



УКРАЇНА

(19) UA (11) 85394 (13) C2

(51) МПК (2009)

A61K 31/4706

C07D 215/54 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 407/12 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 405/12 (2006.01)

C07D 409/12 (2006.01)

A61K 31/4709

A61K 31/506

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ЗАМІЩЕНІ ХІНОЛІНИ ЯК ІНГІБІТОРИ ФЕРМЕНТІВ ПРОТЕЇНТИРОЗИНОВИХ КІНАЗ

1

2

(21) а200604144

(22) 15.10.2003

(24) 26.01.2009

(86) PCT/US2003/032612, 15.10.2003

(31) 10/662,273

(32) 15.09.2003

(33) US

(46) 26.01.2009, Бюл.№ 2, 2009 р.

(72) ВІСНЕР АЛАН, РАБІНДРАН СРІДХАР КРІШ-
НА, ЦОУ ХВЕЙ-РУ

(73) ВАЙЄТ

(56) WO 03/050090 A, 19.06.2003

US 6288082 B1, 11.09.2001

(57) 1. Сполука, що являє собою (Е)-N-{4-[3-хлор-4-(2-піридинілметокси)анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід або його фармацевтично припустиму сіль.

2. Сполука, що являє собою (Е)-N-{4-[3-хлор-4-[(3-фторбензил)оксі]анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід або його фармацевтично припустиму сіль.

3. Сполука, що являє собою (2Е)-N-(4-{[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)феніл]амін}-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід або його фармацевтично припустиму сіль.

4. Сполука, що являє собою (Е)-N-{4-[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл}-4-[(2-метоксietил)метиламін]-2-бутенамід або його фармацевтично припустиму сіль.

5. Фармацевтичний склад, який містить сполуку за будь-яким з пп. 1-4.

6. Спосіб лікування, інгібування росту або знищення неоплазми у ссавців, що потребують такого лікування, згідно з яким зазначеним ссавцям вводять ефективну дозу (Е)-N-{4-[4-(бензилокси)-3-

хлоранілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-

(диметиламін)-2-бутенамід або (Е)-N-{4-[3-хлор-4-(2-піридинілметокси)анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (Е)-N-(4-{3-хлор-4-[(3-фторбензил)оксі]анілін}-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (2Е)-N-(4-{[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)феніл]амін}-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (Е)-N-{4-[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл}-4-[(2-метоксietил)метиламін]-2-бутенамід або їх фармацевтично припустимих солей.

7. Спосіб за п. 6, який відрізняється тим, що неоплазму вибирають з групи, що включає рак молочної залози, нирки, сечового міхура, порожнини рота, гортані, стравоходу, ободової кишки, яєчника, підшлункової залози, головного мозку, простати й легені.

8. Спосіб інгібування EGFR у ссавців, згідно з яким зазначеним ссавцям вводять ефективну дозу (Е)-N-{4-[4-(бензилокси)-3-хлоранілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід або (Е)-N-(4-{3-хлор-4-(2-піридинілметокси)анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (Е)-N-(4-{3-хлор-4-[(3-фторбензил)оксі]анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (2Е)-N-(4-{[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)феніл]амін}-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (Е)-N-{4-[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл}-4-[(2-метоксietил)метиламін]-2-бутенамід або їх фармацевтично припустимих солей.

9. Спосіб інгібування HER-2 у ссавців, згідно з яким зазначеним ссавцям вводять ефективну дозу

(13) C2

(11) 85394

(19) UA

(Е)-N-{4-[4-(бензилокси)-3-хлоранілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід у або (Е)-N-{4-[3-хлор-4-(2-піридинілметокси)анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (Е)-N-{4-[3-хлор-4-[(3-фторбензил)окси]анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (2Е)-

N-{4-[[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)феніл]амін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід, або (Е)-N-{4-[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл}-4-[(2-метоксиетил)метиламін]-2-бутенамід у або їх фармацевтично припустимих солей.

Дійсний винахід відноситься до деяких заміщених 3-ціанхінолінових сполук, а також до їх фармацевтично припустимих солей. Сполуки згідно із даним винаходом інгібують HER-2 і фермент рецептора фактора росту епідерміса (epidermal growth factor receptor, EGFR) і тим самим інгібують аномальний ріст деяких типів клітин. Сполуки згідно із даним винаходом є протипухлинними препаратами й корисні для лікування раку в ссавців. Дійсний винахід відноситься також до застосування 3-ціанхінолінів і фармацевтичних препаратів, що містять їх, для лікування раку.

Протеїн-тирозинові кінази являють собою клас ферментів, які каталізують передачу фосфатної групи з АТФ (adenosine triphosphate, аденозинтрифосфат) у тирозиновий залишок, розташований у протеїновому субстраті. Очевидно що протеїн-тирозинові кінази відіграють певну роль у рості клітин. Багато протеїнів рецепторів фактору росту функціонують, як тирозинові кінази, і саме таким способом впливають на сигнальну систему. Взаємодія факторів росту із цими рецепторами є необхідною подією при нормальній регуляції росту клітин. Однак за певних умов у результаті мутації або надсинтезу ці рецептори можуть стати розрегульованими, наслідком чого є некерована проліферація клітин, що може привести до росту пухлини й в остаточному підсумку до захворювання відомому як рак [Walks, A.F., *Adv. Cancer Res.*, 60, 43 (1993) and Parsons, J.T., Parsons, S.J., *Important Advances in Oncology*, DeVita, V.T. Ed., J.B. Lippincott Co., Phila, 3 (1993)]. Серед кіназ рецепторів фактору росту і їх прото-онкогенів, які ідентифіковані і є мішенями сполук, згідно із даним винаходом, є кіназа рецептора фактору росту епідерміса (кіназа EGF-R, протеїновий продукт онкогена erb) і продукт, утворений онкогеном erbB-2 (називається також neu або HER-2). Оскільки подія фосфорилування є необхідним сигналом для клітинного поділу, і оскільки надсинтезовані або мутовані кінази пов'язані з раковим захворюванням, інгібітор цієї події, а саме, інгібітор протеїн-тирозинових кіназ буде мати терапевтичне значення для лікування раку й інших захворювань, які характеризуються некерованим або аномальним ростом клітин. Так, наприклад надсинтез рецепторного продукту кінази онкогена erbB-2 пов'язаний з раком молочної залози і яєчника людини [Slamon, D. J., et. al., *Science*, 244, 707 (1989) and *Science*, 235, 1146 (1987)]. Деррегуляцію кінази EGF-R пов'язують із епідермоїдними пухлинами [Reiss, M., et al., *Cancer Res.*, 51, 6254 (1991)], пухлинами молочної залози [Macias, A., et. al., *Anticancer Res*, 7, 459 (1987)] пухлинами інших основних органів

[Gullick, W. J., *Brit. Med Bull.*, 47, 87 (1991)]. Внаслідок важливої ролі, що відіграють розрегульовані кінази рецепторів у патогенезі раку, останнім часом з'явилася безліч досліджень, спрямованих на розробку специфічних інгібіторів РТК (protein tyrosine kinases, протеїн-тирозинові кінази) як потенційних протипухлинних терапевтичних препаратів [деякі недавні огляди: Burke, T. R., *Drugs Future*, 17, 119 (1992) and Chang, C J., Geahlen, R. L., *J. Nat. Prod.*, 55, 1529 (1992)]. Сполуки згідно даного винаходу інгібують активність кіназ EGF-R і тому є корисними для лікування певних хворобливих станів, зокрема, рака, знижуючи, щонайменше частково, деррегуляцію зазначеного рецептора.

Ген HER-2 (c-erbB-2, neu) кодує трансмембранний рецептор тирозинових кіназ 185кДа, що має часткову гомологію з іншими членами сімейства рецепторів фактору росту епідерміса [Shih, C., Padhy, L. C., Murray, M., et al. *Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into mouse fibroblasts*, *Nature*, 290, 261-264 (1981)]. На даний момент відомо, що нормальні клітини людини експресують невелику конститутивну кількість протеїну HER-2 у плазматичній мембрані. Припускають, що активування онкогена HER-2 викликає зв'язування ще не ідентифікованого ліганда фактору росту в комплекс рецептора HER-2, що призводить до гетеродимеризації, запуску каскаду сигналів росту і є вищою точкою активації генів. Більш конкретно, сімейство факторів росту епідермісу можна розділити на чотири групи, виходячи з їхньої специфічності зв'язування рецептора (HER-1, HER-2, HER-3 й HER-4). HER-2 є переважним партнером по гетеродимеризації для всіх інших рецепторів HER. Показано, що надсинтез HER-2 призводить до збільшення канцерогенності, інвазивності пухлини, підвищенню метастатичного потенціалу й зміні чутливості до гормональних й хімотерапевтичних препаратів при дослідженні трансфекції в експериментальних моделях на клітинах і тваринах [Pegram, M. D., Finn, R S, Arzoo, K., et al. *The effect of HER-2/neu over expression on chemotherapeutic drug sensitivity in human breast and ovarian cells* *Oncogene*, 15, 537-547 (1997)].

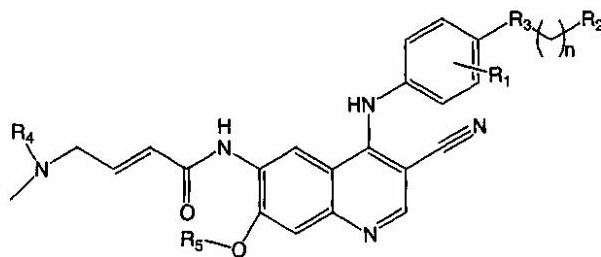
Повідомляється, що надсинтез протеїну HER-2 має місце приблизно в 30% інвазивного раку молочної залози людини, при цьому ампліфікацію гена HER-2 виявили в 95% і більше зразків зі надсинтезом протеїну HER-2 [Gebhardt, F., Zanker, K., Brandt, B. *Differential expression of alternatively spliced c-erbB-2 mRNA in primary tumors, lymph node metastases, and bone marrow micro*

metastases from breast cancer patients Biochem. Biophys. Res. Commun., 247, 319-323 (1998)].

У [патенті США 6,288,082 (патент 082), опублікованому 11 вересня 2001р.], описані заміщені сполуки 3-ціанхіноліну, які інгібують рецептор фактора росту епідерміса (EGFR). Сполуки у відпові-

дності до дійсної заявки відрізняються від описаних у патенті 082 своєю здатністю діяти як ефективні інгібітори HER-2.

Згідно даного винаходу запропоновано сполуку формули 1:



1

де:

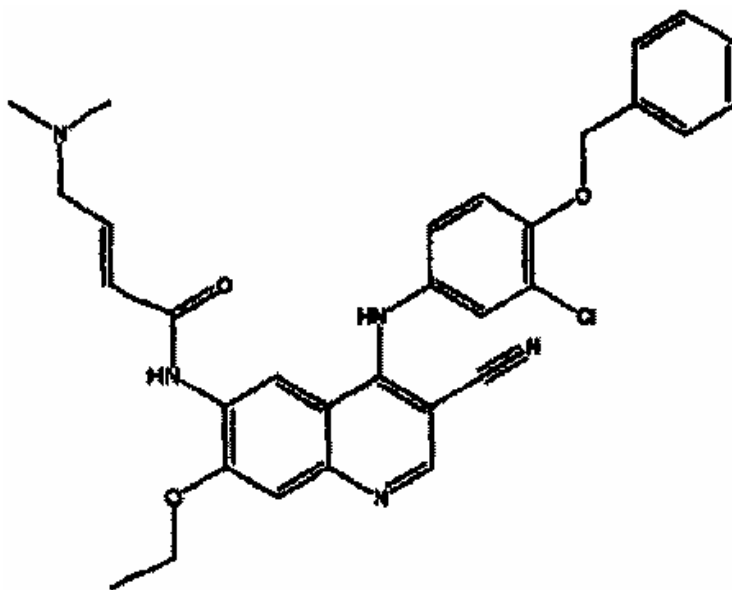
R₁ являє собою галоген,

R₂ являє собою можливо заміщений піримідин, тiazол або можливо заміщене фенільне кільце, при цьому фенільне або піримідинове

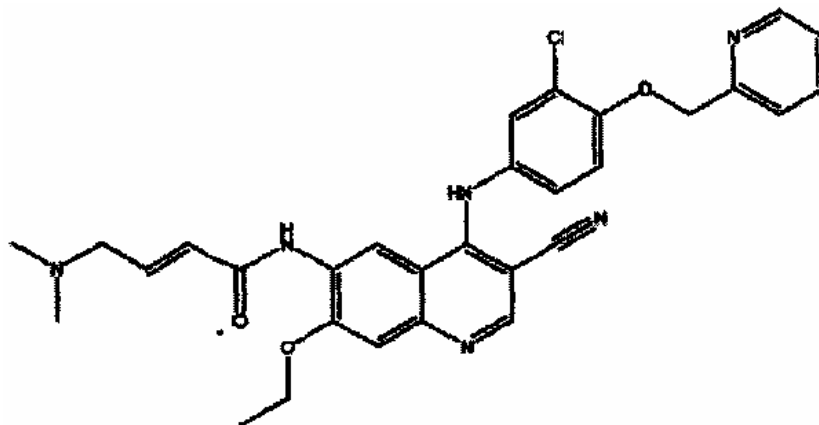
кільце може не мати замісника або мати один або два замісники,

R₃ являє собою -O- або -S-,

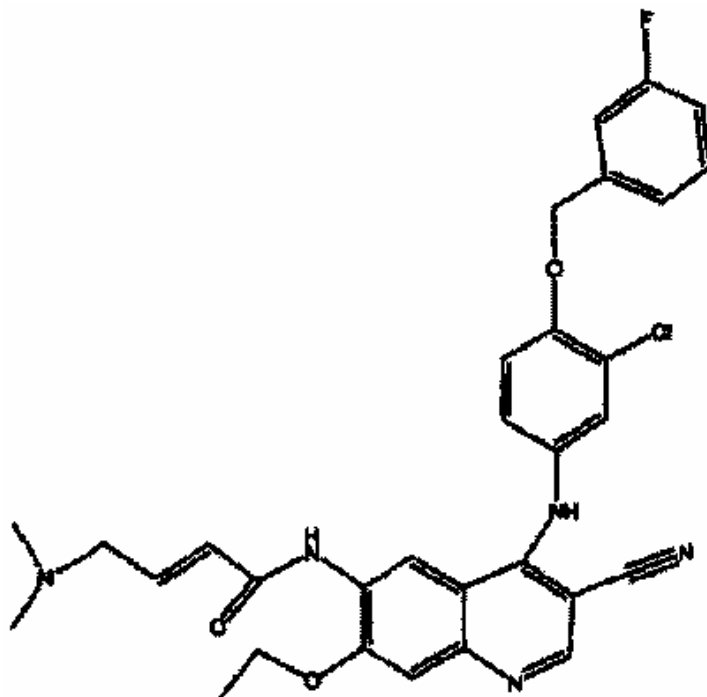
В одному з варіантів реалізації сполуки згідно даного винаходу включають:



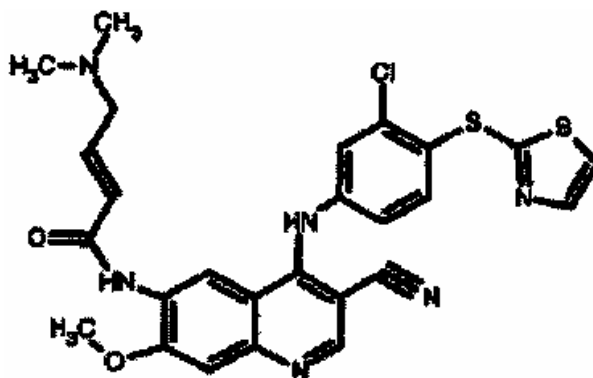
(E)-N-{4-[4-(бензилокси)-3-хлораніліно]-3-ціано-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламіно)-2-бутенамід,



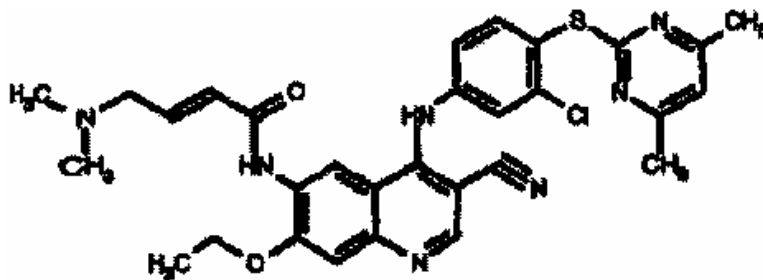
(E)-N-(4-{3-хлоро-4-(2-піридинілметокси)аніліно}-3-ціано-7-етокси-6-хінолініл)-4-(диметиламіно)-2-бутенамід,



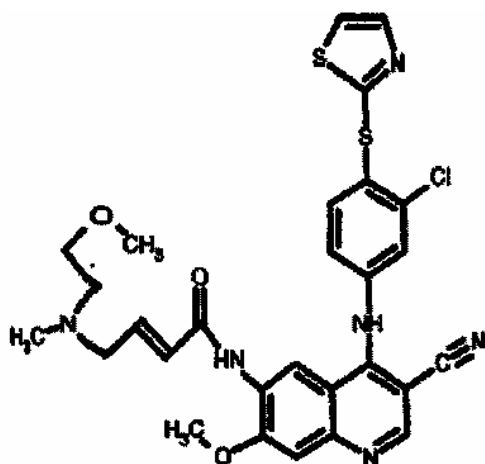
(E)-N-(4-{3-хлоро-4-[(3-фторбензил)окси]аніліно}-3-ціано-7-етокси-6-хінолініл)-4-(диметиламіно)-2-бутенамід,



(2E)-N-(4-{[3-хлоро-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)феніл]аміно}-3-ціано-7-метокси-6-хінолініл)-4-(диметиламіно)-2-бутенамід,



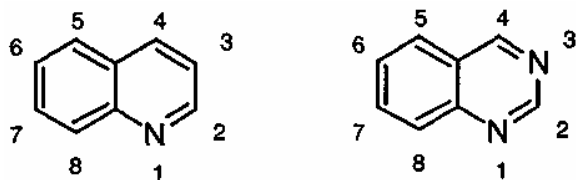
(E)-N-(4-{3-хлоро-4-[(4,6-диметил-2-піримідиніл)сульфаніл]анілін}-3-ціано-7-етокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід,



(Е)-N-{4-[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ісульфаніл)аніліно]-3-ціано-7-метокси-6-хінолініл}-4-[(2-метоксиетил)(метил)аміно]-2-бутенамід, або їх фармацевтично прийнятні солі.

Далі наведено докладний опис експериментів для кращого розуміння винаходу, що, однак, жодною мірою не обмежує даний винахід, область охоплення якого визначається прикладеною формулою винаходу.

Сполука згідно даного винаходу являють собою деякі 3-ціанхіноліни, що містять заміщення. Нумерація систем ядер хіноліну й хіназоліна, застосовувана в даній патентній заявці, показана в наведеній нижче формулі:



Фармацевтично припустимі солі сполук згідно даного винаходу являють собою солі, отримані з наступних органічних і неорганічних кислот: оцтової, молочної, лимонної, винної, бурштинової, малеїнової, маленової, глюконової, соляної, бромистоводневої, фосфорної, азотної, сірчаної, метансульфонової й аналогічних відомих припустимих кислот.

У контексті даного винаходу "галоген" являє собою F, Cl, Br або I.

У даній заявці на винахід термін "заміщений" означає приєднання метильної групи до атома вуглецю ароматичного кільця.

Сполуки згідно даного винаходу можуть містити один або кілька асиметричних атомів вуглецю, у цих випадках сполуки даного винаходу включають окремі діастеромери, рацемати, а також їхні окремі R- і S-енантіомери. Деякі сполуки згідно даного винаходу можуть містити одну або кілька подвійних зв'язків, у цих випадках сполуки згідно даного винаходу включають всі можливі конфігураційні ізомери, а також суміші цих ізомерів

У контексті даного винаходу "неоплазма" визначається як клітини органа, обраного з групи, що включає молочну залозу, нирку, сечовий міхур, порожнину рота, гортань, стравохід, обідкову киш-

ку, яєчник, підшлункову залозу, головний мозок, простату й легеню, які мають морфологію, не виявлену в більшості клітин ссавців.

В одному з варіантів реалізації даний винахід забезпечує спосіб інгібування неоплазми. Цей спосіб включає контактування клітини з кількістю сполуки, ефективною для зменшення або запобігання функціонування HER-2. Зазначена клітина може являти собою клітину ссавця й більш конкретно - клітину людини. Клітина може являти собою також бактеріальну клітину, наприклад, E. coli. Клітина може включати, зокрема, але без обмеження, нейронну клітину, ендотеліальну клітину, гліальну клітину, мікрогліальну клітину, гладкий міоцит, соматичну клітину, клітину кісткового мозку, клітину печінки, кишкову клітину, зародкову клітину, міоцит, мононуклеарний фагоцит, пухлинну клітину, лимфоїдну клітину, мезангіальну клітину, ретинальну епітеліальну клітину, ретинальну судинну клітину, гангліозну клітину або стовбурну клітину. Клітина може являти собою нормальну клітину, активовану клітину, неопластичну клітину, патологічну клітину або інфіковану клітину.

В іншому варіанті реалізації дійсний винахід забезпечує спосіб лікування або запобігання утворення неоплазми в ссавця. Відповідно до цього даний винахід забезпечує ссавця фармацевтичним складом, що містить сполуки згідно даного винаходу в сполученні або в з'єднанні з фармацевтично припустимим носієм. Сполуки згідно даного винаходу можна приймати окремо або в сполученні з іншими терапевтично ефективними сполуками або терапевтичними засобами для лікування або запобігання утворення неоплазми.

Сполуки можна вводити перорально, усередину уражених тканин, інтраперитонеально, за допомогою внутрішньом'язової або внутрішньовенної ін'єкції, інфузійно, за допомогою ліпосом, топічно, назально, анально, вагінально, сублінгвально, уретрально, трансдермально, інtrateкально, а також через очі або вуха. Для забезпечення послідовного прийому сполуки згідно даного винаходу переважно, щоб сполука відповідно до винаходу мала форму стандартної дози. Придатні стандартні дозовані форми включають таблетки, капсули й порошки в пакетиках або флаконах. Такі стандартні дозовані форми можуть містити від 0,1 до 300мг сполуки відповідно до винаходу й переважно - від 2 до 100мг. Ще більш переважні стандартні дозовані форми містять від 5 до 50мг сполуки згідно даного винаходу. Сполуки згідно даного винаходу можна приймати перорально з дозою приблизно від 0,01 до 100мг/кг або переважно - з дозою від 0,1 до 10мг/кг. Такі сполуки можна приймати від 1 до 6 разів у добу, звичайно - від 1 до 4 разів у добу. Ефективна доза буде відома фахівцям у даній області техніки, вона залежить також від форми сполуки. Фахівець у даній області техніки може провести традиційні емпіричні тести на активність, щоб визначити біоактивність сполуки в біологічних пробах і визначити таким чином величину дози, що підлягає введенню.

Сполуки відповідно до винаходу можна приготувати зі звичайними компонентами, включаючи наповнювач, агент, що сприяє дезінтеграції, речовину, що зв'язує, сприяє ковзанню, ароматизатор,

барвник або носій. Носій може являти собою, наприклад, розріджувач, аерозоль, топічний носій, водяний розчин, неводний розчин або твердий носій. Носій може являти собою полімер або зубну пасту. Носій у контексті дійсного винаходу включає всі стандартні фармацевтично припустимі носії, зокрема, фосфатний забуферений соляний розчин, ацетатний забуферений соляний розчин, воду, емульсії, наприклад, масляно-водну емульсію або триглицеридну емульсію, різні типи зволожувачів, таблетки, таблетки в оболонці й капсули.

У випадку перорального або топічного введення такі сполуки можуть бути доставлені за допомогою різних носіїв. Звичайно ці носії містять наповнювачі, наприклад, крохмаль, молоко, цукор, деякі типи глини, желатин, стеаринову кислоту, тальк, рослинні жири або масла, камеді або гліколи. Конкретний носій варто вибирати, виходячи з бажаного способу доставки, наприклад, фосфатний забуферений соляний розчин (phosphate buffered saline, PBS) може бути використаний для внутрішньовенної або системної доставки, а рослинні жири, креми, мазі, притирання або гелі можна використати для топічної доставки.

Сполуки згідно даного винаходу можуть доставлятися разом з придатними розріджувачами, консервантами, солюбілізаторами, емульгаторами, ад'ювантами й/або носіями, корисними для лікування або запобігання утворення неоплазми. Такі склади являють собою рідини, а також сублімовані або іншим способом висушені препарати й включають розріджувачі з різним змістом буфера (наприклад, Tris-HCl , ацетат, фосфат), рН та іонною силою, добавки, зокрема, альбуміни й желатин для запобігання абсорбції до різних поверхонь, детергенти (наприклад, TWEEN 20, TWEEN 80, PLURONIC F68, солі жовчних кислот), солюбілізуючі агенти, (наприклад, гліцерин, поліетиленгліцерин), антиоксиданти (наприклад, аскорбінова кислота, метабісульфат натрію), консерванти (наприклад, тимеросал, бензиловий спирт, параамінобензойної кислоти), наповнювачі або модифікатори тону (наприклад, лактоза, манітол), ковалентні придатки полімерів, зокрема, поліетиленгліколь, комплексоутворення з металевими іонами або введення сполук в або на дисперсні препарати гідрогелів або ліпосом, мікроемульсій, міцел, одношарових або багатошарових везикул, гемолізованих еритроцитів або сферобластів. Такі склади впливають на фізичний стан, розчинність, стабільність, швидкість виділення *in vivo* і швидкість виведення *in vivo* сполуки або складу. Вибір складів залежить від фізичних і хімічних властивостей сполуки, придатної для лікування або запобігання утворення неоплазми.

Сполуку згідно даного винаходу можна доставляти локально за допомогою капсули, що забезпечує вповільнене вивільнення сполуки протягом деякого періоду часу. Склади з регульованим або вповільненим вивільненням включають препарати в ліпофільних оболонках (наприклад, жирні кислоти, воски, масла).

Згідно даного винаходу запропоновано також сполуки для застосування в якості активного терапевтичного засобу, що запобігає утворенню неоплазми.

Крім того, згідно даного винаходу запропонований спосіб лікування неоплазми людини, що включає введення інфікованому індивідуумові ефективної дози сполуки або фармацевтичного складу відповідно до винаходу.

Сполуки згідно даного винаходу можна одержати, як показано на схемі 1, де R_1 , R_2 й R_3 визначені вище. Аміногрупу сполуки 1 можна захистити у вигляді амідної групи шляхом ацетилювання за допомогою оцтового ангідриду в розчиннику, зокрема, в оцтовій кислоті. Гідроксильну групу сполуки 2 можна алкілювати за допомогою бромистого або йодистого алкілу, тозилату або мезилату з використанням карбонату калію при нагріванні з розчинником, зокрема, з ацетоном, при зворотному стіканні. Нітрогрупу сполуки 3 можна відновити за допомогою каталітичного гідрування з одержанням аніліну 4, що містить заміщення. Нагрівання сполуки 4 з реактивом 5 у розчиннику або без розчинника приводить до утворення проміжної сполуки 6. У результаті нагрівання сполуки 6 зі зворотним стіканням в інтенсивно киплячому розчиннику, зокрема, у Даутермі (Dowtherm), відбувається циклізація з утворенням гідроксигіноліну 7. Його можна хлорувати шляхом нагрівання в оксихлориді фосфору з одержанням хлорного похідного 8. При конденсації сполуки 8 з аніліном формули 9 у розчиннику, зокрема, в етанолі, зі зворотним стіканням у присутності каталітичної кількості кислоти утвориться проміжна сполука 10, при цьому ацетатну групу сполуки 10 можна видалити за допомогою гідролізу в кислотному або лужному середовищі з наступною нейтралізацією для одержання сполуки 11. Проміжну сполуку 11 можна ацилювати хлоридом 12 амінокислоти (у формі гідрохлоридної солі) з одержанням сполуки згідно даного винаходу формули 13. Для одержання сполук даного винаходу можуть бути також використані способи одержання сполук, описані в [патенті США 6.288.082 і патентних заявках WO-9633978 й WO-9633980, які включені в даний опис як посилання].

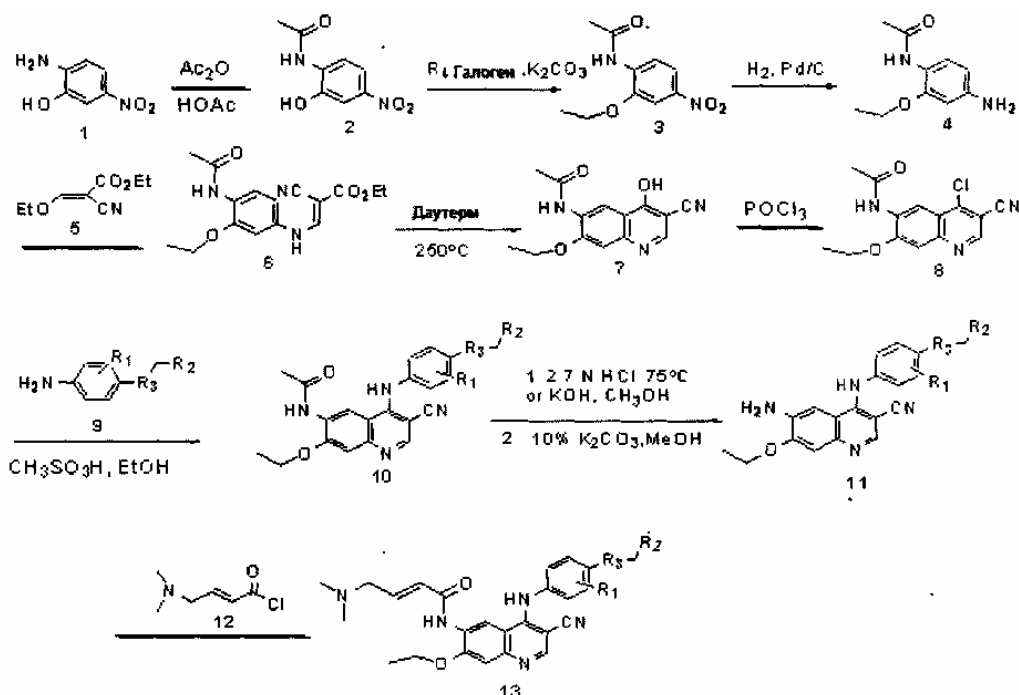


Схема 1

На додаток до вищеописаного способу є ряд патентних заявок, які описують способи, придатні для одержання сполук згідно даного винаходу. Хоча ці способи описують одержання певних хіназолінів, їх можна також використати для одержання 3-ціанхінолінів, що містять відповідні заміщення, і вони включені в даний опис як посилання. Хімічні операції, описані в [патентній заявці WO-9633980], можна використати для одержання проміжних сполук 3-ціанхіноліну, застосовуваних у дійсному винаході, при цьому замісником у позиції 6 є група аміноалкілалкокси. Хімічні операції, описані в [патентній заявці WO-9633978], можна використати для одержання проміжних сполук 3-ціанхіноліну, застосовуваних у дійсному винаході, при цьому замісником у позиції 6 є аміноалкіламіногрупа.

Приклад 1

(Е)-N-{4-[4-(бензилокси)-3-хлоранілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід

Порцію оксалілхлориду 1,74мол (2,54г, 0,02моль) додали до 3,31г (0,02моль) гідрохлориду (Е)-4-(диметиламін)-2-бутенової кислоти в 75мол ацетонітрилу. Потім додали невелику краплю диметилформаміду. Реакційну суміш нагріли й перемішали на масляній лазні при 63° протягом 20 хвилин з одержанням жовтогарячого розчину. Цей розчин сконцентрували у вакуумі без нагрівання приблизно до половини його первинного об'єму. Розчин остудили на крижаній лазні й додали розчин 4,45г (0,01моль) 6-амін-4-[4-(бензилокси)-3-хлоранілін]-7-етокси-3-хінолінкарбонітрилу в 50мол N-метилпіролідону. Реакційну суміш остудили й перемішали протягом 2 годин. Потім реакційну суміш перелили в 100мл насиченого водного розчину бікарбонату натрію в льоді. При витримці смолистий осад, що утворився, затвер-

дів, і тверду фазу відфільтрували. Провели хроматографію цієї твердої фази на силікагелі. Колонку промили 3 літрами суміші метанол:етилацетат 1:19, а потім елюювали продукт 3 літрами суміші триетиламін:метанол:етилацетат 1:5:94. У результаті концентрування елюату утворився осад, який відфільтрували з одержанням 2,96г сполуку, зазначеної в заголовку. З фільтрату одержали додатково 1,0г продукту. Сумарний вихід: 3,96г.

Приклад 2

(Е)-N-{4-[3-хлор-4-(2-піридинілметокси)анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід

Розчин гідрохлориду (Е)-4-(диметиламін)-2-бутенової кислоти в 1,2л тетрагідрофурану (tetrahydrofuran, THF) і каталітичну кількість диметилформаміду (dimethylformamide, DMF) (1,2мл) остудили до 0-5°C. Додали по краплях оксалілхлорид (0,95екв.), нагріли суміш до 25-30°C і перемішали протягом 2 годин. За допомогою високо-ефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) перевірили жовтогарячу суспензію, що утворилася, на повноту витрати оксалілхлориду, а потім остудили до 0-5°C. Розчин 111г 4-[4-(2-піридинілметокси)-3-хлор]амін-6-амін-3-ціан-7-етоксихіноліну в 1,47л 1-метил-2-піролідону додали по краплях і перемішували суміш доти, поки в суміші не залишилося ≤1,0% вихідного аніліну (3-16 годин). Погасили реакцію водою й нагріли суміш до 40°C. Водний гідроксид натрію додали до одержання рН 10-11. Осад, що утворився, відфільтрували в гарячому стані й промили водою. Вологий осад нагріли до зворотного стікання (70-75°C) у складі ацетонітрил:THF (1,5:1), а потім остудили розчин протягом 3 годин до кімнатної температури. Продукт профільтрували й промили складом ацетонітрил:TNF. Потім продукт висушили (50°C,

10мм рт. ст., 24 години) з одержанням виходу 80-85%. Температура плавлення солі малеїнової кислоти 178-183°C.

Приклад 3

(Е)-N-(4-{3-хлор-4-[(3-фторбензил)окси]анілін}-3-циан-7-етокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід

Розчин 108г гідрохлориду (Е)-4-(диметиламін)-2-бутенової кислоти в 1,1л тетрагідрофурану (THF) і каталітичну кількість диметил-формаміду (DMF) (1,2мл) остиудили до 0-5°. Додали по краплях оксалилхлорид (0,95екв.), суміш нагріли до 25-30°C і перемішали протягом 2 годин. Жовтогарячу суспензію перевірили на повноту витрати оксалилхлориду за допомогою ВЕРХ, а потім остиудили до 0-5°C. Розчин 150г 6-амін-4-{3-хлор-4-(3-фторбензилокси)анілін-3-циан-7-етоксигіноліну в 1,5л 1-метил-2-піролідинону додали по краплях і перемішували суміш доти, поки не залишилося $\leq 1,0\%$ вихідного аніліну (3-16 годин). Реакцію погасили водою, і нагріли суміш до 40°C. Додали водний гідроксид натрію (101г в 750мл), щоб довести рН до 10-11. Отриманий осад відфільтрували в гарячому стані й промили водою. Вологий осад нагріли до зворотного стікання (70-75°C) у складі ацетонітрил:THF (1,5:1).

Приклад 4

4-бензилокси-3-хлорнітробензол

Порцію 15,43г (0,275моль) твердого (гранули) гідроксиду калію додали в розчин 43,8г (0,25моль) 3-хлор-4-фторнітробензолу та 32,34мл (33,79г, 0,373моль) бензилового спирту в 220мл ацетонітрилу. Реакційну суміш інтенсивно перемішували механічно мішалкою протягом ночі. Осад, що утворився, відфільтрували. Концентрування фільтрату дало другу порцію, яку також профільтрували. Після витримки із цього фільтрату також утворився осад. Цю суміш обробили диетиловим ефіром й відфільтрували осад. Всі осади ретельно промили водою й об'єднали, одержавши 49,71г сполуки, зазначеної в заголовку.

Приклад 5

4-бензилокси-3-хлорфеніламін

Суміш 6,59г (0,025моль) 4-бензилокси-3-хлорнітробензолу (приклад 4), 4,19г (0,075моль) залізного порошку, і 12,04г (0,225моль) хлориду амонію в 100мл етанолу й 25мл води механічно перемішали й нагрівали при зворотному стіканні протягом півгодини. Реакційну суміш витримали для охолодження й перемішали протягом однієї години. Потім суміш профільтрували й осад промили етанолом. Об'єднані фільтрати висушили у вакуумі. Отриманий осад розчинили в метиленхлориді й пропустили через магnezол. Після видалення розчинника з фільтрату у вакуумі одержали 5,60г сполуки, зазначеної в заголовку.

Приклад 6

N-{4-[4-(бензилокси)-3-хлоранілін]-3-циан-7-етокси-6-хінолініл}ацетамід

Суміш 4,17г (0,0149моль) N-(4-хлор-3-циан-7-етокси-6-хінолініл)-ацетаміду, 4,04г (0,0173моль) 4-бензилокси-3-хлорфеніламіну (приклад 5) і 2,0г (0,017моль) піридинхлориду в 85мл ізопропанолу перемішали й нагріли при зворотному стіканні на масляній лазні протягом 30 хвилин. Реакційну суміш остиудили на крижаній лазні, відокремили осад

за допомогою фільтрації й промили ізопропанолом, а потім диетиловим ефіром, одержавши 7,26г неочищеного продукту у формі гідрохлоридної солі. Цей матеріал очистили за допомогою хроматографії вільної основи на силкагелі шляхом елюювання складом метанол:метиленхлорид 1:39.

Приклад 7

6-амін-4-[4-(бензилокси)-3-хлоранілін]-7-етокси-3-хінолінкарбонітрил

Розчин 298мг (0,612ммоль) очищеного N-[4-[4-(бензилокси)-3-хлоранілін]-3-циан-7-етокси-6-хінолініл]ацетаміду (приклад 6) і 97мг (1,73ммоль) гідроксиду калію в 10мл метанолу перемішали й нагрівали при зворотному стіканні протягом 60 годин. При охолодженні утворився осад. Цю суміш вилили на лід й осад, що утворився, відфільтрували й промили водою. Після сушіння одержали 242мг сполуки, зазначеної в заголовку.

Приклад 8

2-ацетамід-5-нітрофенол

До 400г 2-амін-5-нітрофенолу, що знаходиться в 5-літровій колбі з декількома горлечками, оснащений механічною мішалкою, дефлегматором, отвором для введення азоту, лійкою ємністю 500мл для додаткового введення компонентів, колбонагрівачем і термopарою, підключеною до терморегулятора, додали 1,6л оцтової кислоти. Суміш перемішали при 60°C, додаючи 398г оцтового ангідриду протягом 1,5 годин. Одну годину по тому, додали ще 37г оцтового ангідриду. Ще через 1 годину суміш остиудили й розбавили 2л води. Осад відокремили фільтрацією й промили водою й гептаном. Потім осад висушили у вакуумній печі, одержавши 509г сполуки, зазначеної в заголовку.

Приклад 9

4-ацетамід-3-етоксинітробензол

До 400г 2-ацетамід-5-нітрофенолу, що міститься в 12-літровій колбі з 4 горлечками, оснащений дефлегматором, отвором для введення азоту термopарою, лійкою для додаткового введення компонентів і механічною мішалкою, додали 790г карбонату калію та 2,0л диметилформаміду. Суміш перемішали при 60°C, додаючи 294г бромистого етилу протягом 30 хвилин. Через одну годину, додали ще 27г бромистого етилу й перемішували суміш при 60°C протягом наступної години. Потім суміш остиудили до кімнатної температури й вилили в 4л води. Через 30 хвилин відокремили продукт фільтрацією й промили водою й гептаном. Продукт висушили у вакуумній печі при 60°C одержавши 457г сполуки, зазначеної в заголовку.

Приклад 10

Складний етиловий ефір 3-(4-ацетамід-3-етоксигінолініл)-2-цианакрилової кислоти

Суспензію сполуки 4-ацетамід-3-етоксинітробензолу в тетрагідрофурані (10 частин) відновили до анілінової похідної за допомогою вологого 10% Pd/C під тиском водню 50 фунтів на квадратний дюйм (близько 3,5бар) при 30°C протягом 2 годин. Отриманий розчин профільтрували й сконцентрували до 2 частин тетрагідрофурану. Концентрат розбавили толуолом і провели його реакцію з етил(етоксиметилен)ціан ацетатом що випускається серійно при нагріванні зі зворотним стіканням протягом 16 годин. Після закінчення реакції суміш остиудили. Осаджений продукт відо-

кремили фільтрацією, промили й висушили. Продукт мав вихід 90%.

Приклад 11

3-ціан-7-етокси-4-гідрокси-6-N-ацетилхінолін

Розчин 210г складного етилового ефіру 3-(4-ацетамід-3-етоксіанілін)-2-ціанакрилової кислоти в 12л даутерму перемішали в атмосфері азоту при 250°C протягом 15-20 годин. Суміш остудили до кімнатної температури й осад відокремили фільтрацією. Осад промили толуолом і змішали з 1,2л тетрагідрофурану. Суміш нагріли при зворотному стіканні протягом 30 хвилин, а потім остудили до кімнатної температури. Осад відокремили й промили тетрагідрофураном. Після сушіння одержали 179,4г сполуки, зазначеної в заголовку.

Приклад 12

4-хлор-3-ціан-7-етокси-6-нітрохінолін

Перемішану суміш 300г 3-ціан-7-етокси-4-гідрокси-6-N-ацетилхіноліну в 2,53л 1,2-диетоксietану нагріли до 80-85°C. У суміш протягом 30-40 хвилин додали 224мл оксихлориду фосфору. Суміш перемішали при 80-85°C протягом 2-4 годин. Потім суміш остудили, профільтрували через целітну прокладку й промили 1,2-диетоксietаном. Фільтрати протягом 1,5 годин додали в охолоджений (0-10°C) розчин карбонату калію (537г в 1,5л води). Отриману жовту суміш перемішали протягом не менше 12 годин. Суміш профільтрували й промили гарячою водою. Осади висушили (50°C, 10мм рт. ст., 24 години), одержавши вихід сполуки, зазначеної в заголовку, 30-50%. Матеріал використали безпосередньо на наступній стадії.

Приклад 13

3-хлор-4-(2-піридилметокси)нітробензол

Суміш 160г гідроксиду калію й 2-піридилкарбінола в 8л ацетонітрила перемішали протягом 20-30 хвилин. Додали 400г 3-хлор-4-фтор-нітробензолу й перемішали суміш при 40°C не менш 18 годин до закінчення реакції. Додали воду, відфільтрували жовтий осад, що утворився, і промили водою. Продукт висушили (40-50°C, 10мм рт. ст., 24 години), одержавши вихід 85-95%.

Приклад 14

3-хлор-4-(3-фторбензилокси)нітробензол

Дану сполуку одержали з 3-хлор-4-фторнітробензолу й 3-фтор-бензилового спирту способом, описаним у прикладі 13.

Приклад 15

6-амін-4-(3-хлор-4-(3-фторбензилокси)анілін-3-ціан-7-етоксихінолін

У суміш 400г 3-хлор-4-(3-фторбензилокси)нітробензолу (приклад 14) і 464г цинкового пилу в 4л етанолу при 40-50°C додали водний хлорид амонію (152г в 800мл води). Після перемішування протягом не менше 2 годин реакційну суміш профільтрували в гарячому стані через целітну прокладку й промили гарячим етанолом. Фільтрат випарили й додали 1,72л 2-метил-TNF, води й соляного розчину. Органічний шар

відокремили й промили водою. Потім органічний шар випарили й замінили 3,8л етанолу. Додали 4-хлор-3-ціан-7-етокси-6-N-ацетиламін-хінолін з каталітичною кількістю метансульфонової кислоти й нагрівали суміш при 70-75°C не менше 2 годин до закінчення реакції. Додали 1,69л концентрованої HCl при 70-75°C і витримали не менше 2 годин до закінчення гідролізу. Додали воду й остудили суміш до 40°C, осад відокремили й промили водою. Вологий осад суспендували в 5,4л метанолу, додали 10% водний карбонат калію (315г в 2,8л води) і перемішали суміш протягом 2,5 годин. Потім суміш профільтрували й промили складом метанол:вода 1:1. Продукт висушили (50°C, 10мм рт. ст., 24 години), одержавши вихід сполуки, зазначеної в заголовку, 80-90%.

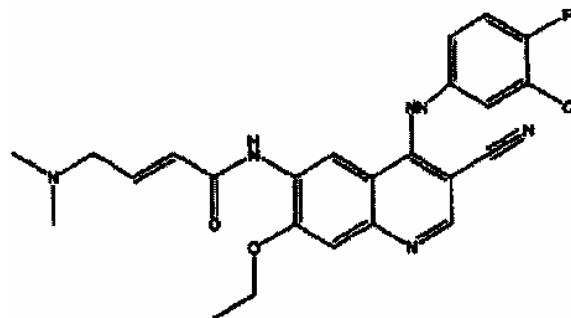
Приклад 16

6-амін-4-(4-(2-піридилметокси)-3-хлор)анілін-3-ціан-7-етоксихінолін

Вищевказану сполуку одержали з 3-хлор-4-(2-піридилметокси)нітробензолу й 4-хлор-3-ціан-7-етокси-6-N-ацетиламінхіноліну способом, описаним у прикладі 15.

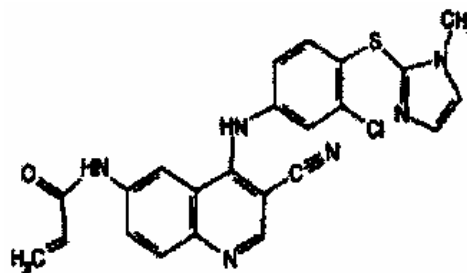
Приклад 20

4-диметил-бут-2-еноїс acid [4-(3-хлор-4-фторфеніламін)-3-ціан-7-етокси-хінолін-6-іл]-амід



Приклад 21

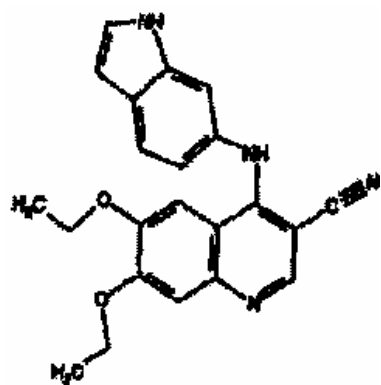
N-{4-[3-хлор-4-(1-метил-1H-імідазол-2-ісульфаніл)-феніламін]-3-ціан-хінолін-6-іл}-акриламід



Приклад 22

6,7-ді-4-(1H-indol-6-іламін)-хінолін-3-карбонітрил

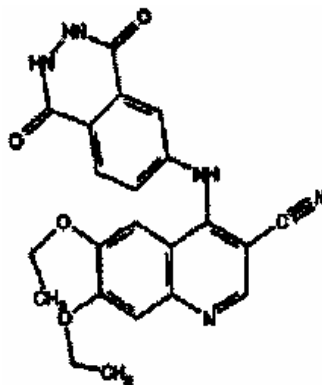
19



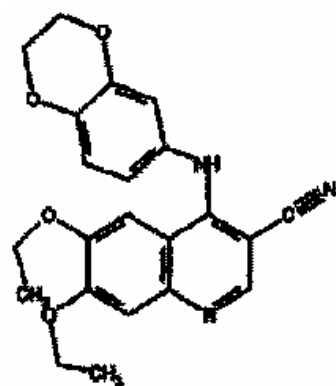
Приклад 23
4-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксин-6-іламін)-6,7-діетокси-хінолін-3-карбонітрил

85394

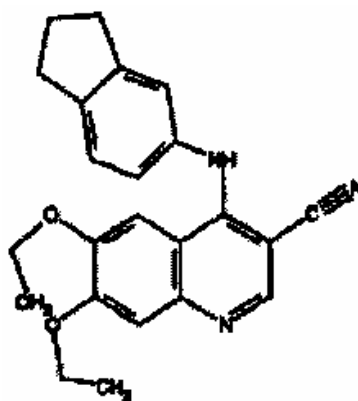
20



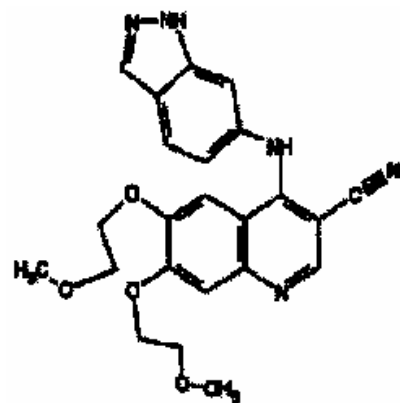
Приклад 26
6,7-ді-4-(індан-5-іламін)-хінолін-3-карбонітрил



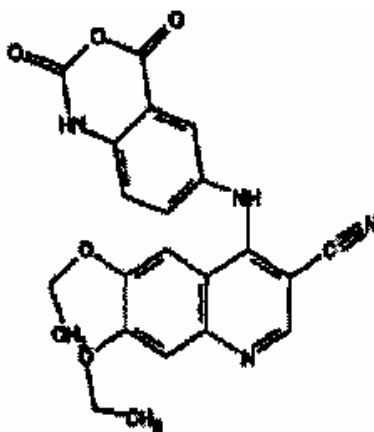
Приклад 24
4-(1H-індазол-6-іламін)-6,7-біс-(2-метокси-етокси)-хінолін-3-карбонітрил



Приклад 27
4-(2,4-діоксо-1,4-дигідро-2H-бензо[d][1,3]оксазин-6-іламін)-6,7-діетокси-хінолін-3-карбонітрил

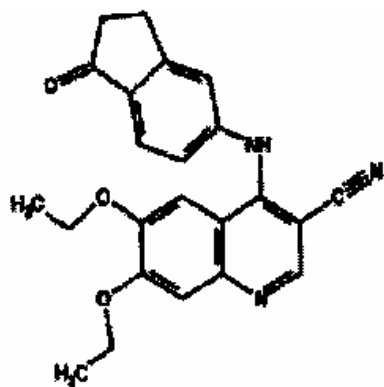


Приклад 25
4-(1,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрофталазін-6-іламін)-6,7-діетокси-хінолін-3-карбонітрил

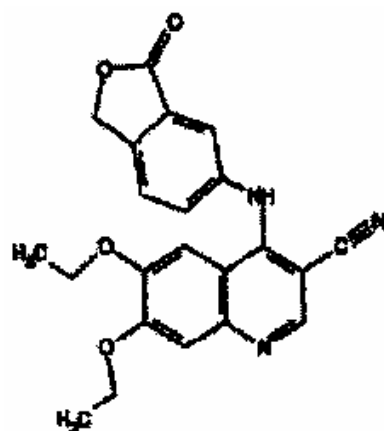


Приклад 28
6,7-ди-4-(1-оксоіндан-5-іламін)-хінолін-3-карбонітрил

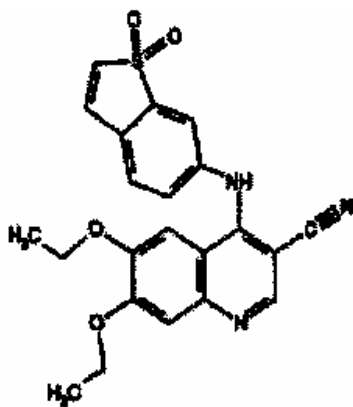
21



Приклад 29
6,7-ді-4-(3-оксо-1,3-дигідро-ізобензофуран-5-іламін)-хінолін-3-карбонітрил



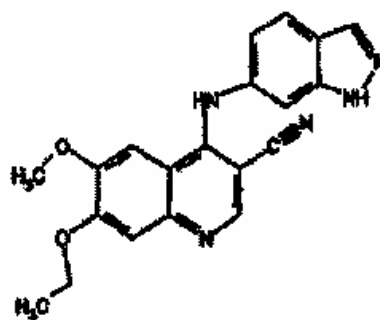
Приклад 30
4-(1,1-диоксо-1H-1-бензо[b]тиофен-6-іламін)-6,7-диетокси-хінолін-3-карбонітрил



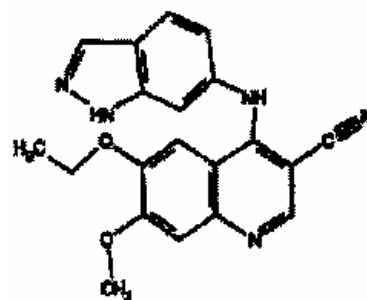
Приклад 31
7-етокси-4-(1H-індазол-6-іламін)-6-метокси-хінолін-3-карбонітрил

85394

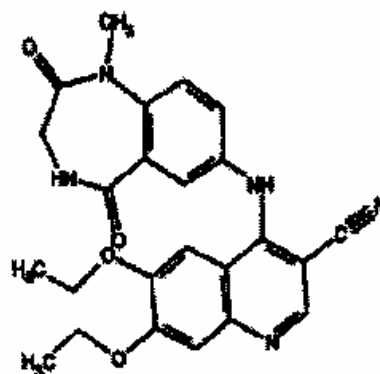
22



Приклад 32
6-етокси-4-(1H-індазол-6-іламін)-7-метокси-хінолін-3-карбонітрил

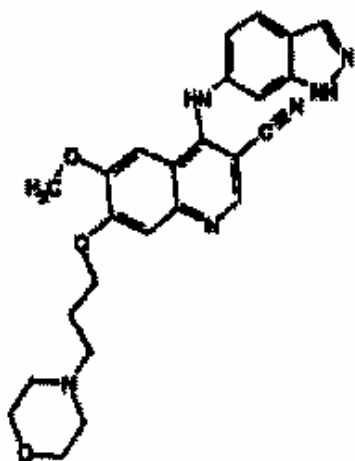


Приклад 33
6,7-ді-4-(1-метил-2,5-диоксо-2,3,4,5-тетрагідро-1H-бензо[e][1,4]діазепін-7-іламін)-хінолін-3-карбонітрил

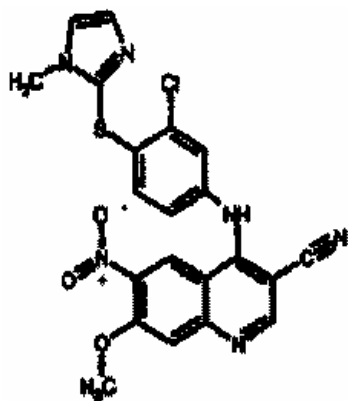


Приклад 34
4-(1H-індазол-6-іламін)-6-метокси-7-(3-морфолін-4-іл-пропокси)-хінолін-3-карбонітрил

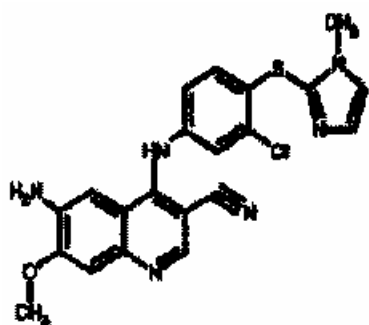
23



Приклад 35
4-({3-хлор-4-[(1-метил-1H-імідазол-2-іл)сульфаніл]феніл}амін)-7-метокси-6-нітро-3-хіолінкарбонітрил



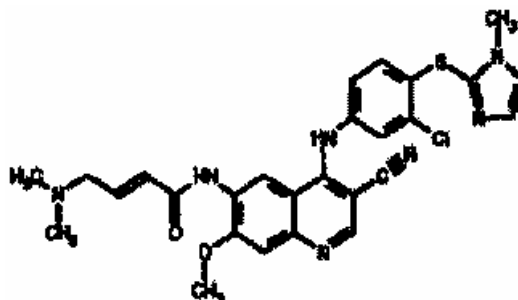
Приклад 36
6-амін-4-({3-хлор-4-[(1-метил-1H-імідазол-2-іл)сульфаніл]феніл}амін)-7-метокси-3-хіолінкарбонітрил



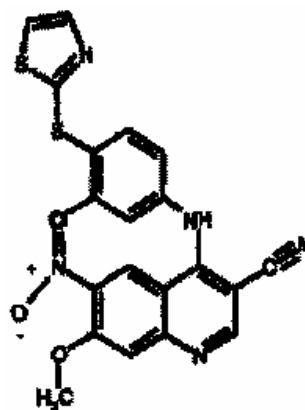
Приклад 37
(2E)-N-[4-({3-хлор-4-[(1-метил-1H-імідазол-2-іл)сульфаніл]феніл}амін)-3-ціан-7-метокси-6-хіолініл]-4-(диметиламін)-2-бутенамід

85394

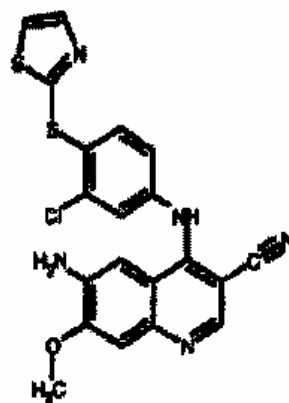
24



Приклад 38
4-({3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)феніл}амін)-7-метокси-6-нітро-3-хіолінкарбонітрил

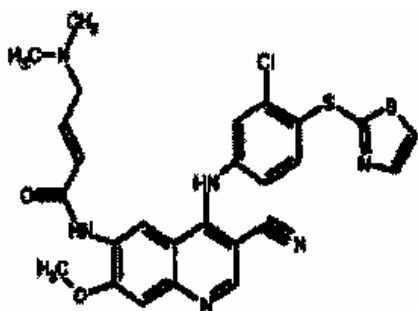


Приклад 39
6-амін-4-({3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)феніл}амін)-7-метокси-3-хіолінкарбонітрил

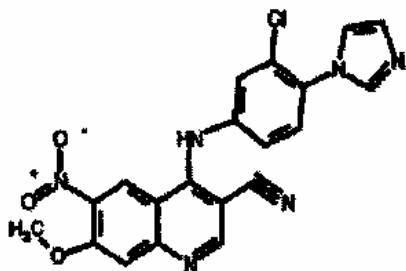


Приклад 40
(2E)-N-(4-({3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)феніл}амін)-3-ціан-7-метокси-6-хіолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід

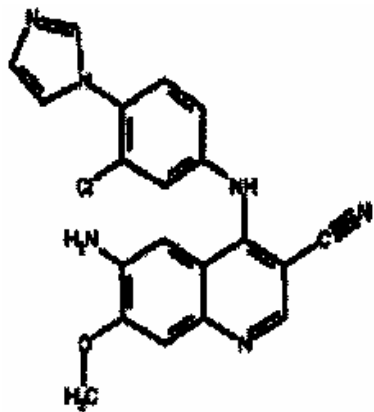
25



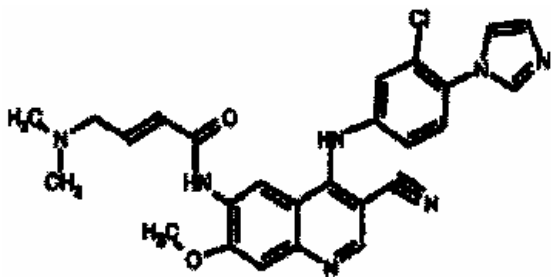
Приклад 41
4-[3-хлор-4-(1H-імідазол-1-іл)анілін]-7-метокси-6-нітро-3-імідазол-1-іл)анілін]-7-метокси-6-нітро-3-хінолінкарбонітрил



Приклад 42
6-амін-4-[3-хлор-4-(1H-імідазол-1-іл)анілін]-7-метокси-3-4-(1H-імідазол-1-іл)анілін]-7-метокси-3-хінолінкарбонітрил



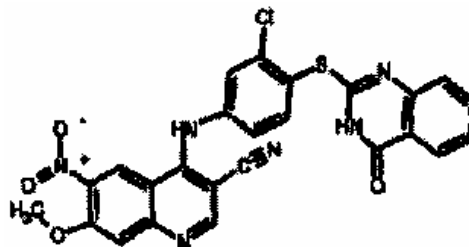
Приклад 43
(E)-N-(4-[3-хлор-4-(1H-імідазол-1-іл)анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-азол-1-іл)анілін]-4-(диметиламін)-2-анілін-2-бутенамід



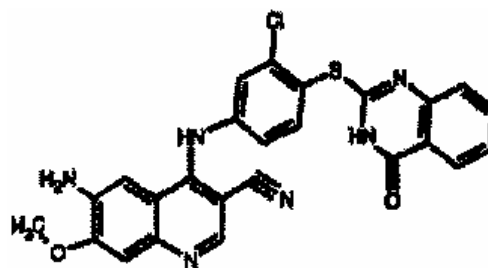
85394

26

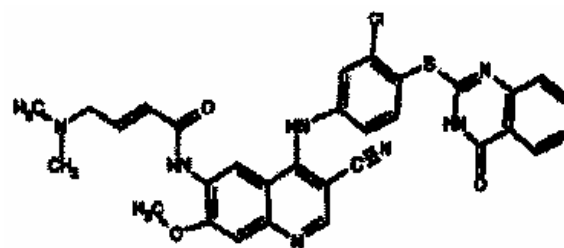
Приклад 44
4-{3-хлор-4-[(4-оксо3,4-дигідро-2-хіназолініл)сульфаніл]анілін}-7-метокси-6-гідро-2-хіназолініл)сульфаніл)анілін]-7-метокси-6-нітро-3-хінолінкарбонітрил



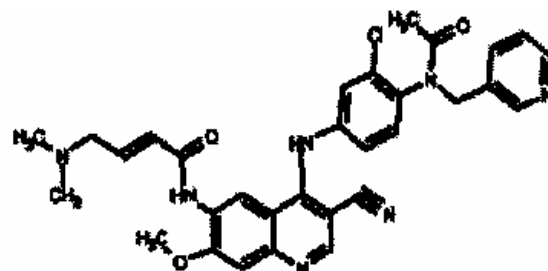
Приклад 45
6-амін-4-[3-хлор-4-[(4-оксо3,4-дигідро-2-хіназолініл)сульфаніл]анілін]-7-3,4-дигідро-2-хіназолініл)сульфаніл)анілін]-7-метокси-3-хінолінкарбонітрил



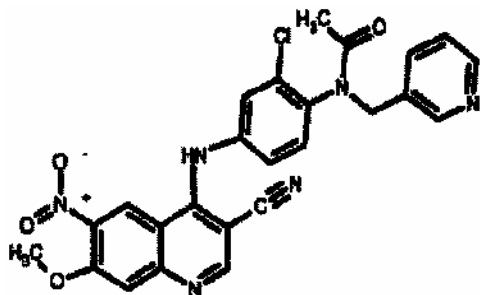
Приклад 46
(E)-N-(4-[3-хлор-4-[(4-оксо3,4-дигідро-2-хіназолініл)сульфаніл]анілін]-3-феніл)анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід



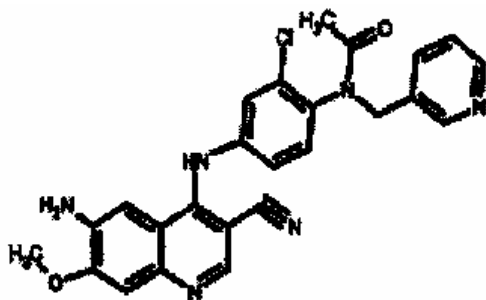
Приклад 47
(E)-N-(4-[4-[ацетил(3-піридинілметил)амін]-3-хлоранілін]-3-ціан-7-метокси-]-3-хлоранілін)-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід



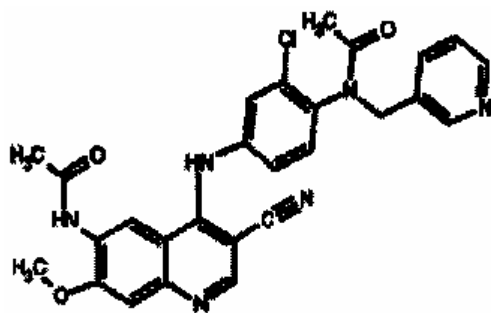
Приклад 48
N-{2-хлор-4-[(3-циан-7-метокси-6-нітро-4-хінолініл)амін]феніл}-N-(3-7-метокси-6-нітро-4-хінолініл)амін]феніл}-N-(3-піридинілметил)ацетамід



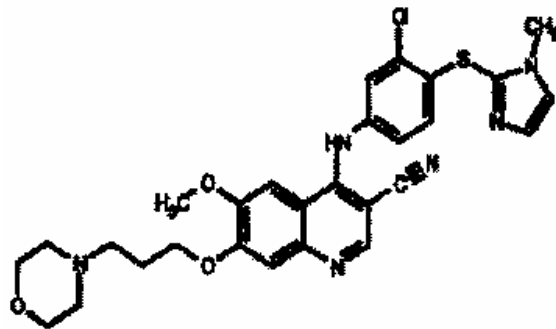
Приклад 49
N-{4-[(6-амін-3-циан-7-метокси-4-хінолініл)амін]-2-хлорфеніл}-N-(3-метокси-4-хінолініл)амін]-2-хлорфеніл}-N-(3-піридинілметил)ацетамід



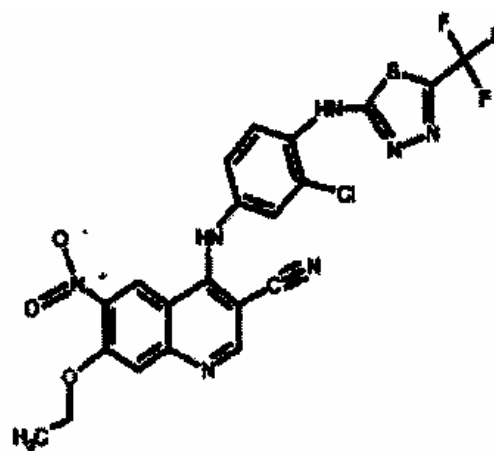
Приклад 50
N-(4-[(6-ацетиламін)-3-циан-7-метокси-4-хінолініл]амін)-2-хлорфеніл)-N-апо-7-метокси-4-хінолініл]амін)-2-хлорфеніл)-N-(3-піридинілметил)ацетамід



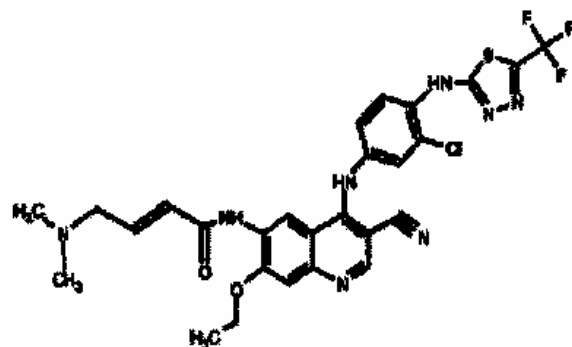
Приклад 51
4-{3-хлор-4-[(1-метил-1H-імідазол-2-ил)сульфаніл]анілін}-6-метокси-7-[3-(4-морфолініл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил



Приклад 52
4-(3-хлор-4-[(5-(трифторметил)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]амін]анілін)-7-етокси-6-нітро-3-хінолінкарбонітрил

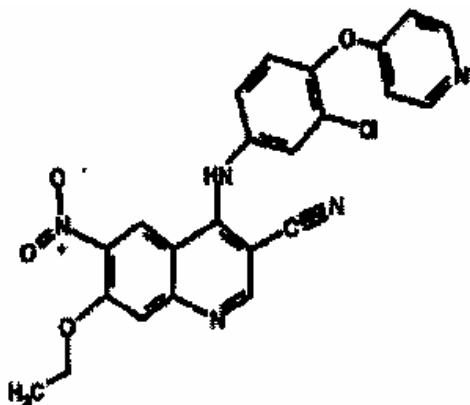


Приклад 53
(E)-N-[4-(3-хлор-4-[(5-(трифторметил)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]амін]анілін)-3-циан-7-етокси-6-хінолініл]-4-(диметиламін)-2-бутенамід

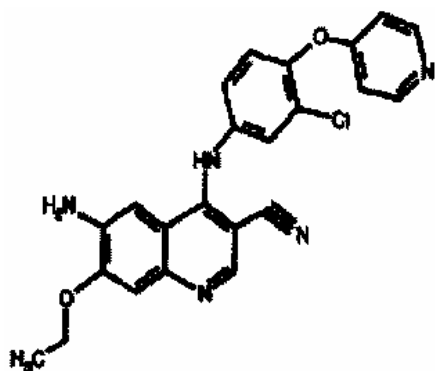


Приклад 54
4-[3-хлор-4-(4-піридинілокси)анілін]-7-етокси-6-нітро-3-хінолінкарбонітрил

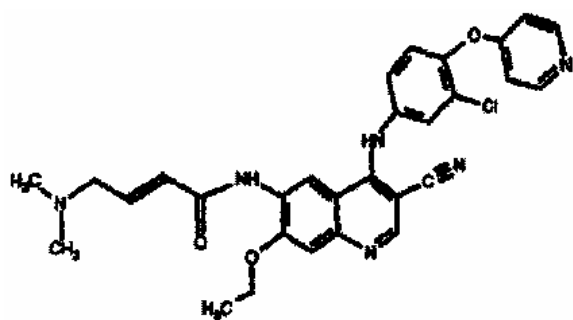
29



Приклад 55
6-амін-4-[3-хлор-4-(4-піридинілокси)анілін]-7-етокси-3-хінолінкарбонітрил



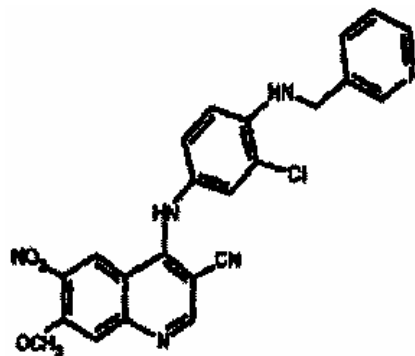
Приклад 56
(E)-N-(4-([3-хлор-4-(4-піридинілокси)анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл)-4-(діметиламін)-2-бутенамід



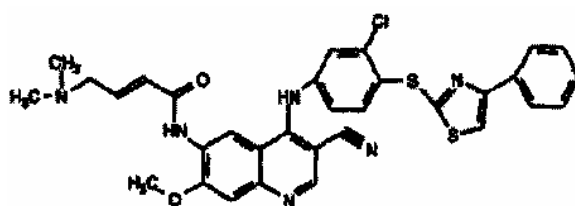
Приклад 57
4-[3-хлор-4-[(3-піридинілметил)амін]анілін]-7-метокси-6-нітро-3-хінолінкарбонітрил

85394

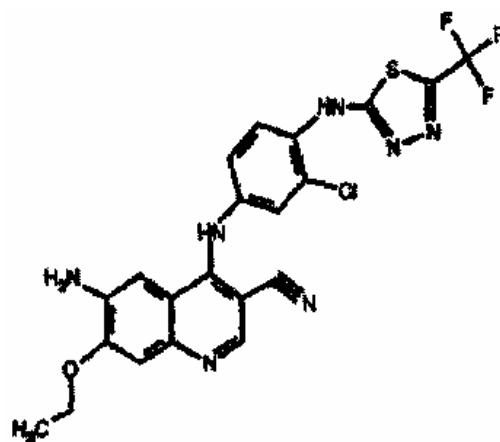
30



Приклад 58
(E)-N-(4-([3-хлор-4-[(4-феніл-1,3-тіазол-2-іл)сульфаніл]анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-4-(діметиламін)-2-бутенамід

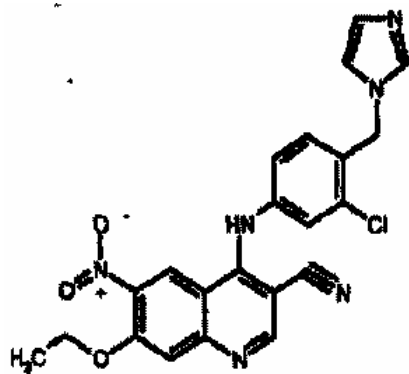


Приклад 59
6-амін-4-(3-хлор-4-[[5-(трифторметил)-1,3,4-тіадіазол-2-іл]амін]анілін)-7-етокси-3-хінолінкарбонітрил

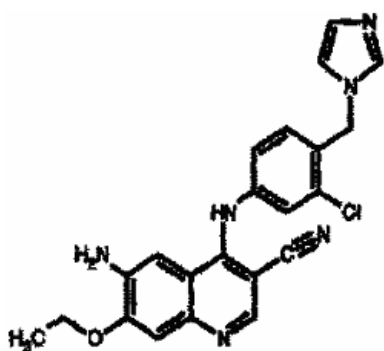


Приклад 60
4-[3-хлор-4-(1H-імідазол-1-ілметил)анілін]-7-етокси-6-нітро-3-хінолінкарбонітрил

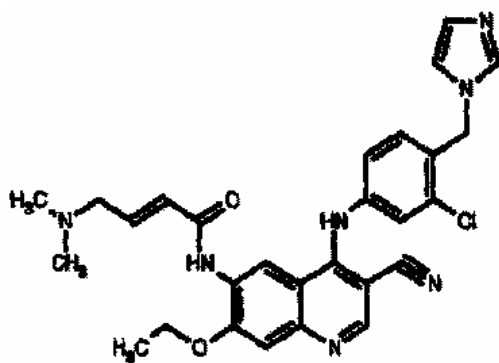
31



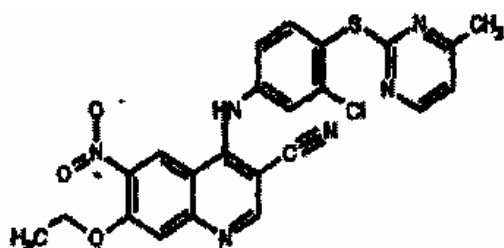
Приклад 61
6-амін-4-[3-хлор-4-(1H-імідазол-1-ілметил)анілін]-7-етокси-3-хінолінкарбонітрил



Приклад 62
(E)-N-(4-[3-хлор-4-(1H-імідазол-1-ілметил)анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл)-4-(діметиламін)-2-бутенамід



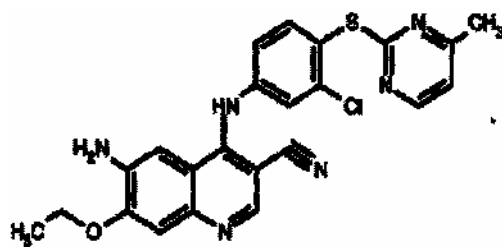
Приклад 63
4-[3-хлор-4-[(4-метил-2-піримідиніл)сульфаніл]анілін]-7-етокси-6-нітро-3-хінолінкарбонітрил



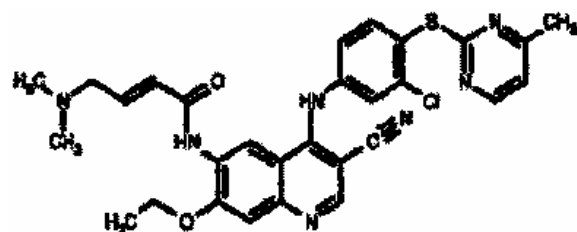
85394

32

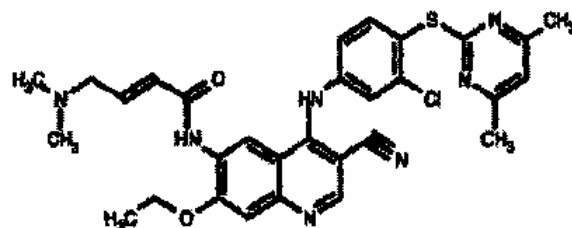
Приклад 64
6-амін-4-[3-хлор-4-[(4-метил-2-піримідиніл)сульфаніл]анілін]-7-етокси-3-хінолінкарбонітрил



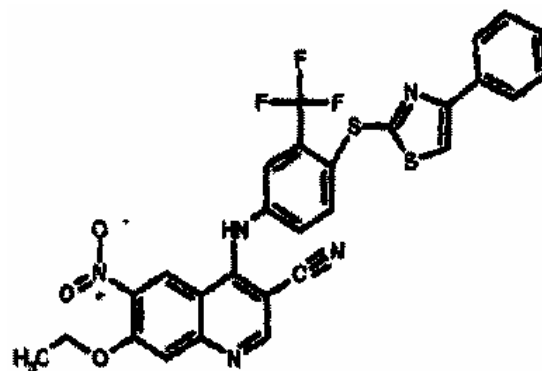
Приклад 65
(E)-N-(4-[3-хлор-4-[(4-метил-2-піримідиніл)сульфаніл]анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл)-4-(діметиламін)-2-бутенамід



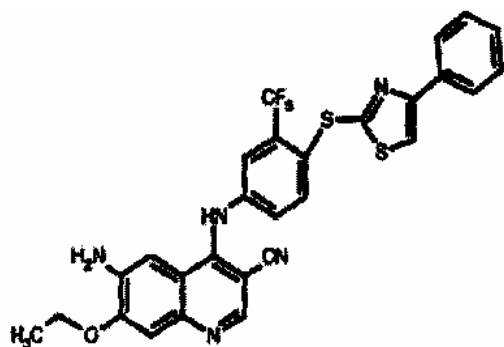
Приклад 66
(E)-N-(4-[3-хлор-4-[(4,6-диметил-2-піримідиніл)сульфаніл]анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл)-4-(діметиламін)-2-бутенамід



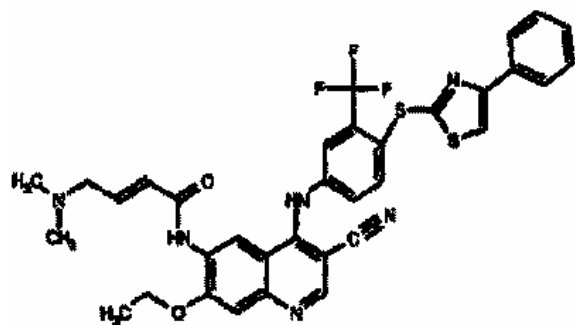
Приклад 67
7-етокси-6-нітро-4-[4-[(4-феніл-1,3-тіазол-2-іл)сульфаніл]-3-(трифторметил)анілін]-3-хінолінкарбонітрил



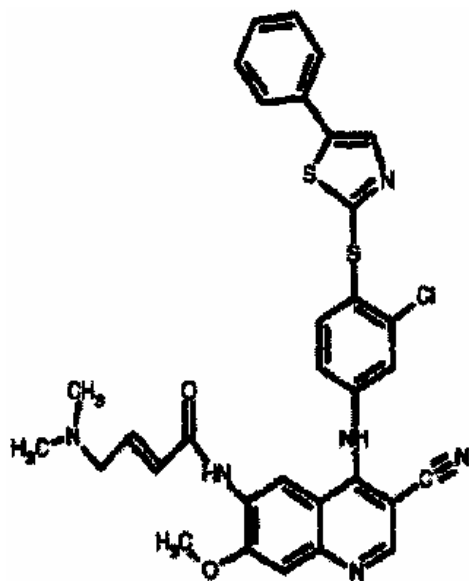
Приклад 68
6-амін-7-етоксі-4-[4-(4-феніл-тіазол-2-ілсульфаніл)-3-трифторметил-феніламін]-хінолін-3-карбонітрил



Приклад 69
(E)-N-{3-ціан-7-етокси-4-[4-(4-феніл-1,3-тіазол-2-іл)сульфаніл]-3-(трифторметил)анілін]-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід

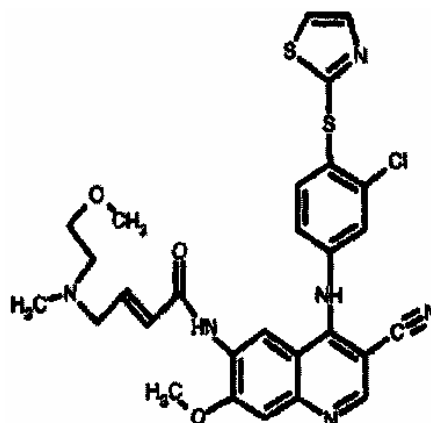


Приклад 70
(E)-N-(4-{3-хлор-4-[(5-феніл-1,3-тіазол-2-іл)сульфаніл]анілін}-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід



Приклад 71

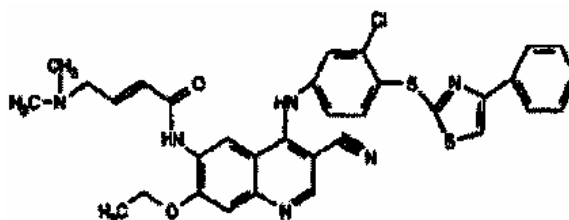
(E)-N-{4-[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл}-4-[(2-метоксиетил)(метил)амін]-2-бутенамід



Одержали (E)-N-{4-[3-хлор-4-(1,3-тіазол-2-ілсульфаніл)анілін]-3-ціан-7-метокси-6-хінолініл}-4-[(2-метоксиетил)(метил)амін]-2-бутенамід шляхом додавання по краплях 3,43г (18,71ммоль, 1,95мл) 4-бромкروتонилхлориду в 12мл THF протягом 45хв при перемішуванні в розчин 4,7г (10,69ммоль) 6-амін-4-[3-хлор-4-(тіазол-2-ілсульфаніл)-феніламін]-7-метокси-хінолін-3-карбонітрилу в 588 мл THF, що містить 3,73 мл (21,36ммоль) діізопропілетиламіну, при 0°C в атмосфері азоту. У результаті реакції утворилася суміш 4-[3-хлор-4-(тіазол-2-ілсульфаніл)-феніламін]-3-ціан-7-метокси-хінолін-6-іл)-амід 4-бром-(1-хлор)-бет-2-енової кислоти. Порцію розчину 300мл остудили до 0°C і додали по краплях 2,38г (26,7ммоль) (2-метоксіетил)-метиламіну в 11мл THF. Після нагрівання реакційної суміші до кімнатної температури додали 401мг (0,5екв.) йодиду натрію й перемішали розчин протягом ночі. Розчинники випарили з утворенням червоного осаду, що розділився між EtOAc і насиченим NaHCO₃. Після витримки протягом ночі шари розділили, а органічний шар висушили й випарили. У результаті хроматографії осаду в короткому стовпчику із силікагелем 60 при елюванні EtOAc, потім EtOAc/15% MeOH й, нарешті, EtOAc/15% MeOH/1% Et₃N одержали 1,3г продукту (вихід 41%) у формі жовтого склоподібного матеріалу; мас-спектрометрія високого вирішення (іонізація електророзпилюванням): m/z 595,13338 (M)⁺, Δ=-2,28 тисячних часток атомної одиниці маси.

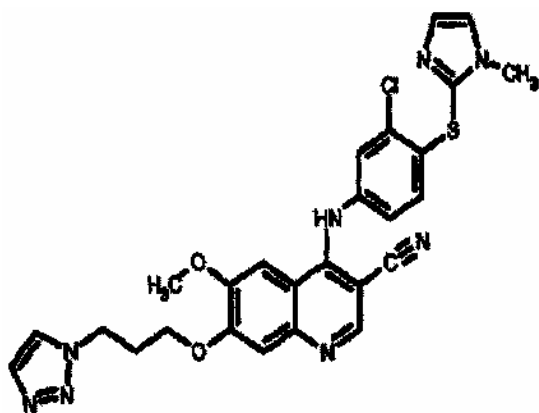
Приклад 72

(E)-N-(4-{3-хлор-4-[(4-феніл-1,3-тіазол-2-іл)сульфаніл]анілін}-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл)-4-(диметиламін)-2-бутенамід



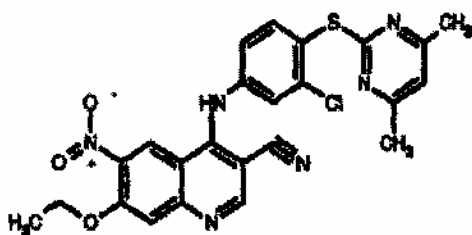
Приклад 73

4-{3-хлор-4-[(1-метил-1H-імідазол-2-іл)сульфаніл]анілін}-6-метокси-7-[3-(1H-1,2,3-triazol-1-іл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил



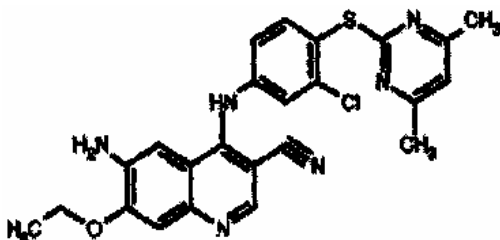
Приклад 74

4-{3-хлор-4-[(4,6-диметил-2-піримідиніл)сульфаніл]анілін}-7-етокси-6-нітро-3-хінолінкарбонітрил



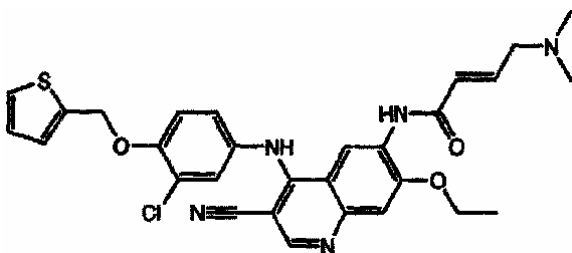
Приклад 75

6-амін-4-{3-хлор-4-[(4,6-диметил-2-піримідиніл)сульфаніл]анілін}-7-етокси-3-хінолінкарбонітрил



Приклад 76

(2E)-N-{4-[3-хлор-4-(2-тієнілметоксі)анілін]-3-ціан-7-етокси-6-хінолініл}-4-(диметиламін)-2-бутенамід



Були проведені дослідження типових сполук згідно даного винаходу відповідно до декількох стандартних фармакологічних методик, результати яких показали, що сполуки згідно даного винаходу мають значну активність як інгібітори HER-2 й є антипроліферативними агентами. Відповідно до отриманих результатів, активність, виявлена при стандартних фармакологічних випробуваннях, дозволяє зробити висновок про те, що сполуки згідно даного винаходу є корисними в якості антибластомних засобів. Методики проведених випробувань й отриманих результатів представлені нижче.

Дослідження кіназної активності: сполуки із приклада 1, приклада 2 і приклада 3 є сильнодіючими інгібіторами ферменту HER-2, сполука із приклада 20 - не є такою. Очищений рекомбінантний 3-кінцевий фрагмент кожного ферменту інкубували з ATP (adenosine triphosphate, аденозинтрифосфат) під час відсутності сполуки або в заданому діапазоні концентрацій відповідної сполуки. Аутофосфорилування рецепторів оцінювали з фосфотирозиновими антитілами у форматі ELISA (твердофазний імуоферментний аналіз). У безклітинному аналізі аутофосфорилування з використанням рекомбінантного цитоплазматичного домена HER-2 всі три інгібітори зменшували активність ферменту на 50% (IC₅₀) при концентраціях у межах 33-65нМ (таблиця 1).

Таблиця 1

Сполука	Фермент IC ₅₀ (мкг/мл)	
	HER-2	EGFR
Приклад 1	0,036	0,028
Приклад 2	0,033	0,051
Приклад 3	0,019	0,019
Приклад 20	0,58	0,02

Вони також інгібували EGFR при аналогічних умовах аналізу при концентрації 33-92нМ.

Дослідження проліферації клітин: сполуки з прикладу 1, прикладу 2 і прикладу 3 придушували проліферацію фібробластичної клітинної лінії в мишей, трансфікованих онкогеном HER-2 (3T3/неу), на 50% (IC₅₀) при 3-5нМ (таблиця 2). Це значення істотно нижче, ніж величина, отримана для ізогенних не трансфікованих клітин (3T3, IC₅₀ 683-906нМ), що вказує на високий ступінь селективності для даного онкогенного шляху. Клітини інкубували з різними концентраціями сполук протягом 2 діб (6 діб для клітин BT474). Виживання клітин визначали за допомогою аналізу зв'язування барвника протеїном (SRB), [Rubinstein LV, Shoemaker RH, Paull KD, Simon RM, Tosini S, Skehan P, Scudiero DA, Monks, Boyd MR. Comparison of *in vitro* anticancer-drug-screening data generated with tetrazolium assay versus protein assay against diverse panel of human tumor cell lines. J. Natl. Cancer Inst. 82(13):1113-8, 1990, Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. J. Natl. Cancer Inst. 82(13): 1107-12, 1990].

Показана концентрація препарату (нМ), яка інгібує активність ферменту або проліферацію клітин на 50%. Три інгібітори інгібували також дві інших клітинних ліній раку молочної залози, що забезпечують надсинтез HER-2, а саме, SK-Br-3 й BT474 (IC₅₀ 2-4нМ), однак, вони були набагато

менш активними в 20 клітинах MDA-MB-435 й SW620 (клітинні лінії раку молочної залози й раку обідкової кишки, відповідно), тобто EGFR- і HER-2-негативні. Сполуки придушували клітинну лінію епідермальної карциноми A431, що забезпечує надсинтез EGFR (IC₅₀ 81-120нМ) (таблиця 2).

Таблиця 5

Клітинна IC₅₀ (мкг/мл)

EGFR	-	-	+++	-	+	-	-
Her-2	-	+++	+	+++	+++	-	-
Сполука	3T3	3T3/NEU	A431	SKBr3	BT474	MDA-MB-435	SW620
Приклад 1	0,38	0,0029	0,062	0,0015	0,0014	0,47	0,24
Приклад 2	0,39	0,0018	0,045	0,001	0,0013	0,44	0,44
Приклад 3	0,52	0,0023	0,069	0,0015	0,0024	0,51	0,29
Приклад 20	0,26	0,0230	0,030	0,0071	0,020	0,34	0,32
Приклад 21		0,463	0,62	0,01		4,57	1,84
Приклад 22		0,933	0,123	0,0374		0,365	0,286
Приклад 23		0,375	0,27	0,281		0,235	0,411
Приклад 24		>5	1,961	>5		2,045	>5
Приклад 25		>5	>5	>5		>5	>5
Приклад 26		0,0198	0,342	0,294		0,352	0,294
Приклад 27		4,616	>5	>5		>5	2,922
Приклад 28		0,0311	0,0181	0,0281		0,028	0,0244
Приклад 29		3,301	>5	>5		3,404	1,565
Приклад 30		0,251	0,257	0,336	I	0,00328	0,146
Приклад 31		0,0267	0,0368	0,022		0,0359	0,0212
Приклад 32		4,801	0,786	2,094		2,626	4,313
Приклад 33		>5	>5	>5		>5	>5
Приклад 34		>5	>5	>5		>5	>5
Приклад 35		4,09	2,88	0,669		1	1,55
Приклад 36		1,06	3,04	0,011		0,39	3,16
Приклад 37		0,02	0,02	0,0004		0,43	0,43
Приклад 38		0,262	0,148	0,124		0,35	0,15
Приклад 39		0,333	0,663	0,236		0,65	0,55
Приклад 40		0,002	0,017	0,0007		0,33	1,13
Приклад 41		1,09	1,79	1,48		0,95	1,66
Приклад 42		0,53	1,63	1,73		1,27	5,99
Приклад 43		1,46	0,51	0,32		0,57	1,45
Приклад 44		4,54	2,28	4,54		>5	1,96
Приклад 45		1,88	1,22	2,15		4,58	4,66
Приклад 46		0,15	0,34	0,06		>5	>5
Приклад 47		>5	0,646	>5		1,16	1,64
Приклад 48		1,79	1,6	0,68		2,61	2,57
Приклад 49		2,4	>5	3,41		3,76	>5
Приклад 50		>5	3,68	3,94		>5	>5
Приклад 51		0,196	0,775	0,32			2,18
Приклад 52		1,89	1,79	1,22		1,84	2,54
Приклад 53		0,89	0,728	0,179		0,95	1,05
Приклад 54		>5	>5	>5		2,54	>5
Приклад 55		>5	>5	>5		1,61	>5
Приклад 56		>5	3,27	1,51		2,06	>5
Приклад 57		4,03	1,6	0,726		1,87	3,21
Приклад 58		0,028	0,162	0,005		0,23	0,57
Приклад 59		>5	>5	0,551		0,91	1,38
Приклад 60		>5	>5	2,44		>5	>5
Приклад 61		>5	>5	0,75		>5	>5
Приклад 62		0,99	0,95	0,045		2,1	3,8
Приклад 63		1,49	1,2	0,45		1,3	0,9

Продовження таблиці 5

1	2	3	4	5	6	7	8
Приклад 64		3,03	1,53	>5		1,8	2
Приклад 65		0,003	0,12	0,001		0,3	0,2
Приклад 66		0,01	0,24	0,006		0,2	0,32
Приклад 67		0,68	0,76	0,268		0,4	0,4
Приклад 68		2,52	>5	0,943		2,5	3,1
Приклад 69		0,42	0,3	>5		0,3	0,6
Приклад 70		0,12	0,22	0,01		0,08	0,5
Приклад 71		0,002	0,03	0,002		0,09	0,4
Приклад 72		0,02	0,24	0,006		0,18	0,54
Приклад 73		0,973	1,83	0,104			3,69
Приклад 74		>5	>5	>5		4,1	>5
Приклад 75		2,12	0,76	0,98		1,3	1,36
Приклад 76	0,41	0,0039	0,066	0,004	0,003	0,77	0,25

Фосфорилування рецептора: сполуки, які придушували проліферацію фібробластичної клітинної лінії в мишей, трансфікованих онкогеном HER-2 (3T3/neu) на 50% (IC_{50}) < 0,05 мкг/мл, зазначені вище в таблиці 2, випробували на фосфорилування *in vitro*. Для проведення аналізу на фосфорилування Her-2 и EGFR клітини (BT474 й A431, відповідно) інкубували з різними концентраціями сполук протягом 3 годин при 37°C. Білкові екстракти аналізували способом імуноблот-аналізу з використанням фосфотирозинових антитіл Репліки вимірювали за допомогою денситометричного сканування. Визначили концентрацію сполуки (нМ), що інгибує Фосфорилування на 50%. Сполуки із прикладу 1, прикладу 3 й НКІ-272 зменшували ліганд-залежне фосфорилування рецептора на 50% (IC_{50}) при 5-23 нМ у клітинах BT474 (таблиця 3). Вони також придушували EGF-залежне фосфорилування EGFR у клітинах A431 при порівнянній дозі (IC_{50} 3-7 нМ).

Таблиця 3

Сполука	IC_{50} (мкг/мл)	
	BT474	A431
Приклад 1	0,0075	0,0031
Приклад 2	0,0026	0,0014
Приклад 3	0,013	0,0042
Приклад 20	0,080	0,0031
Приклад 37	<1	
Приклад 40	10-50	
Приклад 58	50-500	
Приклад 76	0,0015	0,0025

Тести *IN VIVO*: протипухлинну активність *in vivo* сполуки із прикладу 3 оцінювали на моделях пухлинних ксенотрансплантатів. Пухлинні клітини (вирощені в тканинній культурі) або фрагменти пухлини імплантували підшкірно самкам мишей, позбавленим хутра. Лікування починали після того, як пухлина досягала 90-200 мг, при випадковому розподілі тварин на групи що піддавалися різному лікуванню (ступінчаті зміни). Альтернативно (3T3/neu) лікування починали наступного дня після імплантації пухлини внаслідок швидкого

розростання цих пухлин. Сполуки наготовлювали в складі 0,5% Methocel - 0,4% полісорбат-80 (Tween-80) і вводили щодоби перорально через шлунковий зонд. Маса пухлини $[(L \times W^2)/2]$ визначали один раз у сім днів. Статистичну значимість впливу сполуки оцінювали за допомогою перевірки за критерієм Стюдента.

Активність сполуки з прикладу 3 спочатку оцінили на трансплантатах клітин 3T3/neu, при цьому сполука з прикладу 3 інгибувала ріст пухлини при введенні тваринам 20 мг/кг/день (інгибування 65%, 21 день), 40 мг/кг/день (інгибування 97%), і 80 мг/кг/день (інгибування 99%). Ці результати були майже ідентичними результатам, отриманим при лікуванні сполукою з прикладу 2 (інгибування 53%, 95% й 98% при 20, 40 й 80 мг/кг/день, відповідно). У двох інших незалежних тестах лікування сполукою з прикладу 3 викликало статистично значиме інгибування росту пухлини (21-33%) при дозі 10 мг/кг/день. Виходячи із цих досліджень, встановили мінімальну ефективну дозу (МЕД), рівну 10 мг/кг/день. Це - найменша доза, що забезпечує стійке статистично значиме ($p < 0,05$) зменшення росту пухлини.

Потім досліджували вплив сполуки з прикладу 3 у трансплантатах HER-2-залежних клітинних ліній пухлини людини. У тварин із трансплантатами BT474 лікування сполукою із прикладу 3 зменшувало ріст пухлини при дозі від 10 мг/кг/день до 40 мг/кг/день. Максимальне інгибування спостерігали на 21 день і воно становило від 59% (10 мг/кг/день) до 96% (40 мг/кг/день). Для сполуки із прикладу 2 інгибування становило від 76% (10 мг/кг/день) до 95% (40 мг/кг/день). Аналогічні результати одержали у двох інших незалежних експериментах. У тварин із трансплантатами SUM-190 (друга HER-2-залежна клітинна лінія раку молочної залози) лікування сполукою з прикладу 3 привело до стійкого придушення росту пухлини при дозі 40 мг/кг/день (інгибування 94%, 28 день). Сполуку із прикладу 3 була також ефективною проти трансплантатів SK-OV-3 (HER-2-залежна клітинна лінія карциноми яєчника людини). При цьому сполука з прикладу 3 була активною при дозі від 20 мг/кг/день (інгибування 86% 35 день) і 60 мг/кг/день (інгибування 91%). МЕД у моделях трансплантата людини з надсинтезом

HER-2 оцінили в 10мг/кг/день, аналогічно сполуці із приклада 2. У цих дослідженнях було відсутнє зменшення розміру пухлини нижче вихідного розміру, що мав місце на початку дозованого

лікування. Крім того, після закінчення лікування пухлини проявляли ознаки повторного росту, що узгоджується з нетоксичним характером дії сполуки з прикладу 3.

В описі до патенту на винахід (юрисну модель) текст та графічні зображення подаються в редакції заявника

Комп'ютерна верстка О. Гапоненко

Підписне

Тираж 28 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601