

R U 2 4 8 5 1 0 7 C 2

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) RU (11) 2 485 107 (13) C2

(51) МПК  
*C07D 239/48* (2006.01)  
*C07D 401/04* (2006.01)  
*C07D 401/12* (2006.01)  
*A61K 31/495* (2006.01)  
*A61K 31/496* (2006.01)  
*A61P 33/06* (2006.01)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2010117193/04, 08.10.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
08.10.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
08.10.2007 US 60/978,375

(43) Дата публикации заявки: 20.11.2011 Бюл. № 32

(45) Опубликовано: 20.06.2013 Бюл. № 17

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: US 2004/0180913, 19.09.2004. US 4033962 A, 05.07.1977. US 4232023 A, 04.11.1980. RU 2002124136 A, 06.02.2001.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 11.05.2010

(86) Заявка РСТ:  
US 2008/079210 (08.10.2008)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2009/048957 (16.04.2009)Адрес для переписки:  
103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО  
"Союзпатент", пат.п.в. А.П.Агурееву,  
рег.№ 590

(72) Автор(ы):

ТАРНЧОМПО Бонгкоч (TH),  
 ЮТАВОНГ Йонгьют (TH),  
 ВИЛАЙВАН Тирайт (TH),  
 ЧИТНУМСУБ Пенчит (TH),  
 ТОНГПАНЧАНГ Чавани (TH),  
 КАМЧОНВОНГПАЙСАН Сумали (TH),  
 МЭТЬЮС Дэвид (US),  
 ВАЙВАС Ливиа (GB),  
 ЮВАНИЯМА Джирундон (TH),  
 ЧАРМАН Сьюзан (AU),  
 ЧАРМАН Вильям (AU),  
 КАТЬЯР Санджай Бабу (IN)

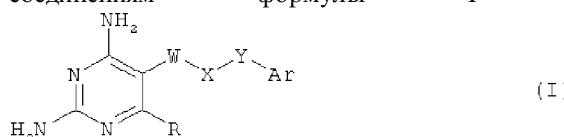
(73) Патентообладатель(и):

ММВ МЕДСИНС ФОР МАЛЭРИА  
ВЕНЧУР (CH)

## (54) АНТИМАЛЯРИЙНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ С ГИБКИМИ БОКОВЫМИ ЦЕПЯМИ

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к новым соединениям формулы I



где R представляет собой водород или C<sub>1-4</sub>алкил; W-X-Y представляет собой O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>O; Ar представляет собой необязательно замещенное ароматическое кольцо, включающее фенил или нафтил, или необязательно замещенное гетероароматическое кольцо, выбранное из группы, состоящей из

хинолинила, изохинолинила, хиназолинила, хиноксалинила, пиридила, индолила, триазолила, бензоксазолила, бензимидазолила, индолинила и бензотриазолила; где когда Ar представляет собой ароматическое кольцо, оно является необязательно замещенным, по меньшей мере, одной группой, выбранной из группы, состоящей из ацила, бензоксазолила, нитро, карбоксила, карбоксиалкилаC(1-3), карбоксиалкилC(1-3)окси, алкилC(1-3)оксикарбонилалкилаC(1-3), алкилC(1-3)оксикарбонилалкилC(1-3)окси, тетразолила, тетразолилалкилаC(1-3) и тетразолилалкилC(1-3)окси, когда Ar представляет собой необязательно замещенное гетероароматическое

R U 2 4 8 5 1 0 7 C 2

R U 2 4 8 5 1 0 7 C 2

R U 2 4 8 5 1 0 7 C 2

кольцо, оно необязательно замещено заместителями, выбранными из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, трифторметила, арила, замещенного арила, галогена, амино, замещенного амино, алкокси, арилокси, гидроксила и нитро, и Ar является необязательно дополнительно замещенным дополнительными заместителями, выбранными из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, трифторметила, арила, замещенного арила, галогена, амино, замещенного амино, алкокси, арилокси и

гидроксила; или его фармацевтически приемлемой соли. Также изобретение относится к фармацевтической композиции, обладающей ингибирующей активностью в отношении дигидрофолатредуктазы (DHFR), на основе соединений формулы I. Технический результат: получены и описаны новые соединения, которые являются ингибиторами дигидрофолатредуктазы (DHFR) дикого типа и мутантного типа *Plasmodium falcipamm* и которые являются применимыми для лечения малярии. 2 н. и 15 з.п. ф-лы, 16 прим., 8 табл., 9 ил.



**FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY**

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2010117193/04, 08.10.2008

(24) Effective date for property rights:  
**08.10.2008**

Priority:

(30) Convention priority:  
08.10.2007 US 60/978.375

(43) Application published: **20.11.2011** Bull. 32

(45) Date of publication: 20.06.2013 Bull. 17

(85) Commencement of national phase: 11.05.2010

(86) PCT application:  
US 2008/079210 (08.10.2008)

(87) PCT publication:  
WO 2009/048957 (16.04.2009)

Mail address:  
103735, Moskva, ul. Il'inka, 5/2, OOO  
"Soiuzpatent". pat.pov. A.P.Agureevu, reg.№ 590

(19) **RU** (11) **2 485 107** (13) **C2**

(51) Int. Cl.  
**C07D 239/48** (2006.01)  
**C07D 401/04** (2006.01)  
**C07D 401/12** (2006.01)  
**A61K 31/495** (2006.01)  
**A61K 31/496** (2006.01)  
**A61P 33/06** (2006.01)

(72) Inventor(s):

TARNChOMPO Bongkoch (TH),  
JuTAVONG Jong'jut (TH),  
VILAJVAN Tirajut (TH),  
ChiTNUMSUB Penchit (TH),  
TONGPANCHANG Chavani (TH),  
KAMChONVONGPAJSAN Sumali (TH),  
MEhT'JuS Dejvid (US),  
VAJVAS Livia (GB),  
JuVANIJaMA Dzhirundon (TH),  
ChARMAN S'juzan (AU),  
ChARMAN Vil'jam (AU),  
KAT'JaR Sandzhaj Babu (IN)

(73) Proprietor(s):

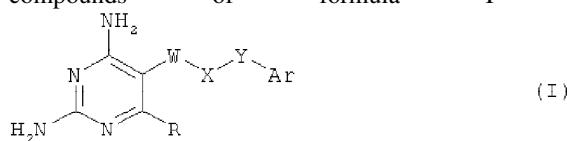
# MMV MEDSINS FOR MALEhRIA VENChUR (CH)

#### (54) ANTIMALARIAL AGENTS WITH FLEXIBLE SIDE CHAINS

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceutics.

SUBSTANCE: present invention refers to new compounds of formula I



, wherein R represents hydrogen or C<sub>1-4</sub>alkyl; W-X-Y represents O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>O; Ar represents an optionally substituted aromatic ring containing phenyl or naphthyl, or an optionally substituted heteroaromatic ring specified in a group consisting of quinolinyl, isoquinolinyl, quinazolinyl, quinoxaliny, pyridyl, indolyl, triazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, indolinyl and benzotriazole; wherein provided Ar represents an aromatic ring, it is optionally substituted by at least one group consisting of acyl, benzoxazolyl, nitro, carboxyl, carboxyalkylC(1-3), carboxyalkylC(1-3)oxy, alkylC(1-3)oxycarbonylalkylC(1-3), alkylC(1-

3)oxycarbonylalkylC(1-3)oxy, tetrazolyl, tetrazolylalkylC(1-3) and tetrazolylalkylC(1-3)oxy; provided Ar represents an optionally substituted heteroaromatic ring, it is optionally substituted by substitutes specified in a group consisting of alkyl, substituted alkyl, cycloalkyl, substituted cycloalkyl, trifluoromethyl, aryl, substituted aryl, halogen, amino, substituted amino, alkoxy, aryloxy, hydroxyl and nitro, and Ar is optionally additionally substituted by additional substitutes specified in a group consisting of alkyl, cycloalkyl, substituted cycloalkyl, trifluoromethyl, aryl, substituted aryl, halogen, amino, substituted amino, alkoxy, aryloxy and hydroxyl; or a pharmaceutically acceptable salt thereof. Also, the invention refers to a pharmaceutical composition having dihydrofolate reductase (DHFR) inhibitory activity on the basis of the compounds of formula I.

EFFECT: there are prepared and described novel compounds which are wild-type and mutant-type Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase

(DHFR) inhibitors and effective for treating malaria.

17 cl, 16 ex, 8 tbl, 9 dwg

R U 2 4 8 5 1 0 7 C 2

R U 2 4 8 5 1 0 7 C 2

Текст описания приведен в факсимильном виде.

**Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к антималярийным соединениям или антифолатам для лечения малярии и способам получения и применения таких соединений.

**Уровень техники**

Малярия является вызванной комарами заболеванием, которое является причиной свыше 2,7 миллиона смертей в год согласно оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Малярия является потенциально летальным заболеванием крови, вызванным паразитом, который переносится хозяину-человеку и -животному комаром *Anopheles*. Имеется четыре паразита для человека, которые включают в себя *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*), *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), *Plasmodium malariae* (*P. malariae*) и *Plasmodium ovale* (*P. ovale*), из которых *P. falciparum* является ответственным за большинство смертей у людей. *P. falciparum* является опасным не только из-за усвоения им гемоглобина эритроцитов, но также из-за того, что он изменяет адгезивные свойства клетки, в которой он обитает, он заставляет клетку приклеиваться к стенкам кровеносных сосудов. Это становится опасным, когда инфицированные клетки крови приклеиваются к кровеносным сосудам, препятствуя тем самым кровотоку.

Цикл жизни малярийного паразита в организме человека или животного начинается, когда инфицированный комар вводит спорозоиты малярии в организм нового хозяина во время питания кровью. Спорозоиты передвигаются в печень, где они захватывают гепатоциты (клетки печени) и претерпевают цикл репликации, который приводит к высвобождению тысяч мерозоитов в кровоток и который происходит спустя приблизительно две недели. Высвобожденные мерозоиты затем захватывают эритроциты и претерпевают интраэритроцитный цикл развития. В течение первых 48 часов после инфицирования эритроцита паразит проходит через несколько фаз развития. Первой фазой является кольцевидный трофозоит, в котором паразит начинает метаболизировать гемоглобин. Следующей фазой является стадия трофозоита, во время которой паразит метаболизирует большую часть гемоглобина, становится больше и готовится к продуцированию дополнительных паразитов. Наконец, паразит делится бесполым образом с образованием многоядерного шизонта. В конце цикла бурсты эритроцитов раскрываются и высвобожденные мерозоиты проникают в новые эритроциты (см. MicroWorlds™ electronic science magazine; Lawrence Berkeley National Laboratory,

University of California). Когда паразит развивается внутри эритроцита, он модифицирует адгезивные свойства клетки, которую он заселяет, что становится особенно опасным, когда эти инфицированные эритроциты приклеиваются к капиллярам в головном мозге, 5 препятствуя кровотоку, это состояние называют церебральной малярией. Кроме того, непрерывное разрывание инфицированных и неинфицированных эритроцитов, причем разрывание последних в результате опосредуемого иммунитетом механизма, связанного с 10 уменьшением продуцирования новых эритроцитов из костного мозга (дизэритропоэз), неизбежно приводит к анемии.

15 Малярия, резистентная к лекарственным средствам, становится одной из наиболее важных проблем в борьбе с малярией. Клиническая резистентность *in vivo* описана для всех антималярийных лекарственных средств, за исключением артемизинина и его производных. Рекомендации ВОЗ для лечения инфекций, резистентных к лекарственным 20 средствам, включают в себя применение артемизининов в сочетании с другими классами антималярийных средств. Однако высокая цена на эти лекарственные средства ограничивает их доступность для бедных стран. В некоторых частях вселенной артемизининовые лекарственные средства составляют первую линию лечения, их 25 применяют без ограничения в качестве монотерапии для самолечения предполагаемой неосложненной малярии, которая, в свою очередь, повышает риск развития резистентности к лекарственным средствам. Проблема резистентности к лекарственным 30 средствам главным образом может быть отнесена к повышенным давлениям естественного отбора на *P. falciparum*, в особенности вследствие неограниченного и несовершенного применения лекарственного средства для самолечения. Резистентность к хлорохину у *P. Falciparum*, впервые описанная в Таиланде в 1961, теперь широко 35 распространена в большинстве стран с эндемией малярии. Резистентность к антифолатам пираметамину и циклогуанилу появилась скоро после их разработки в качестве антималярийных средств. Добавление сульфасоединений создавало комбинации 40 лекарственных средств, которые во многих случаях оказались эффективными против резистентных паразитов, однако, резистентность появлялась также вследствие этих комбинаций. Изменения в восприимчивости паразитов малярии к лекарственным 45 средствам можно объяснить несколькими механизмами, например, физиологическими адаптациями вследствие негенетических изменений, отбором ранее существующих, резистентных к лекарственным средствам паразитов из смешанной популяции под давлением лекарственных средств, самопроизвольной мутацией, мутацией внеядерных 50 генов или наличием плазмидоподобных факторов.

Отбор мутантов самими лекарственными средствами, по-видимому, является

важным механизмом. В окружающей среде, когда присутствуют субтерапевтические 5 уровни антималярийных лекарственных средств, те паразиты, которые имеют резистентность благодаря их природной вариации или благодаря мутациям, несомненно, имеют важное биологическое преимущество. Это означает, что даже хотя резистентные 10 штаммы сначала были в меньшинстве, продолжающееся опосредуемое лекарственным средством исключение внутриспецифической конкуренции среди нерезистентных 15 штаммов давало возможность резистентным штаммам приобретать численное превосходство, фактически резистентность к общепринятым антималярийным лекарственным средствам, таким как хлорохин и сульфадоксин-пираметамин (SP), является широко распространенной. Малярия *P. falciparum* с множественной 20 лекарственной резистентностью весьма широко распространена в Юго-восточной Азии, Южной Америке и Африке. Африка, которая является континентом с самой высокой опасностью заражения таким заболеванием, в результате этого также имеет повышенную 25 летальность (Roll Back Malaria, Facts on ACTs, WHO, January 2006). Большинство исследований показывают, что отбор под давлением лекарственного средства является ответственным за появление резистентной малярии. При генетически определенной 30 резистентности гаметоциты из популяций резистентных паразитов будут передаваться, содействуя распространению резистентных к лекарственным средствам штаммов. Паразиты *Plasmodium* имеют крайне сложные геномы, и легкость, с которой они могут 35 переключаться между микроокружениями в различных хозяевах и необходимыми метаболическими изменениями, иллюстрирует трудность в изучении точных способов действия антималярийных лекарственных средств на метаболизм паразитов (The Biology of Malaria Parasites: Report of a WHO Scientific Group. WHO Technical Report Series, 1987).

Примерами антималярийных средств, которые ассоциированы с резистентностью к 40 лекарственному средству, являются антибиотик доксициклин, некоторые антифолаты, такие как прогуанил, пираметамин и сульфонамиды, хинолины, такие как хлорохин, мефлохин и хинин, и нафтохиноны, такие как атовахион.

Некоторые соединения, такие как 1,2-дигидротриазины, 2,4-диаминопиримидины и 45 2,4-лиаминохиназолины интенсивно изучали в качестве ингибиторов дигидрофолатредуктазы (DHFR), ключевого фермента для сохранения пулов восстановленных фолатов. У малярийных паразитов DHFR существует в виде части 50 бифункционального фермента дигидрофолатредуктаза-тимидилатсинтаза (DHFR-TS) и действует восстановлением дигидрофолата в тетрагидрофолат, который затем превращается в 5,10-метилентетрагидрофолат. Этот кофактор используется тимидилатсинтазой (TS) для продуцирования деокситимидилата, компонента ДНК,

который является существенным для синтеза ДНК и роста клеток. Ингибиование DHFR приводит к ингибиции синтеза ДНК и гибели паразита. Эти ингибиторы, известные также как антифолаты, поэтому являются потенциально применимыми лекарственными средствами против инфекционных агентов, при условии, что они селективно ингибируют DHFR паразитов-мишеней без поражения по существу клеток хозяина.

Ингибиторы DHFR, обычно известные как антифолаты или антифолы, которые, как было показано, являются эффективными антималлярийными средствами, включают в себя циклогуанил (Сус), 1,2-дигидротриазин и пираметамин (Руг), 2,4-диаминопиримидин и их производные с различными заместителями в положениях 1 и 2 дигидротриазина и положениями 5 и 6 диаминопиримидина. Некоторые соединения этих классов являются также хорошими ингибиторами бактериальной DHFR и обладают антибактериальной активностью. Хотя циклогуанил, пираметамин и другие описанные производные 1,2-дигидротриазина, 2,4-диаминопиримидина и 2,4-диаминохиназолина являются эффективными против паразитов малярии дикого (немутантного) типа, они не являются эффективными *in vivo* после перорального введения против антифолат-резистентных паразитов, которые, как было показано, имеют мутации в DHFR и дигидроптероатсингазе (DHPS). Степень резистентности обычно повышается с числом мутаций DHFR, что вызывает потребность в новых лекарственных средствах, которые являются эффективными как против нерезистентных, так и резистентных штаммов паразитов малярии. Поскольку хозяин-человек также имеет DHFR, эти лекарственные средства должны иметь селективность для DHFR паразита по сравнению с соответствующим ферментом хозяина или должны ингибирать его в значительно меньшей степени, так как в противном случае они могут быть токсичными для хозяина. Другие характеристики лекарственных средств также не должны приводить к токсичности для хозяина. Предпочтительно также, чтобы эти лекарственные средства не обладали значительной антибактериальной активностью, поскольку их нужно вводить часто в эндемических зонах малярии для лечения повторных инфекций малярии, в результате чего появляется добавленная опасность развития резистентных штаммов совместно существующих бактерий во время антималлярийного лечения.

Известно, что конкретные производные 1,2-дигидротриазина, такие как WR99210 и его пролекарство PS-15, являются эффективными ингибиторами для некоторых резистентных к лекарственным средствам штаммов малярии *in vitro*, хотя они проявляют также токсичность на животных моделях (см. Knight *et al.*, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* (1982) 76:1-7) и их получение включает в себя образование очень токсичного побочного продукта, TCDD, присутствие которого нужно строго контролировать до уровня м.д. Было

синтезированы несколько соединений, родственных PS-15, и некоторые из них были подвергнуты клиническим испытаниям (Jensen *et al.*, *J. Med. Chem.* (2001) 44:3925-31; патент США No. 5322858 (1994); and Shearer *et al.*, *J. Med. Chem.* (2005) 48:2805-2813).

Было сделано предположение, что WR99210 связывается с DHFR, но действительные подробности связывания были неизвестны до тех пор, пока не была описана кристаллическая структура комплекса фермент-ингибитор, показывающая молекулярное взаимодействие между WR99210 и DHFR *Plasmodium falciparum* (Yuvaniyama *et al.*, *Nat. Struct. Biol.* (2003) 10:357-65). Несмотря на их сильное действие *in vitro* против *P. falciparum*, активность против нерезистентных и антифолат-резистентных штаммов, неясно, будут ли когда-либо разработаны такие соединения как эффективные средства для 10 лечения малярии вследствие их слабой пероральной биологической доступности.

Вследствие повышающейся смертности, связанной с малярией, существует потребность в лучших и более эффективных способах борьбы с таким заболеванием. В 20 частности, существует потребность в более эффективном лечении и профилактике резистентной к лекарственным средствам малярии, т.е. в форме эффективных ингибиторов дигидрофолатредуктазы многих мутантов *Plasmodium falciparum*. Настоящее изобретение удовлетворяет эти и другие потребности.

### Краткое раскрытие изобретения

Настоящее изобретение относится к антималярийным соединениям или 30 антифолатам для лечения и профилактики малярии и способам получения и применения таких соединений. Антифолаты действуют в качестве новых ингибиторов дигидрофолатредуктазы (DHFR) *Plasmodium falciparum* при лечении малярии, в том числе нерезистентной и резистентной к лекарственным средствам малярии.

Настоящее изобретение относится к соединению формулы I, показываемой ниже:



где R представляет собой водород или  $C_{1-4}$ алкил,

45 W представляет собой O или  $CH_2$ ,

X представляет собой  $(CH_2)_{2-4}$ , и является необязательно замещенным одной или несколькими гидроксильными группами и

50 Y представляет собой  $CH_2$ , O, S, N(Z), где Z представляет собой H или необязательно замещенный ацил, алкил или арил или его производное и

Ar представляет собой необязательно замещенный арил или гетероарил или его производное;  
 или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления Ar представляет собой необязательно замещенное ароматическое кольцо, такое как замещенный фенил или нафтил, или необязательно замещенное гетероароматическое кольцо, необязательно выбранное из группы хинолинила, изохинолинила, хиназолинила, хиноксалинила, пиридила, индолила, триазолила, бензоксазолила, бензимидазолила, индолинила и бензотриазолила. Когда Ar представляет собой ароматическое кольцо, оно является необязательно замещенным, по меньшей мере, одной группой, выбранной из ацила, бензоксазолила, нитро, карбоксила, карбоксиалкилаC(1-3), карбоксиалкилC(1-3)окси, алкилC(1-3)оксикарбонилалкилаC(1-3), алкилC(1-3)оксикарбонилалкилC(1-3)окси, тетразолила, тетразолилалкилаC(1-3) и тетразолилалкилC(1-3)окси, Ar является необязательно замещенным дополнительными заместителями. В другом варианте осуществления Ar является замещенным в одном или нескольких доступных положениях, по меньшей мере, одной группой, выбранной из алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, трифторметила, арила, замещенного арила, галогена, амино, замещенного амино, алкокси, арилокси, гидроксила и нитро.

В одном варианте осуществления R представляет собой С<sub>1-4</sub>алкил. В другом варианте осуществления R представляет собой этил.

В одном варианте осуществления W-X-Y представляет собой O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>O. В другом варианте осуществления W-X-Y представляет собой O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>S. Еще в одном варианте осуществления W-X-Y представляет собой O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>NZ. В следующем варианте осуществления W-X-Y представляет собой O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub> или (CH<sub>2</sub>)<sub>3-5</sub>O.

Настоящее изобретение далее относится к способу лечения субъекта, нуждающегося в лечении малярии, причем этот способ включает в себя введение субъекту эффективного количества соединения I или его производного. В одном варианте осуществления субъект нуждается в лечении малярии, вызванной резистентным или нерезистентным к лекарственному средству штаммом. В другом варианте осуществления резистентным к лекарственному средству штаммом (например, антифолат-резистентным штаммом) малярии является штамм, который является резистентным, по меньшей мере, к одному лекарственному средству (например, анти-DHFR лекарственному средству). Такие антифолатные лекарственные средства включают в себя, но не ограничиваются перечисленным, циклогуанил, хлорциклогуанил и пираметамин. В одном предпочтительном варианте осуществления антифолат-резистентный штамм малярии

имеет, по меньшей мере, одну мутацию в последовательности белка его DHFR, включающую 16(Ala→Val), 51(Asn→Ile), 59(Cys→Arg), 108(Ser→Asn), 108(Ser→Thr) и 164(Ile→Leu). В другом предпочтительном варианте осуществления антифолат-резистентным штаммом малярии является штамм малярии, который имеет, по меньшей мере, две мутации в последовательности белка его DHFR, включающие 16(Ala→Val), 51(Asn→Ile), 59(Cys→Arg), 108(Ser→Asn), 108(Ser→Thr) и 164(Ile→Leu). В другом предпочтительном варианте осуществления антифолат-резистентный штамм малярии является штаммом малярии, который имеет, по меньшей мере, две мутации в последовательности белка его DHFR, включающие 16(Ala→Val) и 108(Ser→Thr). Лечение неосложненной малярии, включающее в себя интермиттирующее и/или превентивное лечение, предпочтительно осуществляют перорально. Лечение осложненной или тяжелой малярии предпочтительно осуществляют парентерально. Однако предполагаются также другие формы введения.

20

### **Краткое описание чертежей**

Настоящее изобретение можно лучше всего понять при изучении его в сочетании с прилагаемыми фигурами, которые служат для иллюстрации предпочтительных вариантов осуществления. Понятно, однако, что изобретение не ограничивается конкретными вариантами осуществления, описанными на фигурах. Химические структуры, показанные на фигурах, дополнительно обсуждаются в примере 1 описания.

25

Фигура 1 иллюстрирует химическую структуру P113.

Фигура 2 иллюстрирует химическую структуру P149.

Фигура 3 иллюстрирует химическую структуру P153.

30

Фигура 4 иллюстрирует химическую структуру P154.

Фигура 5 иллюстрирует химическую структуру P157.

Фигура 6 иллюстрирует химическую структуру P135 (R=H) и P217 (R=Et).

Фигура 7 иллюстрирует химическую структуру P195 (R=Et) и P218 (R=H).

35

Фигура 8 иллюстрирует химическую структуру P169 (R=H) и P219 (R=Et).

Фигура 9 иллюстрирует концентрации P218 в плазме у самцов мышей Swiss Outbred после внутривенного (iv) введения P218 (свободной кислоты) и перорального введения P195 (сложноэфирного пролекарства).

### **Осуществление изобретения**

#### i.) Общий обзор

40

Настоящее изобретение относится к новым ингибиторам, которые являются

5 эффективными против малярии, в особенности антифолат-резистентной малярии, появившейся в результате мутаций в дигидрофолатредуктазе (DHFR) *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*). Известные антифолат-резистентные штаммы *P. falciparum* имеют мутации в положения 108 (от серина к аспарагину), 51 (от аспарагина к изолейцину), 59 (от цистеина к аргинину) и/или 164 (от изолейцина к лейцину). Другой антифолат-резистентный штамм *P. falciparum* имеет мутации в положениях 16 (от аланина к валину) и 108 (от серина к треонину). Возможно, что они действуют не только на дигидрофолатредуктазу, но также на другие мишени у малярийных паразитов или на реакции хозяина, приводящие к эффективному уничтожению паразитов. Антималярийные соединения настоящего изобретения имеют относительно низкую токсичность для хозяина-млекопитающего и являются сильнодействующими агентами при введении в фармацевтические композиции. Одним основным преимуществом изобретения является то, что новые соединения обладают слабой или не обладают антибактериальной активностью и поэтому очень маловероятно, что они приводят к появлению резистентных штаммов бактерий.

## ii.) Определения

25 Термины “антифолаты”, “антифолы” и “ингибиторы DHFR” применяют в контексте взаимозаменяемым образом и для цели данного изобретения они относятся к соединениям, которые можно применять при лечении или профилактике малярии. Эти соединения являются эффективными ингибиторами мутантной дигидрофолатредуктазы 30 (DHFR) и дигидрофолатредуктазы дикого типа *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*).

35 Термины “*Plasmodium falciparum*” и “(*P. falciparum*)” применяют в контексте взаимозаменяющим образом, эти термины относятся к паразиту, который переносится к хозяевам-людям и -животным, приводя к тому, что хозяин обнаруживает один или несколько симптомов малярии. Более конкретно, *P. falciparum* является представителем простейших, который вызывает малярию.

40 Термин “ацил”, применяемый в контексте, относится к группе формулы R"С(=O)-, где R" представляет собой, например, H, C<sub>1-6</sub>алкил, арил, C<sub>1-6</sub>алкокси, OH, NH<sub>2</sub>, NHR' или N(R')<sub>2</sub>, где R' представляет собой C<sub>1-6</sub>алкил или арил.

45 Применяемые в контексте термины “алкил”, “алкенил” и “алкинил” включают в себя имеющие неразветвленную цепь, разветвленную цепь и циклические одновалентные углеводородные радикалы и их комбинации, которые содержат только С и Н, когда они являются незамещенными. Примеры их включают в себя метил, этил, изобутил, циклогексил, цикlopентилэтил, 2-пропенил, 3-бутинил и тому подобное. Общее число 50 атомов углерода в каждой такой группе иногда указывается в контексте, например, когда

группа может содержать до десяти атомов углерода, она может быть представлена как 1-10C или как C1-C10, или C1-10. Когда атомы углерода могут быть заменены гетероатомами (обычно N, O и S), как, например, в гетероалкильных группах, числа, описывающие группу, хотя все же написаны как, например, C1-C6, представляют собой сумму числа атомов углерода в группе плюс число таких гетероатомов, которые включены в качестве заменителей атомов углерода в описываемое кольцо или цепь.

Алкильные, алкениильные и алкинильные заместители изобретения обычно содержат 1-10C (алкил) или 2-10C (алкенил или алкинил). Они предпочтительно содержат 1-8C (алкил) или 2-8C (алкенил или алкинил). Иногда они содержат 1-4C (алкил) или 2-4C (алкенил или алкинил). Одна группа может включать в себя более чем один тип кратной связи или более чем одну кратную связь; такие группы включены в определение термина "алкенил", когда они содержат, по меньшей мере, одну углерод-углеродную двойную связь, и включены в термин "алкинил", когда они содержат, по меньшей мере, одну углерод-углеродную тройную связь.

Алкильные, алкениильные и алкинильные группы часто замещены, но до такой степени, чтобы такое замещение имело химический смысл. Типичные заместители включают в себя, но не ограничиваются перечисленным, галоген, =O, =N-CN, =N-OR, =NR, OR, NR<sub>2</sub>, SR, SO<sub>2</sub>R, SO<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>, NRSO<sub>2</sub>R, NRCONR<sub>2</sub>, NRCOOR, NRCOR, CN, COOR, CONR<sub>2</sub>, OOCR, COR и NO<sub>2</sub>, где каждый R независимо представляет собой H, C1-C8алкил, C2-C8гетероалкил, C1-C8ацил, C2-C8гетероацил, C2-C8алкенил, C2-C8гетероалкенил, C2-C8алкинил, C2-C8гетероалкинил, C6-C10арил или C5-C10гетероарил и каждый R необязательно является замещенным галогеном, =O, =N-CN, =N-OR', =NR', OR', NR'<sub>2</sub>, SR', SO<sub>2</sub>R', SO<sub>2</sub>NR'<sub>2</sub>, NR'SO<sub>2</sub>R', NR'CONR'<sub>2</sub>, NR'COOR', NR'COR', CN, COOR', CONR'<sub>2</sub>, OOCR', COR' и NO<sub>2</sub>, где каждый R' независимо представляет собой H, C1-C8алкил, C2-C8гетероалкил, C1-C8ацил, C2-C8гетероацил, C6-C10арил или C5-C10гетероарил. Алкильные, алкениильные и алкинильные группы могут быть также замещены C1-C8ацилом, C2-C8 гетероацилом, C6-C10арилом или C5-C10гетероарилом, каждый из которых может быть замещен заместителями, которые являются подходящими для конкретной группы.

Хотя термин "алкил", применяемый в контексте, включает в себя циклоалкильные и циклоалкилалкильные группы, термин "циклоалкил" можно применять в контексте для описания карбоциклической неароматической группы, которая соединена через атом углерода кольца, и "циклоалкилалкил" можно применять для описания карбоциклической неароматической группы, которая соединена с молекулой через алкильную соединяющую группу. Аналогично этому, термин "гетероциклик" можно применять для описания

неароматической циклической группы, которая содержит, по меньшей мере, один гетероатом в качестве члена кольца и которая соединяется с молекулой через атом кольца, которым может быть С или N, и термин “гетероциклоалкилалкил” можно применять для описания такой группы, которая соединена с другой молекулой через соединяющую группу. Размеры и заместители, которые являются подходящими для циклоалкильных, циклоалкилалкильных, гетероциклических и гетероцикликоструктурных групп являются такими же, как размеры и группы, описанные для алкильных групп. Применяемые в контексте эти термины включают в себя также кольца, которые содержат двойную связь или две такие связи, если кольцо не является ароматическим.

“Ароматическая” часть или “арильная” часть относится к моноциклической или конденсированной бициклической части, имеющей хорошо известные характеристики ароматичности; примеры ее включают в себя фенил и нафтил. Аналогично этому, “гетероароматическая” часть и “гетероарил” относятся к таким моноциклическим или конденсированным бициклическим системам, которые содержат в качестве членов кольца один или несколько гетероатомов, выбранных из O, S и N. Включение гетероатома позволяет сохранять ароматичность 5-членных колец, а также 6-членных колец. Типичные гетероароматические системы включают в себя моноциклические C5-Сбароматические группы, такие как пиридинил, пиридил, пиразинил, тиенил, фуранил, пирролил, пиразолил, тиазолил, оксазолил и имидазолил, и конденсированные бициклические части, образованные конденсацией одного из этих моноциклических групп с фенильным кольцом или с любым из гетероароматических моноциклических групп с образованием C8-C10бициклической группы, такой как индолил, бензимидазолил, индазолил, бензотриазолил, изохинолил, хинолил, бензотиазолил, бензофуранил, пиразолопиридинил, хиназолинил, хиноксанлинил, циннолинил и тому подобное. Любая моноциклическая или конденсированная бициклическая система, которая имеет характеристики ароматичности в терминах распределения электронов на всем протяжении циклической системы, включена в это определение. Оно включает в себя также бициклические группы, в которой по меньшей мере кольцо, которое непосредственно присоединено к остальной части молекулы, имеет характеристики ароматичности. Циклические системы обычно содержат 5-12 атомов в качестве членов кольца. Моноциклические гетероарилы предпочтительно содержат 5-6 членов кольца и бициклические гетероарилы предпочтительно содержат 8-10 атомов кольца.

Арильные и гетероарильные части могут быть замещены различными заместителями, включающими в себя C1-C8алкил, C2-C8алкенил, C2-C8алкинил, C5-C12арил, C1-C8ацил, и их гетероформы, каждый из которых сам может быть замещен;

другие заместители для арильных и гетероарильных частей включают в себя галоген, OR, NR<sub>2</sub>, SR, SO<sub>2</sub>R, SO<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>, NRSO<sub>2</sub>R, NRCONR<sub>2</sub>, NRCOOR, NRCOR, CN, COOR, CONR<sub>2</sub>, OOCR, COR и NO<sub>2</sub>, где каждый R независимо представляет собой H, C1-C8алкил, C2-C8гетероалкил, C2-С алкенил, C2-C8гетероалкенил, C2-C8алкинил, C2-C8гетероалкинил, C6-C10арил, C5-C10гетероарил, C7-C12арилалкил или C6-C12гетероарилалкил и каждый R является необязательно замещенным, как описано выше для алкильных групп. Группы заместители на арильной или гетероарильной группе могут быть конечно дополнительно замещены группами, описанными в контексте как подходящие для каждого типа из таких заместителей или для каждого компонента заместителя. Так, например, арилалкильный заместитель может быть замещен в арильной части заместителями, описанными в контексте как типичные для арильных групп, и он может быть дополнительно замещен в алкильной части заместителями, описанными в контексте как типичные или подходящие для алкильных групп.

Термин “необязательно замещенный”, применяемый в контексте, указывает, что конкретная описываемая группа или группы могут не иметь неводородные заместители или группы или группы могут иметь один или несколько неводородных заместителей. Если не указано иначе, общее число таких заместителей, которые могут присутствовать, равно числу атомов H, присутствующих в незамещенной форме описываемой группы. Когда необязательный заместитель присоединен через двойную связь, такой как атом кислорода (=O) карбонила, группа имеет две доступные валентности, так что общее число заместителей, которые можно включить, уменьшается согласно числу таких доступных валентностей.

Термин “штамм” относится к определенному генетическому варианту конкретного организма. При химиотерапии микроорганизмы можно описать, как резистентные или нерезистентные к лекарственным средствам штаммы согласно их восприимчивости к конкретному лекарственному средству или терапии. Резистентный к лекарственному средству штамм часто может иметь одну или несколько генетических мутаций. Нерезистентным штаммом является штамм, который обычно полностью восприимчив к конкретному лекарственному средству или терапии. Такой штамм может иметь или может не иметь генетические мутации. Резистентным штаммом является штамм, который менее восприимчив, чем нерезистентный штамм к одному и тому же лекарственному средству или терапии.

Термины “нерезистентный” и “дикого типа” применяют в контексте взаимозаменяемым образом и они относятся к штаммам паразита, которые обычно полностью восприимчивы к конкретному лекарственному средству или терапии.

## iii.) Антималярийные соединения

В одном аспекте изобретение относится к ряду новых антималярийных соединений, которые являются эффективными против как малярии дикого типа, так и резистентной к лекарственным средствам малярии, включая антифолат-резистентную малярию, вызванную *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*). Эти соединения относятся к классу ингибиторов дигидрофолатредуктазы. Новые соединения основаны на формуле I, показываемой ниже:



R в соединениях формулы (I) представляет собой H или C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкил, в некоторых вариантах осуществления он представляет собой C<sub>1-4</sub>алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил или метил; этил иногда является предпочтительным.

W иногда представляет собой O и иногда он представляет собой CH<sub>2</sub>. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления W представляет собой O.

Y часто представляет собой CH<sub>2</sub>, O, S или NZ.

X представляет собой алкиленовую цепь с атомами углерода от двух до четырех, (CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>, которая может быть замещена гидроксильной группой.

Ar иногда предпочтительно представляет собой гетероциклическую ароматическую группу, такую как хинолинил, изохинолинил, хиназолинил или хиноксалинил. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления Ar представляет собой хинолинил и конкретных вариантах осуществления он представляет собой 4-хинолинил.

Когда Ar представляет собой ароматическое кольцо, а не гетероароматическое кольцо, оно должно быть замещенным, по меньшей мере, одной группой и в некоторых вариантах осуществления оно является замещенным, по меньшей мере, одной группой, выбранной из группы, состоящей из ацила, бензоксазолила, нитро, карбоксила, карбоксиалкилаC(1-3), карбоксиалкилC(1-3)окси, алкилC(1-3)оксикарбонилалкилаC(1-3), алкилC(1-3)оксикарбонилалкилC(1-3)окси, тетразолила, тетразолилалкилаC(1-3) и тетразолилалкилC(1-3)окси; и Ar является необязательно замещенным дополнительными заместителями или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления Ar является замещенным, по меньшей мере, одной группой, выбранной из группы, состоящей из CO<sub>2</sub>R', (CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>COOR', O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>COOR', тетразолила, (CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-

тетразолила и O(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-тетразолила, где R представляет собой H или C<sub>1-4</sub>алкил. В другом варианте осуществления Ar может быть дополнительно замещенным в одном или нескольких доступных положениях необязательным заместителем, выбранным из алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, трифторметила, арила, замещенного арила, галогена, амино, замещенного амино, алкокси, арилокси, гидроксила, нитро и тому подобное. Предпочтительные необязательные заместители для Ar включают в себя галоген, CF<sub>3</sub>, метокси и метил, и Ar обычно содержит 0-2 и предпочтительно 0 или 1 такой необязательный заместитель.

Когда Ar представляет собой гетероароматическое кольцо, оно может быть замещенным в одном или нескольких доступных положениях алкилом, замещенным алкилом, циклоалкилом, замещенным циклоалкилом, трифторметилом, арилом, замещенным арилом, галогеном, амино, замещенным амино, алкокси, арилокси, гидроксилом, нитро и тому подобное. Предпочтительные заместители для Ar, когда он представляет собой гетероароматическое кольцо, включают в себя галоген, CF<sub>3</sub>, метокси и метил, и в некоторых вариантах осуществления гетероароматическая группа, представленная Ar, является незамещенной.

Антималярийные соединения настоящего изобретения включают в себя их таутомеры и фармацевтически приемлемые соли. Изобретение включает в себя также фармацевтические композиции, содержащие, по меньшей мере, одно соединение формулы (I), смешанное, по меньшей мере, с одним фармацевтически приемлемым эксципиентом. В предпочтительных вариантах осуществления эксципиент не является водой. Когда в соединении формулы (I) присутствует хиральный центр, изобретение включает в себя такой индивидуальный энantiомер или диастереомер соединения, а также смеси энantiомеров или диастереомеров, включая рацемические смеси.

Изобретение включает в себя также пролекарства, которые легко превращаются *in vivo* в соединение формулы (I). Примеры этих пролекарств включают в себя замещенные производные, у которых атом азота амина замещен ацильной группой, обычно C1-Сбацильной группой, которая может быть замещена, и соединения, у которых карбоксильная группа превращена этерификацией в C1-Сбалкооксикарбонильную группу. Пролекарства, замещенные N-ацилом, который является C1-C4ацильной группой, или ацильной группой, образованной из аминокислоты, такой как глицин, аланин, серин, глутамин, валин, лейцин, изолейцин, глутамат, аспартат и тому подобное, или дипептидов или трипептидов этих аминокислот, часто являются предпочтительными вследствие того, что они легко деацетилируются эндогенными амидазами и эстеразами.

Далее в изобретение включены синтетические способы получения указанных выше

соединений. Синтетические способы получения 6-замещенных 5-алкокси-2,4-диаминопиримидинов в некоторых вариантах осуществления включают в себя О-алкилирование 5-гидрокси-6-замещенных-2,4-диаминопиримидинов алкилгалогенидом или алкилмезилатом в присутствии основания.

В другом варианте осуществления изобретение относится к способам применения соединений для лечения малярии, в том числе малярии, вызванной нерезистентными и резистентными к лекарственным средствам штаммами. В предпочтительном варианте осуществления описанные соединения являются эффективными ингибиторами в отношении дигидрофолатредуктазы *Plasmodium falciparum* (pf DHFR) как дикого типа, так и резистентного типа. Далее рассматривается применение описанных соединений или их солей или фармацевтических композиций при лечении резистентной малярии, вызванной штаммами *Plasmodium falciparum*, имеющими дигидрофолатредуктазу дикого типа или мутантного типа (pf DHFR), такими как описанные в данном контексте мутантные штаммы, имеющие по меньшей мере одну мутацию в последовательности белка DHFR, или другие штаммы, содержащие по меньшей мере одну из описанных в контексте точковых мутаций и, более предпочтительно, мутантные штаммы, содержащие по меньшей мере две описанные в контексте мутации.

#### iv.) Синтез антималярийных соединений

Гибкую боковую цепь соединений, у которых Ar представляет собой гетероароматическую группу, предпочтительно создают реакцией алкилирования Ar или ArOH алкилирующим агентом, как показано ниже на схеме 1.

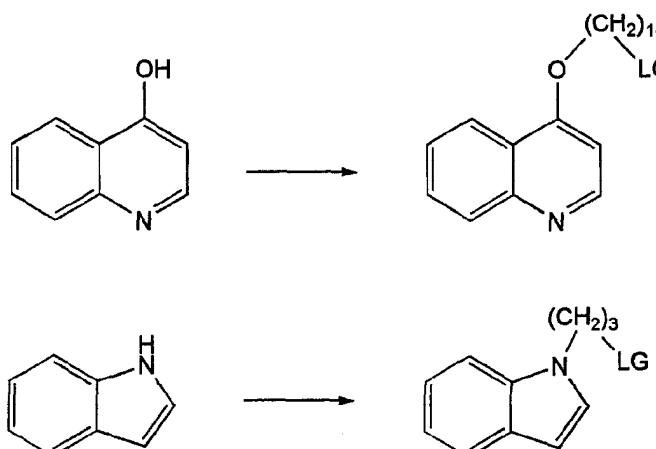


Схема 1

Подходящие алкилирующие агенты, которые образуют алкилированное соединение, подходящее для синтеза соединений формулы (I), являются хорошо известными. В реакциях, иллюстрированных выше, можно применять, например, 1,3-дибромпропан или 1-бром-3-хлорпропан, для получения соединений формулы Ar-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-

Br или Ar-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-Br. Эти промежуточные продукты с легкостью используются для алкилирования 5-гидроксигруппы у 2,4-диаминопиримидина для получения соединений формулы (I). Подходящие уходящие группы (LG) включают в себя, но не ограничиваются перечисленным, такие химические группы, как хлорид, бромид, иодид, мезилат, бензолсульфонат, тозилат и трифлат. Варианты этого типа реакции должны быть вполне очевидны специалисту в данной области. Подходящие нуклеофилы включают в себя, но не ограничиваются перечисленным, фенолы, другие ариловые и гетероариловые спирты, арил- и гетероарилтиолы, тиофенол, арил- и гетероариламины и гетероароматические соединения, которые легко алкилируются у атома кольца, такие как индолы, триазолы, имидазолы и их замещенные производные и конъюгированные основания.

Когда более трудно достичь селективного моноалкилирования, возможно также исходить из  $\omega$ -галогенированного спирта, такого как 2-бромэтанол, 3-бромпропанол или 3-хлорпропанол вместо бисэлектрофила. В таком случае OH-группа в промежуточном спирте должна быть заменена на более реакционноспособную уходящую группу, при условии, что она совместима со структурами других частей молекулы. Например, бромирование можно проводить посредством PBr<sub>3</sub>, водного HBr, Ph<sub>3</sub>PBr<sub>2</sub>, CBr<sub>4</sub>/Ph<sub>3</sub>P, NBS/Ph<sub>3</sub>P, в то время как мезилирование можно проводить посредством MsCl/Et<sub>3</sub>N. Альтернативно, реакция Мицунобу (DEAD/Ph<sub>3</sub>P или DIAD/Ph<sub>3</sub>P) между галогенированным спиртом и нуклеофилом (ArYH) позволяет проводить прямой синтез необходимого промежуточного продукта, имеющего реакционноспособную боковую цепь, связанную с Ar.

После того, как синтезируют Ar, содержащий реакционноспособную боковую цепь, дальнейшей реакцией алкилирования соединения Ar-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-LG 5-гидрокси-6-замещенные-2,4-диаминопиримидинами в присутствии основания получают соединения настоящего изобретения. 5-гидрокси-6-замещенные-2,4-диаминопиримидины являются легко доступными из коммерческих источников. Основание можно выбрать из LiH, LiOH, KOH, NaN и K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, где наиболее предпочтительным основанием является LiOH. Основание можно добавить в количестве 1-10 эквивалентов относительно гидроксипиримидинов. Реакцию предпочтительно проводят в инертном растворителе, где N,N-диметилформамид является предпочтительным растворителем. Реакцию можно проводить приблизительно при 25-80°C, но предпочтительно при 25-30°C. Для более подробного описания реакции см. следующие патенты и публикации, включенные в данное описание в качестве ссылки в полном объеме (т.е. патенты США №№ 4179562 и 4374136; GB 2086386). Другие способы получения соединений этой общей структуры хорошо известны в данной области и легко адаптируются для получения этих соединений

специалистом в данной области.

Конечные продукты можно выделить и очистить общепринятыми методиками, такими как выпаривание, экстракция, кристаллизация и/или колоночная хроматография.  
 5 Гидрохлориды и другие фармацевтически приемлемые соли соединений формулы (I) легко получают смешиванием соединения с подходящей кислотой, соответствующей требуемой соли, как хорошо известно в данной области. Кислоту часто добавляют к раствору или суспензии соединения формулы (I) в растворителе, содержащем воду, метанол и/или этанол, с последующим упариванием смеси для удаления любого нежелательного растворителя. Диаминопиримидин часто превращают в ди-соль, такую как дигидрохлорид.  
 10  
 15

v.) Фармацевтические композиции и препараты антималярийных соединений

Антималярийные соединения или антифолаты можно изготовить в виде фармацевтических препаратов, которые применяют в способах изобретения. Композиция или соединение, которое может стимулировать биологическую реакцию, ассоцииированную со связыванием антималярийного соединения с дигидрофолатредуктазой (DHFR) *P. falciparum* дикого типа или его мутанта (например, мутанта с одной мутацией или мутанта со многими мутантами), при резистентной и нерезистентной к лекарственным средствам малярии, можно применять в изобретении в качестве фармацевтического средства. Примеры таких общих подробностей методик для изготовления препарата и введения хорошо описаны в научной литературе (см. 20 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Maack Publishing Co., Easton Pa.). Антифолатные фармацевтические препараты можно изготовить согласно любому способу, известному в области изготовления фармацевтических препаратов. Антифолаты, применяемые в 25 способах изобретения, можно изготовить в составе препаратов для введения любым обычным приемлемым путем, включающим в себя пероральное и парентеральное введение. Пероральное введение является предпочтительным для лечения неосложненной малярии, тогда как парентеральное введение является предпочтительным для лечения 30 осложненной (тяжелой) малярии. Иллюстративные примеры приводятся ниже.  
 35  
 40

Таблица 1: антималярийная активность и пероральная биологическая доступность (ВА) триазинов по сравнению с пирамидином

	$IC_{50}$ против <i>P. falciparum</i> <i>in vitro</i> (мкМ)		$ED_{90}$ <i>P. chabaudi AS</i> (мг/кг)		Пероральная ВА у крыс (%)
	дикого типа	резистентный мутант	подкожное введение	пероральное введение	
WR99210	0,0006	0,018	1,1	74,2	<1
Циклогуанил	0,937	>100	3,7	6,2	59,3
Пирамидин	0,079	>100	0,25	0,88	~100

Выше в таблице 1 показана антималярийная активность и пероральная биологическая доступность общепринятых дигидротриазинов по сравнению с общепринятым пирамидином. Хотя WR99210 является активным против нерезистентных и пираметамин-резистентных штаммов паразитов *P. falciparum* *in vitro* и *in vivo* после подкожного введения мышам, инфицированным *P. chabaudi* AS, его эффективность значительно уменьшается, если соединение вводят перорально (т.е. высокая величина ED<sub>90</sub>). Обнаружено, что это уменьшение обусловлено слабой пероральной биологической доступностью WR99210 по сравнению с циклогуанилом и пираметамином.

Таблица 2: антибактериальные активности новых производных 2,4-диаминопиримидинов по сравнению с триметопримом и пираметамином

Соединения	Минимальная ингибирующая концентрация (мкМ)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Триметоприм	1 < MIC < 10	1 < MIC < 10
Пираметамин	> 50	> 50
P135	> 50	> 50
P149	1 < MIC < 10	10 < MIC < 50
P153	10 < MIC < 50	10 < MIC < 50
P154	> 50	10 < MIC < 50
P157	> 25	> 25
P171	> 50	> 50

Для сравнения выше в таблице 2 показаны антибактериальные активности новых производных 2,4-диаминопиримидина настоящего изобретения. Эти выбранные соединения являются неактивными против *S. aureus* и *E. coli*, и требуются очень высокие микромолярные концентрации для полного ингибирования роста бактерий на агаровых пластинах, тогда как другие производные 2,4-диаминопиримидина, такие как триметоприм, являются клинически эффективными антибиотиками.

Фармацевтические композиции и препараты для перорального введения можно изготовить с применением фармацевтически приемлемых носителей, хорошо известных в данной области, с дозами, подходящими для перорального введения. Такие носители позволяют изготавливать фармацевтические препараты в виде дозированных лекарственных форм, таких как таблетки, пилюли, порошок, капсулы, жидкости, лепешки, гели, сиропы, взвеси, суспензии и тому подобное, подходящие для проглатывания пациентом. Фармацевтические препараты для перорального применения можно получить смешиванием антифолатных соединений с твердым эксципиентом, необязательным размалыванием образовавшейся смеси и обработкой смеси гранул, после добавления подходящих дополнительных соединений, если нужно, для получения таблеток или

пилоль. Подходящими твердыми эксципиентами являются углеводные или белковые наполнители, которые включают в себя, но не ограничиваются перечисленным, сахара, в том числе лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; крахмал из кукурузы, пшеницы, риса, картофеля или других растений; целлюлозу, такую как метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза или натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы; и камеди, включающие в себя аравийскую и трагакантовую камеди; а также белки, такие как желатин и коллаген. Если нужно, можно добавить дезинтегрирующие или солюбилизирующие агенты, такие как спиртый поливинилпирролидон, агар, альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия.

Фармацевтическими препаратами изобретения, которые можно также применять перорально, являются, например, капсулы "пуш-фит", изготовленные из желатина, а также мягкие, герметизированные капсулы, изготовленные из желатина и покрытые, например, глицерином или сорбитом. Капсулы "пуш-фит" могут содержать антифолат, смешанный с наполнителем или связывающими веществами, такими как лактоза или крахмалы, смазывающими веществами, такими как тальк или стеарат магния, и, необязательно, стабилизаторами. В мягких капсулах антифолатные соединения могут быть растворены или суспендированы в подходящих жидкостях, таких как жирные масла, жидкий парафин или жидкий полиэтиленгликоль, со стабилизаторами или без них.

Водные суспензии изобретения содержат антифолат в смеси с эксципиентами, подходящими для изготовления водных суспензий. Такие эксципиенты включают в себя суспендирующий агент, такой как натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовая камедь и аравийская камедь, и диспергирующие или смачивающие агенты, такие как существующий в природе фосфатид (например, лецитин), продукт конденсации алкиленоксида с жирной кислотой (например, полиоксиэтиленстеарат), продукт конденсации этиленоксида с алифатическим спиртом с длинной цепью (например, гептадекаэтиленоксицетанолом), продукт конденсации этиленоксида с неполным эфиrom, полученным из жирной кислоты и гексита (например, моноолеат полиоксиэтиленсорбита) или продукт конденсации этиленоксида с неполным эфиrom, полученным из жирной кислоты и ангидрида гексита (например, моноолеат полиоксиэтиленсорбита). Водная суспензия может содержать также один или несколько консервантов, таких как этил- или н-пропил-*p*-гидроксибензоат, один или несколько окрашивающих агентов, один или несколько корригентов и один или несколько подслаживающих агентов, таких как сахароза, аспартам или сахарин. Препараты можно также обработать для регулирования осмолярности.

5 Масляные супензии можно также приготовить суспендированием антифолата в растительном масле, таком как арахисовое масло, оливковое масло, кунжутное масло или кокосовое масло, или в минеральном масле, таком как жидкий парафин. Масляные супензии могут содержать загущающий агент, такой как пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт. Подслащающие агенты можно добавить для получения приятного на вкус перорального препарата. Эти препараты можно предохранить от порчи 10 добавлением антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота.

15 Диспергируемые порошки и гранулы изобретения, подходящие для получения водной супензии добавлением воды, можно изготовить из антифолата в смеси с диспергирующим, супендирующим и/или смачивающим агентом и одним или несколькими консервантами. Примерами подходящих диспергирующих или 20 смачивающих агентов и супендирующих агентов являются такие агенты, описанные выше. Могут также присутствовать дополнительные эксципиенты, например, подслащающие агенты, корrigенты и окрашивающие агенты.

25 Фармацевтические препараты изобретения могут быть также в форме эмульсий типа масло в воде. Масляной фазой может быть растительное масло, такое как оливковое масло или арахисовое масло, минеральное масло, такое как жидкий парафин, или их смесь. Подходящие эмульгирующие агенты включают в себя существующие в природе камеди, такие как аравийская камедь и трагакантовая камедь, существующие в природе 30 фосфатиды, такие как соевый лецитин, эфиры или неполные эфиры, полученные из жирных кислот и ангидридов гексита, такие как моноолеат сорбитана и продукты конденсации этих неполных сложных эфиров с этиленоксидом, такие как моноолеат полиоксиэтиленсорбитана. Эмульсия может содержать также подслащающие агенты и 35 корrigенты. Сиропы и эликсиры можно изготовить с подслащающими агентами, такими как глицерин, сорбит или сахароза. Такие препараты могут содержать также средство, уменьшающее раздражение, консервант, корrigент или окрашивающий агент.

40 Когда лекарственные средства доставляют внутривенным или другими парентеральными путями посредством инъекции, антифолатные фармацевтические препараты изобретения могут быть в форме стерильного инъецируемого препарата, такого как стерильный инъецируемый водный раствор. Стерильным инъецируемым препаратом 45 может быть также стерильный инъецируемый раствор в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе. Кроме того, в качестве растворителя или супендирующей среды, как общепринято, можно применять стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно применять любое легкое нелетучее масло, в том числе 50 синтетическиеmono- или диглицериды. Кроме того, для получения инъецируемых

препаратов можно таким же образом применять жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

vi.) Примеры

Ниже представлены примеры для иллюстрации изобретения, но не для ограничения его объема. Другие варианты изобретения должны быть вполне очевидны среднему специалисту в данной области и включены прилагаемой формулой изобретения. Все публикации, патенты и заявки на патенты, цитированные в данном описании, таким образом, включены в качестве ссылки в полном объеме.

*Пример 1:* 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(хинолин-4-илокси)пропокси)пирамидин (Р113) (см. фигуру 1).

Репрезентативная методика для получения дигидрохлорида 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(хинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина представлена ниже.

a) 3-(Хинолин-4-илокси)пропан-1-ол

Суспензию хинолин-4-ола (1,35 г, 9,30 ммоль), безводного карбоната калия (3,73 г, 26 ммоль) и иодида калия (4,23 г) в безводном ДМФА (8 мл) перемешивали при 25°C в течение 30 минут. Добавляли 3-хлорпропанол (2,93 г, 31 ммоль) и реакционную смесь перемешивали до тех пор, пока не было израсходовано исходное вещество. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном и экстрагировали водой. Продукт получали в виде бледно-желтого твердого вещества (0,5298 г, 28%) после выпаривания слоя дихлорметана и применяли в следующей стадии без дополнительной очистки.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,09 (2H, м), 3,93 (2H, т,  $J = 5,6$  Гц), 4,10 (2H, т,  $J = 5,6$  Гц), 4,51 (1H, с), 6,25 (1H, д,  $J = 5,5$  Гц), 7,32 (1H, т,  $J = 7,4$  Гц), 7,56 (1H, т,  $J = 8,2$  Гц), 7,90 (1H, д,  $J = 8,4$  Гц), 7,93 (1H, д,  $J = 8,4$  Гц), 8,36 (1H, д,  $J = 5,3$  Гц).

b) 3-(Хинолин-4-илокси)пропилмезилат

Раствор 3-(хинолин-4-илокси)пропан-1-ола, полученного на стадии а) (0,5298 г, 2,6 ммоль), обрабатывали триэтиламином (0,60 мл) и метансульфонилхлоридом (0,55 г, 4,8 ммоль) в дихлорметане (5 мл). После того, как исходное вещество было израсходовано, реакционную смесь разбавляли дихлорметаном, промывали водой, водным  $\text{NaHCO}_3$  и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией на  $\text{SiO}_2$  с элюированием этилацетатом. Продукт получали в виде бледно-желтого твердого вещества (0,3868 г, 53%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,43 (2H, м), 3,00 (3H, с), 4,38 (2H, т,  $J = 5,8$  Гц), 4,55 (2H, т,  $J = 5,8$  Гц), 6,80 (1H, д,  $J = 5,5$  Гц), 7,55 (1H, т,  $J = 8,0$  Гц), 7,75 (1H, ддд,  $J = 1,2, 7,0, 8,2$  Гц), 8,20 (1H, д,  $J = 8,4$  Гц), 8,13 (1H, д,  $J = 8,4$  Гц), 8,77 (1H, д,  $J = 5,3$  Гц).

c) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(хинолин-4-илокси)пропокси)пирамидин

2,4-Диамино-6-этил-5-гидроксириамидин (0,3963 г, 2,6 ммоль) добавляли к

перемешиваемому раствору моногидрата гидроксида лития (497,2 мг, 11,8 ммоль) в ДМФА (2 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа. Медленно добавляли раствор 3-(хинолин-4-илокси)пропилмезилата (0,3868 г, 1,37 ммоль) в ДМФА (1 мл) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 25°C на протяжении ночи. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном и экстрагировали водой. Слой дихлорметана выпаривали с последующей кристаллизацией остатка из водного метанола. Продукт получали в виде бледно-желтого твердого вещества (0,4677 г, 53%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): 0,87 (3H, т, *J* = 7,0 Гц), 2,24 (2H, кв, *J* = 7,0 Гц), 2,30 (2H, м), 3,85 (2H, т, *J* = 5,5 Гц), 4,43 (2H, т, *J* = 5,5 Гц), 5,53 (2H, с), 6,11 (2H, с), 7,06 (1H, д, *J* = 5,2 Гц), 7,54 (1H, т, *J* = 8,0 Гц), 7,72 (1H, ддд, *J* = 1,4, 6,9, 8,3 Гц), 7,93 (1H, д, *J* = 8,3 Гц), 8,15 (1H, д, *J* = 8,5 Гц), 8,72 (1H, д, *J* = 5,2 Гц).

d) Дигидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(хинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидина

2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(хинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидин (0,1740 г, 0,51 ммоль) суспензировали в метаноле (1 мл) и добавляли 2 эквивалента концентрированной HCl. Указанное в заголовке соединение получали, после упаривания смеси и растирания остатка с ацетонитрилом, в виде не совсем белого твердого вещества (0,2004 г, 95%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): 1,04 (3H, т, *J* = 7,6 Гц), 2,42 (2H, м), 2,45 (2H, т, *J* = 7,0 Гц), 3,97 (2H, т, *J* = 5,9 Гц), 4,72 (2H, т, *J* = 5,9 Гц), 7,56 (2H, ушир.), 7,61 (1H, д, *J* = 6,7 Гц), 7,87 (1H, т, *J* = 7,8 Гц), 7,97 (1H, с), 8,11 (1H, ддд, *J* = 1,0, 7,3, 8,2 Гц), 8,35-8,40 (3H, м), 9,18 (1H, д, *J* = 6,6 Гц), 12,86 (1H, с).

Другие соединения, обнаруживающие *in vitro* и *in vivo* антибактериальные активности, включающие в себя свободные основания и гидрохлоридные соли, показаны ниже, их получали методикой, аналогичной методике, показанной в примере 1 контекста для Р113. Получение таких соединений начинается с подходящих исходных производных 4-хинолинола, которые известны в данной области и которые превращают в соединения формулы (I) адаптациями тех способов, которые должны быть вполне понятны специалисту в данной области. Примерные соединения показаны ниже.

Пример 2: 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-хлорхинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидин (Р149) (см. фигуру 2)

a) 6-Хлорхинолин-4-ол

Смесь 2,2-диметил-1,3-диоксан-4,6-диона (кислота Мелдрума, 21,62 г, 0,15 моль) и trimetilформиата (150 мл) нагревали для слабого кипячения с обратным холодильником в атмосфере водород в течение 1 часа. Образовавшийся красный раствор охлаждали (80°C) и к нему в виде порций добавляли 4-хлоранилин (19,14 г, 0,15 моль), что приводило к образованию желтого твердого вещества. Реакционную смесь нагревали для кипячения с

обратным холодильником, энергично перемешивали в течение дополнительного часа и 5 затем охлаждали до 25°C (см. Ryan *et al.*, (2006) *Org. Lett.* 8:2779-2782; Madrid *et al.* (2005) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15:1015-1018). Образовавшееся твердое вещество отделяли фильтрованием и промывали холодным ацетоном, получая при этом енаминовое соединение (29,58 г, 70%, т. пл. 214-214,5°C (разл.)) в виде желтого твердого вещества, которое характеризовали посредством <sup>1</sup>Н ЯМР. К раствору дифенилового простого эфира 10 (20 мл) при 240°C добавляли енаминовое соединение (5 г, 17,75 ммоль) маленькими порциями, что приводило к энергичному выделению газа, и реакционную смесь подвергали кипячению с обратным холодильником в течение 30 минут в атмосфере азота. 15 Реакционной смеси давали возможность охладиться до 80°C и осадок отделяли фильтрованием и промывали ацетоном и гексаном до тех пор, пока фильтрат не стал бесцветным. Коричневое твердое вещество очищали нагреванием с эфиром с последующей дистилляцией при пониженном давлении, получая при этом 6-хлорхинолин- 20 4-ол в виде бледно-желтого твердого вещества с выходом 55% (1,7533 г, т. пл. 281-282,5°C (см. Riegel *et al.*, (1946) *J. Am. Chem. Soc.* 68:1264-1266, т. пл. 274-275°C). <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 6,07 (1H, д, J = 7,4 Гц), 7,59 (1H, д, J = 8,8 Гц), 7,68 (1H, дд, J = 8,8, 2,5 Гц), 25 7,95 (1H, д, J = 7,4 Гц), 8,01 (1H, д, J = 2,4 Гц), 11,92 (1H, ушир. с).

б) 3-(6-Хлорхинолин-4-илокси)пропилбромид

К раствору-сuspензии 6-хлорхинолин-4-ола (2,16 г, 12 ммоль), трифенилfosфина (3,78 г, 14,4 ммоль, 1,2 экв.) и 3-бром-1-пропанола (1,30 мл, 14,4 ммоль, 1,2 экв.) в сухом тетрагидрофуране (40 мл) добавляли диэтилазодикарбоксилат (2,51 г, 14,4 ммоль, 1,2 экв.) при 25°C на протяжении 20 минут в атмосфере азота и реакционную смесь оставляли для 30 перемешивания в течение дополнительного часа. Добавляли бромистоводородную кислоту (1,36 мл, 48% водный раствор, 1,0 экв.), что давало белое твердое вещество в виде 35 соответствующей гидробромидной соли. Белую соль отделяли фильтрованием и обрабатывали три раза диэтиловым эфиром. Белую соль нейтрализовали водным раствором карбоната калия с последующей экстракцией дихлорметаном. После 40 выпаривания слоев дихлорметана получали сырой продукт, который подвергали очистке колоночной хроматографией (силикагель, 2% метанол в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> в качестве элюента), получая при этом бромосоединение в виде белого твердого вещества (2,52 г, 70%, т. пл. 45 102-103,5°C (разл.)). <sup>1</sup>Н ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 2,50 (2H, м), 3,70 (2H, т, J = 6,3 Гц), 4,36 (2H, т, J = 5,8 Гц), 6,79 (1H, д, J = 5,3 Гц), 7,64 (1H, дд, J = 9,0, 2,4 Гц), 7,99 (1H, д, J = 9,0 Гц), 8,14 (1H, д, J = 2,4 Гц), 8,75 (1H, д, J = 5,2 Гц).

с) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(6-хлорхинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидин

2,4-Диамино-6-этил-5-гидроксиpirимидин (1,39 г, 9 ммоль) добавляли к

перемешиваемому раствору моногидрата гидроксида лития (1,32 г, 31,50 ммоль) в ДМФА (5 мл) и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. Добавляли раствор 3-(6-хлорхинолин-4-илокси)пропилбромида (2,71 г, 9 ммоль) в ДМФА (3 мл) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 25°C на протяжении ночи. ДМФА частично удаляли при пониженном давлении с получением остатка. Остаток обрабатывали дихлорметаном и фильтровали, получая при этом белое твердое вещество.

Перекристаллизация с применением водного метанола и горячей воды давала требуемый диаминопиримидин в виде белого твердого вещества (1,85 г, 55%, т. пл. 230-231°C (разл.)).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ ): 0,91 (3Н, т,  $J = 7,6$  Гц), 2,26 (2Н, кв,  $J = 7,6$  Гц), 2,31 (2Н, м), 3,86 (2Н, т,  $J = 6$  Гц), 4,45 (2Н, т,  $J = 5,9$  Гц), 5,59 (2Н, с), 6,17, (2Н, с), 7,15 (1Н, д,  $J = 5,3$  Гц), 7,76 (1Н, дд,  $J = 9,0, 2,4$  Гц), 7,98 (1Н, д,  $J = 9,0$  Гц), 8,14 (1Н, д,  $J = 2,4$  Гц), 8,77 (1Н, д,  $J = 5,2$  Гц).

д) Дигидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(6-хлорхинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина

К сусpenзии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-хлорхинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина (0,5608 г, 1,5 ммоль) в метаноле (1 мл) добавляли два эквивалента концентрированной HCl. Указанное в заголовке соединение получали, после фильтрования реакционной смеси с диэтиловым эфиром, в виде не совсем белого кристаллического твердого вещества (0,6366 г, 95%).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ ): 1,09 (3Н, т,  $J = 7,7$  Гц), 2,43 (2Н, м), 2,48 (2Н, м), 3,99 (2Н, т,  $J = 6,2$  Гц), 4,70 (2Н, т,  $J = 5,9$  Гц), 7,55 (2Н, ушир. с), 7,64 (1Н, д,  $J = 6,6$  Гц), 7,95 (1Н, с), 8,15 (1Н, дд,  $J = 9,1, 2,4$  Гц), 8,37 (2Н, м), 8,41 (1Н, д,  $J = 9,1$  Гц), 9,22 (1Н, д,  $J = 6,5$  Гц), 12,80 (1Н, с).

*Пример 3: 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-фторхинолин-4-илокси)пропокси)пирамидин (P153)* (см. фигуру 3)

а) Гидробромид 3-(6-фторхинолин-4-илокси)пропилбромида

К раствору-сусpenзии 6-фторхинолин-4-ола (3,67 г, 22,5 ммоль) (синтезирован с общим выходом 32%, исходя из 4-фторанилина и диэтилэтоксиметиленмалоната, согласно литературной методике (см. Price *et al.*, *Organic Syntheses*, Coll. Vol. 3, p.272; Vol. 28, p.38), трифенилфосфина (6,56 г, 25 ммоль) и 3-бром-1-пропанола (2,3 мл, 25 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (30 мл) добавляли дизопропилазодикарбоксилат (4,9 мл, 25 ммоль) при 25°C на протяжении 30 минут в атмосфере азота и реакционную смесь оставляли для перемешивания в течение одного часа. Добавляли бромистоводородную кислоту (2,8 мл 48% водный раствор, 25 ммоль), что приводило к осаждению указанного в заголовке соединения. Продукт собирали фильтрованием с отсасыванием и промывали ТГФ, ацетоном и эфиром, получая при этом бледно-желтое кристаллическое твердое вещество (4,17 г, 51%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ): 2,45 (2Н, м), 3,82 (2Н, т,  $J = 6,5$  Гц), 4,61 (2Н,

т,  $J = 5,7$  Гц), 7,64 (1Н, д,  $J = 6,6$  Гц), 8,40 (1Н, дт,  $J = 8,5, 2,7$  Гц), 7,90 (м, 1Н), 8,27 (1Н, дд,  $J = 9,4, 4,8$  Гц), 9,24 (1Н, д,  $J = 6,6$  Гц).

б) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(6-фторхинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидин

2,4-Диамино-6-этил-5-гидроксиpirимидин (3,00 г, 19,5 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору моногидрата гидроксида лития (1,74 г, 41,50 ммоль) в ДМФА (5 мл) и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. Добавляли раствор 3-(6-фторхинолин-4-илокси)пропилбромида [получен с количественным выходом обработкой гидробромида 3-(6-фторхинолин-4-илокси)пропилбромида (4,17 г, 11,4 ммоль, стадия б) избытком насыщенного водного раствора NaHCO<sub>3</sub> с последующей экстракцией дихлорметаном и упариванием] в ДМФА (5 мл) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 25°C на протяжении ночи. Добавление воды вызывало осаждение продукта, который собирали фильтрованием. Перекристаллизация из смеси MeOH-H<sub>2</sub>O давала свободное основание в виде бледно-желтого кристаллического твердого вещества (3,23 г, 79%). <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): 0,88 (3Н, т,  $J = 7,6$  Гц), 2,25 (2Н, кв,  $J = 7,6$  Гц), 2,29 (2Н, м), 3,84 (2Н, т,  $J = 5,8$  Гц), 4,43 (2Н, т,  $J = 5,7$  Гц), 5,54 (2Н, с), 6,11 (2Н, с), 7,10 (1Н, д,  $J = 5,2$  Гц), 7,63 (1Н, дт,  $J = 8,7, 2,6$  Гц), 7,78 (1Н, дд,  $J = 9,6, 2,7$  Гц), 8,01 (1Н, дд,  $J = 9,2, 5,4$  Гц), 8,71 (1Н, д,  $J = 5,2$  Гц).

с) Дигидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-фторхинолин-4-илокси)пропокси)-pirимидина

К суспензии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-фторхинолин-4-илокси)pirимидина (10,02 г, 28 ммоль) в метаноле (40 мл) добавляли 5,3 мл концентрированной HCl. Указанное в заголовке соединение осаждалось почти сразу и было получено в виде белого кристаллического твердого вещества после фильтрования с отсасыванием с последующим промыванием ацетоном и сушкой на воздухе (11,81 г, 98%, т. пл. 212-214°C). <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): 1,05 (3Н, т,  $J = 7,4$  Гц), 2,40 (2Н, м), 2,48 (2Н, м), 3,98 (2Н, т,  $J = 5,8$  Гц), 4,68 (2Н, т,  $J = 5,5$  Гц), 7,50 (упир. с, 2Н), 7,60 (1Н, д,  $J = 6,5$  Гц), 7,90 (1Н, с), 8,04 (1Н, дт,  $J = 9,0, 2,6$  Гц), 8,10 (1Н, дд,  $J = 8,9, 2,3$  Гц), 8,33 (1Н, с), 8,43 (1Н, дд,  $J = 9,3, 4,8$  Гц), 9,17 (1Н, д,  $J = 6,4$  Гц), 12,70 (1Н, с).

Пример 4: 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)pirимидин (P154) (см. фигуру 4)

а) 3-(2-Метилхинолин-4-илокси)пропилбромид

Смесь 2-метилхинолин-4-ола (1,59 г, 10 ммоль) (синтезирован из анилина и ацетоуксусного эфира согласно методике, известной в данной области: см. Leonard *et al.* (1946) *J. Am. Chem. Soc.* 68:1279-1281), 1,3-дibромпропана (8,08 г, 40 ммоль) и карбоната калия (1,659 г, 12 ммоль) в ацетоне (50 мл) кипятили с обратным холодильником до

исчезновения исходного вещества. Реакционную смесь фильтровали и после выпаривания растворителя остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (смесь 1% MeOH:99% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> в качестве элюента). Продукт получали в виде бледно-желтого твердого вещества (1,793 г, 64%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 2,48 (2H, м), 2,69 (3H, с), 3,69 (2H, т, J = 6,3 Гц), 4,33 (2H, т, J = 5,8 Гц), 6,6 (1H, с), 7,43 (1H, т, J = 7,5 Гц), 7,66 (1H, т, J = 7,8 Гц), 7,95 (1H, д, J = 8,5 Гц), 8,12 (1H, д, J = 8,3 Гц).

10 b) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пиридин

Смесь 2,4-диамино-6-этил-5-гидроксириимицина (0,539 г, 3,5 ммоль) и моногидрата гидроксида лития (0,294 г, 7,0 ммоль) в ДМФА (10 мл) перемешивали при 25°C в течение 1 часа, после этого к реакционной смеси добавляли 3-(2-метилхинолин-4-илокси)пропилбромид (0,980 г, 3,5 ммоль) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 25°C на протяжении ночи. Две трети ДМФА выпаривали в вакууме и реакционную смесь выливали в воду, твердое вещество отделяли фильтрованием и сушили в сушильном шкафу при 80°C. Сырой продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (смесь 4% MeOH:96% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> в качестве элюента), получая при этом указанное в заголовке соединение в виде бледно-желтого твердого вещества (0,5814 г, 47%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): 0,90 (3H, т, J = 7,6 Гц), 2,30 (4H, м), 2,60 (3H, с), 3,86 (2H, т, J = 5,9 Гц), 4,41 (2H, т, J = 5,9 Гц), 5,59 (2H, с), 6,16 (2H, с), 6,97 (1H, с), 7,46 (1H, т, J = 7,7 Гц), 7,67 (1H, т, J = 7,7 Гц), 7,84 (1H, д, J = 8,4 Гц), 8,09 (1H, д, J = 8,2 Гц).

c) Моногидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)-пиридинина

К перемешиваемой суспензии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пиридинина (0,353 г, 1 ммоль) в метаноле (10 мл) добавляли один эквивалент хлористоводородной кислоты при 25°C. После выпаривания растворителя и растирания с диэтиловым эфиrom получали продукт в виде бледно-желтого твердого вещества (0,3587 г, 92%). т. пл.: 194-196°C (разл.). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): 0,99 (3H, т, J = 7,5 Гц), 2,36 (2H, м), 2,44 (2H, кв, J = 7,5 Гц), 2,65 (3H, с), 3,97 (2H, т, J = 6,0 Гц), 4,45 (2H, т, J = 5,6 Гц), 7,09 (1H, с), 7,40 (2H, ушир. с), 7,54 (2H, т, J = 7,5 Гц), 7,75 (1H, т, J = 7,8 Гц), 7,93 (2H, м), 8,14 (2H, м), 12,55 (1H, ушир. с).

*Пример 5: 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(7-фтор-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)-пиридин (P157) (см. фигуру 5)*

a) 7-Фтор-2-метилхинолин-4-ол

К перемешиваемому раствору 3-фторанилина (4,44 г, 40 ммоль) и ацетоуксусного эфира (5,20 г, 40 ммоль) добавляли каталитическое количество (2 капли) разбавленной

хлористоводородной кислоты при 25°C, через 10 минут начиналось отделение воды и выделялось небольшое количество тепла. Реакционную смесь выдерживали при 25°C на протяжении ночи; реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (150 мл), промывали последовательно 0,5 н HCl (2x50 мл), 0,5 н NaOH (2x50 мл) и водой, сушили над безводным над сульфатом натрия. Дихлорметан выпаривали и масляный остаток добавляли к кипящему с обратным холодильником дифениловому простому эфиру (40 мл) на протяжении периода 5 минут, кипячение с обратным холодильником продолжали в течение 1 часа, после чего реакционную смесь охлаждали до 25°C и твердое вещество отделяли фильтрованием, промывали диэтиловым эфиром для удаления некоторого количества окрашивающих примесей. Продукт получали в виде желтого твердого вещества (2,3388 г, 33% в расчете на 3-фторанилин) в виде изомерной смеси 5- и 7-фтор-2-метилхинолин-4-ола, применяемой в следующей стадии без очистки.

b) 3-(7-Фтор-2-метилхинолин-4-илокси)пропилбромид

Смесь 5- и 7-фтор-2-метилхинолин-4-ола (2,12 г, 12 ммоль), 1,3-дибромпропана (9,70 г, 48 ммоль) и безводного карбоната калия (1,99 г, 14,4 ммоль) в ацетоне (60 мл) кипятили с обратным холодильником до исчезновения исходного вещества. Реакционную смесь фильтровали и после выпаривания растворителя остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (смесь 1% MeOH:99% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> в качестве элюента). 3-(7-Фтор-2-метилхинолин-4-илокси)пропилбромид выделяли в виде бледно-желтого твердого вещества (1,25 г, 35%), остальное количество соединения получали в виде изомерной смеси (0,89 г, 25%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 2,47 (2H, м), 2,68 (3H, с), 3,67 (2H, т, J = 6,3 Гц), 4,33 (2H, т, J = 5,8 Гц), 6,62 (1H, с), 7,20 (1H, дт, J = 8,6, 2,4 Гц), 7,57 (1H, дд, J = 10,5, 2,4 Гц), 8,10 (1H, дд, J = 9,1, 6,2 Гц).

c) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(7-фтор-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидин

Смесь 2,4-диамино-6-этил-5-гидроксиpirимидина (0,5395 г, 3,5 ммоль) и моногидрата гидроксида лития (0,294 г, 7,0 ммоль) в ДМФА (10 мл) перемешивали при 25°C в течение 1 часа, после чего к реакционной смеси добавляли 3-(7-фтор-2-метилхинолин-4-илокси)пропилбромид (1,043 г, 3,5 ммоль) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 25°C на протяжении ночи. Две трети ДМФА выпаривали в вакууме и реакционную смесь выливали в воду, твердое вещество выделяли фильтрованием и сушили в сушильном шкафу при 80°C. Сырой продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (смесь 4% MeOH:96% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> в качестве элюента). Продукт получали в виде белого кристаллического твердого вещества (0,6629 г, 51%). Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>): 0,89 (3H, т, J = 7,5 Гц), 2,28 (4H, м), 2,60 (3H, с), 3,85 (2H, т, J = 5,9 Гц), 4,42 (2H, т, J = 5,9 Гц), 5,57 (2H, с), 6,15 (2H, с), 6,99 (1H, с), 7,39 (1H,

дт,  $J = 8,8, 2,5$  Гц), 7,57 (1Н, дд,  $J = 10,8, 2,5$  Гц), 8,15 (1Н, дд,  $J = 9,1, 6,4$  Гц).

d) Моногидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(7-фтор-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина

К перемешиваемой суспензии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(7-фтор-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина (0,3714 г, 1 ммоль) в метаноле (10 мл) добавляли один эквивалент хлористоводородной кислоты при 25°C. После выпаривания растворителя и растирания с диэтиловым эфиром продукт получали в виде белого кристаллического твердого вещества (0,3834 г, 94%). Т. пл. > 200°C,  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ): 0,99 (3Н, т,  $J = 7,6$  Гц), 2,35 (2Н, м), 2,44 (2Н, кв,  $J = 7,6$  Гц), 2,64 (3Н, с), 3,97 (2Н, т,  $J = 5,8$  Гц), 4,45 (2Н, т,  $J = 5,5$  Гц), 7,07 (1Н, с), 7,45 (3Н, м), 7,64 (1Н, д,  $J = 10,5$  Гц), 7,90 (1Н, ушир. с), 8,19 (1Н, дд,  $J = 8,9, 6,3$  Гц), 8,33 (1Н, ушир. с), 12,30 (1Н, ушир. с).

Пример 6: моногидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(1-индолил)пропокси)пирамидина

Репрезентативная методика получения моногидрохлорида 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(1-индолил)пропокси)пирамидина представлена ниже.

a) 1-(3-Бромпропил)индол

Раствор индола (1,17 г, 10 ммоль) в безводном ДМФА (5 мл) при 0°C добавляли к суспензии гидрида натрия (0,48 г, 11 ммоль, 55%) в безводном ДМФА (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 30 минут. При 0°C добавляли 1,3-дигромпропан (2,04 мл, 20 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 0°C до тех пор, пока не было израсходовано исходное вещество. Реакционную смесь нейтрализовали разбавленной HCl и экстрагировали этилацетатом и упаривали. Сырой продукт очищали колоночной хроматографией на SiO<sub>2</sub> с применением 10% этилацетата в гексане в качестве элюента. Продукт получали в виде бледно-желтого масла (0,9048 г, 38%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), 2,38 (2Н, м), 3,34 (2Н, т,  $J = 6,1$  Гц), 4,37 (2Н, т,  $J = 6,3$  Гц), 6,57 (1Н, д,  $J = 3,0$  Гц), 7,19 (2Н, м), 7,28 (1Н, м), 7,43 (1Н, д,  $J = 8,1$  Гц), 7,69 (1Н, д,  $J = 7,8$  Гц).

b) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(1-индолил)пропокси)пирамидин

2,4-Диамино-6-этил-5-гидроксипирамидин (0,4625 г, 3 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору моногидраты гидроксида лития (0,3147 г, 7,5 ммоль) в ДМФА (2 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа. Добавляли раствор 1-(3-бромпропил) индола (0,7144 г, 3 ммоль) в ДМФА (1 мл) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 25°C на протяжении ночи. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном и экстрагировали водой. Слой дихлорметана выпаривали и остаток перекристаллизовывали из водного метанола. Продукт получали в виде бледно-желтого твердого вещества (0,4484 г, 48%).  $^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ ): 1,02 (3Н, т,  $J = 7,5$  Гц), 2,20 (2Н, м), 2,32 (2Н, кв,  $J = 7,5$  Гц), 3,60 (2Н, т,  $J = 6,3$  Гц), 4,34 (2Н, т,  $J = 7,2$  Гц), 5,56 (2Н, с), 6,07

(2H, с), 6,43 (1H, д,  $J = 3,1$  Гц), 7,01 (1H, м), 7,13 (1H, м), 7,40 (1H, д,  $J = 3,1$  Гц), 7,50 (1H, д,  $J = 8,3$  Гц), 7,54 (1H, д,  $J = 7,8$  Гц).

с) Моногидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(1-индолил)пропокси)пиrimидина

2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(1-индолил)пропокси)пиrimидин (0,1557 г, 0,5 ммоль) суспендировали в метаноле (1 мл) и добавляли 1 эквивалент концентрированной HCl. Указанное в заголовке соединение получали, после упаривания и растирания остатка с ацетонитрилом, в виде не совсем белого кристаллического твердого вещества (0,1670 г, 96%).  $^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ ): 1,09 (3H, т,  $J = 7,5$  Гц), 2,26 (2H, м), 2,44 (2H, кв,  $J = 7,5$  Гц), 3,71 (2H, т,  $J = 6,4$  Гц), 4,33 (2H, т,  $J = 7,1$  Гц), 6,45 (1H, д,  $J = 2,8$  Гц), 7,02 (1H, м), 7,14 (1H, м), 7,40 (2H, м), 7,50 (1H, д,  $J = 8,1$  Гц), 7,55 (1H, д,  $J = 7,8$  Гц), 7,82 (1H, с), 8,32 (1H, с), 12,33 (1H, с).

*Пример 7: 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-карбоксипропокси)фенокси)пропокси)пиrimидин (Р135) и его этиловый эфир (Р217) (см. фигуру 6)*

а) Этил-4-(2-гидроксифенокси)бутиноат

К раствору пирокатехина (5,51 г, 50 ммоль) в сухом ДМФА (30 мл) медленно добавляли гидрид натрия (1,2 г, 50 ммоль) при 0°C. После перемешивания при 25°C в течение 4 часов реакционную смесь нагревали при 65-70°C в течение 1 часа с последующим добавлением этил-4-бромбутират (10,7 мл, 75 ммоль). Реакционную смесь затем оставляли для перемешивания при такой температуре в течение 6 часов. После гашения водой, экстракции дихлорметаном и упаривания получали сырой продукт, который очищали колоночной хроматографией с элюированием смесью 87% гексана:10%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :3% EtOAc. Кристаллизация в гексане давала белое твердое вещество с выходом 55% (6,17 г, т. пл. 37,2-38,4°C).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,26 (3H, т,  $J = 7,1$  Гц), 2,17 (2H, м), 2,52 (2H, т,  $J = 7,0$  Гц), 4,09 (2H, т,  $J = 6,0$  Гц), 4,16 (2H, кв,  $J = 7,1$  Гц), 6,81-6,89 (3H, м), 6,92-6,94 (1H, м).

б) Этил-4-(2-(3-бромпропокси)фенокси)бутиноат

К перемешиваемому раствору этил-4-(2-гидроксифенокси)бутиноата (5,61 г, 25 ммоль) в ДМФА (25 мл) при 0°C медленно добавляли гидрид натрия (0,6 г, 25 ммоль) и затем раствор оставляли для перемешивания при 0°C в течение 4 часов. К перемешиваемому при 65-70°C раствору добавляли 1,3-дibромпропан (3,80 мл, 37,5 ммоль). Образовавшийся раствор продолжали перемешивать при 65-70°C в течение 3 часов. Обычная обработка и очистка колоночной хроматографией на силикагеле давала бромсоединение в виде белого твердого вещества с выходом 60% (5,18 г, т. пл. 31-32,6°C,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /гексан).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,25 (3H, т,  $J = 7,1$  Гц), 2,13 (2H, м), 2,34 (2H, м), 2,54 (2H, т,  $J = 7,3$  Гц), 3,64 (2H, т,  $J = 6,4$  Гц), 4,04 (2H, т,  $J = 6,2$  Гц), 4,10-4,15 (4H, м),

6,99-6,93 (4H, м).

c) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-карбоксипропокси)фенокси)пропокси)пиrimидин

2,4-Диамино-6-этил-5-гидроксиpirимидин (0,4625 г, 3 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору моногидрата гидроксида лития (0,4406 г, 10,5 ммоль) в ДМФА (4 мл) и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. Добавляли раствор этил-4-(2-(3-бромпропокси)фенокси)бутаноата (1,0357 г, 3 ммоль) в ДМФА (1 мл) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 25°C на протяжении ночи. ДМФА частично удаляли при пониженном давлении с получением остатка. Остаток разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном. Водный слой нейтрализовали разбавленной HCl, получая при этом белое твердое вещество. Перекристаллизация из ацетона давала требуемый диаминопиримидин в виде белого твердого вещества (0,6911 г, 59%, т. пл. 204-206°C).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ): 1,10 (3H, т,  $J = 7,5$  Гц), 1,91 (2H, м), 2,14 (2H, м), 2,31-2,39 (4H, м), 3,78 (2H, т,  $J = 6,1$  Гц), 3,96 (2H, т,  $J = 6,4$  Гц), 4,13 (2H, т,  $J = 6,1$  Гц), 5,60 (2H, с), 6,09 (2H, с), 6,86-6,90 (2H, м), 6,95-7,01 (2H, м).

d) Гидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-карбоксипропокси)фенокси)пропокси)-пиrimидина

К суспензии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-карбоксипропокси)фенокси)пропокси)пиrimидина (0,3904 г, 1 ммоль) в воде (1 мл) добавляли один эквивалент концентрированной HCl. Указанное в заголовке соединение получали, после растирания реакционной смеси с диэтиловым эфиром, в виде белого кристаллического твердого вещества (0,4055 г, 95%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ): 1,09 (3H, т,  $J = 7,5$  Гц), 1,90 (2H, м), 2,18 (2H, м), 2,38 (2H, т,  $J = 7,3$  Гц), 2,48 (2H, кв,  $J = 7,5$  Гц), 3,89 (2H, т,  $J = 6,1$  Гц), 3,95 (2H, т,  $J = 6,4$  Гц), 4,12 (2H, т,  $J = 6,0$  Гц), 6,86-6,90 (2H, м), 6,95-7,02 (2H, м), 7,81 (1H, ушир. с), 8,14 (1H, ушир. с), 8,18 (1H, ушир. с), 12,34 (1H, ушир. с).

e) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-этоксикарбонилпропокси)фенокси)пропокси)пиrimидин

К раствору 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-карбоксипропокси)фенокси)пропокси)пиrimидина (0,3904 г, 1 ммоль) и каталитического количества конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  в EtOH (4 мл) добавляли триэтилортоФормиат (2 мл) и раствор оставляли при перемешивании при 25°C в течение 8 часов. Реакционную смесь нейтрализовали  $\text{K}_2\text{CO}_3$  и упаривали досуха. Сырой продукт разбавляли водой и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Упаривание досуха давало требуемый сложный эфир в виде белого полутвердого вещества (0,2720 г, 65%).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц, ДМСО- $d_6$ ): 0,99 (3H, т,  $J = 7,5$  Гц), 1,15 (3H, т,  $J = 7,1$  Гц), 1,93 (2H, м), 2,13 (2H, м), 2,33 (2H, кв,  $J = 7,5$  Гц), 2,45 (2H, т,  $J = 7,3$  Гц), 3,78 (2H, т,  $J = 6,0$  Гц), 3,95 (2H, т,  $J = 6,3$  Гц), 4,03 (2H, кв,  $J = 7,1$  Гц), 4,13 (2H, т,  $J = 6,0$  Гц), 5,54 (2H, с), 6,07 (2H, с), 6,87-6,90 (2H, м), 6,95-7,01 (2H, м).

f) Гидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-этоксикарбонилпропокси)фенокси)-пропокси)пиrimидина

К суспензии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-этоксикарбонилпропокси)фенокси)-пропокси)пиrimидина (0,4185 г, 1 ммоль) в EtOH (1 мл) добавляли один эквивалент концентрированной HCl. Указанное в заголовке соединение получали, после растирания реакционной смеси с диэтиловым эфиром, в виде белого кристаллического твердого вещества (0,4322 г, 95%).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ ): 1,09 (3H, т,  $J = 7,6$  Гц), 1,15 (3H, т,  $J = 7,1$  Гц), 1,93 (2H, м), 2,18 (2H, м), 2,44 (2H, т,  $J = 7,4$  Гц), 2,49 (2H, кв,  $J = 7,7$  Гц), 3,89 (2H, т,  $J = 6,1$  Гц), 3,95 (2H, т,  $J = 6,3$  Гц), 4,04 (2H, кв,  $J = 7,1$  Гц), 4,12 (2H, т,  $J = 5,7$  Гц), 6,87-6,90 (2H, м), 6,95-7,01 (2H, м), 7,43 (2H, ушир. с), 7,83 (1H, с), 8,33 (1H, с), 12,39 (1H, с).

*Пример 8: 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-карбоксиэтил)фенокси)пропокси)пиrimидин (Р218) и его этиловый эфир (Р195) (см. фигуру 7)*

a) Метил-3-(2-гидроксифенил)пропаноат

К перемешиваемому раствору дигидрокумарина (10 мл, 78,9 ммоль) добавляли каталитическое количество конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  в сухом метаноле (300 мл) и реакционную смесь затем нагревали при 55°C в течение 8 часов. Метанол выпаривали досуха, получая при этом сырой продукт, который подвергали нейтрализации  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Остаток разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном. Очистка сырого продукта колоночной хроматографией (смесь 20%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :3% EtOAc:77% гексана в качестве элюента) давала требуемый сложный эфир в виде бесцветного масла (12,80 г, 90%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,71 (3H, т,  $J = 6,4$  Гц), 2,89 (2H, т,  $J = 6,4$  Гц), 3,67 (3H, с), 6,83-6,87 (2H, м), 7,06-7,12 (2H, м).

b) Метил-3-(2-(3-бромпропокси)фенил)пропаноат

К раствору метил-3-(2-гидроксифенил)пропаноата (1,80 г, 10 ммоль), трифенилfosфина (3,15 г, 12 ммоль) и 3-бром-1-пропанола (1,1 мл, 12 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (30 мл) добавляли дизопропилазодикарбоксилат (2,4 мл, 12 ммоль) при 25°C на протяжении 20 минут в атмосфере азота и реакционную смесь оставляли для перемешивания в течение дополнительных двух часов. После выпаривания слоя тетрагидрофурана получали сырой продукт, который подвергали очистке колоночной хроматографией на силикагеле с элюированием смесью гексан: $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :EtOAc (8:1:7:0,3). Бромсоединение получали в виде желтого масла (2,26 г, 75%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,33 (2H, м), 2,58 (2H, т,  $J = 7,8$  Гц), 2,92 (2H, т,  $J = 7,8$  Гц), 3,61 (2H, т,  $J = 6,4$  Гц), 3,65 (3H, с), 4,10 (2H, т,  $J = 5,7$  Гц), 6,84 (1H, д,  $J = 8,4$  Гц), 6,88 (1H, д,  $J = 7,3$  Гц), 7,13-7,19 (2H, м).

с) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-карбоксиэтил)фенокси)пропокси)пирамидин  
 2,4-Диамино-6-этил-5-гидроксириамидин (0,4625 г, 3 ммоль) добавляли к  
 5 перемешиваемому раствору моногидрата гидроксида лития (0,4406 г, 10,5 ммоль) в  
 ДМФА (4 мл) и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 часа. Добавляли  
 раствор метил-3-(2-(3-бромпропокси)фенил)пропаноата (0,9035 г, 3 ммоль) в ДМФА (1  
 10 мл) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при 25°C на протяжении ночи.  
 15 ДМФА частично удаляли при пониженном давлении с получением остатка. Остаток  
 разбавляли водой с последующей экстракцией смеси дихлорметаном. Водный слой  
 нейтрализовали разб. HCl, получая при этом белое твердое вещество. Перекристаллизация  
 20 из ацетона давала требуемый диаминопирамидин в виде белого твердого вещества (0,6271  
 г, 58%, т. пл. 155,5-157,5°C). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): 1,04 (3H, т, J = 7,6 Гц), 2,19  
 25 г, 2,39 (2H, кв, J = 7,5 Гц), 2,46 (2H, т, J = 7,5 Гц), 2,78 (2H, т, J = 7,7 Гц), 3,83 (2H, т,  
 J = 6,1 Гц), 4,15 (2H, т, J = 5,9 Гц), 6,29 (2H, ушир. с), 6,85 (1H, т, J = 7,4 Гц), 6,96 (2H,  
 30 ушир. с), 6,98 (1H, д, J = 8,1 Гц), 7,14-7,19 (2H, м).  
 д) Гидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-карбоксиэтил)фенокси)-  
 35 пропокси)пирамидина  
 К сусpenзии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-карбоксиэтил)фенокси)-  
 пропокси)пирамидина (0,3604 г, 1 ммоль) в воде (1 мл) добавляли один эквивалент  
 40 концентрированной HCl. Указанное в заголовке соединение получали, после растирания  
 реакционной смеси с диэтиловым эфиром, в виде белого кристаллического твердого  
 вещества (0,3770 г, 95%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): 1,12 (3H, т, J = 7,5 Гц), 2,22 (2H,  
 т, J = 5,8 Гц), 2,44-2,52 (4H, м), 2,78 (2H, т, J = 7,5 Гц), 3,89 (2H, т, J = 5,9 Гц), 4,14 (2H, т, J  
 45 = 5,5 Гц), 6,85 (1H, т, J = 7,3 Гц), 6,98 (1H, д, J = 8,1 Гц), 7,14-7,19 (2H, м) 7,41 (2H, с), 7,85  
 (1H, с), 8,31 (1H, с), 12,11 (1H, ушир. с), 12,54 (1H, с).

е) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-этоксикарбонилэтил)фенокси)пропокси)пирамидин

К раствору 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-карбоксиэтил)фенокси)пропокси)-  
 40 пирамидина (0,3604 г, 1 ммоль) и катализитического количества конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в EtOH (4 мл)  
 добавляли триэтилортормиат (2 мл) и смесь оставляли для перемешивания при 25°C в  
 течение 8 часов. Реакционную смесь нейтрализовали K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и упаривали досуха. Сырой  
 45 продукт разбавляли водой и экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Упаривание досуха давало  
 требуемый сложный эфир в виде белого твердого вещества (0,3496 г, 90%, т. пл. 124,5-  
 125,5°C). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): 1,24 (3H, т, J = 7,3 Гц), 1,26 (3H, т, J = 7,7 Гц),  
 50 2,26 (2H, м), 2,59 (2H, кв, J = 7,7 Гц), 2,62 (2H, т, J = 7,7 Гц), 2,95 (2H, т, J = 7,7 Гц), 3,98  
 (2H, т, J = 6,0 Гц), 4,13 (2H, кв, J = 7,1 Гц), 4,27 (2H, т, J = 5,7 Гц), 5,17 (2H, ушир. с), 5,28  
 (2H, ушир. с), 6,90 (1H, д, J = 8,2 Гц), 6,93 (1H, т, J = 7,5 Гц), 7,17 (1H, дд, J = 7,4, 1,4 Гц),

7,22 (1Н, дт,  $J = 7,8, 1,5$  Гц).

f) Гидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-этоксикарбонилэтил)фенокси)-пропокси)пиrimидина

К сусpenзии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-этоксикарбонилэтил)фенокси)-пропокси)пиrimидина (0,3885 г, 1 ммоль) в EtOH (1 мл) добавляли один эквивалент концентрированной HCl. Указанное в заголовке соединение получали, после растирания 10 реакционной смеси с диэтиловым эфиrom, в виде белого кристаллического твердого вещества (0,4037 г, 95%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ ): 1,10 (3Н, т,  $J = 7,8$  Гц), 1,13 (3Н, т,  $J = 7,1$  Гц), 2,22 (2Н, м), 2,47-2,55 (м, 4Н), 2,81 (2Н, т,  $J = 7,6$  Гц), 3,89 (2Н, т,  $J = 6,2$  Гц), 15 4,02 (2Н, кв,  $J = 7,1$  Гц), 4,15 (2Н, т,  $J = 5,8$  Гц), 6,85 (1Н, т,  $J = 7,4$  Гц), 6,99 (1Н, д,  $J = 8,1$  Гц), 7,14 (1Н, д,  $J = 8,2$  Гц), 7,18 (1Н, т,  $J = 7,5$  Гц), 7,38 (2Н, с), 7,85 (1Н, ушир. с), 8,14 (1Н, с), 12,32 (1Н, с).

*Пример 9: 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-(3-карбоксипропокси)-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидин (Р169) и его этиловый эфир (Р219) (см. фигуру 8)*

a) 6-(3-Этоксикарбонилпропокси)-2-метилхинолин-4-ол

К перемешиваемой смеси этил-4-(4-аминофенокси)бутаноата (3,12 г, 14 ммоль) и ацетоуксусного эфира (1,82 г, 14 ммоль) добавляли каталитическое количество хлористоводородной кислоты и реакцию циклизации проводили в кипящем с обратным холодильником дифениловом простом эфире, как описано в примере 5a. Продукт получали в виде бледно-желтого твердого вещества (1,70 г, 42%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ ): 1,32 (3Н, т,  $J = 7,1$  Гц), 2,15 (2Н, м), 2,50 (3Н, с), 2,62 (2Н, т,  $J = 7,3$  Гц), 4,21 (4Н, м), 6,09 (1Н, с), 7,42 (1Н, дд,  $J = 9,0, 2,7$  Гц), 7,58 (1Н, д,  $J = 2,7$  Гц), 7,65 (1Н, д,  $J = 9,0$  Гц), 11,8 (1Н, с).

b) 3-(6-(3-Этоксикарбонилпропокси)-2-метилхинолин-4-илокси)пропилбромид

Реакцию между 6-(3-этоксикарбонилпропокси)-2-метилхинолин-4-олом (1,157 г, 4 ммоль), 1,3-дибромпропаном (3,230 г, 16 ммоль) и безводным карбонатом калия (0,663 г, 4,8 ммоль) в ацетоне проводили аналогично реакции, описанной в примере 5b. Предполагаемое соединение получали в виде белого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 1,25 (3Н, т,  $J = 7,2$  Гц), 2,18 (2Н, м), 2,56 (4Н, м), 2,65 (3Н, с), 3,67 (2Н, т,  $J = 6,3$  Гц), 4,14 (4Н, м), 4,31 (2Н, т,  $J = 5,8$  Гц), 6,61 (с, 1Н), 7,29 (1Н, дд,  $J = 9,1, 2,6$  Гц), 7,36 (1Н, д,  $J = 2,6$  Гц), 7,85 (1Н, д,  $J = 9,1$  Гц).

c) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(6-(3-этоксикарбонилпропокси)-2-метилхинолин-4-илокси)-пропокси)пиrimидин

Смесь 2,4-диамино-6-этил-5-гидрокси пиrimидина (0,308 г, 2,0 ммоль), гидроксида калия (0,123 г, 2,2 ммоль) и 3-(6-(3-этоксикарбонилпропокси)-2-метилхинолин-4-

илокси)пропилбромида (0,821 г, 2,0 ммоль) в ДМФА перемешивали при 25°C на протяжении ночи. ДМФА выпаривали досуха и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (смесь 4% MeOH:96% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> в качестве элюента). Продукт получали в виде бледно-желтого твердого вещества (0,3578 г, 37%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): 0,90 (3H, т, *J* = 7,5 Гц), 1,16 (3H, т, *J* = 7,1 Гц), 2,08 (2H, м), 2,28 (4H, м), 2,48 (2H, т, *J* = 7,0 Гц), 2,56 (3H, с), 3,86 (2H, т, *J* = 5,8 Гц), 4,06 (4H, м), 4,41 (2H, т, *J* = 5,8 Гц), 5,53 (2H, с), 6,11 (2H, с) 6,93 (1H, с), 7,31 (1H, дд, *J* = 9,1, 2,6 Гц), 7,37 (1H, д, *J* = 2,6 Гц), 7,76 (1H, д, *J* = 9,1 Гц).

d) 2,4-Диамино-6-этил-5-(3-(6-(3-карбоксипропокси)-2-метилхинолин-4-илокси)-пропокси)пиrimидин

Суспензию этилового сложного эфира, полученного на стадии (c) (0,314 г, 0,65 ммоль), и водного раствора KOH (10 эквив.) перемешивали при 25°C на протяжении ночи. Раствор нейтрализовали добавлением разбавленного HCl. Образованный осадок отделяли фильтрованием и сушили в сушильном шкафу при 80°C, получая при этом бледно-желтое твердое вещество (0,2487 г, 84%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): 0,91 (3H, т, *J* = 7,5 Гц), 1,98 (2H, м), 2,29 (4H, м), 2,41 (2H, т, *J* = 7,2 Гц), 2,56 (3H, с), 3,86 (2H, т, *J* = 5,5 Гц), 4,05 (2H, т, *J* = 5,9 Гц), 4,40 (2H, т, *J* = 5,3 Гц), 5,67 (2H, с), 6,24 (2H, с) 6,94 (1H, с), 7,33 (2H, м), 7,75 (1H, д, *J* = 9,1 Гц).

e) Моногидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-(3-этоксикарбонилпропокси)-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидина

К перемешиваемой суспензии 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(3-этоксикарбонилпропокси)-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидина, полученного на стадии (c) (0,179 г, 0,37 ммоль), в этаноле (0,5 мл) добавляли 1 эквивалент хлористоводородной кислоты при 25°C. После выпаривания растворителя и растирания остатка с ацетоном продукт получали в виде белого кристаллического твердого вещества (0,117 г, 61%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): 0,90 (3H, т, *J* = 7,5 Гц), 1,15 (3H, т, *J* = 7,0 Гц), 2,00 (2H, м), 2,35 (4H, м), 2,40 (2H, м), 2,70 (3H, с), 3,85 (2H, т, *J* = 6,0 Гц), 4,02 (2H, кв, *J* = 7,0 Гц), 4,10 (2H, т, *J* = 6,0 Гц), 4,52 (2H, м), 7,25 (с, 1H), 7,42 (3H, м), 7,90 (1H, ушир. с), 8,00 (1H, д, *J* = 10 Гц), 8,30 (1H, ушир. с).

f) Моногидрохлорид 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-(3-карбоксипропокси)-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пиrimидина

Соединение синтезировали аналогично (e). После выпаривания растворителя и растирания остатка с ацетоном получали продукт в виде белого кристаллического твердого вещества с количественным выходом. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): 1,00 (3H, т, *J* = 7,5 Гц), 1,99 (2H, м), 2,37 (2H, м), 2,41 (4H, м), 2,63 (3H, с), 3,97 (2H, т, *J* = 6,0 Гц), 4,02

(2Н, кв,  $J = 7,0$  Гц), 4,08 (2Н, т,  $J = 6,0$  Гц), 4,45 (2Н, т,  $J = 5,3$  Гц), 7,07 (с, 1Н), 7,40 (3Н, м), 7,86 (1Н, д,  $J = 9,0$  Гц), 7,90 (1Н, ушир. с), 8,00 (1Н, д,  $J = 10$  Гц), 8,25 (1Н, ушир. с).

#### Пример 10: Принцип моделирования соединения

Соединения моделировали итеративным способом, основанным на обсуждении следующих свойств соединений: взаимодействие с ферментом-мишенью (т.е. Plasmodial DHFR), моделированной с применением экспериментально полученных кристаллических структур, антималярийные активности *in vitro* и *in vivo*, метаболическая стабильность, пероральная биологическая доступность и фармакокинетические свойства. Структуры определенных соединений в комплексе с ферментом дикого типа и имеющим четыре мутации ферментом определяли посредством дифракции рентгеновских лучей с помощью известной методики (см. Yuvaniyama *et al.*, (2003) *Nat. Ctruct. Biol.* 10:357-365). Этот способ обеспечивает получение пространственной и электронной информации об активном сайте DHFR, который применяли при моделировании и оптимизации химических соединений с высокой аффинностью и специфичностью для DHFR мутанта дикого типа и имеющего четыре мутации мутанта *P. Falciparum*. С применением итеративных циклов новые моделированные ингибиторы можно было синтезировать, кристаллизовать совместно с ферментами DHFR и изучить с применением дифракции рентгеновских лучей для обеспечения точного экспериментального определения, как каждое соединение связывается у активного сайта DHFR. На основании этих данных можно затем создать структурные модификации ингибитора для дальнейшего усиления связывания с ферментом-мишенью. Это привело к пониманию основных требований, которые необходимы для эффективного связывания соединений с активным сайтом фермента, т.е. фермента дикого типа и резистентного мутантного фермента, описанного ниже в примере 11. Аффинность соединений для ферментов дикого типа и мутантных ферментов измеряли как величины  $K_i$  (см. пример 12). Ингибирующие активности в отношении *Plasmodium Falciparum* измеряли способом *in vitro* (см. пример 13). Кроме того, цитотоксичность соединений измеряли и определяли до минимальной (см. пример 14). Активности *in vivo* соединений против *P. chabaudi* AS и ASP (восприимчивого к пираметамину и резистентного к пираметамину штаммов, соответственно) измеряли также после перорального введения (см. пример 15). Биологическую доступность соединений в организме крыс и мышей измеряли в примере 16. Полученные результаты затем рассматривали вместе для оптимизации свойств соединений: высокой аффинности связывания с ферментами дикого типа и мутантными ферментами DHFR (низкая величина  $K_i$ ), эффективных антималярийных активностей в отношении как *P. falciparum* *in vitro*, особенно антифолат-резистентных паразитов (низкая величина  $IC_{50}$ ), так и *P. chabaudi* *in vivo*.

*vivo* (низкая величина ED<sub>90</sub>) и хорошей пероральной биологической доступности соединений.

*Пример 11: основные требования для эффективных соединений*

Соединения моделировали так, чтобы они имели общую формулу Het-X-R (I), где – X-R представляет собой гибкую боковую цепь гетероциклического кольца, выбранного из пиримидина, 1,3,5-триазина, хиназолина и их насыщенных или частично насыщенных аналогов. Гибкость была необходима, так чтобы можно было устранить любое пространственное затруднение между боковой цепью и мутированным остатком в положении 108 (от серина к аспарагину) мутантного фермента. Кроме того, другие мутации вызывали дополнительные изменения в активном сайте, которые требовали дополнительную оптимизацию боковой цепи. Было обнаружено, что соединения с хорошей аффинностью для мишени (см. примеры 3 и 8) являются активными как *in vitro*, так и *in vivo*, и далее было показано что они являются достаточно биологически доступными.

*Пример 12: энзимные ингибирующие активности*

Настоящее изобретение относится к производным 2,4-диаминопиримидина и их фармацевтически приемлемым солям, применяемым для ингибирования ферментов дигидрофолатредуктаз (*DHFR*) *P. falciparum*, включающих в себя дикий тип (WT), двойные мутанты (C59R+S108N), тройные мутанты (N51I+C59R+S108N, C59R+S108N+I164L) и мутанты с четырьмя мутациями(N51I+C59R+S108N+I164L). WT, двойные, тройные и имеющие четыре мутации мутанты получали с помощью системы экспрессии *E. coli* (*E. coli* BL21(DE3)pLysS), содержащей соответствующие гены. Активность ферментов определяли спектрофотометрическим способом при 25°C. Реакционная смесь (1 мл) содержала буфер 1xDHFR (50 мМ TES, pH 7,0, 75 мМ β-меркаптоэтанол, 1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина), 100 мКМ каждого из субстрата дигидрофолата и кофактора NADPH и подходящее количество очищенного аффинностью фермента для инициации реакции (0,001-0,005 единиц в фосфатном буфере, содержащем 50 мМ KCl).

Ингибирование различных ферментов (например, дикого, двойного, тройного и имеющего четыре мутации мутанта, см. выше) соединениями изучали в 96-луночном планшете с 200 мкл указанной выше смеси в присутствии антифолата. Кинетики изучали при 340 нм. Величины K<sub>i</sub> ингибиторов для фермента дикого типа и мутантных ферментов определяли с применением следующего уравнения: IC<sub>50</sub> = K<sub>i</sub> (1+([S]/K<sub>m</sub>)), где IC<sub>50</sub> представляет собой концентрацию ингибитора, который ингибирует 50% активности фермента в стандартных условиях анализа, и K<sub>m</sub> представляет собой константу

Михаэлиса для субстрата дигидрофолата.

Константы ингибиования ( $K_i$ ) соединений в отношении фермента дикого типа и мутантных ферментов дигидрофолатредуктазы (DHFR) *Plasmodium falciparum* (Pf DHFR) суммированы ниже в таблице 3. Низкие величины  $K_i$  означают avidное связывание, совместимое с полученными рентгенографией структурами сокристаллов, которые показывают оптимальные взаимодействия между соединениями и активными сайтами ферментов, включающими в себя гидрофобное взаимодействие, взаимодействие на основе вандерваальсовых сил и взаимодействие с обменом зарядов. Например, введение карбоксильной боковой цепи обеспечивает дополнительное связывание с R122 в активном сайте, тем самым давая более низкую величину  $K_i$ , чем его компаратор без карбоксильной боковой цепи.

**Таблица 3: константы ингибиования ( $K_i$ ) производных 2,4-диаминопиримидина для связывания с Pf DHFR дикого типа и мутантными Pf DHFR**

Примеры	$K_i$ -Pf DHFR (нМ)				
	WT	C59R+S108N	N51I+C59R +S108N	C59R+S108N +I164L	N51I+C59R +S108N+I164L
пираметамин	0,6 ± 0,2	53,9 ± 6,5	67,1 ± 4,2	112,37 ± 17,49	385,0 ± 163,0
P65	0,49 ± 0,1	3,15 ± 0,13	2,61±0,22	4,21 ± 0,23	5,59 ± 0,1
P111	0,92 ± 0,13	1,23 ± 0,12	1,20±0,05	5,02 ± 0,44	4,07 ± 0,72
P112	1,49 ± 0,13	2,22 ± 0,37	3,27±0,21	2,86 ± 0,62	4,61 ± 0,38
P113	1,21± 0,17	1,86 ± 0,11	1,82±0,17	3,06 ± 0,21	4,33 ± 0,28
P134	1,19 ± 0,12	nd	nd	Nd	3,04 ± 0,27
P138	1,05 ± 0,07	1,45 ± 0,23	1,62±0,13	1,96 ± 0,17	2,66 ± 0,46
P139	1,07 ± 0,14	1,61± 0,41	1,67±0,17	1,59 ± 0,22	2,47 ± 0,33
P140	0,92 ± 0,11	1,74 ± 0,03	3,10 ± 0,38	4,12 ± 0,19	4,44 ± 0,66
P141	1,07 ± 0,07	1,31 ± 0,06	1,63 ± 0,06	2,46 ± 0,16	3,90 ± 0,22
P142	1,24 ± 0,10	2,50 ± 0,19	2,03 ± 0,10	3,86 ± 0,31	4,29 ± 0,48
P144	0,84 ± 0,05	3,22 ± 0,54	2,04 ± 0,21	2,44 ± 0,31	3,26 ± 0,58
P145	1,04 ± 0,03	2,30 ± 0,31	2,37 ± 0,19	3,52 ± 0,62	3,81 ± 0,03
P147	0,88 ± 0,10	2,19 ± 0,15	2,25 ± 0,22	3,16 ± 0,21	4,68 ± 0,33
P149	1,05 ± 0,18	2,37± 0,16	3,40 ± 0,15	3,66 ± 0,48	4,23 ± 1,06
P153	1,41 ±0,13	nd	nd	Nd	3,41 ± 0,27
P154	1,29 ± 0,14	nd	nd	Nd	4,80 ± 0,36

50

	P155	$1,17 \pm 0,08$	nd	nd	Nd	$3,39 \pm 0,08$
5	P156	$1,00 \pm 0,15$	nd	nd	Nd	$2,83 \pm 0,16$
	P157	$1,26 \pm 0,24$	nd	nd	Nd	$3,95 \pm 0,06$
	P163	$0,47 \pm 0,06$	nd	nd	Nd	$1,89 \pm 0,35$
10	P164	$0,65 \pm 0,09$	nd	nd	Nd	$2,60 \pm 0,43$
	P165	$0,76 \pm 0,03$	nd	nd	Nd	$1,72 \pm 0,11$
	P166	$0,42 \pm 0,06$	nd	nd	Nd	$1,98 \pm 0,09$
	P167	$0,44 \pm 0,04$	nd	nd	Nd	$1,11 \pm 0,12$
15	P168	$0,29 \pm 0,02$	nd	nd	Nd	$0,51 \pm 0,06$
	P170	$0,25 \pm 0,07$	nd	nd	Nd	$0,42 \pm 0,04$
	P171	$0,30 \pm 0,07$	nd	nd	Nd	$0,62 \pm 0,11$
	P172	$0,26 \pm 0,03$	nd	nd	Nd	$0,85 \pm 0,03$
20	P135	$0,72 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,003$	$1,20 \pm 0,05$	$2,54 \pm 0,04$	$3,47 \pm 0,09$
	P217	$0,69 \pm 0,10$	nd	nd	Nd	$3,30 \pm 0,52$
	P218	$0,43 \pm 0,07$	nd	nd	Nd	$0,54 \pm 0,12$
25	P195	$0,26 \pm 0,02$	nd	nd	Nd	$1,88 \pm 0,13$
	P169	$0,15 \pm 0,04$	nd	nd	Nd	$0,36 \pm 0,01$
	P219	$0,52 \pm 0,08$	nd	nd	Nd	$1,25 \pm 0,22$

nd = не определяли

#### Пример 13: Активность *in vitro* в отношении *P. falciparum*

Изобретение относится к производным 2,4-диаминопirimидина для лечения малярии, в том числе нерезистентной и резистентной к лекарственному средству малярии. Соединения можно применять как таковое или в сочетании с сульфонамидами, которые действуют на фермент DHPS в биосинтетическом пути фолата, и/или другими агентами, которые могут действовать посредством неантифолатного механизма. Штаммы *P. falciparum* непрерывно сохраняли в эритроцитах человека при  $37^{\circ}\text{C}$  и 3%  $\text{CO}_2$  в стандартной культуральной среде RPMI 1640 с 25 мМ HEPES, pH 7,4, 0,2%  $\text{NaHCO}_3$ , 40 мкг/мл гентамицина и 10% сыворотки человека (Trager *et al.*, (1976) *Science* 193: 673-675). Антималярийную активность *in vitro* определяли с применением способа включения [ $^{3}\text{H}$ ]-гипоксантина (Desjardins *et al.*, (1979) *Antimicrob. Agents Chemother.* 16:710-718), который измеряет рост паразита посредством аккумуляции метаболического предшественника, гипоксантина. Соединения сначала растворяли в ДМСО и разбавляли такой же стандартной культуральной средой. Аликовты (25 мкл) лекарственного средства различных концентраций распределяли в 96-луночных планшетах и добавляли 200 мкл

1,5% клеточной суспензии зараженных паразитами эритроцитов с 1-2% паразитемии. Конечная концентрация ДМСО (0,1%) не влияла на рост паразитов. Смеси инкубировали в термостате с 3% CO<sub>2</sub> при 37°C. После 24 час инкубации к каждой лунке добавляли 25 мкл (0,25 мкКи) [<sup>3</sup>H]-гипоксантина. Культуры паразитов далее инкубировали в таких же условиях в течение 18-20 часов. ДНК паразитов собирают на бумаге стеклянного фильтра. Фильтры сушили на воздухе и добавляли 20 мкл сцинтилляционной жидкости. Радиоактивность на фильтрах затем измеряли с применением сцинтилляционного счетчика. Концентрацию ингибитора, которая ингибировала 50% роста паразитов (IC<sub>50</sub>), определяли из сигмовидной кривой, полученной нанесением процентов включения [<sup>3</sup>H]-гипоксантина в зависимости от концентрации лекарственного средства. Примеры соединений этого ряда с высокой антималярийной активностью в отношении DHFR дикого типа и в частности в отношении паразитов, имеющих ферменты DHFR с одной, двумя, тремя и четырьмя мутациями, показаны выше в таблице 3.

В таблице 4 ниже показаны результаты, полученные со следующими мутантными штаммами: K1CB1 (C59R+S108N), W2 (N51I+C59R+S108N), Csl-2 (C59R+S108N+I164L) и V1/S (N51I+C59R+S108N+I164L).

**Таблица 4: антиплазмоидальные активности (IC<sub>50</sub>) производных 2,4-диаминоピrimidina в отношении *P. falciparum*, имеющие различные типы DHFR: TM4/8.2 (дикий тип), K1CB1 (C59R+S108N), W2 (N51I+C59R+S108N), Csl-2 (C59R+S108N+I164L) и V1/S (N51I+C59R+S108N+I164L)**

Соединение	IC <sub>50</sub> - <i>P. falciparum</i> (мКМ)				
	TM4/8.2 (WT)	K1CB1	W2	Csl-2	V1/S
Хлорохин	0,027	0,37	0,32	0,40	0,38
Дигидроартемизинин (нМ)	1,69 ± 0,39	1,0 ± 0,57	0,59	1,1 ± 0,4	1,4
Рут	0,058 ± 0,03	>50	39,88	Nd	>100
P065	0,35 ± 0,08	2,63 ± 0,98	1,43 ± 0,73	3,10	5,05 ± 0,47
P111	0,025 ± 0,018	0,4 ± 0,08	2,28 ± 0,9	nd	4,83 ± 0,18
P112	0,0013 ± 0,000	0,02 ± 0,01	0,021 ± 0,01	nd	0,07 ± 0,02
P113	0,004 ± 0,003	0,026 ± 0,01	0,013 ± 0,01	nd	0,050 ± 0,01
P134	0,0050 ± 0,001	0,038 ± 0,01	0,042 ± 0,01	0,23 ± 0,10	0,41 ± 0,43
P138	0,007 ± 0,003	0,018 ± 0,001	0,033 ± 0,02	0,028 ± 0,01	0,024 ± 0,002
P139	0,0022 ± 0,001	0,015 ± 0,003	0,011 ± 0,01	0,011 ± 0,01	0,0049 ± 0,003
P140	0,0027 ± 0,001	0,015 ± 0,01	0,024 ± 0,01	0,042 ± 0,005	0,055 ± 0,02
P141	0,0003 ± 0,000	0,00064 ± 0,0003	0,0042 ± 0,003	0,0037 ± 0,0016	0,0055 ± 0,004
P142	0,0023 ± 0,001	0,0040 ± 0,0003	0,005 ± 0,0036	0,0046 ± 0,003	0,0068 ± 0,003
P144	0,0017 ± 0,0008	0,039 ± 0,01	0,058 ± 0,02	0,31 ± 0,18	0,33 ± 0,14

	P145	0,0051 ± 0,003	0,061 ± 0,02	0,18 ± 0,07	0,36 ± 0,12	0,23 ± 0,13
	P147	0,0027 ± 0,002	0,0065 ± 0,003	0,011 ± 0,0004	0,01 ± 0,005	0,019 ± 0,008
	P149	0,0032 ± 0,0007	0,0040 ± 0,0026	0,011 ± 0,01	0,028 ± 0,02	0,018 ± 0,007
5	P153	0,00025 ± 0,0001	0,00065 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0003	0,0014 ± 0,0001	0,0046 ± 0,0005
	P154	0,002 ± .0008	0,0057 ± 0,002	0,0069 ± 0,002	0,028 ± 0,02	0,023 ± 0,0045
	P155	0,0037 ± 0,001	0,025 ± 0,01	0,016 ± 0,003	0,038 ± 0,01	0,057 ± 0,005
	P156	0,0022 ± 0,001	0,0062 ± 0,002	0,0069 ± 0,003	0,021 ± 0,002	0,019 ± 0,009
	P157	0,0024 ± 0,0007	0,031 ± 0,01	0,007 ± 0,001	0,027 ± 0,01	0,036 ± 0,01
10	P163	0,0056 ± 0,001	0,040 ± 0,03	0,089 ± 0,06	0,11 ± 0,04	0,23 ± 0,11
	P164	0,0030 ± 0,0008	0,024 ± 0,01	0,017 ± 0,01	0,026 ± 0,002	0,068 ± 0,03
	P165	0,0017 ± 0,0004	0,033 ± 0,01	0,027 ± 0,0005	0,34 ± 0,26	0,16 ± 0,08
	P166	0,0008 ± 0,00004	0,023 ± 0,02	0,034 ± 0,01	0,20 ± 0,12	0,14 ± 0,07
	P167	0,0054 ± 0,001	0,0053 ± 0,002	0,0038 ± 0,002	0,0022 ± 0,001	0,005 ± 0,002
15	P168	0,022 ± 0,01	0,026 ± 0,03	0,033 ± 0,004	nd	0,032 ± 0,01
	P169	0,00022 ± 0,00006	0,002 ± 0,0008	0,00085 ± 0,0002	nd	0,0031 ± 0,002
	P170	0,043 ± 0,01	0,066 ± 0,02	0,042 ± 0,02	nd	0,056 ± 0,018
	P171	<0,001	0,0033 ± 0,001	0,0022 ± 0,0005	nd	0,017 ± 0,005
	P172	0,0043 ± 0,001	0,052 ± 0,01	0,021 ± 0,02	nd	0,275 ± 0,04
20	P135	0,0016 ± 0,0006	0,0034 ± 0,001	0,005 ± 0,001	0,024 ± 0,02	0,038 ± 0,02
	P217	0,004	nd	nd	nd	nd
	P218	0,006	nd	nd	nd	nd
	P195	0,0025 ± 0,0007	0,003 ± 0,0005	0,001 ± 0,0005	0,014 ± 0,007	0,068 ± 0,017
25	P169	0,0003 ± 0,0001	0,002 ± 0,0008	0,003 ± 0,001	0,002 ± 0,0005	0,003 ± 0,001
	P219	< 0,01	nd	nd	nd	nd

nd = не определяли

В таблице 4 выше показаны различные производные 2,4-диаминопirimидина. А именно, эти соединения являются очень активными против пираметамин-резистентных штаммов паразитов. Величины IC<sub>50</sub> этих примерных соединений были значительно меньше, чем величины IC<sub>50</sub> пираметамина в отношении мутантных штаммов.

#### Пример 14: определение цитотоксичности в клетках млекопитающих (IC<sub>50</sub>)

Испытания на цитотоксичность соединений проводили в клетках фибробластов почек африканских зеленых мартышек (Vero) согласно протоколу, описанному Skehan *et al.*, (1990) *J. Natl. Cancer Inst.* 82:1107-1112. Эти соединения обладают селективностью против малярийных паразитов с разным цитотоксическим действием на клеточную линию млекопитающих, как суммировано в таблице 5. Соединения с кислотной и сложноэфирной группой обладают лучшей селективностью против клеток Vero, чем с другой функциональной группой.

45

50

Таблица 5: цитотоксичность производных 2,4-диаминопirimидина в клетках млекопитающих

Пример	Цитотоксичность для клеток Vero, IC <sub>50</sub> (мкМ)	Отношение IC <sub>50</sub>	
		Vero/TM4	Vero/V1/S
Рут	32	549	< 0,3
P113	0,119	32	2
P153	0,037	149	8
P154	0,094	38	4
P157	0,100	42	3
P135	> 10	> 6000	> 260
P217	5,33	1380	nd
P218	>10	> 1620	nd
P195	1,25	500	18
P169	0,42	1405	134

nd = не определяли

*Пример 15: активность in vivo на моделях малярии грызунов*

Антималярийную активность соединений *in vivo* оценивали с применением 20 моделей *Plasmodium chabaudi* и *Plasmodium berghei* стандартным 4-дневным тестом Петерса, включающим в себя пираметамин в качестве лекарственного средства-компаратора в каждом эксперименте. Вкратце, 20 г самцов мышей CD1 (Charles Rivers, UK) выдерживали в определенных условиях без патогенов и кормили *ad libitum*. Для 25 перорального введения соединения растворяли в стандартной суспендирующей смеси (SSV) [0,5% натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы, 0,5% бензилового спирта, 0,4% твина 80, 0,9% NaCl (все от Sigma)] и для внутрибрюшинного или подкожного введения 30 соединения растворяли в растворе [0,5 масс./об.% гидроксипропилметилцеллюлозы, 0,4 об./об.% твина 80, 0,5 об./об.% бензилового спирта в деионизированной воде]. Мышей инфицировали внутривенно  $4 \times 10^6$  инфицированных эритроцитов и обрабатывали 35 перорально (р.о.) 0,2 мл раствора испытуемых соединений два часа (день 0) и в дни 1, 2 и 3 после инфицирования. Паразитемию определяли микроскопическим изучением мазков крови Giemsa, взятых в день 4. Микроскопический подсчет мазков крови от каждой мыши проводили с применением GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, Inc., CA, USA) и 40 выражали как проценты ингибирования от арифметических средних паразитемий каждой группы относительно необработанной группы. Соединения испытывали в начальном скрининге при 30 мкг/день против *P. chabaudi* AS (нерезистентный) на протяжении 45 описанного периода и проценты ингибирования вычисляли относительно необработанных контролей. Соединения, проявляющие 80% ингибирование или выше, затем испытывали 50 на такой же модели при диапазоне доз на протяжении описанного периода для получения кривых доза-реакция и вычисляли их величины ED<sub>50</sub> и ED<sub>90</sub>. Соединения, дающие ED<sub>90</sub> при уровне компаратора или ниже (таблица 6), затем отбирали для испытания против *P.*

*chabaudi* ASP (пираметамин-резистентный штамм) и летального *P. berghei* ANKA (нерезистентный штамм). Результаты испытания *in vivo* против *P. chabaudi* AS суммированы в таблице 7. Из величин ED<sub>90</sub> очевидно, что ряд соединений имеет превосходную активность на этой модели, их испытывали также против *P. chabaudi* ASP и *P. berghei* ANKA.

Как показано в таблице 6, ряд этих соединений обнаруживают величины ED<sub>90</sub> в 2-90 раз ниже (ED<sub>90</sub> = 0,01-0,36 мг/кг), чем у существующего лекарственного средства пираметамина, который показывает величины ED<sub>90</sub> 0,88 мг/кг в отношении *P. chabaudi* AS. В таблице 7 показана эффективность некоторых из этих соединений на трех разных моделях малярии грызунов, в том числе *P. chabaudi* ASP и летального *P. berghei* ANKA. По сравнению с пираметамином, который в 15 раз менее эффективен против пираметамин-резистентного *P. chabaudi* ASP (ED<sub>90</sub> = 13,5 мг/кг), соединение P113 сохраняет свою эффективность против этого штамма (ED<sub>90</sub> = 0,01 мг/кг) и против летального *P. berghei* ANKA (ED<sub>90</sub>= 0,03 мг/кг).

**Таблица 6: антималярийная пероральная активность соединений в отношении *P. chabaudi* AS при стандартном 4-дневном испытании Петерса**

Номер соединения	<i>P. chabaudi</i> AS (мг/кг)	
	ED <sub>50</sub> *	ED <sub>90</sub> *
P65	0,9	1,5
P111	0,03	7,3
P113	0,006	0,01
P112 (99,9 % ингибирование при 30 мг/кг)	nd	nd
P134	0,025	0,076
P135	2	5,2
P136	0,3	3,4
P138	0,7	1,3
P139	0,8	2,8
P140 (99,9 % ингибирование при 30 мг/кг)	nd	nd
P141	0,06	0,65
P142 (97,9 % ингибирование при 30 мг/кг)	nd	nd
P144	0,54	3,08
P145	0,03	0,12
P146	3,8	28,8
P147	1,96	11,8
P148	2,21	14,1
P149	0,01	0,02
P153	0,006	0,013
P154	0,006	0,043
P155 (99,9 % ингибирование при 30 мг/кг)	nd	nd
P156	0,14	0,36
P157	0,008	0,012

	P163	0,17	1,4
	P164	0,03	0,08
	P165	0,39	2,33
	P166	1,78	9,57
5	P167 (48,3 % ингибирование при 30 мг/кг)	nd	nd
	P168 (48,3 % ингибирование при 30 мг/кг)	nd	nd
	P169	>29	>29
	P170 (48,3 % ингибирование при 30 мг/кг)	nd	nd
10	P171	0,16	0,9
	P172	0,22	1,74
	P173	>10	>10
	P195	0,21	0,69
	P217	<0,63	<0,63
15	P218	<0,63	<0,63
	P219	>5	>5
	Пириметамин	0,25	0,88

\* ED<sub>50/90</sub>: доза, требуемая для индуцирования снижения паразитемии 50% /90% nd = не определяли

20 Таблица 7: Суммарная пероральная антималярийная активность соединений в  
отношении различных малярийных моделей грызунов

	<i>P. chabaudi</i> AS (мг/кг)		<i>P. chabaudi</i> ASP (мг/кг)		<i>P. berghei</i> ANKA (мг/кг)	
	ED <sub>50</sub> *	ED <sub>90</sub> *	ED <sub>50</sub>	ED <sub>90</sub>	ED <sub>50</sub>	ED <sub>90</sub>
25	P65	0,9	1,5	0,7	1,5	1,4
	P113	0,006	0,01	0,003	0,01	0,01
30	P111	0,03	7,3	nt	nt	nt
	P135	2,0	5,2	nt	nt	nt
35	P195	0,21	0,69	nt	nt	nt
	P217	<0,63	<0,63	nt	nt	nt
40	P218	<0,63	<0,63	nt	nt	nt
	Пириметамин	0,25	0,88	1,8	13,5	0,5
						3,2

\*ED<sub>50/90</sub>: доза, требуемая для индуцирования снижения паразитемии 50% /90%. nt = не испытывали.

Пример 1б: биологическая доступность

Для определения пероральной биологической доступности и фармакокинетик испытуемые соединения вводили голодным самцам крыс Sprague Dawley, весящих 270-300 г (см. ниже таблицу 8). Крысы имели свободный доступ к воде после введения дозы на всем протяжении периода времени от до и после взятия проб и доступ к корму был восстановлен через 4 часа после введения дозы. Испытуемые соединения вводили внутривенно в виде 5-минутной инфузии с постоянной скоростью (1,0 мл на крысу) и

перорально через желудочный зонд (1,0 мл на крысу). Препараты для внутривенного (iv) введения были обычно забуференными водными растворами, содержащими сорастворитель, если нужно было для солюбилизации. Пероральные препараты получали в виде суспензий в гидроксипропилметилцеллюлозе или карбоксиметилцеллюлозе, причем в каждую добавляли твин 80 и бензиловый спирт. Образцы артериальной крови и общей мочи собирали в течение вилоть до 24 часов после введения дозы. Артериальную кровь собирали непосредственно в боросиликатные пробирки (при 4°C), содержащие гепарин, коктейль ингибитора протеазы, фторид калия и EDTA для минимизации потенциального для *ex vivo* разрушения испытуемого соединения в образцах крови/плазмы. После этого собранные образцы крови центрифугировали, супернатантную плазму удаляли и хранили при -20°C и концентрации испытуемого соединения в плазме определяли ЖХ-МС.

**Таблица 8. Фармакокинетические параметры для выбранных соединений, определенные после внутривенного (i.v.) и перорального (ро) введения дозы самцам крыс Sprague Dawley**

Соединение	i.v. CL <sub>(плазма)</sub> (мл/мин/кг)	i.v. t <sub>1/2</sub> (час)	V <sub>D</sub> (л/кг)	Пероральная ВА (% дозы)
P111	51,4	1,7	7,4	18,5
P113	Не определяли	Не определяли	Не определяли	< 2,0
P134	Не определяли	Не определяли	Не определяли	14,6
P135	49,1	Не определяли	1,6	7,0
P149	66,3	24,3	51,2	10
P153	69,6	15,7	17,3	26
P154	84,1	3,2	8,8	9,3
P157	74,7	17,6	15,2	25,5
P164	218,3	0,6	11,6	1,0

Данные в таблице 8 показывают различные фармакокинетические профили и свойства биологической доступности различных соединений. Имеется диапазон величин в терминах биологической доступности, очищения, t<sub>1/2</sub> и V<sub>D</sub> для индивидуальных соединений.

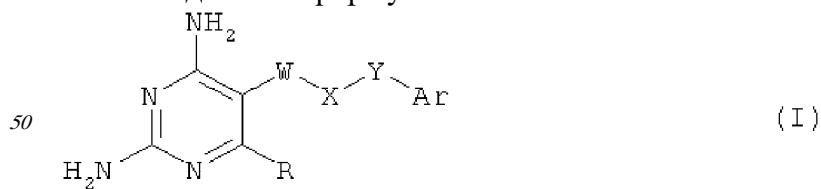
В отдельном анализе на мышах исследовали пероральную биологическую доступность P195, сложноэфирного пролекарства P218, которое содержит карбоновую кислоту в качестве боковой цепи. Самцам мышей Swiss, полученным аутбридингом

(неродственное спаривание) вводили P218 (свободную кислоту) внутривенной инъекцией болюса в хвостовую вену при номинальной дозе 5 мг/кг и P195 (сложноэфирное пролекарство) вводили перорально через желудочный зонд при номинальной дозе 20 мг/кг. Дозы препаратов были сравнимы с дозами, применяемыми при описанных выше исследованиях крыс. Отбор образца крови проводили сердечной пункцией при отборе образца у одной мыши и двух мышей на каждую временную точку на протяжении 16 часов после дозирования. Образцы крови разделяли и плазму анализировали ЖХ-МС, как описано выше. Концентрация в плазме в зависимости от профилей времени для P218 после i.v. введения P218 и после перорального введения пролекарства P195 показаны на 15 figure 9. Концентрации P218 в плазме оставались выше низшего предела количества (LLQ = 0,0014 мкМ) в течение 7,5 час после i.v. введения. После перорального введения сложноэфирного пролекарства концентрация кислоты P218 в плазме оставалась выше LLQ в течение 16 часов после введения дозы и биологическая доступность P218 была 20 приблизительно 50% (определенена сравнением дозанормализованной величины AUC для P218 после перорального введения P195 с величиной AUC для P218 после введения P218 i.v. Максимальную концентрацию ( $C_{max}$ ) P218 в плазме после перорального введения P195 25 наблюдали во время первого отбора образца крови (15 мин), и концентрации пролекарства P195 в плазме были ниже низшего предела количества (0,0014 мкМ) во всех временных точках. Эти результаты позволяют предположить быструю абсорбцию и расщепление сложноэфирного пролекарства после перорального введения с выделением свободной 30 кислоты P218.

Специалисту в данной области должны быть очевидны различные модификации и 35 варианты настоящего изобретения, не выходящие за пределы объема и сущности изобретения. Хотя изобретение было описано с обращением к определенным предпочтительным вариантам осуществления, должно быть понятно, что заявляемое изобретение не следует чрезмерно ограничивать такими определенными вариантами 40 осуществления. Фактически, различные модификации описанных способов осуществления изобретения, которые понятны специалисту в данной области, находятся в пределах объема формулы изобретения.

#### 45 Формула изобретения

##### 1. Соединение формулы I



где R представляет собой водород или  $C_{1-4}$ алкил; W-X-Y представляет собой

O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O;

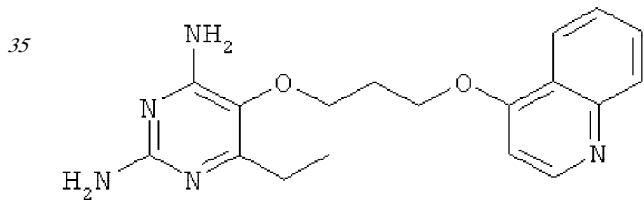
Ar представляет собой необязательно замещенное ароматическое кольцо, включающее фенил или нафтил, или необязательно замещенное гетероароматическое кольцо, выбранное из группы, состоящей из хинолинила, изохинолинила, хиназолинила, хиноксалинила, пиридила, индолида, триазолида, бензоксазолида, бензимидазолида, индолинила и бензотриазолида;

где

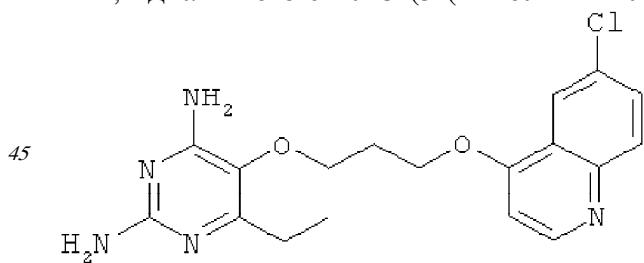
когда Ar представляет собой ароматическое кольцо, оно является необязательно замещенным, по меньшей мере, одной группой, выбранной из группы, состоящей из ацила, бензоксазолида, нитро, карбоксила, карбоксиалкилаC(1-3), карбоксиалкилC(1-3)окси, алкилC(1-3)оксикарбонилалкилаC(1-3), алкилC(1-3)оксикарбонилалкилC(1-3)окси, тетразолида, тетразолилалкилаC(1-3) и тетразолилалкилC(1-3)окси,

когда Ar представляет собой необязательно замещенное гетероароматическое кольцо, оно необязательно замещено заместителями, выбранными из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, трифторметила, арила, замещенного арила, галогена, амино, замещенного амино, алкокси, арилокси, гидроксила и нитро и Ar является необязательно дополнительно замещенным дополнительными заместителями, выбранными из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, трифторметила, арила, замещенного арила, галогена, амино, замещенного амино, алкокси, арилокси и гидроксила; или его фармацевтически приемлемая соль.

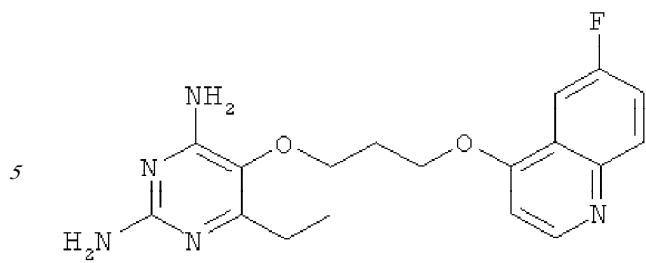
- 25 2. Соединение по п.1, где R представляет собой C<sub>1-4</sub>алкил.
- 3. Соединение по п.1, где R представляет собой этил.
- 4. Соединение по п.1, где Ar представляет собой замещенный фенил или нафтил.
- 5. Соединение по п.1, где Ar представляет собой 4-хинолинил или замещенный 4-хинолинил.
- 30 6. Соединение по п.1, где R представляет собой этил, W-X-Y представляет собой O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>O, и Ar представляет собой хинолинил или замещенный 4-хинолинил.
- 7. Соединение по п.1, которое выбирают из группы, состоящей из:



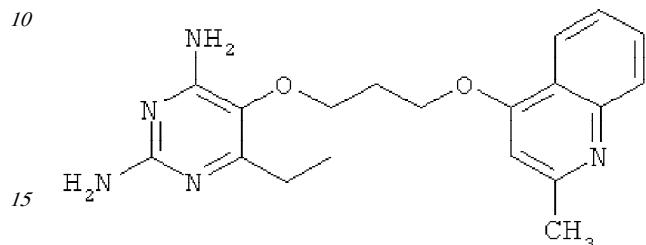
40 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(хинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина (Р113);



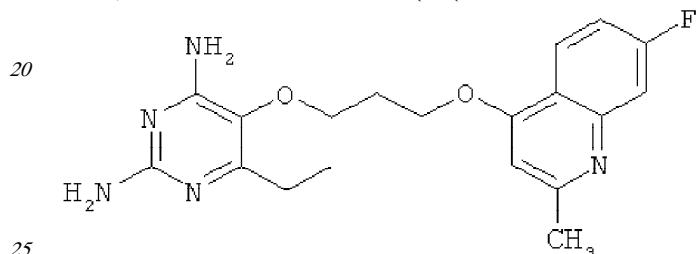
50 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-хлор-хинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина (Р149);



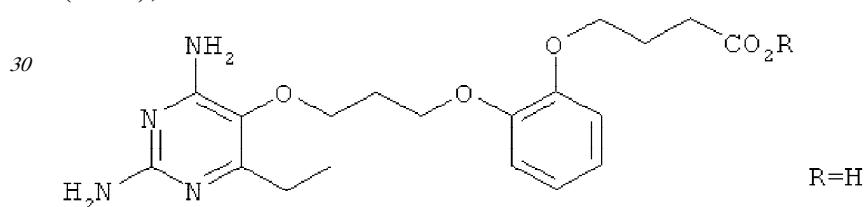
2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-фторхинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина (Р153);



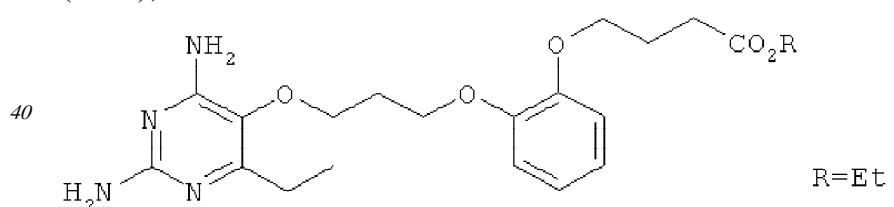
2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина (Р154);



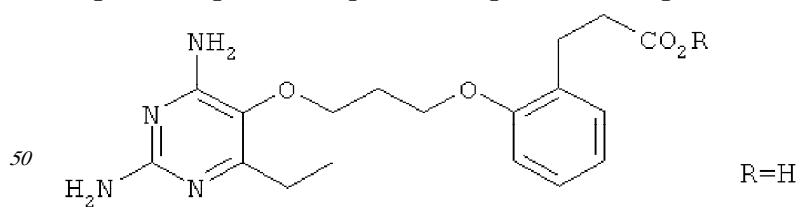
2,4-диамино-6-этил-5-(3-(7-фтор-2-метилхинолин-4-илокси)пропокси)пирамидина (Р157);



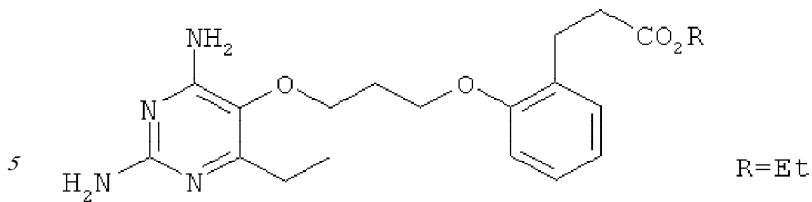
35 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-карбоксипропокси)фенокси)пропокси)пирамидина (Р135);



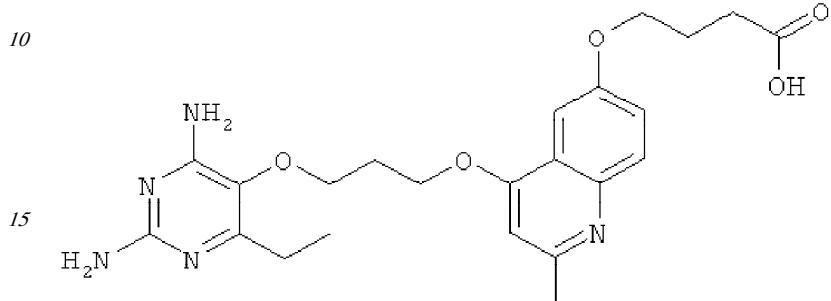
45 этилового эфира 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(3-карбоксипропокси)фенокси)пропокси) пирамидина (Р217);



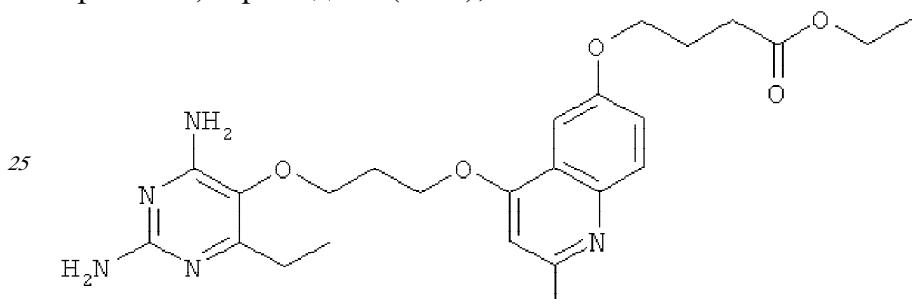
2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-карбоксиэтил)фенокси)пропокси)пирамидина (Р218);



этилового эфира 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-карбоксиэтил)фенокси)пропокси)пириимицина (Р195);



2,4-диамино-6-этил-5-(3-(3-карбоксипропокси)-2-метилхинолин-4-илокси)-  
20 пропокси)пириимицина (Р169); и



30 этилового эфира 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(6-(3-карбоксипропокси)-2-  
метилхинолин-4-илокси)-пропокси)пириимицина (Р219), или его фармацевтически  
приемлемой соли.

8. Соединение по п.1, которое представляет собой этиловый эфир 2,4-диамино-6-  
35 этил-5-(3-(2-карбоксиэтил)фенокси)пропокси)пириимицина (Р195), или его  
фармацевтически приемлемую соль.

9. Соединение по п.1, которое представляет собой 2,4-диамино-6-этил-5-(3-(2-(2-  
карбоксиэтил)фенокси)пропокси)пириимицин (Р218), или его фармацевтически  
40 приемлемую соль.

10. Соединение по п.9, которое представляет собой гидрохлорид 2,4-диамино-6-  
этокси-5-(3-(2-карбоксиэтил)фенокси)пропокси)пириимицина (соль Р218).

11. Соединение по любому из пп.1-10 для применения в качестве лекарственного  
средства для лечения малярии.

45 12. Фармацевтическая композиция, обладающая ингибиторной активностью в  
отношении дигидрофолатредуктазы (DHFR), содержащая, по меньшей мере, одно  
соединение по любому из пп.1-10, смешанное, по меньшей мере, с одним  
фармацевтически приемлемым эксципиентом.

50 13. Фармацевтическая композиция по п.12, где соединение по пп.1-10 представляет  
собой поименованное в п.7 соединение.

14. Соединение по любому из пп.1-10 для лечения малярии.

15. Соединение по п.14, где штамм малярии является резистентным, по меньшей

мере, к одному антифолатному лекарственному средству.

16. Соединение по п.15, где резистентный к лекарственному средству штамм малярии является резистентным, по меньшей мере, к одному антифолатному лекарственному средству, выбранному из группы, состоящей из циклогуанила, хлорциклогуапила, пираметамина или других ингибиторов DHFR.

17. Соединение по п.14, где лечение является пероральным лечением.

10

15

20

25

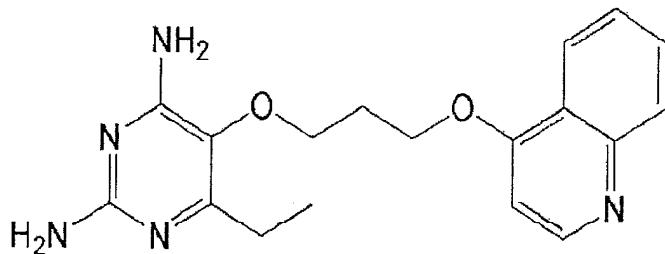
30

35

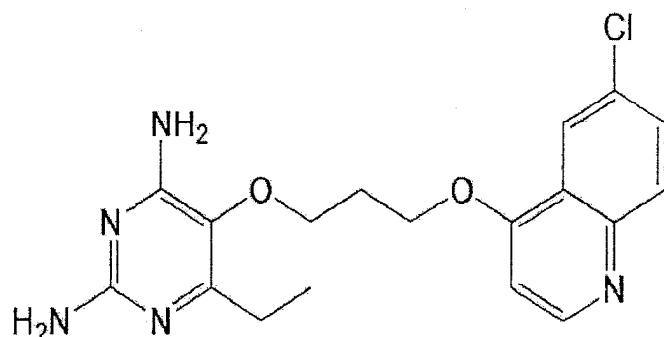
40

45

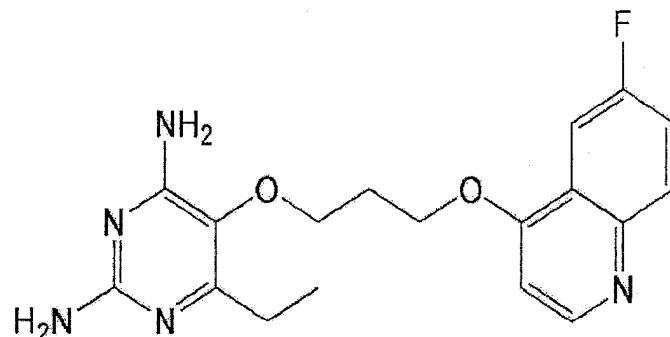
50



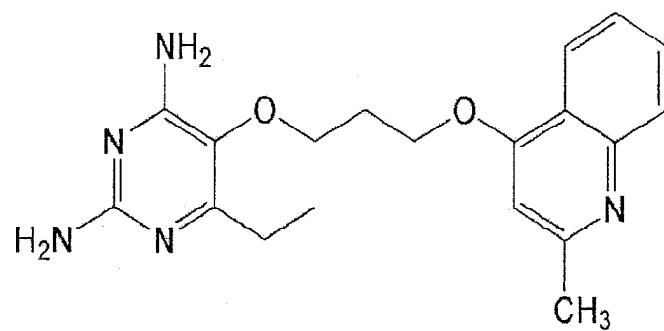
ФИГ. 1



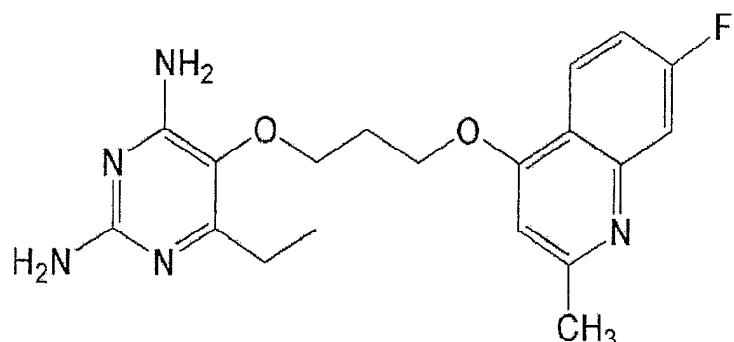
ФИГ. 2



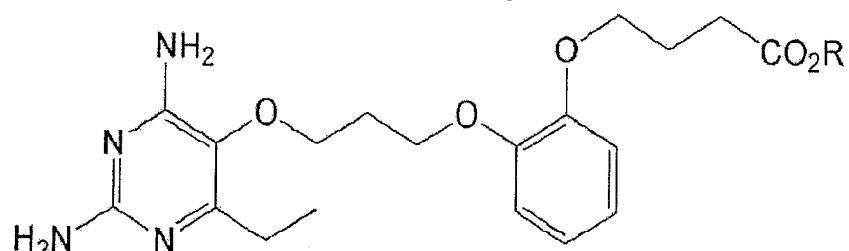
ФИГ. 3



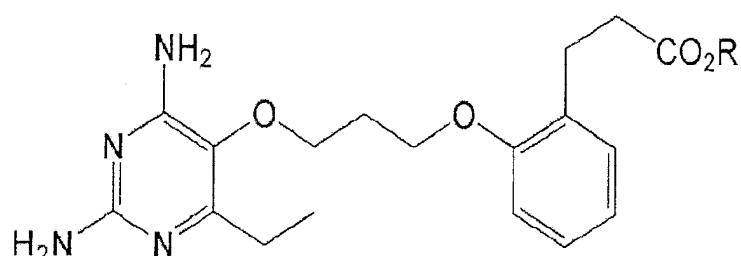
ФИГ. 4



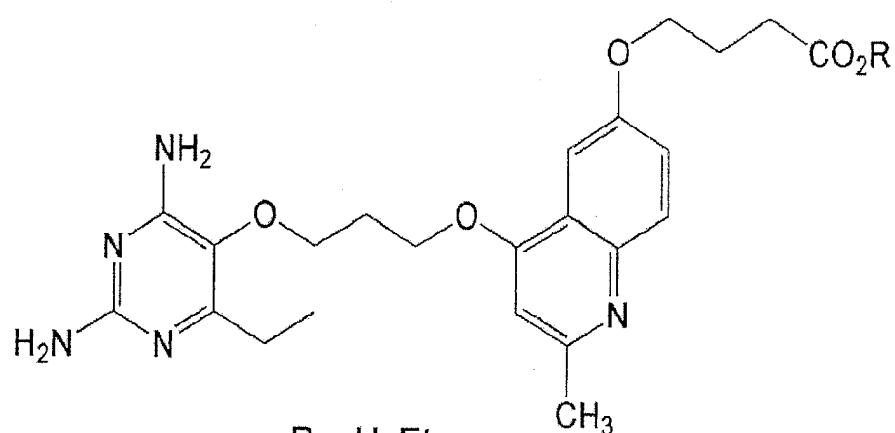
ФИГ. 5

 $R = H, Et$ 

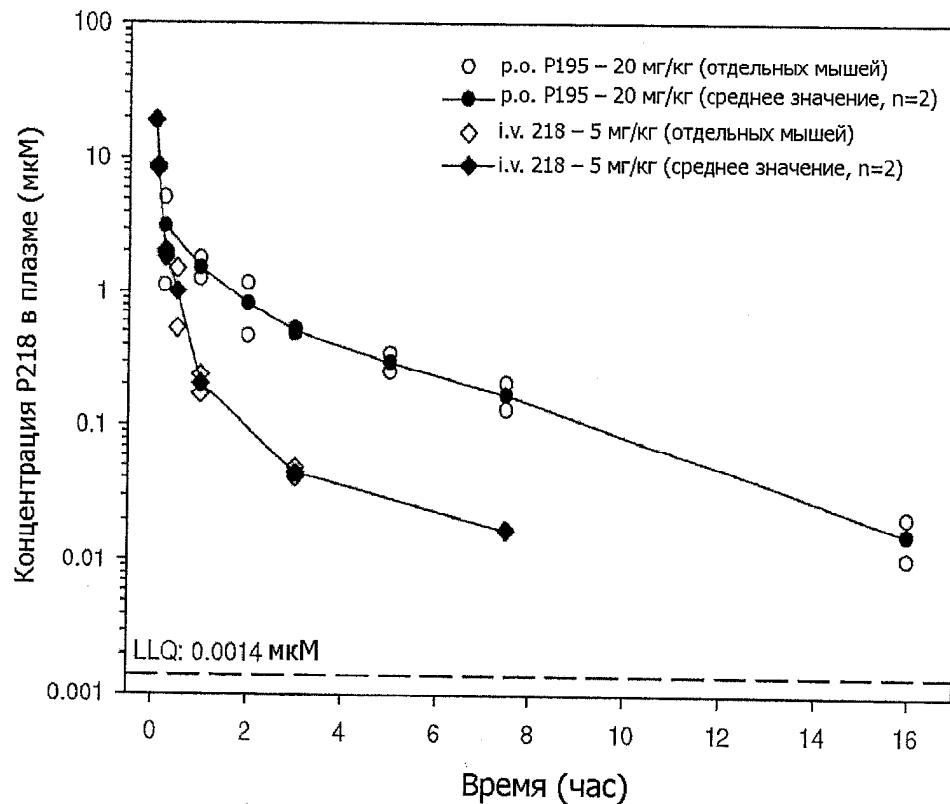
ФИГ. 6

 $R = H, Et$ 

ФИГ. 7

 $R = H, Et$ 

ФИГ. 8



ФИГ. 9