

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 01.11.2000

(32) Datum podání prioritní přihlášky: 04.11.1999 31.10.2000

(31) Číslo prioritní přihlášky: 1999/163377 2000/702191

(33) Země priority: US US

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 12.03.2003

(Věstník č. 3/2003)

(86) PCT číslo: PCT/US00/30226

(87) PCT číslo zveřejnění: WO01/032653

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 1569

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 405/14	C 07 D 513/02
C 07 D 405/04	A 61 K 31/497
C 07 D 413/14	A 61 K 31/53
C 07 D 413/04	A 61 K 31/4152
C 07 D 417/14	A 61 K 31/427
C 07 D 417/04	A 61 K 31/4439
C 07 D 401/14	A 61 P 25/28
C 07 D 401/04	A 61 P 37/06
C 07 D 409/14	A 61 P 31/18
C 07 D 409/04	A 61 P 19/10
C 07 D 487/02	A 61 P 29/00
C 07 D 498/02	

(71) Přihlašovatel:

CEPHALON, INC., West Chester, PA, US;

(72) Původce:

Singh Jasbir, Gilbertsville, PA, US;

Tripathy Rabindranath, Landenberg, PA, US;

(74) Zástupce:

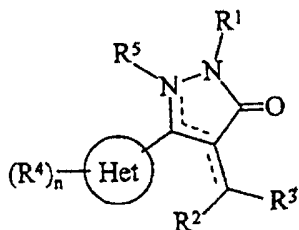
Kalenský Petr JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Derivát heterocyklickou skupinou
substituovaného pyrazolonu a farmaceutický
prostředek, který ho obsahuje**

(57) Anotace:

Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu obecného vzorce I, kde jednotlivé symboly mají specifický význam, je vhodný pro výrobu farmaceutických prostředků k ošetřování nebo předcházení poruch charakterizovaných nenormální aktivitou proteinové kinázy, avšak také jako diagnostických kitů, testovacích standardů nebo reakčních činidel.



1
20.05.02

PV 2002-1569

Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu a farmaceutický prostředek, který ho obsahuje

Oblast techniky

Vynález se týká heterocyklickou skupinou substituovaných pyrazolonů a také farmaceutických prostředků, diagnostických kitů, testovacích standardů nebo reakčních činidel, které tyto heterocyklickou skupinou substituované pyrazolony obsahují a použití heterocyklickou skupinou substituovaných pyrazolonů jako terapeutik. Vynález se také týká meziproductů pro přípravu heterocyklickou skupinou substituovaných pyrazolonů a způsobu přípravy těchto nových sloučenin.

Dosavadní stav techniky

Proteinové kinázy mají rozhodující význam v řízení růstu a diferenciaci buněk. Ukázalo se, že úchylné exprese nebo mutace v proteinových kinázách vedou k neřízené proliferaci buněk, jako je růst maligních nádorů a k různým poruchám ve vývojových procesech, včetně migrace buněk a napadání a angiogeneze. Proteinové kinázy jsou proto rozhodující pro řízení, regulaci a modulaci proliferace buněk u chorob a poruch spojených s mimořádnou proliferací buněk. Proteinových kináz se také použilo jako cílů v poruchách centrální nervové soustavy, jako jsou Alzheimerova nemoc, zánětlivé choroby jako lupénka, choroby kostí, jako je osteoporóza, ateroskleróza, restenóza, trombóza, poruchy metabolismu, jako je diabetes a infekční nemoci, jako jsou virové a houbové infekce.

Jedna z nejvíce studovaných cest zahrnuje regulaci kinázy v buněčném signalizování z receptorů na povrchu buněk do jádra. Obecně je funkce každého receptoru určována modelem exprese, dostupností ligandů a řadou signálních transdukčních dopředných drah, které jsou aktivovány příslušným receptorem.

20.05.02

K příkladům těchto drah patří kaskáda kináz, ve kterých členové růstového faktoru receptoru tyrasinových kináz vysílají signály cestou fosforylace k jiným kinázám, jako je Src tyrosinová kináza a rodiny Raf, Mek a Erk serin/threoninových kináz. Každá z těchto kináz je zastoupena několika členy rodiny, které mají podobné, avšak funkčně odlišné role. Ztráta řízení signální dráhy růstového faktoru se často vyskytuje u rakoviny stejně jako u jiných chorobných stavů (Fearon, Genetic Lesions in Human Cancer, Molecular Oncology str. 143 až 178, 1996).

Raf1 serin/threoninové kinázy může být aktivován známým onkogenním produktem *ras*. Raf kinázový enzym pozitivně reguluje rozdělování buněk prostřednictvím protein kinázové kaskády Raf/MEK/ERK. Tato aktivace je výsledkem fosforylace proteinové kinázy MEK1 katalyzované cRaf1, která fosforyluje a aktivuje proteinovou kinázu ERK. ERK fosforyluje a reguluje transkripční faktory potřebné k dělení buněk. (Avruch a kol. TIBS (19) str. 279 až 283, 1994). cRaf1 negativně reguluje zánik buněk modulováním aktivity Bcl-2, což je rozhodující regulátor apoptosy. Tato regulace ovlivňuje přímo fosforylaci členů rodiny Bcl-2 (Gajewski a Thompson, Cell (87), str. 619 až 628, 1996).

Tento význak regulace proliferace buněk zprostředkovaný cRaf1 vyžaduje kinázovou aktivitu cRaf1. Existují zprávy, že redukce úrovně proteinu Raf je v korelaci se snižováním růstu nádoru u modelů *in vivo* na myších (Monia, Johnston, Geiger, Muller a Fubro, Nature Medicine sv. 2, č. 6, str. 668 až 674, červen 1996). Inhibitory kinázové aktivity cRaf1 by proto měly poskytovat účinné léčení pro širokou rozmanitost lidských rakovin.

Aktivace kinázy MAP signalizující dráhy představuje atraktivní cíl pro nádorovou terapii inhibicí jedné nebo několika příslušných kináz. Dodatečným členem MAP kinázové rodiny proteinů je kináza p38, jinak známá jako cytokin

20.05.02

potlačující droga vázající protein nebo reaktivaci kinázy, RK. Aktivace této kinázy bylo použito k produkci prozánětlivých cytokinů jako je IL-1 a TNF. Inhibice této kinázy by proto mohla poskytovat léčení chorobných stavů, na kterých se podílí neřízená produkce cytokinu.

Ukázalo se také, že signály zprostředkované kinázami řídí růst buněk, zánik buněk a diferenciaci v buňkách řízením procesu buněčného cyklu. Progrese prostřednictvím eukariotického buněčného cyklu je řízena rodinou kináz nazývaných cyklické kinázy závislé na cyklinu (cyclic dependent kinases, CDK). Ztráta ovládnutí regulace CDK je častou okolností u hyperproliferativních chorob a rakoviny.

Inhibitory kináz podílejících se na zprostředkování nebo uchovávání zvláštních chorobných stavů představují novou terapii pro tyto choroby. Příklady takových kináz zahrnují inhibici Src, raf a na cyklinu závislé kinázy (CDK) 1, 2 a 4 u rakoviny, CDK2 nebo PDGFR kinázu u restenózy, kinázy CDK5 a GSK3 u Alzheimerovy nemoci, kinázu c-Src u osteoporózy, kinázu GSK-3 u diabetes 2. typu, kinázy p38 u zánětů, kinázy VEGF-R 1-3 a TIE-1 a -2 u angiogeneze, kinázu UL97 u virových infekcí, kinázu CSF-1R u kostních a hematopoetických nemocí a kinázu Lck u autoimunních nemocí a odhojování transplantátů.

Existuje tedy potřeba nových tříd sloučenin, které vykazují aktivitu vůči receptorovým a nereceptorovým typům proteinových kináz. Zjistilo se, že třída sloučenin, zde označovaných jako heterocyklické substituované pyrazolony, je užitečná jako činidla pro regulaci proteinové kinázy. Vynález je proto zaměřen, kromě jiného, na jejich použití jako léčiv k léčení shora uvedených chorob.

Úkolem vynálezu je poskytnout nové sloučeniny, které jsou inhibitory kináz. V některých případech jsou sloučeniny podle

20.05.02

vynálezu inhibitory kinázy jednoho nebo několika receptorů cévního endoteliálního růstového faktoru (VEGFR) trkA tyrosinové kinázy (trkA), smíšené liniové kinázy (MLK) nebo kinázy receptoru fibroblastového růstového faktoru (FGFR).

Vynález se týká dále farmaceutických prostředků obsahujících farmaceuticky přijatelný nosič a terapeuticky účinné množství alespoň jedné sloučeniny podle vynálezu nebo její farmaceuticky přijatelné soli.

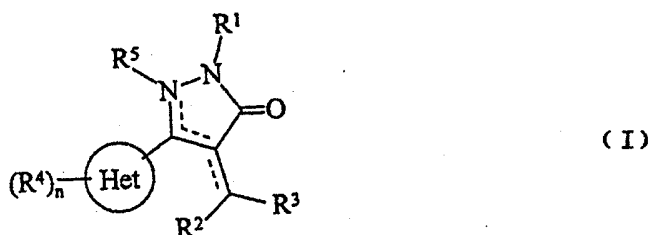
Vynález poskytuje nový způsob léčby nebo prevence chorob spojených s úchylným působením proteinových kináz. V některých případech se nemoci vyznačují úchylným působením jednoho nebo několika receptorů cévního endoteliálního růstového faktoru (VEGFR) trkA tyrosinové kinázy (trkA), smíšené kinázy (MLK) nebo kinázy receptoru fibroblastového růstového faktoru (FGFR) a způsob se týká podávání jedincům potřebujícím léčbu nebo prevenci terapeuticky účinného množství alespoň jedné sloučeniny podle vynálezu.

Vynález se týká způsobu inhibice proteinových kináz ve vzorku tělní tekutiny. V některých případech znamená způsob zpracování vzorku tělní tekutiny účinným množstvím alespoň jedné sloučeniny podle vynálezu k inhibici jedné nebo několika proteinových kináz.

Vynález poskytuje také soupravu (kit) nebo kontejner obsahující alespoň jednu sloučeninu podle vynálezu v množství účinném k použití jako diagnostika, standardu nebo reakčního činidla.

Tyto a jiné význaky vynálezu, které vyplynou z podrobného popisu jsou dosaženy podle vynálezu zjištěním, že sloučeniny obecného vzorce I

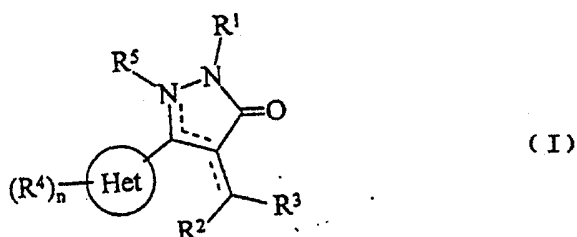
- 5 -
20.05.02



jejich stereoisomerní formy, směsi stereoisomerních forem nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli, kde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 a Het mají níže uvedený význam, jsou účinnými inhibitory kináz.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu jsou nové deriváty heterocyklicky ... substituovaného pyrazolonu obecného vzorce I



kde znamená

Het heterocyklickou skupinu,

R^1 atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 10 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 , skupinu alkenylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 , skupinu alkinylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 , skupinu NR^aR^a , $C(=O)R^b$, $C(=O)NHR^a$, CO_2R^c a heterocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 ,
za podmínky, že R^1 a Het neznamenaají současně 2-pyridinylovou skupinu, R^2 a R^3 znamenaají jinou skupinu než diethylamino-2-fenylovou skupinu a jestliže R^1 znamená 4-karboxyfenethylovou skupinu, Het a buď R^2 nebo R^3 znamenaají oba jinou než dimethylaminothiofenovou skupi-

20.05.00

nu,

R^2 a R^3 na sobě nezávisle atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 2 atomy uhlíku substituovanou 1 až 5 skupinami R^6 , skupinu alkylovou se 3 až 10 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 , skupinu alkenylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^1 , skupinu alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, atom chloru, bromu, jodu, kyanoskupinu, skupinu $(CH_2)_rNR^aR^a$, $(CH_2)_rOR^c$, $(CH_2)_rSR^c$, $(CH_2)_rC(=O)R^b$, $(CH_2)_rCO_2R^c$, $(CH_2)_rOC(=O)R^b$, $(CH_2)_rC(=O)NR^aR^a$, $(CH_2)_rNR^aC(=O)R^b$, $(CH_2)_rOC(=O)NHR^a$, $(CH_2)_rNR^aS(=O)_2R^b$, $(CH_2)_rS(=O)_2NR^aR^a$, $(CH_2)_rS(O)_pR^b$, $(CH_2)_r$ karbocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^4 , $(CH_2)_r$ heterocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^4 , za podmínky, že R^2 a R^3 znamenají jinou skupinu než atom vodíku nebo oba skupinu SMe a jestliže R^2 znamená atom vodíku a R^3 fenylovou skupinu, neznámá Het 2-furylovou skupinu, nebo R^2 a R^3 vytvářejí heterocyklickou skupinu substituovanou 0 až 4 skupinami R^4 za podmínky, že heterocyklickou skupinou je jiná skupina než skupina 2-thiazolidinylová nebo 5-methyl-2-oxazolidinylová skupina,

R^4 na sobě nezávisle atom vodíku, fluoru, chloru, bromu, jodu, kyanoskupinu, skupinu CF_2CF_3 , CF_3 , NO_2 , CN , OH , NR^aR^a , OR^c , $C(=O)R^b$, CO_2R^c , $OC(=O)R^b$, $NR^aC(=O)R^b$, $C(=O)NR^aR^a$, $OC(=O)NR^aR^a$, $NR^aC(=O)OR^b$, $NR^aS(=O)_2R^b$, $S(=O)_2NR^aR^a$, $NR^aC(=S)R^b$, $C(=S)NR^aR^a$, $NR^aC(=O)NR^aR^a$, $NR^aC(=S)NR^aR^a$, $CH=NOR^c$, $CH=NR^a$, $CH=NNR^aR^a$, $(CH_2)_rS(O)_pR^b$, $O(CH_2)_qNR^aR^a$, $O(CH_2)_qOR^c$, $(CH_2)_rOR^d$, $(CH_2)_rC(=O)R^{d'}$, $(CH_2)_rNHR^d$, $(CH_2)_rS(O)_pR^{d'}$, skupinu alkylovou s 1 až 10 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 , skupinu alkenylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 , skupinu alkiny-

20.05.00

lovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 a skupinu karbocyklickou substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 nebo heterocyklickou substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 ,

R^5 chybí nebo znamená atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 8 atomy uhlíku, alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, skupinu $(CH_2)_x$ cykloalkylovou se 3 až 6 atomy uhlíku v cykloalkylovém podílu nebo $(CH_2)_x$ fenylovou,

R^6 skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^h , skupinu alkenylovou se 2 až 8 atomy uhlíku, skupinu alkinylovou se 2 až 8 atomy uhlíku, atom fluoru, chloru, bromu, jodu, kyanoskupinu, skupinu CF_2CF_3 , CF_3 , NO_2 , CN , NR^fR^f , OR^f , $C(=O)R^f$, CO_2R^f , $OC(=O)R^g$, $NR^fC(=O)R^f$, $C(=O)NR^fR^f$, $OC(=O)NR^fR^f$, $NR^eC(=O)OR^g$, $NR^eS(=O)_2R^g$, $S(=O)_2NR^fR^f$, $NR^aC(=S)R^g$, $C(=S)NR^fR^f$, $NR^fC(=O)NR^fR^f$, $NR^fC(=S)NR^fR^f$, $CH=NOR^e$, $CH=NR^e$, $CH=NNR^eR^e$, $S(O)_pR^f$, $O(CH_2)_pNR^fR^f$, $O(CH_2)_pOR^f$, OR^d , NHR^d , $C(=O)R^{d'}$, $S(O)_pR^{d'}$, karbocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^h , heterocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^h , $P(=O)(OR^c)_2$ skupinu a monosacharidovou skupinu s 5 až 7 atomy uhlíku, přičemž je každá hydroxylová skupina monosacharidové skupiny nesubstituovaná nebo nahrazena atomem vodíku, skupinou alkylovou s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxy skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, a $OC(=O)$ alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém podílu,

R^a vždy na sobě nezávisle atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, $(CH_2)_x$ -cykloalkylovou se 3 až 6 atomy uhlíku a $(CH_2)_x$ -fenylovou skupinu, přičemž v případě, kdy R^a neznámá atom

20.05.00

vodíku, je skupina substituována 0 až 5 skupinami R^h , nebo dvě skupiny R^a mohou vytvářet spojovník ze souboru zahrnujícího skupinu $(CH_2)_qO(CH_2)_q$, $(CH_2)_qS(CH_2)_q$ a $(CH_2)_m$, přičemž je spojovník substituován 0 až 5 skupinami R^h ,

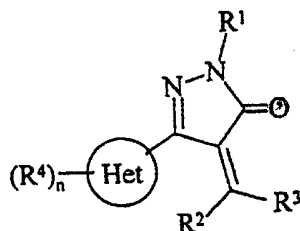
- R^b vždy na sobě nezávisle skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, $(CH_2)_r$ -fenylovou a $(CH_2)_r$ -heterocyklickou, přičemž je skupina R^b substituována 0 až 5 skupinami R^h ,
- R^c vždy na sobě nezávisle atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, cykloalkylovou se 3 až 6 atomy uhlíku a $(CH_2)_r$ -fenylovou skupinu, přičemž v případě, kdy R^c neznamená atom vodíku, je skupina substituována 0 až 5 skupinami R^h ,
- R^d vždy zbytek aminokyseliny, když je hydroxylová skupina z karboxylové skupiny odstraněna,
- $R^{d'}$ vždy zbytek aminokyseliny, když je hydroxylová skupina z karboxylové skupiny odstraněna,
- R^e vždy atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku,
- R^f vždy atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^h nebo $(CH_2)_r$ -fenylovou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^h
- R^g vždy alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^h nebo $(CH_2)_r$ -fenylovou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^h

20.05.02

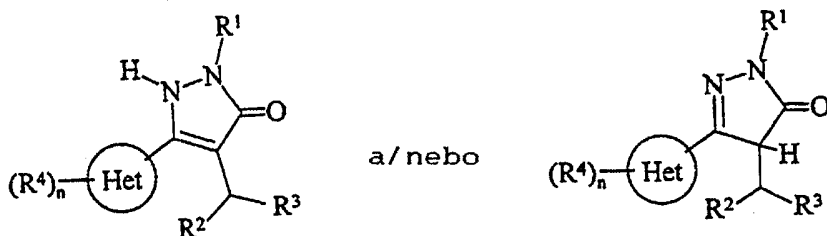
- R^h vždy atom fluoru, chloru, bromu, jodu, hydroxylovou skupinu, kyanoskupinu, skupinu CF_3 , CF_2CF_3 , alkylovou s 1 až 4 atomy uhlíku, skupinu alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, skupinu alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkoxykupinu, skupinu cykloalkylovou se 3 až 7 atomy uhlíku, karboxylovou, formylovou, acetylovou, propanoylovou, butyrylovou, valerylovou, pivaloylovou, hexanoylovou, acetamidoskupinu, skupinu acetátovou, karbamylovou, karboxyskupinu, skupinu NH_2 , monoalkylaminoskupinu, dialkylaminoskupinu, skupinu fenylovou, benzylovou, fenethylovou, naftylovou, heterocyklickou a ketoskupinu,
- R^i vždy atom fluoru, chloru, bromu, jodu, hydroxylovou skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, skupinu CF_3 , CF_2CF_3 , alkylovou s 1 až 4 atomy uhlíku, skupinu alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, skupinu alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkoxykupinu, skupinu cykloalkylovou se 3 až 7 atomy uhlíku, karboxylovou, formylovou, acetylovou, propanoylovou, butyrylovou, valerylovou, pivaloylovou, hexanoylovou, acetamidoskupinu, skupinu acetátovou, karbamylovou, karboxyskupinu, skupinu NH_2 , monoalkylaminoskupinu, dialkylaminoskupinu, skupinu fenylovou, benzylovou, fenethylovou,
- m 2, 3, 4 a 5,
- n 0, 1, 2, 3, 4 a 5,
- p 0, 1 a 2,
- q 1, 2, 3 a 4,
- r 0, 1, 2, 3 a 4.

20.05.02

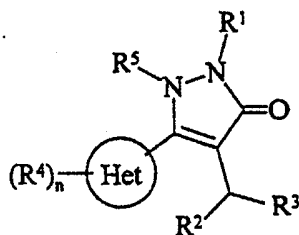
Jak je pro pracovníky v oboru zřejmé, poloha dvojné vazby ve sloučenině obecného vzorce I závisí na povaze skupiny R^5 . Například v případě určitého provedení, kdy R^5 chybí má sloučenina obecného vzorce I strukturu



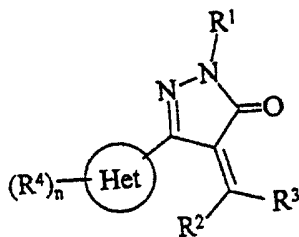
V jiném případě, kdy znamená R^5 atom vodíku má sloučenina obecného vzorce I tautomerní strukturu



V jiném případě, kdy znamená R^5 substituent má sloučenina obecného vzorce I strukturu

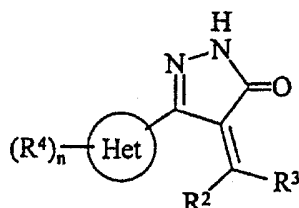


Podle určitého výhodného provedení je obecný vzorec I



přičemž znamená R^1 atom vodíku nebo alkylovou skupinu. Podle jiného provedení znamená R^2 nebo R^3 atom vodíku nebo alkylovou skupinu.

Podle výhodného provedení mají deriváty heterocyklicky substituovaného pyrazolonu vzorec

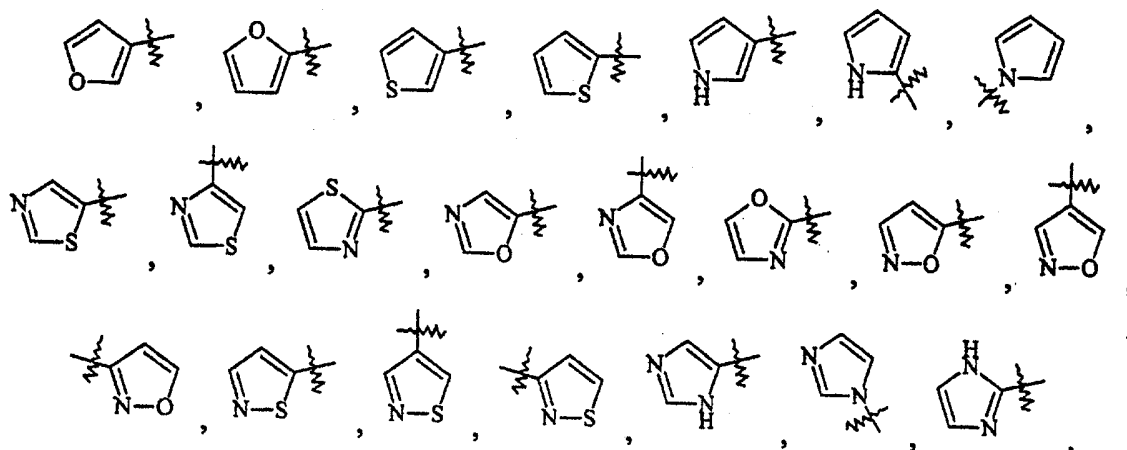


kde znamená R^2 nebo R^3 atom vodíku.

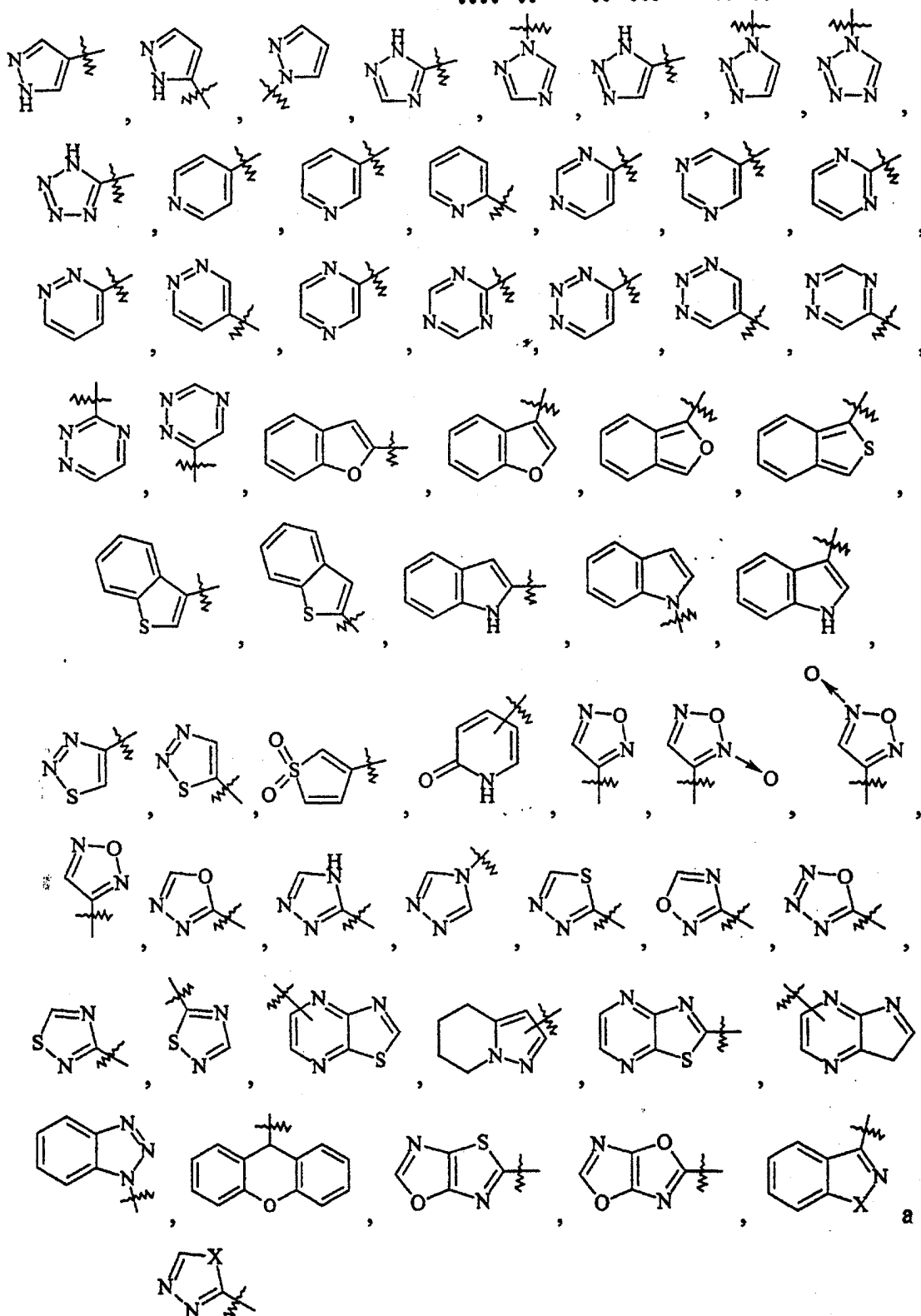
Podle jiných výhodných provedení je Het volena ze souboru zahrnujícího

- a) šestičlenný heterocyklický kruh obsahující 1 až 3 heteroatomy ze souboru zahrnujícího atom kyslíku, dusíku a síry,
- b) pětičlenný heterocyklický kruh obsahující buď
 - 1) jeden atom kyslíku, jeden atom dusíku nebo jeden atom síry,
 - 2) atom síry a atom dusíku, atom kyslíku a atom dusíku nebo dva atomy dusíku a
 - 3) tři atomy dusíku, jeden atom kyslíku a dva atomy dusíku nebo jeden atom síry a dva atomy dusíku.

Podle jiného výhodného provedení je Het heteroaromatická skupina. Podle jiného výhodného provedení je Het volen ze souboru zahrnujícího



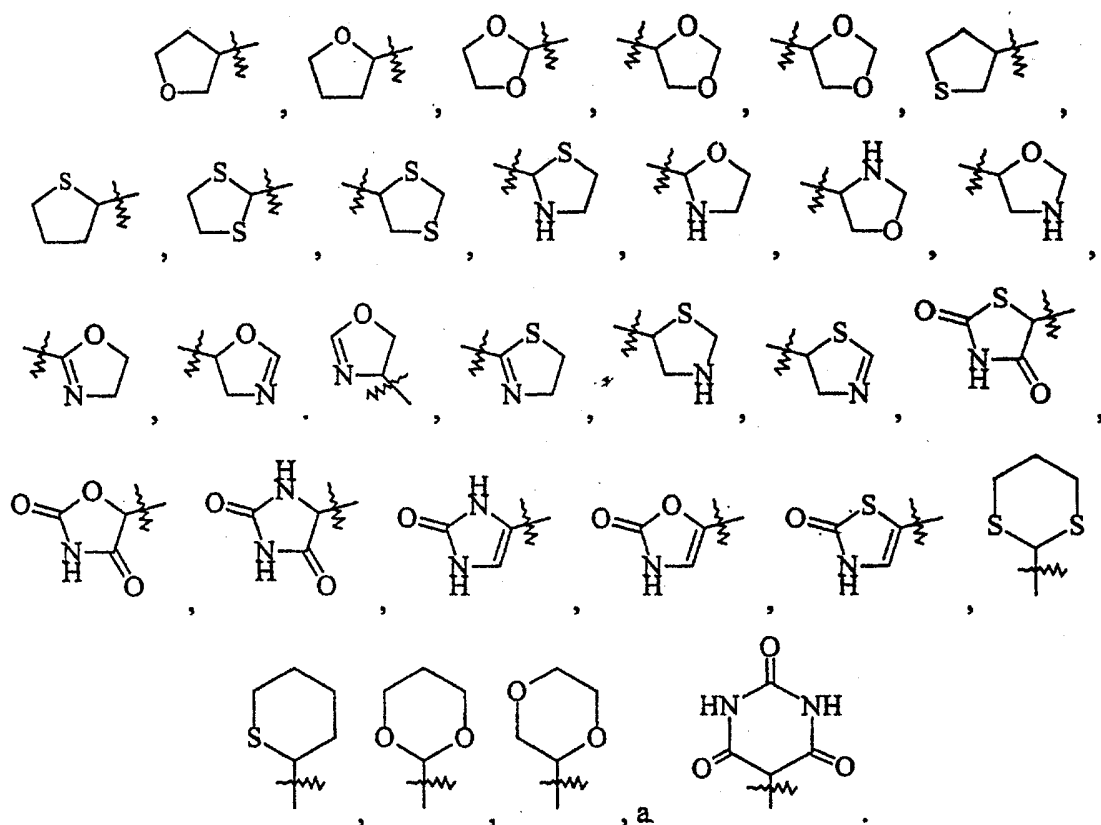
20.05.02



kde X znamená atom kyslíku, síry, skupinu NH a N-alkylovou.

Podle jiného provedení je Het nearomatická skupina.
Podle určitých výhodných provedení je Het volen ze souboru zahrnujícího

20.05.02



V určitých případech znamená R^4 atom fluoru, chloru, bromu, jodu, hydroxylovou skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, skupinu trifluormethylovou, methylovou, ethylovou, propylovou, iso-propylovou, butylovou, sek-butylovou, terc-butylovou, pentylovou, ethenylovou, propenylovou, butenylovou, ethinylovou, propinylovou, butinylovou, methoxyskupinu, ethoxyskupinu, n-propoxyskupinu, i-propoxyskupinu, n-butoxyskupinu, s-butoxyskupinu, terc-butoxyskupinu, skupinu fenylovou, cyklopropylovou, cyklobutylovou, cyklopentylovou, cyklohexylovou, skupinu CO_2H , formylovou, acetylovou, propanoylovou, butyrylovou, NH_2 , monoalkylaminoskupinu, dialkylaminoskupinu, skupinu fenylovou, heteroarylovou a keto($C=O$) skupinu. Podle jiných výhodných provedení znamená n 0, 1 nebo 2.

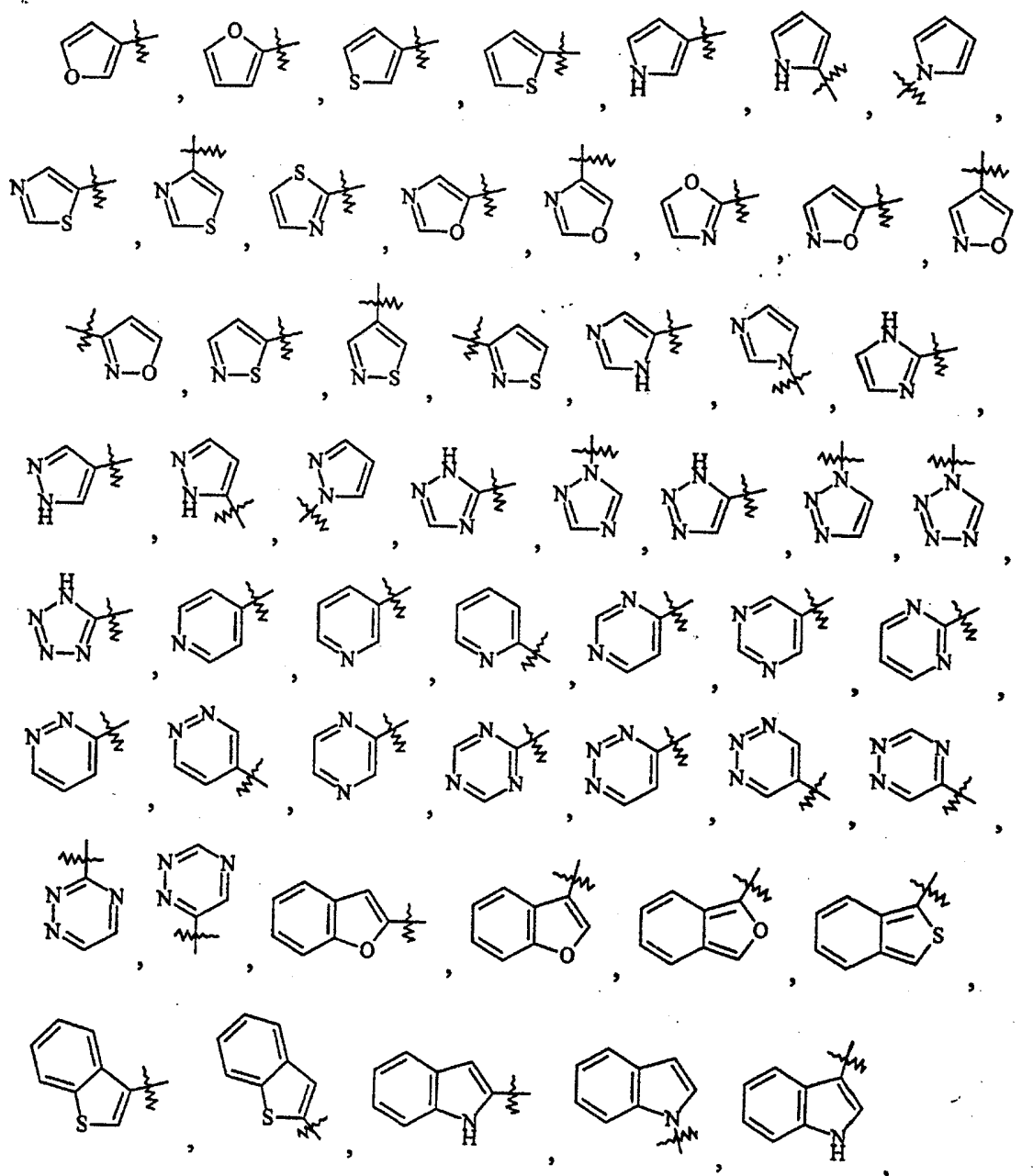
Podle určitých provedení znamená R^3 heterocyklickou skupinu ze souboru zahrnujícího

- šestičlenný heterocyklický kruh obsahující 1 až 3 heteroatomy ze souboru zahrnujícího atom kyslíku, dusíku a síry,
- pětičlenný heterocyklický kruh obsahující buď

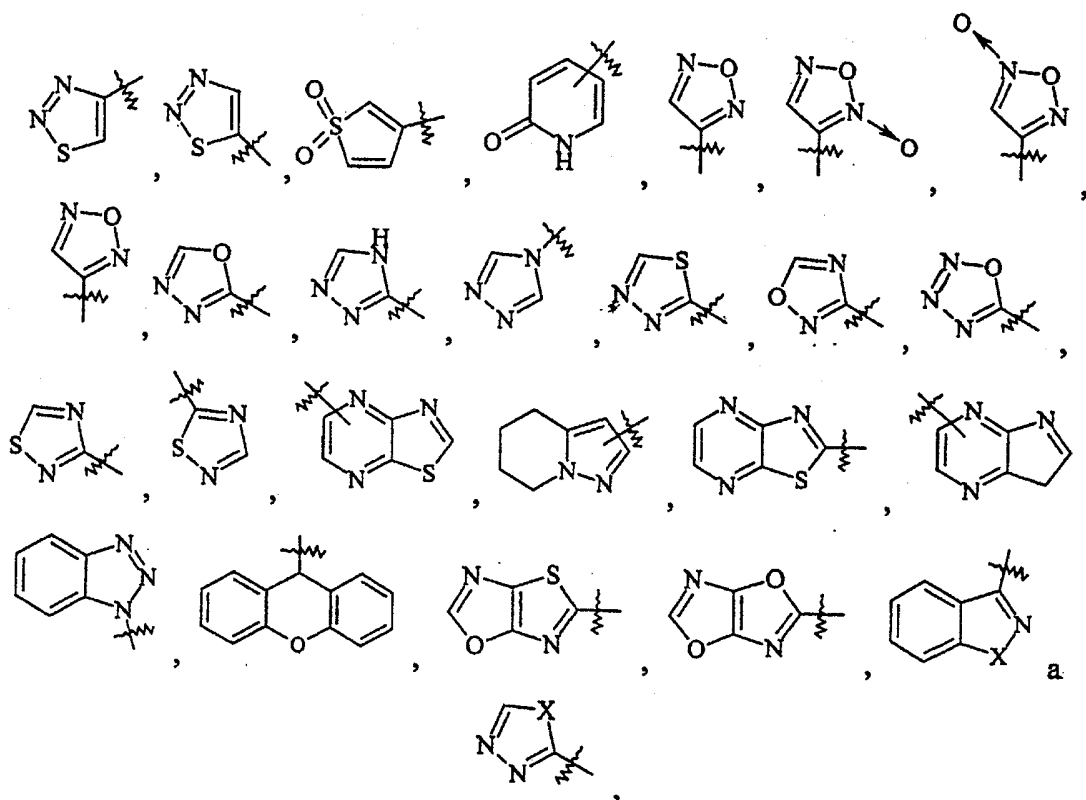
20.05.02

- 1) jeden atom kyslíku, jeden atom dusíku nebo jeden atom síry,
- 2) atom síry a atom dusíku, atom kyslíku a atom dusíku nebo dva atomy dusíku a
- 3) tři atomy dusíku, jeden atom kyslíku a dva atomy dusíku nebo jeden atom síry a dva atomy dusíku.

Podle jiného výhodného provedení znamená jeden ze symbolů R^2 nebo R^3 heterocyklickou skupinu, která je aromatická. Podle jiného výhodného provedení znamená R^2 nebo R^3 skupinu ze souboru zahrnujícího

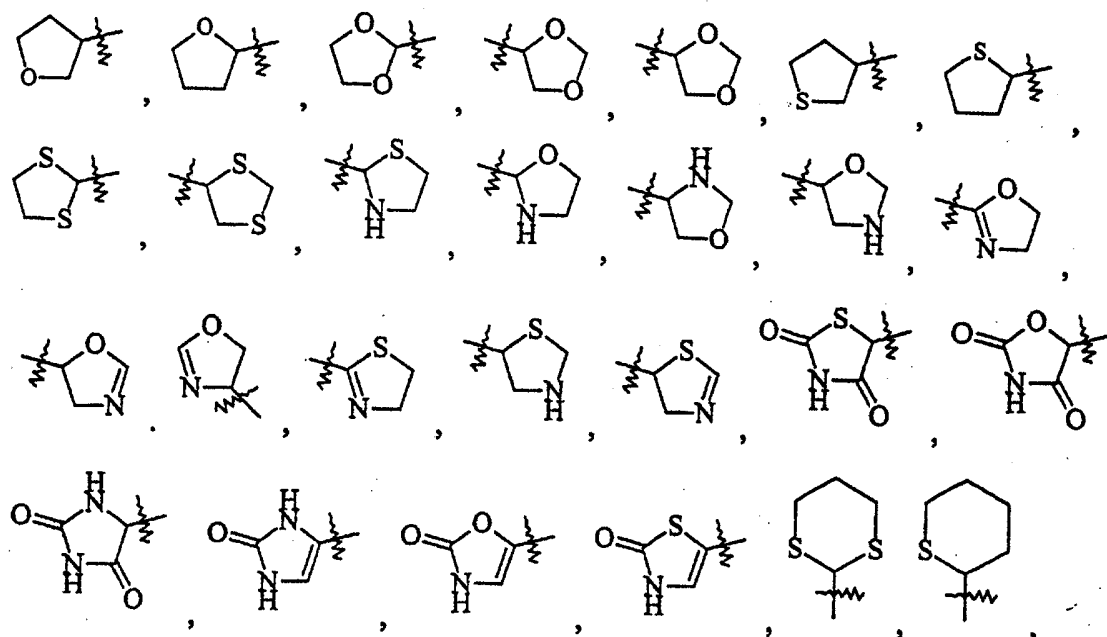


20.05.02

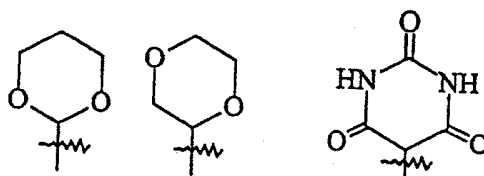


kde X znamená atom kyslíku, síry, skupinu NH a N-alkylovou.

Podle jiného výhodného provedení znamená jeden ze symbolů R^2 nebo R^3 heterocyklickou skupinu, která je nearomatická. Podle určitého výhodného provedení znamená R^2 nebo R^3 skupinu ze souboru zahrnujícího



20.05.02



Podle jiného výhodného provedení jsou sloučeniny obecného vzorce I uvedeny v tabulce I a Ia.

Vynález se také týká farmaceutických prostředků, které obsahují sloučeninu obecného vzorce I, její stereoizomer nebo farmaceuticky přijatelnou sůl a farmaceuticky přijatelný nosič. Výhodné prostředky obsahují sloučeniny obecného vzorce I uvedené v tabulce I a Ia.

Vynález se také týká způsobu inhibice aktivity proteinové kinázy, přičemž se podává sloučenina obecného vzorce I v množství dostatečném pro inhibici. Podle výhodného provedení je kinázovým receptorem vaskulární endoteliální růstová faktorová receptorová (VEGFR) kináza, trkA tyrosinová kináza, směsná kináza (MLK) nebo fibroblastová růstová faktorová receptorová kináza (FGFR).

Vynález se také týká způsobu ošetřování nebo předcházení poruch charakterizovaných nenormální aktivitou proteinové kinázy, při kterém se podává jedinci, který takové ošetření potřebuje nebo z preventivních důvodů terapeuticky účinné množství sloučeniny obecného vzorce I.

Vynález se také týká způsobu ošetřování nebo prevence poruch, kdy buď vaskulární endoteliální růstová faktorová receptorová (VEGFR) kináza, trkA tyrosinkináza (trkA), směsná kináza (MLK) nebo fibroblastová růstová faktorová receptorová kináza (FGFR) přispívá k patologickým podmínkám, při kterém se podává dostatečné množství sloučeniny obecného vzorce I, aby se receptor dostal do styku s inhibičně účinným množstvím sloučeniny.

Vynález se také týká způsobu ošetřování nebo prevence angiogenních poruch, při kterém se podává jedinci, který takové ošetření potřebuje nebo z preventivních důvodů terapeuticky ú-

20.05.02

činné množství sloučeniny obecného vzorce I. Zvláště se angiogenní poruchou miní rakovinový nádor, nemoci očí, rohovková degenerace, endometrioza, diabetická retinopatie, lupénka nebo hemangioblastom.

Vynález se také týká způsobu ošetřování nebo prevence nemocí zprostředkovaných kinázou ze souboru zahrnujícího abl, AKT, bcr-abl, Blk, Brk, BTK, c-kit, c-met, c-src, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, chk1, chk2, cRaf1, CSF1R, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, ERK (Eph), Fak, fes, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFR5, Fgr, FLK-4, flt-1, Fps, Frk, Fyn, GSK, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak, JNK, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, Lck, Lyn, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PYK2, ros, tie1, tie2, TRK, UL97, Yes a Zap70, při kterém se podává jedinci, který takové šetření potřebuje nebo z preventivních důvodů terapeuticky účinné množství sloučeniny obecného vzorce I.

Vynález se také týká způsobu ošetřování nebo prevence poruch, při kterých se podílí kináza ze souboru zahrnujícího abl, AKT, bcr-abl, Blk, Brk, BTK, c-kit, c-met, c-src, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, chk1, chk2, cRaf1, CSF1R, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, ERK (Eph), Fak, fes, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFR5, Fgr, FLK-4, flt-1, Fps, Frk, Fyn, GSK, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak, JNK, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, Lck, Lyn, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PYK2, ros, tie1, tie2, TRK, UL97, Yes a Zap70, na patologických stavech, přičemž se podává jedinci, který takové ošetření potřebuje nebo z preventivních důvodů terapeuticky účinné množství sloučeniny obecného vzorce I.

Vynález se také týká způsobu ošetřování nebo prevence Alzheimerovy nemoci, amyotropní laterální sklerózy, Parkinsonovy nemoci, mrtvice, ischemie, Huntingtonovy nemoci, AIDS demence, epilepsie, rozptýlené sklerózy, periferní neuropathie, poškození mozku a míchy, rakoviny, restenózy, osteoporózy, zánětu, angiogeneze, virových infekcí, onemocnění kostí nebo

20.05.02

hematopoetických onemocnění, autoimunních nemocí nebo odmítání transplantátů, při kterém se podává jedinci, který takové ošetření potřebuje nebo z preventivních důvodů terapeuticky účinné množství sloučeniny obecného vzorce I.

Vynález se také týká inhibice jednoho nebo několika Src, raf a kináz závislých na cyklinu (CDK) 1, 2 a 4 pro ošetřování rakoviny.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika CDK2 nebo PDGF-R kináz pro ošetřování restenózy.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika CDK5 nebo GSK3 kináz pro ošetřování Alzheimerovy nemoci.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika c-Src kináz pro ošetřování osteoporózy.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika GSK-3 kináz pro ošetřování typu 2 diabetu.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika p38 kináz pro ošetřování zánětu.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika VEGF-R 1-3, TIE-1 nebo TIE-2 kináz pro ošetřování angiogeneza.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika UL97 kináz pro ošetřování virových infekcí.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika CSF-1R kináz pro ošetřování kostí a hematopoetických nemocí.

Vynález se také týká inhibice jedné nebo několika Lck kináz pro ošetřování autoimunních nemocí a odmítání

20.05.02

transplantátů.

Vynález se také týká způsobu ošetřování nebo prevence poruch zprostředkovaných topoisomerázami Topo-I nebo Topo II pro ošetřování rakoviny.

Jednotlivé výrazy a označení mají následující význam. "Stabilní sloučeninou" nebo "stabilní strukturou" se míní sloučenina, která je dostatečně robustní, aby přežila izolaci do užitečného stupně čistoty z reakční směsi a s výhodou schopná zracování na užitečné terapeutické činidlo. Vynález je zaměřen pouze na stabilní sloučeniny. Výrazem "substituovaný" se míní, že je jeden nebo několik atomů vodíku indikované skupiny nahrazen vybranou skupinou, označovanou zde jako "substituent" za podmínky, že není překročena valence substituovaných atomů a že substituce vede ke stabilní sloučenině. Jestliže výraz "substituovaný" je před skupinou obsahující $(CH_2)_r$ nebo $(CH_2)_q$, například $(CH_2)_r$ fenyl, znamená to, že je substituována skupina, to je fenylová skupina nebo skupina CH_2 . Jakožto skupiny, které mohou být dále substituovány se příkladně, nikoliv jako jakékoliv omezení, uvádějí skupina alkylová, alkenylová, alkinylová, alkokyskupina, skupina acylová, karbocyklická a heterocyklická spolu s dalšími skupinami, které obsahují tyto podíly. Substituovaná skupina má s výhodou 1 až 5 na sobě nezávislých substituentů. Jakožto výhodné substituenty se příkladně, nikoliv jako jakékoliv omezení, uvádějí atom fluoru, chloru, bromu, jodu, skupina hydroxylová, nitroskupina, kyano-skupina, skupina trifluormethylová, skupina CF_2CF_3 , alkylová skupina, příkladně, nikoliv jako jakékoliv omezení, skupina methylová, ethylová, propylová, isopropylová, butylová, sek-butylová, terc-butylová a pentylová; alkenylová skupina, příkladně, nikoliv jako jakékoliv omezení, skupina ethenylová, propenylová a butenylová; alkinylová skupina, příkladně, nikoliv jako jakékoliv omezení, skupina ethinylová, propinylová a butinylová; alkokyskupina, příkladně, nikoliv jako jakékoliv

20.05.00

omezení, methoxyskupina, ethoxyskupina, n-propoxyskupina, i-propoxyskupina, n-butoxyskupina, sek-butoxyskupina a terc-butoxyskupina; cykloalkylová skupina, příkladně, nikoliv jako jakékoliv omezení, skupina cyklopropylová, cyklobutylová, cyklopentylová a cyklohexylová skupina; karboxylová, acylová skupina, příkladně, nikoliv jako jakékoliv omezení, skupina formylová, acetylová, propanoylová, butyrylová, valerylová, pivaloylová a hexanoylová skupina; acetamid skupina, karbamyl skupina, karboxyskupina, hydroxaminoskupina, skupina NH_2 , monoalkylaminoskupina, dialkylaminoskupina, $(\text{CH}_2)_r$ karbocyklická skupina včetně, nikoliv však jako jakékoliv omezení skupina fenylová, benzylová, fenethylová a naftylová; heterocyklická skupina a keto ($=\text{O}$) skupina.

Výrazem "alkyl" se vždy míní alkylová skupina s přímým nebo s rozvětveným řetězcem s až 8 atomy uhlíku, jako jsou například skupina methylová, ethylová, propylová, isopropylová, butylová, isobutylová, sek-butylová, terc-butylová, pentylová, isoamylová, neopentylová, 1-ethylpropylová, hexylová a oktylová skupina. Výrazem "cykloalkyl" se vždy míní monocyklická, bicyklická nebo tricyklická alkylová skupina jako například, avšak bez záměru na jakémkoliv omezení, skupina cyklopropylová, cyklobutylová, cyklopentylová a cyklohexylová skupina.

Výrazem "alkenyl" se vždy míní uhlovodíkový řetězec přímý nebo rozvětvený, obsahující alespo jednu nenasycenou vazbu uhlík-uhlík, která může být v jakémkoliv stabilním místě v řetězci, jako jsou například skupina ethenylová a propenylová.

Výrazem "alkinyl" se vždy míní uhlovodíkový řetězec přímý nebo rozvětvený, obsahující alespo jednu trojnou vazbu uhlík-uhlík, která může být v jakémkoliv stabilním místě v řetězci, jako jsou například skupina ethinylová a pripenylová.

Výrazem "alkoxy" se vždy míní uhlovodíkový řetězec přímý

20.05.02

nebo rozvětvený vázaný prostřednictvím atomu kyslíku. Alkoxy- skupinou se míní například, avšak bez záměru na jakémkoliv o- mezení, methoxyskupina, ethoxyskupina, n-propoxyskupina, i- -propoxyskupina, n-butoxyskupina, sek-butoxyskupina a terc-bu- tyloxyskupina,

Výrazem "karbocyklus" se vždy míní monocyklická, bicyk- lická nebo tricyklická skupina tvořená atomy uhlíku, která je nasycená, částečně nenasycená nebo nenasycená. Karbocyklem se míní, avšak bez záměru na jakémkoliv omezení, příkladně slou- čeniny označované zde jako cykloalkylové. Karbocykly však za- hrnují také "arylové" nebo "aromatické" sloučeniny. Jakožto příklady arylových sloučenin se uvádějí, avšak bez záměru na jakémkoliv omezení, skupina fenylová, bifenylová, naftylová, indanylová, adamantylová nebo tetrahydronaftylová (tetralino- vá).

Výrazem "heterocyklus" nebo "heterocyklický kruh" se vždy míní stabilní monocyklická, bicyklická nebo tricyklická hete- rocyklická skupina, která je nasycená, částečně nenasycená ne- bo nenasycená. Heterocykly mohou být tedy aromatické nebo nea- romatické. Heterocykly s výhodou sestávají z atomů uhlíku a z heteroatomů, které jsou s výhodou voleny na sobě nezávisle ze souboru zahrnujícího atom kyslíku, dusíku a síry. Heteroa- tomy dusíku a síry mohou být popřípadě oxidovány. Heterocyklus může být vázán na svoji zavěšenou skupinu kterýmkoliv heteroa- tomem nebo atomem uhlíku za vzniku stabilní struktury. Hetero- cykly mohou být substituovány například na atomu uhlíku nebo na atomu dusíku, pokud je vzniklá sloučenina stabilní. Pokud je zvlášť uvedeno, může být atom dusíku v heterocyklu popřípadě kvarternizován. Je výhodné, pokud celkový počet atomů síry a kyslíku v heterocyklu je větší než 1, aby tyto heteroatomy k sobě nepřiléhaly. Je výhodné, aby celkový počet atomů síry a kyslíku v heterocyklu nebyl větší než 1.

20.05.02

Výrazem "Heteroaromatický" nebo "heteroaryl" se vždy míní stabilní heterocyklus, který je aromatický a sestává z atomů uhlíku a z heteroatomů, přičemž jsou heteroatomy s výhodou na sobě nezávisle voleny ze souboru zahrnujícího atom dusíku, kyslíku a síry.

Jakožto příklady heterocyklických skupin se příkladně, avšak bez záměru na jakémkoliv omezení, uvádějí skupina 2-pyrrolidonylová, 2H-pyrrolylová, 4-piperidonylová, 6H-1,2,5-thiadiazinylová, 2H,6H-1,5,2-dithiazinylová, furanylová, furazanylová, imidazolidinylová, imidazolinyllová, imidazolylová, isoxazolylová, morfolinylová, oxadiazolylová, 1,2,3-oxadiazolylová, 1,2,4-oxadiazolylová, 1,2,5-oxadiazolylová, 1,3,4-oxadiazolylová, oxazolidinylová, oxazolylová, piperazinylová, piperidinylová, pteridinylová, piperidonylová, 4-piperidonylová, purinylová, pyranylová, pyrazinylová, pyrazolidinylová, pyrazolinyllová, pyrazolylová, pyridazinylová, pyridinylová, pyridylová, pyrimidinylová, pyrrolidinylová, pyrrolinyllová, pyrrolylová, tetrahydrofuranylová, 6H-1,2,5-thiadiazinylová, 1,2,3-thiadiazolylová, 1,2,4-thiadiazolylová, 1,2,5-thiadiazolylová, 1,3,4-thiadiazolylová, thiazolylová, thienylová, thienothiazolylová, thienooxazolylová, thienoimidazolylová, thiofenylová, triazinylová, 1,2,3-triazolylová, 1,2,4-triazolylová, 1,2,5-triazolylová, 1,3,4-triazolylová a tetrazolová skupina. Zahrnuty jsou také konjugovaný kruh a spiorosloučeniny obsahující například shora uvedené heterocykly. Vhodné heterocykly jsou také popsány v literatuře (například The Handbook of Chemistry and Physics, 76. vydání, CRC Press Inc. 1995-1996, str. 2-25 až 2-26).

Jakožto výhodné heterocyklické skupiny, obsahující atom dusíku, se uvádějí příkladně, tedy bez záměru na jakémkoliv omezení, skupina pyrrolidinylová, piperidinylová, piperidinoskupina, skupina morfolinylová, morfolinová, thiomorfolinoskupina, skupina N-methylpiperazinylová, indolylová, isoindolylo-

20.05.02

vá, imidazolová, imidazolinová, oxazolinová, oxazolová, triazolová, thiazolinová, thiazolová, isothiazolová, thiadiazolová, triazinová, isoxazolová, oxindolová, indoxylová, pyrazolová, pyrazolonová, pyrimidinová, pyrazinová, chinolinová, isochinolinová a tetrazolová skupina.

Jakožto výhodné heterocyklické skupiny, obsahující atom kyslíku, se uvádějí příkladně, tedy bez záměru na jakémkoliv omezení, skupina furanová, tetrahydrofuranová, pyranová, benzofuranová, isobenzofuranová a tetrahydropyranová skupina. Jakožto výhodné heterocyklické skupiny, obsahující atom síry, se uvádějí příkladně, tedy bez záměru na jakémkoliv omezení, skupina thiofenová, thianaftenová, tetrahydrothiofenová, tetrahydrothiapyranová a benzothiofenová skupina.

Jakožto výhodné heteroarylové skupiny se uvádějí příkladně, tedy bez záměru na jakémkoliv omezení, skupina pyridylová, pyrimidylová, pyrrolylová, furylová, thienylová, imidazolylová, triazolylová, tetrazolylová, chinolylová, isochinolylová, benzoimidazolylová, thiazolylová, pyrazolylová a benzothiazolylová skupina.

Výrazem "monosacharid se vždy míní skupina jako jednoduchý cukr. Výrazem "aminokyselina" se vždy míní molekula obsahující jak aminoskupinu tak karboxylovou skupinu. Aminokyselinami se míní α -aminokyseliny, β -aminokyseliny a gama-aminokyseliny. α -Aminokyselinami se míní karboxylové kyseliny obecného vzorce $\text{HOOC-CH}(\text{NH}_2)\text{-(postranní řetězec)}$. Postranní řetězec aminokyselin zahrnuje přírodně se vyskytující a nepřírodně se vyskytující podíly. Nepřírodně se vyskytující (to je nepřírodní) aminokyselinové postranní řetězce a podíly, jsou řetězce a podíly, které se používají místo přírodně se vyskytujících postranních řetězců například aminokyselin například analogů aminokyselin (například Lehninger, Biochemistry, 2. vydání, Worth Publishers Inc. 1975, str. 73-75). Podle určitých

20.05.02

provedení substituční skupiny vzorce R^d zahrnují zbytky aminokyselin po odstranění hydroxylového podílu karboxylové skupiny, to je skupiny obecného vzorce $-C(=O)-CH-(\text{postranní řetězec})-NHR'$, kde znamená R' atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo skupiny chránící aminoskupinu. Podle určitých provedení substituční skupiny vzorce R^d zahrnují zbytky aminokyselin po odstranění vodíku aminoskupiny, to je skupiny obecného vzorce $-NH-CH-(\text{postranní řetězec})-C(=O)OR'$, kde znamená R' atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo skupinu chránící karboxylovou skupinu.

Funkční skupiny sloučenin obecného vzorce I nebo meziprodukty pro tyto sloučeniny mohou také obsahovat chránící skupiny. Jakožto chránící skupiny se uvádějí skupina benzyloxykarbonylová (Cbz, Z) a terc-butyloxykarbonylová (Boc). Další chránící skupiny jsou známy z literatury (například Greene T. W. a Wuts P.G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydání, Wiley & Sons, 1991).

Výrazy, běžně používané například pro popis účinku terapeutických činidel v biologických systémech a pro testy mají o sobě známý význam. Používaným výrazem "účinek" se míní, že se modifikuje "funkce" a "přežití" tedy pozitivní nebo negativní změny. Pozitivní účinek se označuje jako "podpora" nebo "podporování" a negativní účinek jako "inhibice" nebo "inhibování".

Výrazem "účinek" se míní, že se modifikuje "funkce", "přežití", tedy skutečnost, že přítomnost heterocyklické substituované pyrazolonové sloučeniny má pozitivní vliv na funkci a/nebo přežití trofického faktoru příslušné buňky ve srovnání s buňkou v nepřítomnosti sloučeniny. Například, avšak bez záměru na jakémkoliv omezení, se zřetelem na přežití například cholinergického neuronu populace s nebezpečím úmrtí (například v důsledku poškození, chorobných podmínek, degenerace nebo

20.05.00

přirozené progrese) ve srovnání s cholinergickou neuronální populací v nepřítomnosti takové sloučeniny, pokud je populace ošetřena, vykazuje srovnatelně větší periodu funkčnosti než neošetřená populace. Výrazem "inhibice" nebo "inhibování" se míní, že specifická odezva určeného materiálu (například enzymatická aktivita) se srovnatelně snižuje v přítomnosti heterocyklické substituované pyrazolonové sloučeniny.

Výrazem "trk" se míní rodina vysoce afinitních neurotrofinových receptorů zahrnující trk A, trk B a trk C a další membránové asociované proteiny, ke kterým se neurotrofin může vázat.

Výrazy "rakovina" a "rakovinový" se míní maligní proliferace buněk u savců. Jako rakovina se příkladně uvádí rakovina prostaty, benigní prostatová hyperplasie, rakovina vaječníků, prsu, mozku, plic, pankreasu tlustého střeva, gastrická, žaludku, pevné nádory, rakovina hlavy, hrdla, neuroblastom, rakovina ledvin, lymfom, leukemie a další zjištěná malignita hematopoietických systémů a jiné zjištěné rakoviny.

Výrazem "neuron", "buněčný neuronový rod", "neuronové buňky, se míní, avšak bez záměru na jakémkoliv omezení, heterogenní populace neuronového typu mající singulární nebo multiplicitní transmitery a/nebo singulární nebo multiplicitní funkce; s výhodou to jsou cholinergické a sensorové neurony. Výrazem "cholinergické neurony" se míní neurony centrálního nervového systému (CNS) a periferního nervového systému (PNS), jejichž neurotransmiterem je acetylcholin. Jakožto příklady se uvádějí bazální neurony předního mozku, pruhované hmoty mozku a neurony míchy. Výrazem "nervy vedoucí smyslové impulzy do centra" se míní nervy zodpovědné za převádění venkovních podnětů (například tepla, pohybu) například z pokožky, ze svalů a z kloubů. Příkladně se uvádí neuron z dorzálního kořenového ganglionu.

20.05.00

Výrazem "trofické faktorové responzivní buňky" se míní buňky, které zahrnují receptor, se kterým se trofický faktor může specificky vázat; jakožto příklady se uvádějí neurony (například cholinergické neurony a nervy vedoucí smyslové impulzy do centra) a neneuronové buňky (například monocyty a neoplastické buňky).

Výrazem "terapeuticky účinné množství" se vždy míní množství sloučeniny podle vynálezu účinné pro předcházení nebo pro ošetřování symptomů určité poruchy. Takové poruchy zahrnují příkladně, tedy bez záměru na jakémkoliv omezení, patologické a neurologické poruchy spojené s nenormální aktivitou receptorů zde popsaných, přičemž ošetření nebo prevence zahrnuje inhibici, navození nebo podporu jejich aktivity uváděním do styku receptoru se sloučeninou obecného vzorce I.

Výrazem "farmaceuticky přijatelný" se vždy míní sloučeniny, materiály, prostředky a/nebo dávkovací formy, které v rámci lékařova usouzení jsou vhodné pro kontakt se tkání lidí a zvířat bez nadměrné toxicity, dráždění, alergické odezvy a jiných problémových komplikací v porovnání s rozumnou mírou příznivého nebo žádoucího nepříznivého působení.

Výrazem "farmaceuticky přijatelné soli" se vždy míní sloučeniny, kdy je mateřská sloučenina modifikována k získání soli kyselinou nebo se zásadou. Jakožto příklady farmaceuticky přijatelných solí se bez záměru na jakémkoliv omezení uvádějí soli minerálních nebo organických kyselin zásaditých zbytků, například aminů; alkalické nebo organické soli kyselinových zbytků například karboxylových kyselin. Farmaceuticky přijatelné soli zahrnují běžné netoxické soli nebo kvarterní amoniové soli mateřských sloučenin například soli netoxických anorganických a organických kyselin. Jakožto příklady takových netoxických solí se uvádějí soli odvozené od anorganických kyselin, jako je například kyselina chlovodíková, bromovodíková,

20.05.02

sírová, sulfamová, fosforečná, a dusičná kyselina. Jakožto soli připravené za použití organických kyselin se příkladně uvádějí soli organických kyselin, jako je kyselina octová, propionová, jatarová, glykolová, stearová, mléčná, jablečná, vinná, citronová, askorbová, pamová, maleinová, hydroxymaleinová, fenylactová, glutamová, benzoová, salicylová, sulfanilová, 2-acetoxybenzoová, fumarová, toluensulfonová, methansulfonová, ethandisulfonová, šťavelová a isethionová kyselina.

Farmaceuticky přijatelné soli podle vynálezu se mohou připravovat o sobě známými chemickými způsoby z mateřské sloučeniny, která obsahuje zásadité nebo kyselé podíly. Obecně se soli mohou připravovat reakcí volných kyselin nebo volných zásadtěchto sloučenin se stechiometrickým množstvím vhodné zásady nebo kyseliny ve vodě nebo v organickém rozpouštědle nebo ve směsi vody a organického rozpouštědla. Obecně jsou výhodná nevodná prostředí jako ether, ethylacetát, ethanol, isopropanol nebo acetonitril. Sznamy vhodných solí jsou známy z literatury (například Remington's Pharmaceutical Sciences 17. vydání, Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, str. 1418).

Výrazem "prodroga" se vždy míní sloučenina obsahující jakékoli kovalentně vázané nosiče, která uvolňuje účinnou mateřskou drogu obecného vzorce I nebo jiného obecného vzorce nebo sloučeniny podle vynálezu in vivo, když se taková prodroga podá savcům. Jelikož je známo, že prodrogy podporují četné žádoucí kvality farmaceutických prostředků (například rozpustnost, biologickou dostupnost, výrobu) mohou se sloučeniny podle vynálezu uvolňovat z formy prodrog. Vynález zahrnuje prodrogy sloučenin podle vynálezu, prostředky, které takové prodrogy obsahují a způsoby jejich uvolňování.

Prodrogy sloučenin podle vynálezu například obecného vzorce I se mohou připravovat modifikací funkčních skupin, obsažených ve sloučenině, způsobem, aby se modifikace štěpila buď

20.05.02

rutinní manipulací nebo in vivo na mateřskou sloučeninu. Prodrogami jsou například sloučeniny podle vynálezu, jejichž hydroxylová skupina, aminoskupina nebo karboxylová skupina se váže na jakoukoliv skupinu, která se při podání savcům odštěpí za vytvoření volné hydroxylové skupiny, aminoskupiny nebo karboxylové skupiny. Jakožto příklady se bez záměru na jakémkoliv omezení uvádějí acetátové, formátové a bezoátové deriváty alkoholových a aminových funkčních skupin; alkylestery, estery karbocyklické, arylové a alkylarylové například methylester, ethylester, propylester, isopropylester, butylester, isobutylester, sek-butylester, terc-butylester, cyklopropylester, fenylester, benzylester a fenethylester.

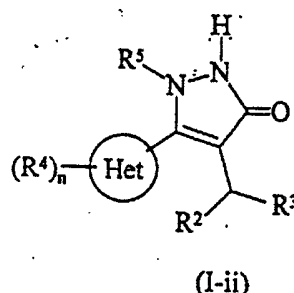
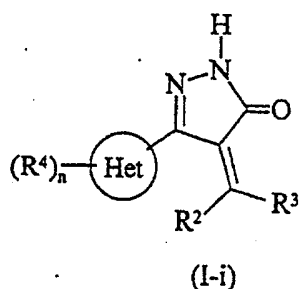
Sloučeniny podle vynálezu se mohou připravovat četnými způsoby dobře známými pracovníkům v oboru. Sloučeniny se mohou připravovat například níže popsanými způsoby nebo jejich obměnami, jak je pracovníkům v oboru známo. Všechny způsoby přípravy se mohou provádět v jakémkoliv měřítku tedy v měřítku miligramovém, gramovém, multigramovém, kilogramovém, multikilogramovém nebo průmyslovém.

Sloučeniny podle vynálezu mohou obsahovat jeden nebo několik asymetricky substituovaných atomů uhlíku a mohou se izolovat v opticky aktivních nebo v racemických formách. V případě sloučenin podle vynálezu jsou míněny všechny chirální, diastereomerní a racemické formy a všechny geometrické isomerní formy struktury, pokud se neuvádí stecifická stereochemická nebo isomerní forma. V oboru je obecně známo jak připravovat a izolovat takové opticky aktivní formy. Směsi stereoisomerů se mohou dělit o sobě známými způsob například, tedy bez záměru na jakémkoliv omezení, štěpením racemických forem, normální, reverzní fázovou, a chirální chromatografií, přednostním vytvářením soli, překrystalováním nebo chirální syntézou buď z chirální výchozí látky nebo uvolňovací generací štitových chirálních center.

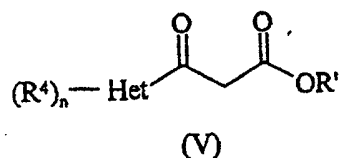
20.05.02

Jak je zřejmé, mohou obsahovat funkční skupiny sloučenin obecného vzorce I chránicí skupiny v průběhu přípravy. Například aminokyselinové postranní řetězcové substituenty sloučenin obecného vzorce I mohou být nahrazeny chránicími skupinami, například benzyloxykarbonylovými nebo terc-butoxykarbonylovými skupinami. Chránicí skupiny jsou o sobě známy jakožto funkční skupiny, které se selektivně zavěšují a odstraňují z funkčních skupin, jako jsou hydroxylové a karboxylové skupiny. Tyto skupiny jsou obsaženy v chemické sloučenině a činí její funkční skupiny inertními za podmínek chemických reakcí, kterým se sloučenina vystavuje. Jakožto výhodné chránicí skupiny se uvádějí skupina terc-butoxykarbonylová (Boc) a benzyloxykarbonylová skupina (Cbz). Jiné výhodné chránicí skupiny jsou uvedeny v literatuře (například Greene T.W. a Wuts P.G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 2. vydání, Wiley & Sons, 1991).

Sloučeniny obecného vzorce I-i nebo I-ii



se mohou připravovat například způsobem podle schéma 1 až 6. Pro určitá provedení je klíčovým meziproduktem pro sloučeniny obecného vzorce I-i a I-ii β -ketoester obecného vzorce V



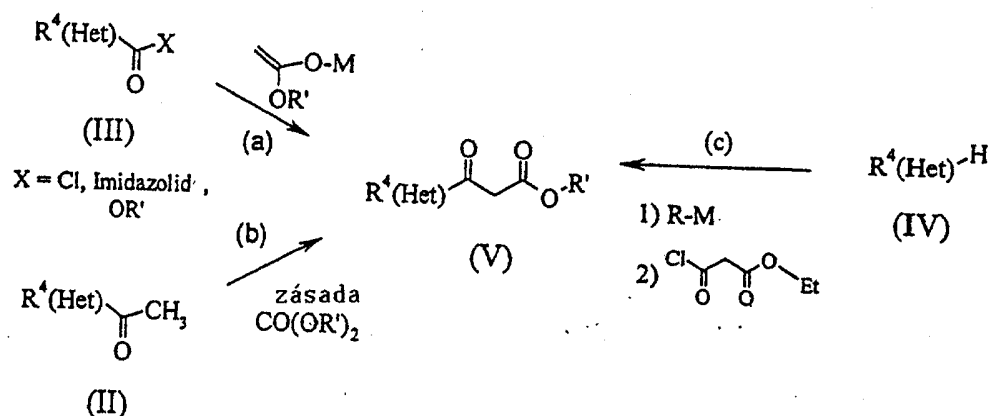
Pro určitá provedení mohou obsahovat sloučeniny podle vynálezu heterocykly, které jsou dále substituovány. Heterocyklické sloučeniny, které jsou dále substituovány (včetně

20.05.02

adičních heterocyklů) se mohou získat různými způsoby o sobě známými pracovníkům v oboru. Výchozí látky a způsoby přípravy β -ketoesterových meziproduktů obecného vzorce V jsou popsány v literatuře (například Thompson a Gaudino, J. Org. Chem. 49, str. 5237 až 5243, 1984; a Kamal M.R. a kol., Phosphorous, Sulfur, Silicon Relat. Elem. 126, str. 65 a 67, 1997).

Obecně se sloučeniny obecného vzorce V mohou připravovat například způsobem podle schéma 1.

Schéma 1



Reakce heterocyklického methylesteru, halogenidu kyseliny nebo imidazolu obecného vzorce III s esterem poskytuje sloučeninu obecného vzorce V způsobem podle schéma 1a. Podobné způsoby popsal například Bunting J.W. a Kanter J.P. (J. Am. Chem. Soc. 115, str. 11705 až 11715, 1993). Do roztoku heterocyklického karboxylového esteru obecného vzorce III (1 ekvivalent) v methylacetátu (0,5 až 1 ml/mmol esteru) se může přidat hydrid sodný (60% disperze v minerálním oleji, 1,1 ekvivalentu) s pokračujícím mícháním po dobu půl hodiny. Reakční směs se s výhodou míchá pod zpětným chladičem po dobu přibližně 2,5 hodin, ochladí se na teplotu místnosti, vlije se do vody (1 ml/mmol esteru) a extrahuje se vhodným rozpouštědlem, například diethyletherem. Vodná vrstva se může neutralizovat

koncentrovanou kyselinou a extrahovat opakovaně polárním rozpouštědlem, například methylenchloridem. Spojené organické vrstvy se zkoncentrují va vakuu, čímž se získá surový β -ketoester obecného vzorce V, kterého se může použít pro přípravu pyrazolonu bez dalšího čištění.

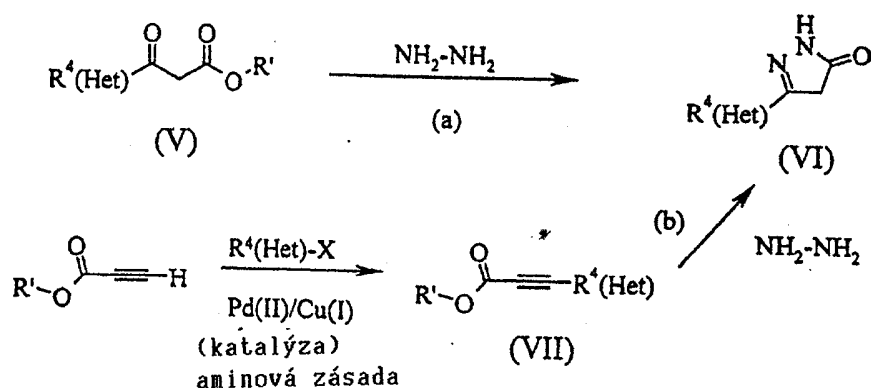
Nebo se sloučeniny obecného vzorce V mohou připravovat karboxyalkylací heterocyklického methylketonu za použití dialkylkarbonátu způsobem podle schéma 1b: přípravu β -ketoesteru tímto způsobem popsal také například Krapcho A.P., Diamanti J., Cayen C., Bingham R., Org. Synth. 5, str. 198 až 201, 1973). Do intenzivně míchané suspenze hydridu sodného (2,9 ekvivalentů) a diethylkarbonátu (2 ekvivalenty) v suchém toluenu (1,5 ml/mmol methylketonu) se může přidat po kapkách roztok žádaného heterocyklického methylketonu obecného vzorce II (1 ekvivalent) v toluenu pod zpětným chladičem. Po přidání se reakční směs může míchat při teplotě zpětného toku po dobu přibližně půl hodiny. Směs se s výhodou ochladí na teplotu místnosti a okyselí se vhodnou kyselinou, jako je ledová kyselina octová. Po přidání studené vody se směs může extrahovat vhodným rozpouštědlem, například toluenem. Po zpracování se rozpouštědlo odpaří, čímž se získá surový β -ketoester obecného vzorce V, který se může použít pro přípravu pyrazolonu bez dalšího čištění.

Meziprodukt obecného vzorce V se také může získat z heterocyklické sloučeniny obecného vzorce IV metalací a reakcí s ethylpropinylchloridem způsobem podle schéma 1c. Tento způsob popsal Morales Rios a kol. (Heterocycles 43, str. 1483 až 1496, 1996).

β -Ketoester obecného vzorce V, připravený jakýmkoliv shora popsaným způsobem, se může nechat reagovat například s různými deriváty hydrazinu (schéma 2)

20.05.02

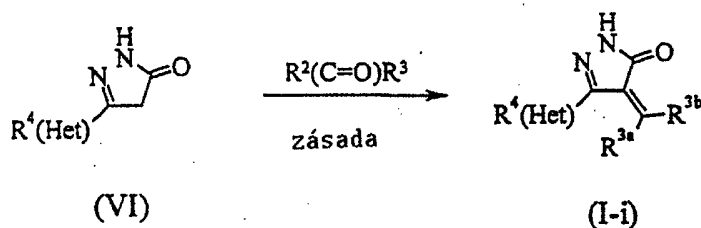
Schéma 2



Reakcí s hydrazinem se získají v poloze 4 nesubstituované pyrazolony obecného vzorce VI způsobem podle schéma 2a. Do směsi ketoesteru obecného vzorce V v absolutním ethanolu (3 až 5 ml/mmol β -ketoesteru) se může přidat hydrazinhydrát (5 až 10 násobný nadbytek) a reakční směs se zahřívá pod zpětným chladičem po dobu přibližně 3 až 5 hodin. Reakční směs se s výhodou ochladí na teplotu místnosti a rozpouštědlo se odpaří. Pyrazolon se může izolovat odfiltrováním (pokud je oddělení pevné látky žádoucí) nebo bleskovou chromatografií za použití pro chromatografii vhodného rozpouštědlového systému například systému ethylacetát/methanol. Následné triturováním s etherem nebo s ethylacetátem může pomoci dalšímu čištění. V poloze 4 nesubstituované pyrazolony obecného vzorce VI se také mohou získat reakcí heterocyklického propargylesteru obecného vzorce VII s nadbytkem hydrazinu způsobem podle schéma 2b.

Po Knoevenagelově kondenzaci se vhodně substituovanými karbonylovými sloučeninami poskytuje pyrazolon obecného vzorce VI žádané pyrazolonové analogy (I-i) způsobem podle schéma 3.

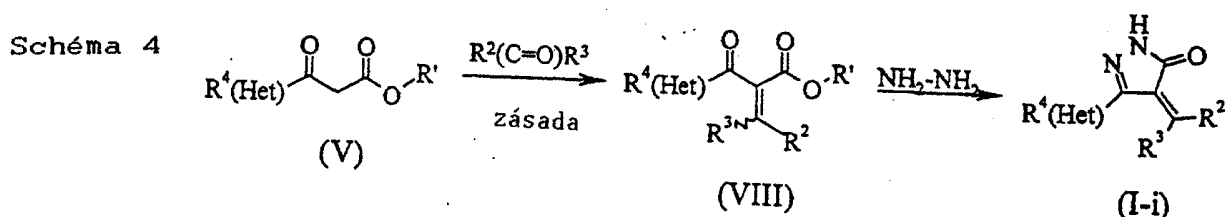
Schéma 3



20.05.02

Směs vhodného pyrazolonu (1 ekvivalent) a žádaného aldehydu (1,1 ekvivalentu) v absolutním ethanolu 2,5 až 3 ml/mmol pyrazolonu) se může míchat při teplotě 80 až 90 °C po dobu 1 až 5 hodin. Produkt vyloučený jako pevná látka (buď z horké reakční směsi nebo po následném ochlazení v ledové lázni) se může izolovat odfiltrováním a může se promýt malým množstvím protického rozpouštědla, jako je například ethanol. NMR pevného produktu přednostně vykazuje jeden geometrický isomer. Jiné způsoby přípravy jsou popsány například v publikaci Organic Synthesis (G. Jones, vydavatel R. Adams, Jonh Wiley & Sons, INC., New York, str. 204 až 599, 1967).

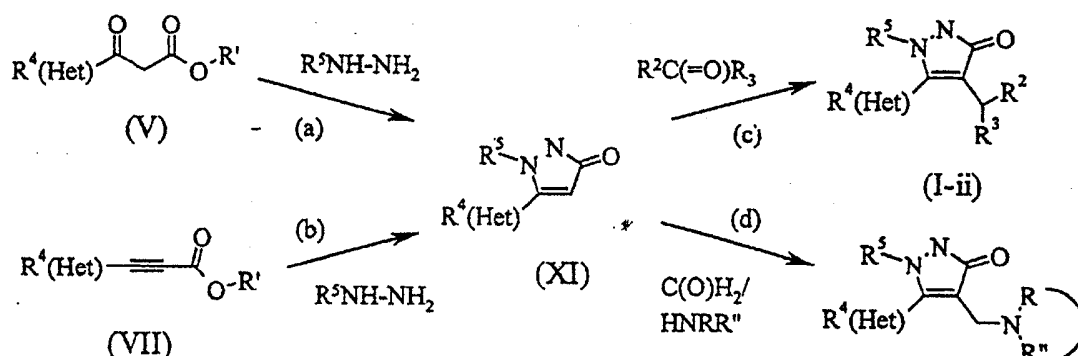
Nebo se β -ketoester obecného vzorce V může nejdříve kondenzovat se vhodně substituovanou karbonylovou sloučeninou za získání meziprojektu obecného vzorce VIII, který se může následně převádět na pyrazolon obecného vzorce I-i způsobem podle reakčního schéma 4.



Pyrazolonový derivát mající R^5 substituenty se může získat reakcí monosubstituovaného hydrazinu (nebo disubstituovaného hydrazinu například pokud není žádoucí, aby R^1 neznamenal atom vodíku) buď s β -ketoesterem obecného vzorce V nebo s acetylenovým derivátem obecného vzorce VII způsobem podle schéma 5a a 5b. Substituent se pak může zavádět do polohy 4 například reakcí s aldehydem a se sekundárním aminem způsobem podle schéma 5c. Sloučeniny, kde znamená R^2 heterocyklickou skupinu vázanou prostřednictvím heteroatomu, se mohou připravovat například reakcí sloučeniny obecného vzorce XI s formaldehydem v přítomnosti nukleofilní heterocyklické sloučeniny způsobem podle schéma 5d.

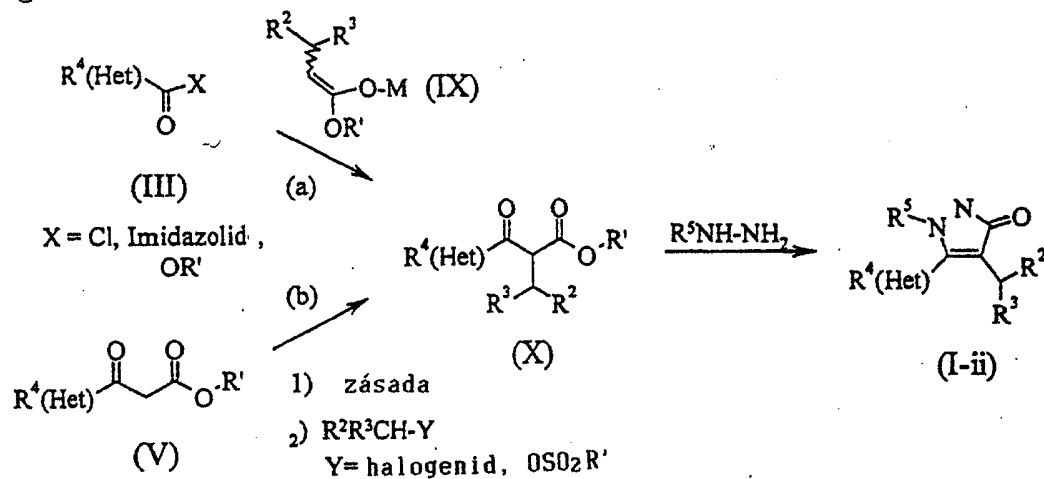
20.05.02

Schéma 5



Nebo β -ketoester obecného vzorce X, mající již substituent, se může následně převádět na pyrazolonové analogy obecného vzorce I-ii. Sloučenina obecného vzorce X se může připravovat například reakcí heterocyklického methylesteru, halogenidu kyseliny nebo imidazolidu obecného vzorce III se vhodně substituovaným esteremolátem způsobem podle schéma 6a. Nebo se sloučenina obecného vzorce X může připravovat deprotonizací heterocyklického β -ketoesteru a reakcí enolátu například se vhodně substituovaným alkylhalogenidem nebo alkylmesylátem způsobem podle schéma 6b.

Schéma 6

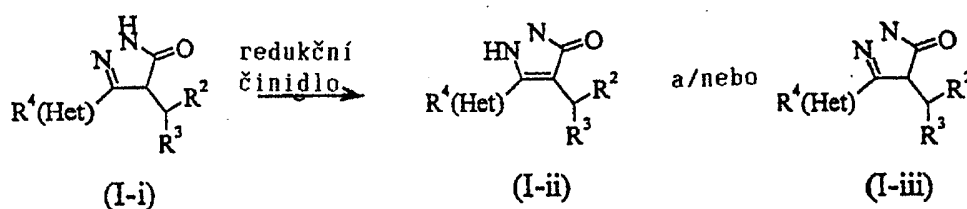


Sloučeniny obecného vzorce I-ii se mohou připravovat například z pyrazolonu obecného vzorce I-i zpracovaného vhodným

20.05.02

redukčním činidlem, například borhydridem sodným nebo borhydridem lithným způsobem podle schéma 7. Jak je pracovníkům v oboru známo, sloučeniny obecného vzorce I-ii nebo obecného vzorce I-iii se mohou nechat dále reagovat za vhodných podmínek k adici skupiny R^5 , přičemž R^5 znamená jinou skupinu než atom vodíku.

Schéma 7



Vynález blíže objasňuje následující podrobný popis příkladů praktického provedení, které však nejsou míněny jako jakékoliv omezení.

Používané zkratky mají následující význam: "EtOAc" znamená ethylacetát, "MeOH" methanol, "EtOH", ethanol, "DMSO- d_6 " deuterovaný dimethylsulfoxid, "rt" teplotu místnosti, "d" dublet, "dd" dublet dubletů, "t" triplet, "m" multiplet, "J" kopulační konstantu, "br" široký, "eq" nebo "equiv" ekvivalent, "g" gram nebo gramy, "mg" miligram nebo miligramy, "ml" mililitr nebo mililitry, "H" atom vodíku, "hr" nebo "h" hodinu, "mmol" milimol, "min" nebo "m" minutu nebo minuty, " ^1H -NMR" protonovou nukleární magnetickou rezonanční (NMR) spektroskopii, "Hz" herc, "HPLC" vysoce účinnou kapalinovou chromatografii, " R_t " retenční dobu, "M" hmotu, "MS" hmotovou spektroskopii a "NMR" nukleární magnetickou rezonanční spektroskopii.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Příprava 4-(indol-3-ylmethylen)-3-(1,3-thiazol-2-yl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 25)

a) 3-(1,3-thiazol-2-yl)-2-pyrazolin-5-on VIa

Do intenzivně míchané suspenze hydridu sodného (60% disperze v minerálním oleji, 904 mg, 22,64 mmol, 2,9 ekvivalentu) a diethylkarbonátu (1,9 ml, 15,69 mmol, 1,99 ekvivalentu) v suchém toluenu (15 ml) se přikape za teploty zpětného toku (během jedné hodiny) roztok methylketonu (2-acetylthiazol) (1 g, 7,87 mmol) v toluenu (5 ml). Po přidání se směs míchá při teplotě zpětného toku půl hodiny. Směs se nechá vychladnout na teplotu místnosti a okyselí se ledovou kyselinou octovou. Po přidání studené vody se směs extrahuje 3x ethylacetátem. Spojené organické extrakty se promyjí vodou a solankou. Po vysušení sírenem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří a získá se surový β -ketoester. Do surového produktu se přidá absolutní ethanol (5 ml) a hydrazinhydrát (0,5 ml). Směs se udržuje na teplotě zpětného toku tři hodiny. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Surový produkt se čistí bleskovou chromatografií (EtOAc:MeOH 95:5). Získaná pevná látka se míchá 15 minut v ethylacetátu, zfiltruje se a vysuší, čímž se získá pyrazolon (VIa) (237 mg, 18 % teorie).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 12,5 (br s, 1H), 11,00 (br s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 5,7 (s, 1H); MS:168 (M+H).

b) Příprava sloučeniny 25

Do směsi pyrazolonu (VIa) (50 mg, 0,30 mmol) a indol-3-karboxaldehydu (47 mg, 0,32 mmol, 1,08 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1 ml) se přidají 3 kapky piperidinu a směs se

míchá čtyři hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Pevná látka se odfiltruje a promyje se ethanolem a vysuší se ve vakuu, čímž se získá 65 mg (74 % teorie) sloučeniny 25 v podobě jediného geometrického isomeru.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 11,85 (s, 1H), 9,83 (s, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,05 (d, J=3,17 Hz, 1H), 7,80 (m, 2H), 7,58 (m, 1H), 7,30 (m, 3H).

MS: 295 (M+H), HPLC: R_t = 10,10 min.

Příklad 2

Příprava 4-[(3,5-dimethylpyrrol-2-yl)methylen]-3-(1,3-thiazol-2-yl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 26)

Směs pyrazolonu (VIa) (50 mg, 0,30 mmol) a 3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-karboxaldehydu (40 mg, 0,32 mmol, 1,08 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 až 3 kapkami piperidinu se míchá čtyři hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Produkt se odfiltruje a promyje se ethanolem. Vysušením se získá 65 mg (74 % teorie) sloučeniny 26 v podobě jediného geometrického isomeru.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 14,39 (s, 1H), 12,01 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 7,95 (d, J=3,17 Hz, 1H), 7,74 (d, J=3,18 Hz, 1H), 6,26 (s, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,27 (s, 3H).

MS: 273 (M+H), HPLC: R_t = 10,54 min.

Příklad 3

Příprava 4-[(3,5-dimethylpyrrol-2-yl)methylen]-3-(2-furyl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 28)

a) 3-(2-furyl)-2-pyrazolin-5-on (VIb)

Do intenzivně míchané suspenze hydridu sodného (60% disperze v minerálním oleji, 2,28 g, 56,6 mmol, 2,9 ekvivalentu) a diethylkarbonátu (4,7 ml, 38,83 mmol, 1,99 ekvivalentu) v su-

20.05.02

chém toluenu (30 ml) se přikape při teplotě zpětného toku (během jedné hodiny) roztok methylketonu, 1-furan-2-yl-ethanonu (2,14 g, 19,51 mmol) v toluenu (5 ml). Po přidání se směs míchá při teplotě zpětného toku půl hodiny. Směs se nechá vychladnout na teplotu místnosti a okyselí se ledovou kyselinou octovou. Po přidání studené vody se směs extrahuje 3x ethylacetátem. Spojené organické extrakty se promyjí vodou a solankou. Po vysušení sírenem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří, čímž se získá surový β -ketoester, 3-furan-2-yl-3-oxoethylester, kyseliny propionové. Do surového produktu se přidá absolutní ethanol (10 ml) a hydrazinhydrát (1 ml). Směs se udržuje na teplotě zpětného toku tři hodiny. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Surový produkt se čistí bleskovou chromatografií (ethylacetát). Získaná pevná látka se míchá 15 minut v ethylacetátu, odfiltruje se a vysuší, čímž se získá pyrazolon (VIb) (1,23 g, 42 % teorie).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 12,1 (br s, 1H), 9,5 (br s, 1H), 7,64 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 5,64 (s, 1H).

MS: 151 (M+H).

b) Příprava sloučeniny 28

Směs pyrazolonu VIb (50 mg, 0,33 mmol), 3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-karboxaldehydu (45 mg, 0,36 mmol, 1,09 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 až 3 kapkami piperidinu se míchá čtyři hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Směs se ochladí (na ledové lázni) a oddělený produkt v podobě pevné látky se odfiltruje a promyje se studeným methanolem. Vysušením se získá 58 mg (69 % teorie) sloučeniny 28 v podobě jediného geometrického isomeru.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 14,47 (s, 1H), 11,81 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 6,86 (d, $J=3,30$ Hz, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,22 (s, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,27 (s, 3H).

MS: 256 (M+H), HPLC: $R_t = 10,51$ min.

20.05.00

Příklad 4

Příprava 3-(2-furyl)-4-(indol-3-ylmethylen)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 29)

Směs pyrazolonu VIb (50 mg, 0,33 mmol) a indol-3-karboxaldehydu (53 mg, 0,36 mmol, 1,09 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 až 3 kapkami piperidinu se míchá čtyři hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Směs se ochladí (na ledové lázni) a oddělený produkt v podobě pevné látky se odfiltruje a promyje se studeným methanolem. Vysušením se získá 36 mg (40 % teorie) sloučeniny 29 v podobě jediného geometrického isomeru.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 12,55 (br s, 1H), 11,62 (s, 1H), 9,82 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,89 (m, 2H), 7,56 (m, 1H), 7,28 (m, 2H), 6,96 (m, 1H), 6,66 (m, 1H).

MS: 278 (M+H), HPLC: R_t = 9,80 min.

Příklad 5

Příprava 4-[(3,5-dimethylpyrrol-2-yl)methylen]-3-(3-thienyl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 37)

a) Příprava 3-(3-thienyl)-2-pyrazolin-5-onu VIc

Do intenzivně míchané suspenze hydridu sodného (60% disperze v minerálním oleji, 830 mg, 20,3 mmol, 2,85 ekvivalentu) a diethylkarbonátu (1,7 ml, 14,04 mmol, 1,99 ekvivalentu) v suchém toluenu (15 ml) se přikape při teplotě zpětného toku (během jedné hodiny) roztok methylketonu, 1-thiofen-3-yl-ethanonu (900 mg, 7,14 mmol) v toluenu (5 ml). Po přidání se směs míchá při teplotě zpětného toku půl hodiny. Směs se nechá vychladnout na teplotu místnosti a okyselí se ledovou kyselinou octovou. Po přidání studené vody se směs extrahuje 3x ethylacetátem. Spojené organické extrakty se promyjí vodou a solan-

20.05.00

kou. Po vysušení síranem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří a získá se surový β -ketoester, ethylester 3-oxo-3-thiofen-3-yl-propionové kyseliny. Do surového produktu se přidá absolutní ethanol (5 ml) a hydrazinhydrát (0,5 ml). Směs se udržuje na teplotě zpětného toku čtyři hodiny. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Surový produkt se čistí bleskovou chromatografií (ethylacetát). Pyrazolon VIc se izoluje jako pevná látka (940 mg, 79 % teorie).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 11,8 (br s, 1H), 9,7 (br s, 1H), 7,68 (d J=1,98 Hz, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,38 (d J=4,92 Hz, 1H), 5,74 (s, 1H), MS:167 M+H).

b) Příprava sloučeniny 37

Směs pyrazolonu VIc (50 mg, 0,3 mmol) 3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-karboxaldehydu (41 mg, 0,33 mmol, 1,11 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 až 3 kapkami piperidinu se míchá tři hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Oddělený produkt v podobě pevné látky se odfiltruje a promyje se ethanolem. Po vysušení se izoluje 64 mg (79 % teorie) sloučeniny 37 v podobě jediného geometrického isomeru.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 14,44 (br s, 1H), 11,68 (s, 1H), 7,89 (d, J=1,60 Hz, 1H), 7,64 (m, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,38 (m, 1H), 6,18 (s, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,23 (s, 3H).

MS:272 (M+H), HPLC: R_t = 10,75 m.

Příklad 6

Příprava 4-(indol-3-ylmetylen)-3-(2-thienyl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 38)

Směs pyrazolonu (VIc) (50 mg, 0,30 mmol) a indol 3-karboxaldehydu (47 mg, 0,32 mmol, 1,06 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 až 3 kapkami piperidinu se míchá

200500

čtyři hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Oddělený produkt v podobě pevné látky se odfiltruje a promyje se ethanolem. Vysušením se získá 65 mg (74 % teorie) sloučeniny 38 v podobě jediného geometrického isomeru.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 12,48 (br s, 1H), 11,48 (s, 1H), 9,81 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,00 (d, J=1,96 Hz, 1H), 7,83 (m, 1H), 7,68 (m, 1H), 7,54 (m, 1H), 7,45 (d, J=5,02 Hz, 1H), 7,24 (m, 2H). MS: 294 (M+H), HPLC: R_t = 10,27 m.

Příklad 7

Příprava 3-benzo[*d*]furan-2-yl-4-[(3,5-dimethylpyrrol-2-yl)-methylen]-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 57)

a) Příprava 3-benzo[*d*]furan-2-yl-2-pyrazolin-5-onu VIId

Do intenzivně míchané suspenze hydridu sodného (60% disperze v minerálním oleji, 2,6 g, 65 mmol, 3,32 ekvivalentu) a diethylkarbonátu (4,7 ml, 38,83 mmol, 1,99 ekvivalentu) v suchém toluenu (30 ml) se přikape při teplotě zpětného toku (během jedné hodiny) roztok methylketonu, 1-benzofuran-2-yl-ethanonu (1 g, 7,87 mmol) v toluenu (5 ml). Po přidání se směs míchá při teplotě zpětného toku půl hodiny. Směs se nechá vychladnout na teplotu místnosti a okyselí se ledovou kyselinou octovou. Po přidání studené vody se směs extrahuje 3x ethylacetátem. Spojené organické extrakty se promyjí vodou a solankou. Po vysušení síranem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří a získá se surový β-ketoester, ethylester 3-benzofuran-2-yl-3-oxopropionové kyseliny. Do surového produktu se přidá absolutní ethanol (10 ml) a hydrazinhydrát (1,5 ml v nadbytku). Směs se zahřívá pod zpětným chladičem čtyři hodiny. Oddělená pevná látka, která se odfiltruje, se promyje ethylacetátem. Vysušením se získá 1,87 g (48 % teorie) pyrazolonu VIId.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 12,5 (br s, 1H), 10,1 (br s, 1H), 7,62-7,18 (serie nečistot, 4H), 7,10 (s, 1H), 5,87 (s, 1H).

20.05.02

MS:201 M+H).

b) Příprava sloučeniny 57

Směs pyrazolonu VI_d (75 mg, 0,375 mmol) a 3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-karboxaldehydu (50 mg, 0,40 mmol, 1,07 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 až 3 kapkami piperidinu se míchá čtyři hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Vyloučený produkt v podobě pevné látky se odfiltruje a promyje se ethanolem. Vysušením se získá 105 mg (92 % teorie) sloučeniny 57 v podobě jediného geometrického isomeru.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 14,5 (br s, 1H), 12,04 (br s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,67 (m, 2H), 7,36- 7,24 (překrytý m & s, 3H), 6,26 (s, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,33 (s, 3H).

MS:306 (M+H), HPLC: R_t = 13,46 m.

Příklad 8

Příprava 4-[(3,5-dimethylpyrrol-2-yl)methylen]-3-pyrazin-2-yl-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 74)

a) Příprava 3-pyrazin-2-yl-2-pyrazolin-5-onu VI_e

Do roztoku methylpyrazin-2-karboxylátu (2,51 g, 18,18 mmol) v methylacetátu (10 ml) se přidává hydrid sodný (60% disperze v minerálním oleji, 815 mg, 20,37 mmol, 1,12 ekvivalentu) za stálého míchání po dobu půl hodiny. Směs se míchá 2,5 hodiny při teplotě zpětného toku. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti a vlije se do vody. Směs se extrahuje dvakrát diethyletherem. Vodná vrstva se neutralizuje koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou, nasytí se solí a extrahuje se opakovaně dichlormethanem. Po zpracování a po odpaření rozpouštědla se získá surový β-ketoester, kterého se použije přímo bez dalšího čištění pro přípravu pyrazolonu. Do surového produktu se přidá absolutní ethanol (40 ml) a hydrazinhydrát

20.05.02

(3 ml, v nadbytku) Směs se udržuje čtyři hodiny pod zpětným chladičem. Vyloučená pevná látka se odfiltruje a promyje se methanolem. Vysušením se získá 1,57 g (52 % teorie) pyrazolonu VIe.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 9,00 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,41 (d, $J=2,37$ Hz, 1H), 5,84 (s spolu s vodou a s jinými zaměnitelnými protony, 1H). MS: 163 (M+H).

b) Příprava sloučeniny 74

Směs pyrazolonu (VIe) (50 mg, 0,30 mmol) 3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-karboxaldehydu (42 mg, 0,34 mmol, 1,13 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 až 3 kapkami piperidinu se míchá čtyři hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Oddělený produkt v podobě pevné látky se odfiltruje od horké reakční směsi a promyje se ethanolem. Vysušením se získá 40 mg (50 % teorie) sloučeniny 74 v podobě jediného geometrického isomeru. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 14,5 (br s, 1H), 12,10 (s, 1H), 9,14 (d, $J=0,82$ Hz, 1H), 8,71 (s, 1H), 7,67 (d, $J=1,81$ Hz, 1H) 8,58 (d, $J=2,47$ Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,25 (s, 3H). MS: 268 (M+H), HPLC: $R_t = 9,89$ m.

Příklad 9

Příprava 4-[(3,5-dimethylpyrrol-2-yl)methylen]-3-indol-3-yl-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 76)

a) Příprava methyl-1-(2,2-dimethylethoxykarbonyl)indol-3-karboxylátu

Methyl-1H-indol-3-karboxylát (8,95 g, 50 mmol) a di-terc-butylidikarbonát (11,5 g, 52 mmol) se rozpustí v acetonitrilu (100 ml), přidá se pevný 4-dimethylaminopyridin (0,610 g, 5 mmol) a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje ve vakuu a zbytek se vyjme do et-

20.05.00

ethylacetátu (300 ml) a promyje se postupně nasycenou solankou, ledově studeným roztokem (přibližně 5 °C) 1N kyseliny chlorovodíkové a nasyceným roztokem solanky. Organická vrstva se vysuší bezvodým síranem hořečnatým, zfiltruje se a zkoncentruje ve vakuu, čímž se získá čirá kapalina (13,9 g).

b) Příprava ethyl-3-indol-3-yl-3-oxopropanoátu (Va)

Roztok diisopropylaminu (13 ml, 100 mmol) a tetramethylethylendiaminu (15 ml, 100 mmol) v tetrahydrofuranu (150 ml) se ochladí v lázni suchého ledu a acetonu v prostředí argonu. Během 30 minut se přidá 2,5 N roztok n-butyllithia v hexanu (40 ml, 100 mmol) a ethylacetát (10 ml, 108 mmol) a směs se míchá dalších 30 minut. Rychle se přidá roztok N-BOC-methylindol-3-karboxylátu IIIa (6,875 g, 25 mmol) v tetrahydrofuranu (50 ml) a reakční směs se míchá jednu hodinu při teplotě 78 °C a pak další jednu hodinu při teplotě -15 °C. Reakční směs se nechá zahřát na teplotu 15 °C, načež se ochladí ledovou kyselinou octovou (10 ml). Přidá se ethylacetát (250 ml) a organická vrstva se promyje postupně 1N roztokem kyseliny citronové (2x150 ml) a nasycenou solankou (2x100 ml), organická vrstva se vysuší bezvodým síranem sodným, zfiltruje se a zkoncentruje se ve vakuu. Surový produkt se čistí bleskovou chromatografií na silikagelu a jako elučního činidla se použije směsi 1:1 ethylacetátu a hexanu, čímž se získá žádaná sloučenina Va (1,2 g) a její N-BOC-derivát (Vb) (1,2 g) v kombinovaném 30% výtěžku.

c) Příprava 3-indol-3-yl-2-pyrazolin-5-onu VIc

Sloučenina Va (600 mg, 3 mmol) se přidá do směsi absolutního ethanolu (7 ml) a hydrazinhydrátu (1 ml). Směs se udržuje 4 hodiny na teplotě zpětného toku. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se vyjme do ethylacetátu (20 ml) a promyje se vodou a solankou. Ethylacetátová vrstva se vysuší síranem hořečnatým a

200502

získá se tmavohnědá pevná látka, která vykazuje přítomnost dvou hlavních skvrn. Pevná látka se míchá v ethanolu a odfiltruje se. Roztok se odpaří, čímž se získá sloučenina VI f v podobě husté gumy (126 mg, 35 % teorie).

d) Příprava sloučeniny 76

Směs sloučeniny VI f (60 mg, 0,3 mmol), 3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-karboxaldehydu (41 mg, 0,33 mmol, 1,11 ekvivalentu) v absolutním ethanolu (1,3 ml) spolu se 3 kapkami piperidinu se míchá tři hodiny při teplotě 85 °C. Produkt, který se oddělí jako pevná látka, se odfiltruje, promyje se ethanolem a vysuší se ve vakuu (58 mg, 63 % teorie).

Příklad 10

Příprava 4-[(3,5-dimethylpyrrol-2-yl)methyl]-3-indol-3-yl-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 77)

Roztok sloučeniny 76 (38 mg, 0,12 mmol) ve směsi rozpouštědel dimethylsulfoxidu a methanolu (1:1, 1,5 ml) se přidá po částech do borhydridu sodného (45 mg, 1,2 mmol). Po 15 minutách se reakce ukončí přidáním kyseliny octové a vody (10 ml). Směs se extrahuje ethylacetátem a organická vrstva se promyje vodou a solankou. Roztok se vysuší síranem hořečnatým a odpaří se, čímž se získá červenohnědý zbytek, který po přidání etheru se vysráží v podobě světle hnědé pevné látky 77, (27 mg, 71 % teorie).

Příklad 11

Příprava 4-[(2,6-difluorfenyl)(5-oxo-3-pyrazin-2-yl)(2-pyrazolin-4-yl)methyl]-3-pyrazin-2-yl-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 78)

20.05.02

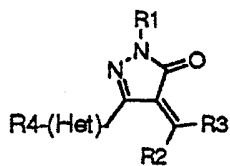
Směs pyrazolonu (VIe) (30 mg, 0,18 mmol) a 2,6 difluorbenzaldehydu (37 mg, 0,26 mmol) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 a 3 kapkami piperidinu se míchá 21,5 hodin při teplotě 85 až 90 °C. Oddělený produkt v podobě pevné látky se odfiltruje a promyje se dalším ethanolem. Vysušením se získá 68 mg sloučeniny 78.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 11,5 (br s, 2H), 8,85 (s, 2H), 8,3 (d, J=2,16 Hz, 2H), 8,07 (s, 2H), 7,06 (s, 1H), 6,96 (m, 1H), 6,66 (m, 2H), 4,4 (br s, 2H).

MS: 471 (M+Na), HPLC: R_t = 6,18 m.

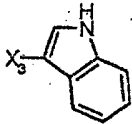
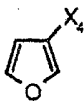
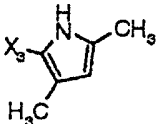
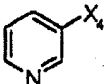
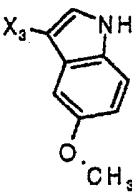
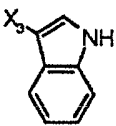
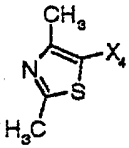
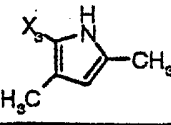
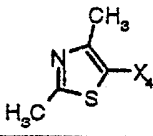
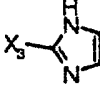
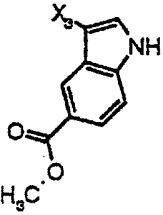
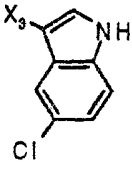
Sloučeniny podle příkladů 1 až 21 spolu se sloučeninami, které se připravují způsoby a technikou předchozích příkladů a syntetizačních schémat, jsou uvedeny v tabulkách I a Ia. Tyto sloučeniny vynález pouze ilustrují a nijak ho neomezuji. V prvním sloupci tabulky je vždy uvedeno číslo sloučeniny

20.05.02

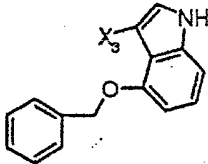
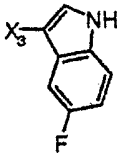
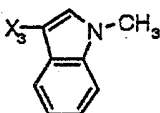
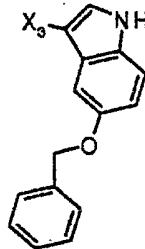
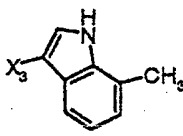
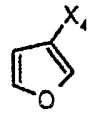
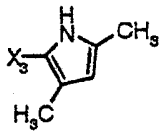
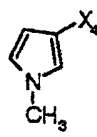
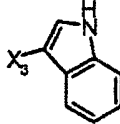
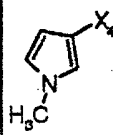
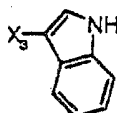
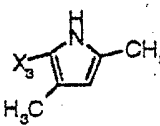


Tabulka I

	R1	R3	R4-(Het)
1	-H		
2	-H		
3	-H		
4	-H		
5	-H		
6	-H		
7	-H		
8	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
9	-H		
10	-H		
11	-H		
12	-H		
13	-H		
14	-H		
15	-H		
16	-H		
17	-H		

20.05.02

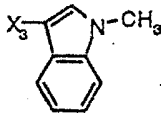
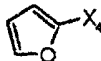
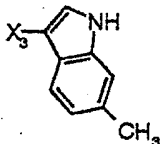
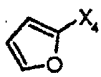
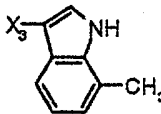
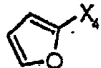
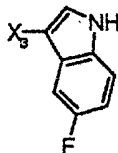
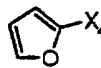
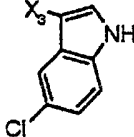
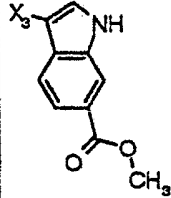
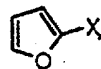
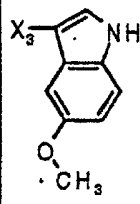
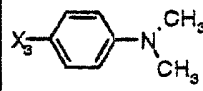
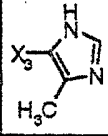
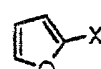
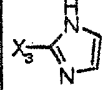
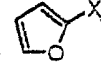
	R1	R3	R4-(Het)
18	-H		
19	-H		
20	-H		
21	-H		
22	-H		
23	-H		
24	-H		
25	-H		
26	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
27	-H		
28	-H		
29	-H		
30	-H		
31	-H		
32	-H		
33	-H		
34	-H		
35	-H		

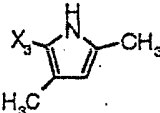
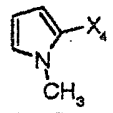
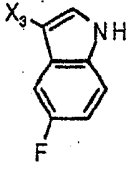
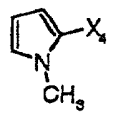
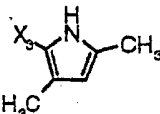
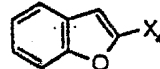
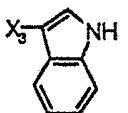
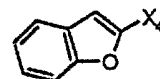
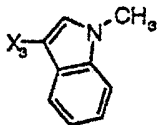
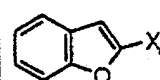
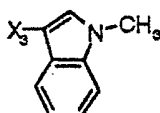
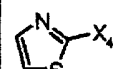
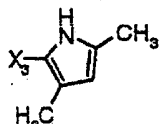
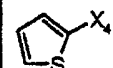
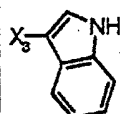
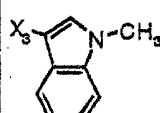
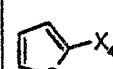
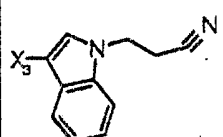
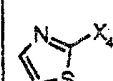
51
20.05.02

32.	R1	R3	R4-(Het)
36	-H		
37	-H		
38	-H		
39	-H		
40	-H		
41	-H		
42	-H		
43	-H		
44	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
45	-H		
46	-H		
47	-H		
48	-H		
49	-H		
50	-H		
51	-H		
52	-H		
53	-H		
54	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
55	-H		
56	-H		
57	-H		
58	-H		
59	-H		
60	-H		
61	-H		
62	-H		
63	-H		
64	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
65	-H		
66	-H		
67	-H		
68	-H		
69	-H		
70	-H		
71	-H		
72	-H		
73	-H		
74	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
75	-H		
76	-H		
79	-H		
80	-H		
81	-H		
82	-H		
83	-H		
84	-H		
85	-H		
86	-H		

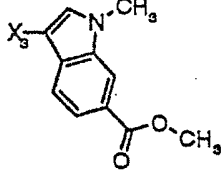
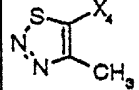
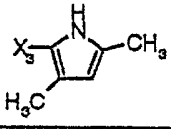
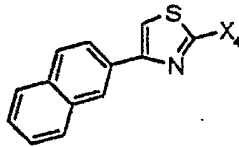
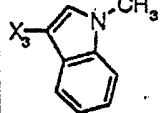
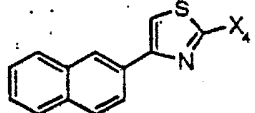
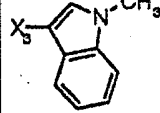
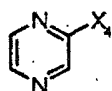
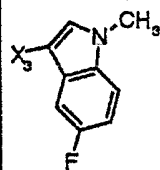
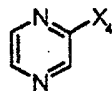
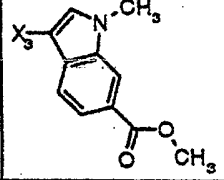
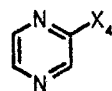
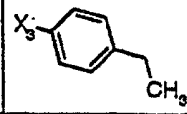
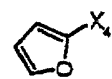
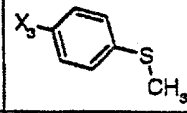
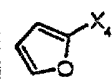
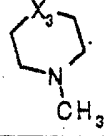
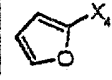
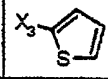
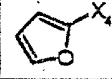
	R1	R3	R4-(Het)
87	-H		
88	-H		
89	-H		
90	-H		
91	-H		
92	-H		
93	-H		
94	-H		
95	-H		
96	-H		
97	-H		

20.05.02

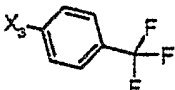
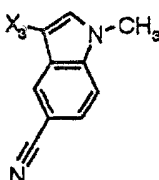
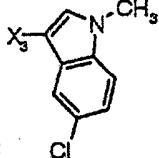
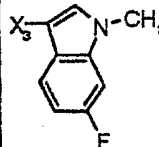
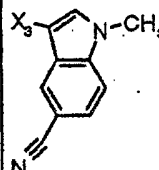
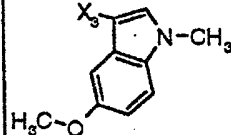
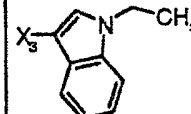
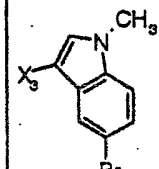
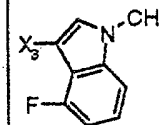
	R1	R3	R4-(Het)
98	-H		
99	-H		
100	-H		
101	-H		
102	-H		
103	-H		
104	-H		
105	-H		
106	-H		
107	-H		

20.05.02

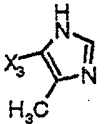
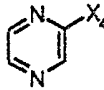
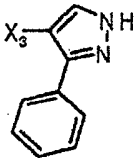
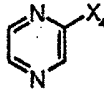
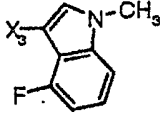
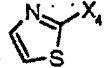
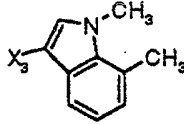
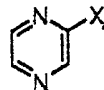
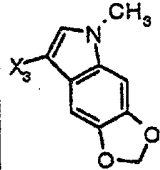
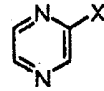
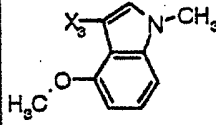
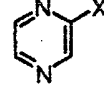
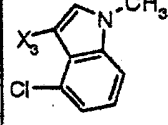
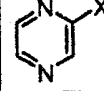
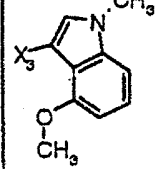
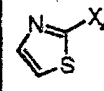
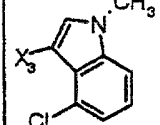
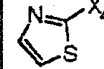
	R1	R3	R4-(Het)
108	-H		
109	-H		
110	-H		
111	-H		
112	-H		
113	-H		
114	-H		
115	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
116	-H		
117	-H		
118	-H		
119	-H		
120	-H		
121	-H		
122	-H		
123	-H		
124 (a)			
125	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
126	-H		
127	-H		
128	-H		
129	-H		
130	-H		
131	-H		
132	-H		
133	-H		
134	-H		

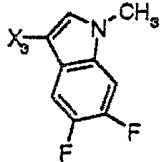
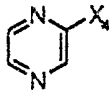
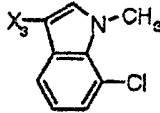
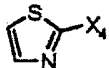
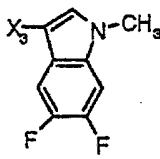
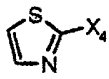
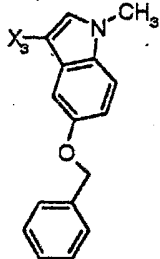
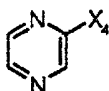
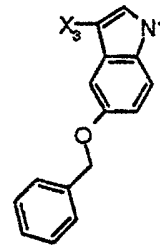
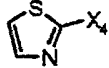
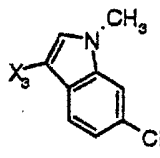
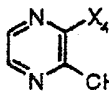
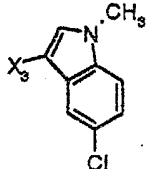
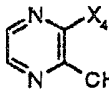
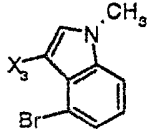
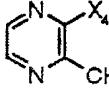
20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
135	-H		
136	-H		
137	-H		
138	-H		
139	-H		
140	-H		
141	-H		
142	-H		
143	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
144	-H		
145	-H		
146	-H		
147	-H		
148	-H		
149	-H		
150	-H		
151	-H		
152	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
153	-H		
154	-H		
155	-H		
156	-H		
157	-H		
158	-H		
159	-H		
160	-H		
161	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
162	-H		
163	-H		
164	-H		
165	-H		
166	-H		
167	-H		
168	-H		
169	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
170	-H		
171	-H		
172	-H		
173	-H		
174	-H		
175	-H		
176	-H		
177	-H		
178	-H		
179	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
180	-H		
181	-H		
182	-H		
183	-H		
184	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{X}_1 \end{matrix}$		
185	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{X}_1 \end{matrix}$		
186	-H		
187	-H		
188	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
189	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{X}_1 \end{array}$		
190	-H		
191	-H		
192	-H		
193	-H		
194	-H		
195	-H		
196	-H		
197	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
198	-H		
199	-H		
200	-H		
201	-H		
202	-H		
203	-H		
204	-H		
205	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
206	-H		
207	-H		
208	-H		
209	-H		
210	-H		
211	-H		
212	-H		
213	-H		
214	-H		

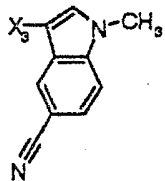
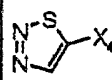
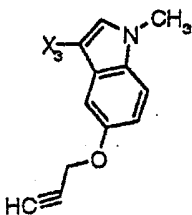
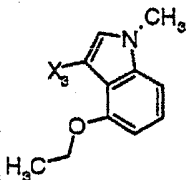
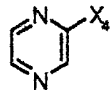
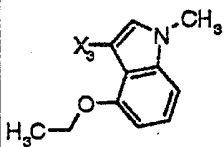
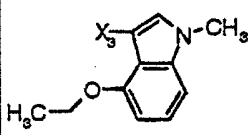
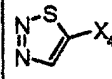
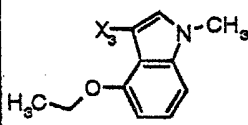
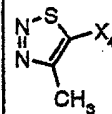
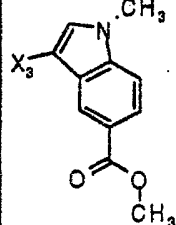
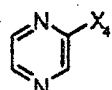
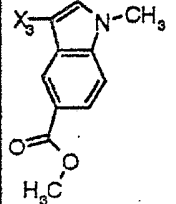
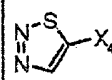
20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
215	-H		
216	-H		
217	-H		
218	-H		
219	-H		
220	-H		
221	-H		
222	-H		

20.05.02

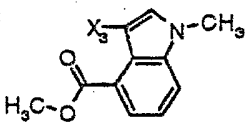
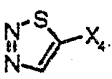
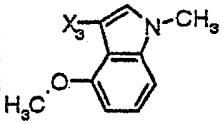
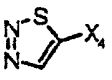
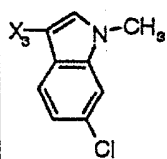
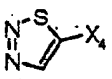
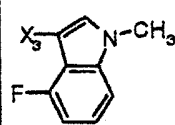
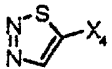
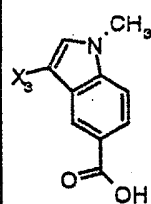
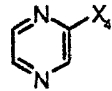
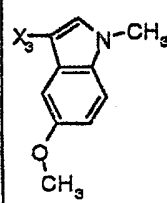
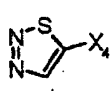
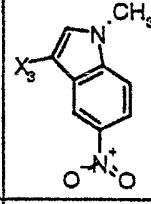
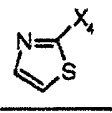
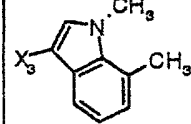
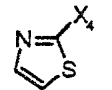
	R1	R3	R4-(Het)
223	-H		
224	-H		
225	-H		
226	-H		
227	-H		
228	-H		
229	-H		
230	-H		

20.05.00

	R1	R3	R4-(Het)
231	-H		
232	-H		
233	-H		
234	-H		
235	-H		
236	-H		
237	-H		
238	-H		

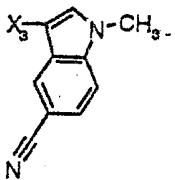
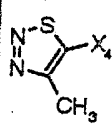
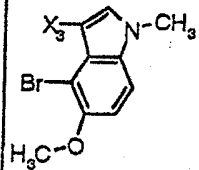
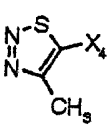
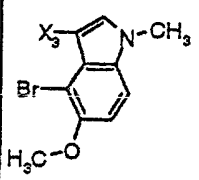
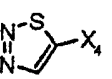
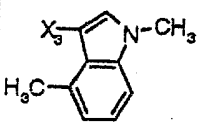
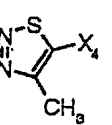
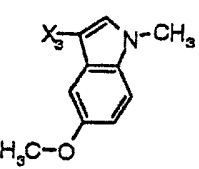
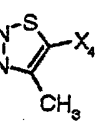
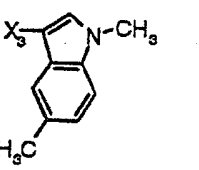
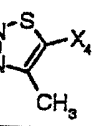
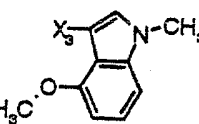
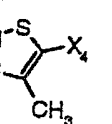
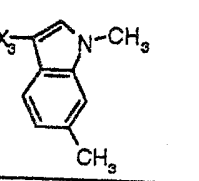
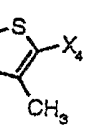
	R1	R3	R4-(Het)
239	-H		
240	-H		
241	-H		
242	-H		
243	-H		
244	-H		
245	-H		
246	-H		

20.05.02

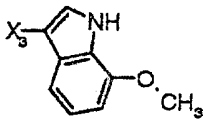
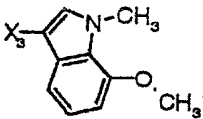
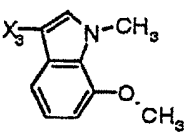
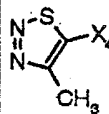
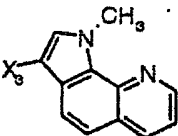
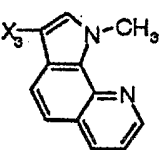
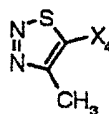
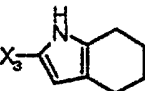
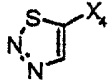
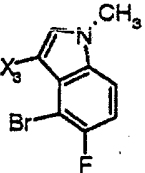
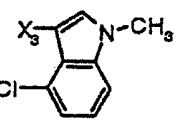
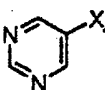
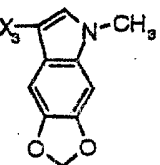
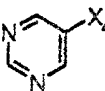
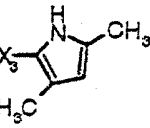
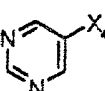
	R1	R3	R4-(Het)
247	-H		
248	-H		
249	-H		
250	-H		
251	-H		
252	-H		
253	-H		
254	-H		

20.05.02

	R1	R3	R4-(Het)
255	-H		
256	-H		
257	-H		
258	-H		
259	-H		
260	-H		
261	-H		
262	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
263	-H		
264	-H		
265	-H		
266	-H		
267	-H		
268	-H		
269	-H		
270	-H		

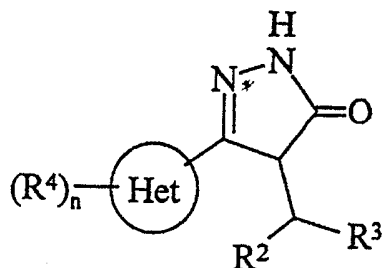
	R1	R3	R4-(Het)
271	-H		
272	-H		
273	-H		
274	-H		
275	-H		
276	-H		
277	-H		
278	-H		
279	-H		
280	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
281	-H		
282	-H		
283	-H		
284	-H		
285	-H		
286	-H		
287	-H		
288	-H		
289	-H		
290	-H		

	R1	R3	R4-(Het)
291	-H		
292	-H		
293	-H		
294	-H		
295	-H		
296	-H		
297	-H		

a R¹ a R² znamenají spolu dohromady uvedenou skupinu
tedy R¹ a R² = [-CH₂CH₂-N(CH₃)-CH₂CH₂-]

Tabulka Ia



	R1	R2	R3	R4-(Het)
77	-H	-H		
78	-H			

V tabulkách I a Ia se značky X^1, X^2, X^3, X^4 vztahují k připojeným substituentům R^1, R^2, R^3 a R^4 .

Sloučeniny v tabulkách I a Ia jsou charakterizovány pomocí hmotové spektrografie (MS) a kapalinové vysoce výkonné chromatografie (HPLC). Výsledky jsou shrnuty v tabulce II.

Tabulka II

Sloučení- na číslo	Mol. hmotn. vypoč.	Mol. hmotn. nalezeno	HPLC ret. doba min *	HPLC podmínky sloupce a gradientu
1	255	256	10,84	A
2	369	370	14,94	A
3	266	267	5,98	A
4	340	341	13,67	B
5	403	404	14,60	B
6	493	494	13,94	B
7	485	487	12,89	B
8	399	401	13,01	B
9	277	279	9,57	B
10	266	267	6,21	A
11	307	309	8,77	B
12	227	229	9,80	A
13	322	323	9,00	A
14	300	301	9,05	A
15	228	229	4,70	A
16	335	336	10,82	A
17	312	312	11,75	A
18	383	384	13,24	A
19	295	297	10,96	A
20	291	292	11,81	A
21	383	384	12,03	A
22	291	292	11,27	A
23	268	269	7,88	B
24	290	291	8,72	B

- 82 -
20.05.02

25	294	295	10,10	B
26	272	273	10,54	B
27	283	284	10,52	B
28	255	256	10,51	B
29	277	278	9,82	B
30	266	267	5,47	B
31	396	397	11,82	A
32	308	-	10,64	A
33	304	-	10,35	A
34	304	-	10,38	A
35	325	325	11,17	A
36	283	284	11,27	B
37	271	272	10,76	B
38	293	294	10,27	B
39	321	322	12,82	B
40	348	349	16,00	B
41	380	381	15,54	B
42	402	402	12,78	B
43	383	384	13,35	A
44	383	384	13,38	A
45	291	292	12,13	A
46	291	292	10,64	B
47	291	292	11,54	A
48	295	296	11,18	A
49	312	312	12,00	A
50	335	336	11,09	A
51	307	308	9,71	B
52	281	282	5,09	B
53	242	243	4,33	B
54	228	229	3,82	B
55	268	269	10,46	B

- 83 -
20.05.00

56	308	309	8,31	B
57	305	306	13,46	B
58	327	328	12,15	B
59	341	342	13,69	B
60	308	309	11,25	B
61	271	272	11,00	B
62	293	294	10,37	B
63	307	308	11,57	B
64	347	348	10,39	B
65	330	331	10,80	A
66	346	347	11,55	A
67	330	331	8,80	A
68	367	368	14,02	A
69	367	368	14,29	A
70	384	385	14,42	A
71	411	412	14,29	A
72	429	430	13,63	B
73	350	351	13,48	B
74	267	268	9,89	B
75	383	384	10,40	B
76	304	305	10,66	B
79	424	423, 425	4,92	B
80	317	318	13,95	B
81	353	354	10,77; 13,9	B
82	287	288	9,70	B
83	323	324	10,40	B
84	283	284	9,65	B
85	319	320	10,64	B
86	326	327	11,72	B
87	316	315	8,53	A
88	281	282	8,41	B

84 -
20.05.00

89	317	318	9,20	B
90	334	334, 336	10,36	A
91	273	273, 275	8,73	B
92	307	307, 309	9,36	B
93	298	299	7,91	B
94	298	299	7,73	B
95	256	257	8,02	B
96	373	374	10,2; 11,44	A
97	341	342	11,79	A
98	254	255	6,59	B
99	299	300	6,32	B
100	299	300	7,11	B
101	318	319	9,08	B
102	281	282	10,70	B
103	317	318	11,13	B
104	358	358, 360	11,53	B
105	343	343, 345	12,62	B
106	309	310	11,47	B
107	326	326	12,33	B
108	309	310	8,55	B
109	325	326	11,87	B
110	342	342, 344	12,74	B
111	325	326	11,90	B
112	342	342, 344	12,76	B
113	326	327	10,36	B
114	341	342	9,40	B
115	366	367	10,74	B
116	381	382	9,18	B
117	398	399	12,03	B
118	435	435	15,99	B
119	303	304	9,62	B

85
20.05.00

120	321	322	10,16	B
121	361	362	10,12	B
122	266	267	8,11	B
123	284	285	7,66	B
124	245	246	2,49	B
125	244	245	7,54	B
126	306	307	9,27	B
127	328	329	10,03	B
128	338	338, 340	11,81	B
129	321	322	10,97	B
130	333	334	10,97;13,14	B
131	333	334	10,35	B
132	322	323	12,01	B
133	382	382, 384	12,21	B
134	321	322	10,80	B
135	254	255	3,90	B
136	316	317	8,65	B
137	326	327	11,51	B
138	317	318	11,34	B
139	347	348	10,49	B
140	333	334	10,44	B
141	338	338, 340	11,59	B
142	338	339	11,26	B
143	343	343,345	12,21	B
144	352	353	11,25	B
145	317	318	11,50	B
146	317	318	11,61	B
147	363	364	9,29	B
148	352	352, 354	12,66	B
149	364	364, 366	13,00	B
150	317	318	11,44	B

-86-
20.05.02

151	304	305	8,70	B
152	371	372	12,72	B
153	275	276	11,50	A
154	275	276	11,52	A
155	357	358	11,04	B
156	333	334	10,67	B
157	338	338, 340	12,16	B
158	382	382, 384	12,47	B
159	382	382, 384	11,72	B
160	429	430	12,68	B
161	409	410	12,94	B
162	339	340	11,44	B
163	343	343, 345	13,14	B
164	344	345	12,17	B
165	409	410	15,11	B
166	414	415	15,41	B
167	331	332	11,27	B
168	352	352, 354	11,66	B
169	396	396, 398	11,57	B
170	378	379	11,83	B
171	303	304	10,60	B
172	402	402, 404	12,18	B
173	341	342	11,48	B
174	309	310	9,76	B
175	344	342, 344	10,21	B
176	345	345, 347	12,39	A
177	387	387, 389	13,21	A
178	295	296	10,20	A
179	369	-	11,52	A
180	349	350	10,84	A
181	383	384	11,05;7,82	B

87
20.05.02

182	398	399	10,57	B
183	327	328	10,52	B
184	281	282	11,47	C
185	317	318	12,06	C
186	344	344, 346	11,45	B
187	358	358, 359	12,31	A
188	374	374, 376	11,54	A
189	352	352, 354	13,58	C
190	352	353	9,43	C
191	370	371	9,83	C
192	391	392	11,73	B
193	388	388, 390	11,53	B
194	345	346	11,02	B
195	344	344, 346	11,35	B
196	323	324	11,17	B
197	431	431, 433	9,44	C
198	464	464, 466	13,17	B
199	459	460	11,72	B
200	348	349	10,85	B
201	323	324	10,94	B
202	379	380	12,13	B
203	412	412, 414	11,62	B
204	316	317	8,79	B
205	434	434, 436	14,97	C
206	373	374	14,37	C
207	355	356	13,84	C
208	319	320	13,41	C
209	353	354	10,14	B
210	348	349	9,98	B
211	361	-	9,40	B
212	464	-	13,28	B

88
20.05.02

213	467	468	12,74	A
214	447	448	12,94	B
215	379	380	14,79	A
216	443	444	12,84	C
217	463	464	14,22	C
218	406	406, 408	11,95	C
219	400	400, 402	11,53	C
220	420	420, 422	12,18	C
221	405	405, 407	13,24	C
222	347	348	8,43	C
223	448	-	12,37; 14,41	C
224	449	-	13,47	C
225	401	401, 403	14,27	C
226	402	402, 404	13,35	C
227	416	416, 418	13,54	C
228	396	396, 398	12,80	C
229	333	334	10,90	B
230	317	318	8,02	B
231	334	335	9,89	B
232	362	363	11,64	B
233	347	348	11,28	B
234	352	353	12,49	B
235	353	354	11,72	B
236	367	368	11,60	B
237	361	362	10,49	B
238	367	368	10,12	B
239	381	382	10,28	B
240	363	364	10,94	B
241	388	388, 390	11,85	B
242	322	323	12,83	B
243	322	323	12,75	C

89
20.05.02

244	323	324	11,11	B
245	435	436	11,95	B
246	338	339	11,39	B
247	367	368	10,82	B
248	339	340	11,12	C
249	344	344, 346	12,02	C
250	327	328	10,97	C
251	347	348	8,00	C
252	339	340	10,50	C
253	353	354	12,00	C
254	322	323	12,68	C
255	352	353	9,21	C
256	322	323	12,89	C
257	329	329, 331	12,31	C
258	352	353	10,64	C
259	338	339	11,45	C
260	338	339	11,20	C
261	353	354	10,51	C
262	367	368	10,45	C
263	348	349	10,22	C
264	432	432, 434	-	-
265	418	418, 420	11,45	C
266	337	338	11,16	C
267	353	354	10,49	C
268	337	338	11,39	C
269	353	354	11,12	C
270	337	338	11,72	C
271	363	364	11,19	C
272	383	384	12,54	C
273	369	370	12,49	C
274	368	369	12,61	C

- 90 -
20.05.02

275	293	294	11,38	C
276	298	299	12,86	C
277	313	314	11,68	C
278	464	465	12,09	B
279	417	417, 419	11,86	B
280	387	387, 389	13,08	B
281	324	325	11,10	C
282	338	339	12,41	B
283	353	354	11,42	B
284	359	360	13,73	C
285	374	375	12,38	C
286	299	300	11,20	C
287	388	388	12,80	C
288	338	338, 340	9,71	C
289	347	348	8,42	C
290	267	268	7,78	C
291	390	390	14,95	C
292	380	381	13,67	C
293	347	348	9,70	C
294	399	400	13,68	C
295	397	398	7,81	C
296	222	223	5,01	A
297	310	311	11,19	A

Způsob A- Zorbax C8, 10 % AcCN 90 % H₂O; 100 % AcCN ve 20 min při 1,6 mL/min na HP 1100.

Způsob B- Zorbax C8, 10 % AcCN 90 % H₂O; 100 % AcCN ve 20 min při 1,6 mL/min na HP 1050.

Způsob C- Zorbax C8, 10 % AcCN 90 % H₂O; 100 % AcCN ve 20 min při 1,6 mL/min na HP 1090.

Příklad 12

Příprava 4-[(1-methylindol-3-yl)methylen]-3-(4-(2-naftyl)(1,3-thiazol-2-yl))-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 118)

a) Příprava 3-(4-(2-naftyl)-1,3-thiazol-2-yl)-2-pyrazolin-5-onu VIg

Směs bromethyl-2-naftylketonu (1,78 g, 6,8 mmol), ethyl-esteru 2-thiooxalamové kyseliny (1g, 7,5 mmol) v absolutním ethanolu se udržuje šest hodin na teplotě zpětného toku. Směs se nechá vychladnout na teplotu místnosti. Vyloučený pevný produkt se odfiltruje, promyje se ethanolem a vysuší se, čímž se získá žádaný ester, ethyl-4-(2-naftyl)-1,3-thiazol-2-karboxylát IIIb (0,862 g, 48 % teorie). MS: 284 (M+H). Do směsi esteru IIIb (800 mg, 2,82 mmol) v suchém methylacetátu (10 ml) se přidá hydrid sodný (60% disperze v minerálním oleji, 135 mg, 3,37 mmol). Směs se míchá půl hodiny při teplotě místnosti a dvě hodiny při teplotě zpětného toku. Směs se vlije do studené vody a neutralizuje se koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Po nasycení směsi chloridem sodným se směs extrahuje 2x dichlormethanem. Spojený extrakt se promyje solankou. Po vysušení síranem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří a získá se β -ketoester, ethyl-3-(4-(2-naftyl)(1,3-thiazol-2-yl))-3-oxopropanoát, kterého se použije v následujícím stupni bez čištění. Do β -ketoesteru se přidá absolutní ethanol (10 ml) a hydrazinhydrát (1 ml v nadbytku). Směs se udržuje čtyři hodiny na teplotě zpětného toku. Po vychladnutí se ze směsi odpaří rozpouštělo. Výsledná směs se podrobí chromatografii na silikage-lu s ethylacetátem jako elučním činidlem. Pyrozolon VIg se izoluje v podobě pevné látky, která se dále čistí promytím diethyletherem (například mícháním v přibližně 50 ml diethyletheru s následnou filtrací a promytím diethyletherem). Výtěžek je 287 mg (35 % ve dvou stupních). MS: 294 (M+H).

b) Příprava sloučeniny 118

Směs pyrazolonu VIg (50 mg, 0,17 mmol), indol-3-karboxaldehydu (30 mg, 0,19 mmol) v absolutním ethanolu (1 ml) spolu se 2 až 3 kapkami piperidinu se míchá 3 hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Produkt, vyloučený v podobě pevné látky, se odfiltruje a promyje se ethanolem. Vysušením se získá 52 mg sloučeniny 118 v podobě jediného geometrického isomeru.

Příklad 13

Příprava 4-[(5-methyl)(2H-1,3-dioxoleno [4,5-f]indol-7-yl)-methylen]-3-(1,3-thiazol-2-yl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 144)

a) Příprava 5,6-methylendioxy-1-methylindol-3-karboxaldehydu

Do ledově studeného dimethylformamidu (50 ml, v nadbytku) se přikape oxychlorid fosforečný (8 ml, 85,7 mmol). Po přidání se směs míchá pět minut při teplotě 0 °C a 45 minut při teplotě místnosti. Směs se ochladí na teplotu 0 °C a po částech se přidá 5,6-methylendioxyindol (10 g, 62,1 mmol). Po ukončeném přidání se směs míchá 10 minut při teplotě 0 °C, 20 minut při teplotě místnosti a nakonec šest hodin při teplotě 60 °C. Směs se nechá vychladnout na teplotu místnosti, ochladí se na 0 °C a přidá se 1N roztok hydroxidu sodného (150 ml). Směs se míchá 30 minut při teplotě místnosti a získá se homogenní roztok. Do reakční směsi se přidá 100 ml vody a v míchání se pokračuje přes noc při teplotě místnosti. Výsledný 5,6-methylendioxyindol-3-karboxaldehyd, vyloučený v podobě pevné látky, se odfiltruje, promyje se vodou (pak hexanem) a vysuší se. Filtrát poskytuje další produkt po 3-násobné extrakci ethylacetátem. Spojené organické extrakty se promyjí postupně vodou a solankou. Po vysušení síranem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří. Získá se pevná látka, která se suspenduje ve 100 ml diethylet-

heru, několik minut se prozvučí a odfiltruje se. Pevná látka se dále promyje diethyletherem a vysuší se. Získá se 8,08 g (69 % teorie) surového 5,6-methylenedioxyindol-3-karboxaldehydu, který se podrobí N-methylaci bez dalšího čištění. Do studeného (0 °C) roztoku 5,6-methylenedioxyindol-3-karboxaldehydu (8 g, 42,32 mmol) v suchém dimethylformamidu (40 ml) se přidá hydrid sodný (60% disperze v minerálním oleji, 2,1 g, 52,5 mmol). Výsledná směs se míchá 30 minut při teplotě 0 °C. Do reakční směsi se přikape jodomethan (5 ml, 80,3 mmol). Směs se míchá 15 minut při teplotě 0 °C a dvě hodiny při teplotě místnosti. Směs se ochladí na teplotu 0 °C a reakce se ukončí přidáním vody. Směs se dále zředí vodou (přibližně 700 ml). Získaný pevný produkt, 5,6-methylenedioxy-1-methylindol-3-karboxaldehyd, se odfiltruje a promyje (vodou, pak hexanem) a vysuší se. Získá se 6,2 g (72 % teorie) žádaného produktu.
MS: 204 (M+H).

b) Příprava sloučeniny 144

Směs pyrazolonu VIa (0,030 g, 0,17 mmol), 5,6-methylenedioxy-N-methylindol-3-karboxyaldehydu (0,040 g, 0,197 mmol) a ethanolu (2 ml) v přítomnosti 2 až 3 kapek piperidinu se udržuje přibližně 1 hodinu na teplotě 85 °C, kdy se začne objevovat oranžová pevná látka. Směs se ochladí v ledové lázni a pevná látka se odfiltruje, promyje se ethanolem a vysuší se, čímž se získá sloučenina 144 (54 mg, 90 % teorie) v podobě žluto-oranžové pevné látky.

Příklad 14

Příprava 4-[(4 chlor-1-methylindol-3-yl)methylen]-3-pyrazin-2-yl-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 189)

a) Příprava 3-pyrazin-2-yl-2-pyrazolin-5-onu VIh

Suspenze ethylpyrazin-2-karboxylátu (10 g, 66 mmol) v methylacetátu (40 ml) a hydridu sodného (60% disperze v minerálním oleji, 3,7 g, 97 mmol, 1,47 ekvivalentu) se udržuje jednu hodinu na teplotě zpětného toku. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti, neutralizuje se kyselinou octovou a extrahuje se ethylacetátem. Rozpouštědlo se odpaří a získá se β -ketoester Vc (6,35 g) v podobě špinavě bílé pevné látky. [MS:179, (M-H)]. Směs esteru Vc (0,5 g, 2,8 mmol), methylhydrazinu (0,16 g, 3,4 mmol) v ethanolu (3 ml) se udržuje přes noc na teplotě zpětného toku. Výsledná sraženina se odfiltruje, čímž se získá pyrazolon VIh v podobě oranžové pevné látky (0,3 g, 1,7 mmol).

b) Příprava sloučeniny 189

Směs pyrazolonu (VIh) (0,035 g, 0,2 mmol), piperidinu (0,01 mmol), ethanolu (1 ml) a 4-chlor-1-methylindol-3-karboxaldehydu (0,046 g, 0,24 mmol) se udržuje na teplotě zpětného toku. Výsledná sraženina se odfiltruje, čímž se získá sloučenina 189 jako jasně oranžová pevná látka (0,036 g, 0,10 mmol).

Příklad 15

Příprava 3-[5-(dimethylamino)-(1,3,4-thiadiazol-2-yl)]-4-[(1-methylindol-3-yl)methylen]-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 190)

a) Příprava 3-[5-(dimethylamino)]-1,3,4-thiadiazol-2-yl)]-2-pyrazolin-5-onu VII

Roztok 4,4-dimethyl-3-thiosemikarbazidu (2,0 g, 16,8 mmol) a ethylchloroacetátu (2,3 g, 16,8 mmol) se míchá v inertním prostředí a ochladí se na 0 °C v ledové lázni. Pomalu se přidají 2 ml kyseliny sírové. Po ukončení přísady se ledová lázeň odstaví a reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se tři hodiny. Do bílé heterogenní směsi se přidá ethyl-

20.05.02

acetát (100 mg a organická vrstva se promyje dvakrát 2% roztokem hydrogenuličitanu sodného a solankou. Organická vrstva se vysuší bezvodým síranem hořečnatým a odpaří se. Zbylá pevná látka se rozpustí v ethylacetátu a žádaná sloučenina se vysráží etherem, čímž se získá ethyl-5-(dimethylamino)-1,3,4-thiadiazol-2-karboxylát IIIc (1,9 g, 9,4 mmol). Ester IIIc se rozpustí v bezvodém methylacetátu (4 ml) a roztok se promyje inertním prostředím. Do získaného žlutého roztoku se přidá hydrid sodný (60% disperze v minerálním oleji, 0,53 g, 13,25 mmol), čímž vznikne světle žlutá sraženina. Reakční směs se zahřeje na teplotu 65 °C za přesmyku na světle zelenou sraženinu. Přidá se další methylacetát (4 ml) a během 10 minut se reakční směs změní v tříslově zbarvenou pevnou látku. Reakční směs se odstaví z ohřevu a přidá se další methylacetát (20 ml). Směs se neutralizuje kyselinou octovou. Pevná látka se odfiltruje a filtrát se odpaří. Pevná látka z filtrátu se promyje etherem, čímž se získá žádaný β -ketoester, ethyl-3-[5-dimethylamino)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)]-3-oxopropanoát Vd (5,2 mmol) v podobě žluté pevné látky. Směs β -ketoesteru Vd (1,2 g, 1,31 mmol), ethanolu (2 ml) a hydrazinhydrátu (0,063 g, 1,96 mmol) se udržuje dvě hodiny na teplotě 65 °C. Sraženina se odfiltruje, čímž se získá pyrazolon VIIi (0,075, 0,36 mmol) v podobě světle žluté pevné látky.

b) Příprava sloučeniny 190

Směs pyrazolonu VIIi (0,035 g, 0,166 mmol), 1-methylindol-3-karboxaldehydu (0,032 g, 0,2 mmol) a ethanolu (1 ml) se zahřeje na teplotu 65 °C a míchá se přes noc. Vytvořená oranžová sraženina se odfiltruje, čímž se získá sloučenina 190 (0,024 g, 0,068 mmol).

Příklad 16

Příprava 4-[(1-methyl-4-fenylindol-3-yl)methylen]-3-pyrazin-

20.05.00

-2-yl-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 202)

a) Příprava 4-fenyl-1-methylindol-3-karboxaldehydu

Do ledově studeného roztoku dimethylformamidu (5 ml, v nadbytku) se přikape oxychlorid fosforečný (0,8 ml, 8,57 mmol). Po přidání se směs míchá pět minut při teplotě 0 °C a 45 minut při teplotě místnosti. Směs se ochladí na teplotu 0 °C a po částech se přidá 4-bromindol (1 g). Po ukončeném přidání se směs míchá 10 minut při teplotě 0 °C, 20 minut při teplotě místnosti a nakonec šest hodin při teplotě 60 °C. Směs se nechá vychladnout na teplotu místnosti, pak se ochladí na 0 °C a následuje přidání 1N roztoku hydroxidu sodného (15 ml). Směs se míchá 30 minut při teplotě místnosti a během zpracování vodou se vytvoří pevná látka, která se nepřeveďe do roztoku ani po krátkém ohřátí. Pevná látka se odfiltruje, promyje a vysuší se, čímž se získá 0,77 g produktu, který se podrobí N-methylaci bez dalšího čištění.

Do studeného (0 °C) roztoku 4-bromindol-3-karboxaldehydu (0,767 g, 3,4 mmol) v suchém dimethylformamidu (2 ml) se přidá hydrid sodný (60% disperze v minerálním oleji, 173 mg, 4,37 mmol). Výsledná směs se míchá 20 minut při teplotě 0 °C. Do reakční směsi se přikape jodmethan (0,8 ml v nadbytku). Chladicí lázeň se odstaví a výsledná směs se míchá 1,5 hodiny při teplotě místnosti. Směs se ochladí vodou a opakovaně se extrahuje ethylacetátem. Spojené organické extrakty se promyjí 2x vodou a solankou. Po vysušení síranem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří. Získaná pevná látka se vyjme do hexanu prozvučí se 30 minut a odfiltrováním se získá 4-brom-1-methylindol-3-karboxaldehyd (0,687 g, 85% výtěžek). Směs 4-brom-1-methylindol-3-karboxaldehydu (109 mg, 0,45 mmol), fenyloborité kyseliny (85 mg, 0,69 mmol) v dimethylformamidu (4 ml) se odplyn (argonem). Do směsi se přidá bis(trifenylfosfin)chlorid palladnatý (25 mg, 0,035 mmol), následně 2M roztok uhličitanu sodného

(2 ml, 4 mmol) a směs se míchá 18,5 hodin v prostředí argonu při teplotě 100 °C a pak tři hodiny na teplotě zpětného toku. Směs se ochladí na teplotu místnosti, zředí se vodou a extrahuje se opakovaně ethylacetátem. Spojené extrakty se promyjí vodou (2x) a solankou. Po vysušení síranem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří ve vakuu a surový produkt se čistí bleskovou chromatografií (hexan:ethylacetát 1:1). Žádaný produkt se izoluje v podobě sirupu (79 % teorie). MS: 236, 238.

b) Příprava sloučeniny 202

Směs pyrazolonu VIe (40 mg, 0,24 mmol) a 4-fenyl-1-methyl-indol-3-karboxyaldehydu (84 mg, 0,35 mmol) v absolutním ethanolu (2 ml) v přítomnosti 2 až 3 kapek piperidinu se míchá dvě hodiny při teplotě 80 až 90 °C. Produkt se vyloučí jako pevná látka, odfiltruje se a promyje se ethanolem. Vysušením se získá 81 mg sloučeniny 202 v podobě jediného geometrického isomeru.

Příklad 17

Příprava 4-[(4-brom-1-methylindol-3-yl)methylen]-3-(1-methyl-(1H-indazol-3-yl))-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 205)

a) Příprava 3-(1-methyl-1H-indazol-3-yl)-2-pyrazolin-5-onu VIj

Směs indazol-3-karboxylové kyseliny (5 g, 31 mmol), chlor-trimethylsilanu (34 g, 310 mmol) a methanolu (50 ml) se míchá přes noc. Rozpouštědlo se odpaří k získání žlutého produktu (4 g, 74 % teorie). Suspenze methylesteru (4 g, 23 mmol), hydridu sodného (1,3 g, 35 mmol), jodomethanu (33 g, 230 mmol) a tetrahydrofuranu (60 ml) se míchá přes noc. Směs se neutralizuje a extrahuje se ethylacetátem. Žádaný produkt IIId se oddělí v podobě žluté pevné látky (4 g, 21 mmol). Suspenze esteru IIId (4 g, 21 mmol), hydridu sodného (1,2 g, 32 mmol) a met-

20.05.02

hylacetátu (40 ml) se udržuje čtyři hodiny na teplotě zpětného toku. Směs se neutralizuje kyselinou octovou a produkt se extrahuje ethylacetátem, zkoncentruje se ve vakuu, čímž se získá žádaný β -ketoester, ethyl-3-(1-methyl-1H-indazol-3-yl)-3-oxopropanoát Ve, v podobě oranžové gumy (4,6 g). Směs β -ketoeteru Ve (4,6 g, 20 mmol), hydrazinhydrátu (0,77 g, 24 mmol) a ethanolu (10 ml) se udržuje na teplotě zpětného toku přes noc. Výsledná sraženina se odfiltruje, čímž se získá pyrazolon VIj v podobě bílé pevné látky (1,2 g, 30 % teorie).

b) Příprava sloučeniny 205

Směs pyrazolonu VIj (0,043 g, 0,2 mmol), 4-brom-1-methylindol-3-karboxaldehydu (0,052 g, 0,22 mmol), piperidinu (0,01 mmol) a ethanolu (1 ml) se udržuje 3,5 hodin na teplotě zpětného toku. Výsledná sraženina se odfiltruje, čímž se získá jasně oranžová pevná látka (0,052 g, 60% výtěžek).

Příklad 18

Příprava 4-[(4-jod-1,6-dimethylindol-3-yl)methylen]-3-(1,3-thiazol-2-yl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 223)

a) Příprava 6-methyl-4-jodindol-3-karboxaldehydu

Do roztoku trifluoracetátu trojmocného thalia (1 g, 1,84 mmol) v kyselině trifluoroctové (15 ml) se přidá 6-methylindol-3-karboxaldehyd (200 mg, 1,25 mmol) a výsledná směs se míchá dvě hodiny při teplotě 30 °C. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu (na rotační odparce). Do zbytku se přidá vodný roztok jodidu draselného (2 g, 12 mmol ve 20 ml vody) a směs se míchá při teplotě místnosti přes noc. Směs se alkalizuje vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a extrahuje se opakovaně diethyletheren. Spojené organické vrstvy se promyjí sloankou a vysuší se síranem hořečnatým. Po odpaření rozpouštědla se zís-

20.05.02

ká surový produkt, který se čistí bleskovou chromatografií za použití ethylacetátu jako elučního činidla. Produkt, 6-methyl-4-jod-indol-3-karboxaldehyd, se izoluje v podobě 283 mg pevné látky (79 % teorie) žádaného produktu. MS: 286.

b) Příprava 1,6-dimethyl-4-jodindol-3-karboxaldehydu

Do studeného roztoku (0 °C) 6-methyl-4-jodindol-3-karboxaldehydu (265 mg, 0,92 mmol) v suchém dimethylformamidu (2 ml) se přidá hydrid sodný (60% disperze v minerálním oleji, 50 mg, 1,25 mmol). Výsledná směs se míchá 20 minut při teplotě 0 °C. Přikape se jodmethan (0,5 ml v nadbytku). Chladicí lázeň se odstaví a výsledná směs se míchá 1,5 hodin při teplotě místnosti. Reakce se ukončí přidáním vody a směs extrahuje se opakovaně ethylacetátem. Spojené organické látky se promyjí (2x) vodou a solankou. Po vysušení síranem hořečnatým se rozpouštědlo odstraní. Získá se produkt, 1,6-dimethyl-4-jodindol-3-karboxaldehyd, v podobě pevné látky, která se suspenduje v hexanu, několik minut se míchá a odfiltruje se. Produkt se promyje větším množstvím hexanu a vysuší se, čímž se získá 213 mg (77 % teorie) žádaného produktu. MS: 300 (M+H), 322 (M+Na).

c) Příprava sloučeniny 223

Směs pyrazolonu (VIa) (0,010 g, 0,059 mmol), 1,6-dimethyl-4-jodindol-3-karboxaldehydu (0,020 g, 0,06 mmol) a ethanolu (2 ml) v přítomnosti 2 až 3 kapek piperidinu se udržuje přibližně 2 hodiny na teplotě přibližně 85 °C. Směs se ochladí na ledové lázni a pevná látka se odfiltruje, promyje se ethanolem a vysuší se, čímž se získá sloučenina 223 (21 mg) v podobě směsi 70:30 isomerů (E:Z). HPLC: R_t 14,41 min a 12,347 min (způsob C).

20.05.03

Příklad 19

Příprava 4-[(1-methyl-4-fenylindol-3-yl)methylen]-3-pyridino-
-[3,4-elpyridin-2-yl-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 295)

a) Příprava 3-pyridin-[3,4-elpyridin-2-yl-2-pyrazolin-5-onu
VIk

Do směsi 1,6-nafthydridin-2-karboxylové kyseliny (1 g, 5,7 mmol) a 100 ml ethanolu se opatrně přidá přibližně 0,5 ml koncentrované kyseliny sírové. Směs se udržuje na teplotě zpětného toku přes noc. Směs se ochladí na teplotu místnosti a rozpouštědlo se odpaří. Do zbytku se opatrně přidá (vývoj oxidu uhličitého) polonasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného k neutralizaci kyseliny. Směs se extrahuje ethylacetátem (3x) a spojené organické látky se promyjí solankou. Po vysušení síranem hořečnatým se rozpouštědlo odpaří. Produkt, methylester 1,6-nafthydridin-2-karboxylové kyseliny IIIe, se izoluje v podobě pevné látky (932 mg, 87% teorie) a použije se v následujícím stupni bez čištění. Směs esteru IIIe (322 mg, 1,71 mmol) a methylacetátu (suchý, 10 ml) se zpracuje hydridem sodným (60% disperze v minerálním oleji, 100 mg, 2,5 mmol) a výsledná směs se udržuje dvě hodiny na teplotě zpětného toku, přičemž se vytváří koláč. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti a rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se zpracuje přibližně 20 ml vody. Směs se neutralizuje koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Získá se pevná látka, která se odfiltruje, promyje se (vodou, pak hexanem) a vysuší se. Výtěžek: 158 mg (40 % teorie). Produktu, ethyl-3-oxo-3-pyridin-[3,4-elpyridin-2-yl-propanoátu Vf se použije v následujícím stupni bez dalšího čištění.

Směs β -ketoesteru (Vf) (153 mg, 0,66 mmol), hydrazinhydrátu (25 μ l, 0,8 mmol) v absolutním ethanolu (5 ml) se udržuje na teplotě zpětného toku. Po jedné hodině se přidá více hydrazinhydrátu (75 μ l, 2,4 mmol) a směs se dále udržuje pod zpět-

20.05.02

ným chladičem. Pevná látka se vysráží. Po třech hodinách se směs ochladí (na ledové lázni) a pevná látka se odfiltruje, promyje se (studeným ethanolem) a vysuší se k získání produktu, 1,6-naftyridinylpyrazolonu VIk, 66 mg (47 % teorie). MS: 213.

b) Příprava sloučeniny 295

Směs pyrazolonu VIk (10 mg, 0,047 mmol), 5,6-methylendioxy-1-methylindol-3-karboxaldehydu (11 mg, 0,054 mmol) v 1 ml absolutního ethanolu spolu s kapkami piperidinu se udržuje za míchání na teplotě 85 až 90 °C. Oddělí se pevná látka. Po dvou hodinách se směs nechá vychladnout na teplotu místnosti a pevná látka se odfiltruje, promyje se ethanolem a vysuší se, čímž se získá produkt (11 mg, 59 % teorie). MS: 398 (M+H).

Příklad 20

Příprava 4-[(dimethylamino)methylen]-3-(1,3-thiazol-2-yl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 296)

Do roztoku pyrazolonu VIa (250 mg, 1,5 mmol) v suchém tetrahydrofuranu (12 ml) se přidá N,N-dimethylformamid-di-terc-butylacetal (0,319 g, 1,05 ekvivalentu) a reakční směs se udržuje 15 minut na teplotě zpětného toku. Chromatografie v tenké vrstvě TLC (10 % methanolu-chloroform) dokládá úplnou konverzi pyrazolonu ($R_f=0,08$) na nový produkt ($R_f=0,17$). Zkoncentruje se sloučenina 296 v podobě pevné látky.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 11,26 (s, 1H, enolické), 8,69 (s, 1H=CH), 7,86 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,33 (s, 3H); elektro-sprej MS, m/z 223 $[M+1]^+$ základní pík; HPLC $R_t=5,01$ min. proti $R_t=4,06$ min. pro pyrazolon (VIa) (způsob A).

20.05.00

Příklad 21

Příprava 4-[(2-hydroxyindol-3-yl)methylen]-3-(1,3-thiazol-2-yl)-2-pyrazolin-5-onu (sloučenina 297)

Sloučenina 296 se vyjme do suchého ethanolu (18 ml) a přidá se terc-butoxid draselný (0,5 ml, 1,0 M roztok v tetrahydrofuranu) a následně oxindol (200 mg, 1,5 mmol) a reakční směs se udržuje na teplotě zpětného toku a sleduje se chromatografií HPLC a TLC (10 % methanol-chloroform). HPLC vykazuje po 4,5 hodinách novou sloučeninu s retenční dobou 11,20 min (způsob A). Reakce se ukončí po 46 hodinách a reakční směs se zkoncentruje za vzniku surového produktu (215 mg) v podobě tmavočervené pevné látky: elektrosprej MS, m/z 311 $[M+1]^+$. Vzorek surového produktu (35 mg) se čistí chromatografií na vrstvě C8 SEP-PAK (velikost 35 cm²) za použití směsi 15 acetonitrilu-voda až postupně 60 % acetonitrilu-voda. Odpařením rozpouštědla z frakce obsahující produkt se získá sloučenina 297 (11 mg) v podobě červeno-žluté pevné látky.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 13,22 (bs, 1H), 11,61 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,5 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 7,11 (m, 1H), 7,00 (m, 1H), 3,66 (bs, 1H);

¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 171,2, 163,0, 159,2, 157,0, 146,6, 144,8, 138,7, 131,7, 128,4, 127,3, 123,7, 121,6, 119,5, 117,9, 112,0.

MS 311 $[M+H]$, HPLC: R_t =11,19 min (způsob A).

Výchozí heterocyklické methylketony nebo estery jsou buď obchodně dostupné nebo se odpovídající kyseliny převádějí na odpovídající methylestery nebo ethylestery o sobě známými způsoby (například Fischer esterification, alcohol and MTS chloride (příklad 17) například za použití TMS-diazomethanu nebo diazomethanu). Následující heterocyklické esterové deriváty, ethylester [1,2,3]thiadiazol-5-karboxylové kyseliny a ethylester 4-fenyl- [1,2,3]thiadiazol-5-karboxylové kyseliny se při-

20.05.00

pravují způsobem popsaným v literatuře (Shafiee A., Lalezari I., Mirrashed M., Nercesian D.J., *Heterocyclic Chem.* 14, str.567 až 571, 1977) a je jich použito k přípravě sloučenin 183, 186, 193, 194, 195, 196, 201, 209, 218, 224, 226, 231, 235, 238, 240, 241, 244, 245, 247, 248, 249, 250, 252, 265, 273, 286 a 198 způsobem podle schemat 1, 2 a 3 a podobnými způsoby jako podle příkladu 8. Ethylester [1,2,3]selenadiazol-5-karboxylové kyseliny se připravuje způsobem popsaným v literatuře (Lalezari I., Shafiee A., Yalpani M., *J. Org.Chem.* 36, str.2836, 1971) a používá se k přípravě sloučenin 188 a 192 podobným způsobem jako podle příkladu 8. 1-Methyl-5-methoxy-4-nitroindol-3-karboxaldehyd se připravuje způsobem, který popsali Naylor M., Jaffar M., Nolan J., Stephens M.A., Butler S., Patel K.B., Everett S.A., Adams G.E., Stratford I.J. (*J. Med. Chem* 40, str. 2335, 1997) a používá se k přípravě sloučenin 170, 180 a 182 způsobem podle příkladu 1.

S použitím chemie thalia se připravuje 4-jod-5-methoxyindol-3-karboxaldehyd způsobem, který popsali Moody C.J. a Swann E.J. (*Chem Soc. Perkin* 1, 21, str.2561, 1993) a 5-chlor-4-jodindol-3-karboxyldehyd se připravuje způsobem, který popsal Ohta T., Yamato Y., Tahira H., Somei M. (*Heterocycles* 11, str. 2817, 1987 a příslušné odkazy). Tyto deriváty se pak nechají reagovat s hydridem sodným a jodmethanem v dimethylformamidu k získání odpovídajících N-methylderivátů, kterých se použije k přípravě sloučenin 190, 280 a 212, způsobem popsaným v příkladu 1. Obecným způsobem, který popsal Ohta T., Yamato Y., Tahira H., Somei M. (*Heterocycles* 11, str. 2817, 1987 a příslušné odkazy), použitým k přípravě 5-chlor-4-jodindol-3-karboxaldehydu, se připravují 4-halogenované deriváty pro řadu obchodně dostupných 5-nebo 6-substituovaných indol-3-karboxylaldehydů chemickým postupem zprostředkovaným thaliem, za použití (i) reakce thallium-tris-fluoracetátu následované (ii) reakcí s elektrofilem, jako je jodid draselný nebo bromid měďnatý. Výsledné 4,5-disubstituované nebo 4,6-disubstituované indol-3-

20.05.00

-karboxaldehydy se postupně methylojí v N-poloze za získání indolu způsobem popsáným v příkladech 13 a 16. Produktů se použije ke kondenzaci s příslušnými pyrazolony způsobem popsáným v příkladu 1 k získání požadovaných sloučenin. Sledem uvedených operací se získají sloučeniny 203, 266, 267, 281, 214, 221, 220, 222, 223, 289, 218, 219, 225, 226, 227, 228, 229 a 230.

1-(2-Kyanoethyl)indol-3-karboxaldehyd se připraví způsobem, který popsal Blume R.C. a Lindwall H.G. (J. Org. Chem. str. 225, 1945) a používá se k přípravě sloučenin 64, 65, 66 a 67 obdobně, jako je popsáno v příkladu 1. 4,5,6,7-Tetrahydroindol-2-karboxaldehyd se připravuje způsobem, který popsal Sun Li, Tran N., Liang C. Hubbard S., Tang F., Lipson K., Schreck R., Zhou Y., McMahon G., Tang C. (J. Med. Chem. 25, str. 4307, 1994) a používá se k přípravě sloučenin 277, 278, 279 a 288.

Funkční skupiny se do indol-3-karboxaldehydu zavádějí použitím řady elektrofilů na indolový dusík za použití systému hydrid sodný/dimethylformamid obecným způsobem jako podle příkladu 13. 5-Chlorindol-3-karboxaldehyd se používá k přípravě N-ethylových a N-allylových derivátů, kterých se používá pro přípravu sloučenin 132, 148 a 149. Obecného způsobu, který popsal Günör T., Malabre P., Teulon J.M., Camborde F., Meignen J., Hertz F., Virone-Oddos A., Caussade F., Cloarec A. (J. Med. Chem. 25, str. 4307, 1994) za použití systému uhličitany draselný/dimethylformamid se používá pro přípravu (a) N-CH₂CH₂-OBn obdobně jako se používá pro přípravu sloučenin 71 a 72, (b) N-isobutylového analogu, kterého se používá k přípravě sloučeniny 73 obdobným způsobem jako podle příkladu 1.

5-Hydroxyindol se selektivně O-alkyluje propargylbromidem za použití uhličitany cesného v acetonu při teplotě místnosti způsobem, který popsal Macor J.E., Blank D.H., Post R.J. (Tetrahedron Lett. 35, str. 45, 1994), načež se převádí na N-met-

20.05.00

hylderivát a 3-formylderivát způsobem podle příkladu 13 a 16. Tohoto aldehydu se používá k přípravě sloučeniny 155 obdobným způsobem jako podle příkladu 1. Podobně se připravují indolové deriváty substituované 4-, 5-, 6- nebo 7-alkoxyskupinami a používá se jich k přípravě odpovídajících pyrazolonových analogů (tabulku I).

6-Fenyl-1-methylindol-3-karboxaldehyd se připravuje ze 6-bromindolu způsobem podobným jako podle příkladu 16 a používá se pro přípravu sloučeniny 215.

Na odpovídající N-methyl-3-karboxaldehydové deriváty se převádějí 5- a 6-karbomethoxyindoly obdobným způsobem jako podle příkladu 13 a 16 a tyto estery se pak hydrolyzují na odpovídající karboxylové kyseliny. 5-COOMe karboxaldehydový derivát se používá k přípravě sloučenin 237, 238, 239 a 255. Odpovídajícího 5-COOH karboxaldehydu se používá k přípravě sloučenin 251 a 255. Podobně je použito 6-COOMe karboxaldehydového derivátu k syntese sloučenin 115, 116 a 117 a odpovídajícího 6-COOH karboxaldehydu je použito k syntese sloučeniny 222.

Řada tricyklicky derivovaných indolů, například 5,6-methylendioxy-1-methylindol a 1H-pyrrol[3,2-H]chinolin, se převádí na odpovídající N-methylderivát a C-formylderivát (například karboxaldehydový) derivát a používají se k přípravě pyrazolonových derivátů. Jde o sloučeniny 139, 144, 209, 262, 289, 294 a 295 a aldehydu 295 se používá k přípravě sloučenin 284 a 285.

Heterocyklickou skupinou substituované pyrazolony podle vynálezu jsou hodné například jako terapeutická činidla. Užitečné jsou zejména tyto sloučeniny k inhibici proteinové kinázy. Heterocyklickou skupinou substituované pyrazolony mohou inhibovat například kinázy odvozené od ab1, AKT, bcr-ab1, Blk, Brk, Btk, c-kit, c-met, c-src, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, chk1,

20.05.02

chk2, cRaf1, CSF1R, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, ERK (Eph), Fak, fes, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFR5, MLK1, MLK2, MLK3, DLK, trkA, trkB, trkC, Fgr, FLK-4, flt-1, Fps, Frk, Fyn, GSK, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak, JNK, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, Lck, Lyn, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PYK2, ros, tie1, tie2, UL97, Yes, a Zap70.

Pro své vlastnosti se sloučeniny podle vynálezu hodí k výrobě léčiv. Aktivita heterocyklickou skupinou substituovaných pyrazolonů vůči některým enzymům lze využít k boji proti škodlivým důsledkům těchto enzymů. Například inhibice receptoru vaskulární endotheliový růstový faktorový receptor (Vascular Endothelial Grow Factor Receptor, VEGFR) se využívá například u chorob, kde je významná angiogenese, jako je rakovina pevných nádorů, endometriosy, diabetická retinopatie, lupénka, hemangioplastom i ostatní oční nemoci a rakoviny. Inhibice trk je užitečná například u nemocí prostaty, jako je rakovina prostaty a benigní hyperplazie prostaty, a pro léčení zánětlivé bolesti. Inhibice od destiček odvozeného růstového faktorového receptoru (Platelet Derived Grow Factor Receptor (PDGFR) je užitečná například při ošetřování různých forem neoplasie, rheumatoidní artritidy, plicní fibrózy, myelofibrózy, abnormálního hojení ran, chorob s kardiovaskulárními důsledky, jako je ateroskleróza, restenóza a postangioplastová restenóza. Inhibice smíšené kinázy (MLK) je užitečná při například při ošetřování Alzheimerovy nemoci, poruch motorického nervstva, (amyotropní laterální skleróza), Parkinsonovy nemoci, cerebrovaskulárních poruch (například mrtvice, ischemie), Huntingtonovy nemoci, demence AIDS, epilepsie, rozptýlené sklerózy, periferní neuropathie (například napadající DRG neurony v periferní neuropathii spojenou s chemoterapií) včetně diabetické neuropatie, při ošetřování poruch vyvolaných excitací aminokyselinami a při ošetřování poruch spojených s otřesem nebo poraněním mozku nebo míchy.

20.05.02

Inhibice fibroblastové růstové faktorové receptorové kinázy (FGFR) je užitečná například při restenóze, post-angioplastové restenóze, atheroskleróze, plicní fibróze, různých rakovinách, včetně například rakoviny prostaty, plic, abnormálním hojení ran, a benigní hypertrofii prostaty.

Aktivita heterocyklicky substituovaných pyrazolonů může mít také kladné účinky na funkci přežití buněk zodpovědných za trofický faktor podporou přežívání neuronů. Vzhledem k přežívání cholinergických neuronů může například sloučenina uchovat přežívání neuronové cholinergické populace v nebezpečí smrti (například při zranění, chorobném stavu, degenerativním stavu nebo přirozené progresi) ve srovnání s cholinergickou neuronovou populací nepředstavovanou takovou sloučeninou, má-li léčená populace poměrně větší periodu funkčnosti než populace neléčená.

Četné neurologické poruchy jsou charakteristické neuronovými buňkami, které zanikají, jsou poraněné, funkčně omezené, prodávající axonální degeneraci například při nebezpečí smrti. Mezi tyto poruchy patří bez záměru na jakémkoliv omezení Alzheimeriova nemoc, poruchy motorického nervstva (amyotropní laterální skleróza), Parkinsonova nemoc, cerebrovaskulární choroby (mrtvice, ischemie), Huntingtonova nemoc, demence AIDS, epilepsie, rozptýlená skleróza, periferní neuropathie (například napadající DRG neurony v periferní neuropathii spojenou s chemoterapií), včetně diabetické neuropathie, při poruchách vyvolaných excitačními aminokyselinami a při poruchách spojených spojených s otřesem nebo poraněním mozku nebo míchy.

Sloučeniny mohou fungovat jako činidla podporující přežívání buněk jiného neuronového typu, například dopaminergických nebo glutamatergických. Růstový faktor může regulovat přežívání neuronů signální kaskádou ve směru malého GTP vazebního proteinu ras, rac a cdc42 (Denhardt D.T., Biochem. J. 318 str.

20.05.00

729, 1996). Obzvláště aktivace *ras* vede k fosforylaci a aktivaci mimobuněčné receptorem aktivované kinázy (ERK), která byla spojována s biologickými růstovými a diferenciačními procesy.

Stimulace *rac/cdc42* vede ke zvýšení aktivace odezvy JNK a p38, které souvisejí se stresem, apoptózou a zánětlivostí. Ačkoli odezvy na růstový faktor se dějí především cestou ERK, může vést ovlivňování těchto procesů k alternativním mechanismům přežívání neuronů, které mohou napodobovat růstový faktor podporující vlastnosti přežívání (Xia a kol., Science 270, str. 1326, 1995). Sloučeniny mohou tedy fungovat jako činidla podporující přežívání neuronových a neneuronových buněk mechanismem přežívání podobným zprostředkovanému růstovým faktorem, avšak také odlišným, například inhibicí JNK a p38 MAPK drah, které mohou vést k přežívání inhibicí apoptotických procesů umírání buněk.

Sloučeniny podle vynálezu se mohou hodit k léčení poruch spojených se sníženou aktivitou ChAT nebo smrtí, poraněním míšních motoneuronů a mohou být také k užitku například při poruchách, spojených s uhynutím apoptotických buněk centrálního nebo periferního nervového systému, imunitního systému a v zánětlivých chorobách. ChAT katalyzuje syntezu neurotransmiterního acetylcholinu a je považován za enzymatický marker pro funkční cholinergický neuron. Funkční neuron je také schopen přežití. Přežití neuronů se zkoumá kvantifikací specifického úbytku a enzymatické konverse barviv (například kalcein AM) živými neurony. Sloučeniny podle vynálezu mohou být užitečné při léčení chorobných stavů zahrnujících proliferaci maligních buněk, například mnohých rakovin.

Kromě toho mohou být užitečné při léčení rakoviny inhibicí Src, raf a na cyklinu závislé kinázy (CDK) 1, 2 a 4. Regulace kinázy CDK2 může být užitečná k léčení restenózy. Regula-

20.05.02

ce jedné nebo několika kináz CDK5 nebo GSK3 může být užitečná při léčení Alzheimerovy nemoci. Regulace jedné nebo několika kináz cSrc může být užitečná při léčení osteoporózy. Regulace jedné nebo několika kináz GSK-3 může být užitečná při léčení diabetu typu 2. Regulace jedné nebo několika kináz p38 je užitečná při ošetřování zánětů. Regulace jedné nebo několika kináz TIE-1 nebo TIE-2 může být užitečná při léčení angiogenese. Regulace jedné nebo několika kináz UL97 může být užitečná při léčení virových infekcí. Regulace jedné nebo několika kináz CSF-1R může být užitečná při léčení kostních nebo hematopoetických chorob. Regulace jedné nebo několika kináz Lck může být užitečná při léčení autoimunních chorob a odhojování transplantátů. Regulace topoisomeráz Topo-I a Topo-II může být užitečná při léčení rakoviny.

Vzhledem k rozmanité užítkovosti se mohou vlastnosti heterocyklicky substituovaných pyrazolonů uplatnit v jiných oborech, například ve výzkumu. Například sloučenin může být použito ve vývoji modelů in vitro přežívání neuronových buněk, funkcí, identifikací nebo ke skrínování jiných syntetických sloučenin, které mají působnost podobnou jako mají heterocyklicky substituované pyrazolony. Sloučeniny podle vynálezu jsou tudíž užitečné jako standardy nebo jako referenční sloučeniny k použití v testech nebo zkouškách ke stanovení aktivity činidla ve výzkumném farmaceutickém programu.

Sloučenin je možno použít také ke zkoumání, definování a stanovení molekulových štítů spojených s funkčními odezvami. Například radioaktivně značená heterocyklicky substituovaná pyrazolonová sloučenina se specifickou buněčnou funkcí (například mitogenesí) se může identifikovat, izolovat a čistit pro charakterizaci. K další ilustraci může být sloučenin použito ve vývoji zkoušek a modelů k dalšímu podporování a pochoopení úloh, které má inhibice v mechanistických aspektech spojených s poruchami a chorobami. Sloučeniny podle vynálezu jsou

20.05.02

užitečné jako diagnostická činidla v diagnostických zkouškách, jako jsou zde popsané testy.

Aktivita heterocyklicky substituovaných pyrazolonů podle vynálezu může být určována použitím například následujících zkoušek:

1. zkouška inhibice vaskulární endotheliální růstové faktorové receptorové-1 kinázy (VEGFR1),
2. zkouška inhibice vaskulární endotheliální růstové faktorové receptorové-2 kinázy (VEGFR2),
3. zkouška inhibice tyrosinové kinázy trkA,
4. zkouška inhibice smíšené kinázy 1 (MLK1),
5. zkouška inhibice smíšené kinázy 2 (MLK2),
6. zkouška inhibice smíšené kinázy 3 (MLK3),
7. zkouška inhibice fibroplastového receptorového růstového faktoru (FGFR1).

Popisy těchto zkoušek a získané výsledky jsou uvedeny dále. Výsledky vynález blíže objasňují a nejsou míněny jako jakékoliv omezení vynálezu. Používá se zkratk, které jsou definovány v textu. Zkratky znamenají "μg" mikrogram, "mg" miligram, "g" gram, "μl" mikrolitr, "ml" mililitr, "l" litr, "nM" nanomolární, "μM" mikromolární, "mM" milimolární, "M" molární a "nm" nanometr. Sloučeniny podle vynálezu vykazují v popsaných zkouškách s výhodou měřitelnou inhibici při koncentracích přibližně 100 μM až přibližně 10 μM. Výhodněji vykazují sloučeniny podle vynálezu měřitelnou inhibici v popsaných zkouškách při koncentracích přibližně 10 μM až přibližně 1 μM. Ještě výhodněji vykazují sloučeniny podle vynálezu měřitelnou inhibici při koncentracích, které jsou nižší než 1 μM.

Inhibice aktivity vaskulární endotheliální růstové faktorové receptorové-1 kinázy (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 Kinase Activity, VEGFR-1)

20.05.02

Zkouška aktivity kinázy VEGFR-1 využívá formátu na bázi ELISA v 96-důlkové destičce FluoroNUNC Maxisorp s časově rozlišeným odečítáním fluorescence. Destička se povlékne 100 μ l/důlek roztoku substrátu (rekombinantní lidský PLC-gama/GST) při koncentraci 40 μ g/ml Tris-pufrované solanky (TBS). Aktivita VEGFR-1 se zkoumá ve 100- μ l zkušební směsi obsahující 50 mM HEPES (hodnota pH 7,4), 30 μ M ATP, 10 mM $MnCl_2$, 0,1 % BSA, 2 % DMSO a 300 ng/ml prefosforylované rekombinantní lidské cytoplasmové domény VEGFR1 expresované baculovirem. Sloučeniny se skrínují na inhibici aktivity kinázy VEGFR1 při koncentraci 1 μ M. Kinázová reakce se nechá proběhnout 15 minut při teplotě 37 °C. Detekční protilátka, europiem-značená anti-fosfotyrosinová protilátka (Wallac #CR04-100) se přidá ve zředění 1:5000 v blokovém pufru (3 % BSA v TBST) Po jednohodinové inkubaci při teplotě 37 °C se přidá 100 μ l pomocného roztoku (Wallac #1244-105) a s destičkou se mírně míchá. Po pěti minutách, se změří fluorescence výsledného roztoku za použití BMG Fluostar (model #403). Výsledky jsou shrnuty v tabulce III.

20.05.02

Tabulka III

Inhibiční účinky heterocyklických substituovaných pyrazolonů na aktivitu receptorové kinázy VEGF-1

Sloučenina číslo	VEGFR-1 kináza % inhibice @ 1uM
1	35
2	9
3	22
4	20
5	10
6	14
7	13
8	21
9	51
10	41
11	23
12	29
13	39
14	8
15	12
16	18
17	17
18	9
19	30
20	45
21	0
22	23

20.05.02

Sloučenina číslo	VEGFR- γ kináza % inhibice @ 1 μ M
23	2
24	39
25	66
26	64
27	11
28	36
29	53
30	41
31	10
32	48
33	36
34	30
35	10
36	14
37	14
38	28
39	4
40	16
41	5
42	13
43	-2
44	2
45	46
46	41
47	40
48	54
49	32
50	31
51	25

20.05.02

Sloučenina číslo	VEGFR-1 kináza % inhibice @ 1uM
52	0
53	21
54	5
55	20
56	5
57	7
58	51
59	-2
60	63
61	44
62	38
63	40
64	26
65	22
66	24
67	22
68	11
69	5
70	1
71	12
72	12
73	12
74	74
75	5

Inhibice vaskulární endotheliální růstové faktorové receptor-2 kinázové aktivity

Zkoušky se provádějí níže popsáním způsobem pro kinázu trkA. Povolíme se 96-dílková mikrotitrační destička (Fluoro-NUNC Maxisorp) 40 µg/ml fuzního proteinu rekombinantní lidské fosfolipázy C-gamal/glutathion S-transferáza. Inhibice se studuje ve 100 µl zkušební směsi obsahující 50 mM HEPES, pH 7,4, 30 µM ATP, 10 mM MnCl₂, 0,1 % BSA, 2 % DMSO a 1 µM testované

20.05.02

sloučeniny. Reakce se spustí přidáním prefosforylované rekombinantní lidské baculovirové VEGFR2 cytoplasmové domény. Reakce se nechá probíhat 15 minut při teplotě 37 °C. Detekční protilátka, europiem značená anti-fosfotyrosinová protilátka (Wallac #CRO4-100), se přidá ve zředění 1:5000 do blokového pufru (3 % BSA v TBST). Po jednohodinové inkubaci při teplotě 37 °C se přidá 100 µl podpůrného roztoku (Wallac #1244-105) a s destičkou se mírně pohybuje. Po 5 minutách, se změří fluorescence výsledného roztoku za použití BMG Fluostar (model #403). Výsledky jsou shrnuty v tabulce IV.

Tabulka IV

Inhibiční účinky heterocyklicky substituovaných pyrazolonů na aktivitu receptorové kinázy VEGF-2

Sloučenina číslo	VEGFR-2 kináza % inhibice @ 1µM
1	65
2	21
3	39
4	33
5	-5
6	9
7	-3
8	35
9	49
10	64
11	50
12	26
13	25
14	13
15	11

20.05.02

Sloučenina číslo	VEGFR-2 kináza % inhibice @ 1uM
16	34
17	48
18	12
19	44
20	67
21	12
22	41
23	7
24	32
25	64
26	76
27	40
28	80
29	68
30	68
31	16
32	47
33	25
34	32
35	19
36	27
37	62
38	42
39	13
40	26
41	13
42	28
43	25
44	18

20.05.02

Sloučenina číslo	VEGFR-2 kináza % inhibice @ 1uM
45	72
46	71
47	64
48	58
49	50
50	44
51	55
52	19
53	34
54	4
55	38
56	8
57	30
58	47
59	14
60	88
61	75
62	52
63	75
64	43
65	43
66	32
67	20
68	26
69	5
70	51
71	-1
72	3
73	15

20.05.02

Sloučenina číslo	VEGFR-2 kináza % inhibice @ 1uM
74	88
75	32
76	39
77	21
78	63

Inhibice trkA tyrosin kinázové aktivity

Vybrané heterocyklicky substituované pyrazolony se testují z hlediska jejich schopnosti inhibovat aktivitu kinázy baculovirem expresované lidské cytoplasmické domény trkA pomocí testu ELISA, jak shora popsáno (Angeles a kol., Anal-Biochem. 236, str. 49 až 55, 1996). Povolí se 96-dílková mikrotitrační destička substrátovým roztokem (rekombinantní lidský fosfolipázový V-gama1/glutathion S-transferázový fuzní protein [Rotin a kol. EMBO J., 11, str. 559 až 567, 1992]). Inhibiční studie se provádějí ve 100 μ l zkušebních směsích obsahujících 50 mM Hepes, pH 7,4, 40 μ M ATP, 10 mM $MnCl_2$, 0,1% BSA, 2% DMSO a inhibitory v různých koncentracích. Reakce se spustí přísadou kinázy trkA a nechá se probíhat 15 minut při teplotě 37 °C. Přidá se protilátka fosfotyrosin (UBI) a následně sekundární s enzymem konjugovaná protilátka, kozí antimyší IgG značená alkalickou fosfatázou (Bio-Rad). Měří se aktivita vázaného enzymu zesíleným detekčním systémem (Gibco-BRL). Inhibiční data se analyzují pomocí rovnice signoidální odezvy na dávce (různý sklon) v GraphPadPrism. Výsledky jsou shrnuty v tabulce V.

Tabulka V

Inhibiční působení heterocyklicky substituovaných pyrazolonů na trkA kinázovou aktivitu

Sloučenina číslo	trkA % inhibice @ 1uM
1	24
2	39
3	60

20.05.02

Sloučenina číslo	trkA % inhibice @ 1uM
4	53
5	2
6	31
7	33
8	20
9	41
10	26
11	65
12	44
13	45
14	35
15	15
16	29
17	52
18	70
19	45
20	60
21	56
22	44
23	26
24	22
25	65
26	42
27	49
28	34
29	43
30	22
31	39
32	8

20.05.02

Sloučenina číslo	trkA % inhibice @ 1 uM
33	32
34	25
35	23
36	40
37	28
38	40
39	31
40	27
41	17
42	29
43	42
44	23
45	39
46	29
47	37
48	47
49	56
50	28
51	56
52	10
53	20
54	20
55	47
56	48
57	33
58	30
59	40
60	71
61	35

20.05.02

Sloučenina číslo	trkA % inhibice @1 μ M
62	45
63	60
64	10
65	22
66	32
67	40
68	42
69	35
70	32
71	15
72	38
73	8
74	53
75	23

Inhibice aktivity od destiček odvozené růstové faktorové kinázy

Heterocyklicky substituované pyrazolony se mohou testovat z hlediska inhibičního působení na kinázovou aktivitu baculovirem expresované PDGF β receptorové kinázové domény pomocí shora popsané trkA kinázového testu ELISA. Testy se provádějí v 96-důlkových mikrotitračních destičkách povlečených substrátem (PLC-gama/GST). Každá 100- μ l reakční směs obsahuje 50 mM HEPES, hodnota pH 7,4, 20 μ M ATP, 10 mM MnCl₂, 0,1 % BSA, 2 % DMSO a různé koncentrace inhibitoru. Reakce se spustí přísadou prefosforylovaného rekombinantního lidského enzymu (10 ng/ml PDGFR β) a nechá se probíhat 15 minut při teplotě 37 °C. Prefosforylovaný enzym se připraví před použitím inkubací kinázy v pufru obsahujícím 20 μ M ATP a 10 mM MnCl₂ jednu hodinu při teplotě 4 °C. Detekce fosforylovaného produktu se provádí přidáním anti-fosfotyrosinové protilátky (UBI) konjugované s křečovou peroxidázou (HRP). Následně se přidá roztok substrátu HRP obsahující 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin a peroxid vodíku a destičky se inkubují 10 minut při teplotě místnosti. Reakce se ukončí kyselinou a výsledná adsorbance se odečte při 450 nm za

20.05.02

použití Microplate Bio kinetics Reader (Bio-Tek Instrument EL 312e). Inhibiční údaje se analyšují pomocí rovnice sigmoidální odezvy závislé na dávce (různý sklon) v GraphPad Prism.

Inhibice aktivity kinázy-1 (Mixed Lineage Kinasy-1, MLK1)

Kinázová aktivita MLK1 se posuzuje pomocí formátu Millipore Multiscreen TCA "in-plate" jako proteinová kináza C (Pitt & Lee, J. Biomol. Screening 1, str. 47 až 51, 1996). Každá zkušební 50- μ l směs obsahuje 20 mM Hepes, pH 7,0, 1 mM EGTA, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM DTT, 25 mM β -glycerofosfátu, 60 μ M ATP, 0,25 μ Ci [γ - ^{32}P]ATP, 0,1 % BSA, 500 μ g/ml myelinového bazického proteinu (UBI#13-104), 2 % DMSO, 1 μ M testované sloučeniny a 1 μ g/ml baculovirové GST-MLK1_{KD}. Vzorky se inkubují 15 minut při teplotě 37 °C. Reakce se ukončí přidáním ledem chlazené 50% TCA a proteiny se nechají vysrážet 30 minut při teplotě 4 °C. Destičky se pak promyjí ledově studenou 25% TCA. Přidá se supermix scintilační koktejl a destičky se nechají vyrovnávat 1 až 2 hodiny před načítáním za použití Wallac MicroBeta 1450 PLUS scintilačním čítačem. Výsledky jsou v tabulce VI.

Tabulka VI

Inhibiční působení heterocyklicky substituovaných pyrazolonů na aktivitu MLK-1 kinázu

Sloučenina číslo	MLK-1 kináza % inhibice @ 1 μ M
1	12
2	-8
3	2
4	9
5	14
6	25
7	9

20.05.02

Sloučenina číslo	MLK-1 kináza % inhibice @ 1uM
8	15
9	22
10	22
11	21
12	27
13	10
14	8
15	-3
16	18
17	6
18	14
19	4
20	21
21	4
22	1
23	30
24	10
25	11
26	10
27	6
28	2
29	21
30	2
31	27
32	5
33	8
34	17
35	7
36	-9

20.05.00

Sloučenina číslo	MLK-1 kináza % inhibice @ 1uM
37	15
38	16
39	4
40	33
41	13
42	-9
43	13
44	25
45	24
46	13
47	33
48	2
49	-10
50	11
51	26
52	5
53	7
54	-12
55	-5
56	-22
57	44
58	44
59	41
60	37
61	8
62	15
63	14
64	10
65	10

2005.03

Sloučenina číslo	MLK-1 kináza % inhibice @ 1uM
66	11
67	3
68	17
69	21
70	21
71	9
72	14
73	-1
74	44
75	5

Inhibice aktivity kinázy-2 (Mixed Lineage Kinasy-1, MLK2)

Testy se provádějí s použitím formátu destiček Millipore Multiscreen jako pro MLK-1. Každá zkušební 50- μ l směs obsahuje 20 mM Hepes, pH 7,1, 1 mM EGTA, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM DTT, 25 mM β -glycerofosfátu, 100 μ M ATP, 0,25 μ Ci [γ - ^{32}P] ATP, 0,1 % BSA, 500 μ g/ml myelinového bazického proteinu (UBI#13-104), 2 % DMSO, různé koncentrace testované sloučeniny a 3 μ g/ml baculovirové GST-MLK2KDL2. Vzorky se inkubují 15 minut při teplotě 37 °C. Reakce se ukončí přidáním ledem chlazené 50% TCA a proteiny se nechají vysrážet 30 minut při teplotě 4 °C. Destičky se pak promyjí ledově studenou 25% TCA. Přidá se supermix scintilační koktejl a destičky se nechají vyrovnávat 1 až 2 hodiny před načítáním. Výsledky jsou v tabulce VII.

2005-00

Tabulka VII

Inhibiční působení heterocyklicky substituovaných pyrazolonů
na aktivitu MLK-2 kinázy

Sloučenina číslo	MLK-2 kináza % inhibice @ 1uM
1	7
2	-10
3	-1
4	-10
5	9
6	6
7	-12
8	0
9	15
10	-9
11	7
12	-7
13	-17
14	-18
15	-12
16	7
17	-8
18	-2
19	-5
20	-3
21	-13
22	-13
23	-6
24	4
25	-4
26	-7

Sloučenina číslo	MLK-2 kináza % inhibice @ 1uM
27	-4
28	10
29	2
30	1
31	0
32	-14
33	-13
34	1
35	-15
36	-18
37	12
38	2
39	-7
40	-8
41	-15
42	-10
43	2
44	-3
45	-22
46	2
47	-2
48	3
49	3
50	-1
51	3
52	5
53	-13
54	-48
55	2

2005.00

Sloučenina číslo	MLK-2 kináza % inhibice @ 1uM
56	-14
57	5
58	4
59	-8
60	9
61	-4
62	-21
63	1
64	9
65	-3
66	5
67	-1
68	16
69	4
70	5
71	3
72	3
73	12
74	17
75	-5

Inhibice aktivity kinázy-3 (Mixed Lineage Kinasy-1, MLK2)

Testy se provádějí s použitím formátu destiček Millipore Multiscreen jako pro MLK-1. Každá zkušební 50- μ l směs obsahuje 20 mM Hepes, pH 7,1, 1 mM EGTA, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM DTT, 25 mM β -glycerofosfátu, 100 μ M ATP, 0,25 μ Ci [gamma- ^{32}P] ATP, 0,1 % BSA, 500 μ g/ml myelinového bazického proteinu (UBI#13-104),

20.05.09

2 % DMSO, různé koncentrace testované sloučeniny a 2 µg/ml baculovirové GST-MLK3_{KD}. Vzorky se inkubují 15 minut při teplotě 37 °C. Reakce se ukončí přidáním ledem chlazené 50% TCA a proteiny se nechají vysrážet 30 minut při teplotě 4 °C. Destičky se pak promyjí ledově studenou 25% TCA. Přidá se supermix scintilační koktejl a destičky se nechají vyrovnávat 1 až 2 hodiny před načítáním. Výsledky jsou v tabulce VIII.

Tabulka VIII

Inhibiční působení heterocyklicky substituovaných pyrazolonů na aktivitu MLK-3 kinázu

Sloučenina číslo	MLK-3 kináza % inhibice @ 1µM
1	28
2	-11
3	12
4	-6
5	-9
6	3
7	7
8	10
9	27
10	44
11	31
12	29
13	17
14	14
15	-17
16	12

20.05.02

Sloučenina číslo	MLK-3 kináza % inhibice @ 1uM
17	19
18	47
19	11
20	57
21	24
22	24
23	69
24	38
25	48
26	57
27	44
28	50
29	38
30	46
31	49
32	42
33	28
34	32
35	34
36	25
37	79
38	38
39	55
40	22
41	10
42	21
43	21
44	28
45	56

20.05.02

Sloučenina číslo	MLK-3 kináza % inhibice @ 1uM
46	36
47	31
48	31
49	21
50	15
51	47
52	19
53	12
54	0
55	26
56	-1
57	67
58	43
59	47
60	58
61	72
62	45
63	78
64	15
65	7
66	11
67	8
68	20
69	9
70	15
71	9
72	28
73	5
74	72

Sloučenina číslo	MLK-3 kináza % inhibice @ 1uM
75	24

Inhibice aktivity fibroblastové růstové faktorové receptorové (FGFR1) kinázy

Kinázová aktivita FGFR1 se měří za použití formátu na bázi ELISA v 96 důlkových destičkách FluoroNUNC Maxisorp s časově rozlišeným čtením fluorescence jako v případě trkA kinázy. Destička se povlékne 100 μ l/důlek substrátového roztoku (rekombinantní lidský PLC-gama/GST) v koncentraci 10 μ g/ml v Tris pufrované solance (TBS). Kinázová aktivita FGFR1 se zkoumá ve 100- μ l směsi obsahující 50 mM HEPES (pH 7,4), 30 μ M ATP, 10 mM $MnCl_2$, 0,1 % BSA, 2 % DMSO a 15 ng/ml rekombinantní lidské baculovirem expresované TGFR1 cytoplasmické domény (prefosforylované před použitím). Sloučeniny se skrínují z hlediska inhibice FGFR1 kinázové aktivity při koncentraci 1 μ M. Kinázová reakce se nechá probíhat 15 minut při teplotě 37 °C. Přidá se detekční protilátka, europiem značená antifosfotyrosinová protilátka (Wallac#CRO4-100), ve zředění 1:5000 v blokovém pufru (3 % BSA v TBST). Po jednohodinové inkubaci při teplotě 37 °C se přidá 100 μ l podpůrného roztoku (Wallac#1244-105) a s destičkou se mírně pohybuje. Po 5 minutách se měří fluorescence výsledného roztoku za použití BMG Fluostaru (model # 403). Výsledky jsou shrnuty v tabulce IX.

Tabulka IX

Inhibiční působení heterocyklicky substituovaných pyrazolonů na fibroblastovou růstovou faktorovou aktivitu (FGFR1)

Sloučenina číslo	TGFR1 % inhibice @1uM
1	6
2	33
3	29
4	20
5	-2

20.05.02

Sloučenina číslo	FGFR1 % inhibice @ 1uM
6	20
7	28
8	24
9	17
10	14
11	24
12	39
13	30
14	22
15	10
16	1
17	13
18	22
19	23
20	27
21	15
22	22
23	31
24	39
25	52
26	46
27	36
28	37
29	41
30	27
31	17
32	4
33	27
34	34

20.05.02

Sloučenina číslo	FGFR1 % inhibice @ 1uM
35	29
36	31
37	32
38	28
39	13
40	22
41	21
42	32
43	26
44	10
45	8
46	25
47	32
48	43
49	39
50	20
51	9
52	10
53	50
54	45
55	36
56	30
57	-2
58	24
59	29
60	66
61	35
62	37
63	38

20.05.00

Sloučenina číslo	FGFR1 % inhibice @ 1uM
64	7
65	21
66	29
67	23
68	27
69	30
70	21
71	26
72	29
73	19
74	48
75	26

Dávkování a prostředky

Pro léčebné účely mohou být sloučeniny podle vynálezu podávány jakýmkoli způsobem, který vede ke styku účinné látky s místem působení činidla v savčím těle. Sloučeniny se mohou podávat jakýmkoli obvyklým způsobem vhodným pro podání léčiv, buď jako individuální terapeutická činidla nebo v kombinaci a terapeutickými činidly. S výhodou se podávají jako samotná účinná látka ve farmaceutické prostředku, avšak alternativně se jich může použít v kombinaci s jinými účinnými látkami, například s jinými růstovými faktory, které usnadňují přežívání neuronů nebo axonální regeneraci u chrob nebo poruch. Sloučeniny se s výhodou kombinují s farmaceutickým nosičem voleným podle cesty podání a standardní farmaceutické praxe.

Sloučeniny se mohou zpracovávat na farmaceutické prostředky, například přimíšením farmaceuticky přijatelných netoxických excipientů a nosičů. Takové prostředky se mohou přip-

200500

ravovat k použití pro parenterální podávání, zejména ve formě tekutých roztoků nebo suspenzí, nebo pro orální podání ve formě tablet nebo kapslí, nebo intranasálně, zvláště ve formě prášků, nosních kapek, nebo aerosolů nebo pokožkou například ve formě kožních náplastí.

Prostředek se může vhodně podávat v jednotkové dávkovací formě a může se připravovat jakýmkoli způsobem známým ve farmaceutickém průmyslu a popsáným v literatuře (například Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub CO. Easton, PA, 1980). Prostředky pro parenterální podání mohou obsahovat jako obvyklé excipienty například sterilní vodu nebo solanku, polyalkylenglykoly, jako je polyethylenglykol, oleje rostlinného původu, a hydrogenované naftaleny. Obzvláště biokompatibilní, biologicky odbouratelný laktidový polymer, laktid/glykolidový kopolymer nebo polyoxyethylen-polyoxypropylenové kopolymery jsou vhodnými excipienty pro řízené uvolňování účinných látek.

Jiným potenciálně užitečným systémem uvolňování těchto účinných látek jsou ethylen-vinylacetátové kopolymerní částice osmotická čerpadla, implantovatelné infuzní systémy a liposomy. Prostředky pro inhalační podání obsahují jako excipienty například laktózu nebo to mohou být vodné roztoky obsahující například polyoxyethylen-9-laurylether, glykocholát a deoxycholát nebo olejové roztoky k podání ve formě nosních kapek nebo jako gel k intranasálnímu podání. Prostředky pro parenterální podání mohou obsahovat také glykocholát pro ústní podání, salicylát pro rektální podání, nebo kyselinu citronovou pro vaginální podání. Formulacemi pro transdermální náplasti jsou s výhodou lipofilní emulze.

Sloučeniny obecného vzorce I a jejich farmaceuticky přijatelné soli se mohou podávat orálně nebo neorálně, například jako mast nebo injekce. Koncentrace sloučenin podle vynálezu v léčivech se může měnit. Koncentrace záleží na činitelech,

jako je celková dávka podávané drogy, chemické vlastnosti (například hydrofobicita) použitých sloučenin, cesta podání, věk, tělesná hmotnost a symptomy pacienta. Sloučeniny podle vynálezu mohou být podávány ve vodném fyziologicky pufrovaném roztoku obsahujícím 0,1 až 10 % (objem/hmotnost) prostředku pro parenterální podání. Typické dávky jsou přibližně 1 mg až přibližně 1 μ g/kg tělesné hmotnosti za den. Výhodná dávka je přibližně 0,01 mg/kg až 100 mg/kg tělesné hmotnosti za den a s výhodou přibližně 0,1 až 20 mg/kg tělesné hmotnosti za den. Výhodná dávka podávané drogy závisí na různých faktorech, jako jsou závažnost onemocnění nebo poruchy, celkový zdravotní stav pacienta, relativní biologická účinnost volené sloučeniny, formulace excipientu a na cestě podání.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu se mohou připravovat rovnoměrným rozmícháním účinného množství sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli. Nosič může nejrozličnější podle vhodnosti podání. Je žádoucí, aby takové farmaceutické prostředky byly připravovány v denních dávkách vhodných k orálnímu nebo neorálnímu podání. Formami neorálního podání jsou masti a injekce.

Tablety se mohou připravovat o sobě známým způsobem za použití excipientů, jako jsou laktóza, glukóza, sacharóza, mannitol a methylcelulóza, rozpadavých činidel jako jsou škrob, alginát sodný, karboxymethylcelulóza vápenatá a krystalická celulóza, mazadel, jako jsou stearat hořečnatý, pojiv, jako jsou například želatina, polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, hydroxypropylcelulóza a methylcelulóza, povrchově aktivních činidel, jako jsou sacharózový ester mastné kyseliny a sorbitolester mastné kyseliny. Je výhodné, obsahuje-li každá tableta 15 až 300 mg účinné látky.

Granule se mohou vyrábět o sobě známým způsobem za použití excipientů, jako jsou laktóza a sacharóza, rozpadavých činidel, jako je škrob a pojiv, jako je želatina. Prášky se mohou

připravovat o sobě známým způsobem za použití excipientů, jako jsou laktóza a mannitol. Kapsle se mohou připravovat o sobě známým způsobem za použití želatiny, vody, sacharózy, arabské klovatiny, sorbitolu, glycerinu, krystalické celulózy, stearátu hořečnatého a mastku. Je výhodné, obsahuje-li každá tableta 15 až 300 mg účinné látky.

Sirupy se mohou připravovat o sobě známým způsobem za použití například cukrů, jako je sacharóza, voda nebo ethanol.

Masti se mohou připravovat o sobě známým způsobem za použití základu pro masti, jako jsou například vazelina, tekutý parafin, lanolin a makrogol, emulgátorů jako jsou například lauryllaktát sodný, benzalkoholiumchlorid, sorbitanester monomasné kyseliny, natriumkarboxymethylcelulóza a arabská klovatina.

Injektovatelné prostředky se mohou připravovat o sobě známým způsobem za použití rozpouštědel, jako jsou voda, fyziologická solanka, rostlinné oleje (například olivový a podzemnicový), ethyloleát a propylenglykol, solubilizačních činidel, jako jsou benzoát sodný, salicylát sodný a uretan, isotonických činidel, jako jsou chlorid sodný a glukóza, konzervačních činidel, jako jsou fenol, kresol, ester kyseliny p-hydroxybenzoové kyseliny a chlorbutanol, antioxidantů, jako jsou kyselina askorbová a natriumpyrosulfit.

Pracovníkům v oboru jsou zřejmě různé možné varianty a obměny v rámci rozsahu vynálezu.

Průmyslová využitelnost

Heterocyklickou skupinou substituované pyrazolonů vhodné pro výrobu farmaceutických prostředků k ošetřování nebo předcházení poruch charakterizovaných nenormální aktivitou proteinové kinázy, avšak také jako diagnostických kitů, testovacích standardů nebo reakčních činidel, které tyto heterocyklicky substituované pyrazolony obsahují.

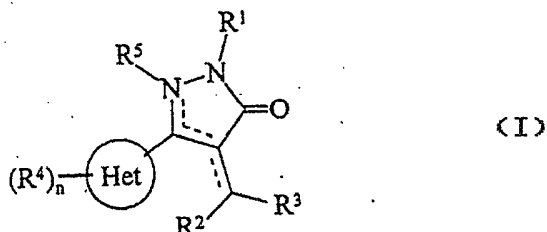
JUDr. Petr Kalenský
advokát



SPOLEČNÁ ADVOKÁTNÍ KANCELÁŘ
VŠETECKA ZELENÝ ŠVORČIK KALENSKÝ
A PARTNEŘI
120 00 Praha 2, Hájkova 2
Česká republika

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu obecného vzorce I



kde znamená

Het heterocyklickou skupinu,

R¹ atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 10 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R⁶, skupinu alkenylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R⁶, skupinu alkinylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R⁶, skupinu NR^aR^a, C(=O)R^b, C(=O)NHR^a, CO₂R^c a heterocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R⁶,

za podmínky, že R¹ a Het neznamení současně 2-pyridinylovou skupinu, R² a R³ znamenají jinou skupinu než diethylamino-2-fenyllovou skupinu a jestliže R¹ znamená 4-karboxyfenethyllovou skupinu, Het a buď R² nebo R³ znamenají oba jinou než dimethylaminothiofenovou skupinu,

R² a R³ na sobě nezávisle atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 2 atomy uhlíku substituovanou 1 až 5 skupinami R⁶, skupinu alkylovou se 3 až 10 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R⁶, skupinu alkenylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R¹, skupinu alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, atom chloru, bromu, jodu, kyanoskupinu, skupinu (CH₂)_rNR^aR^a,

$(CH_2)_rOR^c$, $(CH_2)_rSR^c$, $(CH_2)_rC(=O)R^b$, $(CH_2)_rCO_2R^c$,
 $(CH_2)_rOC(=O)R^b$, $(CH_2)_rC(=O)NR^aR^a$, $(CH_2)_rNR^aC(=O)R^b$,
 $(CH_2)_rOC(=O)NHR^a$, $(CH_2)_rNR^aS(=O)_2R^b$, $(CH_2)_rS(=O)_2NR^aR^a$,
 $(CH_2)_rS(O)_pR^b$, $(CH_2)_r$ karbocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^4 , $(CH_2)_r$ heterocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^4 ,
 za podmínky, že R^2 a R^3 znamenají jinou skupinu než atom vodíku nebo oba skupinu SMe a jestliže R^2 znamená atom vodíku a R^3 fenylovou skupinu, neznámá Het 2-furanylovou skupinu, nebo
 R^2 a R^3 vytvářejí heterocyklickou skupinu substituovanou 0 až 4 skupinami R^4 za podmínky, že heterocyklickou skupinou je jiná skupina než skupina 2-thiazolidinylová nebo 5-methyl-2-oxazolidinylová skupina,

R^4 na sobě nezávisle atom vodíku, fluoru, chloru, bromu, jodu, kyanoskupinu, skupinu CF_2CF_3 , CF_3 , NO_2 , CN , OH , NR^aR^a , OR^c , $C(=O)R^b$, CO_2R^c , $OC(=O)R^b$, $NR^aC(=O)R^b$, $C(=O)NR^aR^a$, $OC(=O)NR^aR^a$, $NR^aC(=O)OR^b$, $NR^aS(=O)_2R^b$, $S(=O)_2NR^aR^a$, $NR^aC(=S)R^b$, $C(=S)NR^aR^a$, $NR^aC(=O)NR^aR^a$, $NR^aC(=S)NR^aR^a$, $CH=NOR^c$, $CH=NR^a$, $CH=NNR^aR^a$,
 $(CH_2)_rS(O)_pR^b$, $O(CH_2)_qNR^aR^a$, $O(CH_2)_qOR^c$, $(CH_2)_rOR^d$, $(CH_2)_rC(=O)R^{d'}$, $(CH_2)_rNHR^d$, $(CH_2)_rS(O)_pR^{d'}$, skupinu alkylovou s 1 až 10 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 , skupinu alkenylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 , skupinu alkinylovou se 2 až 8 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 a skupinu karbocyklickou substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 nebo heterocyklickou substituovanou 0 až 5 skupinami R^6 ,

R^5 chybí nebo znamená atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 8 atomy uhlíku, alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, skupinu $(CH_2)_r$ cykloalkylovou se 3 až 6 atomy uhlíku v cykloalkylovém

podílu nebo $(\text{CH}_2)_r$ -fenylovou,

R^6 skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^h , skupinu alkenylovou se 2 až 8 atomy uhlíku, skupinu alkinylovou se 2 až 8 atomy uhlíku, atom fluoru, chloru, bromu, jodu, kyanoskupinu, skupinu CF_2CF_3 , CF_3 , NO_2 , CN , NR^fR^f , OR^f , $\text{C}(=\text{O})\text{R}^f$, CO_2R^f , $\text{OC}(=\text{O})\text{R}^g$, $\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{R}^f$, $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{NR}^e\text{C}(=\text{O})\text{OR}^g$, $\text{NR}^e\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^g$, $\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{R}^g$, $\text{C}(=\text{S})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{NR}^f\text{C}(=\text{O})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{NR}^f\text{C}(=\text{S})\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{CH}=\text{NR}^e$, $\text{CH}=\text{NNR}^e\text{R}^e$, $\text{S}(\text{O})_p\text{R}^f$, $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{NR}^f\text{R}^f$, $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{OR}^f$, OR^d , NHR^d , $\text{C}(=\text{O})\text{R}^d$, $\text{S}(\text{O})_p\text{R}^d$, karbocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^h , heterocyklickou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^h , $\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^c)_2$ skupinu a monosacharidovou skupinu s 5 až 7 atomy uhlíku, přičemž je každá hydroxylová skupina monosacharidové skupiny nesubstituovaná nebo nahrazena atomem vodíku, skupinou alkylovou s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxy skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, a $\text{OC}(=\text{O})$ alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém podílu,

R^a vždy na sobě nezávisle atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, $(\text{CH}_2)_r$ -cykloalkylovou se 3 až 6 atomy uhlíku a $(\text{CH}_2)_r$ -fenylovou skupinu, přičemž v případě, kdy R^a neznamená atom vodíku, je skupina substituována 0 až 5 skupinami R^h , nebo dvě skupiny R^a mohou vytvářet spojovník ze souboru zahrnujícího skupinu $(\text{CH}_2)_q\text{O}(\text{CH}_2)_q$, $(\text{CH}_2)_q\text{S}(\text{CH}_2)_q$ a $(\text{CH}_2)_m$, přičemž je spojovník substituován 0 až 5 skupinami R^h ,

R^b vždy na sobě nezávisle skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, $(\text{CH}_2)_r$ -fenylovou a

$(CH_2)_r$ -heterocyklickou, přičemž je skupina R^b substituována 0 až 5 skupinami R^h ,

- R^c vždy na sobě nezávisle atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, cykloalkylovou se 3 až 6 atomy uhlíku a $(CH_2)_r$ -fenylovou skupinu, přičemž v případě, kdy R^c neznamená atom vodíku, je skupina substituována 0 až 5 skupinami R^h ,
- R^d vždy zbytek aminokyseliny, když je hydroxylová skupina z karboxylové skupiny odstraněna,
- $R^{d'}$ vždy zbytek aminokyseliny, když je hydroxylová skupina z karboxylové skupiny odstraněna,
- R^e vždy atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku,
- R^f vždy atom vodíku, skupinu alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^h nebo $(CH_2)_r$ -fenylovou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^h
- R^g vždy alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku substituovanou 0 až 5 skupinami R^h nebo $(CH_2)_r$ -fenylovou skupinu substituovanou 0 až 5 skupinami R^h
- R^h vždy atom fluoru, chloru, bromu, jodu, hydroxylovou skupinu, kyanoskupinu, skupinu CF_3 , CF_2CF_3 , alkylovou s 1 až 4 atomy uhlíku, skupinu alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, skupinu alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkoxy skupinu, skupinu cykloalkylovou se 3 až 7 atomy uhlíku, karboxylovou, formylovou, acetylovou, propanoylovou, butyrylovou, valerylovou, pivaloylovou, hexanoylovou, acetamidoskupinu, skupinu acetátovou, karbamoylovou, karboxyskupinu, skupinu NH_2 , monoalkylamino-

skupinu, dialkylaminoskupinu, skupinu fenylovou, benzylovou, fenethylovou, naftylovou, heterocyklickou a ketoskupinu,

R^1 vždy atom fluoru, chloru, bromu, jodu, hydroxylovou skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, skupinu CF_3 , CF_2CF_3 , alkylovou s 1 až 4 atomy uhlíku, skupinu alkenylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, skupinu alkinylovou se 2 až 6 atomy uhlíku, alkoxy skupinu, skupinu cykloalkylovou se 3 až 7 atomy uhlíku, karboxylovou, formylovou, acetylovou, propanoylovou, butyrylovou, valerylovou, pivaloylovou, hexanoylovou, acetamidoskupinu, skupinu acetátovou, karbamylovou, karboxyskupinu, skupinu NH_2 , monoalkylaminoskupinu, dialkylaminoskupinu, skupinu fenylovou, benzylovou, fenethylovou,

m 2, 3, 4 a 5,

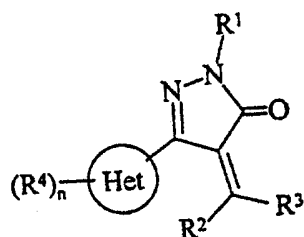
n 0, 1, 2, 3, 4 a 5,

p 0, 1 a 2,

q 1, 2, 3 a 4,

r 0, 1, 2, 3 a 4.

2. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 1 obecného vzorce

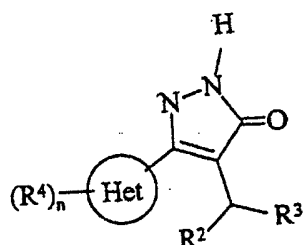


kde jednotlivé symboly mají v nároku 1 uvedený význam.

3. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 2, kde znamená R^1 atom vodíku nebo alkylovou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 2 uvedený význam.

4. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 3, kde znamená R^2 nebo R^3 atom vodíku nebo alkylovou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 3 uvedený význam.

5. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 4 obecného vzorce



kde znamená R^2 nebo R^3 atom vodíku a ostatní symboly mají v nároku 4 uvedený význam.

6. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 5, kde je Het volen ze souboru zahrnujícího

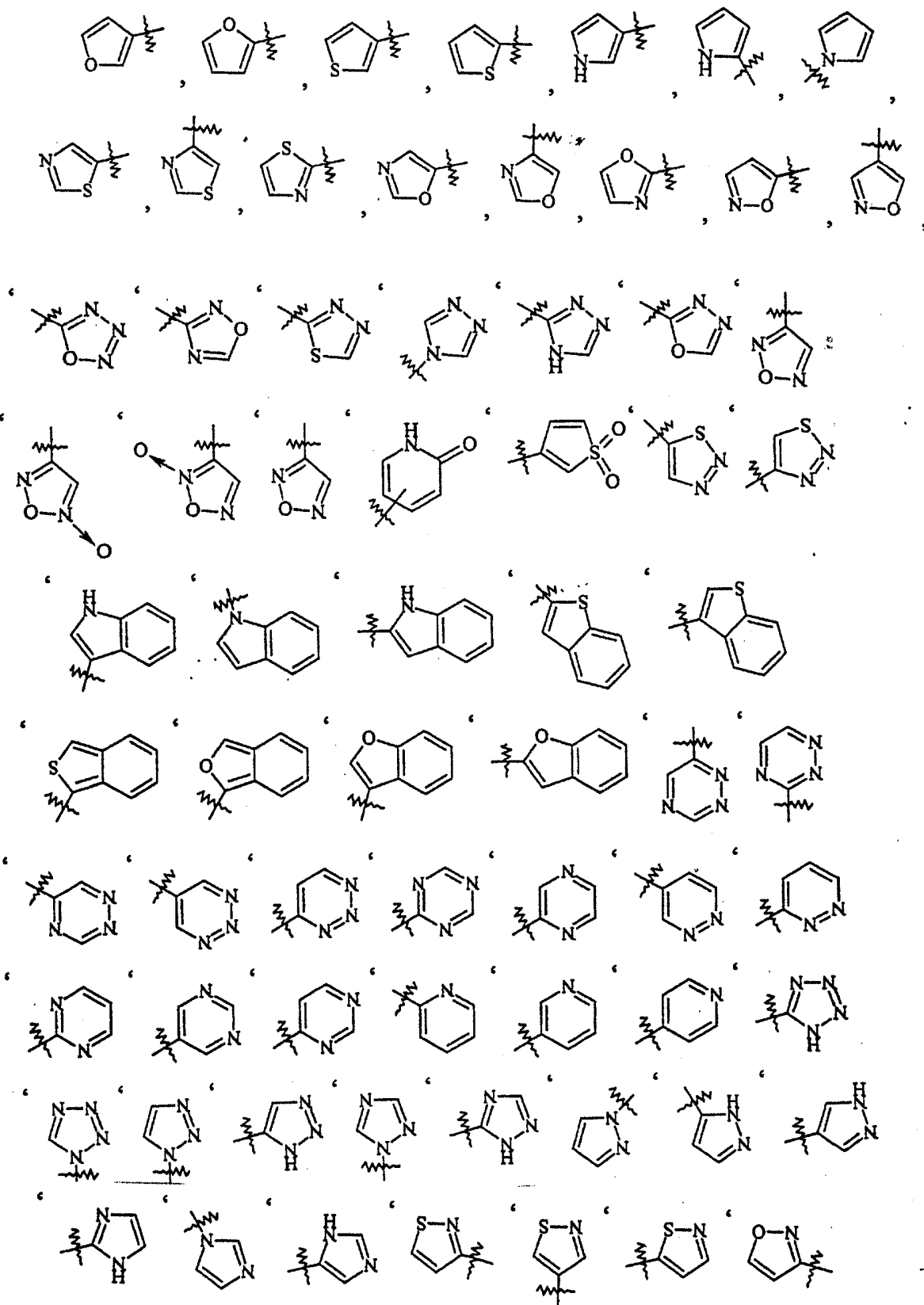
- a) šestičlenný heterocyklický kruh obsahující 1 až 3 heteroatomy ze souboru zahrnujícího atom kyslíku, dusíku a síry,
- b) pětičlenný heterocyklický kruh obsahující buď

- 1) jeden atom kyslíku, jeden atom dusíku nebo jeden atom síry,
- 2) atom síry a atom dusíku, atom kyslíku a atom dusíku nebo dva atomy dusíku a
- 3) tři atomy dusíku, jeden atom kyslíku a dva atomy dusíku nebo jeden atom síry a dva atomy dusíku

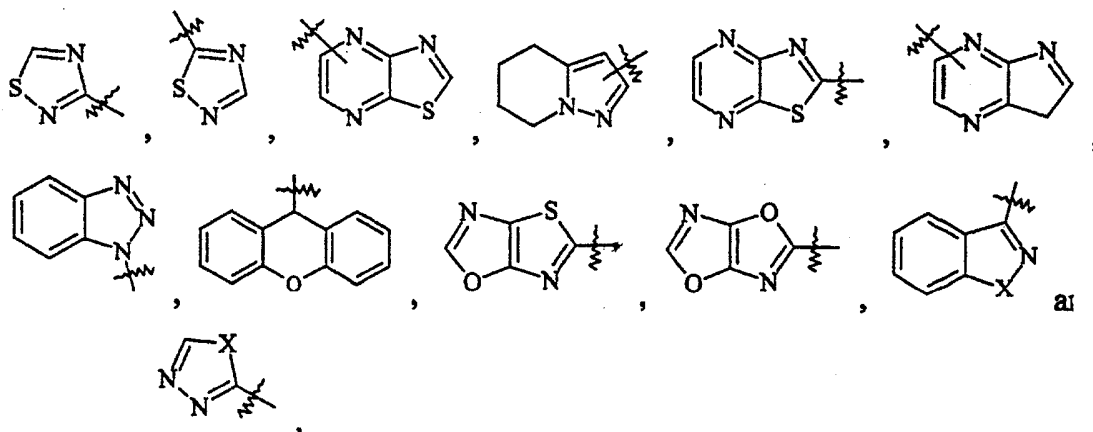
a ostatní symboly mají v nároku 5 uvedený význam.

7. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 5, kde znamená Het aromatickou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 5 uvedený význam.

8. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolu podľa nároku 7, kde znamená Het skupinu



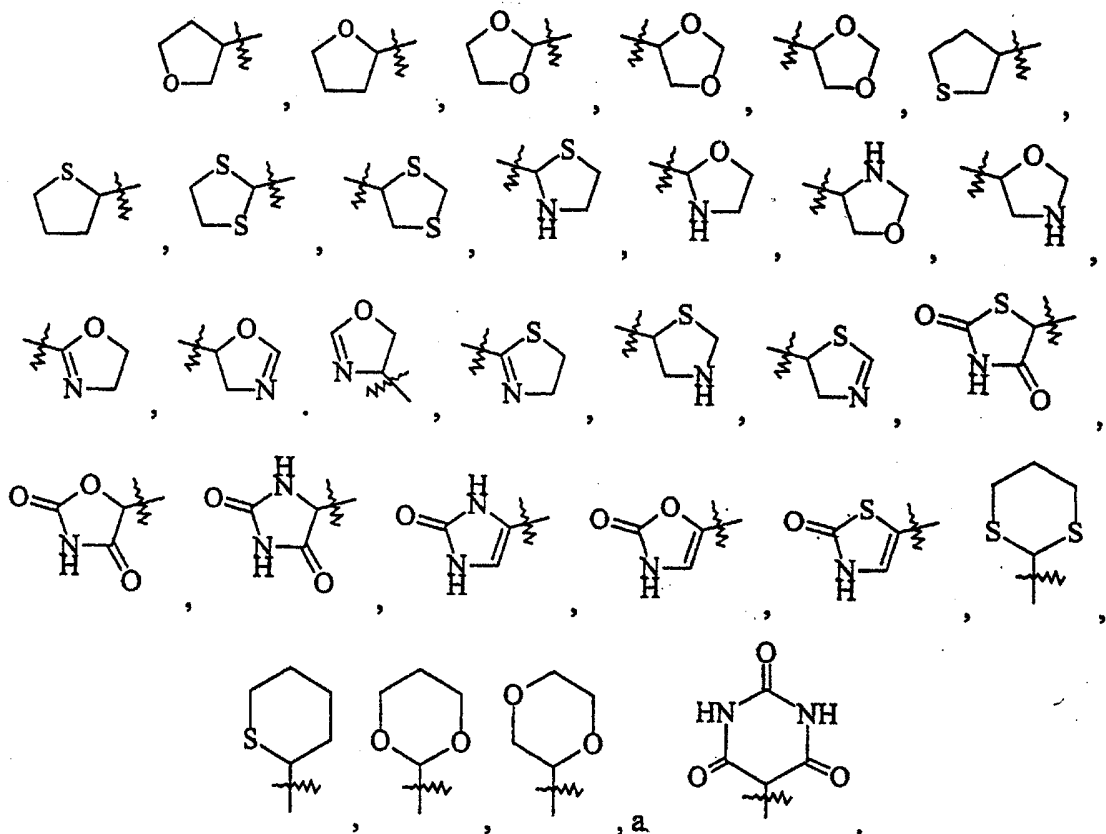
20.05.02



kde znamená X atom kyslíku, síry, skupinu NH nebo N-alkylovou a ostatní symboly mají v nároku 7 uvedený význam.

9. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 5, kde znamená Het nearomatickou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 5 uvedený význam.

10. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 9, kde znamená Het skupinu



a ostatní symboly mají v nároku 9 uvedený význam.

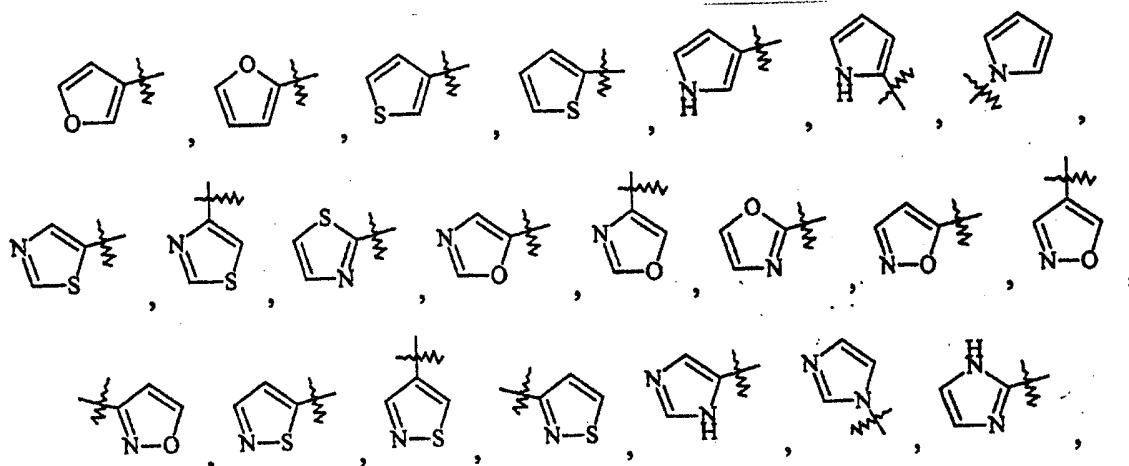
11. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 5, kde znamená R^3 heterocyklickou skupinu ze souboru zahrnujícího

- a) šestičlenný heterocyklický kruh obsahující 1 až 3 heteroatomy ze souboru zahrnujícího atom kyslíku, dusíku a síry,
- b) pětičlenný heterocyklický kruh obsahující buď
 - 1) jeden atom kyslíku, jeden atom dusíku nebo jeden atom síry,
 - 2) atom síry a atom dusíku, atom kyslíku a atom dusíku nebo dva atomy dusíku a
 - 3) tři atomy dusíku, jeden atom kyslíku a dva atomy dusíku nebo jeden atom síry a dva atomy dusíku,

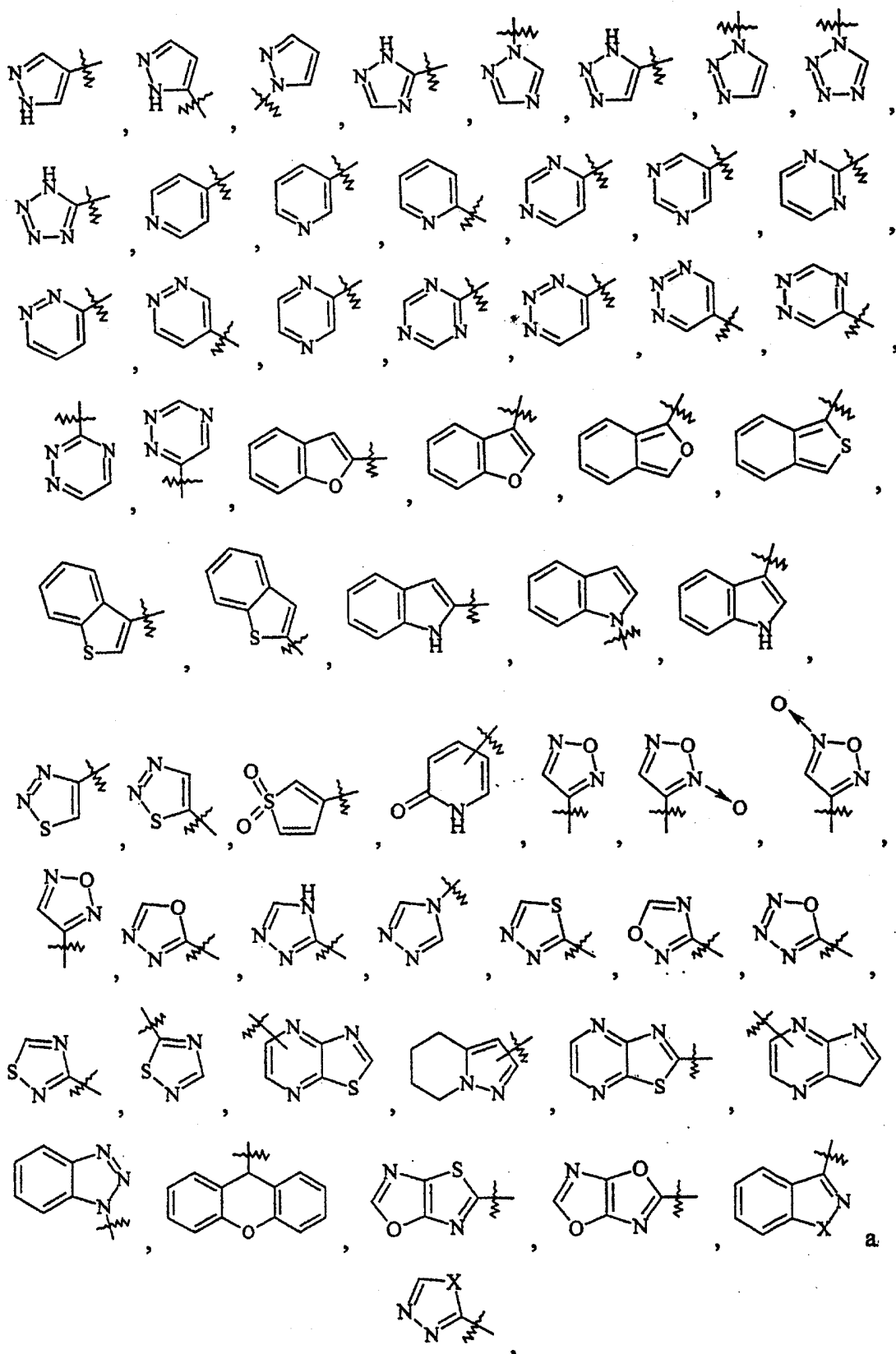
a ostatní symboly mají v nároku 5 uvedený význam.

12. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 11, kde znamená R^3 aromatickou heterocyklickou skupinu a ostatní symboly mají v nároku 11 uvedený význam.

13. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podle nároku 8, kde znamená R^3 skupinu



20.05.00



kde znamená X atom kyslíku, síry, skupinu NH nebo N-alkylovou
a ostatní symboly mají v nároku 8 uvedený význam.

[illegible]

15. Derivát heterocyklickou skupinou substituovaného pyrazolonu podľa nároku 13, kde znamená R^4 atom fluóru, chloru, bromu, jódu, hydroxylovou skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, skupinu trifluormetylovou, metylovou, etylovou, propylovou, iso-propylovou, butylovou, sek-butylovou, terc-butylovou, pentylovou, etenylovou, propenylovou, butenylovou, etinylovou, propinylovou, butinylovou, methoxyskupinu, ethoxyskupinu, n-propoxyskupinu, i-propoxyskupinu, n-butoxyskupinu, sek-butoxyskupinu, terc-butoxyskupinu, skupinu fenylovou, cyklopropylovou, cyklobutylovou, cyklopentylovou, cyklohexylovou, skupi-

nu CO₂H, formylovou, acetylovou, propanoylovou, butyrylovou, NH₂, monoalkylaminoskupinu, dialkylaminoskupinu, skupinu fenylovou, heteroarylovou a n 0, 1 nebo 2 a ostatní symboly mají v nároku 1 uvedený význam.

16. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje derivát podle nároku 1 a farmaceuticky přijatelný nosič.

17. Způsob inhibice kinázy ze souboru zahrnujícího kinázu trk, VEGFR, MLK a FGFR, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podává derivát podle nároku 1 v dostatečném množství k dosažení efektivní inhibice.

18. Způsob ošetřování nebo prevence angiogenních poruch, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podává derivát podle nároku 1 v dostatečném množství k dosažení efektivní účinku.

19. Způsob podle nároku 18, přičemž angiogenní poruchou je rakovinový pevný nádor, endometrioza, diabetická retinopathie, lupénka, hemangioblastom, oční porucha nebo makulární degenerace, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podává derivát podle nároku 1 v dostatečném množství k dosažení efektivního účinku.

20. Způsob ošetřování nebo prevence Alzheimerovy nemoci, amyotropní laterální sklerózy, Parkinsonovy nemoci, mrtvice, ischemie, Huntingtonovy nemoci, demencie spojené s AIDS, epilepsie, rozptýlené sklerózy, periferní neuropathie, poškození mozku nebo míchy, rakoviny, restenózy, osteoporózy, zánětu, virové infekce, kostního nebo hematopoetického onemocnění, autoimunních nemocí nebo odmítání transplantátu, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se podává derivát podle nároku 1 v dostatečném množství k dosažení efektivního účinku.