

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491351 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.07.26(51) Int. Cl. C07D 403/14 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2023.03.15

(54) СОЕДИНЕНИЕ, ИСПОЛЬЗУЕМОЕ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРА КИНАЗЫ, И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202210348367.7

(32) 2022.04.01

(33) CN

(86) PCT/CN2023/081557

(87) WO 2023/185468 2023.10.05

(71) Заявитель:

ТИК МЕДИЦИНЕС, ИНК.; ТИК
МЕДИЦИНЕС (ЧЖЭНЧЖОУ), ИНК.
(CN)

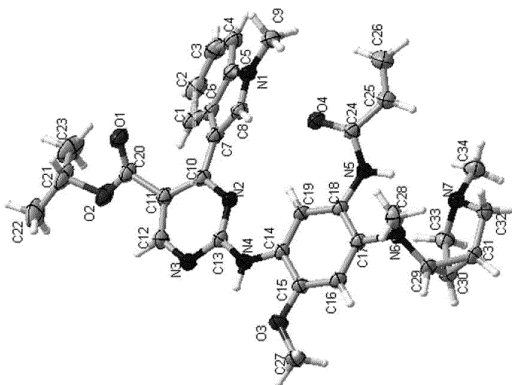
(72) Изобретатель:

Ли Цзюнь, У Юйшен, Нью Чэншань,
Го Чжунвэй, Лян Апэн (CN)

(74) Представитель:

Котлов Д.В., Яшмолкина М.Л.,
Лазебная Е.А. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к области синтеза лекарственных препаратов - гетероциклических соединений с атомом азота в качестве гетероциклического атома; в частности, относится к соединению, используемому в качестве ингибитора киназы, и его применению, а также относится к получению кристаллической формы свободного основания соединения. Соединение, используемое в качестве ингибитора киназы, представляет собой соединение, как показано в формуле 1, или его дейтерированное соединение, или фармацевтически приемлемую соль, сольват или пролекарство. Эксперименты по биологической активности доказывают, что указанное соединение обладает высокой ингибирующей активностью в отношении инсерционных мутаций экзона 20 в EGFR и HER2, делеции экзона 19 в EGFR и точечной мутации экзона 21 EGFR и может быть использовано в качестве активной фармацевтической субстанции в соответствующих препаратах.



A1

202491351

202491351

A1

Соединение, используемое в качестве ингибитора киназы, и его применение

Область техники

Настоящее изобретение относится к области синтеза фармацевтической субстанции, гетероциклического соединения с атомом азота в качестве гетероциклического атома, которое, в частности, относится к классу соединений, используемых в качестве ингибитора киназы, и применению этого соединения.

Предшествующий уровень техники

Рецептор эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) принадлежит к семейству рецепторных тирозинкиназ (receptor tyrosine kinase, RTK), в которое входят EGFR/ERBB1, HER2/ERBB2/NEU, HER3/ERBB3 и HER4/ERBB4. EGFR активирует свою тирозинкиназную активность путем гомодимеризации или гетеродимеризации с последующим фосфорилированием своего субстрата, активируя таким образом несколько связанных между собой нисходящих путей в клетке, таких как путь PI3K-АКТ-mTOR, участвующий в выживании клеток, и путь RAS-RAF-МЕК-ERK, участвующий в клеточной пролиферации. Мутации или амплификация рецептора эпидермального фактора роста могут привести к активации киназной активности рецептора эпидермального фактора роста, что, в свою очередь, приводит к развитию различных заболеваний человека, таких как злокачественные опухоли. Например, в популяции пациентов с немелкоклеточным раком легких в США у более чем 10 % пациентов присутствуют мутации EGFR, а в странах Азии доля пациентов с мутациями EGFR может достигать почти 50 %. В то же время, распространенность мутаций HER2 у пациентов с немелкоклеточным раком легкого составляет около 2–4 %.

Мутации EGFR в основном включают делеции, инсерции и точечные мутации, при этом делеция экзона 19 и точечная мутация экзона 21 L858R составляют почти 90 % мутаций EGFR. Для пациентов с опухолями с этими мутациями EGFR в настоящее время на рынке представлены ингибиторами тирозинкиназы EGFR (EGFR-ТКИ) первого поколения (иресса, тарцева и икотиниб), второго поколения (афатиниб и дакомитиниб) и третьего поколения (осимертиниб). Остальные 10 % мутаций EGFR в основном затрагивают экзоны 18 и 20 EGFR, а инсерционные мутации экзона 20 в EGFR составляют около 9 % от общего числа мутаций EGFR. Наиболее распространенной мутацией гена HER2 у пациентов с опухолями с мутациями HER2 является инсерционная мутация в экзоне 20 гена HER2.

ТАК-788 терапевтически эффективен в отношении инсерционных мутаций экзона 20 в EGFR и HER2, и это соединение продается в США с 43 % объективной ремиссией по результатам клинических исследований. Недавно сообщалось, что DZD9008 эффективен в лечении распространенного немелкоклеточного рака легкого с мутациями EGFR или HER2 с объективной частотой ремиссии 40 % для инсерции экзона 20 EGFR, что является неудовлетворительным.

Краткое изложение сущности изобретения

Для удовлетворения клинических потребностей в препаратах пациентов с мутациями EGFR и HER2, особенно пациентов с инсерционными мутациями экзона 20 EGFR и HER2, в заявке WO2021180238 раскрыт ряд соединений с высокой активностью в отношении

инсерционной мутации экзона 20 EGFR и HER2, делеции экзона 19 и точечной мутации L858R экзона 21 EGFR, которые имеют высокий потенциал для разработки препаратов для лечения родственных заболеваний, которые являются классом соединений с 3-членным-5-членным амином с сочлененными кольцами и которые были дополнительно исследованы, чтобы показать, что стереоконфигурация структуры трис-3-членного-5-членного амина с сочлененными кольцами очень важна, и при преобразовании из транс- в цис-структуру эффективность соединений *in vivo* будет выше, и соединения будут обладать выраженным терапевтическим эффектом при родственных заболеваниях с различными мутациями. В последующих исследованиях и разработках с целью поиска более стабильных соединений свободных оснований с более высокой биодоступностью по настоящему изобретению были проведены исследования полиморфных форм и скрининг соединений со свободными основаниями.

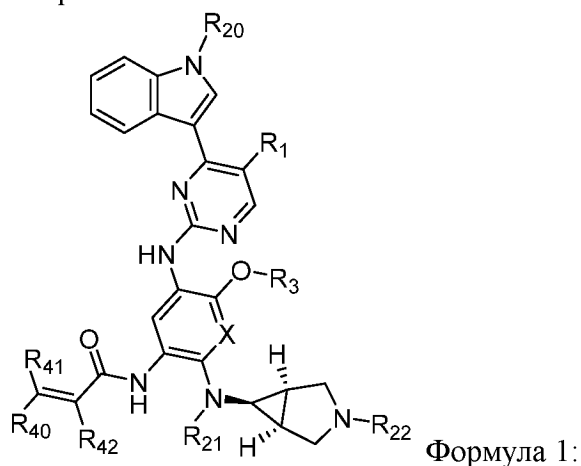
Целью настоящего изобретения является создание класса соединений, используемых в качестве ингибиторов киназ, которые относятся к структуре цис-3-членного-5-членного амина с сочлененными кольцами и обладают высокой ингибирующей активностью в отношении инсерционных мутаций экзона 20 EGFR и HER2, делеции экзона 19 и точечной мутации в экзоне 21 EGFR. Соединения по настоящему изобретению обладают более высокой эффективностью и более широкой применимостью, чем соединения с соответствующей трансструктурой в заявке WO2021180238.

Второй целью настоящего изобретения является обеспечение применения вышеуказанных соединений для создания лекарственных средств для лечения родственных заболеваний, вызванных мутациями EGFR и/или HER2.

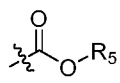
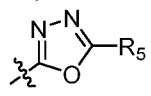
Настоящее изобретение также относится к получению кристаллических форм свободных оснований вышеуказанных соединений, для которых были проведены исследования полиморфных форм с целью выявления практических кристаллических форм с высокой стабильностью и лучшей биодоступностью.

Для достижения вышеуказанных целей техническими решениями, принятыми в настоящем изобретении, являются следующие:

Класс соединения для использования в качестве ингибитора киназы, где соединение для использования в качестве ингибитора киназы представляет собой соединение с формулой 1 или его дейтерированное соединение, или фармацевтически приемлемую соль, сольват или пролекарство:



в формуле 1 X обозначает СН и N;

R₁ обозначает  или , R₅ обозначает H, C1-C3алкил или C1-C3фторалкил;

R₂₀, R₂₁ и R₂₂ независимо друг от друга обозначают метил или дейтерометил;

R₃ обозначает C1-C3алкил или C1-C3галоалкил;

R₄₀, R₄₁ и R₄₂ независимо друг от друга обозначают H, D или F.

Вышеуказанное соединение обладает высокой ингибирующей активностью в отношении мутаций EGFR и HER2, что подтверждено анализами биологической активности, и может быть использовано в качестве АФИ для родственных препаратов.

Исходя из приведенного выше АФИ, «фармацевтически приемлемая соль» АФИ относится к фармацевтически приемлемой соли, которая обладает желаемой фармакологической активностью исходного соединения. Эти соли включают в себя следующие:

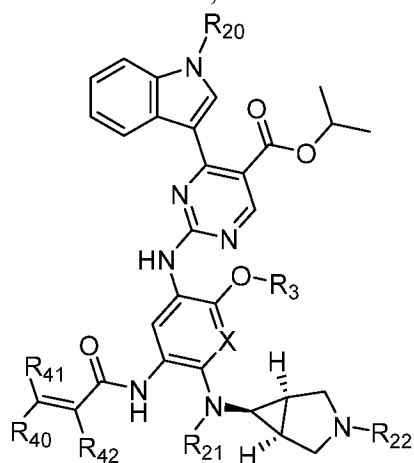
Кислотно-аддитивные соли, образованные с неорганической кислотой, которой является, например, хлористоводородная, бромистоводородная, йодистоводородная, серная, азотная, фосфорная кислота и тому подобное; типичная соль неорганической кислоты является гидрохлоридом, гидробромидом, гидриодатом, сульфатом, бисульфатом, нитратом, фосфатом и кислым фосфатом. Кислотно-аддитивные соли, образованные с органической кислотой, которой является, например, муравьиная кислота, уксусная кислота, пропионовая кислота, гексановая кислота, циклопентан пропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, молочная кислота, пропандиовая кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, 3-(4-гидроксibenzoил)бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, 1,2-этандисульфоновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, 4-хлорбензолсульфоновая кислота, 2-нафталинсульфоновая кислота, 4-метилбензолсульфоновая кислота, камфорсульфоновая кислота, глюкогептоновая кислота, 4,4'-метиленэбис-(3-гидрокси2-ен-1-карбоновая кислота), 3-фенилпропионовая кислота, триметилуксусная кислота, трет-масляная кислота, додецилсерная кислота, глюконовая кислота, глутаминовая кислота, гидроксинафтоевая кислота, салициловая кислота, стеариновая кислота, муконовая кислота и т. д.; или соль, образующаяся в результате координации протона кислоты, присутствующего в исходном соединении, с органическим основанием (например, этаноламин, диэтаноламин, триэтаноламин, аминобутантриол, N-метилглюкозамин и т. д.). Типичная соль органической кислоты является формиатом, ацетатом, трифторацетатом, пропионатом, пируватом, гидроксиацетатом, гликолятом, малонатом, фумаратом, малеатом, лактатом, малатом, цитратом, тартратом, метансульфонатом, этансульфонатом, изетионатом, бензолсульфонатом, салицилатом, пикратом, глутаматом, аскорбатом, камфоратом и камфорсульфонатом. Очевидно, что фармацевтически приемлемая соль не токсична.

Сольват представляет собой соединение, содержащее молекулу растворителя, такую как гидрат, соединение диметилсульфоксида и тому подобное.

Пролекарством является соединение, которое подвергается химической трансформации в результате метаболического или химического процесса с образованием соединения, соли или

сольвата по настоящему изобретению при лечении родственных заболеваний.

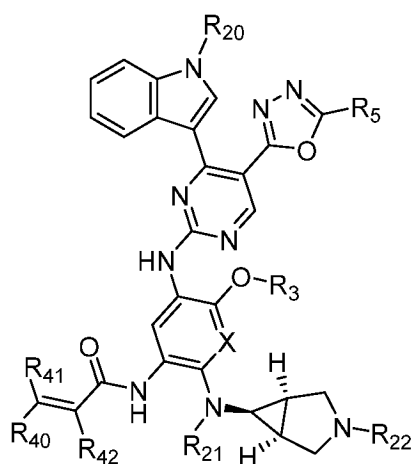
Предпочтительно, соединение для использования в качестве ингибитора киназы является соединением с формулой 2 или его дейтерированным соединением, или фармацевтически приемлемой солью, сольватом или пролекарством:



Формула 2.

Более предпочтительно, чтобы в формуле 2 X обозначал СН или N; R₃ обозначал -CH₃, -CH₂CH₃ или -CH₂CF₃; R₄₀ и R₄₁ обозначали H, а R₄₂ обозначал H или F.

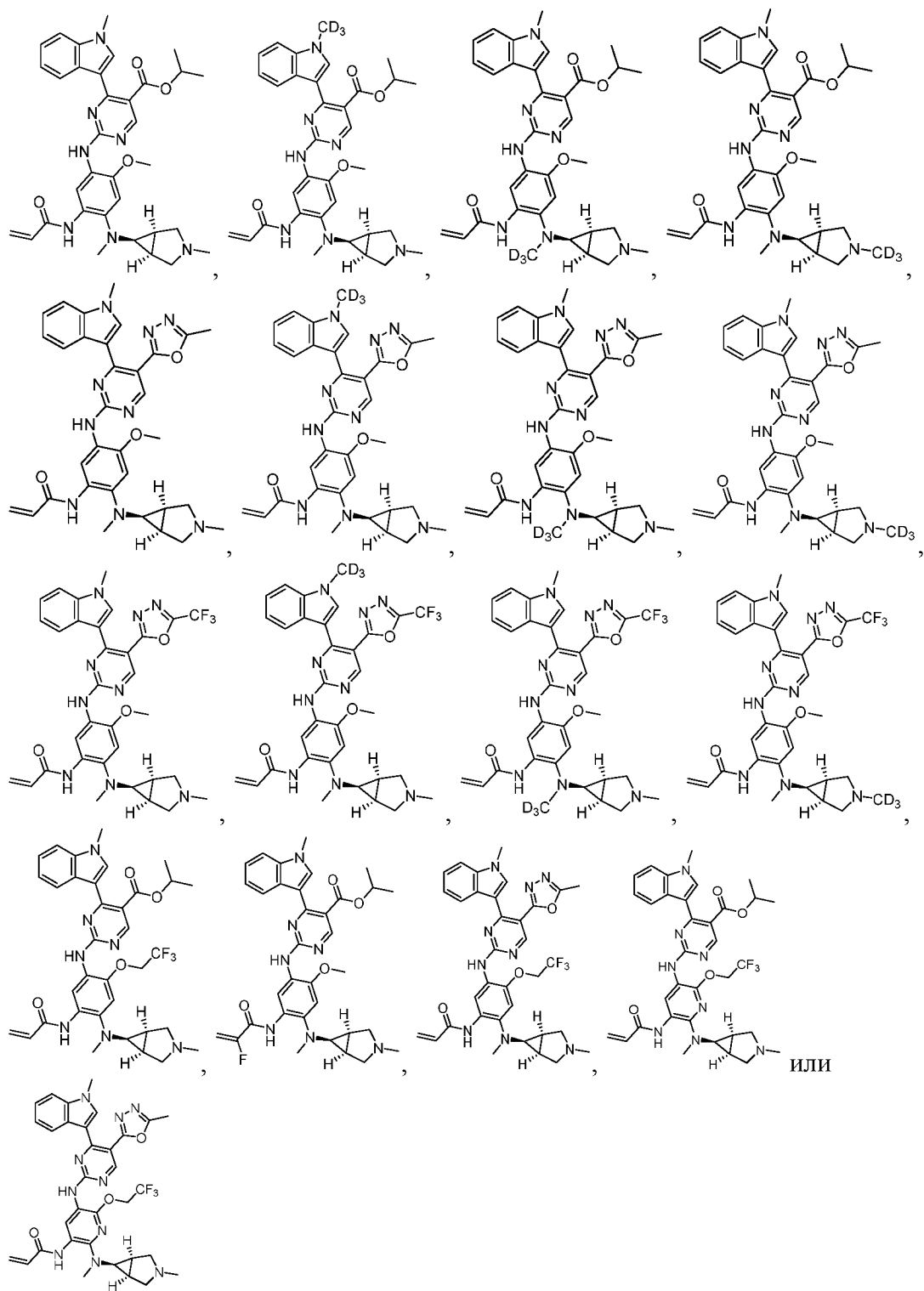
Предпочтительно, соединение для использования в качестве ингибитора киназы является соединением с формулой 3 или его дейтерированным соединением, или фармацевтически приемлемой солью, сольватом или пролекарством:



Формула 3.

В формуле 3 X обозначает СН или N; R₃ обозначает -CH₃, -CH₂CH₃ или -CH₂CF₃; R₄₀ и R₄₁ обозначают H, R₄₂ обозначает H или F; R₅ обозначает -CH₃ или -CF₃.

Предпочтительно, соединение формулы 1 является одним из следующих:



Применение вышеуказанного соединения в качестве ингибитора киназы для лечения родственных заболеваний, вызванных мутациями EGFR и/или HER2.

Описанные выше соединения обладают высокой ингибирующей активностью в отношении инсерционных мутаций экзона 20 EGFR и HER2, а также в отношении делеций экзона 19 и точечных мутаций экзона 21 EGFR.

Предпочтительно, мутация EGFR и/или мутация HER2 содержит одну или комбинацию двух или более следующих мутаций: инсерционная мутация экзона 20 EGFR, инсерционная мутация экзона 20 HER2, делеция экзона 19 EGFR, точечная мутация экзона 21 EGFR и

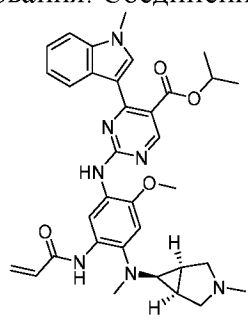
точечная мутация экзона 20 EGFR. Экспериментами по биологической активности подтверждено, что вышеуказанные соединения оказывают более высокое ингибирующее действие на вышеуказанные типы мутаций.

Кроме того, предпочтительно, чтобы мутация EGFR и/или мутация HER2 представляла собой мутацию EGFR Del 19/T790M/C797S, мутацию EGFR L858R/T790M/C797S, и вышеуказанное соединение оказывает более высокое ингибирующее действие на вышеуказанные типы мутаций.

Предпочтительно, что заболевание представляет собой рак, вызванный мутацией EGFR и/или мутацией HER2. Вышеперечисленные соединения также могут использоваться в комбинации с другими препаратами для лечения рака. Другими препаратами, используемыми в комбинации, могут быть ингибиторы внеклеточных регулируемых киназ (extracellular signal-regulated kinases, ERK) или ингибиторы митоген-активируемых киназ (mitogen-activated kinases, MEK).

Предпочтительно, соединение является кристаллическим, аморфным или сольватом; растворитель, содержащийся в сольвате, представляет собой неводный растворитель или смесь неводного растворителя и воды.

Для того, чтобы улучшить стабильность и активность соединения, часть соединений формулы 1 отобраны для исследования кристаллических форм. Кроме того, проведено поликристаллическое скрининговое исследование соединения примера 1 настоящего изобретения для поиска стабильной и надежной кристаллической формы, которая обеспечит стабильность качества соединения и приведет к более высокой эффективности препарата при лечении. Показано, что продукт примера 1 является кристаллом с хорошей кристаллическостью и безводной кристаллической формой, обозначенный как кристаллическая форма I свободного основания. Соединение примера 1 содержит соединение формулы А:



формула А.

Кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму I свободного основания, порошок которой имеет характерные рентгеновские дифракционные пики при $9,76^\circ \pm 0,2^\circ$, $10,45^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,54^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,66^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,07^\circ \pm 0,2^\circ$ и $25,90^\circ \pm 0,2^\circ$.

Кроме того, у кристаллической формы I свободного основания порошок имеет характерные рентгеновские дифракционные пики: $9,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $9,76^\circ \pm 0,2^\circ$, $10,45^\circ \pm 0,2^\circ$, $11,53^\circ \pm 0,2^\circ$, $11,80^\circ \pm 0,2^\circ$, $12,91^\circ \pm 0,2^\circ$, $13,79^\circ \pm 0,2^\circ$, $14,67^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,08^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,63^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,54^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,50^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,66^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,10^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,29^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,16^\circ \pm 0,2^\circ$ и $25,90^\circ \pm 0,2^\circ$.

Кристаллическая форма I свободного основания соединения примера 1 может быть получена в большинстве сольвентов путем трансформации кристаллов суспензии, преципитации антисольвентом, циклирования при высоких и низких температурах и испарительной кристаллизации. Сольвенты в настоящем изобретении включают в себя, но не

ограничиваются этим, один или смесь двух или более дихлорметанов, 1,4-диоксан, дихлорэтан, трет-бутилметилловый эфир, N-метилпирролидон, этилацетат, ацетон, метанол, диметилсульфоксид, изопропилацетат, бутанон, циклогексан, тетрагидрофуран, воду, ацетонитрил, изопропанол, этанол, n-гептан и тому подобное.

В настоящем изобретении установлено, что соединение примера 1 имеет две безводные кристаллические формы (кристаллическая форма I свободного основания и кристаллическая форма V свободного основания) и три сольвата, из которых кристаллическая форма II свободного основания представляет собой сольват этанола, кристаллическая форма III свободного основания представляет собой сольват изопропанола, а кристаллическая форма IV свободного основания представляет собой сольват дихлорэтана и воды. Все эти кристаллические сольваты свободного основания были охарактеризованы. Конкурентный эксперимент по измельчению проводили с использованием двух безводных кристаллических форм: кристаллической формы I свободного основания и кристаллической формы V свободного основания. На основании полученных результатов было сделано заключение о том, что кристаллическая форма I свободного основания может быть термодинамически стабильной кристаллической формой, более подходящей для последующих разработок.

Проведена оценка кристалла кристаллической формы I свободного основания, включающая сухое измельчение, мокрое измельчение, прессование таблеток (30 МПа), исследования стабильности и гигроскопичности и т. д. После 5 мин сухого измельчения соединение стало аморфным; Кристаллическая форма практически не изменялась после мокрого измельчения с водой в течение 5 мин, а кристалличность незначительно снижалась после 5 мин мокрого измельчения с этанолом; кристалличность уменьшалась при давлении 30 МПа в испытании на прессование таблеток; в исследовании стабильности кристаллическая форма I свободного основания была относительно стабильна при различных температуре и влажности, и не было каких-либо изменений в результатах жидкостной хроматографии; был проведен тест на динамическую адсорбцию водяного пара (DVS), результаты которого показали, что при относительной влажности 80 % прирост массы за счет поглощения воды составил 0,66 %, то есть кристаллическая форма I свободного основания была незначительно гигроскопичной. В заключение следует отметить, что кристаллическая форма I свободного основания представляет собой относительно стабильную безводную кристаллическую форму со стабильными твердофазными свойствами и небольшой гигроскопичностью, которая может быть использована для последующей разработки лекарственных препаратов.

Описание рисунков

На фиг. 1 показаны изменения объема опухоли (мм^3) в модели LU0387;

На фиг. 2 показаны изменения объема опухоли (мм^3) в модели Ba/F3 EGFR D770_N771 ins SVD;

На фиг. 3 показаны дифракционные характеристики монокристалла соединения примера 1;

На фиг. 4 показаны характеристики XRPD кристаллической формы I свободного основания;

На фиг. 5 показаны характеристики перекрывания DSC и TGA кристаллической формы I свободного основания;

На фиг. 6 показаны характеристики XRPD аморфного образца, полученного методом сухого измельчения;

На фиг. 7 показаны характеристики XRPD кристаллической формы II свободного основания;

На фиг. 8 показаны характеристики перекрывания DSC и TGA кристаллической формы II свободного основания;

На фиг. 9 показаны характеристики XRPD кристаллической формы III свободного основания;

На фиг. 10 показаны характеристики перекрывания DSC и TGA кристаллической формы III свободного основания;

На фиг. 11 показаны характеристики XRPD кристаллической формы IV свободного основания;

На фиг. 12 показаны характеристики перекрывания DSC и TGA кристаллической формы IV свободного основания;

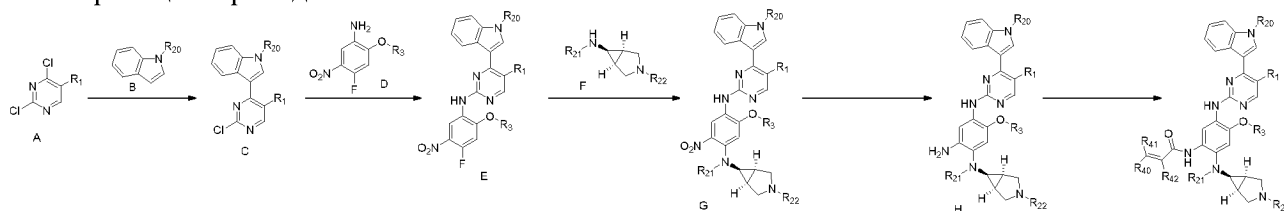
На фиг. 13 показаны характеристики XRPD кристаллической формы V свободного основания;

На фиг. 14 показаны характеристики перекрывания DSC и TGA кристаллической формы V свободного основания;

Подробное описание изобретения

По сравнению с соединениями, имеющими транс-3-членную-5-членную структуру амина с сочлененными кольцами в заявке WO2021180238, настоящее изобретение подтверждает, что структура цис-3-членного 5-членного амина с сочлененными кольцами обладает большей эффективностью *in vivo*, а также терапевтически эффективна при родственных заболеваниях с различными мутациями.

Способ получения соединения по настоящему изобретению: когда X обозначает СН, схема реакции приведена ниже:



включая следующие этапы:

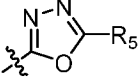
(1) Соединение А и соединение В подвергают реакции Фриделя-Крафтса в органическом растворителе с получением соединения С;

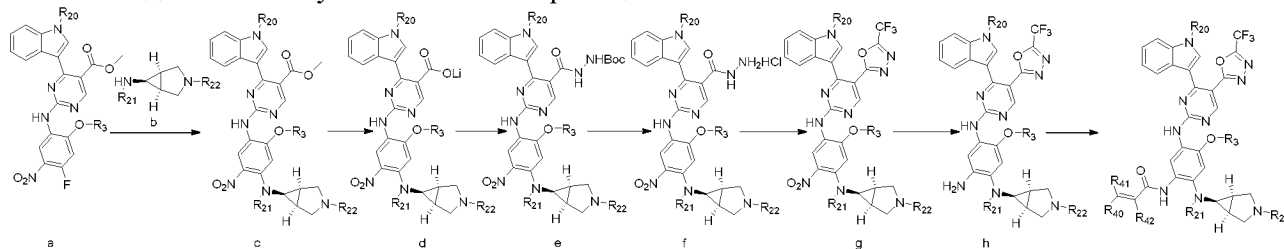
(2) Соединение С и соединение D подвергают реакции замещения в присутствии кислотного катализатора в органическом растворителе с получением соединения Е;

(3) Соединение Е и соединение F подвергают реакции замещения в присутствии основного катализатора в органическом растворителе с получением соединения G;

(4) Соединение G восстанавливают с получением соединения H;

(5) Соединение H подвергают реакции конденсации в присутствии основного катализатора с получением продукта.

Когда R₁ обозначает  и R₅ обозначает -CF₃, синтез соединения формулы 1 также может следовать вышеуказанной схеме реакции:



включая следующие этапы:

- (1) Соединение а и соединение б подвергают реакции замещения в органическом растворителе с получением соединения с;
- (2) Соединение с гидролизуют с получением соединения d;
- (3) Соединение d подвергают реакции конденсации с получением соединения е;
- (4) С соединения е снимают защиты с получением соединения f;
- (5) Соединение f подвергают реакции замыкания кольца с трифторуксусным ангидридом в присутствии основного катализатора с получением соединения g;
- (6) Соединение g восстанавливают с получением соединения h;
- (7) Соединение h подвергают реакции конденсации в присутствии основного катализатора с получением продукта.

Способ получения соединения по настоящему изобретению: когда X обозначает N, схема реакции приведена ниже:

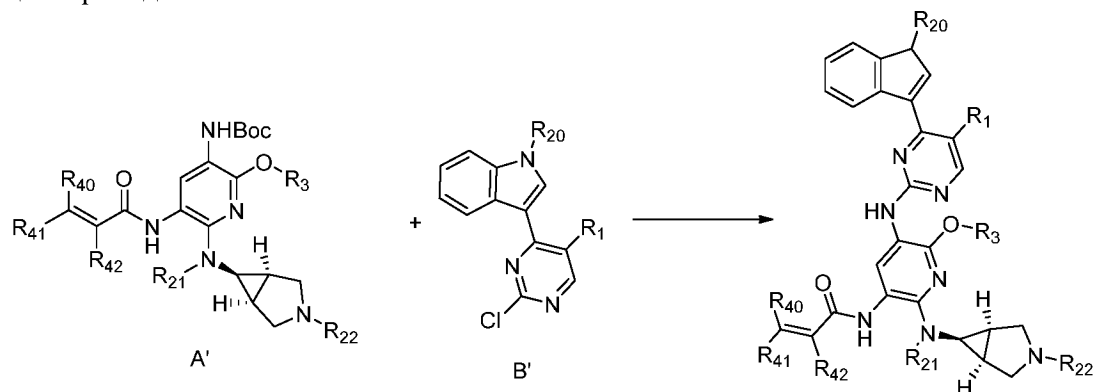


Схема включает в себя следующие стадии: соединение A' и соединение B' подвергаются реакции замещения для получения продукта.

При этом соединение A' получают как описано в схеме синтеза WO2021180238; соединение B' получают с помощью реакции Фриделя-Крафтса.

Все способы, описанные в настоящем изобретении, подробно описаны ниже в сочетании с конкретными примерами.

I. Конкретные примеры синтеза соединений, используемых в качестве ингибиторов киназ
Пример 1

Структурная формула используемого в качестве ингибитора киназы соединения этого примера приведена ниже:

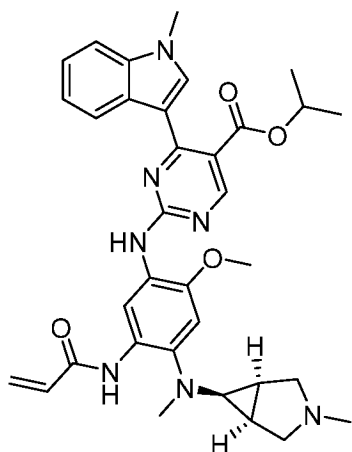
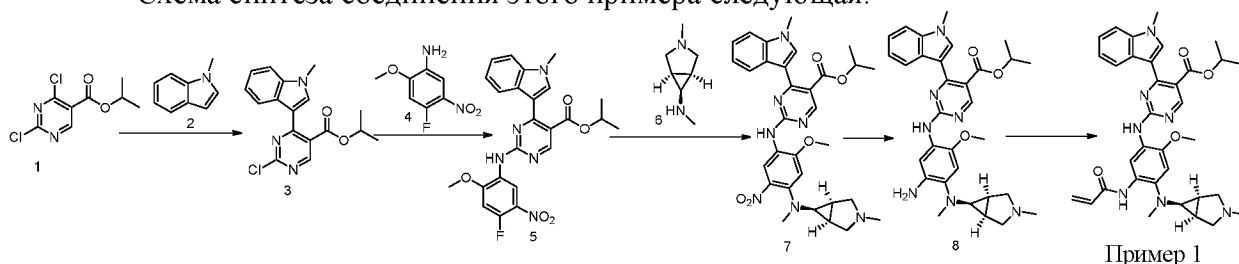


Схема синтеза соединения этого примера следующая:



Синтез соединения 3: в трехгорлую колбу объемом 250 мл под азотной защитой добавляли соединение 1 (2,01 г, 8,5 ммоль), полностью растворяли в 100 мл тетрагидрофурана, добавляли безводный алюминия трихлорид (2,26 г, 17 ммоль) и перемешивали при 70 °С в течение 1 часа. Соединение 2 (1,34 г, 10,2 ммоль) добавляли по каплям, затем реакцию продолжали при 70 °С и контролировали ее методом тонкослойной хроматографии. Реакция практически завершалась через 4 часа, затем раствор обрабатывали с получением 1,31 г продукта с выходом 46,4 %.

Синтез соединения 5: соединение 3 (1,30 г, 3,9 ммоль), соединение 4 (0,88 г, 4,68 ммоль) и *p*-толуолсульфоновую кислоту (1,35 г, 7,8 ммоль) добавляли к 65 мл 1,4-диоксана, нагревали до 80 °С и проводили реакцию в течение ночи под защитой N₂. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после ее завершения раствор обрабатывали с получением 1,50 г продукта с выходом 79,7 %.

Синтез соединения 7: соединение 5 (6,0 г, 12,5 ммоль), соединение 6 (6,3 г, 100 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (3,2 г, 50 ммоль) добавляли к 120 мл *N,N*-диметилацетамида и проводили реакцию при 90 °С в течение ночи. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 8,0 г продукта. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 9,53 (синглет, 1H), 8,97 - 8,75 (мультиплет, 1H), 7,96 (синглет, 1H), 7,84 (синглет, 1H), 7,79 (дублет, *J* = 8,0 Гц, 1H), 7,38 (дублет, *J* = 8,2 Гц, 1H), 7,29 (дублет, *J* = 7,2 Гц, 1H), 7,20 (триплет, *J* = 7,6 Гц, 1H), 6,81 (синглет, 1H), 5,09 (квинтет, *J* = 6,4 Гц, 1H), 4,02 (синглет, 3H), 3,92 (синглет, 3H), 3,84 - 3,63 (мультиплет, 1H), 3,02 (триплет, *J* = 6,4 Гц, 1H), 2,84 (синглет, 3H), 2,70 (синглет, 3H), 2,43 (синглет, 2H), 2,32 (синглет, 1H), 1,27 (дублет, *J* = 7,2 Гц, 2H), 1,15 (дублет, *J* = 6,4 Гц, 6H).

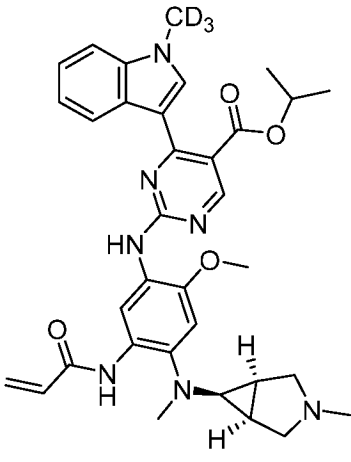
Синтез соединения 8: соединение 7 (7,7 г, 41,6 ммоль) и палладированный уголь (2,4 г, влажный палладированный уголь 55 %) добавляли к смешанному растворителю из 100 мкл

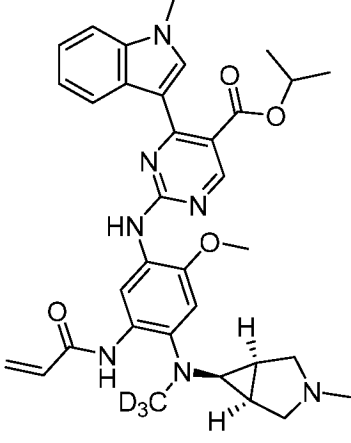
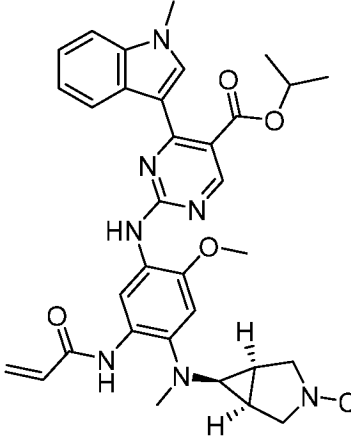
метанола и 100 мкл этилацетата и проводили реакцию при комнатной температуре в течение 4 часов в атмосфере водорода. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 7,0 г продукта.

Синтез соединения примера 1: соединение 8 (7,00 г, 12,6 ммоль) и триэтиламин (3,82 г, 37,8 ммоль) растворяли в дихлорметане и охлаждали до 0 °С под защитой азота с последующим добавлением по каплям раствора акрилхлорида (1,72 г, 18,9 ммоль) в дихлорметане. Реакционную смесь выдерживали при 0 °С в течение 1 ч и контролировали методом тонкослойной хроматографии, а после того, как первичное соединение полностью реагировало, полученный раствор обрабатывали, а именно, добавляли водный раствор натрия бикарбоната и дихлорметан и перемешивали до разделения; Водную фазу экстрагировали еще раз с помощью дихлорметана, а органические фазы соединяли, сушили, центрифугировали и подвергали колоночной хроматографии. Полученный первичный продукт сначала растворяли в небольшом количестве дихлорметана, а затем осаждали большое количество твердого вещества путем добавления петролейного эфира по каплям. После фильтрования к осадку добавляли метанол и суспендировали, а затем сушили, получили 3,5 г продукта. $[M+H]^+$: 610,8; 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 10,38 (синглет, 1H), 9,60 (синглет, 1H), 8,87 (синглет, 1H), 8,61 (синглет, 1H), 7,89 (синглет, 1H), 7,58 (синглет, 1H), 7,32 (дублет, $J = 8,2$ Гц, 1H), 7,20 (триплет, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,13 (триплет, $J = 7,6$ Гц, 1H), 6,80 (синглет, 1H), 6,44 (мультиплет, 2H), 6,32 (мультиплет, 1H), 5,68 (мультиплет, 1H), 5,00 (квинтет, $J = 6,2$ Гц, 1H), 3,94 (синглет, 3H), 3,88 (синглет, 3H), 3,06 (синглет, 2H), 2,66 (синглет, 3H), 2,61 (мультиплет, 3H), 2,36 (синглет, 3H), 1,67 (синглет, 2H), 1,03 (дублет, $J = 6,4$ Гц, 6H).

Три дейтерированных соединения примеров 2, 3 и 4 были синтезированы на основе примера 1, как показано в таблице 1 ниже.

Таблица 1. Структура и характеристики соединений примеров 2–4

№	Структура	Характеристики
Пример 2		1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ- <i>d</i>) δ 10,38 (синглет, 1H), 9,60 (синглет, 1H), 8,87 (синглет, 1H), 8,61 (синглет, 1H), 7,89 (синглет, 1H), 7,58 (синглет, 1H), 7,32 (дублет, $J = 8,2$ Гц, 1H), 7,20 (триплет, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,13 (триплет, $J = 7,6$ Гц, 1H), 6,80 (синглет, 1H), 6,44 (мультиплет, 2H), 6,32 (мультиплет, 1H), 5,68 (мультиплет, 1H), 5,00 (квинтет, $J = 6,2$ Гц, 1H), 3,88 (синглет, 3H), 3,06 (синглет, 2H), 2,66 (синглет, 3H), 2,61 (мультиплет, 3H), 2,36 (синглет, 3H), 1,67 (синглет, 2H), 1,03 (дублет, $J = 6,4$ Гц, 6H). $[M+H]^+$: 613,8

Пример 3		¹ H-ЯМР (400 МГц, хлороформ- <i>d</i>) δ 10,38 (синглет, 1H), 9,60 (синглет, 1H), 8,87 (синглет, 1H), 8,61 (синглет, 1H), 7,89 (синглет, 1H), 7,58 (синглет, 1H), 7,32 (дублет, <i>J</i> = 8,2 Гц, 1H), 7,20 (триплет, <i>J</i> = 7,6 Гц, 1H), 7,13 (триплет, <i>J</i> = 7,6 Гц, 1H), 6,80 (синглет, 1H), 6,44 (мультиплет, 2H), 6,32(мультиплет, 1H), 5,68 (мультиплет, 1H), 5,00 (квинтет, <i>J</i> = 6,2 Гц, 1H), 3,94 (синглет, 3H), 3,88 (синглет, 3H), 3,06 (синглет, 2H), 2,61 (мультиплет, 3H), 2,36 (синглет, 3H), 1,67 (синглет, 2H), 1,03 (дублет, <i>J</i> = 6,4 Гц, 6H). [M+H] ⁺ : 613,8
Пример 4		¹ H-ЯМР (400 МГц, хлороформ- <i>d</i>) δ 10,38 (синглет, 1H), 9,60 (синглет, 1H), 8,87 (синглет, 1H), 8,61 (синглет, 1H), 7,89 (синглет, 1H), 7,58 (синглет, 1H), 7,32 (дублет, <i>J</i> = 8,2 Гц, 1H), 7,20 (триплет, <i>J</i> = 7,6 Гц, 1H), 7,13 (триплет, <i>J</i> = 7,6 Гц, 1H), 6,80 (синглет, 1H), 6,44 (мультиплет, 2H), 6,32(мультиплет, 1H), 5,68 (мультиплет, 1H), 5,00 (квинтет, <i>J</i> = 6,2 Гц, 1H), 3,94 (синглет, 3H), 3,88 (синглет, 3H), 3,06 (синглет, 2H), 2,66 (синглет, 3H), 2,61 (мультиплет, 3H), 1,67 (синглет, 2H), 1,03 (дублет, <i>J</i> = 6,4 Гц, 6H). [M+H] ⁺ : 613,8

Пример 5

Структурная формула используемого в качестве ингибитора киназы соединения этого примера приведена ниже:

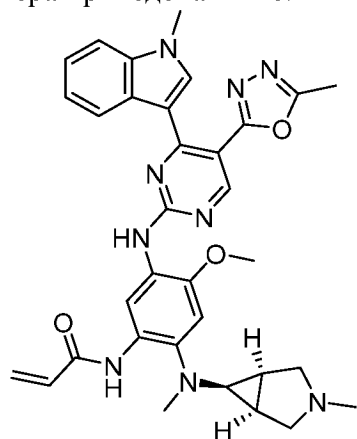


Схема синтеза соединения этого примера следующая:

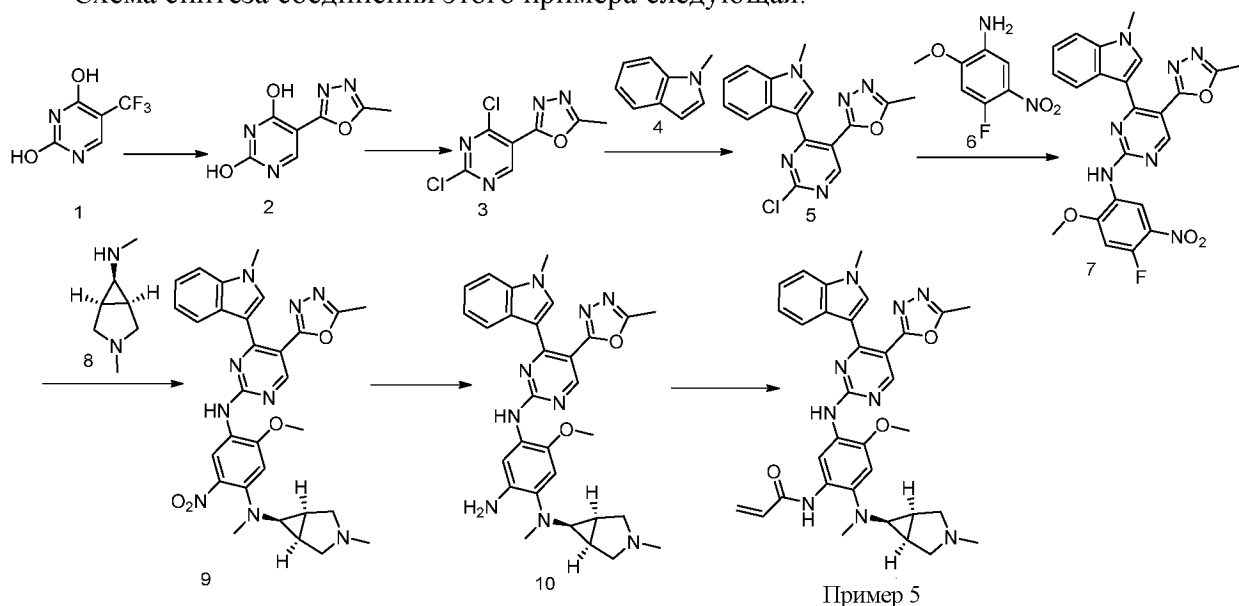


Схема синтеза описана ниже:

Синтез соединения 2: в одnogорлую колбу объемом 2000 мл вносили соединение 1 (54,6 г, 303 ммоль), ацетилгидразин (26,64 г, 395 ммоль) и 1000 мл 1N водного раствора натрия гидроксида, а затем проводили реакцию при 80 °С в течение 4 часов; В осадок выпало большое количество твердых частиц. Затем реакционный раствор охлаждали, добавляли 80 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и перемешивали при низкой температуре около 0 °С в течение 30 мин. После выщелачивания осадок промывали, однократно перемешивая с водой, и сушили в вакууме при 55 °С в течение ночи с получением 32 г продукта. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 11,75 (синглет, 1H), 11,59 (синглет, 1H), 8,13 (синглет, 1H), 2,52 (синглет, 3H).

Синтез соединения 3: в одnogорлую колбу объемом 2000 мл добавляли соединение 2 (50,0 г, 258 ммоль), затем добавляли 1500 мл толуола, фосфора оксихлорид (237 г, 1550 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (133 г, 1031 ммоль) при комнатной температуре, образовывался белый туман. Затем полученный раствор нагревали до 80 °С и перемешивали в течение ночи под защитой азотом. На следующий день реакционный раствор охлаждали и обрабатывали с получением 30 г продукта. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 9,19 (синглет, 1H), 2,71 (синглет, 3H).

Синтез соединения 5: в одnogорлую колбу объемом 2000 мл добавляли соединение 3 (30,0 г, 130 ммоль), полностью растворяли в 1500 мл 1,2-дихлорэтана, а затем добавляли алюминия трихлорид безводный (29,3 г, 220 ммоль). Реакционный раствор сначала перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, а затем охлаждали до 0 °С. Соединение 4 (22,1 г, 169 ммоль) добавляли по каплям и перемешивали при низкой температуре в течение 30 минут, после чего реакционную смесь нагревали до 60 °С и контролировали ее методом тонкослойной хроматографии. Через 4 ч реакционный раствор охлаждали и обрабатывали с получением 20,0 г продукта. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 8,84 (синглет, 1H), 8,02 (дублет триплетов, *J* = 7,8, 1,0 Гц, 1H), 7,97 (синглет, 1H), 7,40-7,27 (мультиплет, 3H), 3,86 (синглет, 3H), 2,50 (синглет, 3H).

Синтез соединения 7: соединение 5 (2 г, 6,15 ммоль), соединение 6 (1,37 г, 7,38 ммоль) и

п-толуолсульфоновую кислоту (2,11 г, 12,3 ммоль) добавляли к 100 мл 1,4-диоксана, нагревали до 80 °С и проводили реакцию в течение ночи под защитой N₂. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после ее завершения полученный раствор обрабатывали с получением 0,65 г продукта.

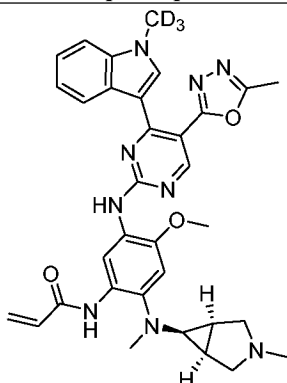
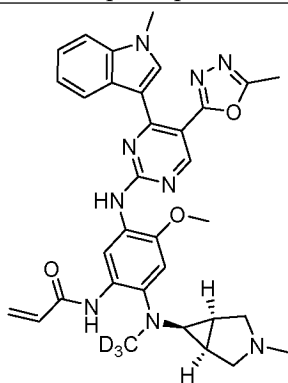
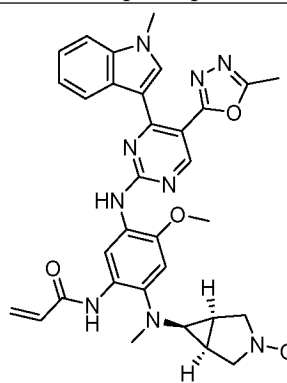
Синтез соединения 9: соединение 7 (950 мг, 2 ммоль), соединение 8 (1,0 г, 8 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (516 мг, 4 ммоль) добавляли к 20 мл N,N-диметилацетамида и проводили реакцию при 100 °С в течение ночи. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 1,0 г продукта. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 9,56 (синглет, 1H), 8,88 (синглет, 1H), 7,92 (дублет, *J* = 14,6 Гц, 2H), 7,54 (синглет, 1H), 7,40 (дублет, *J* = 8,2 Гц, 1H), 7,32 (синглет, 1H), 7,15 (триплет, *J* = 7,6 Гц, 1H), 6,84 (синглет, 1H), 4,06 (синглет, 3H), 3,93 (синглет, 3H), 3,04 (триплет, *J* = 6,0 Гц, 1H), 2,88 (синглет, 3H), 2,72 (синглет, 3H), 2,44 (синглет, 2H), 2,38 (синглет, 3H), 1,28 (синглет, 4H).

Синтез соединения 10: соединение 9 (1,0 г, 1,72 ммоль) и палладированный уголь (500 мг, влажный палладированный уголь 55 %) добавляли к 50 мл метанола и проводили реакцию при комнатной температуре в течение 4 часов в атмосфере водорода. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 900 мг продукта.

Синтез соединения примера 5: соединение 10 (900 мг, 1,63 ммоль) и триэтиламин (495 мг, 4,90 ммоль) растворяли в дихлорметане и охлаждали до 0 °С в атмосфере азота с последующим добавлением по каплям раствора акрилхлорида (223 мг, 2,45 ммоль) в дихлорметане. Реакционную смесь выдерживали при 0 °С в течение 2 ч и контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 200 мг продукта. [M+H]⁺: 606,8.

Три дейтерированных соединения примеров 6, 7 и 8 были синтезированы на основе примера 5, как показано в таблице 2 ниже.

Таблица 2. Структура и характеристики соединений примеров 6–8

№	Пример 6	Пример 7	Пример 8
Структура			
Характеристики	[M+H] ⁺ : 609,8	[M+H] ⁺ : 609,8	[M+H] ⁺ : 609,8

Пример 9

Структурная формула используемого в качестве ингибитора киназы соединения этого примера приведена ниже:

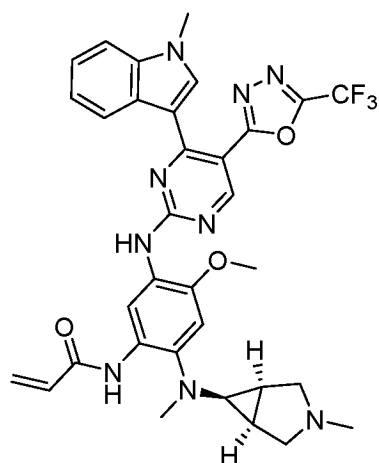


Схема синтеза соединения этого примера следующая:

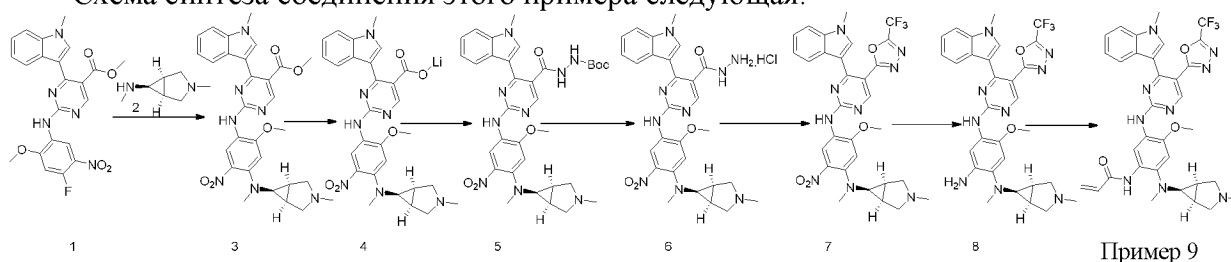


Схема синтеза соединения этого примера следующая:

Синтез соединения 3: соединение 1 (6,0 г, 13,30 ммоль), соединение 2 (5,03 г, 39,91 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (3,43 г, 26,6 ммоль) добавляли к 60 мл *N,N*-диметилацетамида и проводили реакцию при 80 °С в течение ночи. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 6,17 г продукта. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*)-δ 9,50 (синглет, 1H), 8,90 (синглет, 1H), 8,24 -7,99 (мультиплет, 1H), 7,80 (синглет, 1H), 7,67 (синглет, 1H), 7,38 (дублет триплетов, *J* = 8,2, 1,0 Гц, 1H), 7,31-7,23 (мультиплет, 1H), 7,23-7,16 (мультиплет, 1H), 6,65 (синглет, 1H), 3,95 (синглет, 3H), 3,94 (синглет, 3H), 3,70 (синглет, 3H), 2,95 (синглет, 3H), 2,89 (t, *J* = 6,6 Гц, 1H), 2,85-2,76 (мультиплет, 2H), 2,27 (мультиплет, 2H), 2,15 (синглет, 3H), 1,91 - 1,81 (мультиплет, 2H).

Синтез соединения 4: соединение 3 (6,17 г, 11,08 ммоль) и лития гидроксида моногидрат (2,33 г, 55,39 ммоль) добавляли к смешанному растворителю тетрагидрофуран/метанол/вода в объемном соотношении 6:3:1 и проводили реакцию при 40 °С в течение 16 часов. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 6,02 г продукта.

Синтез соединения 5: соединение 4 (6,02 г, 11,08 ммоль), трет-бутилгидразиоформиат (4,39 г, 33,26 ммоль), *N,N*-диизопропилэтиламин (8,58 г, 66,48 ммоль) добавляли к 160 мл *N,N*-диметилформамида и перемешивали в течение 15 мин с последующим добавлением бензотриазола-1-ил-оксипирролидинофосфония гексафторфосфата (6,90 г, 13,30 ммоль) и проводили реакцию при 25 °С в течение 16 часов. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 1,67 г продукта.

Синтез соединения 6: смесь соединения 5 (1,67 г, 2,54 ммоль), растворенную в 15 мл тетрагидрофурана, медленно добавляли к 15 мл 4 М раствора HCl в диоксане и проводили

реакцию при 40 °С в течение 5 часов под защитой азотом. Реакцию контролировали методом ЖХ-МС, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 1,20 г продукта.

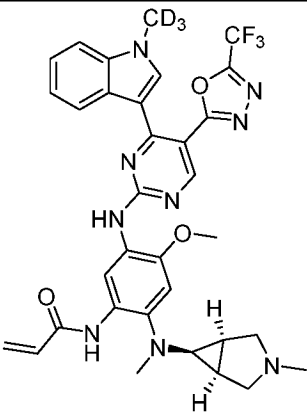
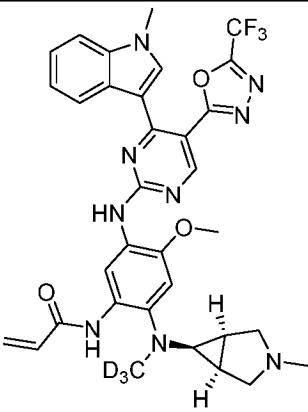
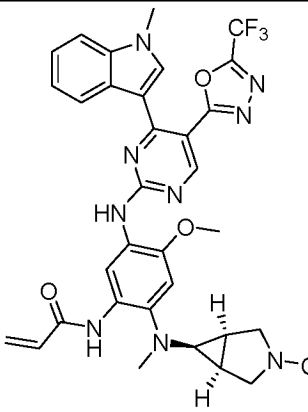
Синтез соединения 7: соединение 6 (1,0 г, 1,68 ммоль) и триэтиламин (679 мг, 6,72 ммоль) добавляли к 20 мл дихлорметана и перемешивали в течение 15 мин, затем порциями добавляли трифторуксусный ангидрид (1,59 г, 7,58 ммоль) и проводили реакцию в течение 8 ч при 40 °С. После завершения реакции реакционный раствор обрабатывали с получением 521 мг продукта.

Синтез соединения 8: соединение 7 (521 мг, 0,82 ммоль) и палладированный уголь (156 мг, 10 %) растворяли в 20 мл метанола и проводили реакцию при 25 °С в течение 3 часов в атмосфере водорода при перемешивании. Реакцию контролировали методом ЖХ-МС, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 412 г продукта.

Синтез соединения примера 9: соединение 8 (412 мг, 0,68 ммоль) и триэтиламин (206 мг, 2,04 ммоль) растворяли в 15 мл дихлорметана и охлаждали до 0 °С в атмосфере азота с последующим добавлением по каплям раствора акрилхлорида (93 мг, 1,02 ммоль) в дихлорметане. Реакционную смесь выдерживали при 0 °С в течение 2 ч, контролировали с помощью тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 122 мг продукта, $[M+H]^+$: 660,5; 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 11,36 (мультиплет, 1H), 9,87 (мультиплет, 1H), 9,09 (мультиплет, 1H), 8,92 (синглет, 1H), 8,37 (мультиплет, 1H), 7,95 (мультиплет, 1H), 7,33 (мультиплет, 1H), 7,18 (мультиплет, 1H), 7,01 (мультиплет, 2H), 6,80 (мультиплет, 1H), 6,46 (дублет, $J = 16,6$ Гц, 1H), 5,74 (дублет, $J = 10,2$ Гц, 1H), 3,92 (дублет, $J = 13,5$ Гц, 6H), 3,29 (мультиплет, 2H), 3,04 (мультиплет, 1H), 2,78 (мультиплет, 8H), 2,21 (мультиплет, 2H).

Три дейтерированных соединения примеров 10, 11 и 12 были синтезированы на основе примера 9, как показано в таблице 3 ниже.

Таблица 3. Структура и характеристики соединений примеров 10–12

№	Пример 10	Пример 11	Пример 12
Структура			
Характеристики	$[M+H]^+$: 663,5	$[M+H]^+$: 663,5	$[M+H]^+$: 663,5

Пример 13

Структурная формула используемого в качестве ингибитора киназы соединения этого примера приведена ниже:

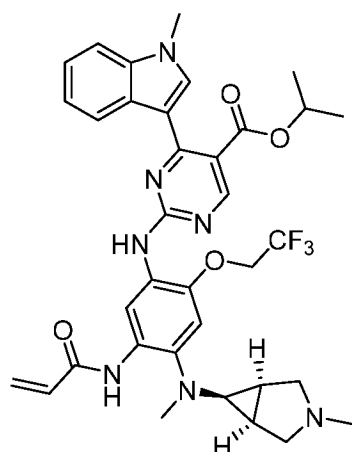
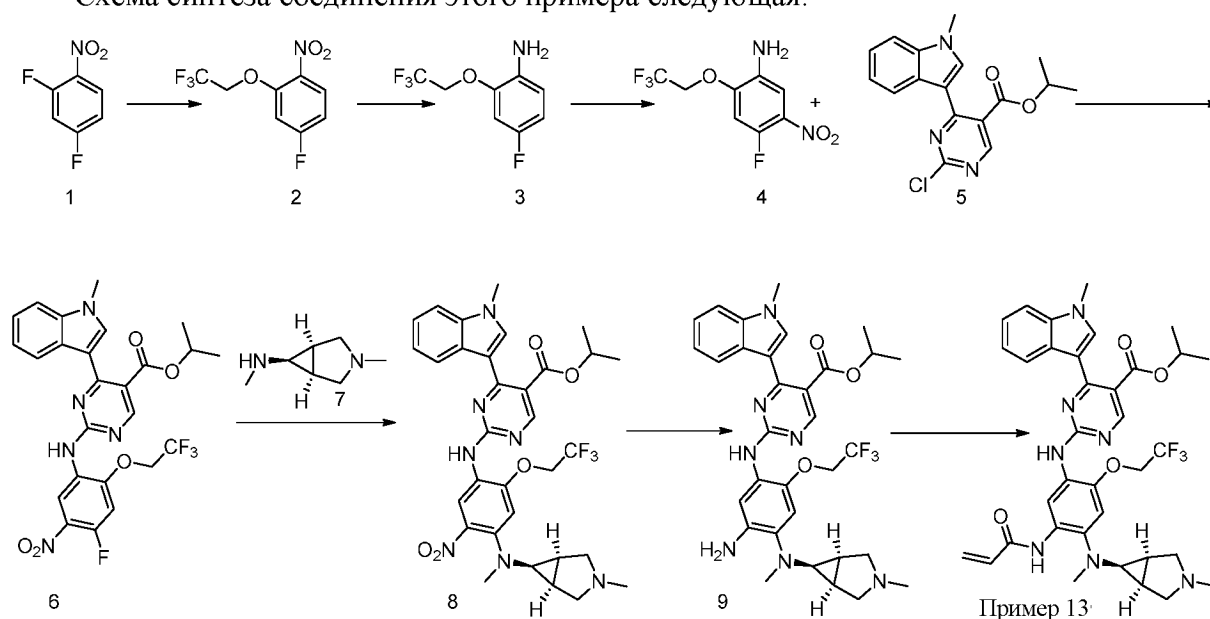


Схема синтеза соединения этого примера следующая:



Синтез соединения 2: в одногорлую колбу объемом 500 мл вносили соединение 1 (10,00 г, 62,88 ммоль) и полностью растворяли в 100 мл тетрагидрофурана; добавляли цезия карбонат (20,50 г, 62,88 ммоль) и трифторэтанол (6,29 г, 62,87 ммоль), после добавления полученный раствор защищали азотом. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, реакция практически была завершена при 23 °С в течение 6 часов, полученный раствор обрабатывали с получением 14,35 г продукта с выходом 95,5%. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 8,01 (дублет дублетов, J = 9,1, 5,8 Гц, 1H), 7,09 - 6,72 (мультиплет, 2H), 4,50 (квартет, J = 7,8 Гц, 2H).

Синтез соединения 3: соединение 2 (14,00 г, 58,57 ммоль) растворяли в 60 мл этанола и 15 мл воды, добавляли аммония хлорид (9,60 г, 179,44 ммоль) и восстановленный порошок железа (20,00 г, 357,14 ммоль) и проводили реакцию при 80 °С в течение ночи. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после ее завершения раствор обрабатывали с получением 10,50 г продукта с выходом 85,78%. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 6,89 - 6,34 (мультиплет, 3H), 4,34 (квартет, J = 8,0 Гц, 2H), 3,84 - 3,27 (мультиплет, 2H).

Синтез соединения 4: в колбу с трехгорлую колбу объемом 250 мл вносили соединение 3 (10,00 г, 47,83 ммоль), и при перемешивании добавляли 50 мл концентрированной серной

кислоты. Реакционную смесь охлаждали до 0 °С, и порциями добавляли калия нитрат (6,10 г, 60,34 ммоль), после добавления реакцию защищали азотом. Через 4 часа реакции при комнатной температуре результаты тонкослойной хроматографии показали, что реакция завершена, и полученный раствор обрабатывали с получением 8,26 г продукта с выходом 67,98 %. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 7,44 (дублет, J = 7,2 Гц, 1H), 6,66 (дублет, J = 11,5 Гц, 1H), 4,46 (квартет, J = 7,7 Гц, 2H), 4,01 (мультиплет, 2H).

Синтез соединения 6: соединение 4 (2,00 г, 6,08 ммоль), соединение 5 (2,00 г, 7,87 ммоль) добавляли к 50 мл ацетонитрила с последующим добавлением *p*-толуолсульфоновой кислоты (0,81 г, 4,26 ммоль) и перемешивали при 80 °С в течение ночи. На следующий день реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, исходный материал практически полностью прореагировал. Реакционный раствор охлаждали, и из реакционного раствора осаждали твердое вещество. После фильтрации осадок центрифугировали и добавлялся в метанол для суспендирования с получением 1,67 г продукта. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 9,89 (синглет, 1H), 9,33 (дублет, J = 8,0 Гц, 1H), 8,77 (синглет, 1H), 8,29 (синглет, 1H), 7,67 (дублет, J = 8,0 Гц, 1H), 7,39 (мультиплет, 1H), 7,33 (мультиплет, 1H), 7,19 (мультиплет, 1H), 6,89 (дублет, J = 11,3 Гц, 1H), 5,14 (квинтет, J = 6,2 Гц, 1H), 4,59 (квартет, J = 7,7 Гц, 2H), 3,95 (синглет, 3H), 1,22 (дублет, J = 6,2 Гц, 6H).

Синтез соединения 8: соединение 6 (1,52 г, 2,78 ммоль), соединение 7 (1,05 г, 8,33 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (1,05 г, 8,14 ммоль) добавляли к 25 мл *N,N*-диметилацетамида и проводили реакцию при 90 °С в течение ночи. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 1,16 г продукта.

Синтез соединения 9: соединение 8 (0,59 г, 0,90 ммоль) и палладированный уголь (400 мг, влажный палладированный уголь 55 %) добавляли к смешанному растворителю из 20 мл метанола и 20 мл этилацетата и проводили реакцию при комнатной температуре в течение 3 часов в атмосфере водорода. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 520 мг продукта.

Синтез соединения примера 13: соединение 9 (520 мг, 0,83 ммоль) и триэтиламин (253 мг, 2,50 ммоль) растворяли в дихлорметане и охлаждали до 0 °С в атмосфере азота с последующим добавлением по каплям раствора акрилхлорида (114 мг, 1,25 ммоль) в дихлорметане. Реакционную смесь выдерживали при 0 °С в течение 2 ч, контролировали с помощью тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 170 мг продукта. $[M+H]^+$: 606,8, ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 10,63 (синглет, 1H), 10,11 (синглет, 1H), 8,82 (синглет, 1H), 8,16 (синглет, 1H), 7,66 (мультиплет, 2H), 7,29 (дублет, J = 8,1 Гц, 1H), 7,22 - 7,16 (мультиплет, 1H), 7,15 - 7,09 (мультиплет, 1H), 6,80 (синглет, 1H), 6,37 (дублет дублетов, J = 16,9, 2,0 Гц, 1H), 5,68 (дублет дублетов, J = 10,1, 2,0 Гц, 1H), 5,00 (квинтет, J = 6,2 Гц, 1H), 4,44 (квартет, J = 8,2 Гц, 2H), 3,85 (синглет, 3H), 3,27 - 2,99 (мультиплет, 2H), 2,87 - 2,51 (мультиплет, 6H), 2,11 (мультиплет, 2H), 1,18 - 0,91 (мультиплет, 6H).

Соединение примера 14 было синтезировано как показано в таблице 4 ниже с указанием на применение примера 13,

Таблица 4. Структура и характеристики соединения примера 14

№	Структура	Характеристики
Пример 14		$[M+H]^+$: 674,8

Пример 15

Структурная формула используемого в качестве ингибитора киназы соединения этого примера приведена ниже:

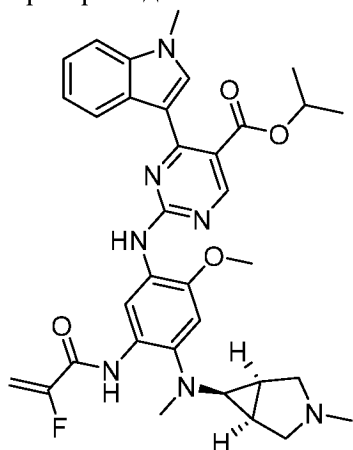
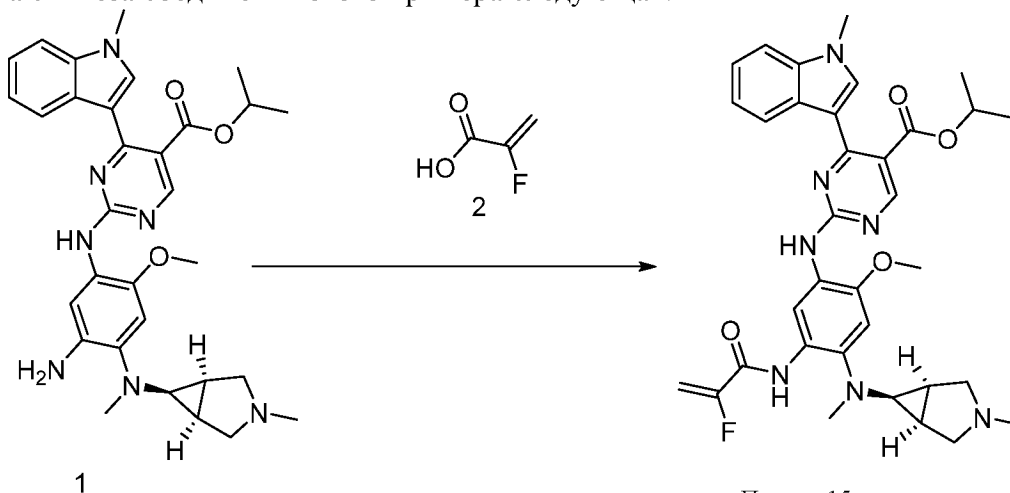


Схема синтеза соединения этого примера следующая:



Синтез соединения примера 15: в одnogорлую колбу объемом 50 мл вносили соединение 2 (112 мг, 1,24 ммоль), 20 мл дихлорметана и оксалилхлорид (142 мг, 1,12 ммоль) и перемешивали в течение 2 часов под защитой азотом. Реакционную смесь охлаждали до 0 °С, затем по каплям добавляли раствор соединения 1 (438 мг, 78,92 ммоль) в дихлорметане и

триэтилаmine (152 мг, 1,50 ммоль) и выдерживали при 0 °С в течение 1 ч. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 160 мг продукта. $[M+H]^+$: 628,8; 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 9,53 (мультиплет, 1H), 9,12 (мультиплет, 1H), 8,89 (синглет, 1H), 8,35 (мультиплет, 1H), 7,92 (синглет, 1H), 7,69 (синглет, 1H), 7,35 (дублет, $J = 8,1$ Гц, 1H), 7,23 (триплет, $J = 7,5$ Гц, 1H), 7,15 (триплет, $J = 7,5$ Гц, 1H), 6,84 (синглет, 1H), 5,84 (дублет дублетов, $J = 48,2, 3,4$ Гц, 1H), 5,28 (дублет дублетов, $J = 15,5, 3,4$ Гц, 1H), 5,04 (квинтет, $J = 6,2$ Гц, 1H), 3,92 (синглет, 6H), 3,49 (мультиплет, 2H), 2,64 (мультиплет, 9H), 2,19 (мультиплет, 2H), 1,09 (мультиплет, 6H).

Пример 16

Структурная формула используемого в качестве ингибитора киназы соединения этого примера приведена ниже:

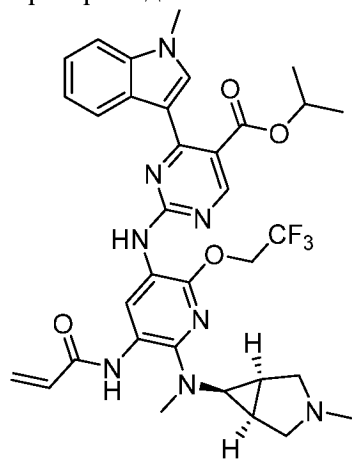
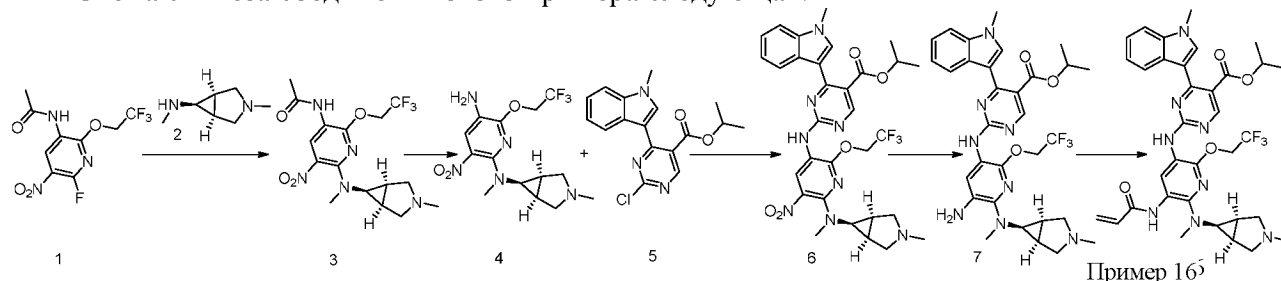


Схема синтеза соединения этого примера следующая:



Синтез соединения 3: в трехгорлую колбу объемом 100 мл вносили соединение 1 (313 мг, 1 ммоль), 5 мл ацетонитрила и первичный продукт соединения 2 (441 мг), после добавления смесь защищали азотом. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, реакция практически была завершена при 80 °С в течение ночи, полученный раствор обрабатывали с получением 300 мг продукта.

Синтез соединения 4: соединение 3 (1,83 г, 4,54 ммоль) растворяли в 60 мл метанола и добавляли 1,2 мл концентрированной хлороводородной кислоты. После добавления реакционную смесь нагревали до 60 °С и оставляли на ночь. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после ее завершения полученный раствор обрабатывали с получением 0,89 г продукта. 1H -ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 7,61 (синглет, 1H), 4,80 (квартет, $J = 8,4$ Гц, 2H), 3,57 (мультиплет, 2H), 3,10 (синглет, 3H), 3,02 (триплет, $J = 6,9$ Гц, 1H), 2,59 - 2,33 (мультиплет, 4H), 2,06 (синглет, 3H), 1,76 - 1,51 (мультиплет, 2H).

Синтез Соединения 6: в колбу объемом 100 мл добавляли соединение 4 (73,8 мг, 0,21

ммоль), соединение 5 (56 мг, 0,17 ммоль) и п-толуолсульфоновую кислоту (48 мг, 0,25 ммоль), затем добавляли 5 мл диоксана и смесь перемешивали при 80 °С в течение ночи под защитой N₂. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после ее завершения полученный раствор обрабатывали с получением 50 мг продукта. ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 9,76 (синглет, 1H), 8,90 (синглет, 1H), 7,94 (синглет, 1H), 7,80 (дублет, J = 8,0 Гц, 1H), 7,56 (синглет, 1H), 7,39 (дублет, J = 8,2 Гц, 1H), 7,33 - 7,27 (мультиплет, 1H), 7,24 - 7,17 (мультиплет, 1H), 5,10 (квинтет, J = 6,2 Гц, 1H), 4,94 (синглет, 2H), 3,93 (синглет, 3H), 3,78 (мультиплет, 2H), 3,18 (триплет, J = 6,5 Гц, 1H), 3,01 (мультиплет, 3H), 2,57 (мультиплет, 5H), 2,31 (мультиплет, 2H), 1,16 (дублет, J = 6,2 Гц, 6H).

Синтез соединения 7: соединение 6 (98 мг, 0,15 ммоль) и палладированный уголь (80 мг, влажный палладированный уголь 55 %) добавляли к смешанному растворителю из 3 мл метанола и 2 мл этилацетата и проводили реакцию при комнатной температуре в течение 2 часов в атмосфере водорода. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 98 мг продукта.

Синтез соединения примера 16: соединение 8 (300 мг, 0,48 ммоль) и триэтиламин (150 мг, 1,48 ммоль) растворяли в дихлорметане и охлаждали до 0 °С в атмосфере азота с последующим добавлением по каплям раствора акрилхлорида (70 мг, 0,77 ммоль) в дихлорметане. Реакционную смесь выдерживали при 0 °С в течение 2 ч, контролировали с помощью тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 118 мг продукта. [M+H]⁺: 688,8, ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 10,39 (синглет, 1H), 9,97 (синглет, 1H), 8,89 (синглет, 1H), 8,59 (мультиплет, 1H), 7,59 (мультиплет, 2H), 7,33 (мультиплет, 1H), 7,23 (мультиплет, 1H), 7,14 (мультиплет, 1H), 6,45 (мультиплет, 1H), 6,31 (мультиплет, 1H), 5,72 (дублет, J = 10,0 Гц, 1H), 5,01 (квинтет, J = 6,5 Гц, 1H), 4,83 (квартет, J = 8,5 Гц, 2H), 3,96 (синглет, 3H), 3,14 - 2,88 (мультиплет, 2H), 2,85 - 2,52 (мультиплет, 6H), 2,33 (синглет, 3H), 1,69 (мультиплет, 2H), 1,04 (дублет, J = 6,3 Гц, 6H),

Пример 17

Структурная формула используемого в качестве ингибитора киназы соединения этого примера приведена ниже:

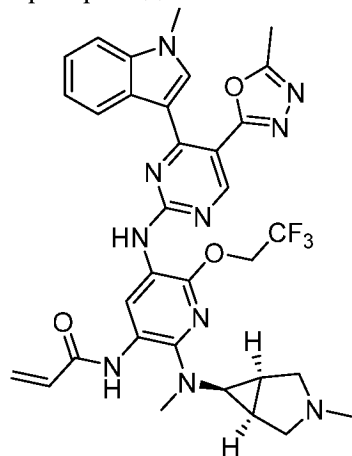
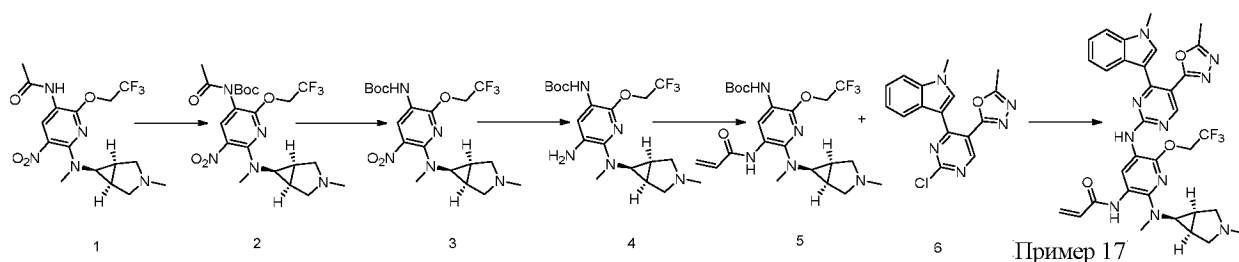


Схема синтеза соединения этого примера следующая:



Синтез соединения 2: в трехгорлую колбу объемом 100 мл вносили соединение 1 (153 мг, 0,38 ммоль), 5 мл тетрагидрофурана и 4-диметиламинопиридин (17,8 мг). После добавления смесь защищали азотом, и по каплям добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (1,06 г, 4,86 ммоль). Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, реакция практически была завершена при 80 °С в течение 2 ч, полученный раствор обрабатывали с получением 104 мг продукта.

Синтез соединения 3: Соединение 2 (104 мг, 0,21 ммоль) растворяли в 2 мл метанола и добавляли 0,05 мл раствора 5,4 моль/л метоксида натрия в метаноле, после добавления реакцию проводили в течение 30 мин. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после ее завершения полученный раствор обрабатывали с получением 30 мг продукта.

Синтез соединения 4: соединение 3 (30 мг, 0,065 ммоль) и палладированный уголь (15 мг, влажный палладированный уголь 55 %) добавляли к смешанному растворителю из 1 мл метанола и 1 мл этилацетата и проводили реакцию при комнатной температуре в течение 2 часов в атмосфере водорода. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 30 мг продукта.

Синтез соединения примера 5: соединение 4 (30 мг, 0,069 ммоль) и триэтиламин (13 мг, 0,14 ммоль) растворяли в дихлорметане и охлаждали до 0 °С в атмосфере азота с последующим добавлением по каплям раствора акрилхлорида (7 мг, 0,077 ммоль) в дихлорметане. Реакционную смесь выдерживали при 0 °С в течение 2 ч и контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 12 мг продукта.

Синтез примера 17: соединение 5 (12 мг, 0,024 ммоль), соединение 6 (6 мг, 0,018 ммоль) и *p*-толуолсульфоновую кислоту (8 мг, 0,042 ммоль) растворяли в 1 мл *N*-метилпирролидона и 2 мл монометилового эфира этиленгликоля, реакционную смесь выдерживали при 100 °С в атмосфере азота в течение 4 часов. Реакцию контролировали методом тонкослойной хроматографии, и после того, как исходный материал полностью реагировал, полученный раствор обрабатывали с получением 3 мг продукта. $[M+H]^+$: 675,8, ¹H-ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ 10,42 (синглет, 0H), 9,97 (синглет, 0H), 8,91 (синглет, 0H), 8,70 (мультиплет, 1H), 7,68 (синглет, 1H), 7,33 (дублет, J = 8,2 Гц, 0H), 7,18 (мультиплет, 1H), 6,99 (мультиплет, 1H), 6,45 (мультиплет, 1H), 6,33 (мультиплет, 1H), 5,73 (мультиплет, 1H), 5,35 (мультиплет, 1H), 4,85 (мультиплет, 2H), 3,99 (синглет, 3H), 3,05 (мультиплет, 2H), 2,78 (мультиплет, 1H), 2,62(мультиплет, 2H), 2,35 (синглет, 3H), 2,22 (синглет, 3H), 2,10 - 1,95 (мультиплет, 2H),

II. Биологическое тестирование и оценка соединений

1. Тестирование действия соединений на клеточную пролиферацию

1.1 Тестирование ингибирующего действия на клетки с инсерционными мутациями

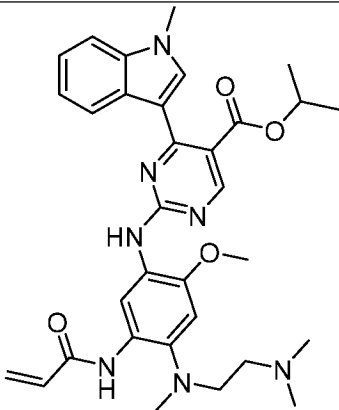
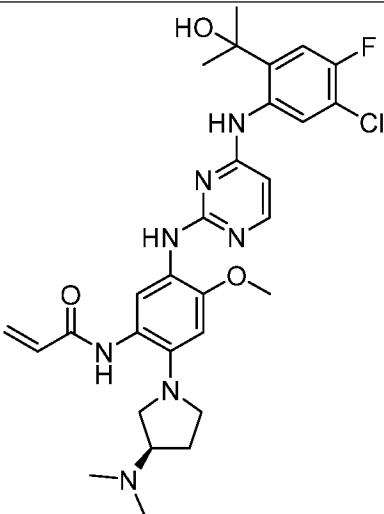
экзона 20 EGFR и HER2

Выбранные генно-инженерные клеточные линии Ba/F3-FL-EGFR-V769-D770 ins ASV, Ba/F3-FL-EGFR-D770-N771 ins SVD, Ba/F3-FL-EGFR-H773-V774 ins NPH, Ba/F3-FL-EGFR-A763-Y764 ins FQEA и Ba/F3-HER2-A775-G776 ins YVMA были предоставлены компанией Hefei PreceDo Biomedical Technology Co., Ltd и перед использованием в настоящем исследовании были валидированы.

Готовили 20× маточный раствор исследуемого соединения с 9 концентрациями при 3-кратном градиентном разведении, начиная с концентрации 1 мкМ.

Суспензию клеток в логарифмической фазе роста высевали в 96-луночный культуральный планшет в объеме 95 мкл на лунку (2000 клеток/лунку). 5 мкл 20× раствора исследуемого соединения вносили в лунки планшета, содержащие 95 мкл суспензии клеток, в соответствии со схемой планшета и тщательно перемешивали. Планшет инкубировали в термостате в атмосфере с 5 % CO₂ при температуре 37 °С в течение 72 ч. Ингибирующее действие соединений на пролиферацию клеток определяли методом CellTiter-Glo, а значение флуоресценции на лунку, RLU, получали с помощью прибора SpectraMax Paradigm. Уровень ингибирования определяли по следующей формуле: (Инг%)=100 - (RLU соединения - RLU холостого контроля)/(RLU положительного контроля - RLU холостого контроля) * 100 %. Жизнеспособность клеток при различных концентрациях соединений рассчитывали в EXCEL, а затем с помощью программного обеспечения GraphPad Prism строили кривую жизнеспособности клеток и вычисляли значение IC₅₀. Названия и структуры контрольных соединений приведены в таблице 5.

Таблица 5. Названия и структуры контрольных соединений

Название	TAK-788	DZD9008
Структура		

В экспериментальных результатах, представленных в таблицах 6, 7 и 8, значения IC₅₀ были разделены на 3 группы в зависимости от их значений, A ≤ 30 нМ, 30 нМ < B ≤ 100 нМ и C > 100 нМ.

Таблица 6. Результаты тестирования влияния различных соединений на пролиферацию клеток с инсерционными мутациями экзона 20 EGFR

Соединение	Ba/F3-FL-EGFR
------------	---------------

	V769-D770ins ASV	D770-N771ins SVD	H773-V774ins NPH	A763-Y764ins FQEA
DZD-9008	A	B	B	A
ТАК-788	A	A	A	A
Пример 1	A	A	A	A
Пример 2	A	A	A	A
Пример 3	A	A	A	A
Пример 5	A	A	A	A
Пример 7	A	A	A	A
Пример 8	A	A	A	A

Таблица 7. Результаты тестирования ингибирующей активности различных соединений в отношении клеток с инсерционной мутацией экзона 20 HER2

Соединение	DZD9008	ТАК-788	Пример 1	Пример 5
Va/F3-HER2-A775-G776 ins YVMA	B	A	A	A

Как видно из таблицы 6, все соединения в примерах показали превосходное ингибирование инсерционных мутаций экзона 20 EGFR, превосходящее ингибирование DZD9008 и сопоставимое с активностью ТАК-788. Как видно из таблицы 7, активность соединения примера 5 в отношении инсерционных мутаций экзона 20 HER2 сопоставима с активностью ТАК-788 и превосходит активность DZD9008.

1.2 Тестирование ингибирующего действия соединений на пролиферацию клеток в клеточных линиях NCI-H1975 и PC9

Клеточные линии NCI-H1975 и PC9, выбранные для экспериментов, были предоставлены китайско-американской компанией Guanke Biotechnology (Beijing) Co. и были валидированы перед использованием в настоящем исследовании.

Готовили 10× маточный раствор исследуемого соединения с 9 концентрациями при 4-кратном градиентном разведении, начиная с концентрации 10 мкМ.

Суспензию клеток в логарифмической фазе роста высевали в 96-луночный культуральный планшет в объеме 90 мкл на лунку (2000 клеток/лунку). 10 мкл 10× раствора исследуемого соединения вносили в лунки планшета в соответствии со схемой планшета и тщательно перемешивали. Планшет инкубировали в термостате в атмосфере с 5 % CO₂ при температуре 37 °С. Ингибирующую пролиферацию активность соединения определяли методом CellTiter-Glo. Уровень ингибирования клеточной пролиферации (Inhibition Rate) определяли с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 для кривых жизнеспособности клеток, рассчитывали значения IC₅₀. Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8. Результаты тестирования ингибирующей активности различных соединений в отношении клеток с ассоциированными мутациями

Соединение	DZD9008	ТАК-788	Пример 1	Пример 5
NCI-H1975	A	A	A	A
PC9	B	A	A	A

Как видно из таблицы 8, соединения по настоящему изобретению обладают высокой ингибирующей активностью в отношении клеток клеточных линий NCI-H975 и PC9, превосходя активность DZD9008.

2. Фармакодинамические исследования соединений *in vivo*

2.1 Фармакодинамическое исследование в модели рака легкого LU0387PDX

Модель рака легких LU0387PDX - это широко используемая модель опухоли с ксенотрансплантатом компании Crown Bioscience, экспериментальный подход в этой модели описывается следующим образом: после эвтаназии мышей с опухолями опухолевые блоки препарировали в асептическом состоянии, блоки очищали для удаления крови, соединительной ткани и некротических участков, разрезали на небольшие кусочки размером 2*2*2 мм³ и инокулировали адаптерной иглой стерилизованным экспериментальным мышам подкожно с правой стороны спины. Размер опухоли регулярно измеряли, и когда опухоли достигали среднего объема 100 ~ 200 мм³, мышей распределяли в группы случайным образом в соответствии с объемом опухоли и массой тела для введения препарата. Перед началом введения препарата всех животных взвешивали и измеряли объем опухоли штангенциркулем. Мышей распределяли в группы случайным образом в соответствии с объемом опухоли, чтобы гарантировать, что объемы опухолей в различных группах одинаковы. Препараты вводили трем мышам в каждой группе перорально один раз в день, наблюдали место инокуляции после введения. Объем опухоли и массу тела мышей измеряли два раза в неделю.

Дизайн и результаты эксперимента представлены в таблице 9, где п/о: пероральное введение; TGI (уровень ингибирования объема опухоли) = $(1 - \text{масса опухоли в группе лечения} / \text{масса опухоли в контрольной группе}) * 100 \%$.

Таблица 9. Дизайн и результаты эксперимента в модели LU0387

Группа	Доза препарата	Способ применения	TGI (%)
1 Контрольная группа, плацебо	/	п/о, один раз в день * 13 дней	/
2 Пример 1	30 мг/кг	п/о, один раз в день * 13 дней	79,01
3 Пример 1	50 мг/кг	п/о, один раз в день * 13 дней	97,44
4 TAK-788	30 мг/кг	п/о, один раз в день * 13 дней	68,03
5 Пример 5	30 мг/кг	п/о, один раз в день * 13 дней	66,90
6 DZD-9008	30 мг/кг	п/о, один раз в день * 13 дней	32,55

В ходе эксперимента объем опухоли изменялся в зависимости от дней введения, результаты представлены на фиг. 1.

Как видно на фиг. 1, эффективность примера 1 в модели LU0387 была выше, чем у TAK-788 и DZD9008 в той же дозе. Эффективность соединения примера 5 была аналогична эффективности TAK-788. По мере увеличения дозы соединения примера 1 эффективность также значительно увеличивалась.

2.2 Фармакодинамическое исследование генно-инженерной линии клеток Ba/F3-EGFR-D770_N771 ins SVD *in vivo* в модели подкожного ксенотрансплантата

Клеточную линию Ba/F3 EGFR D770_N771 ins SVD культивировали при 37 °С, в атмосфере с 5 % CO₂ в среде RPMI1640 с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки и 1 % двойных антител и пересеивали 2–3 раза в неделю. Когда сатурация клеток достигала 80–90 % и количество клеток соответствовало требованиям, клетки собирали. 0,2 мл ($1 * 10^6$) клеток подкожно вводили в правую часть спины 6-8-недельных самок голых мышей массой 18–22 г. Когда средний объем опухоли достигал примерно 150–200 мм³, животных

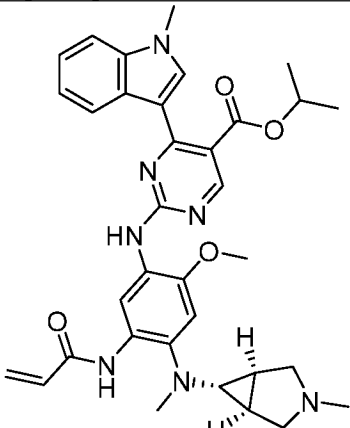
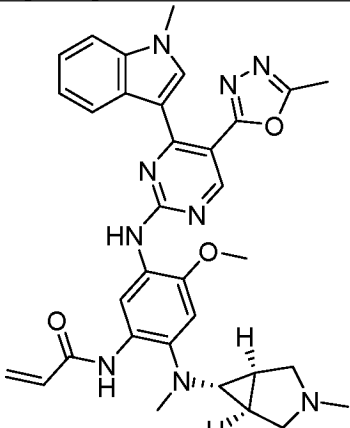
распределили по группам и начали введение препарата. Перед началом введения препарата всех животных взвешивали и измеряли объем опухоли штангенциркулем. Мышей распределяли в группы случайным образом в соответствии с объемом опухоли, чтобы гарантировать, что объемы опухолей в различных группах одинаковы. Препараты вводили трем мышам в каждой группе перорально один раз в день, наблюдали место инокуляции после введения. Объем опухоли и массу тела мышей измеряли два раза в неделю.

Таблица 10. Группа моделей Ba/F3 EGFR D770_N771 ins SVD

Группа	Доза препарата	Способ применения	TGI (%)
1	Контрольная группа, плацебо	/	/
2	Пример 1	30 мг/кг	61,08
3	Пример 40	30 мг/кг	37,84
4	Пример 5	30 мг/кг	59,51
5	Пример 18	30 мг/кг	32,22

Соединения в примерах 18 и 40 в таблице представляли собой соединения, имеющие структуру транс-3-членного-5-членного амина с сочлененными кольцами из заявки WO2021180238. Названия и структуры приведены в таблице 11.

Таблица 11. Названия и структуры транс-структурных соединений

Название	Пример 40	Пример 18
Структура		

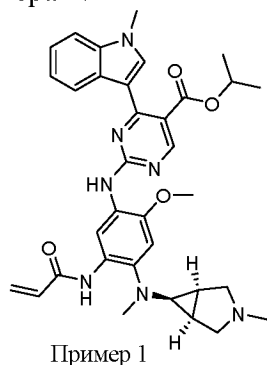
В ходе эксперимента объем опухоли изменялся в зависимости от дней введения, результаты представлены на фиг. 2.

Как видно на фиг. 2, в модели трансплантации клеток Ba/F3-EGFR-D770_N771 ins SVD эффективность *in vivo* соединений примера 1 и примера 5 в одной и той же дозе была значительно лучше, чем эффективность соединений с транс-3-членной-5-членной структурой амина с сочлененными кольцами в заявке WO2021180238, при этом уровень ингибирования опухоли увеличилась более чем в 1,6 раза.

Таким образом, соединения в настоящем изобретении обладают выраженным

ингибирующим действием на инсерционную мутацию экзона 20 EGFR или HER2, а также оказывают выраженное ингибирующее действие на пролиферацию клеточных линий NCI-H1975 и PC9; и оказывают выраженное ингибирующее действие на одну или комбинацию двух или более следующих мутаций: инсерционная мутация экзона 20 EGFR, инсерционная мутация экзона 20 HER2, делеция экзона 19 EGFR, точечная мутация экзона 21 EGFR и точечная мутация экзона 20 EGFR, и ожидается, что лекарственные препараты на их основе будут оказывать превосходящее терапевтическое действие при родственных заболеваниях.

III. Подтверждение структуры и исследование кристаллизации свободного основания примера 1.



1. Подтверждение структуры

214 мг соединения примера 1 добавляли к 0,5 мл дихлорметана и 0,5 мл ацетонитрила, растворяли до прозрачности и фильтровали; фильтрат помещали в запечатанный флакон для образцов, затем перфорировали мембрану и помещали флакон в вытяжной шкаф для медленного испарения с получением зернистых кристаллов (кристаллическая форма I свободного основания). Для подтверждения структуры использовали дифракцию монокристаллов, результаты анализа представлены на фиг. 3, они подтвердили конформацию соединения.

2. Исследование кристаллической формы свободного основания примера 1

Соединение, полученное в примере 1, подвергали поликристаллическому скринингу для поиска его потенциальной кристаллической формы с целью нахождения наиболее оптимальной кристаллической формы, пригодной для последующей разработки. В качестве исходного материала взяли соединение примера 1, полученное путем синтеза, соединение было обнаружено и установлено, что оно представляет собой кристалл с хорошей кристаллическостью и безводной кристаллической формой, которая была обозначена как кристаллическая I форма свободного основания. Аморфное соединение свободного основания впоследствии получали методом сухого измельчения. Эти два типа были использованы в качестве исходных материалов для проведения экспериментов по скринингу кристаллической формы.

2.1 Приготовление и характеристики исходных материалов

2.1.1 Характеристики кристаллической формы I свободного основания соединения примера 1

Исходный материал кристаллической формы I свободного основания примера 1 полностью охарактеризован. При поляризованной световой микроскопии (PLM) исходный материал представлял собой кристаллы неправильной формы с хорошей кристаллическостью. На фиг. 4 показаны характеристики XRPD кристаллической формы I свободного основания, на

фиг. 5 показаны характеристики перекрытия DSC и TGA кристаллической формы. Кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) имеет один эндотермический пик при 230 °С, который должен быть пиком плавления. Кривая термогравиметрического анализа (TGA) не показывает очевидной потери массы перед разложением, что указывает на то, что кристаллическая форма является безводной кристаллической формой.

Таблица 12. Данные пиков рентгеновской дифракции порошка кристаллической формы I свободного основания

2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)
6,195	3,2	18,163	9,2	27,562	9,7
9,071	16,3	18,660	40,5	28,603	1,3
9,765	52,8	18,964	11,2	29,112	4,0
10,488	100,0	20,067	54,3	29,693	2,4
11,530	13,4	21,103	23,6	30,264	4,1
11,795	25,8	21,399	6,4	30,659	4,3
12,912	11,6	21,833	5,2	31,192	3,2
13,181	3,6	22,397	5,4	31,703	1,7
13,788	7,2	23,290	28,3	32,799	4,1
14,667	15,6	24,164	30,4	34,024	1,3
15,076	18,9	24,512	2,5	35,238	2,2
15,629	26,0	25,171	8,9	37,325	1,6
16,537	91,8	25,897	73,2	38,347	0,8
17,495	18,1	27,032	7,6		

2.1.2 Тестирование растворимости кристаллической формы I свободного основания соединения примера 1

Растворимость кристаллической формы I свободного основания примера 1 определяли приблизительно при визуальном контроле в 18 растворителях при комнатной температуре. Результаты представлены в таблице 13. Кристаллическая форма I свободного основания была хорошо растворима только в дихлорэтане и дихлорметане и плохо растворима в большинстве испытанных растворителей.

Таблица 13. Результаты визуального контроля растворимости кристаллической формы I свободного основания примера 1

Номер	Растворитель	Растворимость, мг/мл	Номер	Растворитель	Растворимость, мг/мл
1	Дихлорметан	>107	10	1,4-Диоксан	<0,27
2	Дихлорэтан	61,75–123,50	11	трет- Бутилметилвый эфир	<0,33
3	N- метилпирролидон	18,25–27,38	12	Этилацетат	<0,29
4	Ацетон	2,22–4,44	13	Метанол	<0,40

5	Диметилсульфоксид	2,60–2,93	14	Изопропилацетат	<0,30
6	Бутанон	2,78–4,44	15	Циклогексан	<0,33
7	Тетрагидрофуран	2,55–3,19	16	Вода	<0,27
8	Ацетонитрил	0,93–1,01	17	Изопропанол	<0,35
9	Этанол	<0,30	18	н-Гептан	<0,30

2.1.3 Приготовление и характеристики аморфного исходного материала

Взвешивали 736 мг соединения примера 1 (кристаллическая форма I свободного основания) и измельчали сухим способом в течение 5 часов, чтобы получить 669,86 мг аморфного продукта. Проводили анализ XRPD, результаты которого представлены на фиг. 6.

2.2. Использование и параметры приборов физико-химической детекции, применяемых при определении характеристик

2.2.1 Рентгеновская порошковая дифрактометрия (XRPD)

Дифракционные характеристики XRPD определяли с помощью прибора Bruker D2 Phaser. Измеряемый образец помещали на гладкую кремниевую бесфоновую подложку для образцов. Параметры измерений приведены в таблице 14.

Таблица 14. Параметры рентгеновской порошковой дифрактометрии

Прибор	Bruker, D2 Phaser	Напряжение/ток трубки	30 кВ/10 мА
Длина волны излучения	Cu K α (=1,5418 Å)	Аксиальная щель Соллера главного оптического пути	2,5°
Режим считывания	Измерение за шаг	Аксиальная щель Соллера вторичного оптического пути	2,5°
Ось сканирования	θ s- θ d	Приемная щель	5,827°
Угол сканирования	3–40° (2 θ)	Ширина щели расходимости	0,6 мм
Шаг сканирования	0,02° (2 θ)	Антирассеивающая щель	0 мм
Скорость сканирования	0,2 с/шаг	Вращение	Открыто

2.2.2 Поляризационная микроскопия (PLM)

Поляризационную микроскопию проводили с помощью оптического микроскопа Ortec ВК-Pol. Брали небольшое количество образца отбирали и помещали его на предметное стекло, диспергировали каплей силиконовой смазки, затем накрывали предметным стеклом и микроскопически анализировали.

2.2.3 Дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC)

Кривые DSC были получены с использованием прибора модели DSC 250 производства компании TA Instruments. Методика испытаний с использованием прибора модели DSC 250 заключалась в следующем: соответствующее количество образца точно взвешивали в перфорированном алюминиевом тигле, повышали температуру с 25 °С до конечной температуры 300 °С со скоростью увеличения 10 °С/мин и продували газообразным азотом со

скоростью потока 50 мл/мин.

2.2.4 Термогравиметрический анализ (TGA)

Данные TGA были получены с использованием прибора модели TGA 550 производства компании TA Instruments. Соответствующее количество образца помещали в алюминиевый тигель, который предварительно очищали, и повышали температуру с комнатной до 300 °С со скоростью увеличения 10 °С/мин, компенсационную камеру продували азотом со скоростью потока 40 мл/мин, а камеру для образцов продували азотом со скоростью потока 25 мл/мин.

2.3 Исследование поликристаллических форм свободного основания соединения примера 1

В основном он был получен путем трансформации суспензии кристаллов, осаждения антирастворителем, высоко-/низкотемпературных циклов и испарительной кристаллизации.

Трансформацию суспензии кристаллов проводили по результатам визуальной оценки растворимости соединения примера 1, а в качестве исходных материалов использовали кристаллическую форму I свободного основания и аморфную кристаллическую форму при 25 °С и 50 °С, соответственно, а приготовление кристаллических форм проводили в одном из растворителей (дихлорметан, 1,4-диоксан, дихлорэтан, трет-бутилметиловый эфир, N-метилпирролидинон, этилацетат, ацетон, метанол, диметилсульфоксид, изопропилацетат, бутанон, циклогексан, тетрагидрофуран, вода, ацетонитрил, изопропанол, этанол, n-гептан) или смешанном растворителе. Всего были получены две кристаллические формы: кристаллическая форма I свободного основания и кристаллическая форма II свободного основания.

Осаждение антирастворителем проводили на основе результатов визуальной растворимости соединения примера 1 с использованием дихлорметана и дихлорэтана в качестве хороших растворителей, а затем добавляли к каждому из них различные антирастворители при перемешивании при комнатной температуре (~25 °С) для получения кристаллических форм. Всего были получены две кристаллические формы: кристаллическая форма I свободного основания и кристаллическая форма III свободного основания.

Высоко-/низкотемпературные циклы проводили после добавления растворителя (дихлорметана, 1,4-диоксана, дихлорэтана, трет-бутилметилового эфира, N-метилпирролидона, этилацетата, ацетона, метанола, диметилсульфоксида, изопропилацетата, бутанона, циклогексана, тетрагидрофурана, воды, ацетонитрила, изопропанола, этанола и n-гептана) к соединению, а затем перемешивали при температурном цикле 50 °С ~ 5 °С для получения кристаллических форм. Всего были получены две кристаллические формы: кристаллическая форма I свободного основания и кристаллическая форма II свободного основания.

Испарительную кристаллизацию проводили путем добавления растворителя к соединению, полученный раствор фильтровали, а фильтрат по каплям добавляли во флакон для образцов, который укупоривали уплотнительной мембраной и помещали в вытяжной шкаф для медленного испарения после перфорации уплотнительной мембраны, которой было покрыто горлышко флакона. Всего были получены две кристаллические формы: кристаллическая форма I свободного основания и кристаллическая форма IV свободного основания. Кристаллическую форму IV свободного основания нагревали до 150 °С для растворения и получали новую кристаллическую форму, обозначенную как кристаллическая

форма V свободного основания.

2.3.1 Приготовление и характеристики кристаллической формы свободного основания

Кристаллическая форма I свободного основания может быть получена в большинстве растворителей, и соединение, полученное в примере 1, представляет собой кристаллическую форму I свободного основания. Результаты определения характеристик представлены на фиг. 4 и 5.

2.3.2 Приготовление и характеристики кристаллической формы II свободного основания

Кристаллическая форма IV свободного основания может быть получена в определенной системе растворителя, содержащего этанол, с использованием аморфного соединения в качестве исходного материала. Кристаллическая форма II свободного основания может быть получена путем трансформации суспензии кристаллов в этаноле без добавок. Результаты определения характеристик представлены на фиг. 7 и фиг. 8, кривая DSC кристаллической формы II свободного основания имеет два эндотермических пика при 124 °C и 230 °C, кривая TGA показывает потерю массы 4,48 % при изменении температуры от 65 до 150 °C, кристаллическая форма II свободного основания получена в системе растворителя-этанола. Было сделано заключение о том, что кристаллическая форма II свободного основания является сольватом этанола. Эндотермический пик при 124 °C на кривой DSC является пиком десольватации.

Таблица 15. Данные пиков рентгеновской дифракции порошка кристаллической формы II свободного основания

2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)
5,298	2,5	17,215	3,2	24,233	5,8
8,075	1,8	17,593	11,1	24,596	1,7
9,092	100,0	18,077	2,7	24,918	16,7
9,720	36,1	18,367	9,0	25,162	2,3
10,036	5,4	19,031	10,8	26,067	6,8
10,843	31,1	19,313	2,4	26,337	14,7
11,151	22,9	19,608	8,3	26,658	2,7
11,975	3,6	19,778	9,1	27,011	5,1
13,483	2,4	20,083	37,7	27,268	1,6
13,853	6,7	20,614	2,5	28,449	2,2
14,036	9,1	21,573	2,8	29,643	5,0
14,621	37,5	21,839	8,8	31,371	2,0
15,440	14,1	22,443	6,9	32,074	2,9
15,922	49,1	22,943	10,8	33,583	1,0
16,417	20,2	23,213	7,6	36,957	1,1
17,018	1,9	23,865	54,8		

2.3.3 Приготовление и характеристики кристаллической формы III свободного основания

Кристаллическая форма III свободного основания может быть получена в некоторых системах растворителей, содержащих изопропанол, а при получении кристаллической формы путем осаждения антирастворителем кристаллическая форма III свободного основания была обнаружена в системах дихлорметан/изопропанол или дихлорэтан/изопропанол. Результаты определения характеристик показаны на фиг. 9 и фиг. 10. Кривая DSC кристаллической формы II свободного основания имеет два эндотермических пика при 121 °С и 230 °С, кривая TGA показывает потерю массы 9,57 % при изменении температуры от 75 до 145 °С, кристаллическая форма I свободного основания получена после десольватации путем нагрева до 150 °С, как показано с помощью XRPD. Кристаллическая форма III свободного основания получена в системе растворителя-изопропанола. Таким образом, было сделано заключение о том, что кристаллическая форма III свободного основания является сольватом изопропанола, а эндотермический пик при 121 °С на кривой DSC является пиком десольватации.

Таблица 16. Данные пиков рентгеновской дифракции порошка кристаллической формы III свободного основания

2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)
8,169	1,1	17,487	1,1	24,678	2,1
8,972	100,0	18,041	12,1	24,880	5,8
9,758	12,6	18,526	7,0	25,204	1,4
10,576	6,6	19,596	4,2	25,973	1,0
10,793	3,2	19,769	16,7	26,204	7,3
11,088	13,6	19,934	2,9	26,978	1,0
11,713	2,9	20,602	0,5	27,210	1,0
13,736	1,8	21,403	3,3	27,941	0,7
14,157	2,3	21,732	0,8	28,464	1,1
14,689	9,0	22,331	4,6	29,615	1,3
15,701	12,2	22,712	4,1	31,181	2,0
16,281	5,2	23,155	1,9	31,794	2,7
16,565	1,1	23,377	3,0	32,597	0,7
17,080	7,0	23,741	26,6		

2.3.4 Приготовление и характеристики кристаллической формы IV свободного основания

Кристаллическая форма IV свободного основания может быть получена в определенной системе растворителя, содержащего дихлорэтан. Взвешивали 92,28 мг исходного материала и добавляли его во флакон для образцов, добавляли 5,0 мл дихлорэтана для его растворения, верхнюю часть флакона с образцом покрывали герметичной мембраной, перфорировали ее, а затем помещали в вытяжной шкаф для медленного испарения, таким образом, кристаллическую форму IV готовили методом испарительной кристаллизации. Результаты определения характеристик представлены на фиг. 11 и фиг. 12, кривая DSC кристаллической формы IV свободного основания имеет два эндотермических пика при 108 °С и 231 °С, кривая TGA показывает потерю массы 10,41 % при изменении температуры от 25 до 150 °С. Результаты ¹H-ЯМР показали только 6,14 % остатка растворителя дихлорэтана, из чего можно

сделать заключение, что образец может содержать 4,27 % воды. Таким образом, можно сделать вывод, что кристаллическая форма IV свободного основания может быть сольватом смеси дихлорэтана и воды.

Таблица 17. Данные пиков рентгеновской дифракции порошка кристаллической формы IV свободного основания

2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)
4,761	100,0	15,402	5,1	19,759	3,0
5,460	55,1	15,567	4,8	21,310	1,2
8,619	31,7	16,029	3,3	21,781	6,9
9,174	2,0	16,337	14,1	22,612	6,1
9,595	5,7	16,659	9,6	22,984	6,0
9,962	3,0	16,938	11,7	23,420	7,4
10,804	5,4	17,540	1,8	23,839	1,3
11,012	1,9	17,845	2,5	25,136	2,9
11,618	5,4	18,502	4,9	25,511	2,5
14,435	5,3	19,109	11,7	26,272	6,6
15,099	2,1	19,311	53,9		

2.3.5 Приготовление и характеристики кристаллической формы V свободного основания

Кристаллическая форма IV свободного основания была охарактеризована методом XRPD после десольватации при нагревании до 150 °С, результаты показали, что она трансформировалась в новую кристаллическую форму, обозначенную как кристаллическая форма V свободного основания. Результаты определения характеристик представлены на фиг. 13 и фиг. 14, кривая DSC кристаллической формы V имеет эндотермический пик при 231 °С, а кривая TGA не показывает очевидной потери массы перед разложением. Таким образом, можно сделать вывод, что кристаллическая форма V со свободным основанием должна быть безводной кристаллической формой.

Таблица 18. Данные пиков рентгеновской дифракции порошка кристаллической формы V свободного основания

2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)	2θ (°) ± 0,2	Относительная интенсивность (100 %)
5,622	100,0	16,363	14,9	22,903	33,3
8,021	20,5	16,726	13,1	23,526	12,3
8,328	5,9	16,935	17,0	24,074	3,5
8,706	14,1	17,756	2,6	25,048	2,5
9,243	12,9	18,486	3,7	26,027	17,5
9,743	1,5	18,907	10,8	26,335	5,8
10,776	6,9	19,214	14,4	26,877	6,4
11,341	21,2	19,630	4,7	27,111	4,5
11,638	7,9	19,924	4,1	27,481	1,6

12,159	13,0	20,980	5,7	28,113	2,7
15,082	24,3	21,382	11,5	29,449	3,1
15,409	6,4	21,671	1,9	30,927	2,9
15,815	41,6	22,054	4,4	33,106	3,4

3. Кристаллографическая оценка кристаллической формы I свободного основания

В процессе скрининга были обнаружены только два вида безводных кристаллических форм: кристаллическая форма I свободного основания и кристаллическая форма V свободного основания. Для приготовления насыщенных растворов использовали два растворителя, ацетон и ацетонитрил, а затем при 25 °С или 50 °С подвергали конкурентному суспендированию, на основании полученных результатов можно сделать заключение, что кристаллическая форма I свободного основания может быть термодинамически стабильной кристаллической формой соединения. Кристаллическую форму V свободного основания получили не непосредственно в скрининговых экспериментах, а только в результате десольватации кристаллической формы IV свободного основания. По этой причине кристаллографической оценке подвергали только кристаллографическую I свободного основания, включая сухое измельчение, мокрое измельчение, прессование таблеток (30 МПа), исследования стабильности и гигроскопичности.

Методом измельчения установлено, что кристаллическая форма I свободного основания переходит в аморфное состояние после 5 мин сухого измельчения; после 5 мин мокрого измельчения с водой существенного изменения кристалличности не наблюдалось; незначительное снижение кристалличности наблюдалось после 5 мин мокрого измельчения с этанолом.

В эксперименте по прессованию таблеток при давлении 30 МПа кристалличность несколько снижалась.

В эксперименте по определению стабильности кристаллическую форму I свободного основания оставляли открытой при 80 °С в течение 3 дней, 60 °С в течение 7 дней, 25 °С/60 % относительной влажности в течение 7 дней, 40 °С/75 % относительной влажности в течение 7 дней и 25 °С/90 ± 5 % относительной влажности в течение 7 дней и брали образцы для анализа методом XRPD. Установлено, что существенного изменения кристаллической формы I свободного основания не происходит, и результаты жидкостной хроматографии не изменились.

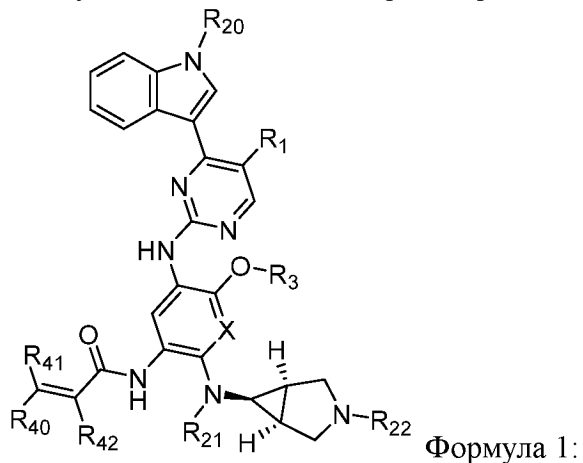
Тестирование динамической адсорбции водяного пара (DVS) проводили с использованием кристаллической формы I свободного основания. Результаты показали, что кристаллическая форма I свободного основания была незначительно гигроскопичной с увеличением массы за счет поглощения воды на 0,66 % при относительной влажности 80 %.

Таким образом, пространственная конфигурация такого соединения формулы 1 была определена и, в частности, точно определена пространственная структура соединения примера 1. В кристаллографических скрининговых исследованиях, проведенных с использованием соединения примера 1, были обнаружены в общей сложности две безводные кристаллические формы (кристаллическая форма I свободного основания и кристаллическая форма V свободного основания) и три сольвата (кристаллическая форма II свободного основания, кристаллическая форма III свободного основания и кристаллическая форма IV свободного основания). В этом эксперименте показано, что кристаллическая форма I свободного основания представляет собой более стабильную безводную кристаллическую форму со стабильными твердофазными свойствами и небольшой гигроскопичностью, которая может

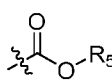
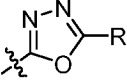
быть использована для последующей разработки лекарственных препаратов.

Формула изобретения

1. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы, отличающееся тем, что соединение для использования в качестве ингибитора киназы представляет собой соединение с формулой 1 или его дейтерированное соединение, или фармацевтически приемлемую соль, сольват или пролекарство:



в формуле 1 X обозначает СН и N;

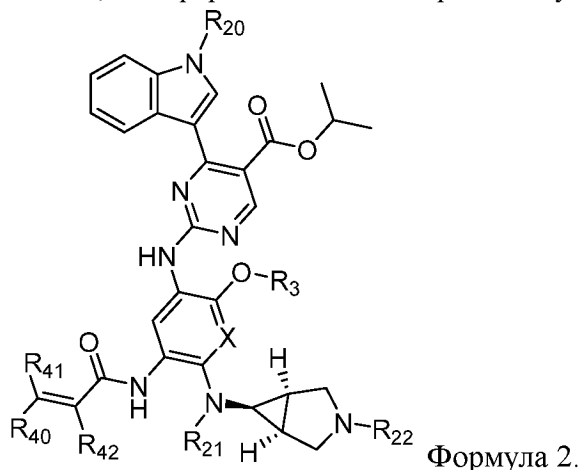
R₁ обозначает  или , R₅ обозначает H, C1-C3алкил или C1-C3фторалкил;

R₂₀, R₂₁ и R₂₂ независимо друг от друга обозначают метил или дейтерометил;

R₃ обозначает C1-C3алкил или C1-C3галоалкил; и

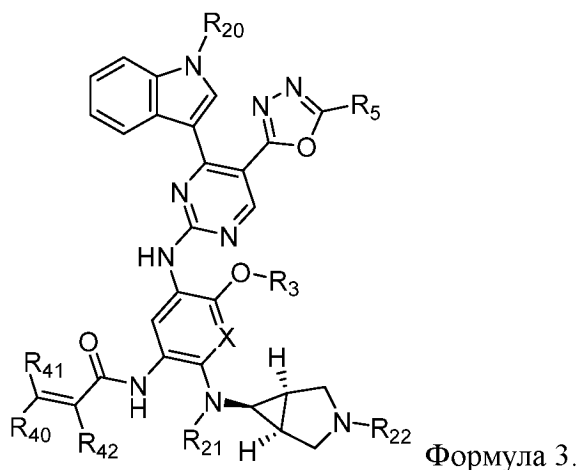
R₄₀, R₄₁ и R₄₂ независимо друг от друга обозначают H, D или F.

2. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы по п. 1, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение с формулой 2 или его дейтерированное соединение, или фармацевтически приемлемую соль, сольват или пролекарство:



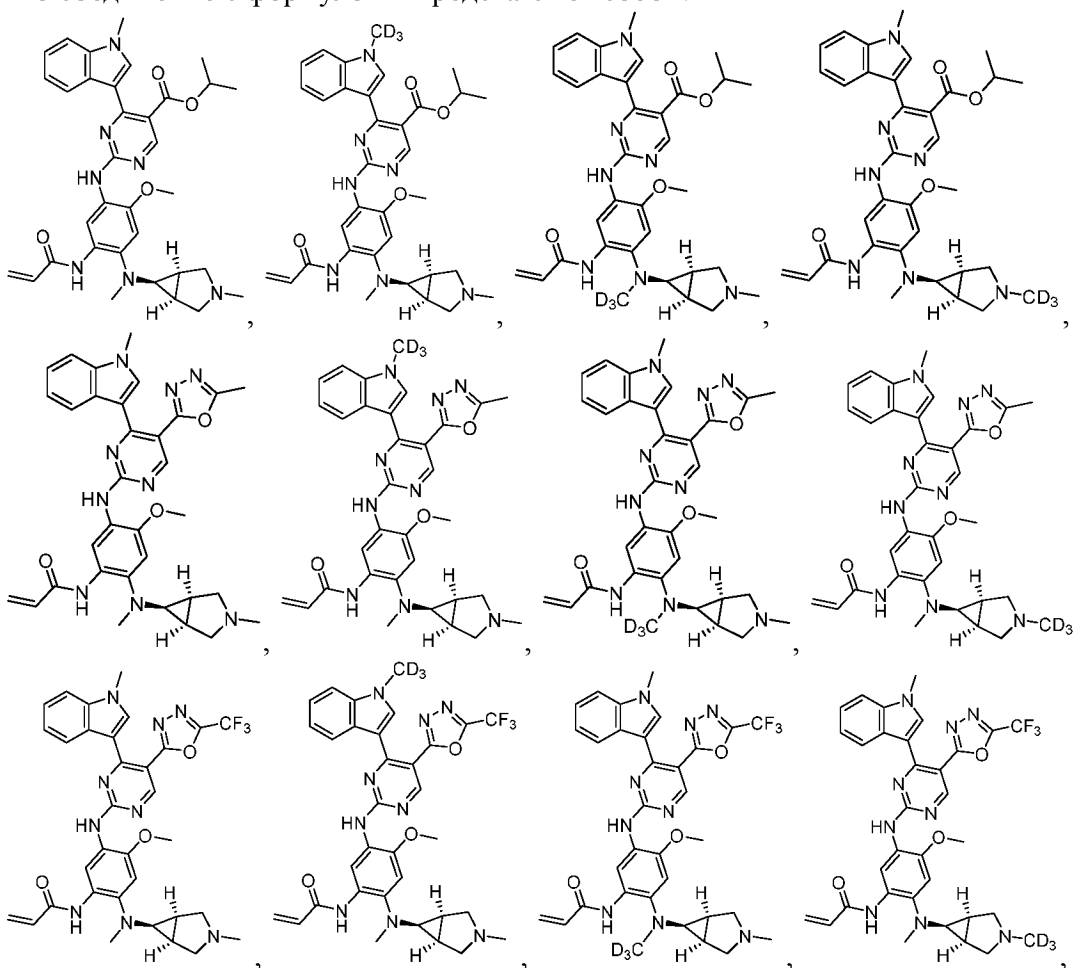
3. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы по п. 2, отличающееся тем, что в формуле 2 X обозначает СН или N; R₃ обозначает -CH₃, -CH₂CH₃ или -CH₂CF₃; R₄₀ и R₄₁ обозначают H, а R₄₂ обозначает H или F.

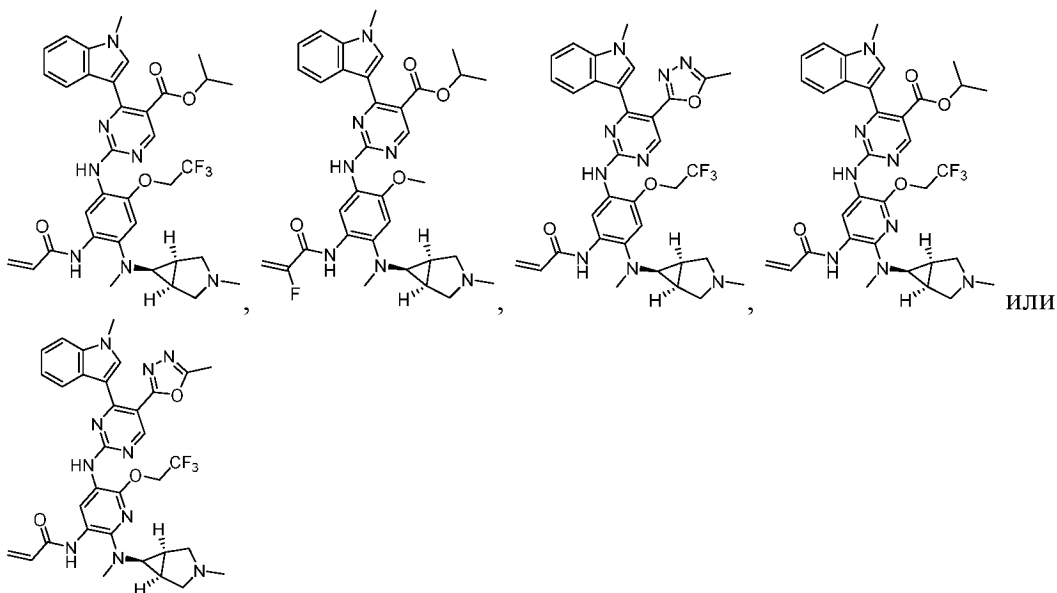
4. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы по п. 1, отличающееся тем, что соединение представляет собой соединение с формулой 3 или его дейтерированное соединение, или фармацевтически приемлемую соль, сольват или пролекарство:



5. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы по п. 4, отличающееся тем, что в формуле 3 X обозначает CH или N; R₃ обозначает -CH₃, -CH₂CH₃ или -CH₂CF₃; R₄₀ и R₄₁ обозначают H, R₄₂ обозначает H или F, а R₅ обозначает -CH₃ или -CF₃.

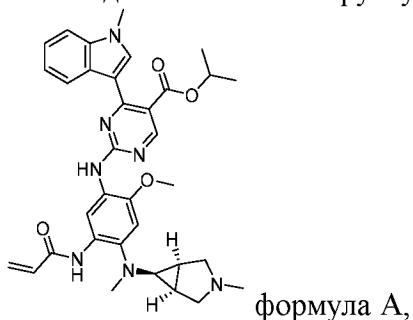
6. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы по п. 1, отличающееся тем, что соединение с формулой 1 представляет собой:





7. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы по любому из пп. 1–6, отличающееся тем, что соединение представляет собой кристаллическое или аморфное соединение или сольват; растворитель, содержащийся в сольвате, представляет собой неводный растворитель или смесь неводного растворителя и воды.

8. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы по п. 7, отличающееся тем, что соединение имеет структуру формулы А:



кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму I свободного основания, порошок которой имеет характерные рентгеновские дифракционные пики при 2θ : $9,76^\circ \pm 0,2^\circ$, $10,45^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,54^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,66^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,07^\circ \pm 0,2^\circ$ и $25,90^\circ \pm 0,2^\circ$.

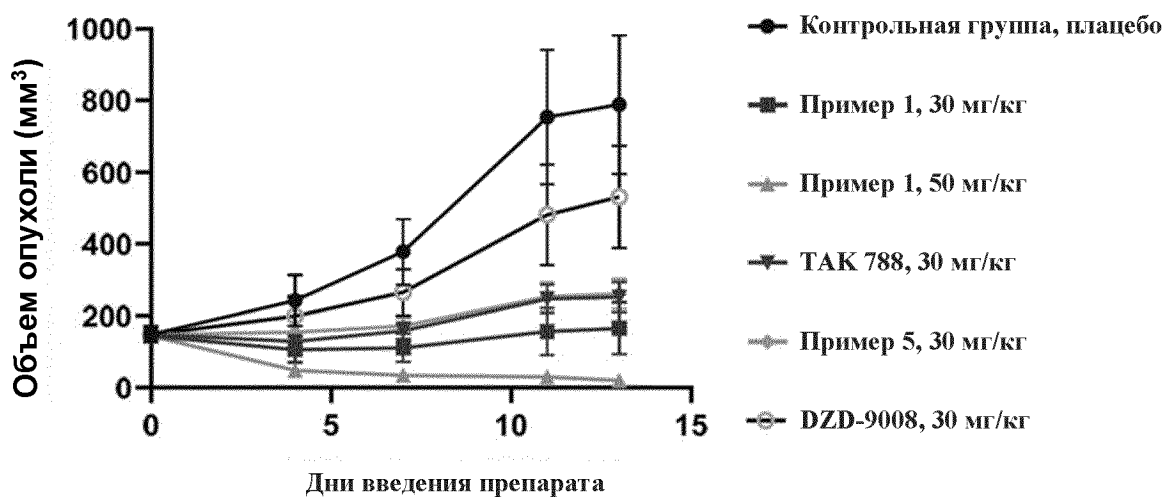
9. Соединение для использования в качестве ингибитора киназы по п. 8, отличающееся тем, что порошок кристаллической формы I свободного основания имеет характерные рентгеновские дифракционные пики при 2θ : $9,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $9,76^\circ \pm 0,2^\circ$, $10,45^\circ \pm 0,2^\circ$, $11,53^\circ \pm 0,2^\circ$, $11,80^\circ \pm 0,2^\circ$, $12,91^\circ \pm 0,2^\circ$, $13,79^\circ \pm 0,2^\circ$, $14,67^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,08^\circ \pm 0,2^\circ$, $15,63^\circ \pm 0,2^\circ$, $16,54^\circ \pm 0,2^\circ$, $17,50^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,66^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,07^\circ \pm 0,2^\circ$, $21,10^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,29^\circ \pm 0,2^\circ$, $24,16^\circ \pm 0,2^\circ$ и $25,90^\circ \pm 0,2^\circ$.

10. Применение соединения, используемого в качестве ингибитора киназы по любому из пп. 1–9, при изготовлении лекарственного средства для лечения родственных заболеваний, вызванных мутациями EGFR и/или HER2.

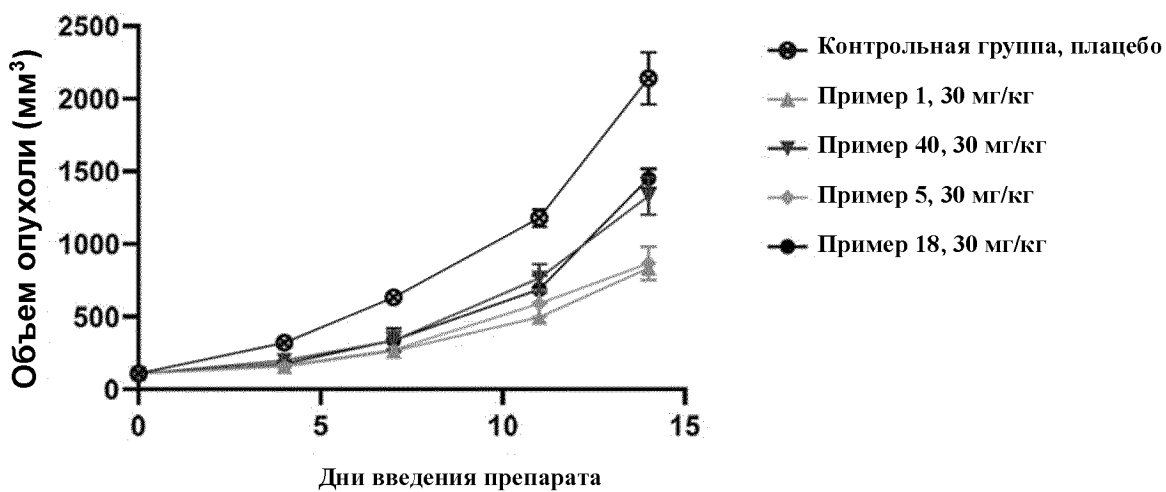
11. Применение по п. 10, отличающееся тем, что мутация EGFR и/или мутация HER2 содержит одну или комбинацию двух или более следующих мутаций: инсерционная мутация экзона 20 EGFR, инсерционная мутация экзона 20 HER2, делеция экзона 19 EGFR, точечная мутация экзона 21 EGFR и точечная мутация экзона 20 EGFR.

12. Применение по п. 11, отличающееся тем, что мутация EGFR и/или мутация HER2 выбирается из мутации EGFR Del 19/T790M/C797S, мутации EGFR L858R/T790M/C797S.

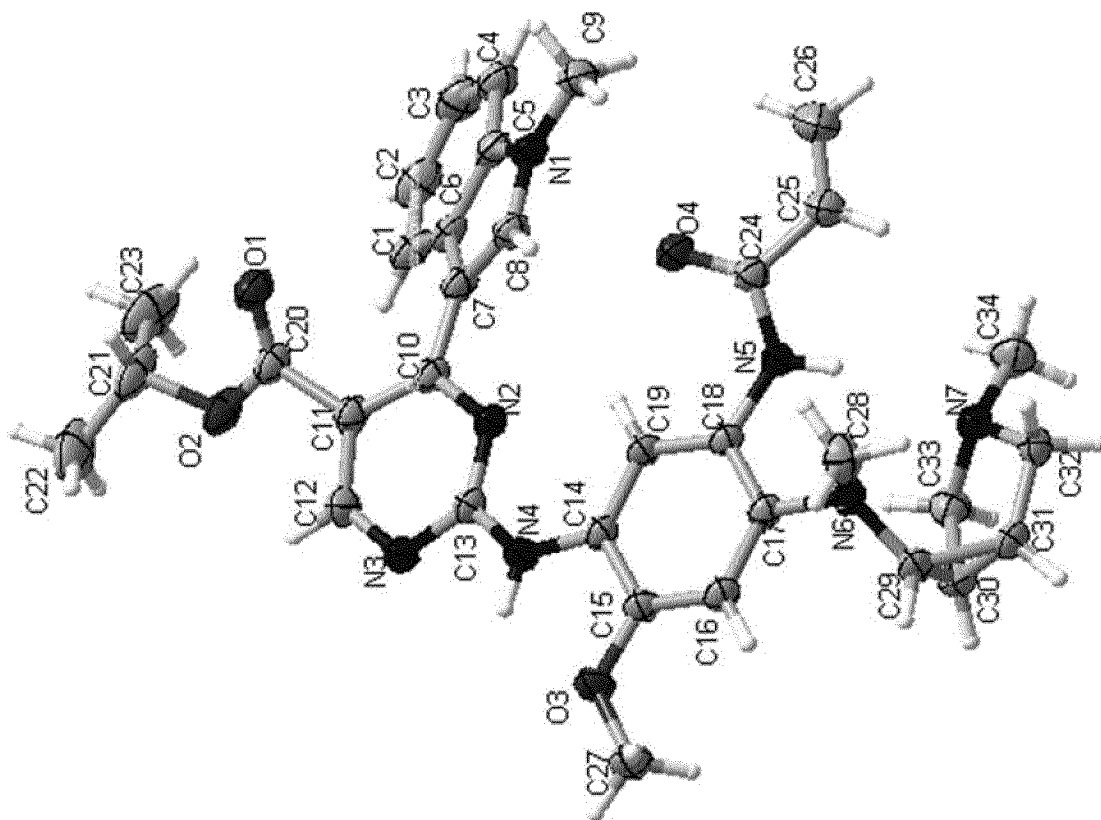
13. Применение по пп. 10, 11 или 12, отличающееся тем, что заболевание является раком, вызванным указанной мутацией EGFR и/или мутацией HER2.



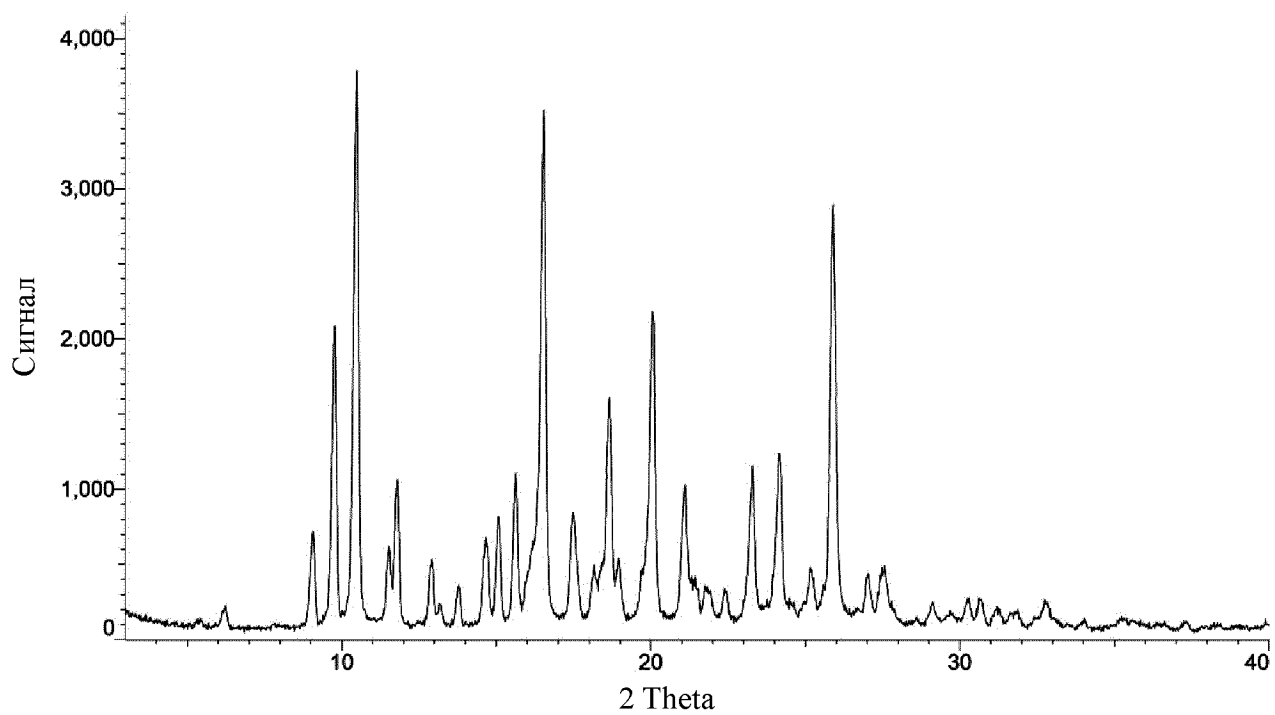
Фиг. 1



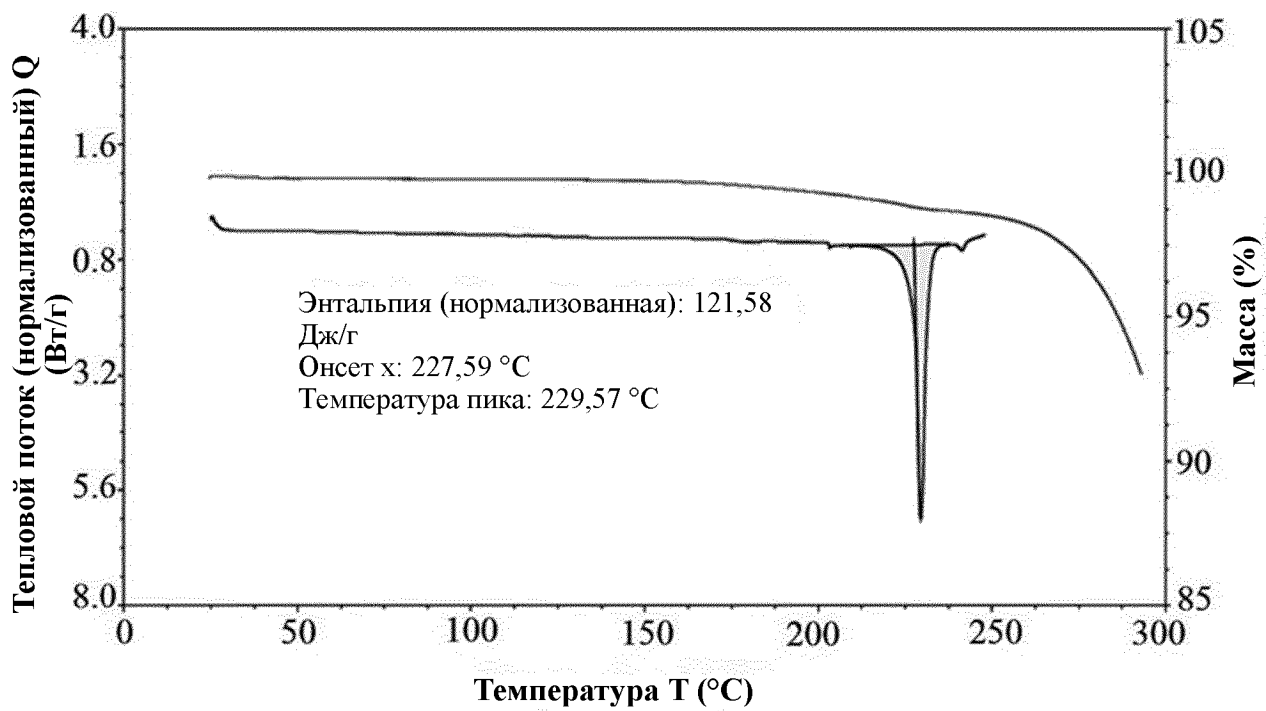
Фиг. 2



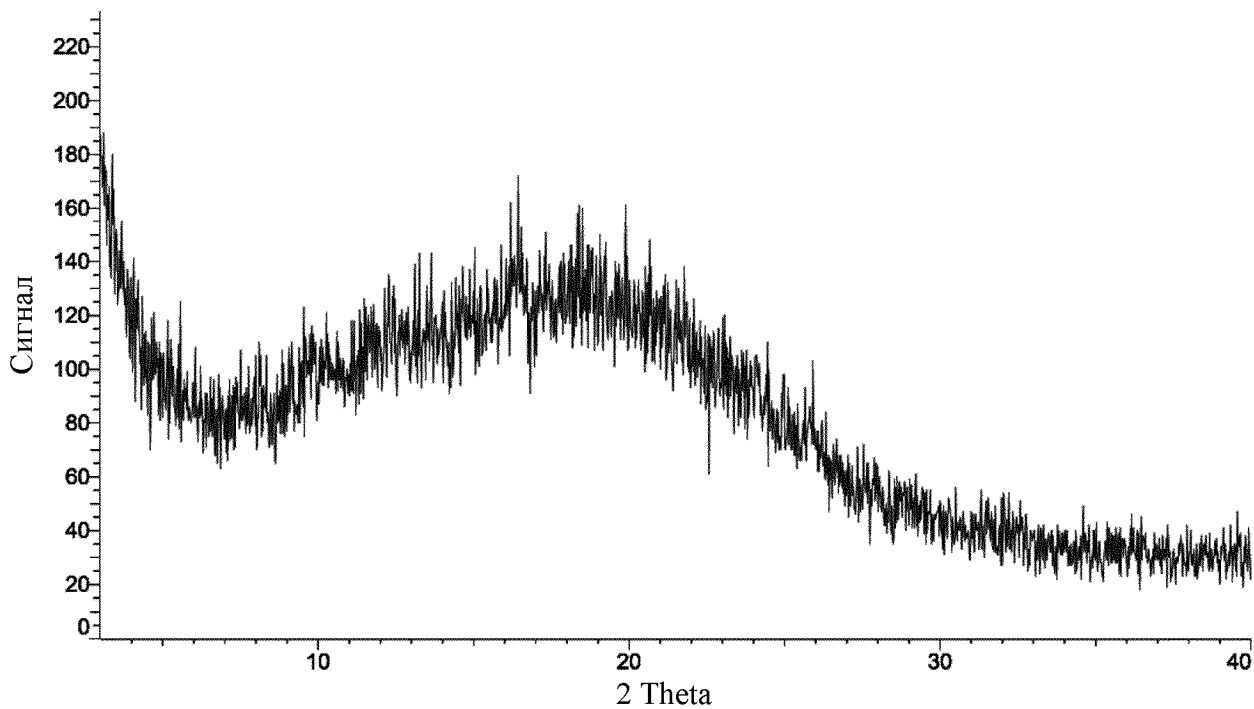
Фиг. 3



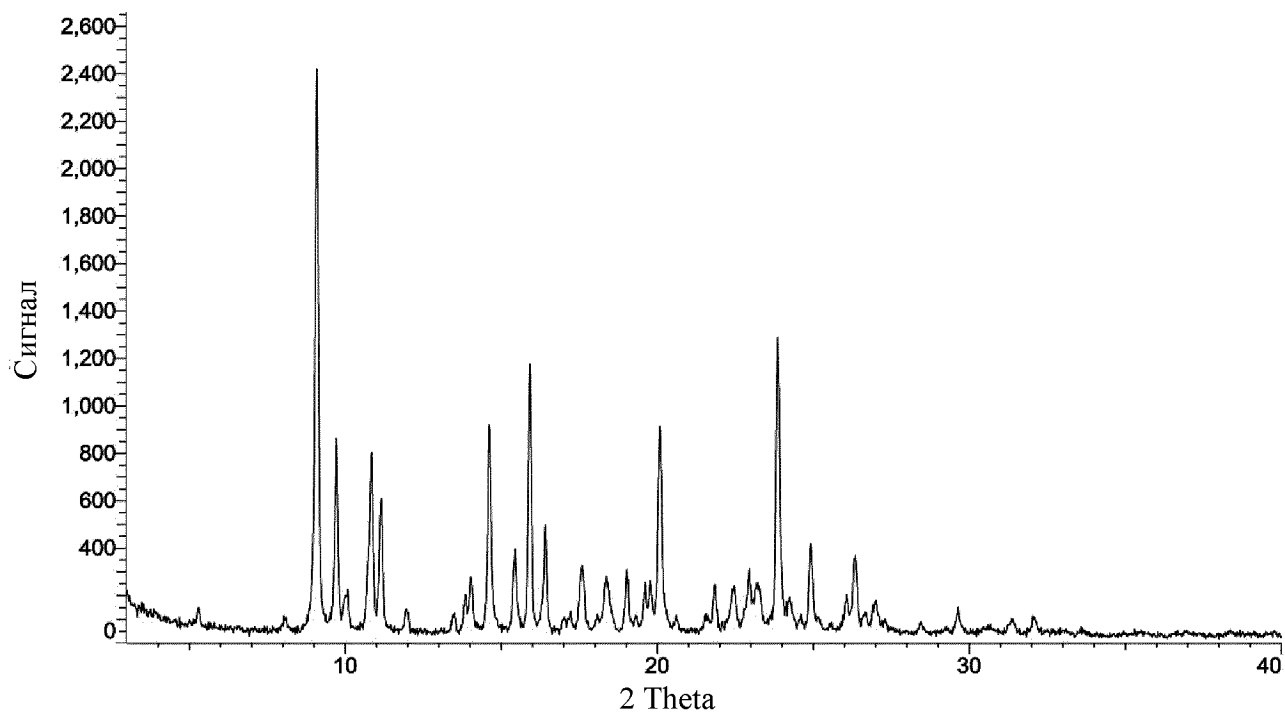
Фиг. 4



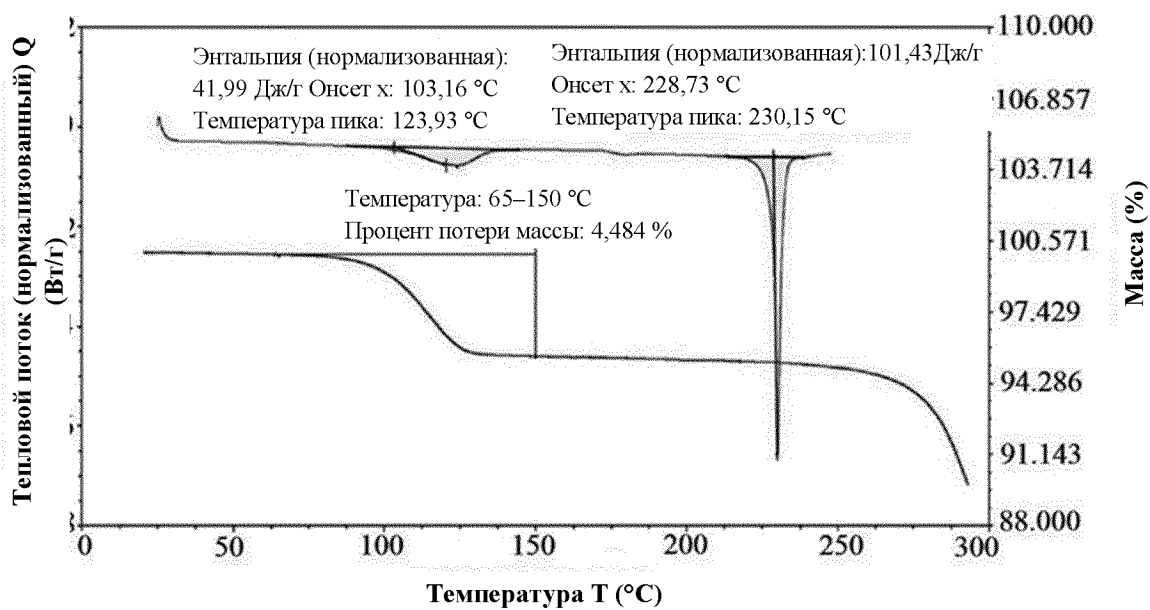
(Фиг. 5)



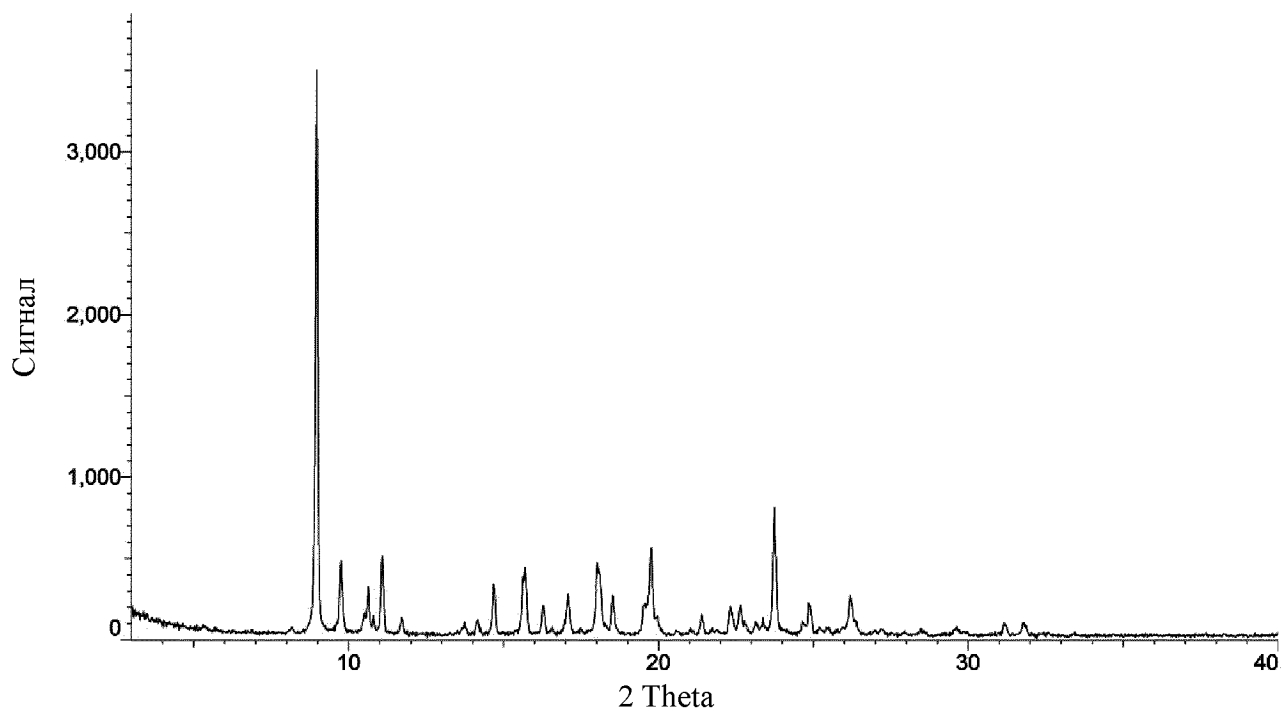
Фиг. 6



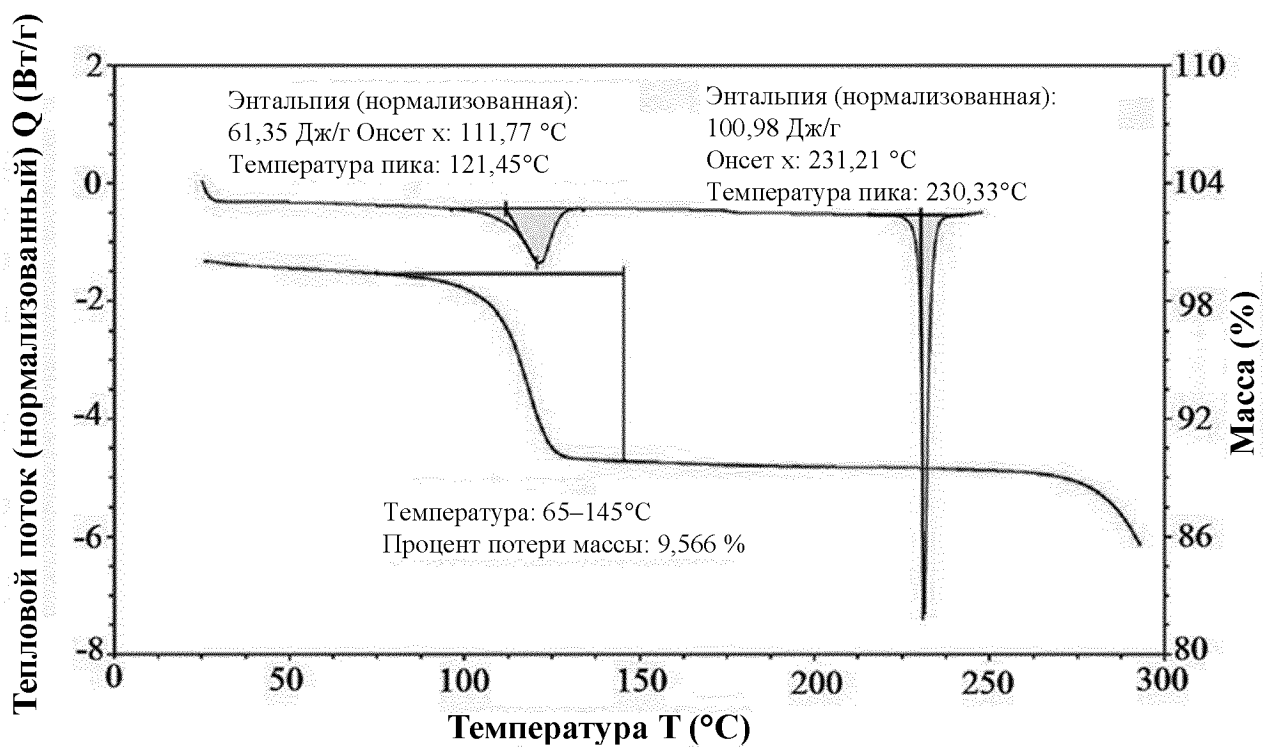
Фиг. 7



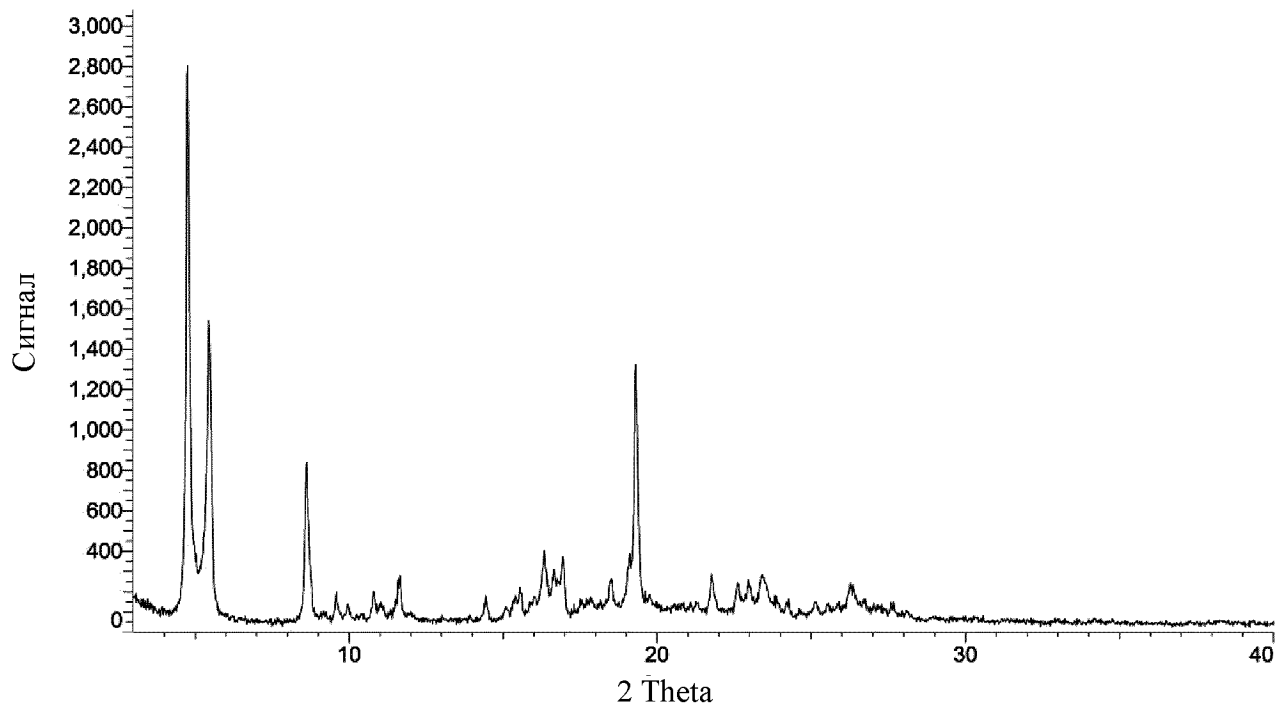
Фиг. 8



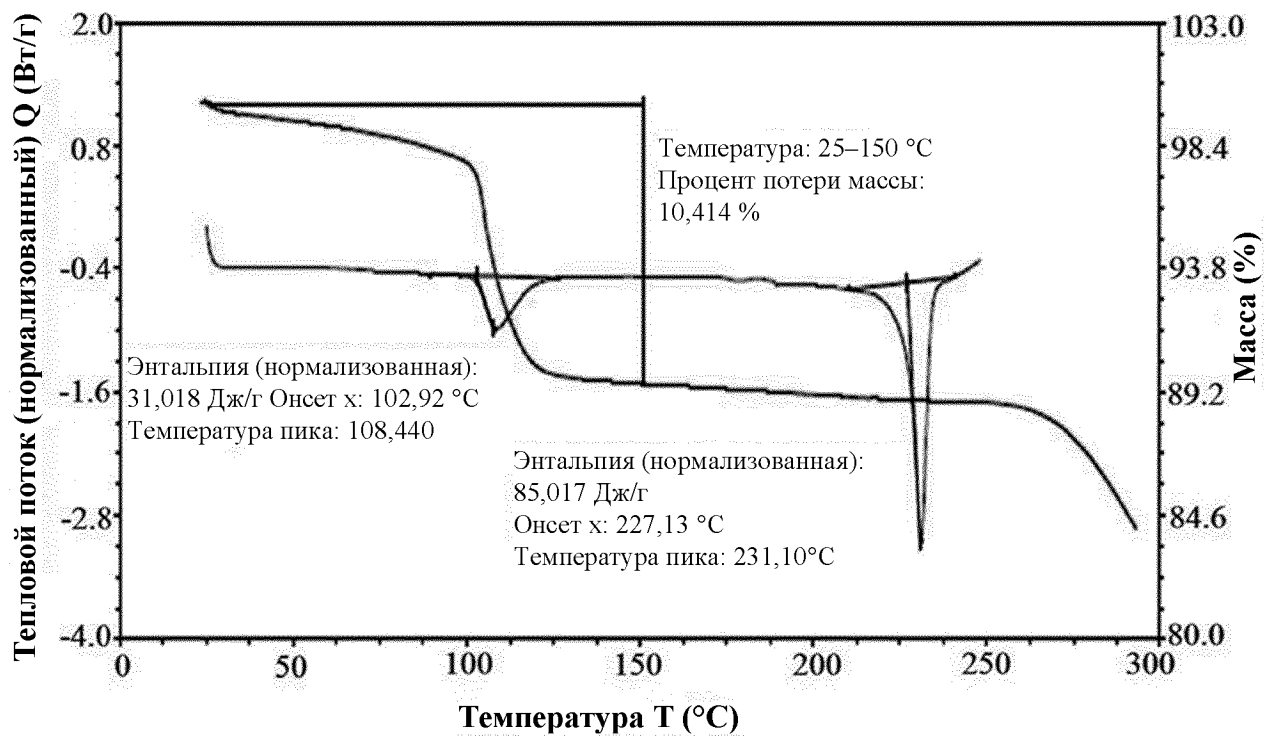
Фиг. 9



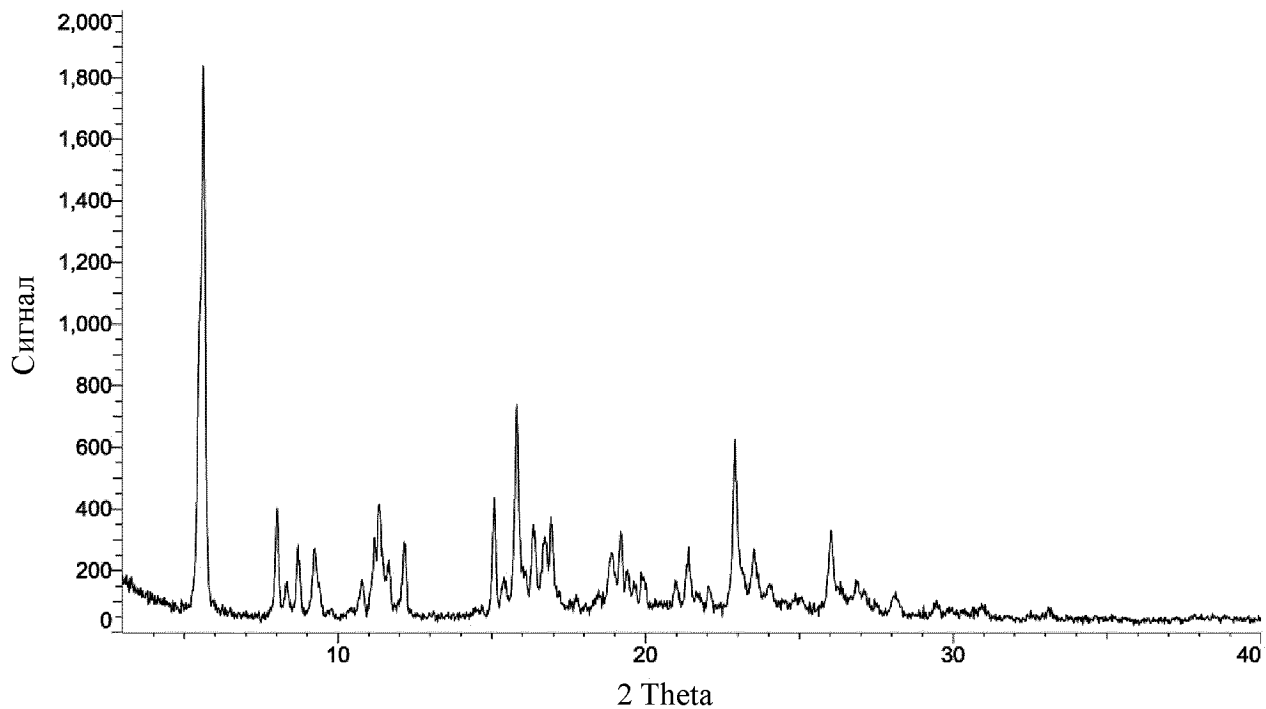
Фиг. 10



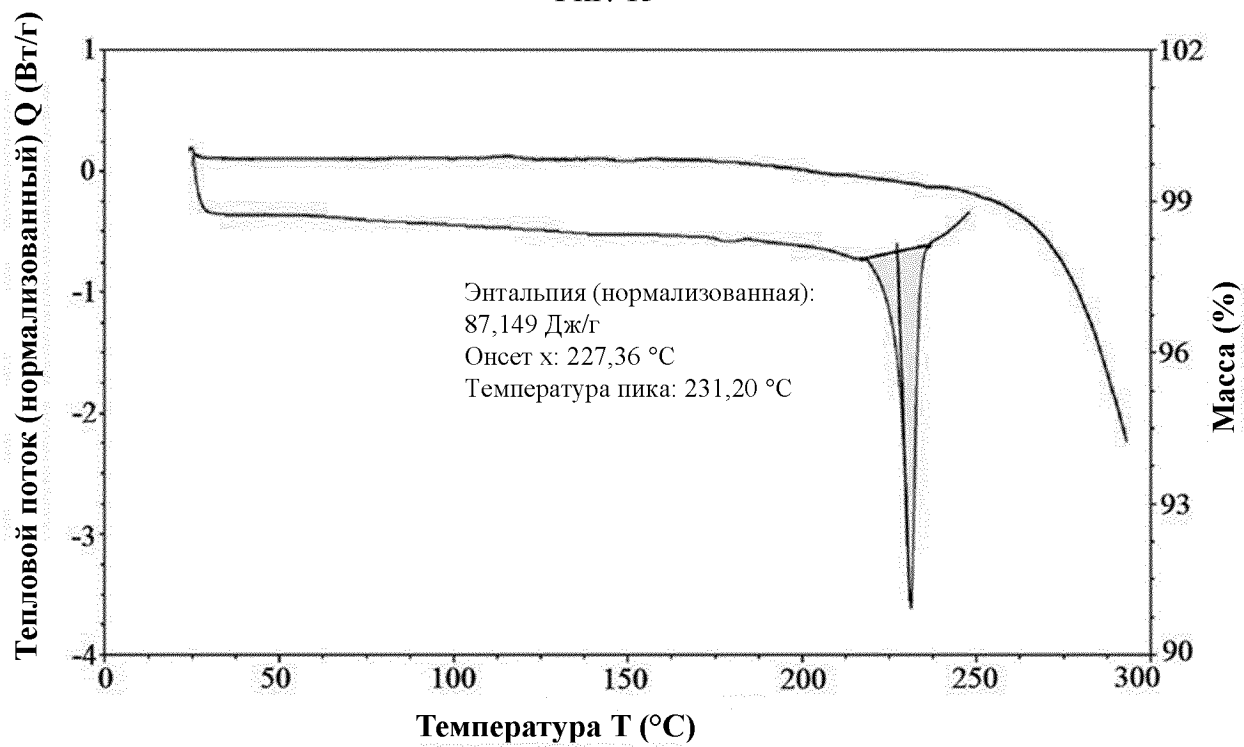
Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13



Фиг. 14