

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 043825

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2023.06.27

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

(21) Номер заявки  
201992137

(22) Дата подачи заявки  
2018.03.12

(54) ПИРИМИДОПИРИМИДИНОНЫ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ КИНАЗЫ WEE-1, ИХ ПРИМЕНЕНИЕ, ИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) 1703881.1

(56) WO-A1-2015092431

(32) 2017.03.10

(33) GB

(43) 2020.02.05

(86) PCT/GB2018/050620

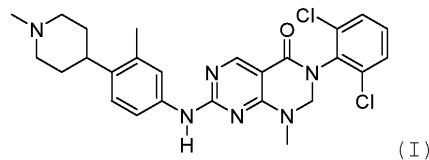
(87) WO 2018/162932 2018.09.13

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ОЛМАК ДИСКАВЕРИ ЛИМИТЕД  
(GB)

(72) Изобретатель:  
Хьюитт Питер, Буркамп Франк,  
Уилкинсон Эндрю, Миэль Юг, О'Доуд  
Колин (GB)

(74) Представитель:  
Нилова М.И. (RU)

(57) Данное изобретение относится к соединению формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, или N-оксидному производному, которое применяют в качестве ингибитора активности Wee-1 киназы. Данное изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим это соединение, и к способам применения этого соединения в лечении рака, и способам лечения рака.



043825

B1

043825

B1

Настоящее изобретение относится к соединению, которое применяют в качестве ингибитора активности Wee-1 киназы. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим это соединение, и к способам применения этого соединения в лечении рака, и способам лечения рака.

#### Уровень техники

Клетки непрерывно ежедневно подвергаются воздействию, в результате чего в ДНК образуются множественные повреждения. Повреждения, если они не устранены, могут привести к мутациям или гибели клеток, поэтому существуют сложные сигнальные сети, которые гарантируют, что поражения обнаруживаются и восстанавливаются для поддержания целостности ДНК.

Обнаружение повреждения ДНК инициирует ряд событий, которые являются ключевыми в поддержании целостности генома. Контрольные точки клеточного цикла предназначены для остановки клеточного цикла и восстановления повреждения, прежде чем клетка может перейти в митоз.

Были идентифицированы две контрольные точки, одна на конце фазы G1 и вторая на G2, работающие в тандеме для гарантии того, что все повреждения идентифицированы и восстановлены. В около 50% случаев рака человека, контрольная точка G1 является не функциональной из-за мутаций в геном-супрессоре TP53. Однако контрольная точка G2 редко мутирует и часто активируется в раковых клетках. Раковые клетки используют это для придания устойчивости к методам лечения, включая повреждающие ДНК агенты и радиацию.

Три киназы были идентифицированы как ключевые регуляторы контрольной точки G2, а именно, Chk1, Chk2 и Wee-1. Ингибиторы для этих киназ в настоящее время оцениваются в клинических испытаниях.

Wee-1 является ядерной тирозинкиназой, которая отрицательно регулирует вход в митоз на контрольной точке G2/M через катализ фосфорилирования киназного комплекса cdc2/циклин В.

Фосфорилирование происходит на остатке тирозин-15 и приводит к инактивации комплекса cdc2/циклин В, в конечном счете предотвращая митоз. Функция Wee-1 тесно связана с функцией Chk1 и Chk2 благодаря тому, что они фосфорилируют и инактивируют cdc25 на серин-216, так же, как и описанная активация Wee-1 посредством Chk 1&2 (Ashwell, 2012, DNA Repair in Cancer Therapy, DOI: 10.1016/B978-0-12-384999-1.10010-1).

Wee-1 находится ниже от семейства Chk и является критическим компонентом сигнального каскада контрольных точек, поскольку она предотвращает вступление клеток в митоз в случае обнаружения повреждений (Do et al., Cell Cycle 2013 12 (19) 3159-3164).

Обычно применяемые противораковые соединения вызывают повреждение ДНК, включая антимаболиты, платиновые агенты, ингибиторы топоизомеразы и алкилирующие агенты. Однако их эффективность ограничена из-за чрезмерной токсичности, устойчивости и недостаточной селективности опухоли. Соединения, которые работают в сочетании с этими агентами для селективного предотвращения восстановления ДНК в опухолевых клетках, были бы чрезвычайно полезными. Так как геном-супрессор TP53 обычно мутирован в колониях опухолевых клеток, введение ингибитора Wee-1 киназы, нейтрализующее контрольную точку G2, может привести к повышенной чувствительности к агентам, повреждающим ДНК. Потенциал этого описан, так как выключение активности Wee-1 было достаточным для сенсбилизации клеток HeLa к доксорубину из-за отмены остановки G2. Напротив, в нормальной эпителии молочной железы из-за полностью компетентного белка p53, удаление функции Wee-1 имело незначительный дополнительный эффект по сравнению с только доксорубином (Wang et al., 2004, Cancer Biology and Therapy, 3 (3), 305-313).

Сообщалось, что колонии клеток, несущие мутации в гене-супрессоре опухоли TP53, обладают повышенной чувствительностью к агентам, повреждающим ДНК, при совместном введении с низкомолекулярными ингибиторами Wee-1. Сообщалось о синергетической эффективности *in vitro* и *in vivo*, при объединении низкомолекулярных ингибиторов с гемцитабином, 5-фторурацилом, карбоплатином, цисплатином (Hirai et al. 2010, Cancer Biology & Therapy 9:7, 514-522), цитарабином (Tibes et al., 2012, Blood, 119 (12), 2863-2872), ингибиторами Chk-1 (Carrasa et al., 2012 Cell Cycle 1:11 (13):2507-2517, Russell et al., 2013 Cancer Res. 15; 73 (2) 776-784) и ингибиторами Src (Cozzi et al., 2012, Cell Cycle 11 (5), 1029-1039). Апоптотное действие отдельного агента, независимо от статуса TP53, было описано в колониях клеток саркомы и в полученных у пациента образцах саркомы (Kreahling et al., 2012, Mol. Cancer Ther., 11 (1), 174-182) и эффективность демонстрировали в панели колоний раковых клеток *in vivo* (Guertin et al., 2013 Mol. Cancer Ther., 12 (8) 1442-1452).

Известно, что облучение повреждения ДНК посредством индукции увеличивает фосфорилирование Tyr15 и Thr14 остатков cdc2, что задерживает клетки в G2 и дает время для восстановления ДНК, что приводит к радиостойкому фенотипу. Ингибирование активности Wee-1 низкомолекулярными ингибиторами (Wang et al., 2004, Cancer Biology and Therapy 3(3), 305-313), (Caretti et al., 2013 Mol. Cancer Ther. 12 (2) 141-150) приводит к снижению отмены фосфорилирования CDC2 контрольной точки G2 и радиосенсибилизации, с более ярко выраженным эффектом в колониях мутантных клеток p53.

Было описано в меланоме, что сверхэкспрессия Wee-1 коррелирует с плохим клиническим результатом (Magnussen et al., 2012 PLoS One 7; (6) e38254), указывая на то, что это может играть важную роль

в качестве биомаркера и в качестве целевой терапии.

Соединения, обладающие ингибирующим действием на киназу, например, Wee-1 киназу, описаны в WO 2007/126122, US 2010/0063024, EP 2,213,673, WO 2008/133866, US 2007/0254892, WO 2012/161812, WO 2013/126656, US 2013/0102590, WO 2013/059485 и WO 2013/013031.

В WO 2010/067886, WO 2010/067888, US 2011/0135601, EP 2,168,966, WO 2005/090344, US 2009/0048277 и Bioorg. Med. Chem. Lett., 2005, 15, 1931-1935 описаны различные соединения, такие как производные дигидропиримидопиримидина, пиридопиримидинона и пиридопиримидина, обладающие ингибирующим действием на киназу. В частности, соединения из WO 2005/090344 демонстрируют активности в качестве ингибиторов протеинкиназы, в частности, ингибиторов тирозинкиназы семейства 31-1935, Src. Соединения, описанные в Bioorg. Med. Chem. Lett., 2005, 15, 19 являются 10-100-кратными по эффективности ингибиторами c-Src, по сравнению с Wee-1, и изменение заместителей на 6-фенильном кольце не приводит к значительным изменениям этого предпочтения. 5-Алкилзамещенные аналоги обычно являются селективными к Wee-1, но за счет эффективности связывания.

В WO 2013/013031 описаны пиридазино[4,5-d]пиримидин-(6H)-оновые ингибиторы Wee-1 киназы, которые используются для ингибирования киназ, таких как Wee-1, и в способах лечения заболеваний, таких как рак. Соединения из WO 2013/013031 имеют атом азота в положении 3 кольца, относительно карбонильной группы.

В US 2013/0018045 описаны различные трициклические-сульфонамидные соединения, которые применяют для ингибирования киназ, таких как Wee-1, и в способах лечения заболеваний, таких как рак. Соединения из US 2013/0018045 имеют сульфонамидную группу в положении 1 кольца и атомы в положениях 3 и 4, образующих часть конденсированного арильного или гетероарильного кольца ("А").

WO 2015/092431 относится к соединениям, которые применяют в качестве ингибиторов активности Wee-1 киназы, фармацевтическим композициям, содержащим эти соединения, и к применению этих соединений в лечении рака.

Одной из целей настоящего изобретения является преодоление, по меньшей мере, некоторых недостатков известного уровня техники или получение коммерчески полезной альтернативы.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения, обладающего усиленным или сходным ингибирующим киназу действием по сравнению с известными соединениями или композициями.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения с улучшенной активностью pCDC2 по сравнению с известными соединениями или композициями.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения с улучшенной или сопоставимой кинетической растворимостью по сравнению с известными соединениями или композициями.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения с улучшенной или сопоставимой проницаемостью по сравнению с известными соединениями или композициями.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения с улучшенной метаболической стабильностью по сравнению с известными соединениями или композициями.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения, имеющего улучшенное или сопоставимое воздействие на плазму и/или опухоль после перорального введения по сравнению с известными соединениями или композициями.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения, обладающего улучшенной или сопоставимой биодоступностью по сравнению с известными соединениями или композициями.

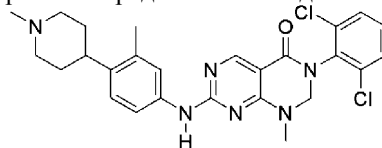
Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения, обладающего улучшенным или сопоставимым проникновением в мозг по сравнению с известными соединениями или композициями для нацеливания на опухоли и метастазы в головном мозге.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения, имеющего пониженный риск реактивных метаболитов по сравнению с известными соединениями или композициями.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение соединения, имеющего пониженный риск взаимодействия с сопутствующими препаратами, метаболизируемыми ферментами семейства CYP3A, по сравнению с известными соединениями или композициями.

### Сущность изобретения

В первом аспекте данного изобретения представлено соединение формулы (I)



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль, или N-оксидное производное.

Каждый аспект или вариант, определенный данным документом, может быть объединен с любым

другим аспектом(ми) или вариантом(ми), если явно не указано иное. В частности, любая характеристика, указанная как предпочтительная или выгодная, может быть объединена с любой другой характеристикой или характеристиками, указанными как предпочтительные или выгодные.

Во втором аспекте данное изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль или N-оксидное производное и, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый эксципиент.

В третьем аспекте данное изобретение относится к соединению формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или N-оксидному производному, или фармацевтической композиции, описанной здесь, для применения в терапии.

В четвертом аспекте данное изобретение относится к соединению формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или N-оксидному производному, или фармацевтической композиции, описанной здесь, для применения в качестве лекарственного средства.

В четвертом аспекте данное изобретение относится к соединению формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или N-оксидному производному, или фармацевтической композиции, описанной здесь, для применения в лечении или профилактике рака.

В шестом аспекте в данном изобретении представлено применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или N-оксидного производного, или фармацевтической композиции, описанной здесь, для производства лекарственного средства для лечения или профилактики рака.

В седьмом аспекте данного изобретения представлен способ лечения или профилактики рака у человека или животного, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таковом, эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или N-оксидного производного, или фармацевтической композиции, описанной здесь.

Другие предпочтительные варианты соединений в соответствии с данным изобретением встречаются по всему описанию и, в частности, в примерах.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение в соответствии с данным изобретением проявляет улучшенное или сопоставимое ингибирующее киназу действие по сравнению с известными соединениями или композициями. В частности, соединение в соответствии с данным изобретением предпочтительно проявляет улучшенное или сопоставимое действие ингибирования Wee-1 киназы по сравнению с известными соединениями или композициями.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение в соответствии с данным изобретением проявляет улучшенную или сопоставимую эффективность pCDC2 по сравнению с известными соединениями или композициями.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение в соответствии с данным изобретением проявляет улучшенную или сопоставимую кинетическую растворимость по сравнению с известными соединениями или композициями.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение в соответствии с данным изобретением обладает улучшенной или сопоставимой проницаемостью по сравнению с известными соединениями или композициями.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение в соответствии с данным изобретением проявляет улучшенную или сопоставимую метаболическую стабильность по сравнению с известными соединениями или композициями.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение в соответствии с данным изобретением проявляет улучшенное или сопоставимое воздействие после перорального введения по сравнению с известными соединениями или композициями.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение в соответствии с данным изобретением проявляет улучшенную или сопоставимую биодоступность по сравнению с известными соединениями или композициями.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что соединение, описанное в настоящем документе, может проявлять превосходные физико-химические свойства по сравнению с известными в уровне техники.

Не желая быть связанными теорией, полагают, что соединение в соответствии с данным изобретением имеет тенденцию демонстрировать полезные эффекты, обсужденные выше, благодаря своей специфической химической структуре.

#### **Подробное описание изобретения**

Если здесь не указано иное, научные и технические термины, используемые в связи с данным изобретением, должны иметь значения, которые обычно понимают специалисты в данной области техники. Значение и объем терминов должны быть ясными, однако в случае любой скрытой неоднозначности определения, представленные в данном документе, имеют преимущество над любым словарным или внешним определением.

Соединение в соответствии с данным изобретением может обладать таутомеризмом. Предполагается, что каждая таутомерная форма входит в объем изобретения.

Кроме того, соединение в соответствии с данным изобретением может быть представлено в виде

пролекарства. Пролекарства превращаются, обычно *in vivo*, из одной формы в активные формы лекарственных средств, описанных здесь. Например, пролекарство может быть получено защитой -N-H группы гидролизующей группой, которая дает -NH при гидролизе.

Кроме того, должно быть понятно, что описанные здесь элементы могут быть обычным изотопом или изотопом, отличным от обычных изотопов. Например, один или более атомов водорода могут быть  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$  (дейтерием) или  $^3\text{H}$  (тритием).

Хотя соединение по настоящему изобретению предпочтительно присутствует в виде свободного основания, либо в безводной форме, либо в форме без сольватов, оно может быть представлено также в форме его фармацевтически приемлемой соли или в виде сокристалла или в виде сольвата. Например, может быть получено соединение, содержащее протонированные аминные группы.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к ионному соединению, образующемуся в результате добавления кислоты к основанию. Термин относится к таким солям, которые считаются в данной области техники подходящими для использования при контакте с пациентом, например, *in vivo*, и фармацевтически приемлемые соли обычно выбирают по их нетоксичным, нераздражающим характеристикам.

Термин "сокристалл" относится к многокомпонентному молекулярному кристаллу, который может содержать неионные взаимодействия.

Фармацевтически приемлемые соли и сокристаллы могут быть получены ионообменной хроматографией или взаимодействием свободной основной или кислой формы соединения со стехиометрическими количествами или с избытком желаемой солеобразующей неорганической или органической кислоты или основания в одном или нескольких подходящих растворителях, или путем смешивания соединения с другим фармацевтически приемлемым соединением, способным образовывать сокристалл.

Соли, известные в данной области техники, как правило, пригодные для использования в контакте с пациентом, включают соли, полученные из неорганических и/или органических кислот, включая гидробромид, гидрохлорид, сульфат, бисульфат, нитрат, ацетат, оксалат, олеат, пальмитат, стеарат, лаурат, бензоат, лактат, фосфат, тозилат, цитрат, малеат, фумарат, сукцинат и тартрат. Они могут включать катионы на основе щелочных и щелочноземельных металлов, таких как натрий, калий, кальций и магний, а также аммоний, тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний. Предпочтительно подходящей солью является гидрохлорид или цитрат. Далее представлена ссылка на ряд литературных источников, в которых рассматриваются подходящие фармацевтически приемлемые соли, например, "Справочник фармацевтических солей", опубликованный IUPAC.

Авторы данного изобретения обнаружили, что соединение в соответствии с данным изобретением применяется для лечения медицинских состояний, связанных с нарушенным ростом клеток включая, но не ограничиваясь ими, рак, в частности (но не ограничиваясь ими) раки, связанные с инактивацией гена онкосупрессора TP53. Соединение может иметь применимость и активность в качестве единственного агента, использующего синтетические или контекстуальные отношения летальности, а также при заболеваниях, включая рак, с повышенной восприимчивостью к усилению репликативного стресса и нарушению развития клеточного цикла. Ингибиторы Wee-1 в соответствии с данным изобретением также могут применяться в комбинациях, включающих комбинации с генотоксическими агентами, лучевой терапией, целевыми агентами и иммуномодуляторами, включая, но не ограничиваясь ими, ингибиторы иммунной контрольной точки.

Например, раковые заболевания включают раки сердца, раки легких, раки желудочно-кишечного тракта, раки мочеполового тракта, раки печени, раки костей, раки нервной системы, гинекологические раки, гематологические раки, раки кожи и раки надпочечников, и раки, такие как опухоли надпочечников, желчных протоков, мочевого пузыря, крови, костей и соединительной ткани, головного мозга и центральной нервной системы, молочной железы, шейки матки, прямой и ободочной кишки (колоректальный), эндометрия, пищевода, желчного пузыря, головы и шеи, лимфому Ходжкина, гипофаренгиальный рак, рак почек, гортани, лейкоз, рак печени, легкого, лимфому, опухоли средостения, меланому (злокачественную меланому), мезотелиому, множественную миелому, рак носовой полости, носоглотки, нейроэндокринные опухоли, неходжкинскую лимфому, рак ротовой полости, пищевода, ротоглотки, яичников, поджелудочной железы, околоносовых пазух, паращитовидной железы, пениса, опухоли гипофиза, простаты, слюнных желез, саркому, рак кожи, позвоночника, желудка, яичек, щитовидной железы, уретры, матки, влагалища и вульвы.

Предпочтительно рак выбирают из рака прямой и ободочной кишки (колоректального), рака головы и шеи, рака легкого, рака пищевода, рака яичников и рака поджелудочной железы. Более предпочтительно, рак представляет собой рак прямой и ободочной кишки (колоректальный). Альтернативно, предпочтительно, рак представляет собой рак легкого, более предпочтительно немелкоклеточный рак легкого.

Соединение в соответствии с данным изобретением также применяется при пригородлении лекарственного средства, которое полезно при лечении заболеваний, описанных выше, в частности рака.

Данное изобретение также относится к способу ингибирования активности Wee-1, который включает введение млекопитающему, предпочтительно, человеку, нуждающемуся в таковом, фармацевтически эффективного количества соединения в соответствии с данным изобретением.

Соединение в соответствии с данным изобретением может вводиться млекопитающим, включая человека, либо отдельно, либо в сочетании с фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или разбавителями, в фармацевтической композиции, согласно стандартной фармацевтической практике. Соединение может вводиться перорально или парентерально, включая внутривенный, внутримышечный, внутривнутрибрюшинный, подкожный, ректальный и местный способы введения.

Объем данного изобретения также включает применение соединения в соответствии с данным изобретением в сочетании со вторым или другими лекарственными средствами в лечении рака. Вторым или другими лекарственными средствами может быть лекарственное средство, уже известное в данной области техники для лечения рака.

Данное изобретение также включает применение соединения в соответствии с данным изобретением в режиме, включающем стадию лучевой терапии. Лучевой терапией может быть обычный способ лечения облучением x-лучами,  $\gamma$ -лучами нейтронами,  $\alpha$ -частицами, протонным или электронным пучком. Совместное введение соединения в соответствии с данным изобретением может привести к потенцированию лучевой терапии, таким образом классифицируя его как радиосенсибилизатор.

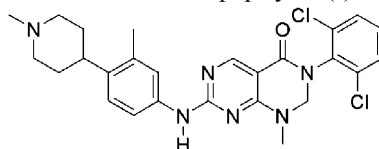
В частности, рак часто становится резистентным к терапии. Развитие резистентности может быть отсрочено или преодолено путем введения комбинации лекарственных средств, которая включает соединение в соответствии с данным изобретением, например, при раках, которые известны как резистентные к агентам, повреждающим ДНК, лучевой терапии или любой другой форме лечения агентами и способах воздействия.

Например, лекарственные средства, которые можно использовать в комбинации с соединением в соответствии с данным изобретением, могут нацеливаться на тот же или подобный биологический путь, на который нацелено соединение в соответствии с данным изобретением, или могут действовать по другому или не связанному пути.

В зависимости от лечимого заболевания, различные партнеры для комбинирования могут вводиться совместно с соединениями в соответствии с данным изобретением, например, генотоксическими агентами, целевыми агентами и иммуномодуляторами. Второй активный ингредиент может включать, но не ограничен ими: алкилирующие агенты, в том числе циклофосфамид, ифосфамид, тиотепа, мелфалан, хлорэтилнитрозомочевину и бендамустин; производные платины, включая цисплатин, оксалиплатин, карбоплатин и сатраплатин; антимитотические агенты, включая алкалоиды барвинка (винкристин, винорелбин и винбластин), таксаны (паклитаксел, доцетаксел), эпотилоны и ингибиторы митотических киназ, включая аврора- и Polo-подобные киназы; ингибиторы топоизомеразы, включая антрациклины, эпиподофиллотоксины, камптотецин и аналоги камптотецина; антиметаболиты, включая 5-фторурацил, капецитабин, цитарабин, гемцитабин, б-меркаптопурин, б-тиогуанин, флударабин, метотрексат и пеметрексед; таргетную терапию, например ингибиторы протеинкиназы, включая иматиниб, gefitinib, сорафениб, сунитиниб, эрлотиниб, дазатиниб и лапатиниб; ингибиторы протеасом, включая бортезомиб; ингибиторы гистондеацетилазы, включая вальпроат и SAHA; ингибиторы клеточного цикла и контрольных точек, включая CDK4/6, CDC7, CHK1 и CHK2; модуляторы восстановления ДНК, включая, но не ограничиваясь ими, ингибиторы PARP, DNA-PK, ATM, ATR; ангиогенные препараты, включая бевацизумаб; моноклональные антитела, включая трастузумаб, ритуксимаб, алемтузумаб, тозитумомаб, цетуксимаб, панитумомаб; конъюгаты миоклональных антител, включая Гемтузумаб озогамидин, Ибритумомаб тиуксетан; гормональные терапии, включая антиэстрогены (тамоксифен, ралоксифен, анастрозол, летрозол, эксеместан), антиандрогены (флутамид, бикалутамид), аналоги лютеинизирующего гормона или антагонисты, радионуклидные терапии пептидного рецептора, включая лутатера, иммунотерии, включая анти-PD1 или анти-PDL1, и ингибиторы IDO.

Что касается комбинированной терапии, соединение по настоящему изобретению может вводиться отдельно, последовательно, одновременно, одновременно, или может вводиться в хронологическом порядке с одним или несколькими стандартными терапевтическими средствами, такими, как любое из указанных выше.

В данном изобретении представлено соединение формулы (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль или N-оксидное производное.

Предпочтительно, представлено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль или N-оксидное производное и, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Подходящие фармацевтически приемлемые эксципиенты известны специалисту в данной области, например, жиры, вода, физиологический раствор, спирт (например, этанол), глицерин, полиолы, водный раствор глюкозы, расширитель, разрыхлитель, связующий агент, смазывающий агент, смачивающий

агент, стабилизатор, эмульгатор, диспергатор, консервант, подсластитель, краситель, кондиционирующий агент или ароматизатор, концентрирующий агент, разбавитель, буферное вещество, растворитель или солубилизирующий агент, химикат для достижения эффекта накопления, соль для изменения осмотического давления, покрывающий агент или антиоксидант, сахараиды, такие как лактоза или глюкоза; крахмал из кукурузы, пшеницы или риса; жирные кислоты, такие как стеариновая кислота; неорганические соли, такие как алюминат метасиликата магния или безводный фосфат кальция; синтетические полимеры, такие как поливинилпирролидон или полиалкиленгликоль; спирты, такие как стеариловый спирт или бензиловый спирт; производные синтетической целлюлозы, такие как метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза или гидроксипропилметилцеллюлоза; и другие обычно применяемые добавки, такие как желатин, тальк, растительное масло и аравийская камедь.

Предпочтительно, представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль или N-оксидное производное и, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Предпочтительно, представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль или N-оксидное производное, содержащая один или более фармацевтически активные агенты. Предпочтительно, в определенных вариантах, фармацевтическая композиция также содержит противораковый агент, например, в виде комбинированной терапии, как описано здесь. В таких вариантах подходящим противораковым агентом может быть один или более генотоксический агент, целевой агент и иммуномодулятор.

Предпочтительно, представлено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль или N-оксидное производное, или фармацевтическая композиция, как описано здесь, для применения в терапии.

Предпочтительно, представлено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль или N-оксидное производное, или фармацевтическая композиция, как описано здесь, для применения в качестве лекарственного средства.

Предпочтительно, представлено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль или N-оксидное производное, или фармацевтическая композиция, как описано здесь, для применения в лечении или профилактике рака. Предпочтительно, рак выбирают из рака прямой и ободочной кишки (колоректального), рака головы и шеи, рака пищевода, рака яичников и рака поджелудочной железы. Более предпочтительно, раком является рак прямой и ободочной кишки (колоректальный). Альтернативно, предпочтительно, раком является рак легких, более предпочтительно, немелкоклеточный рак легких. Предпочтительно, представлено применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или N-оксидного производного, или фармацевтической композиции, как описано здесь, для производства лекарственного средства для лечения или профилактики рака. Предпочтительно, рак выбирают из рака прямой и ободочной кишки (колоректального), рака головы и шеи, рака пищевода, рака яичников и рака поджелудочной железы. Более предпочтительно, раком является рак прямой и ободочной кишки (колоректальный). Альтернативно, предпочтительно, раком является рак легких, более предпочтительно, немелкоклеточный рак легких.

Предпочтительно, представлен способ лечения или профилактики рака у человека или животного, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таковом, эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или N-оксидного производного, или фармацевтической композиции, как описано здесь. Предпочтительно, рак выбирают из рака прямой и ободочной кишки (колоректального), рака головы и шеи, рака пищевода, рака яичников и рака поджелудочной железы. Более предпочтительно, раком является рак прямой и ободочной кишки (колоректальный). Альтернативно, предпочтительно, раком является рак легких, более предпочтительно, немелкоклеточный рак легких.

Предпочтительно, соединение в соответствии с данным изобретением имеет значение  $IC_{50}$  для Wee-1 киназы от около 0,1 нМ до около 1 нМ. Способ определения значения  $IC_{50}$  соединения для Wee-1 киназы описан в WO 2015/092431 (см. стр. 350-351).

При введении элементов настоящего описания или их предпочтительных вариантов артикли "a", "an", "the" и "указанный" предназначены для обозначения того, что имеется один или несколько элементов. Термины "содержащий", "включающий" и "имеющий" являются включающими и означают, что могут быть дополнительные элементы, отличные от перечисленных элементов.

Вышеприведенное подробное описание представлено для пояснения и иллюстрации и не предназначено для ограничения объема прилагаемой формулы изобретения. Многие изменения в предпочтительных в настоящее время вариантах, проиллюстрированных в данном документе, будут очевидны для специалиста в данной области техники и останутся в пределах объема прилагаемой формулы изобретения и ее эквивалентов.

#### Экспериментальный раздел

##### Аббревиатуры:

водн.: водный; дба: дибензилиденацетон; ДХМ: дихлорметан; ДИПЭА: диизопропилэтиламин (основание Хюнига); ДМФ: N,N-диметилформамид; ДМФ: N, N-диметилформамид диметилацеталь; dppf: 1, 1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен; EtOAc: этилацетат; ИЭР: ионизация электрораспылением; ч: час;

ЖХВД: жидкостная хроматография высокого давления; ЖХ: жидкостная хроматография; ЖХМС: жидкостная хроматография масс спектрометрия; М: молярный; m/z: отношение массы к заряду; m ХПБК: 3-хлорпенбензойная кислота; MeOH: метанол; мин: минуты; МС: масс спектрометрия; ЯМР: ядерный магнитный резонанс; R<sub>T</sub>: время удержания; КД: круглодонная; КТ: комнатная температура; ШРР: штатный режим работы; ИМ: исходный материал; ТФК: трифторуксусная кислота; ТГФ: тетрагидрофуран; ТСХ: тонкослойная хроматография.

#### Общие условия эксперимента

##### Растворители и реагенты.

Обычные органические растворители, которые применяют в реакциях (например, ТГФ, ДМФ, ДХМ, ИПС и метанол) покупают безводными у Sigma-Aldrich® в бутылках Sure/Seal™ и хранят соответствующим образом под азотом. Воду деионизируют с применением Elga PURELAB Option-Q. Все другие применяемые растворители (например, для методов обработки и очистки) обычно имеют степень чистоты для ЖХВД, и их применяют в том виде, в каком их поставляют из различных коммерческих источников. Если не указано иначе, все исходные материалы покупают у коммерческих поставщиков и применяют в том виде, в котором они куплены.

##### Флэш-хроматография.

Очистку соединений флэш-хроматографией проводят с применением системы Biotage Isolera Four. Если не указано иначе, колонки с картриджем Biotage KP-Sil SNAP (10-340 г) применяют вместе с указанной системой растворителей и подходящим градиентом растворителя, в зависимости от полярности соединения (определяемой ТСХ анализом). В случае более полярных и основных соединений применяют колонки с картриджем Biotage KP-NH SNAP (11 г).

##### ЯМР спектроскопия.

<sup>1</sup>H ЯМР спектр записывают при температуре окружающей среды с применением спектрометра Bruker Avance (500 МГц) или спектрометра Bruker Avance (400 МГц). Все химические сдвиги (δ) выражают в ч./млн. Остаточные сигналы растворителя применяют в качестве внутреннего стандарта, и характеристические пики растворителя корректируют к ссылочным данным, указанным в J. Org. Chem., 1997, 62, p7512-7515; в других случаях, ЯМР растворители содержат тетраметилсилан, который применяют в качестве внутреннего стандарта.

##### Жидкостная хроматография высокого давления.

Эксперименты жидкостной хроматографии масс спектрометрии (ЖХМС) для определения времени удержания (R<sub>T</sub>) и присоединенной массы ионов проводят с применением одного из следующих методов:

Метод А. Система состоит из одноквадрупольного масс-спектрометра Agilent Technologies 6140, связанного с системой ХЖ Agilent Technologies 1290 Infinity с УФ диодно-матричным детектором и автоматическим дозатором. Спектрометр состоит из мультимодального источника ионизации (ионизация электрораспылением и химическая ионизация при атмосферном давлении), работающего в положительном и отрицательном ионном режиме. Эксперименты ЖХМС проводят на каждом представленном образце с применением следующих условий: ЖХ колонка: Zorbax Eclipse Plus C18 RRHD 1,8 микрон 50×2,1 мм при 40°C. Подвижные фазы: А) 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты в воде; В) 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты в ацетонитриле.

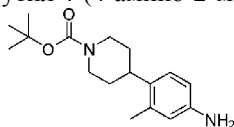
<u>Время градиента (мин)</u>	<u>Поток (мл/мин)</u>	<u>%А</u>	<u>%В</u>
0,00	1,0	95	5
1,80	1,0	0	100
2,20	1,0	0	100
2,21	1,0	95	5
2,50	1,0	95	5

Способ В. Система состоит из квадрупольного масс-спектрометра Agilent Technologies 6130, связанного с системой ХЖ Agilent Technologies 1290 Infinity с УФ диодно-матричным детектором и автоматическим дозатором. Спектрометр состоит из источника ионизации электрораспылением, работающего в положительном и отрицательном ионном режиме. Эксперименты ЖХМС проводят на каждом представленном образце с применением следующих условий: ЖХ колонка: Agilent Eclipse Plus C18 RRHD 1,8 микрон 50×2,1 мм при 40°C. Подвижные фазы: А) 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты в воде; В) 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты в ацетонитриле.

<u>Время градиента (мин)</u>	<u>Поток (мл/мин)</u>	<u>%А</u>	<u>%В</u>
0,00	1,0	80	20
1,80	1,0	0	100
2,20	1,0	0	100
2,50	1,0	80	20
3,00	1,0	80	20



Промежуточное соединение 1: трет-бутил 4-(4-амино-2-метилфенил)пиперидин-1-карбоксилат.



Стадия 1: трет-Бутил 4-(2-метил-4-нитрофенил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилат.

1-Бром-2-метил-4-нитробензол (123 г, 0,572 моль) и N-трет-бутил 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-карбоксилат (177 г, 0,571 ммоль) растворяют в 1,4-диоксане (2,5 л). Добавляют 3М раствор карбоната натрия (570 мл, 1,71 моль), смесь дегазируют и помещают в атмосферу азота. Добавляют продукт присоединения PdCl<sub>2</sub> (dppf) к дихлорметану (9,3 г, 0,011 моль), и смесь нагревают при 100°C в течение ночи. Смесь разбавляют водой и экстрагируют этилацетатом (три раза 1 л). Объединенные органические экстракты промывают насыщенным раствором соли, сушат над MgSO<sub>4</sub>, фильтруют и концентрируют в вакууме. Остаток очищают флэш-хроматографией (0-50% EtOAc/гекс) с получением 154 г (94,5%) указанного в заголовке соединения в виде желтоватых кристаллов.

Стадия 2: трет-бутил 4-(4-амино-2-метилфенил)пиперидин-1-карбоксилат.

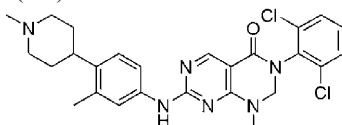
трет-Бутил 4-(2-метил-4-нитрофенил)-5,6-дигидропиридин-1(2R)-карбоксилат (130 г, 0,408 моль) растворяют в метаноле (3,5 л) с применением 5 л реакционной бутылки Парра. После дегазирования смеси добавляют Pd/C (10%) (13 г), и суспензию встряхивают под давлением водорода 55 фунтов/дюйм<sup>2</sup> в течение ночи при КТ. Смесь фильтруют через слой Celite™, и фильтрат концентрируют при пониженном давлении с получением 117 г (98,7%) указанного в заголовке соединения в виде светло-бежевого твердого вещества.

Аналитические данные соответствуют данным из примера 37, стадия 4, описанного в US 2007/0254892 A1.

### Примеры

Следующий неограничивающий пример дополнительно иллюстрирует данное изобретение.

Пример 1. 3-(2,6-дихлорфенил)-1-метил-7-((3-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)амино)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-он.



Стадия 1 : 4-хлор-N-(2,6-дихлорфенил)-2-(метилтио)пиримидин-5-карбоксамид.

К раствору 2,6-дихлоранилина (41,02 г, 253 ммоль) и пиридина (25,03 г, 316 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (400 мл) добавляют раствор 4-хлор-2-(метилтио)пиримидин-5-карбонилхлорида (56,5 г, 253 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (400 мл) по каплям при 0°C. Реакционную смесь перемешивают при КТ в течение 2 дней, растворитель выпаривают в вакууме, и оставшийся остаток промывают водой дважды, затем 10% водн. HCl и водой. Неочищенный продукт очищают перекристаллизацией из EtOH с получением 67,7 г (76,7%) указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. ЖХМС (Способ В): R<sub>T</sub>=1,53 мин, m/z=348/350 [M+H]<sup>+</sup>.

Стадия 2: N-(2,6-дихлорфенил)-4-(метиламино)-2-(метилтио)пиримидин-5-карбоксамид.

К раствору 4-хлор-N-(2,6-дихлорфенил)-2-(метилтио)пиримидин-5-карбоксамид (70 г, 201 ммоль) в ТГФ (1 л) добавляют раствор MeNH<sub>2</sub> (40% в воде, 46,74 г, 603 ммоль) при 0°C. Полученную реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение ночи, и растворитель выпаривают в вакууме. Оставшийся остаток промывают водой дважды и сушат с получением 68,35 г (99%) указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. ЖХМС (Способ А): R<sub>T</sub>=1,21 мин, m/z=343/345 [M+H]<sup>+</sup>.

Стадия 3: 3-(2,6-дихлорфенил)-1-метил-7-(метилтио)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-он.

N-(2,6-Дихлорфенил)-4-(метиламино)-2-(метилтио)пиримидин-5-карбоксамид (131 г, 382 ммоль) суспендируют в безводном ацетонитриле (1,5 л) с применением 5 л КД колбы, и добавляют карбонат цезия (203,3 г, 1190 ммоль), затем дибромэтан (132,7 г, 763 ммоль). Смесь нагревают до 80°C при перемешивании в течение 7 дней, и полученную смесь фильтруют, остаток промывают двумя порциями горячего ацетонитрила (200 мл), и объединенные фильтраты концентрируют в вакууме. Неочищенный продукт очищают кристаллизацией из MeCN с получением 59,6 г (44%) указанного в заголовке соединения в виде бледно-желтого твердого вещества.

ЖХМС (Способ А): R<sub>T</sub>=1,26 мин, m/z=355/357 [M+H]<sup>+</sup>.

Стадия 4: трет-бутил 4-(4-((6-(2,6-дихлорфенил)-8-метил-5-оксо-5, 6, 7,8-тетрагидропиримидо[4,5-d]пиримидин-2-ил)амино)-2-метилфенил)пиперидин-1-карбоксилат.

В 6-(2,6-дихлорфенил)-8-метил-2-метилсульфанил-7Н-пиримидо[4,5-d]пиримидин-5-он (10,0 г, 28 ммоль) в ДХМ (440 мл) загружают раствор 3-хлорпероксибензойной кислоты (7,63 г, 31 ммоль) в ДХМ (75 мл) при КТ, и реакционную смесь перемешивают в течение двух часов. В реакционную смесь

добавляют водн.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , и слои разделяют с применением фазового сепаратора. Органический слой концентрируют досуха и к остатку добавляют трет-бутил 4-(4-амино-2-метилфенил)пиперидин-1-карбоксилат (8,17 г, 28 ммоль) и 2-пропанол (625 мл). Реакционную смесь нагревают при  $95^\circ\text{C}$  в течение ночи. Реакционную смесь концентрируют, и остаток очищают флэш-хроматографией (Biotage 340 г KP-Sil; 10-45% EtOAc в циклогексане) с получением указанного в заголовке соединения (11,13 г, 66%) в виде белого твердого вещества.

ЖХМС (Способ А) :  $R_T$  1,86 мин,  $m/z=597/599$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

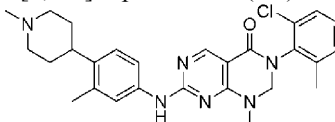
Стадия 5: гидрохлорид 3-(2,6-дихлорфенил)-1-метил-7-((3-метил-4-(пиперидин-4-ил) фенил) амино)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-она.

трет-Бутил 4-[4-[[6-(2,6-дихлорфенил)-8-метил-5-оксо-7H-пиримидо[4,5-d]пиримидин-2-ил]амино]-2-метилфенил]пиперидин-1-карбоксилат (7,0 г, 11,7 ммоль) растворяют в ДХМ (300 мл) и добавляют 4N HCl в диоксане (35 мл, 140 ммоль), и смесь перемешивают в течение ночи при КТ. Твердое вещество собирают фильтрацией через спеченную воронку и промывают ДХМ и сушат на синтере с получением указанного в заголовке соединения (6,3 г, колич. выход). ЖХМС (Способ А):  $R_T$  0,80 мин,  $m/z=497/499$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

Стадия 6: 3-(2,6-дихлорфенил)-1-метил-7-((3-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)амино)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-он.

К суспензии гидрохлорида 6-(2,6-дихлорфенил)-8-метил-2-[3-метил-4-(4-пиперидил)анилино]-7H-пиримидо[4,5-d]пиримидин-5-она (6,77 г, 12,7 ммоль) в ацетонитриле (90 мл) добавляют метанол (20 мл) и 37% водный раствор формальдегида (12,76 мл, 63,4 ммоль). Полученный раствор охлаждают до  $0^\circ\text{C}$  и добавляют триацетоксиборгидрид натрия (13,44 г, 63,4 ммоль) порциями. Реакционную смесь перемешивают при  $0^\circ\text{C}$  в течение 1 ч и затем растворитель концентрируют в вакууме. Остаток помещают в ДХМ и промывают 2M водн.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , водой и насыщенным раствором соли, после чего двухфазную смесь пропускают через фазовый разделитель, и полученную органическую фазу концентрируют с получением твердого вещества. Перекристаллизация из этилацетата дает указанное в заголовке соединение (3,83 г, 59%) в виде белого твердого вещества. ЖХМС (Способ А):  $R_T$  0,70 мин,  $m/z=511/513$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  9,75 (шс, 1H), 8,47 (с, 1H), 7,65 (д, 2H), 7,52-7,62 (м, 2H), 7,46-7,51 (м, 1H), 7,14 (д, 1H), 4,98 (с, 2H), 3,12 (с, 3H), 2,79-2,91 (м, 2H), 2,55-2,62 (м, 1H), 2,28 (с, 3H), 2,20 (с, 3H), 1,93-2,03 (м, 2H), 1,58-1,68 (м, 4H).

Сравнительный пример 1: 3-(2-хлор-6-метилфенил)-1-метил-7-((3-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)амино)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-он.



Стадия 1: 4-хлор-N-(2-хлор-6-метилфенил)-2-(метилтио)пиримидин-5-карбоксамид.

2-хлор-6-метиланилин (14 г, 62,8 ммоль) превращают по методике примера 1, стадия 1, с получением указанного в заголовке соединения (10 г; 30,5 ммоль, 48%) в виде белого твердого вещества. ЖХМС (Способ А):  $R_T=1,28$  мин,  $m/z=328/330$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

Стадия 2: N-(2-хлор-6-метилфенил)-4-(метиламино)-2-(метилтио)пиримидин-5-карбоксамид.

4-Хлор-N-(2-хлор-6-метилфенил)-2-(метилтио)пиримидин-5-карбоксамид (7 г, 21,33 ммоль) превращают по методике примера 1, стадия 2, с получением указанного в заголовке соединения (6 г; 18,59 ммоль, 87%) в виде беловатого твердого вещества. ЖХМС (Способ А) :  $R_T=1,22$  мин,  $m/z=323/325$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Аналитические данные соответствуют Примеру 92, стадия 1, описанному в WO2015/092431.

Стадия 3: 3-(2-хлор-6-метилфенил)-1-метил-7-(метилтио)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-он.

N-(2-хлор-6-метилфенил)-4-(метиламино)-2-(метилтио)пиримидин-5-карбоксамид (6 г, 18,59 ммоль) превращают по методике примера 1, стадия 2, с получением указанного в заголовке соединения (2,9 г; 8,66 ммоль, 47%) в виде беловатого твердого вещества. ЖХМС (Способ А):  $R_T=1,25$  мин,  $m/z=335/337$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Аналитические данные соответствуют Примеру 92, стадия 2, описанному в WO 2015/092431.

Стадия 4: трет-бутил 4-(4-((6-(2-хлор-6-метилфенил)-8-метил-5-оксо-5,6,7,8-тетрагидропиримидо[4,5-d]пиримидин-2-ил)амино)-2-метилфенил)пиперидин-1-карбоксилат.

3-(2-хлор-6-метилфенил)-1-метил-7-(метилтио)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-он (150 мг, 0,45 ммоль) растворяют в ДХМ (6 мл) и добавляют m ХПБК (121 мг, 0,49 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин при КТ. Реакционную смесь разбавляют ДХМ до 10 мл и промывают водн. раствором тиосульфата. Органический слой отделяют, сушат (безв.  $\text{MgSO}_4$ ), и растворитель выпаривают при пониженном давлении. Остаток суспендируют в 2-пропанол (6 мл) и добавляют трет-бутил 4-(4-амино-2-метилфенил)пиперидин-1-карбоксилат (130 мг, 0,45 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при  $90^\circ\text{C}$  в течение ночи. Летучие вещества выпаривают, и продукт очищают флэш-хроматографией (20-80% EtOAc в циклогексане) с получением указанного в заголовке соединения в виде

прозрачного масла (206 мг, 80%). ЖХМС (Способ В):  $R_T=1,80$  мин,  $m/z=577$   $[M+H]^+$ .

Стадия 5: гидрохлорид 3-(2-хлор-6-метилфенил)-1-метил-7-((3-метил-4-(пиперидин-4-ил) фенил)амино)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-она.

трет-Бутил 4-[4-[[6-(2-хлор-6-метилфенил)-8-метил-5-оксо-7H-пиримидо[4,5-d]пиримидин-2-ил]амино]-2-метилфенил]пиперидин-1-карбоксилат (206 мг, 0,36 ммоль) растворяют в ДХМ (4 мл) и добавляют ТФК (2 мл). Реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин при КТ. Летучие вещества выпаривают при пониженном давлении, и остаток растворяют в ДХМ (2 мл) и загружают в картридж SCX-2 (5 г; колонку элюируют ДХМ перед применением). Картридж промывают 20% MeOH в ДХМ, и желаемое соединение элюируют с 20% 7N  $NH_3$ MeOH в ДХМ. Продукт, содержащий фракции, выпаривают при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (138 мг, 81%). ЖХМС (Способ А):  $R_T=0,80$  мин,  $m/z=477$   $[M+H]^+$ .

Стадия 6: 3-(2-хлор-6-метилфенил)-1-метил-7-((3-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)амино)-2,3-дигидропиримидо[4,5-d]пиримидин-4(1H)-он.

6-(2-хлор-6-метилфенил)-8-метил-2-[3-метил-4-(4-пиперидил)анилино]-7H-пиримидо[4,5-d]пиримидин-5-он (70 мг, 0,15 ммоль) растворяют в смеси MeCN (3 мл)/MeOH (1 мл) и добавляют 37% водный раствор формальдегида (0,11 мл, 1,47 ммоль), затем триацетоксиборгидрид натрия (311 мг, 1,47 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при КТ в течение ночи. Летучие соединения выпаривают при пониженном давлении, и остаток растворяют в ДХМ/1M NaOH (5 мл/5 мл). Органический слой отделяют, и водную фазу экстрагируют ДХМ (2×5 мл). Органические экстракты объединяют, сушат (безв.  $K_2CO_3$ ) и выпаривают при пониженном давлении. Продукт лиофилизируют (MeOH/MeCN/вода) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (58 мг, 80%). ЖХМС (Способ В):  $R_T=0,79$  мин,  $m/z=491$   $[M+H]^+$ .  $^1H$  ЯМР (500 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  9,70 (с, 1H), 8,45 (с, 1H), 7,63-7,52 (м, 2H), 7,48-7,41 (м, 1H), 7,38-7,28 (м, 2H), 7,13 (д, 1H), 4,98-4,86 (м, 2H), 3,11 (с, 3H), 2,87 (д, 2H), 2,62-2,53 (м, 1H), 2,27 (с, 3H), 2,26 (с, 3H), 2,19 (с, 3H), 2,03-1,92 (м, 2H), 1,70-1,56 (м, 4H).

Сравнение соединения в соответствии с данным изобретением с соединениями известного уровня техники и другими соединениями

Соединение, описанное в примере 1, тестируют на ингибирующее действие на Wee-1 киназу (значение Wee-1  $IC_{50}$ ), эффективность Wee-1 в клетках (значение  $pCDC2$ ), кинетическую растворимость, проницаемость в клетках caco-2 (значение Caco-2  $P_{app}$ ), клиренс плазмы *in vivo* (значение CL value) и период полувыведения (значение  $T_{1/2}$ ) у крыс после внутривенного введения, воздействие на плазму у крыс после перорального введения (значение ППК), пероральную биодоступность у крыс (значение F%), отношение концентрации мозг-плазма у здоровых мышей, отношение концентрации опухоль:плазма у мышей с опухолью, *in-vivo* времязависимое ингибирование CYP3A4/5 (значение сдвига CYP3A4/5  $IC_{50}$ ) и определение реакционноспособных метаболитов в гепатоцитах человека. Сравнительные соединения также тестируют с помощью тех же тестов. Способы тестирования для определения ингибирующего действия на Wee-1 киназу, эффективность Wee-1 в клетках и кинетическую растворимость такие, как описаны в WO 2015/092431 (см. страницы 350-358). Другие применяемые способы тестирования представлены ниже.

i) Определение проницаемости Caco-2 при pH 6,5 (pH 7,4 для сравнительного примера б) проводят на Curotex Ltd с применением стандартных протоколов и ШПП.

ii) Определение фармакокинетических параметров (CL/ $T_{1/2}$ /ППК/F%) у самцов крыс Sprague-Dawley для примера 1 и сравнительных примеров 6 и 165 проводят на Axis BioServices Ltd с применением стандартных протоколов и ШПП. Дозирование проводят следующим образом: однократная пероральная доза 5 мг/кг; однократная внутривенная доза 1 мг/кг.

iii) Определение фармакокинетических параметров (CL/ $T_{1/2}$ /ППК/F%) у самцов крыс Sprague-Dawley для сравнительного примера 18 проводят на BioDuro с применением стандартных протоколов и ШПП. Дозирование проводят следующим образом: однократная пероральная доза 5 мг/кг; однократная внутривенная доза 1 мг/кг.

iv) Определение отношения концентрации мозг:плазма у мышей проводят на Bioduro Inc. (Пример 1) и на Axis Bioservices Ltd (сравнительный пример 18) с применением стандартных протоколов и ШПП. Дозирование проводят следующим образом: повторяемая пероральная доза 30 мг/кг, один раз в сутки в течение 7 дней. Концентрации измеряют через 4 ч после введения на 7 день.

v) Определение отношения концентрации опухоль:плазма у мышей с опухолью проводят на Axis Bioservices Ltd с применением стандартных протоколов и ШПП. Дозирование проводят следующим образом: одна пероральная доза 30 мг/кг.

vi) Определение времязависимого ингибирования CYP3A4/5 (значение сдвига CYP3A4/5  $IC_{50}$ ) проводят на Curotex Ltd с применением стандартных протоколов и ШПП. Система тестирования *in-vitro*: объединенные микросомы печени человека; 30-мин стадия прединкубирования с и без NADPH включена для наблюдения сдвига  $IC_{50}$ .

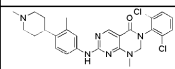
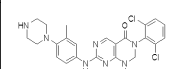
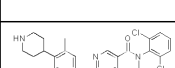
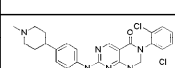
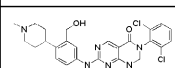
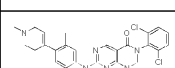
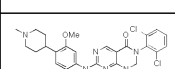
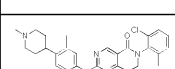
vii) Определение образования реактивных метаболитов проводят на Admescope Ltd с применением стандартных протоколов и ШПП. Система тестирования *in-vitro*: гепатоциты человека; длительность ин-

кубирования: 2 часа; методика анализа метаболитов: ЖХ-МС/МС.

Соединение, описанное в примере 1, демонстрирует улучшенную химическую стабильность в растворе (буфер при pH 7,4 и в ДМСО). Оно также показывает улучшенную растворимость в имитированном желудочном соке натощак (FaSSGF).

Данные представлены в табл. 1a и 1b ниже.

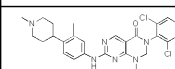
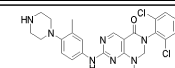
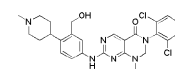
Таблица 1a

Структура	№ прим ера	Wee1 IC <sub>50</sub> [нМ]	pCDC2 EC <sub>50</sub> [нМ]	Кинетич еская раствор	сасо-2 P <sub>app</sub> [10 <sup>6</sup> ]	ФК у крыс		
						CL (мл/ мин/кг)	ППК <sub>inf</sub> (ч. нг /мл)	F%
				имосьть [мкМ]	см/с] А-В pH 6,5			
	1	0,8	188	215	8,9	14	1324	35
	CE 6	2,7	223	170	6,6 (pH 7,4)	26	1363	41
	CE 18*	3,7	223	200	0,3	48	120	7
	CE 95*	7,9	378	123	н.о.	н.о.	н.о.	н. о.
	CE 165*	3,1	347	194	0.3	27	397	8
	CE 178*	3,2	371	55	8.1	н.о.	н.о.	н. о.
	CE 183*	3,1	502	60	н.о.	н.о.	н.о.	н. о.
	CE 1	2,8	695	189	н.о.	н.о.	н.о.	н. о.

\*Номер примера в WO 2015/092431; н.о. = не определено; CE=сравнительный пример

Таблица 1a: сравнение примеров 6, 18, 95, 165, 178 и 183 из WO 2015/092431 и сравнительного примера 1 с примером 1 в соответствии с данным изобретением.

Таблица 1b

Структура	№ приме ра	СУРЗА 4/5 IC <sub>50</sub> сдвиг	Опреде ленные реакти вные метабо литы	ФК у крыс T <sub>1/2</sub> (ч)	Распределение в тканях мышей	
					отношение мозг/плазма	отношение опухоль/ плазма
	1	1,0- 1,8	да	4,5	0,69	4,0 (±1,04)
	CE 6*	2,3- 3,0	нет	3,7	0,16	5,7 (±2,81)
	CE 165*	н.о.	н.о.	2,1	н.о.	н.о.

\*№ примера в WO 2015/092431; н.о. = не определено; CE=сравнительный пример

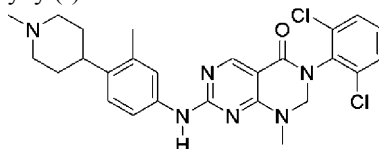
Таблица 1b: Сравнение примеров 6 и 165 из WO 2005/092431 с примером 1 в соответствии с дан-

ным изобретением.

Табл. 1а показывает, что соединение в соответствии с данным изобретением проявляет усиленный эффект ингибирования Wee-1 киназы, повышенную активность Wee-1 в клетках, повышенную или сопоставимую кинетическую растворимость, повышенную или сопоставимую проницаемость, повышенную метаболическую стабильность *in vivo* у крыс, усиленное воздействие на крысу и/или повышенную биодоступность у крыс по сравнению с примерами 18, 95, 165, 178 и 183 из WO 2015/092431 и сравнительным примером 1.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее формулу (I)



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль, или N-оксидное производное.

2. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.1, или его фармацевтически приемлемую соль, или N-оксидное производное и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

3. Фармацевтическая композиция по п.2, содержащая один или более противораковых агентов.

4. Применение соединения по п.1, или его фармацевтически приемлемой соли, или N-оксидного производного, или фармацевтической композиции по п.2 или 3 в качестве ингибитора активности Wee-1.

5. Применение соединения по п.1, или его фармацевтически приемлемой соли, или N-оксидного производного, или фармацевтической композиции по п.2 или 3 для лечения или профилактики рака.

6. Применение соединения по п.1, или его фармацевтически приемлемой соли, или N-оксидного производного, или фармацевтической композиции по п.2 или 3 для производства лекарственного средства для лечения или профилактики рака.

7. Применение по п.5 или 6, где рак выбирают из группы, состоящей из рака сердца, рака легких, рака желудочно-кишечного тракта, рака мочеполового тракта, рака печени, рака костей, рака нервной системы, гинекологического рака, гематологического рака, рака кожи и рака надпочечников.

8. Применение по п.5 или 6, где рак выбирают из опухоли надпочечников, рака желчных протоков, мочевого пузыря, крови, костей и соединительной ткани, головного мозга и центральной нервной системы, молочной железы, шейки матки, ободочной и прямой кишки (колоректальный), эндометрия, пищевода, желчного пузыря, головы и шеи, лимфомы Ходжкина, гипофаренгиального рака, рака почек, гортани, лейкоза, лимфомы, опухоли средостения, меланомы (злокачественной меланомы), мезотелиомы, множественной миеломы, рака носовой полости, носоглотки, нейроэндокринных опухолей, неходжкинской лимфомы, рака ротовой полости, ротоглотки, яичников, поджелудочной железы, околоносовых пазух, паращитовидной железы, пениса, опухолей гипофиза, рака простаты, слюнных желез, саркомы, рака позвоночника, желудка, яичек, щитовидной железы, уретры, матки, влагалища и вульвы.

9. Применение по п.5 или 6, где рак выбирают из рака ободочной и прямой кишки (колоректальный), рака головы и шеи, рака легких, рака пищевода, рака яичников и поджелудочной железы.

10. Применение по п.5 или 6, где рак представляет собой рак легких.

11. Применение по п.5 или 6, где рак представляет собой рак яичников.

12. Применение по п.5 или 6, где рак представляет собой рак головного мозга и центральной нервной системы.

13. Способ лечения или профилактики рака у человека или животного, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таковом, эффективного количества соединения по п.1, или его фармацевтически приемлемой соли, или N-оксидного производного, или фармацевтической композиции по п.2 или 3.

14. Способ по п.13, где рак выбирают из группы, состоящей из рака сердца, рака легких, рака желудочно-кишечного тракта, рака мочеполового тракта, рака печени, рака костей, рака нервной системы, гинекологического рака, гематологического рака, рака кожи и рака надпочечников.

15. Способ по п.13, где рак выбирают из опухоли надпочечников, рака желчных протоков, мочевого пузыря, крови, костей и соединительной ткани, головного мозга и центральной нервной системы, молочной железы, шейки матки, ободочной и прямой кишки (колоректальный), эндометрия, пищевода, желчного пузыря, головы и шеи, лимфомы Ходжкина, гипофаренгиального рака, рака почек, гортани, лейкоза, лимфомы, опухоли средостения, меланомы (злокачественной меланомы), мезотелиомы, множественной миеломы, рака носовой полости, носоглотки, нейроэндокринных опухолей, неходжкинской лимфомы, рака ротовой полости, ротоглотки, яичников, поджелудочной железы, околоносовых пазух, паращитовидной железы, пениса, опухолей гипофиза, рака простаты, слюнных желез, саркомы, рака позвоночника, желудка, яичек, щитовидной железы, уретры, матки, влагалища и вульвы.

16. Способ по п.13, где рак выбирают из рака ободочной и прямой кишки (колоректальный), рака головы и шеи, рака легких, рака пищевода, рака яичников и поджелудочной железы.
17. Способ по п.13, где рак представляет собой рак легких.
18. Способ по п.13, где рак представляет собой рак яичников.
19. Способ по п.13, где рак представляет собой рак головного мозга и центральной нервной системы.

