатурой, в случае противоречия решающей является структурная формула.

Примерные соединения формулы (I), I-01 - I-19, и промежуточные соединения получают способами синтеза, описанными в настоящей заявке в
5 дальнейшем, в которых заместители общих формул имеют значения, указанные выше. Эти способы предназначены для иллюстрации изобретения без ограничения его объекта и объема заявленных соединений этими примерами. Если получение исходных соединений не описано, то они коммерчески
10 доступны или их синтез описан в предшествующем уровне техники, или они могут быть получены аналогично известным соединениям из предшествующего уровня техники или описанным в настоящей заявке способам, т.е. химик-органик может синтезировать эти соединения. Вещества, описанные в литературных источниках, могут быть получены в соответствии с опубликованными методами синтеза.

15 Хроматография

Тонкослойную хроматографию проводят на готовых пластинах для ТСХ с силикагелем 60 на стекле (с флуоресцентным индикатором F-254) производства Merck.

Препаративную хроматографию высокого давления (ОФ ВЭЖХ)
20 примерных соединений проводят в системах Agilent или Gilson с колонками производства Waters (названия: SunFire™ Prep C18, OBD™ 10 мкм, 50 x 150 мм или SunFire™ Prep C18 OBD™ 5 мкм, 30 x 50 мм или XBridge™ Prep C18, OBD™ 10 мкм, 50 x 150 мм или XBridge™ Prep C18, OBD™ 5 мкм, 30 x 150 мм или XBridge™ Prep C18, OBD™ 5 мкм, 30 x 50 мм) и YMC (название: Actus-
25 Triart Prep C18, 5 мкм, 30 x 50 мм).

Для элюирования соединений используют различные градиенты H₂O/ацетонитрил. Для систем Agilent в воду добавляют 5% кислотного модификатора (от 20 мл HCOOH до 1 л H₂O/ацетонитрил (1/1)) (кислотные условия). Для систем Gilson в воду добавляют 0,1% HCOOH.

30 Для хроматографии в основных условиях для систем Agilent используют градиенты H₂O/ацетонитрил, 5% основного модификатора добавляют к водному элюенту (50 г NH₄HCO₃ + 50 мл NH₃ (25% в H₂O) + H₂O на 1 л водного элюента). Для систем Gilson водный элюент состоит из 5 мл раствора NH₄HCO₃ (158 г в 1 л H₂O) и 2 мл NH₃ (28% в H₂O), доведенных до 1 л с помощью H₂O.

Используемые колонки ВЭЖХ-МС были произведены Waters (XBridge™ C18, 2.5 мкм, 2.1 x 20 мм или XBridge™ C18, 2.5 мкм, 2.1 x 30 мм или Aquity UPLC ВЕН C18, 1.7 мкм, 2.1 x 50 мм), YMC (Triart C18, 3.0 мкм, 2.0 x 30 мм) и Phenomenex (Luna C18, 5.0 мкм, 2.0 x 30 мм).

5 ВЭЖХ-масс-спектроскопия/УФ-спектрометрия

Время удерживания/МС-ЭРИ⁺ для характеристики примерных соединений в соответствии с изобретением получают с использованием аппарата ВЭЖХ-МС (высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-детектором). Соединениям, которые элюируются при пике введения, присваивается время удерживания $V_u = 0.00$.

10

Способ 1

ВЭЖХ	Система Agilent 1100/1200
МС	1200 Series ЖХ/МСД (ММ-ЭР+APCI + 3000 V, Quadrupol, G6130)
настройки сигнала	Скан полож. 150 – 750
МСД	
колонка	Waters; № парт. 186003020; XBridge ВЕН C18, 3.5 мкм, колонка 30 x 2,1 мм или Waters; № парт. 186006028; XBridge ВЕН C18 ХР, колонка 2,5 мкм, 30 x 2,1 мм
элюент	5 мМ NH ₄ HCO ₃ /18 мМ NH ₃ (рН = 9.2) В: ацетонитрил (степень чистоты ВЭЖХ)
сигнал обнаружения	УФ 254 нм (пропускная способность 8, эталон выключен)
спектр	диапазон: 190 – 400 нм; шаг: 2 нм
ширина пика	>0,0031 мин (0.063 с) (80 Гц)
впрыскивание	0,5 мкл стандартное впрыскивание
поток	1,4 мл/мин
температура	45 °С
колонки	
градиент	0,0 – 1,0 мин 15 % → 95 % В 1,0 – 1,3 мин 95 % В Время остановки: 1,3 мин

Способ 2

ВЭЖХ	Система Agilent 1100/1200
МС	1200 Series ЖХ/МСД (API-ЭР +/- 3000 V, Quadrupol, G6140)

настройки сигнала	Скан полож. 150 – 750, Скан отриц. 150 – 750	
МСД		
колонка	УМС; № парт. TA12S03-0302WT; Triart C18, 3 мкм, 12 нм; колонка 30 x 2,0 мм	
элюент	А: H ₂ O + 0,11% муравьиная кислота В: ацетонитрил + 0,1% муравьиная кислота (степень чистоты ВЭЖХ)	
сигнал обнаружения	УФ 254 нм (пропускная способность 10, эталон выключен)	
спектр	диапазон: 190 – 400 нм; шаг: 4 нм	
ширина пика	> 0,005 мин (0,1 с)	
впрыскивание	0,5 мкл стандартное впрыскивание	
поток	1,4 мл/мин	
температура	45 °С	
колонки		
градиент	0,0 – 1,0 мин	15 % → 100 % В
	1,0 – 1,1 мин	100 % В
	Время остановки: 1,23 мин	

Способ 3

ВЭЖХ	Система Agilent 1100/1200	
МС	1200 Series ЖХ/МСД (ММ-ЭР+АРСИ +/- 4000 V, Quadrupol, G6130)	
настройки сигнала	Скан полож. 150 – 800, Скан отриц. 150 – 800	
МСД		
колонка	колонка Waters; № парт. 186003020; XBridge ВЕН C18, 3.5 мкм, 30 x 2.1 мм или колонка Waters; № парт. 186006028; XBridge ВЕН C18 ХР, 2,5 мкм, 30 x 2,1 мм	
элюент	5 мМ NH ₄ HCO ₃ /18 мМ NH ₃ (рН = 9,2) В: ацетонитрил (степень чистоты ВЭЖХ)	
сигнал обнаружения	УФ 254 нм (пропускная способность 8, эталон выключен)	
спектр	диапазон: 190 – 400 нм; шаг: 4 нм	
ширина пика	> 0,0031 мин (0,063 с)	
впрыскивание	0,5 мкл стандартное впрыскивание	
поток	1,4 мл/мин	
температура	45 °С	
колонки		

градиент 0,0 – 1,0 мин 15 % → 95 % В
1,0 – 1,3 мин 95 % В
Время остановки: 1,3 мин

Способ 4

ВЭЖХ Система Agilent 1100/1200
МС 1200 Series ЖХ/МСД (API-ЭР +/- 3000 V, Quadrupol, G6140)

настройки сигнала Скан полож. 150 – 750

МСД

колонка УМС; № парт. TA12S03-0302WT; Triart C18, 3 мкм, 12 нм; колонка 30 x 2,0 мм

элюент А: H₂O + 0,11% муравьиная кислота
В: MeCN + 0,1% муравьиная кислота (степень чистоты ВЭЖХ)

сигнал обнаружения УФ 254 нм (пропускная способность 10, эталон выключен)

спектр диапазон: 190 – 400 нм; шаг: 4 нм

ширина пика > 0,005 мин (0,1 с)

впрыскивание 0,5 мкл стандартное впрыскивание

поток 1.4 мл/мин

температура 45 °С

колонки
градиент 0.0 – 1.0 мин 15 % → 100 % В
1.0 – 1.1 мин 100 % В

Время остановки: 1,23 мин

Способ 5

ВЭЖХ Система Agilent 1260

5 **МС** 1200 Series ЖХ/МСД (API-ЭР +/- 3000 V, Quadrupol, G6140)

настройки сигнала МСД Скан полож./отриц. 120 – 900 м/з

колонка Waters, Xbridge C18, 2,5 мкм, колонка 2.1x20 мм

элюент А: 20 мМ NH₄HCO₃/NH₃ pH 9

10 В: ацетонитрил степень чистоты ВЭЖХ

	сигнал обнаружения	315 нм (пропускная способность 170 нм, эталон выключен)
	спектр	диапазон: 230 – 400 нм
	ширина пика	< 0,01 мин
5	впрыскивание	5 мкл стандартное впрыскивание
	температура колонки	60°C
	поток	1.00 мл/мин
	градиент	0.00 – 1.50 мин 10 % → 95 % В 1.50 – 2.00 мин 95 % В
10		2.00 – 2.10 мин 95 % → 10 % В

Способ 6

	ВЭЖХ	Система Agilent 1100/1200
	МС	1200 Series ЖХ/МСД (ММ-ЭР + АРСІ +/- 3000 V, Quadrupol, G6130В)
	настройки сигнала	Скан полож./отриц. 150 – 750
	МСД	
	колонка	Waters, № парт. 186003389, XBridge ВЕН С18, колонка 2,5 мкм, 2.1 x 30 мм)
	элюент	А: 5 мМ NH ₄ НСО ₃ /18 мМ NH ₃ (рН = 9,2) В: ацетонитрил (степень чистоты ВЭЖХ)
	сигнал обнаружения	УФ 254 нм, 230 нм, 214 нм (пропускная способность 8, эталон выключен)
	спектр	диапазон: 190 – 400 нм; щель: 4 нм
	ширина пика	> 0,0031 мин (0,063 с время реакции, 80 Гц)
	впрыскивание	0,5 мкл стандартное впрыскивание
	поток	1,4 мл/мин
	температура колонки	45 °С
	градиент	0.0 – 1.0 мин 15 % → 95 % В 1.0 – 1.1 мин 95 % В Время остановки: 1,3 мин

	<u>Способ 7</u>	
	ВЭЖХ	Agilent 1100/1200 Series
	МС	Agilent ЖХ/МСД SL
	колонка	Waters X-Bridge ВЕН C18, 2.5 мкм, 2.1 x 30 мм ХР
5	элюент	А: 5 мМ NH ₄ HCO ₃ /19 мМ NH ₃ в H ₂ O; В: ацетонитрил (степень чистоты ВЭЖХ)
	сигнал обнаружения	МС: положительный и отрицательный режим
	массовый диапазон	100 – 1200 м/з
	поток	1,40 мл/мин
10	температура колонки	45 °С
	градиент	0.00 – 1.00 мин: 5 % В → 100 % В 1.00 – 1.37 мин: 100 % В 1.37 – 1.40 мин: 100 % В → 5 % В
15	<u>Способ 8</u>	
	ВЭЖХ	Agilent RRLC
	МС	Agilent Technologies -6130 Quadrupole ЖХ/МС
	настройки сигнала МСД	Скан полож. 70 – 1200, Скан отриц. 70 – 1200
	колонка	X-Bridge C18, 4.6 x 75 мм, 3.5 мкм
20	элюент	А: 10 мМ NH ₄ HCO ₃ в H ₂ O, В: ацетонитрил (степень чистоты ВЭЖХ)
	сигнал обнаружения	УФ 215/254 нм (пропускная способность 4, эталон выключен)
	спектр	Диапазон: 200 – 400 нм; шаг: 2 нм
25	ширина пика	> 0,1 мин (2.0 с время реакции) (2,5 Гц)
	впрыскивание	4.0 мкл впрыскивание с промывкой иглы
	скорость потока	2.0 мл/мин
	температура колонки	35 °С
30	градиент	0.0 – 0.2 мин: 10% В 0.2 – 2.5 мин: 10% → 75% В 2.5 – 3.0 мин: 75% → 100% В 3.0 – 4.8 мин: 100% В 4.8 – 5.0 мин: 100% → 10%В

Способ 9

	ВЭЖХ	Waters Acquity-UPLC-SQ Detector-2
	колодка	AQUITY UPLC BEH C18 1.7 мкм, 2.1 x 50 мм
5	элюент	А: 0,07% муравьиная кислота в ацетонитриле, В: 0,07% муравьиная кислота в воде
	скорость потока	0,6 мл/мин
	температура колонки	35 °С
	градиент	0.0 – 0.3 мин: 97% В
10		0.3 – 2.2 мин: 97% → 2% В
		2.2 – 4.5 мин: 2% В
		4.5 – 4.51 мин: 2% → 97%В

Способ 10

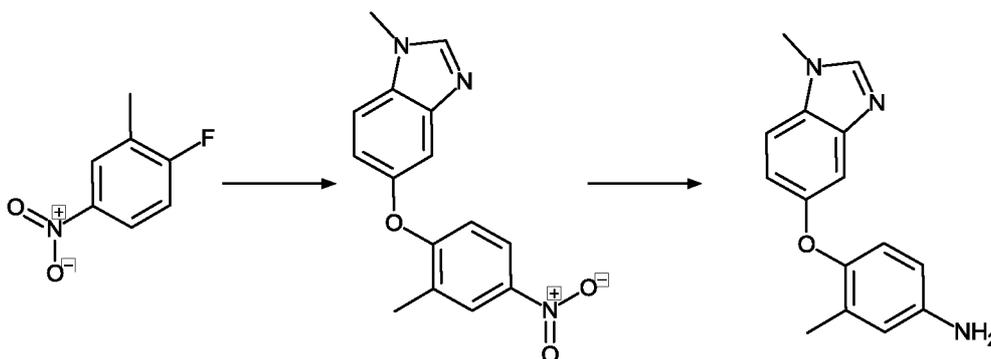
	ВЭЖХ	Thermo Scientific, Dionex Ultimate-3000
	МС	Thermo Scientific LCQ FLEET (Ion Trap)
	настройки сигнала МСД	режим ЭРИ, Скан полож. & Отриц. 100 – 1500
	колодка	X-Bridge C18 2.5 мкм, 4.6 x 50 мм
	элюент	А: 10 мМ NH ₄ HCO ₃ в H ₂ O, В: ацетонитрил (степень чистоты ВЭЖХ)
	сигнал обнаружения	Диодная матрица
	спектр	Диапазон: 200 – 400 нм; Сигнал обнаружения: 215 & 254 нм
	скорость потока	1,0 мл/мин
	температура колонки	35 °С
	градиент	0.0 – 0.80 мин: 5% В
		0.80 – 4.0 мин: 5 % → 75 % В
		4.0 – 5.0 мин: 75% → 98 % В
		5.0 – 6.80 мин: 98 % В
		6.80 – 8.0 мин: 98% → 5 % В

Способ 11

	ВЭЖХ-МС	Waters Acquity-Binary Solvent Manager-UPLC-SQ
15	Detector-2	
	настройки сигнала МСД	Скан полож. & Отриц. 100 – 1500

колонка	AQUITY UPLC ВЕН С18 1.7 мкм, 2.1 x 50 мм
элюент	А: 0,07% муравьиная кислота в ацетонитриле, В: 0,07% муравьиная кислота в воде
сигнал обнаружения	Диодная матрица
5 спектр	Диапазон: 200 – 400 нм; разрешение: 1,2 нм
впрыскивание	0,5 мкл стандартное впрыскивание
скорость потока	0.6 мл/мин
температура колонки	35 °С
градиент	0.0 – 0.40 мин: 97% В
10	0.40 – 2.50 мин: 97 % → 2 % В
	2.50 – 3.40 мин: 2 % В
	3.40 – 3.50 мин: 2 % → 97 % В
	3.50 – 4.0 мин: 97 % В

15 **Синтез соединений С**

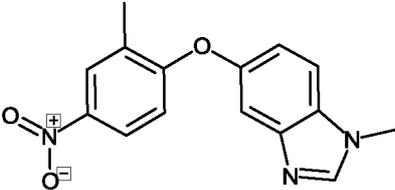
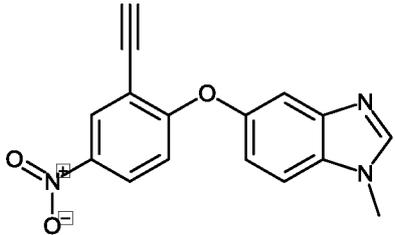
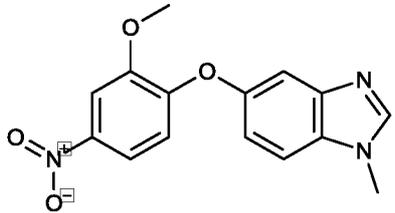
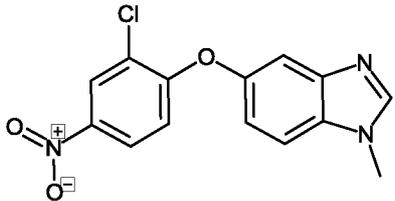
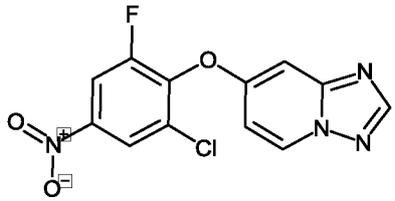
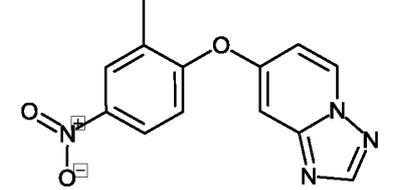
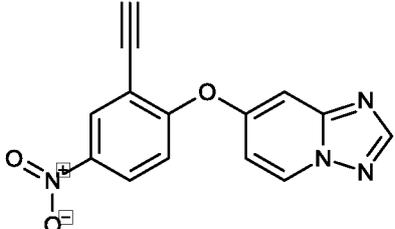


Синтез В-01

20 1-Метил-1*H*-бензо[*d*]имидазол-5-ол (500 мг, 3,38 ммоль), 1-фтор-2-метил-4-нитробензол (681 мг, 4.39 ммоль) и карбонат калия (1.16 г, 8.44 ммоль) в ДМФА (5 мл) перемешивают при 80°С в течение 6 ч. Реакционную смесь концентрируют. Сырой продукт очищают с помощью колоночной хроматографии (SiO₂, градиент циклогексан/этилацетат).

25 Соединения **В-02** – **В-09** (Таблица 1) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше.

Таблица 1

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
В-01		1.25	284	5
В-02		0.41	294	2
В-03		1.09	300	5
В-04		2.66	304	8
В-05		0.50	308	3
В-06		0.50	271	3
В-07		2.35	281	9

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
В-08		1.15	270	5
В-09		1.13	285	5

Синтез С-01 и С-05

Способ 1 – Синтез С-01

В-01 (950 мг, 3.35 ммоль) и 10% Pd/C (100 мг) в этаноле (10 мл)/ТГФ (10 мл) перемешивают в атмосфере водорода (3 бар) в течение 24 ч. при температуре 18-25°C. Реакционную смесь фильтруют и концентрируют в вакууме.

Соединения **С-03** и **С-06** – **С-08** (Таблица 2) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше.

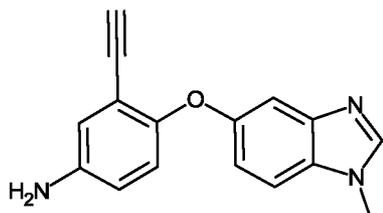
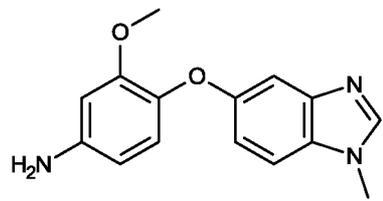
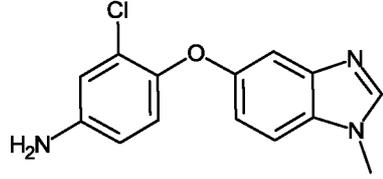
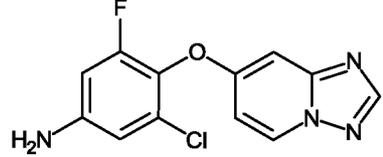
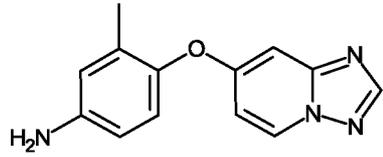
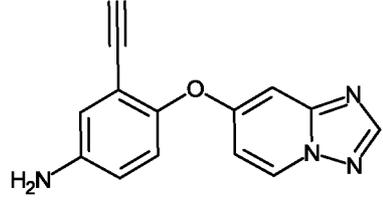
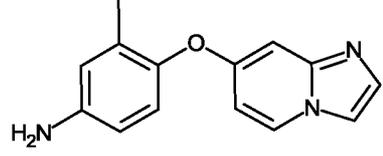
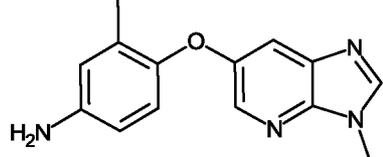
Способ 2 – Синтез С-05

В-05 (250 мг, 0.81 ммоль) и железо (226 мг, 55,8 ммоль) суспендируют в этаноле и нас. водн. растворе NH₄Cl. Полученную реакционную смесь перемешивают при 80°C в течение 3 часов и впоследствии при температуре 18-25°C в течение 16 часов. Реакционную смесь фильтруют над слоем целита и фильтрат концентрируют в вакууме. Полученный остаток используют на следующей стадии синтеза без дополнительной очистки.

Соединения **С-02**, **С-04** и **С-09** (Таблица 2) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше.

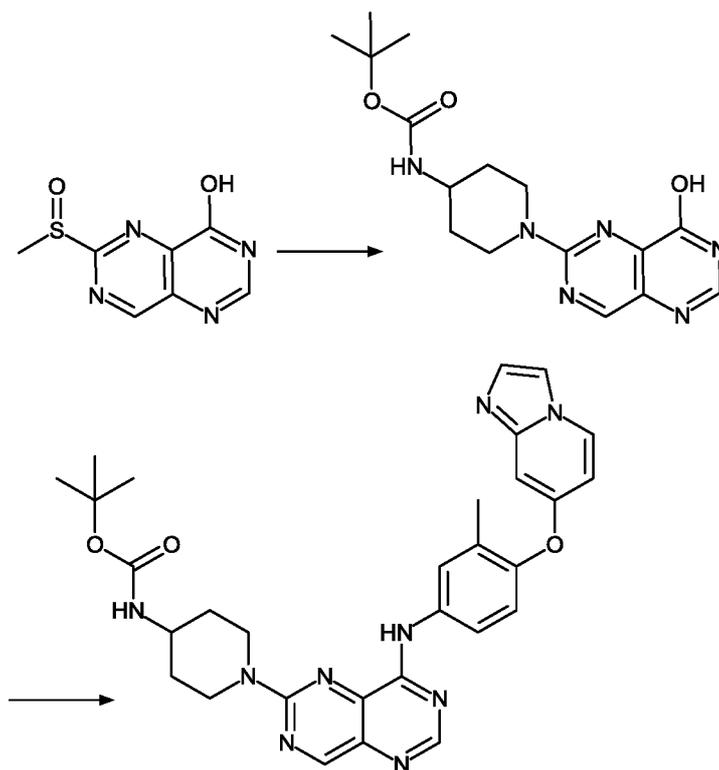
Таблица 2

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
С-01		0.98	254	5

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ₊	Способ
C-02		0.37	264	3
C-03		0.84	270	5
C-04		0.43	274	3
C-05		0.43	279	3
C-06		0.86	241	5
C-07		1.90	251	9
C-08		0.93	240	5
C-09		0.85	255	5

Синтез соединений F

Синтез соединений F в соответствии с общим способом 1 (Схема 2)

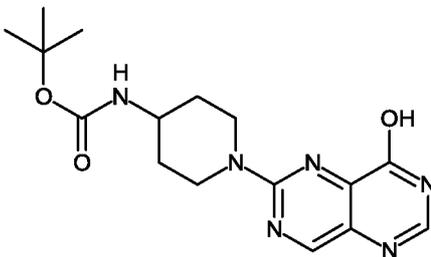
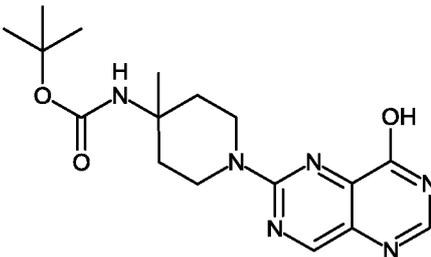


Синтез E-01

6-Метансульфинил[1,3]диазино[5,4-*d*]пиримидин-4-ол (6-Метансульфинил
5 пиримидо[5,4-*d*]пиримидин-4-ол, **D**, 211 мг, 1.00 ммоль, полученный в
соответствии с WO 9732880) и *tert*-бутил-*N*-(пиперидин-4-ил)карбамат (246
мг, 1.20 ммоль) в диоксане (4 мл) перемешивают при кипячении в колбе с
обратным холодильником в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрируют
10 под сниженным давлением, и сырой продукт очищают с помощью колоночной
хроматографии (SiO₂, градиент дихлорметан/метанол).

Соединение **E-02** (Таблица 3) синтезируют аналогично процедуре,
показанной выше.

Таблица 3

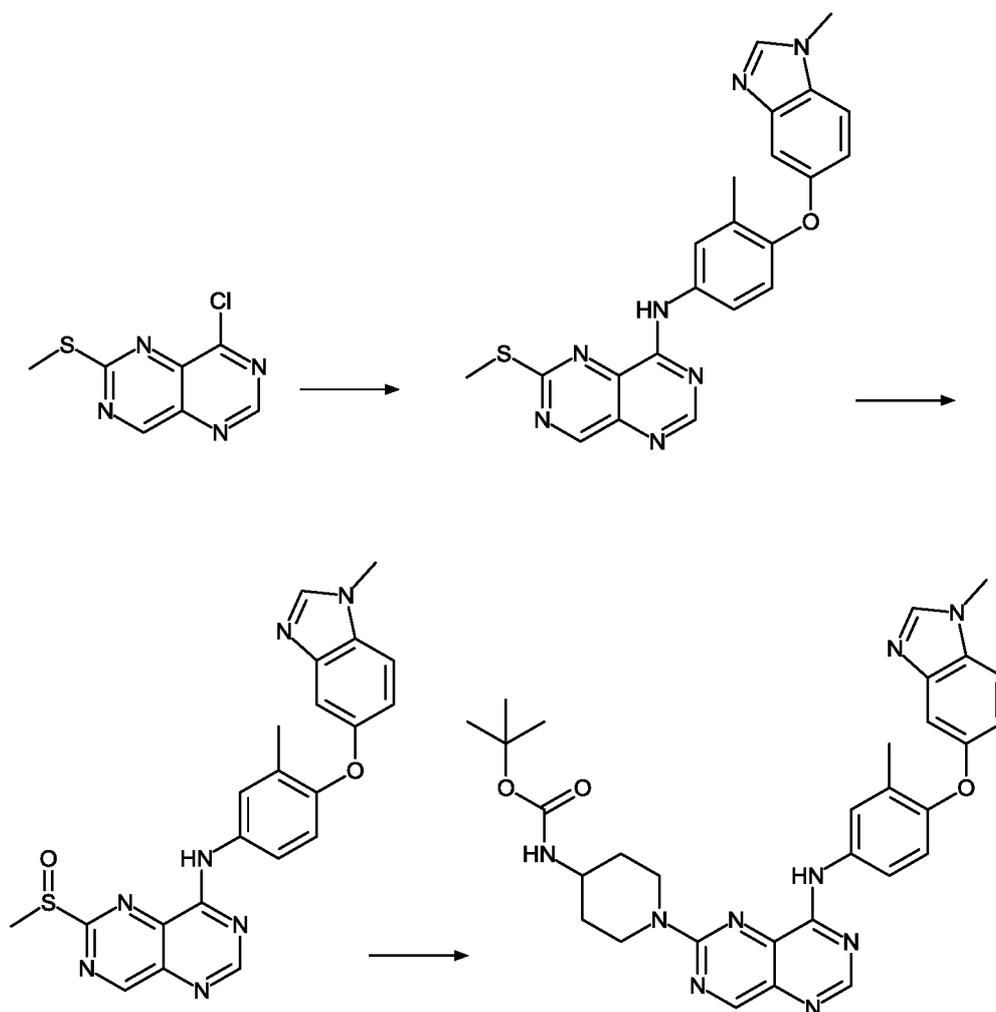
Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
E-01		0.93	347	5
E-02		0.43	361	3

Синтез F-03

E-01 (200 мг, 0,55 ммоль), гексафторфосфат бензотриазол-1-илокситрис(пирролидино)фосфония (441 мг, 0,83 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5.4.0]ендец-7-ен (126 мг, 0,83 ммоль) в сухом ТГФ (4 мл) перемешивают при температуре 18-25°C в течение 30 минут. **C-03** (205 мг, 0,66 ммоль) добавляют в сухой ТГФ (1 мл) и смесь перемешивают при 70°C в течение 16 ч. Смесь концентрируют в вакууме, и сырой продукт очищают препаративной обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Соединения **F-04**, **F-06** и **F-12** (Таблица 6) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше.

Синтез соединений **F** в соответствии с общим способом 2 (Схема 3)

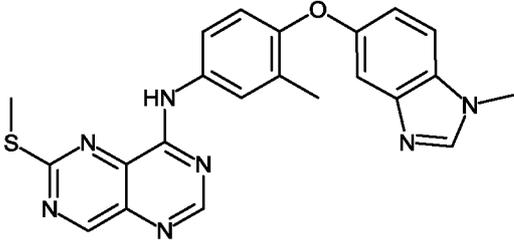
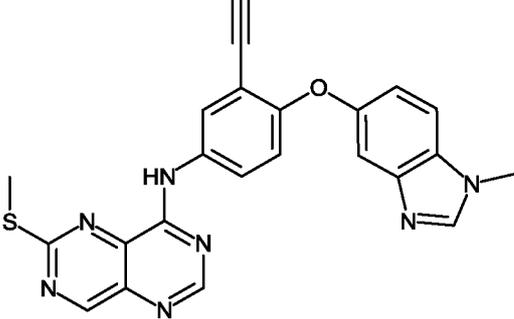
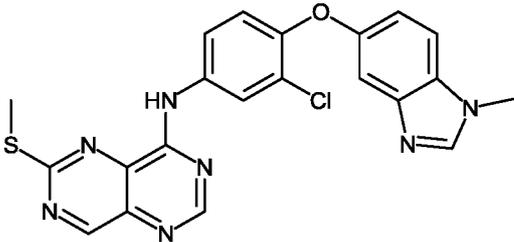
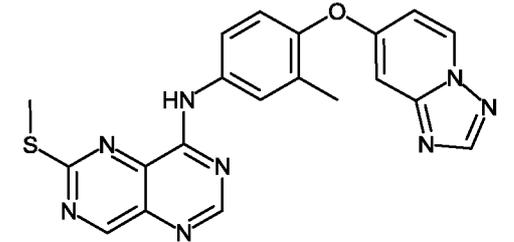
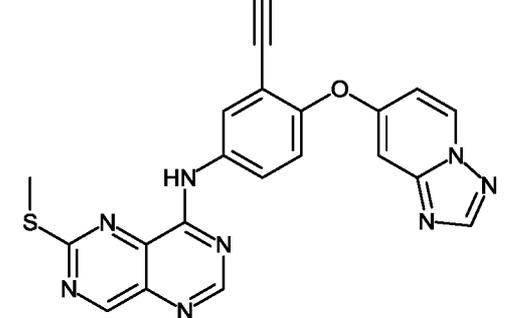


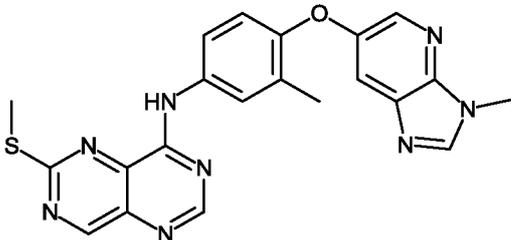
5 Синтез **H-01**

8-Хлор-2-(метилтио)пиримидо[5,4-*d*]пиримидин (500 мг, 1,97 ммоль) и **C-01** (492 мг, 1,97 ммоль) в изопропанол (10 мл) перемешивают при 50°C в течение 3 ч. Осадок собирают фильтрованием, и сырой продукт очищают с помощью колоночной хроматографии (SiO₂, градиент дихлорметан/метанол) с
10 получением продукта **H-01**.

Соединения **H-02** – **H-06** (Таблица 4) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше. Продукт также может быть выделен путем распределения реакционной смеси между органическим растворителем и водным слоем, восстановления органического слоя в вакууме и очистки неочищенного продукта
15 на колонке.

Таблица 4

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ₊	Способ
Н-01		0.45	430	3
Н-02		2.47	441	9
Н-03		4.39	450	10
Н-04		0.59	417	3
Н-05		1.82	427	11

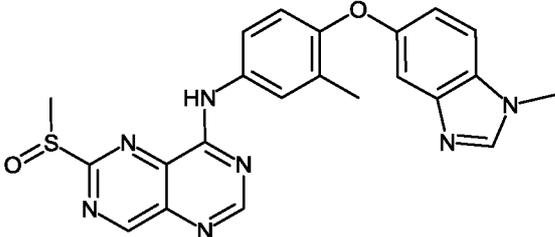
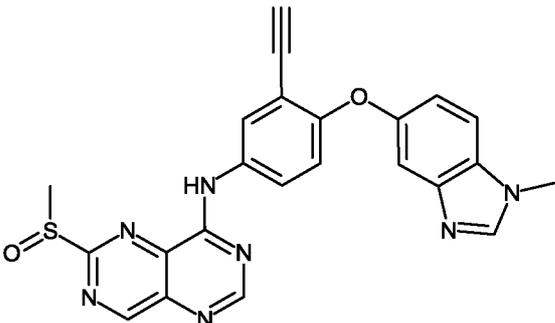
Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
H-06		2.33	431	9

Синтез J-01

К **H-01** (860 мг, 1.80 ммоль) в дихлорметане (30 мл) добавляют *m*-хлорпербензойную кислоту (77%, 444 мг, 1,98 ммоль) при 5°C, и реакционную смесь перемешивают при температуре 18 - 25°C в течение 2 ч. Добавляют нас. водн. раствор NaHCO₃ (200 мл) и водный слой несколько раз экстрагируют дихлорметаном. Объединенный органический слой промывают водой, сушат (Mg₂SO₄), фильтруют и концентрируют в вакууме. Сырой продукт **J-01** используют на следующей стадии без дополнительной очистки.

10 Соединения **J-02** – **J-06** (Таблица 5) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше.

Таблица 5

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
J-01		0.46	446	3
J-02		1.35	456	11

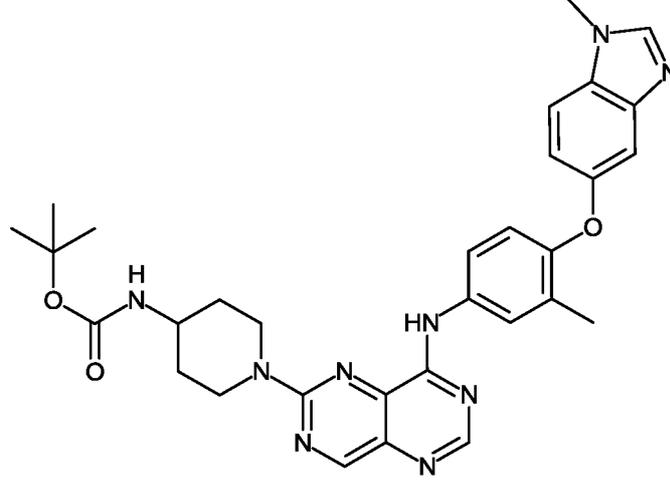
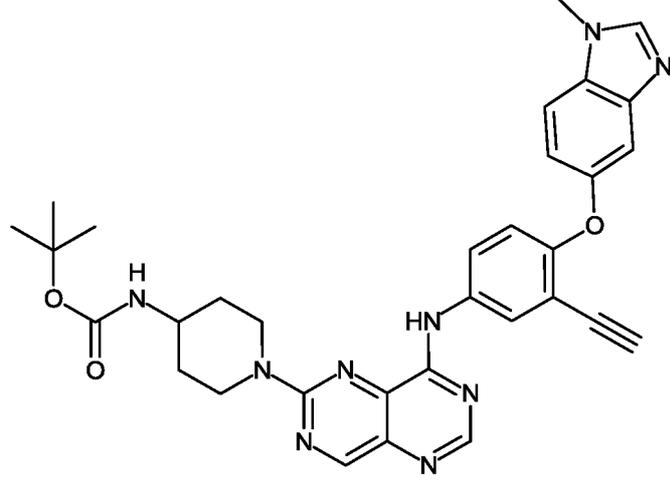
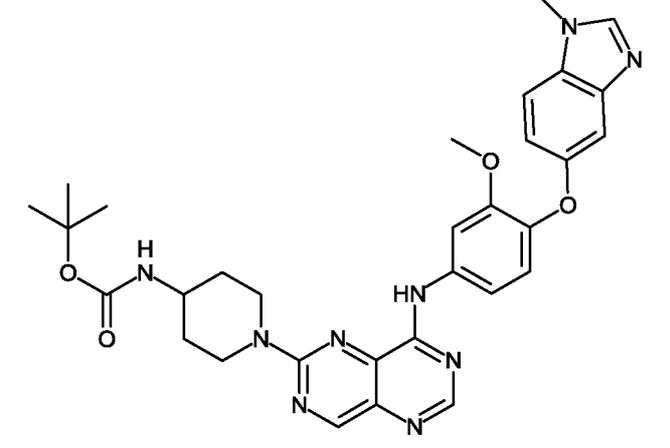
Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
J-03		2.29	466	8
J-04		0.94	433	5
J-05		4.78	443	9
J-06		1.41	447	11

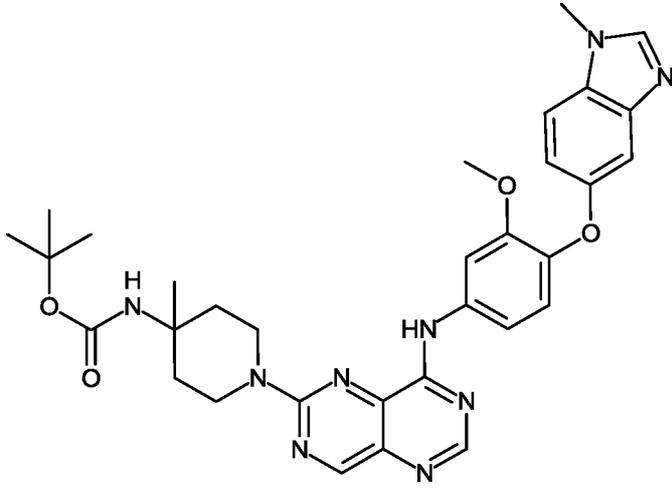
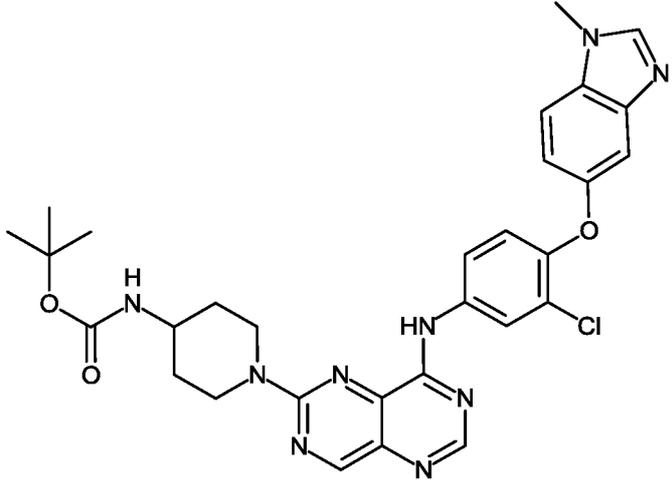
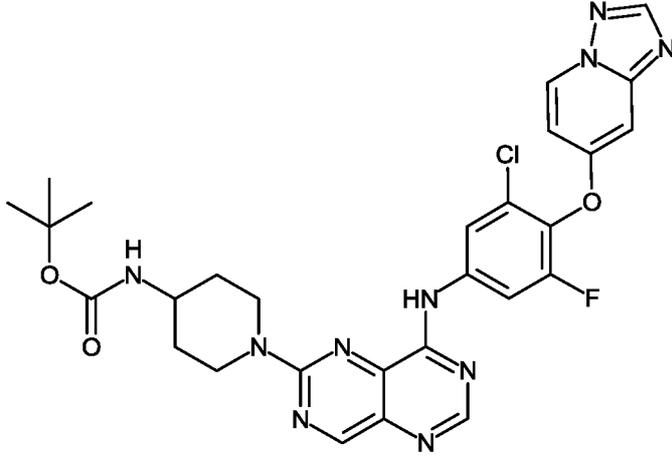
Синтез F-01

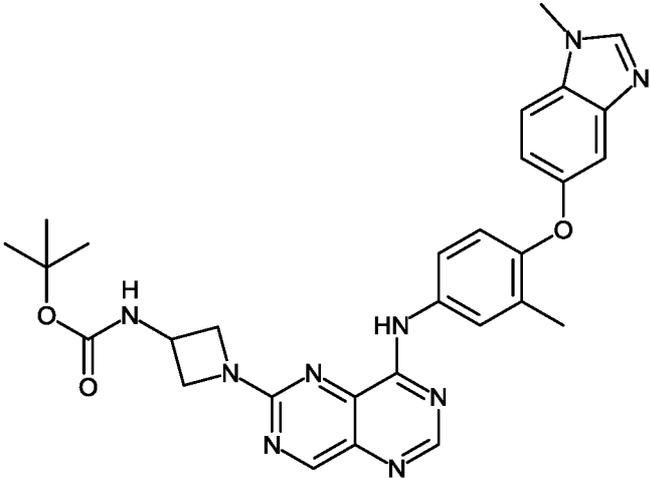
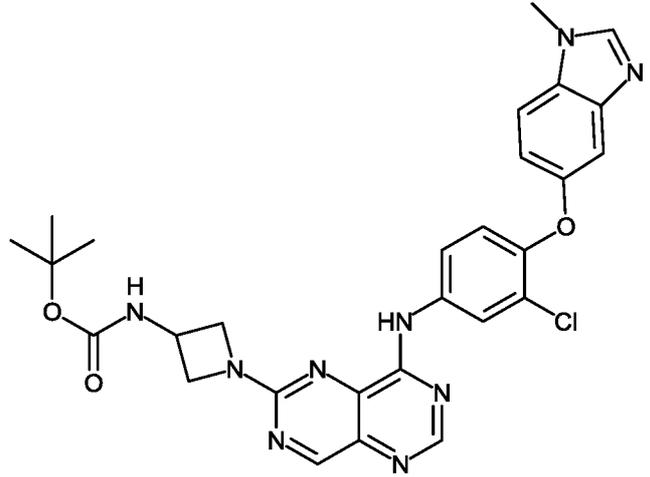
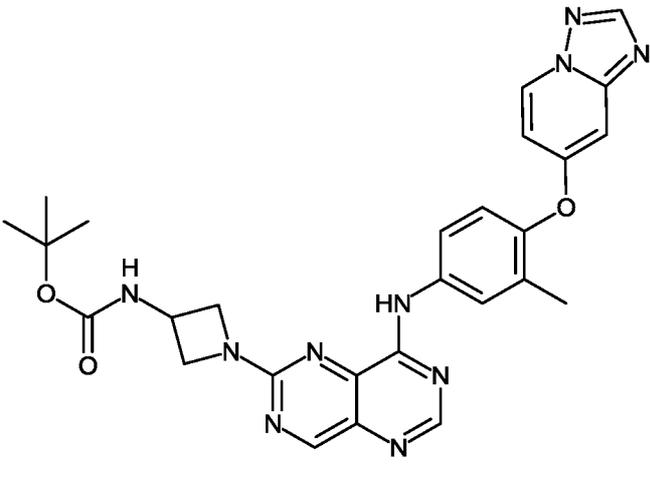
5 **J-01** (5.42 г, 9.74 ммоль), *трет*-бутил-*N*-(пиперидин-4-ил)карбамат (2.39 г, 11.7 ммоль) и *N*-этил-диизопропиламин (2,51 г, 19.4 ммоль) в ДМФА (50 мл) перемешивают при 60°C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме, и сырой продукт используют без дополнительной очистки на следующей стадии.

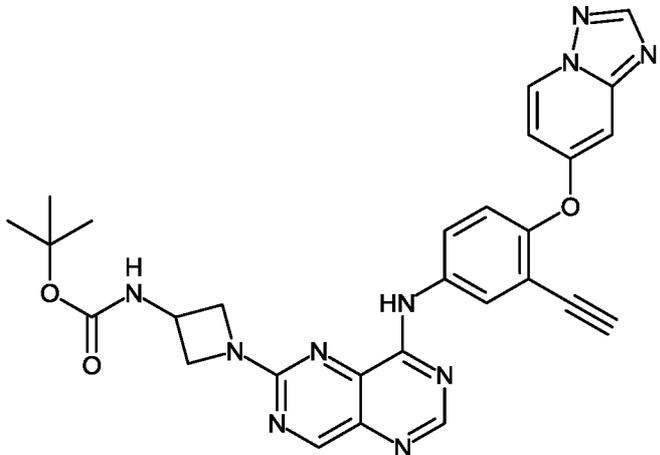
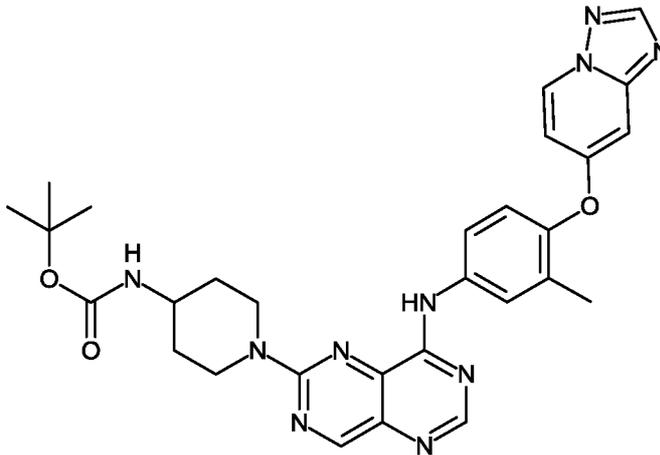
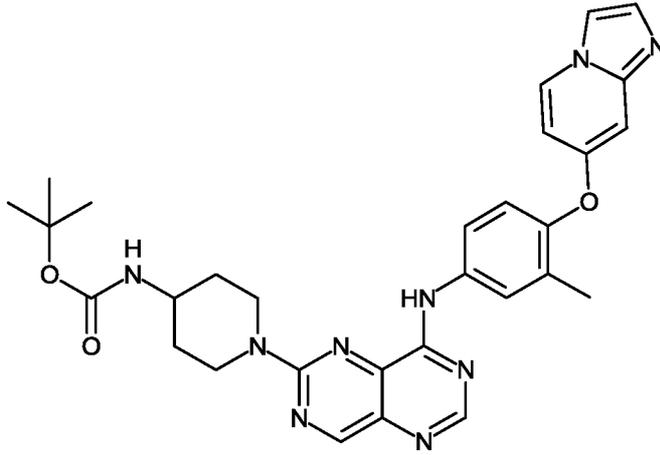
Соединения **F-02**, **F-05**, **F-07** – **F-11** и **F-13** – **F-19** (Таблица 6) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше.

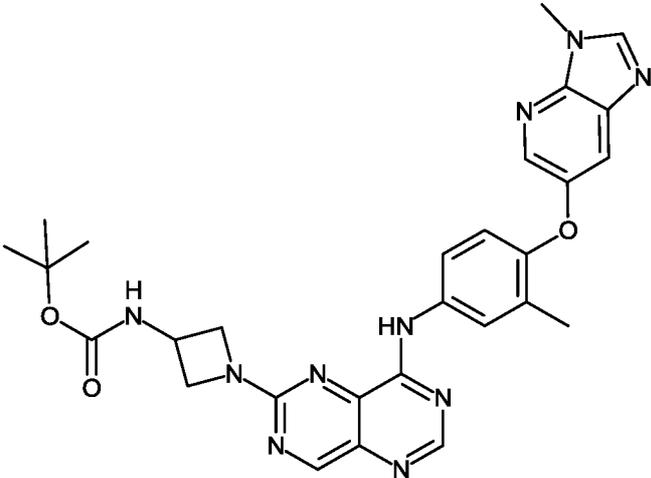
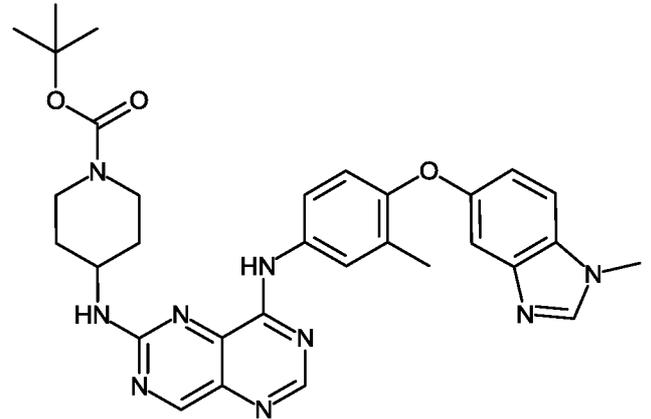
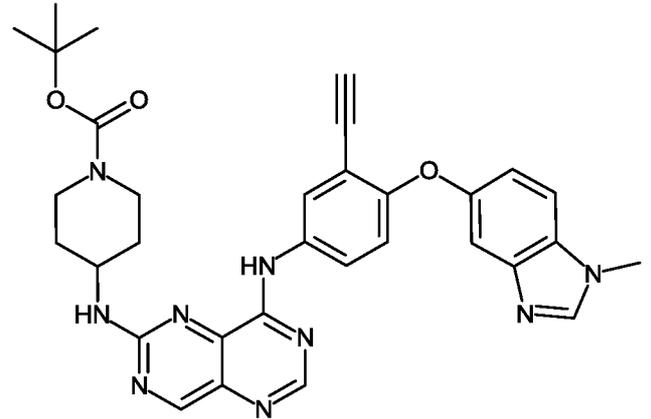
Таблица 6

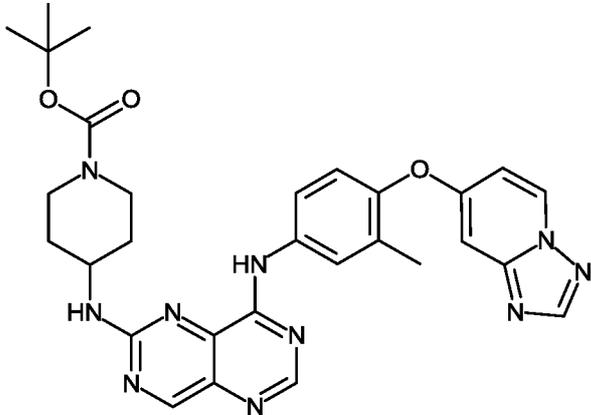
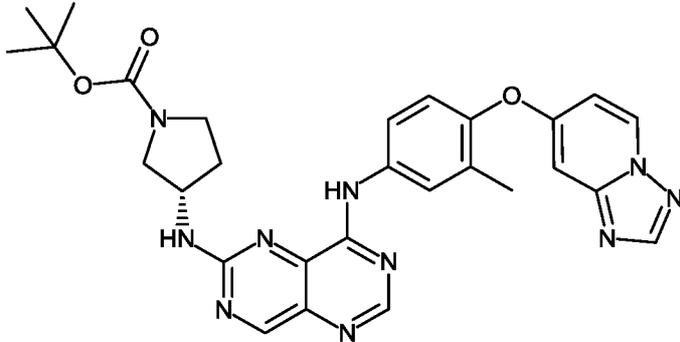
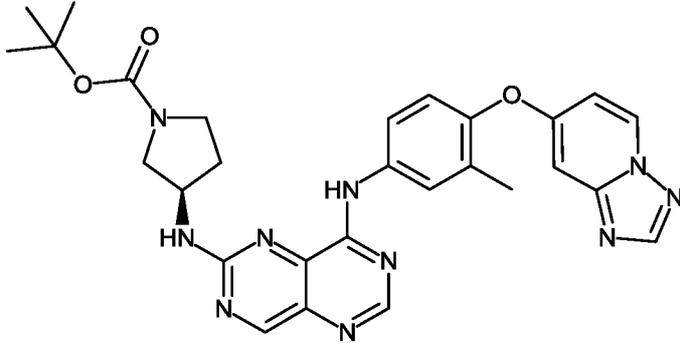
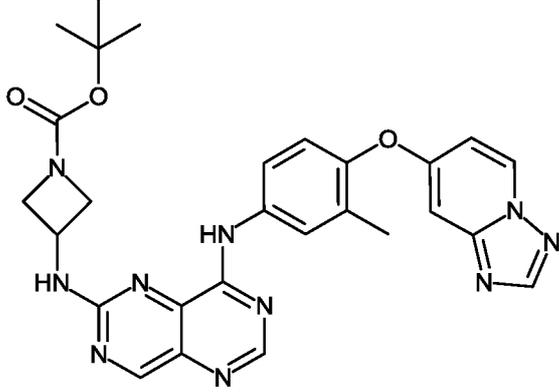
Номер примера	Структура	Ву [мин]	$[M+H]^+$	Способ
F-01		1.43	582	5
F-02		0.70	592	1
F-03		1.29	598	5

Номер примера	Структура	Время [мин]	[M+H] ⁺	Способ
F-04		1.43	612	5
F-05		0.78	602	6
F-06		0.75	607	6

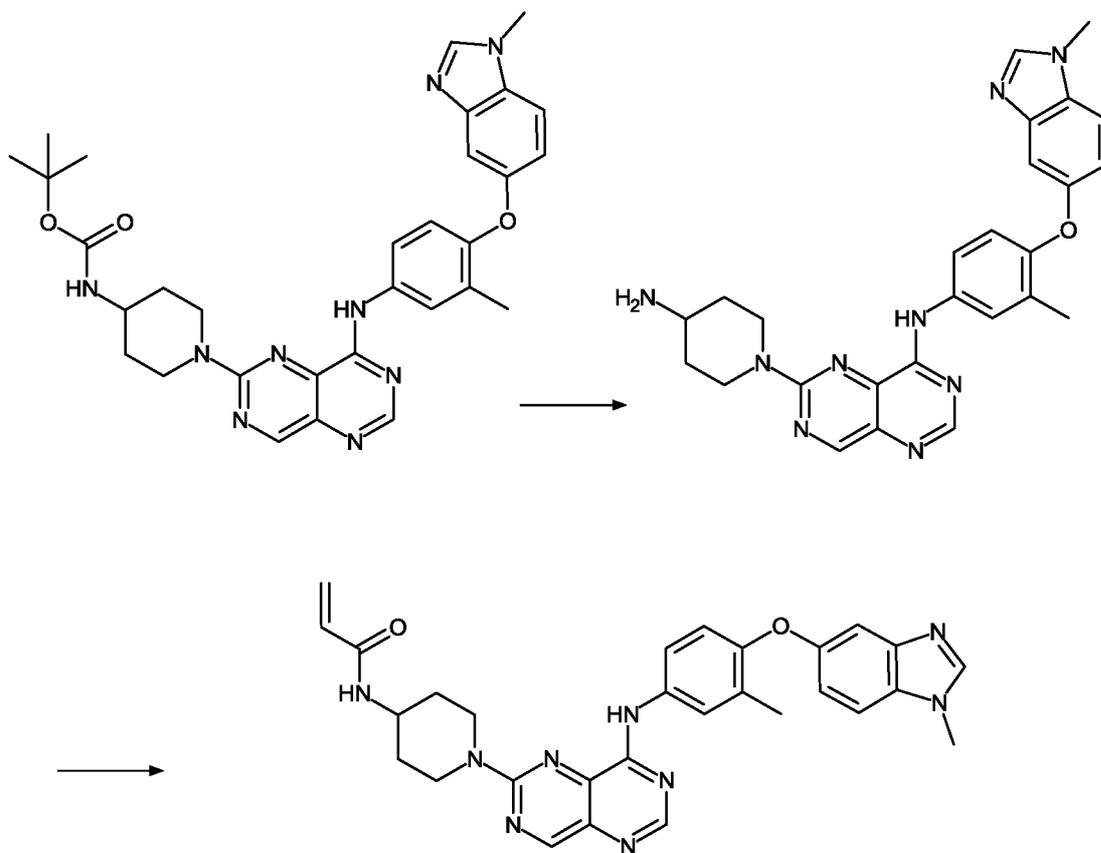
Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
F-07		0.65	554	3
F-08		0.73	574	3
F-09		1.27	541	5

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
F-10		0.65	551	6
F-11		0.69	569	3
F-12		1.39	568	5

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
F-13		0.89	555	7
F-14		0.75	582	6
F-15		0.60	592	4

Номер примера	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
F-16		0.69	569	1
F-17		0.65	555	1
F-18		0.65	555	1
F-19		0.61	541	6

Синтез I-01 – I-19



5

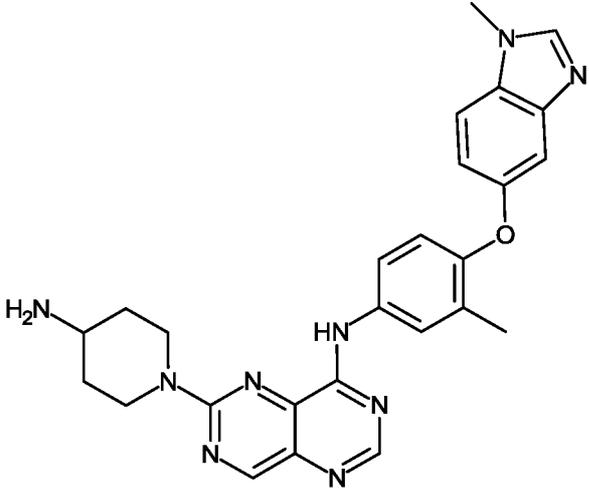
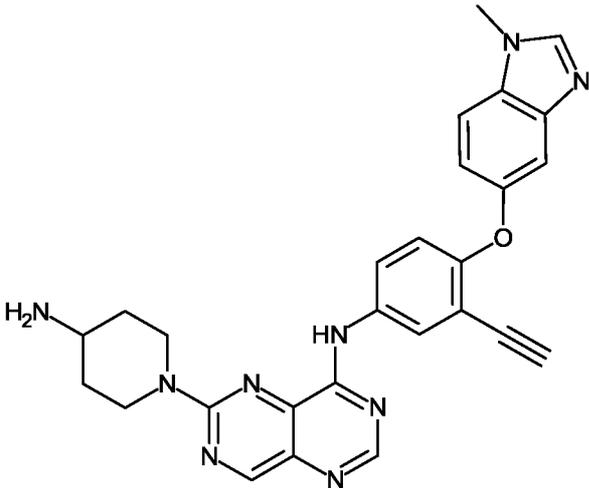
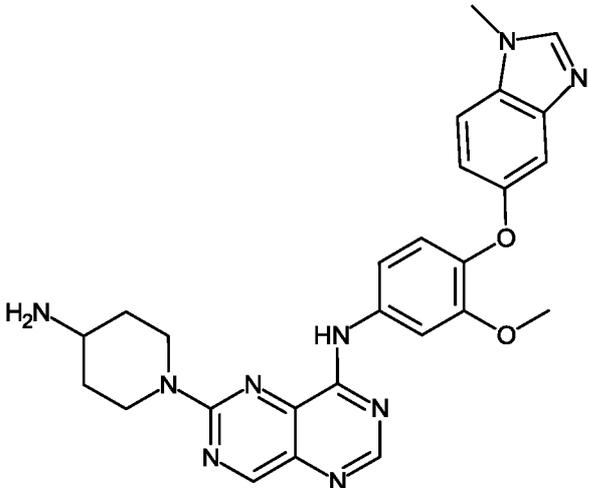
Синтез K-01

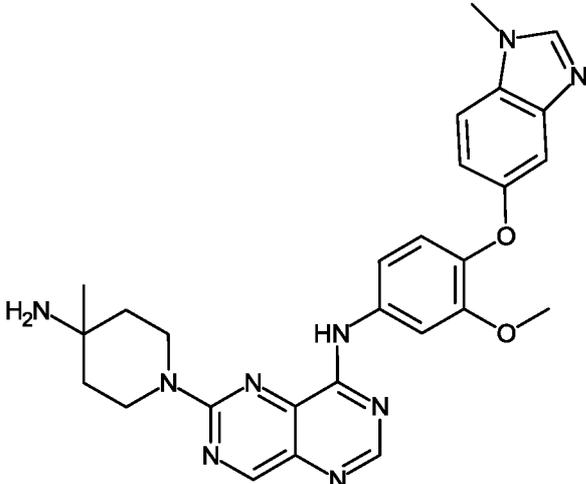
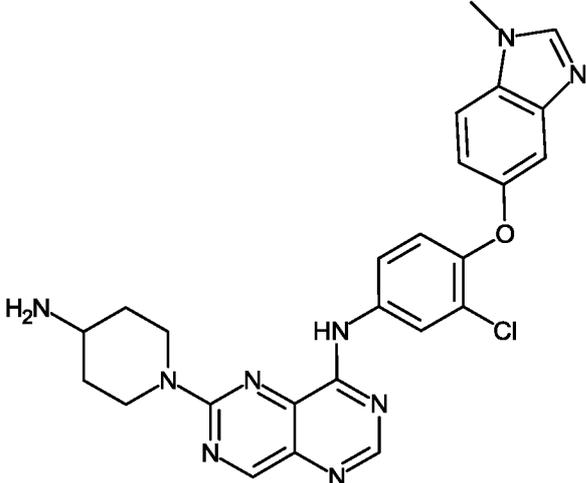
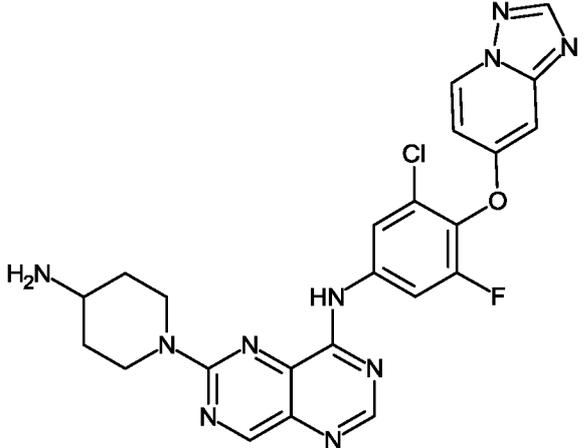
К F-01 (5,66 г, 9,73 ммоль) в сухом дихлорметане (100 мл) и метаноле (30 мл) добавляют HCl (4 н. в диоксане, 22 мл). Реакционную смесь перемешивают при 45°C в течение 4 ч., и затем концентрируют в вакууме. Сырой продукт очищают с помощью колоночной хроматографии (SiO₂, градиент дихлорметан/метанол).

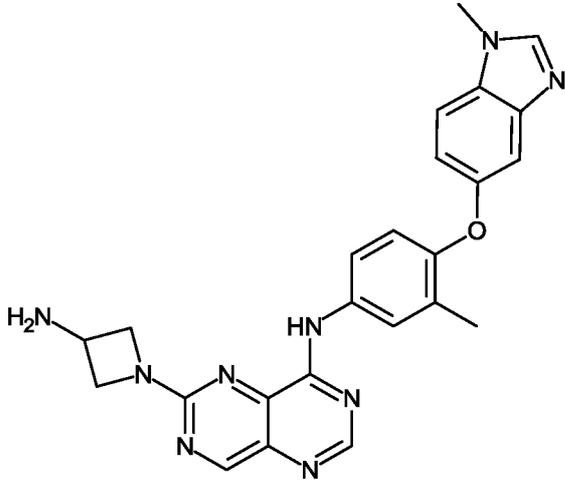
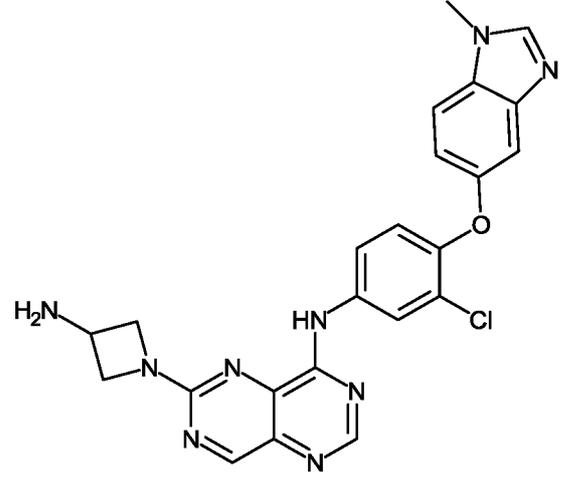
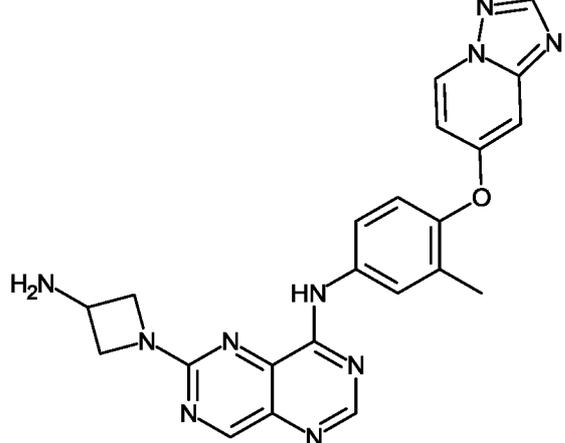
10

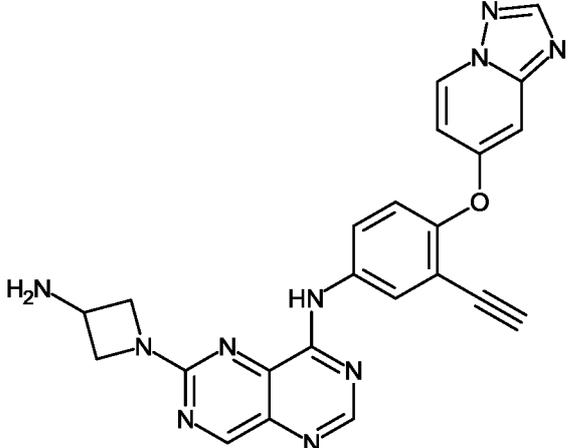
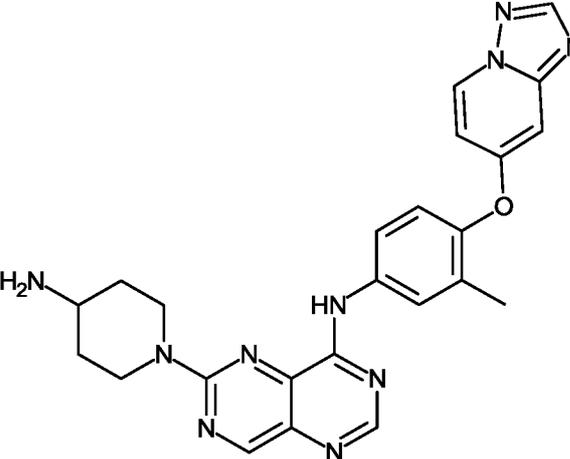
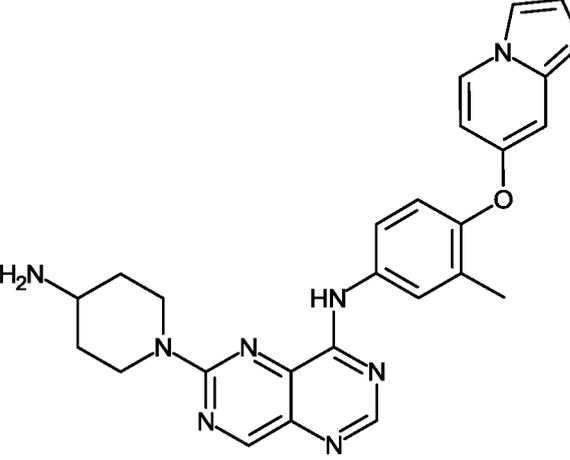
Соединения K-02 – K-19 (Таблица 7) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше.

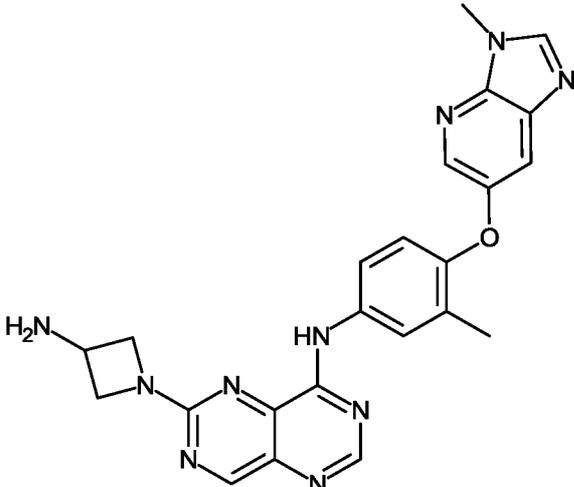
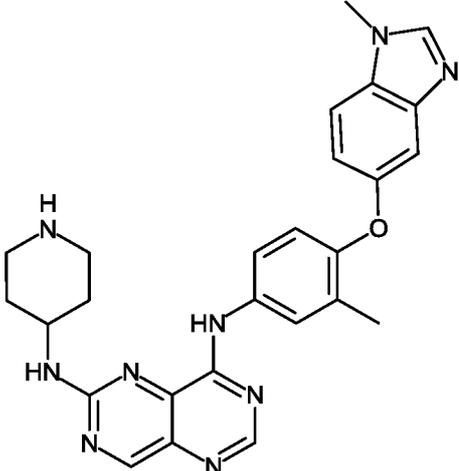
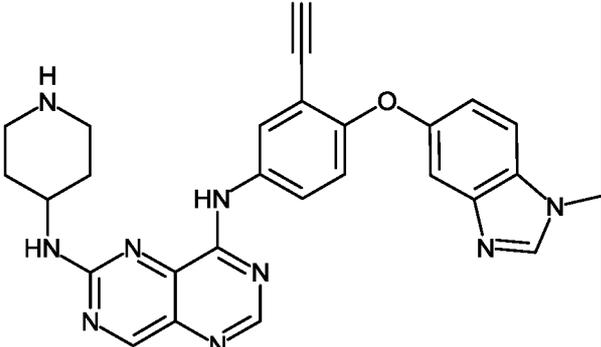
Таблица 7

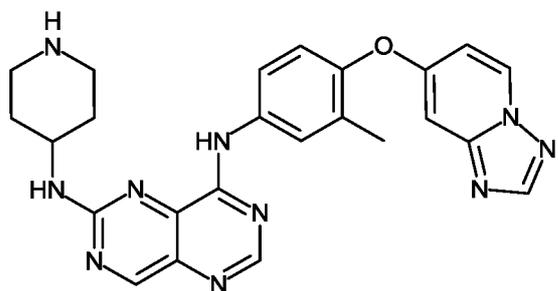
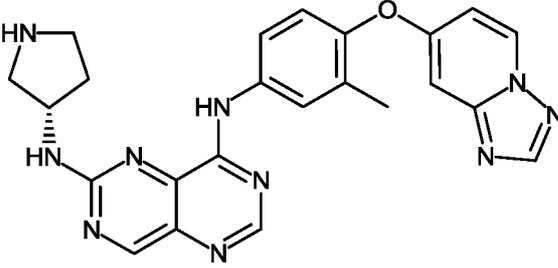
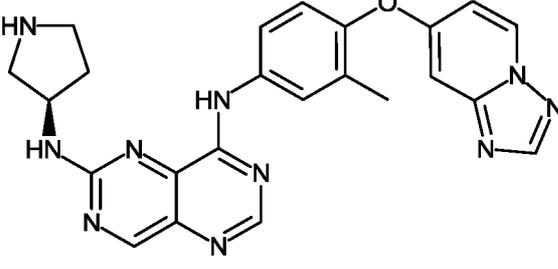
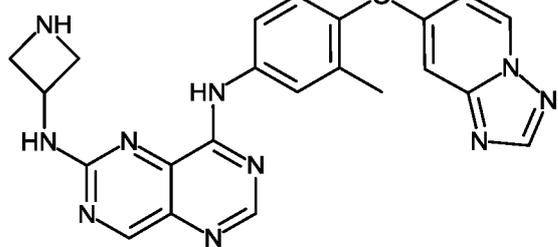
Номер примера	Структура	Ву [мин.]	[M+H] ⁺	Способ
К-01		1.14	482	5
К-02		1.08	492	5
К-03		1.01	498	5

Номер примера	Структура	Ву [мин.]	[M+H] ⁺	Способ
К-04		0.49	512	3
К-05		0.56	502	6
К-06		1.14	507	5

Номер примера	Структура	Ву [мин.]	[M+H] ⁺	Способ
K-07		0.45	454	3
K-08		0.50	474	3
K-09		0.97	441	5

Номер примера	Структура	Ву [мин.]	[M+H] ⁺	Способ
К-10		0.43	451	6
К-11		0.44	469	3
К-12		0.49	468	3

Номер примера	Структура	Ву [мин.]	[M+H] ⁺	Способ
К-13		0.95	455	5
К-14		0.50	482	3
К-15		0.99	492	5

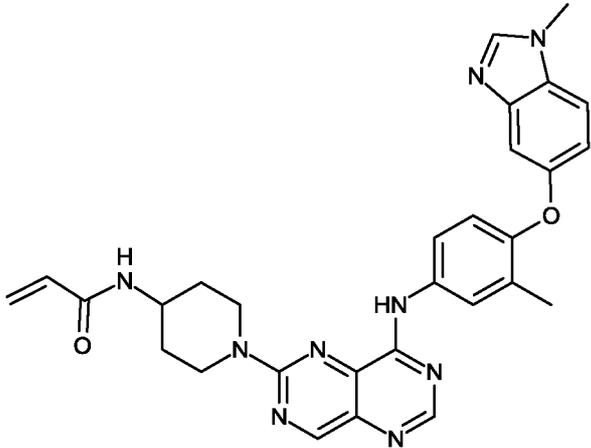
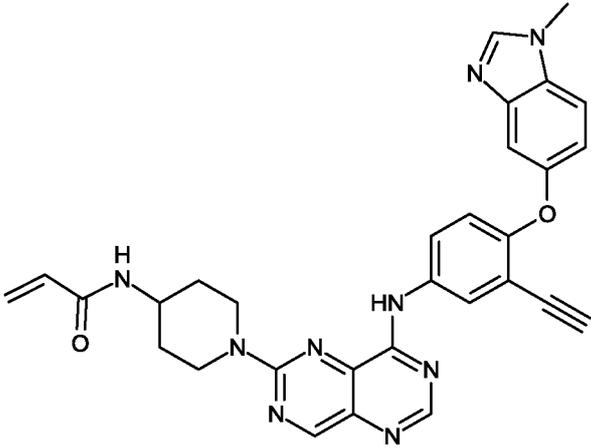
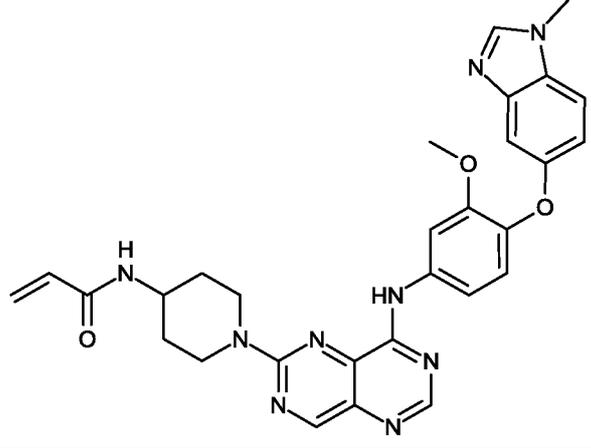
Номер примера	Структура	Ву [мин.]	[M+H] ⁺	Способ
К-16		1.14	469	5
К-17		1.00	455	5
К-18		1.00	455	5
К-19		0.30	441	2

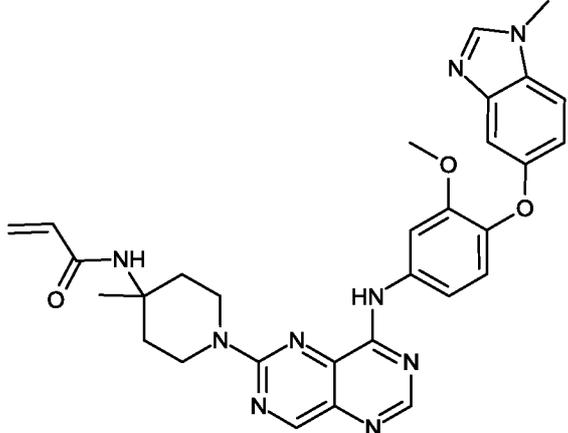
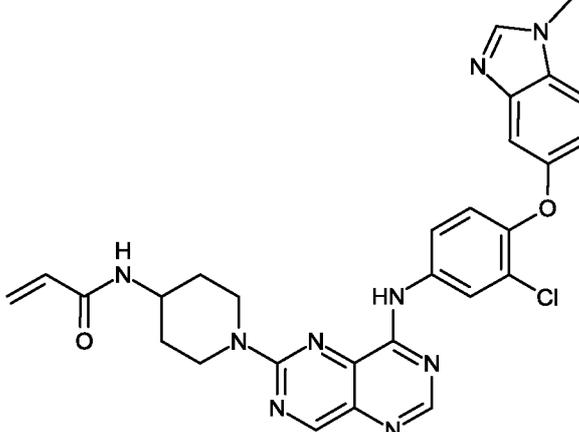
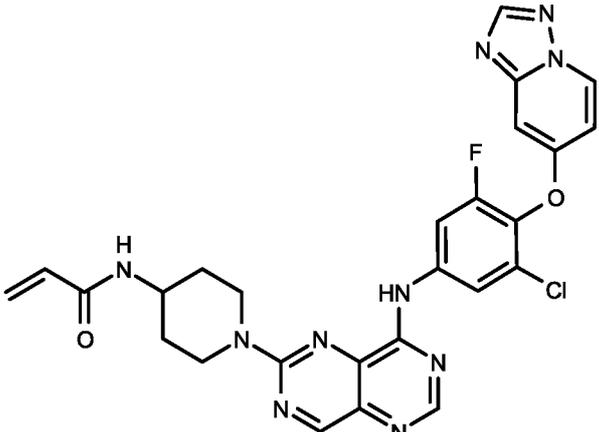
Синтез I-01

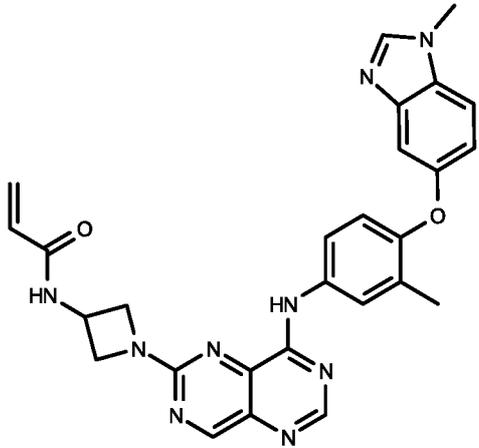
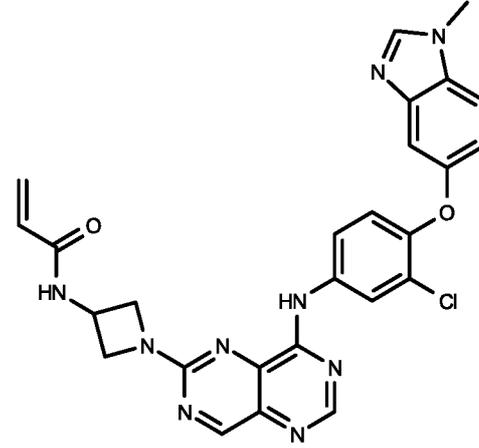
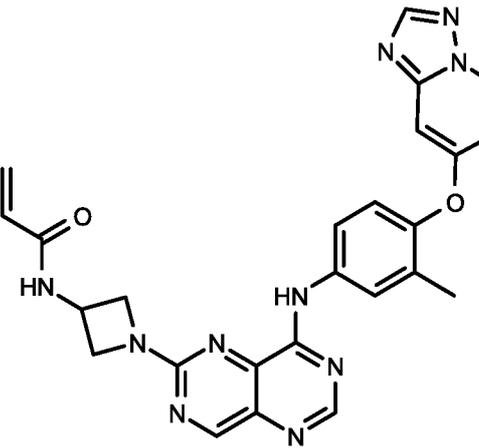
К **К-01** (168 мг, 0,15 ммоль) в сухом дихлорметане (2 мл) добавляют акрилоилхлорид (13 мкл, 0,16 ммоль) и диизопропилэтиламин (149 мкл, 0,88 ммоль) и перемешивают при температуре 18 - 25°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме, и сырой продукт очищают препаративной ОФ-ВЭЖХ-МС.

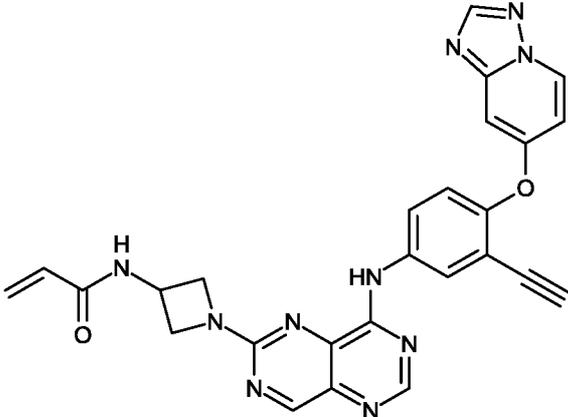
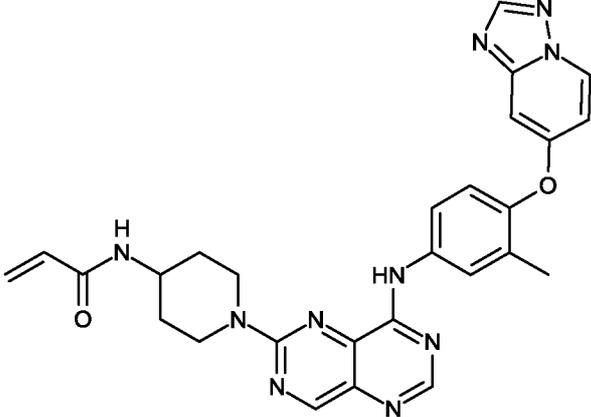
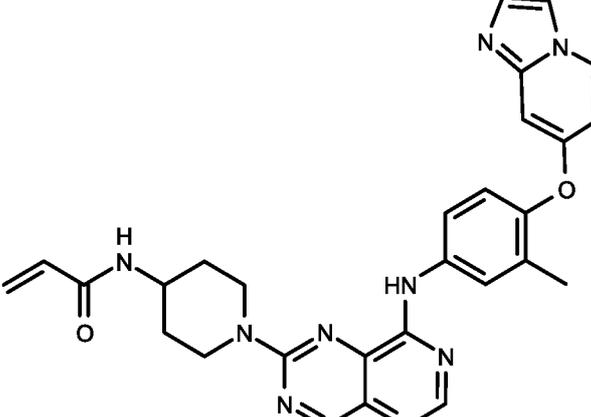
Соединения **I-02** – **I-19** (Таблица 8) синтезируют аналогично процедуре, показанной выше.

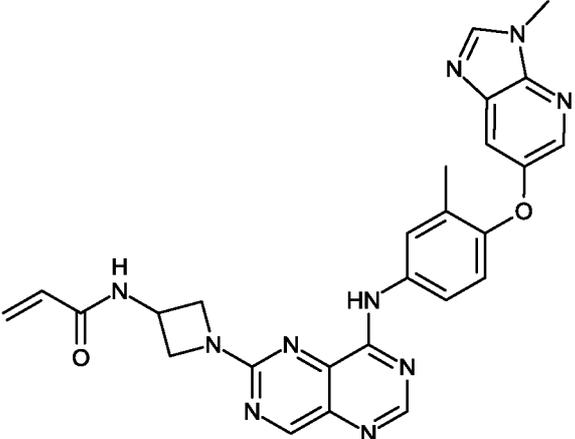
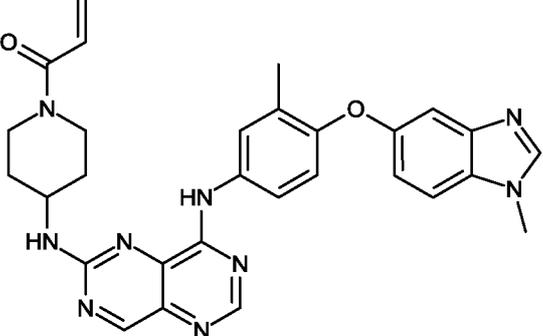
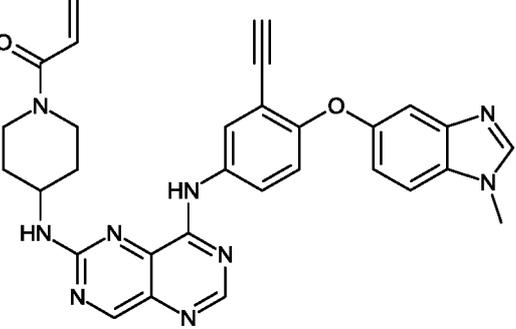
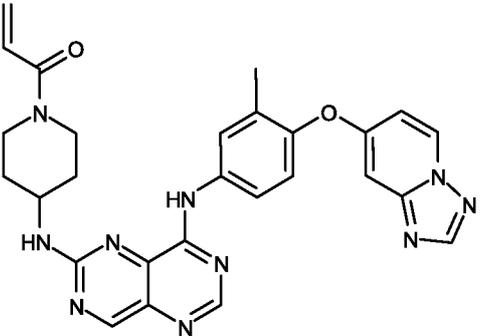
Таблица 8

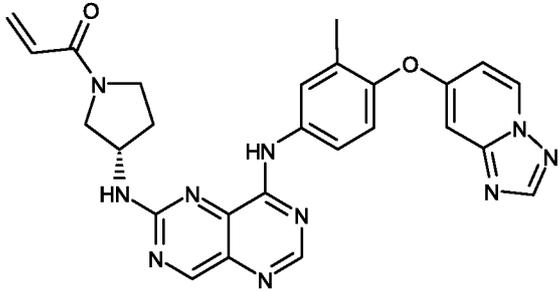
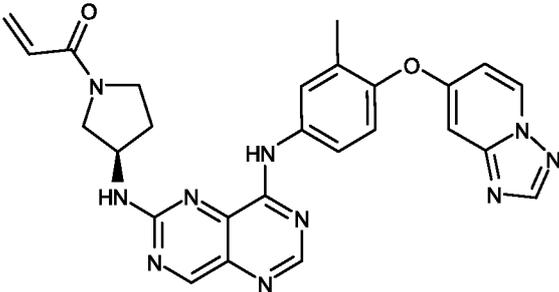
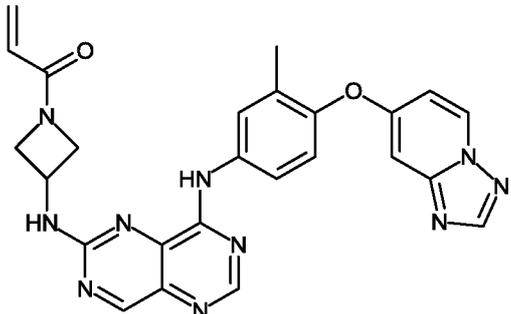
Название	Структура	В _y [мин]	[M+H] ⁺	Способ
I-01		1.18	536	5
I-02		1.13	546	5
I-03		1.09	552	5

Название	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
I-04		1.20	566	5
I-05		1.21	556	5
I-06		1.19	561	5

Название	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
I-07		1.11	508	5
I-08		1.13	528	5
I-09		1.04	495	5

Название	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
I-10		1.02	505	5
I-11		1.12	523	5
I-12		1.15	522	5

Название	Структура	Ву [мин]	[M+H] ⁺	Способ
I-13		1.02	509	5
I-14		1.16	536	5
I-15		1.10	546	5
I-16		1.12	523	5

Название	Структура	В _y [мин]	[M+H] ⁺	Способ
I-17		1.09	509	5
I-18		1.09	509	5
I-19		1.03	495	5

Биологические анализы

Генерация модели клеток Ba/F3 и анализы пролиферации

Клетки Ba/F3 заказывали в DSMZ (ACC300) и выращивали в RPMI-1640 (ATCC 30-2001) + 10 % ФБС + 10 нг/мл IL-3 при 37 °C в 5 % атмосфере CO₂. Плазмиды, содержащие мутанты HER2 и EGFR WT, были получены от GeneScript. Для создания EGFR/HER2-зависимых моделей Ba/F3, клетки Ba/F3 трансдуцируют ретровирусами, содержащими векторы, несущие мутанты EGFR WT, HER2 WT или HER2 (YVMA). Клетки Platinum-E (Cell Biolabs) используют для упаковки ретровирусов. К клеткам Ba/F3 добавляют ретровирус. Для обеспечения инфицирования добавляют 4 мкг/мл полибрена и заражают клетки путем вращения. Эффективность инфицирования подтверждают измерением

GFP-положительных клеток с помощью клеточного анализатора. Клетки с эффективностью инфицирования от 10 % до 20 % далее культивируют и инициируют селекцию пуромицином с концентрацией 1 мкг/мл. В качестве контроля для оценки статуса селекции использовали родительские клетки Ва/F3.

5 Селекция считается успешной, когда родительские культуры клеток Ва/F3 погибают. Для оценки трансформирующего потенциала мутаций HER2 в среду для выращивания больше не добавляют IL-3. Клетки Ва/F3, несущие пустой вектор, используют в качестве контроля. Переключение с IL-3 на EGF осуществляют для клеток Ва/F3, экспрессирующих EGFR WT, известных своей

10 зависимостью от лиганда EGF. Приблизительно за десять дней до проведения экспериментов пуромицин исключают. Для анализа пролиферации (данные в таблицах 10 и 12) клетки Ва/F3 высевают в 96-луночные планшеты при 5×10^3 клеток/100 мкл среды для выращивания. Соединения добавляют с помощью цифрового диспенсера HP D3000. Все процедуры выполняют в трехкратной

15 технической повторности. Обработанные клетки инкубируют в течение 72 ч. при 37 °C с 5 % CO₂. Проводят люминесцентный анализ жизнеспособности клеток CellTiter-Glo[®] (Promega) и измеряют хемолюминесценцию с помощью планшетного ридера VICTOR X4 с несколькими метками. Необработанные

20 данные импортируют и анализируют с помощью фирменного программного обеспечения MegaLab компании Boehringer Ingelheim (подбор кривой на основе программы PRISM, GraphPad Inc.).

Анализ pEGFR

Этот анализ количественно определяет фосфорилирование EGFR по Tyr1068 и его используют для измерения ингибирующего действия соединений

25 на трансгенный белок EGFR дикого типа (WT), экспрессируемый в клетках НЕК.

Клетки НЕК человека (ATCC CRL-1573) выращивают в минимальной основной среде Eagle, MEM Eagle EBSS, без L-глутамина, с заменимыми аминокислотами и пируватом натрия (EMEM Lonza BE12-662F) + 5 мл GlutaMax (Gibco 35050-038; L-аланил-L-глутамин) + 5 мл пирувата натрия (Gibco; 100 мМ)

30 + 10 % ФБС при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂ и трансдуцируют ретровирусным вектором, кодирующим EGFR WT. Трансдуцированные клетки отбирают с использованием пуромицина. p-EGFR Tyr1068 определяют с использованием теста AlphaScreen Surefire pEGF Receptor (Tyr1068) Assay (PerkinElmer, TGRERS). Для анализа клетки НЕК EGFR WT высевают в среду MEM с 10 %

ФБС. В каждую лунку планшета Greiner TC 384 добавляют 60 нл разведений соединения с использованием платформы Echo. Затем добавляют 60 000 клеток/лунку в 60 мкл. Клетки инкубируют с соединением в течение 4 ч. при 37 °С. После центрифугирования и удаления супернатанта среды добавляют 20 мкл 1,6-кратного лизирующего буфера из набора TGR/Perkin Elmer с ингибиторами протеазы. Смесь инкубируют при температуре 20 - 25°C при встряхивании (700 об/мин) в течение 20 мин. После центрифугирования 4 мкл лизата переносят на планшеты Proxiplates. В каждую лунку добавляют 5 мкл акцепторной смеси (активирующий буфер, разбавленный 1:25 в комбинированном реакционном буфере 1 и реакционном буфере 2 (набор для анализа TGRERS, PerkinElmer) плюс 1:50 акцепторных шариков 6760137 с белком A, Perkin Elmer. Планшеты встряхивают в течение 1 мин. (1400 об/мин) и инкубируют в течение 2 ч. при температуре (20 - 25°C) в темноте. В каждую лунку добавляют 3 мкл донорской смеси (покрытые стрептавидином шарики донора AlphaScreen (6760002, PerkinElmer), разведенные в соотношении 1:50 в буфере для разведения (набор для анализа TGRERS, PerkinElmer)). Планшеты встряхивают в течение 1 мин. (1400 об/мин) и инкубируют в течение 2 ч. при температуре (20 - 25°C) в темноте. Затем планшеты анализируют с помощью платформы для считывания Envision. Результаты рассчитывают следующим образом: подсчитывают соотношение значения испытуемого соединения и значения отрицательного контроля (ДМСО). Значения IC₅₀ вычисляются из этих значений в приложении MEGASTAR IC₅₀ с использованием 4-параметрической логистической модели.

Этот анализ зависимости доза-ответ соединения клеточного фосфо-EGFR (pEGFR) количественно определяет фосфорилирование EGFR по Tyr1068 в клетках НЕК, экспрессирующих EGFR WT. Результаты анализа представлены в виде значений IC₅₀. Чем выше значения IC₅₀ pEGFR для данного соединения, тем выше щадящая активность EGFR WT. Данные представлены в таблицах 9 и 11.

Анализ pHER2 (ERBB2) YVMA

Этот анализ количественно определяет фосфорилирование HER2 YVMA по Tyr1221/1222 и его используют для измерения ингибирующего действия соединений на трансгенный белок HER2 YVMA, экспрессируемый в клетках НЕК, с использованием системы экспрессии, индуцируемой доксициклином.

Клетки НЕК человека выращивают в минимальной основной среде Eagle, MEM Eagle EBSS, без L-глутамина, с заменимыми аминокислотами и пируватом

натрия (EMEM Lonza BE12-662F) + 5 мл GlutaMax (Gibco 35050-038; L-аланил-L- глутамин) + 5 мл пирувата натрия (Gibco; 100 мМ) + 10 % ФБС при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂ и трансдуцируют ретровирусным вектором, кодирующим HER2 YVMA. Трансдуцированные клетки отбирают с использованием пуромицина. р-ERBB2 Tyr1221/1222 определяют с использованием анализа AlphaScreen Surefire ErbB2 (Tyr1221/1222) (PerkinElmer, TGREB2S). Для анализа клетки НЕК HER2 YVMA высевают в среду MEM с 10 % ФБС. За 4 часа до добавления соединения экспрессию HER2 YVMA индуцируют с использованием 1 мкг/мл доксицилина. В каждую лунку планшета Greiner TC 384 добавляют 60 нл разведений соединения с использованием платформы Echo. Затем добавляют 60 000 клеток/лунку в 60 мкл. Клетки инкубируют с соединением в течение 4 ч. при 37 °С. После центрифугирования и удаления супернатанта среды добавляют 20 мкл 1,6-кратного лизирующего буфера из набора TGR/Perkin Elmer с ингибиторами протеазы. Смесь инкубируют при температуре 20 - 25°С при встряхивании (700 об/мин) в течение 20 мин. После центрифугирования 4 мкл лизата переносят на планшеты Proxiplates. В каждую лунку добавляют 5 мкл акцепторной смеси (активирующий буфер, разбавленный 1:25 в комбинированном реакционном буфере 1 и реакционном буфере 2 (набор для анализа TGRERS, PerkinElmer) плюс 1:50 акцепторных шариков 6760137 с белком А, Perkin Elmer. Планшеты встряхивают в течение 1 мин. (1400 об/мин) и инкубируют в течение 2 ч. при температуре (20 - 25°С) в темноте. В каждую лунку добавляют 3 мкл донорской смеси (покрытые стрептавидином шарики донора AlphaScreen (6760002, PerkinElmer), разведенные в соотношении 1:50 в буфере для разведения (набор для анализа TGRERS, PerkinElmer)). Планшеты встряхивают в течение 1 мин. (1400 об/мин) и инкубируют в течение 2 ч. при температуре (20 - 25°С) в темноте. Затем планшеты анализируют с помощью платформы для считывания Envision. Результаты рассчитывают следующим образом: подсчитывают соотношение значения испытуемого соединения и значения отрицательного контроля (ДМСО). Значения IC₅₀ вычисляются из этих значений в приложении MEGASTAR IC₅₀ с использованием 4-параметрической логистической модели.

Этот анализ доза-ответ соединения клеточного фосфо-HER2 YVMA (pHER2 YVMA) количественно определяет фосфорилирование HER2 YVMA по Tyr1221/1222 в клетках НЕК, экспрессирующих HER2 YVMA. Результаты

анализа представлены в виде значений IC_{50} . Чем ниже зарегистрированные значения IC_{50} HER2 YVMA для данного соединения, тем сильнее ингибирующее действие соединения на активность киназы HER2 YVMA. Данные представлены в таблицах 9 и 11.

5 Создание модели линии опухолевых клеток HER2 YVMA и анализы пролиферации

Зависимые от HER2 WT клетки NCI-H2170 были заказаны в (ATCC, CRL-5928) и выращены в RPMI-1640 (Gibco # A10491) ATCC-состав + 10 % FCS при 37 °C в атмосфере с 5 % CO_2 . Направленная на гомологию инженерия генома используется для вставки последовательности из 12 нуклеотидов, кодирующей YVMA, в экзон 20 геномного локуса HER2 в клетках NCI-H2170. Это приводит к замене HER2 WT на вариант HER2 YVMA, представляющий HER2 p.A775_G776insYVMA. Матрица ДНК, содержащая вариант вставки YVMA экзона 20 HER2, была получена от GenScript. ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру используют для подтверждения наличия 12-нуклеотидной вставки в экзоне 20 HER2, приводящей к дупликации аминокислоты YVMA.

Для анализа пролиферации используют NCI-H2170 (HER2 дикого типа), NCI-H2170 HER2 YVMA и EGFR WT-зависимые клетки A431. Клетки NCI-H2170 HER2 YVMA или NCI-H2170 высевает в 96-луночные планшеты по 750 клеток/60 мкл среды для выращивания (RPMI ATCC+ 10% FCS, + пенициллин/стрептомицин). Клетки A431 (ATCC CRL-1555) (DMEM (Sigma #D6429) + 5 мл пирувата натрия Gibco 11360-039) высевает при плотности 5000 клеток на лунку (200 мкл) в 96-луночный планшет. Соединения добавляют с помощью цифрового диспенсера HP D3000 через день после посева клеток. Все процедуры осуществляют в трехкратной технической повторности. Обработанные клетки инкубируют в течение 72 ч. при 37 °C с 5 % атмосферой CO_2 . Проводят люминесцентный анализ жизнеспособности клеток CellTiter-Glo® (Promega) и измеряют хемолюминесценцию с помощью планшетного ридера VICTOR X4 с несколькими метками. Необработанные данные импортируются и анализируются с помощью фирменного программного обеспечения MegaLab компании Boehringer Ingelheim (подбор кривой на основе программы PRISM, GraphPad Inc.). Данные приведены в таблицах 10 и 12.

Таблица 9. Анализ биомаркеров

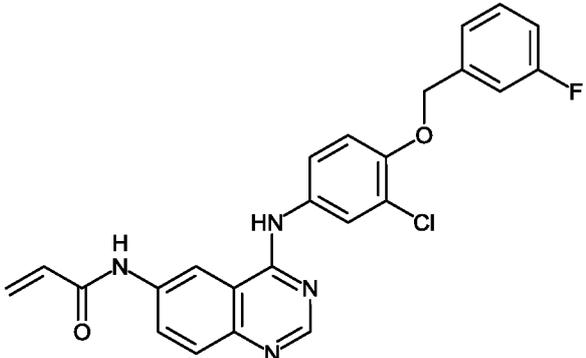
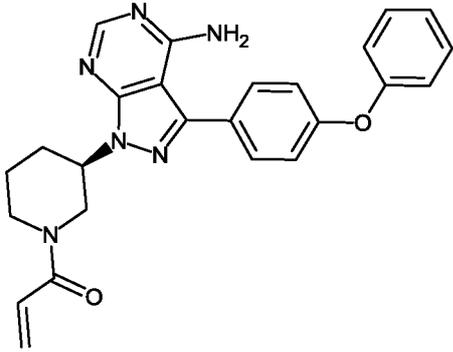
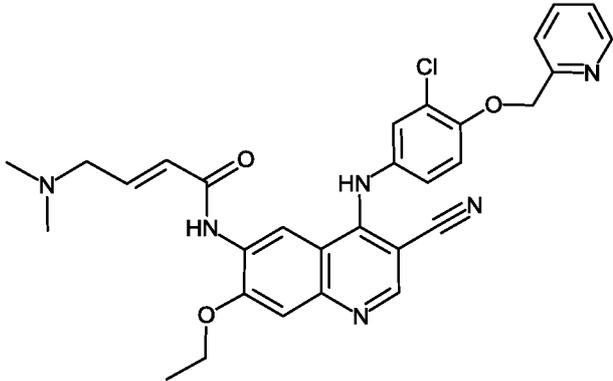
Название	IC50 HEK pHER2 YVMA [нМ]	IC50 HEK pEGFR [нМ]
I-01	13	579
I-02	34	628
I-03	20	916
I-04	26	495
I-05	10	315
I-06	44	773
I-07	20	1170
I-08	58	336
I-09	26	715
I-10	24	217
I-11	22	521
I-12	16	230
I-13	28	429
I-14	11	73
I-15	12	86
I-16	5	23
I-17	2	94
I-18	4	137
I-19	8	41

Таблица 10. Анализы пролиферации

Название	GI50 NCI H- 2170 HER2 мас. амп. [нМ]	GI50 NCI H-2170 HER2 YVMA [нМ]	GI50 A431 EGFR мас. амп. [нМ]	GI50 BAF3 HER2 WT [нМ]	GI50 BAF3 HER2 YVMA [нМ]	GI50 BAF3 EGF dep. [нМ]
I-01	6	33	>5000	1	16	1540
I-02	13	228	> 5000	1	37	3010
I-03	11	139	> 5000	2	38	> 5000
I-04	12	99	> 5000	3	32	> 5000
I-05	8	55	> 5000	1	21	1880
I-06	12	215	> 5000	1	31	> 5000
I-07	17	73	> 5000	3	42	1500
I-08	8	44	1500	2	36	2300
I-09	9	75	>5000	1	29	2240
I-10	12	126	1460	3	35	1650
I-11	8	172	1250	2	28	>2000
I-12	8	71	> 5000	2	18	1750
I-13	19	82	> 5000	1	32	>2000
I-14	10	37	>2000	2	17	756
I-15	13	44	948	2	18	425
I-16	4	19	660	1	10	375

Название	GI50 NCI H- 2170 HER2 мас. амп. [нМ]	GI50 NCI H-2170 HER2 YVMA [нМ]	GI50 A431 EGFR мас. амп. [нМ]	GI50 BAF3 HER2 WT [нМ]	GI50 BAF3 HER2 YVMA [нМ]	GI50 BAF3 EGF dep. [нМ]
I-17	9	39	>2000	2	14	1100
I-18	10	87	>2000		29	3270
I-19	8	34	752	2	11	206

Таблица 11. Анализ биомаркеров

Название	Структура	IC50 HEK pHER2 YVMA [нМ]	IC50 HEK pEGFR [нМ]
Аллитиниб		3	1
Ибрутиниб		26	21
Нератиниб		1	4

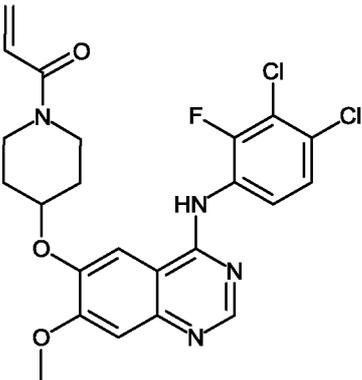
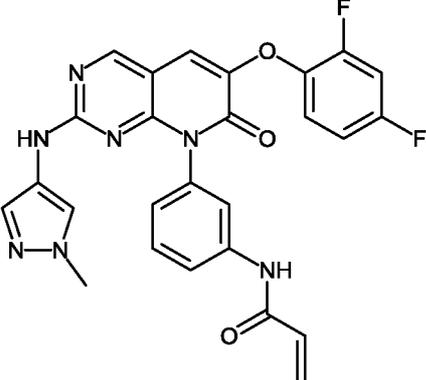
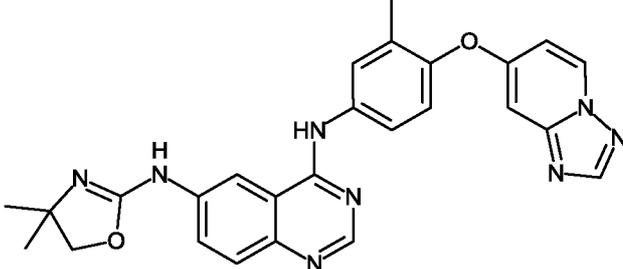
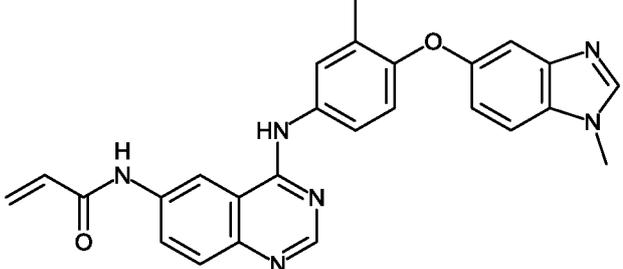
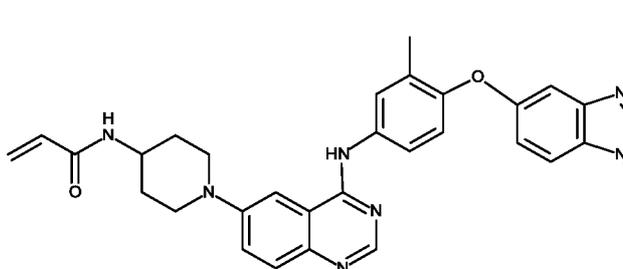
Позиотиниб		5	1
WO 2019/046775 сравн. 2		11	7
Тукатиниб		4	1410
WO 2007/059257 Пр. 185		33	317
Сравнительный пример А		64	

Таблица 12. Анализ пролиферации опухолевых клеток

Название	GI50 NCI H- 2170 HER2 мас. амп. [нМ]	GI50 NCI H- 2170 HER2 YVMA [нМ]	GI50 A431 EGFR мас. амп. [нМ]	GI50 BAF3 HER2 WT [нМ]	GI50 BAF3 HER2 YVMA [нМ]	GI50 BAF3 EGF деп. [нМ]
Аллитиниб	36	203	403		17	31
Ибрутиниб	16	132	199		44	70
Нератиниб	3	37	55	1	5	14
Позиотиниб	1	5	1	1	2	1
WO 2019/046775 Соед. 2	22	34	16	3	14	13
тукатиниб	58	798	4220	10	338	2970
WO 2007/059257 Пр.185	108	926	>5000		60	1190
Сравнительный пример А	39	247			82	

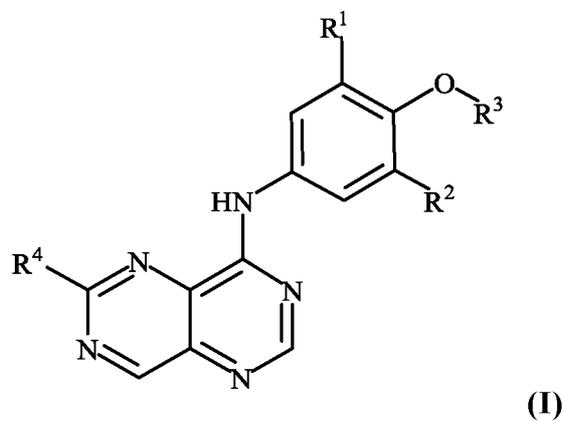
Пример фармацевтического состава

Ингредиент	Количество
Активное вещество	100 мг
Лактоза	140 мг
Кукурузный крахмал	240 мг
Поливинилпирролидон	15 мг
Стеарат магния	5 мг

- 5 Активное вещество измельчают и смешивают с лактозой и небольшим количеством кукурузного крахмала. Смесь просеивают, затем подвергают влажной грануляции с раствором поливинилпирролидона. Гранулы, оставшийся кукурузный крахмал и стеарат магния смешивают вместе. Смесь прессуют для получения таблеток подходящей формы и размера.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I) или его соль,



в которой

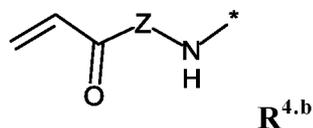
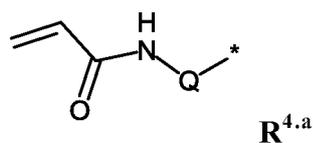
R^1 выбирают из группы, включающей в себя водород, $-CH_3$, $-CCH_3$, $-OCH_3$ и галоген;

10 R^2 представляет собой водород или галоген;

R^3 выбирают из группы, включающей в себя формулы (i.1), (i.2), (i.3) и (i.4);

<p>(i.1)</p>	<p>(i.2)</p>
<p>(i.3)</p>	<p>(i.4)</p>

R^4 выбирают из группы, включающей в себя $R^{4.a}$ и $R^{4.b}$



5

в которой

Q означает 4 - 6-членный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом;

10

Z означает 4 - 6-членный гетероцикл, содержащий 1 N-атом, где один атом углерода кольца необязательно замещен метилом;

R^5 представляет собой -H или -CH₃;

и по меньшей мере один из R^1 и R^2 не является водородом.

2. Соединение по п. 1 или его соль, где

15

R^1 выбирают из группы, включающей в себя -CH₃, -CCH, -OCH₃ и галоген.

3. Соединение по п. 1 или его соль, где

R^1 представляет собой -CH₃.

20

4. Соединение по п. 1 или его соль, где

R^1 представляет собой -CCH.

5. Соединение по п. 1 или его соль, где

R^1 представляет собой -OCH₃.

25

6. Соединение по п. 1 или его соль, где

R^1 представляет собой хлор.

7. Соединение по п. 1 или его соль, где

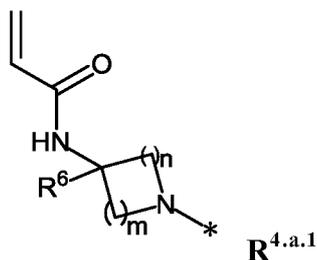
30

R^1 представляет собой фтор.

8. Соединение по одному или нескольким пп. 1 - 7 или его соль, где R^2 представляет собой водород.

5 9. Соединение по одному или нескольким пп. 1 - 7 или его соль, где R^2 представляет собой хлор.

10. Соединение по одному или нескольким пп. 1 - 9 или его соль, где R^4 выбирают из группы, включающей в себя $R^{4.a}$ и $R^{4.b}$, где $R^{4.a}$ представляет собой $R^{4.a.1}$



10

в которой

R^6 представляет собой -H или -CH₃,

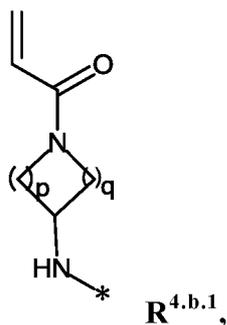
n представляет собой 1 или 2;

m представляет собой 1 или 2;

15

и

$R^{4.b}$ представляет собой $R^{4.b.1}$



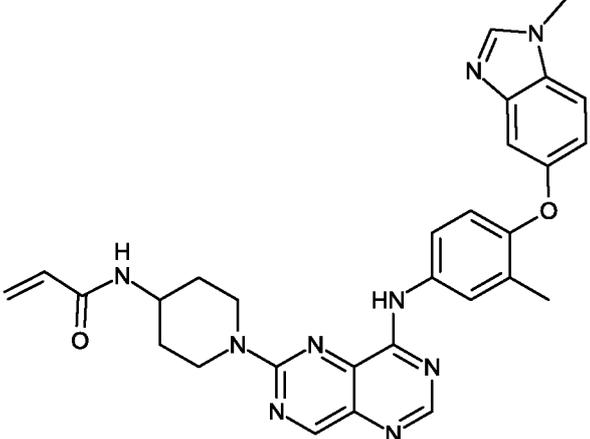
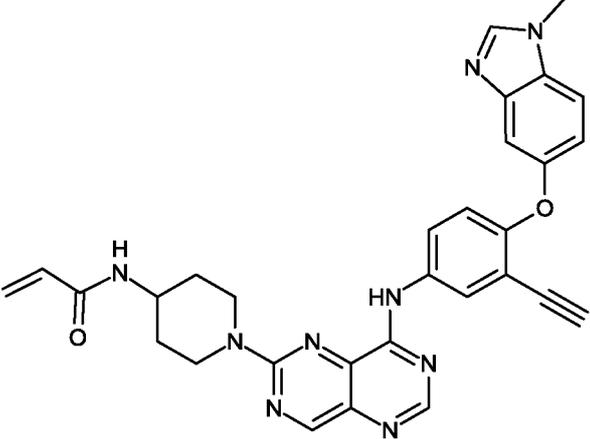
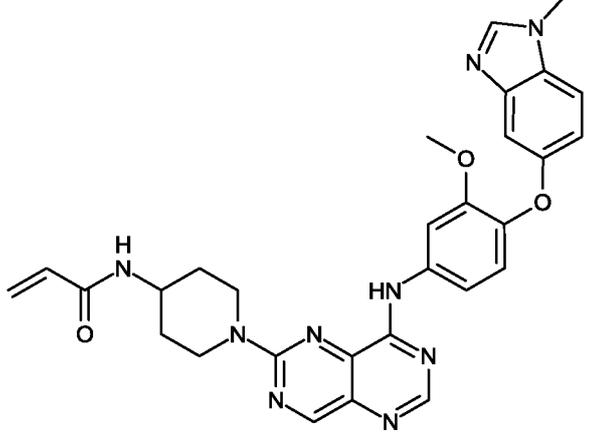
20

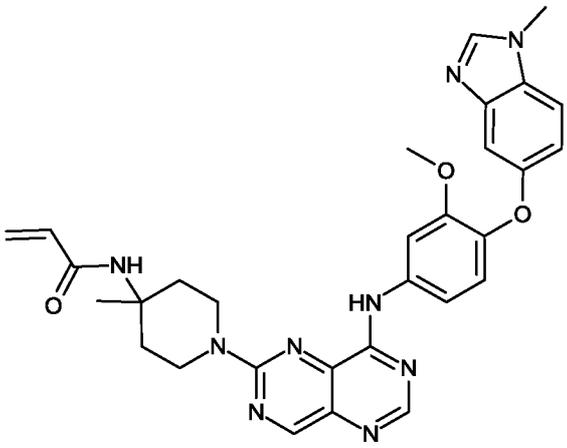
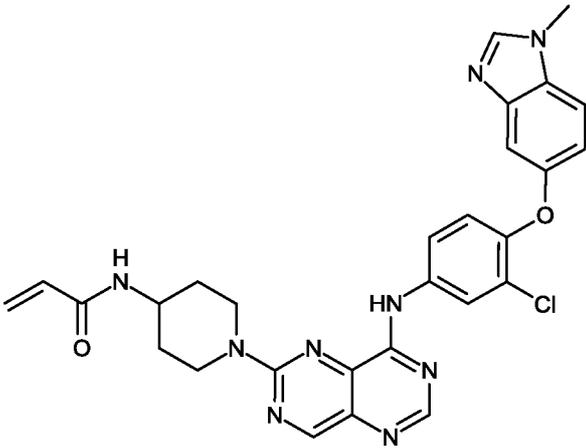
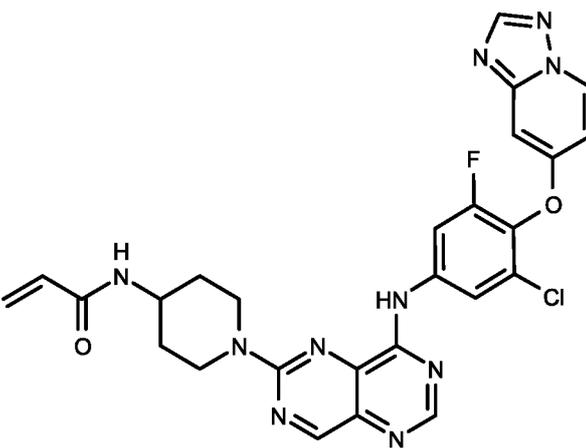
в которой

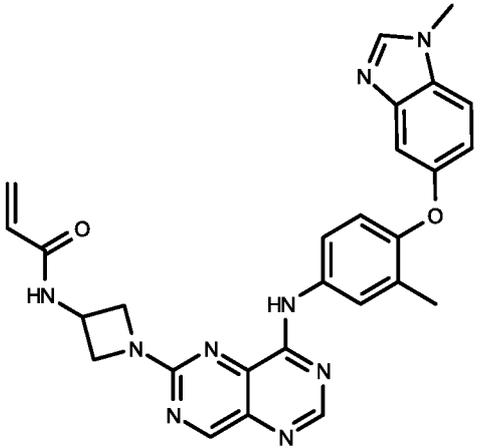
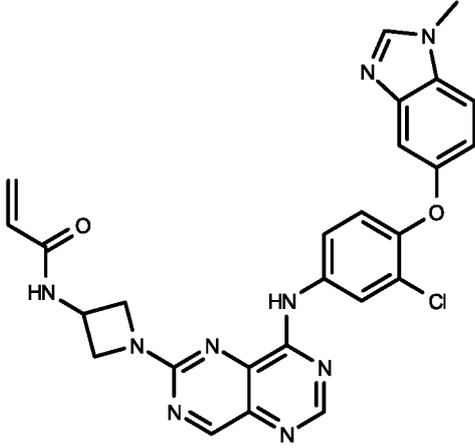
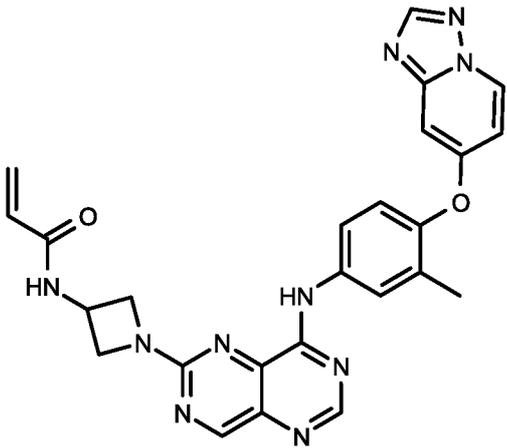
p представляет собой 1 или 2;

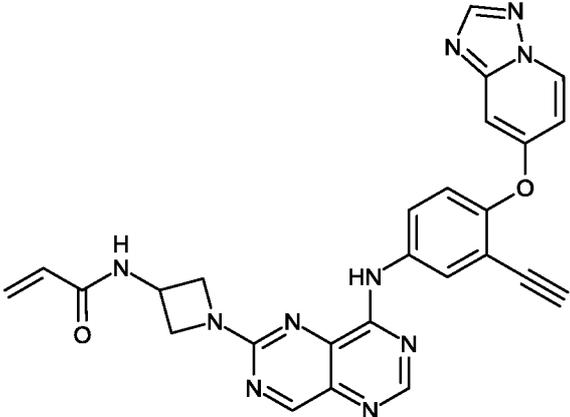
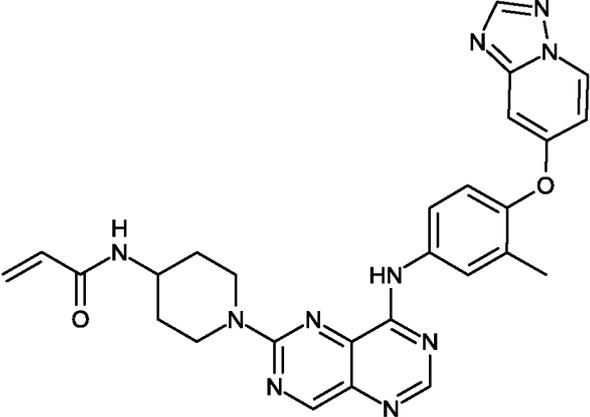
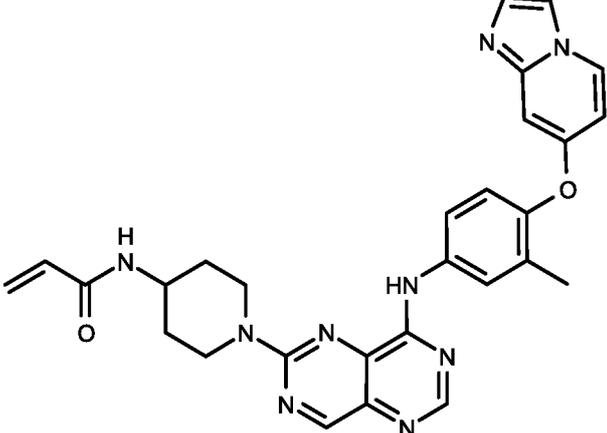
q представляет собой 1 или 2.

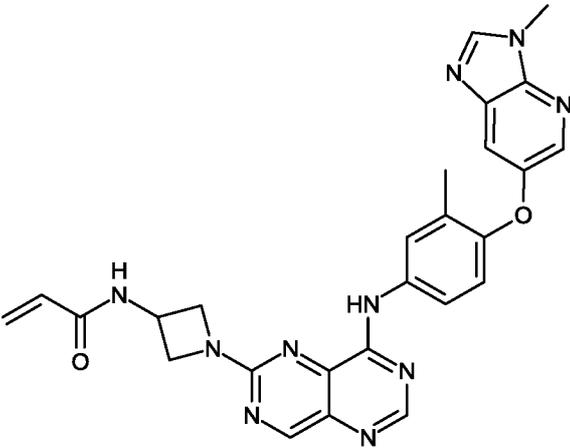
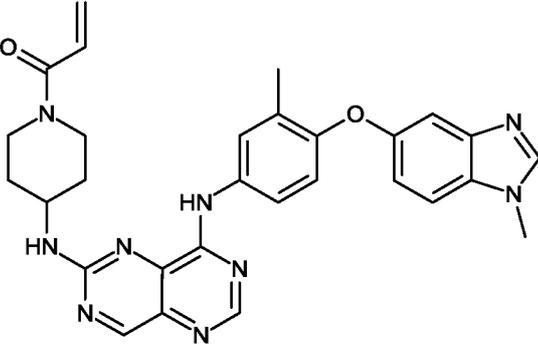
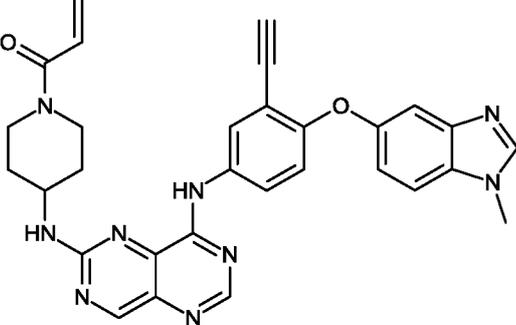
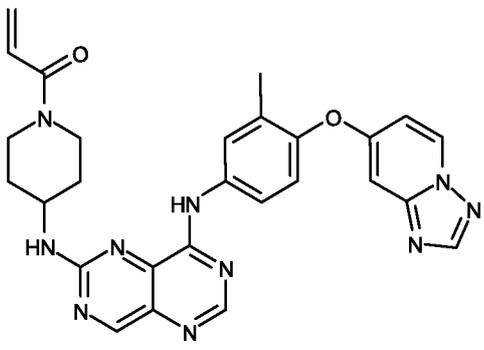
11. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранное из группы, включающей в себя примеры I-01 - I-19;

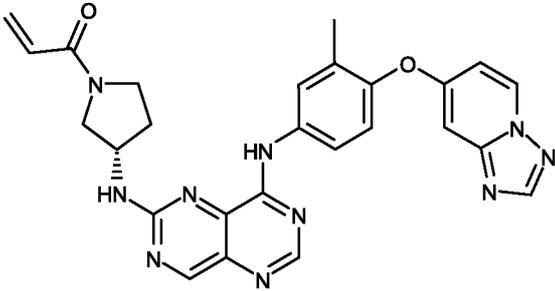
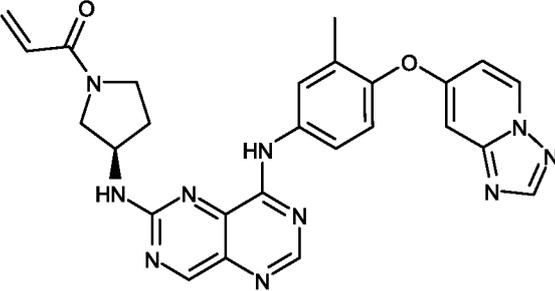
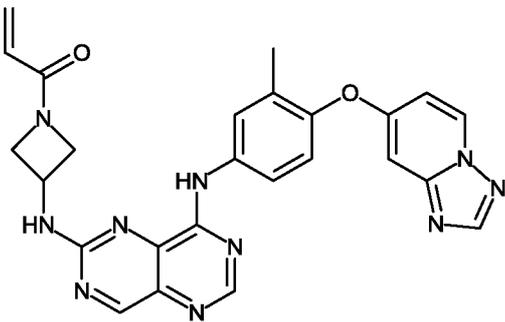
Пример	Структура
I-01	
I-02	
I-03	

Пример	Структура
I-04	 <chem>CN1C=CN2C=NC3=C2N(C1)N(C)C3C(=O)NCC=C</chem>
I-05	 <chem>CN1C=CN2C=NC3=C2N(C1)N(C)C3C(=O)NCC=C</chem>
I-06	 <chem>CN1C=CN2C=NC3=C2N(C1)N(C)C3C(=O)NCC=C</chem>

Пример	Структура
I-07	 <chem>C=CC(=O)N[C@@H]1CCN1c2nc3nc(Nc4ccc(OC5=CN(C)C=C5)c(C)c4)cnc3n2</chem>
I-08	 <chem>C=CC(=O)N[C@@H]1CCN1c2nc3nc(Nc4ccc(OC5=CN(C)C=C5)c(Cl)c4)cnc3n2</chem>
I-09	 <chem>C=CC(=O)N[C@@H]1CCN1c2nc3nc(Nc4ccc(Oc5ccc6c(n5)cn6)c(C)c4)cnc3n2</chem>

Пример	Структура
I-10	
I-11	
I-12	

Пример	Структура
I-13	
I-14	
I-15	
I-16	

Пример	Структура
I-17	
I-18	
I-19	

12. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения формулы (I) по одному из пп. 1 - 11 или его фармацевтически приемлемой соли и одно или большее количество фармацевтически приемлемых веществ.

13. Соединение по одному или нескольким пп. 1 - 11 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в качестве лекарственного средства.

10

14. Применение соединения по одному или нескольким пп. 1 - 11 для лечения пациента, страдающего от рака головного мозга, рака молочной железы,

рака желчевыводящих путей, рака мочевого пузыря, рака шейки матки, колоректального рака, рака эндометрия, рака кожи, опухоли пищевода, опухоли головы и шеи, рака желудочно-кишечного тракта, опухоли желчного пузыря, рака почки, рака печени, рака легких или рака предстательной железы.

5

15. Фармацевтическая композиция, содержащая дополнительно к соединению формулы (I) фармацевтически активное соединение, выбранное из группы, включающей в себя цитостатическое и цитотоксическое активное вещество.

10