

C07D 473/32 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA

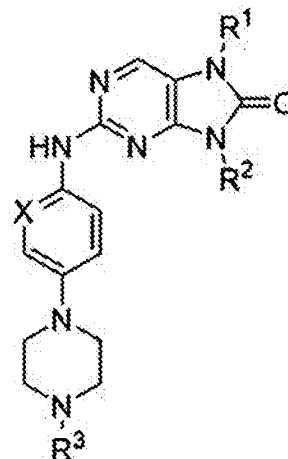


ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2020-510
(22) Přihlášeno: 15.09.2020
(40) Zveřejněno: 23.03.2022
(Věstník č. 12/2022)
(47) Uděleno: 17.08.2022
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: 28.09.2022
(Věstník č. 39/2022)

(56) Relevantní dokumenty:
WO 2007140222 A2; WO 2009024824 A1; WO 2018171819 A1.

(73) Majitel patentu:
Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.,
Praha 6, Lysolaje, CZ
(72) Původce:
doc. RNDr. Petr Cankař, Ph.D., Olomouc, Hejčín, CZ
Mgr. Monika Tomanová, Hradec nad Moravicí, CZ
Mgr. Lukáš Jedinák, Ph.D., Olomouc, Nová Ulice, CZ
doc. RNDr. Vladimír Kryštof, Ph.D., Olomouc, CZ
Mgr. Radek Jorda, Ph.D., Olomouc, Neředín, CZ
Mgr. Eva Řezníčková, Ph.D., Olomouc, Nová Ulice, CZ
prof. Ing. Miroslav Strnad, CSc., DSc., Olomouc, Neředín, CZ
(74) Zástupce:
HARBER IP s.r.o., Dukelských hrdinů 567/52,
170 00 Praha 7, Holešovice



(54) Název vynálezu:
Substituované purinové sloučeniny jako inhibitory proteinkináz, jejich použití jako léčiva a farmaceutické přípravky obsahující tyto deriváty

(57) Anotace:
Předkládané řešení poskytuje substituované 2-piperazinylarylamino-8-oxopuriny obecného vzorce I pro použití jako léčiva. Tyto látky jsou inhibitory proteinkináz CDK4, CDK6, FLT3 a PDGFR, a jsou tak vhodné pro léčbu onkologických a hematoonkologických chorob.

Substituované purinové sloučeniny jako inhibitory proteinkináz, jejich použití jako léčiva a farmaceutické přípravky obsahující tyto deriváty

5 Oblast techniky

Tento vynález se týká nových substituovaných 2-piperazinylarylamo-8-oxopurinů, které jsou účinnými inhibitory cyklin dependentních kináz 4 (CDK4) a 6 (CDK6) a receptorových kináz FLT3 a PDGFR. Vynález se také týká použití uvedených sloučenin jako léčiv, zejména pro léčení
10 buněčných proliferativních onemocnění, jako je rakovina.

Dosavadní stav techniky

15 Proteinkinázy jsou enzymy zodpovědné za regulaci řady buněčných procesů. Podstatou jejich funkce je přenos fosfátové skupiny z ATP na protein, jehož vlastnosti se tím výrazně mění. S kvalitativními nebo kvantitativními poruchami aktivity kináz a fosforylace proteinů je prokazatelně spojeno mnoho poruch a onemocnění, včetně autoimunitních poruch, zánětlivých, metabolických a neurodegenerativních onemocnění a rakoviny. Z tohoto důvodu jsou
20 proteinkinázy považovány za vhodné cíle pro moderní farmaka a jejich inhibitory jsou vyvíjeny pro terapeutické použití v humánní i veterinární medicíně.

Proteinkinázy z rodiny cyklin dependentních kináz (CDK) se uplatňují mj. při regulaci buněčného cyklu. Tyto enzymy jsou heterodimery tvořené katalytickou (CDK) a regulační podjednotkou (cyklin) (Genome Biol 2014;15:122). Průchod G1 fázi je řízen CDK4 a CDK6 v komplexu
25 s cykliny typu D, navození S fáze pak CDK2 aktivovanou cyklinem E. Replikace DNA během S fáze závisí na aktivitě CDK2 v komplexu s cyklinem A. CDK1 s cykliny A a B pak regulují průchod fázemi G2 a M. Další CDK se podílí na regulaci procesů, které s buněčným cyklem nesouvisí; např. CDK7, CDK8, CDK9 a CDK11 jsou zapojeny do regulace transkripce mRNA.

30 Aktivita CDK řídících buněčný cyklus je kriticky závislá na asociaci s cykliny, jejichž hladiny se během buněčného cyklu výrazně mění a představují tak nejvýznamnější regulační prvek. Aktivita CDK je dále regulována fosforylací aktivační smyčky prostřednictvím kinázy CDK7/CAK a defosforylací fosfatázami CDC25. Další stupeň kontroly CDK je založen na proteinových
35 inhibitech z rodiny INK4 a Cip/Kip, které jsou využívány zejména pro zastavení buněčného cyklu.

Deregulace aktivity CDK je v považována za typickou vlastnost nádorových buněk, přičemž již byla popsána řada mechanismů, které ji způsobují (Nat Rev Drug Discov 2009;8:547-66).
40 V nádorech jsou detekovány nejčastěji inaktivující mutace (delece a bodové mutace) nebo umlčování genů kódujících inhibitory INK4 a Cip/Kip a zvýšené exprese cyklinů a CDK. Zvýšená exprese cyklinu D1 byla například prokázána v karcinomech prsu, močového měchýře, jícnu a karcinomech z dlaždicových buněk (Adv Cancer Res 1996;68:67-108.). V některých případech je deregulace aktivity CDK způsobena amplifikací nebo zvýšenou expresí katalytické podjednotky;
45 jedná se typicky o CDK4 a CDK6 (Leukemia 2008;22:387-392; Clin Cancer Res 2012;18:4612-4620). Ve vzácných případech může příčinou deregulace aktivity CDK být bodová mutace CDK4, které snižuje citlivost k inhibičnímu proteinu INK4a (Nat Genet 1996;12:97-99). Za významný mechanismus poškozující regulaci buněčného cyklu je považována také ztráta proteinu RB, který je jedním z hlavních substrátů CDK4 a CDK6. Absence funkčního proteinu RB vede k vyrazení
50 kontrolního bodu buněčného cyklu ve fázi G1 a následné deregulaci proliferace. Tato změna je typická pro retinoblastomy, osteosarkomy a některé další typy rakoviny (Genome Biol 2014;15:122). Kinázy CDKs jsou proto v současnosti považovány za významné cíle protinádorovou terapii (Nat Rev Drug Discov 2009;8:547-66; Curr Drug Targets 2010;11:291-302.).

55

V souladu s uvedenými fakty byly jako léčiva pro metastazující hormonálně dependentní a HER2 negativní karcinomy prsu schváleny inhibitory výrazně více specifické vůči CDK4 a CDK6 - palbociclib, ribociclib a abemaciclib (Pharmacol Res. 2019;139:471-488; Pharmacol Res. 2019;144:19-50). Preklinické experimentální práce však naznačují, že specifické inhibitory CDK4 a CDK6 mohou mít výrazný terapeutický účinek také u řady jiných typů nádorových onemocnění.

Gen *FLT3* kóduje membránově vázanou receptorovou tyrosinkinázu FLT3, kterou aktivuje extracelulární signální ligand (Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2019;1872(1):80-88). Receptor pak dimerizuje, autofosforyluje se a aktivuje podřízené signální kaskády RAS/MAPK, JAK/STAT5 a PI3K/AKT, které podporují růst, proliferaci, přežívání a diferenciaci myeloidních buněk. Aktivující mutace FLT3 jsou typické pro 30 % pacientů s akutní myeloidní leukémií a úzce souvisejí se špatnou prognózou (Cancer Sci. 2020;111(2):312-322). Nejběžnější onkogenní mutací je interní tandemová duplikace (ITD) domény, která stabilizuje kinázu v aktivní konformaci a podporuje její konstitutivní aktivaci. Onkogenní FLT3 je proto také považována za významný terapeutický cíl a její inhibitory jsou studovány v klinických experimentech (Cancer. 2011, 117, 3293-304; Ther. Adv. Hematol. 2014, 5, 65-77). Nízkomolekulární inhibitory FLT3 (např. midostaurin, quizartinib, crenolanib, gilteritinib) vykazují slibné účinky nejen v preklinických modelech, ale vedou k významné částečné i úplné odpovědi u pacientů v klinických testech (Cancer Sci. 2020 Feb;111(2):312-322). Na druhou stranu vyvíjené inhibitory mají nežádoucí vedlejší účinky a déletrvající léčba vede k vývoji specifické rezistence komplikující další terapii.

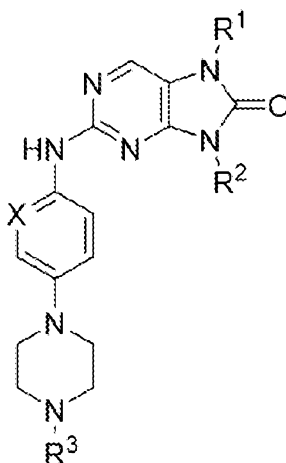
Jako velmi výhodný koncept léčby jsou proto vyvíjeny sloučeniny inhibující CDK4 a CDK6 v kombinaci s jinými kinázami, jako je FLT3, JAK2 a AXL, jejichž účinek na vybrané leukemie, lymfomy a některá jiná nádorová onemocnění je významně silnější (Blood. 2017, 129, 257-260; J. Comput. Aided Mol. Des. 2012, 26, 437-450; Leukemia. 2012, 26, 236-243; Mol. Cancer Ther. 2014, 13, 880-889).

Podstatou tohoto vynálezu jsou proto nové sloučeniny s významnou protinádorovou aktivitou, které mohou být použity k léčbě nádorových onemocnění.

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález proto popisuje skupinu nových substituovaných 2-piperazinyarylamino-8-oxopurinů, které jsou účinnými inhibitory cyklin dependentních kináz 4 a 6 a receptorových kináz FLT3 a PDGFR. Tato skupina nových purinových derivátů je významná vysokou selektivitou vůči CDK4 a CDK6 a zároveň inhibicí kináz FLT3 a PDGFR, a s nimi související protinádorovou aktivitou zejména vůči některým hematologickým malignitám. Nové sloučeniny mohou být proto používány jako protinádorová léčiva v onkologii a hematoonkologii.

Předmětem tohoto vynálezu jsou substituované 2-piperazinyarylamino-8-oxopuriny obecného vzorce I,



(I)

ve kterém

5

X je CH, R1 je methyl, ethyl, nebo isopropyl,

R2 je vybrán ze skupiny zahrnující cyklohexyl, cykloheptyl, cyklooktyl, 3-methylcyklohexyl; a

10

R3 je H nebo *tert*-butyloxykarbonyl,

a jejich farmaceuticky přijatelné soli, jako jsou soli s alkalickými kovy, amoniem nebo aminy, nebo adiční soli s kyselinami, a jejich farmaceuticky přijatelné solváty včetně hydrátů.

15

V případě, že jsou v molekule chirální centra, pak tento vynález zahrnuje i opticky aktivní isomery, jejich směsi a racemáty.

V dalším výhodném provedení je R2 vybrán ze stereoisomerů v 1*R*,3*R*, 1*R*,3*S*, 1*S*,3*R*, 1*S*,3*S* konfiguraci pro 3-methylcyklohexyl skupinu.

20

Následující deriváty obecného vzorce I jsou zvláště výhodné: 9-cyklohexyl-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on; 9-cykloheptyl-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on; 9-cyklooktyl-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on; 9-cyklohexyl-7-isopropyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on; 9-cykloheptyl-7-isopropyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on.

25

Předmětem tohoto vynálezu jsou dále sloučeniny obecného vzorce I pro použití jako léčiva, a to zejména pro léčbu proliferativních chorob zahrnujících dysregulaci (zejména upregulaci) kináz CDK4, CDK6, FLT3 a/nebo PDGFR.

30

Dalším předmětem tohoto vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I pro použití pro léčbu chorob, které zahrnují hyperproliferaci, zejména vybraných ze skupiny zahrnující následující choroby a poruchy: rakovina, restenóza, revmatoidní artritida, lupus, diabetes typu I, roztroušená skleróza, Alzheimerova choroba, růst parazitů (zvířata, houby, protisté), odmítnutí štěpu (hostitel versus štěp), štěp versus hostitel a dna.

35

CDK4/6 reguluje určité části buněčného cyklu, zejména fázi G1. Na základě aktivity sloučenin obecného vzorce jako inhibitorů této kinázy lze očekávat, že sloučeniny vzorce I a jejich farmaceuticky přijatelné soli mohou být použity jako antimitotické sloučeniny a pro léčení proliferativních chorob, jako je rakovina a restenóza. Ve velmi nízké koncentraci (mikromolární a

40

nižší) jsou tedy schopné inhibovat přechody buněčného cyklu (G1/S) v různých živočišných tkáních a embryích. Kromě toho jsou tyto sloučeniny užitečné při léčbě autoimunitních onemocnění, např. revmatoidní artritida, lupus, diabetes typu I, roztroušená skleróza; při léčbě Alzheimerovy choroby, kardiovaskulárních onemocnění, jako je restenóza, odmítnutí štěpu (hostitel vs. štěp), štěp vs. hostitel, dna; a při léčbě rakoviny, polycystických onemocnění ledvin a jiných proliferativních onemocnění, jejichž patogeneze zahrnuje abnormální buněčnou proliferaci.

Předmětem vynálezu jsou rovněž sloučeniny obecného vzorce I pro léčbu leukemií, zejména vybraných ze skupiny zahrnující následující leukémie: akutní myeloidní leukemie, akutní lymfocytární leukemie, akutní promyelocytární leukemie, chronická lymfocytární leukemie, chronická myeloidní leukemie, chronická neutrofilní leukemie, akutní nediferencovaná leukemie, anaplastický velkobuněčný lymfom, prolymfocytární leukemie, juvenilní myelomonocytární leukemie, adultní T-buněčná leukemie, myelodysplastický syndrom a myeloproliferativní porucha.

Dalším předmětem vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I pro použití jako antileukemika při terapii akutní myeloidní leukemie (AML) vyznačující se standardní nebo mutantní formou kinas FLT3. Za mutantní formy FLT3 lze považovat například FLT3-ITD a FLT3 s bodovými mutacemi FLT3-D835Y, FLT3-D835H, FLT3-D835V, FLT3-K663Q a FLT3-N84II. Mutantní formy FLT3 lze detekovat konvenčními metodami jako je PCR nebo sekvenace.

Účinnost sloučenin obecného vzorce I pro použití jako léčiva proti AML lze dále vyvodit i mechanismem účinku založeným na inhibici proteinkináz ze skupiny FLT3, CDK 4, CDK6, PDGFRA a PDGFRB, nebo jejich různých kombinacích. Kvantitativní změny exprese FLT3, CDK a cyklinů lze analyzovat RT-PCR. Přestavby v genomu (např. translokace FIP1L1-PDGFRB nebo jiné přestavby PDGFR) se detekují cytogenetickým vyšetřením, metodou FISH, sekvenací nebo komparativní genomovou hybridizací. Všechny uvedené metody se běžně využívají v laboratorní diagnostice.

Dalším předmětem vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I pro použití při léčbě hematologických poruch spojených s eosinofilií a charakterizovaných deregulací kinas PDGFRA, PDGFRB nebo FGFR1, ale zejména pro chronickou eosinofilní leukemii, v níž je PDGFRA onkogenně aktivována translokací a fúzí za vzniku FIP1L1-PDGFRB. Sloučeniny obecného vzorce I mohou být dále využity pro léčbu jiných hematologických poruch spojených s eosinofilií jako je hypereosinofilní syndrom, lymfocytární varianta hypereosinofilie, idiopatický hypereosinofilní syndrom, akutní myeloidní leukemie, B-buněčná nebo T-buněčná akutní lymfoblastická leukemie, lymfoblastický lymfom nebo myeloidní sarkom exprimující FIP1L1-PDGFRB.

Předmětem vynálezu jsou rovněž sloučeniny obecného vzorce I pro léčbu solidních tumorů s amplifikovaným, aktivovaným, deregulovaným nebo zvýšeně exprimovaným genem CDK4, CDK6, cyklinem D nebo PDGFRA, jako jsou karcinomy prsu, rakovina hlavy a krku, karcinomy plic, opakující se metastázy mozku, spinocelulární karcinom, nádory centrálního nervového systému, gliomy, sarkomy, nádory kolorekta a celého gastrického systému, nádory slinivky, jater, varlat, dělohy, prostaty, vaječníků, močového měchýře.

Kromě terapeutických aplikací (např. pro humánní, tak pro veterinární použití) je zřejmé, že předmětné sloučeniny mohou být použity jako aditiva buněčných kultur pro regulaci proliferačních a/nebo diferenciacních stavů buněk in vitro, například regulací hladiny aktivace CDK4/CDK6/FLT3.

Předmětem tohoto vynálezu jsou dále sloučeniny obecného vzorce I pro použití jako inhibitory cyklin dependentních kináz (CDK), s výhodou CDK4 nebo CDK6, a/nebo kináz FLT3 a PDGFR.

Dalším předmětem tohoto vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I pro použití jako inhibitory buněčné proliferace nebo induktory apoptózy v hyperproliferujících buňkách in vivo nebo in vitro.

Dalším předmětem tohoto vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I pro použití jako induktory senescence v hyperproliferujících buňkách in vivo nebo in vitro.

- 5 Dalším předmětem vynálezu je také farmaceutický přípravek obsahující alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I, a alespoň jeden farmaceuticky přijatelný nosič či pomocnou látku.

Nově popisované sloučeniny mohou být používány samostatně nebo jako meziprodukty při přípravě dalších sloučenin s terapeutickým, diagnostickým nebo technologickým využitím.

10

Farmaceutické přípravky

- Terapeutický přípravek obsahuje od 1 do 95 % aktivní látky, přičemž jednorázové dávky obsahují přednostně od 20 do 90 % aktivní látky a při způsobech aplikace, které nejsou jednorázové, obsahují přednostně od 5 do 20 % aktivní látky. Jednotkové dávkové formy jsou např. potahované tablety, tablety, ampule, lahvičky, čípky nebo tobolky. Jiné formy aplikace jsou např. masti, krémy, pasty, pěny, tinktury, rtěnky, kapky, spreje, disperze atd. Příkladem jsou tobolky obsahující od 0,05 g do 1,0 g aktivní látky.

- 20 Farmaceutické přípravky podle předloženého vynálezu jsou připravovány známým způsobem, např. běžným mícháním, granulací, potahováním, rozpouštěcími nebo lyofilizačními procesy.

- Přednostně jsou používány roztoky aktivních látek a dále také suspenze nebo disperze, obzvláště izotonické vodné roztoky, suspenze nebo disperze, které mohou být připraveny před použitím, např. v případě lyofilizovaných preparátů obsahujících aktivní látku samotnou nebo s nosičem jako je mannitol. Farmaceutické přípravky mohou být sterilizovány a/nebo obsahují excipienty, např. konzervační přípravky, stabilizátory, zvlhčovač a/nebo emulgátory, rozpouštěcí činidla, soli pro regulaci osmotického tlaku a/nebo pufrů. Jsou připravovány známým způsobem, např. běžným rozpouštěním nebo lyofilizací. Zmíněné roztoky nebo suspense mohou obsahovat látky zvyšující viskozitu, jako např. sodnou sůl karboxymethylcelulózy, dextran, polyvinylpyrrolidon nebo želatinu.

- Olejové suspence obsahují jako olejovou složku rostlinné, syntetické nebo semisyntetické oleje obvyklé pro injekční účely. Oleje, které zde mohou být zmíněny, jsou obzvláště kapalně estery mastných kyselin, které obsahují jako kyselou složku mastnou kyselinu s dlouhým řetězcem majícím 8-22, s výhodou pak 12-22 uhlíkových atomů, např. kyselinu laurovou, tridekanovou, myristovou, pentadekanovou, palmitovou, margarovou, stearovou, arachidonovou a behenovou, nebo odpovídající nenasycené kyseliny, např. kyselinu olejovou, alaidikovou, eurikovou, brasidovou a linoleovou, případně s přísadkou antioxidantů, např. vitaminu E, β -karotenu nebo 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluenu. Alkoholová složka těchto esterů mastných kyselin nemá více než 6 uhlíkových atomů a je mono- nebo polyhydričká, např. mono-, di- nebo trihydričké alkoholy jako metanol, etanol, propanol, butanol nebo pentanol a jejich isomery, ale hlavně glykol a glycerol. Estery mastných kyselin jsou s výhodou např. ethyl oleát, isopropyl myristát, isopropyl palmitát, „Labrafil M 2375“ (polyoxyethylen glycerol trioleát, Gattefoscé, Paříž), „Labrafil M 1944 CS“ (nenasycené polyglykolované glyceridy připravené alkoholů z oleje z meruňkových jader a složené z glyceridů a esterů polyethylen glykolu; Gattefoscé, Paříž), „Labrasol“ (nasycené polyglykolované glyceridy připravené alkoholů z TCM a složené z glyceridů a esterů polyethylen glykolu; Gattefoscé, Paříž) a/nebo „Miglyol 812“ (triglycerid nasycených mastných kyselin s délkou řetězce C₈ až C₁₂ od Hüls AG, Německo) a zvláště rostlinné oleje jako bavlníkový olej, mandlový olej, olivový olej, ricinový olej, sezamový olej, sójový olej a zejména olej z podzemnice olejné.

- Příprava injekčního přípravku se provádí za sterilních podmínek obvyklým způsobem, např. plněním do ampulí nebo lahviček a uzavíráním obalů.

55

Např. farmaceutické přípravky pro orální použití se mohou získat smícháním aktivní látky s jedním nebo více tuhými nosiči, případnou granulací výsledné směsi, a pokud je to požadováno, zpracováním směsi nebo granulí do tablet nebo potahovaných tablet přidavkem dalších neutrálních látek.

5 Vhodné nosiče jsou obzvláště plnidla jako cukry, např. laktóza, sacharóza, mannitol nebo sorbitol, celulóзовé preparáty a/nebo fosforečnany vápníku, s výhodou fosforečnan vápenatý nebo hydrogenfosforečnan vápenatý, dále pojiva jako škroby, s výhodou kukuřičný, pšeničný, rýžový nebo bramborový škrob, methylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, sodná sůl
10 karboxymethylcelulózy a/nebo polyvinylpyrrolidin, a/nebo pokud požadováno desintegrátory jako výše zmíněné škroby a dále karboxymethylový škrob, zesítený polyvinylpyrrolidin, alginová kyselina a její soli, s výhodou alginát sodný. Další neutrální látky jsou regulátory toku a lubrikanty, s výhodou kyselina salicylová, talek, kyselina stearová a její soli jako steárat hořečnatý a/nebo vápenatý, polyethylen glykol nebo jeho deriváty. Jádra potahovaných tablet mohou být potažena
15 vhodnými potahy, které mohou být odolné vůči žaludeční šťávě, přičemž používané potahy jsou mezi jinými koncentrované roztoky cukrů, které mohou obsahovat arabskou gumu, talek, polyvinylpyrrolidin, polyethylen glykol a/nebo oxid titaničitý, dále potahovací roztoky ve vhodných organických rozpouštědlech nebo směsích rozpouštědel, či pro přípravu potahů odolných vůči žaludeční šťávě roztoky vhodných celulóзовých preparátů jako acetylcelulózaftalát
20 nebo hydroxypropylmethylcelulózaftalát. Barviva nebo pigmenty jsou přimíchávány do tablet nebo potahovaných tablet např. pro identifikaci nebo charakterizaci různých dávek účinné složky.

Farmaceutické přípravky, které mohou být užívány orálně, jsou také tvrdé tobolky ze želatiny nebo měkké uzavřené tobolky ze želatiny a změkčovadla jako glycerol nebo sorbitol. Tvrdé tobolky
25 mohou obsahovat aktivní látku ve formě granulí, smíchanou např. s plnidly jako je kukuřičný škrob, pojivy nebo lubrikanty jako talek nebo steárat hořečnatý, a se stabilizátory. V měkkých tobolkách je aktivní látka přednostně rozpuštěna nebo suspendována ve vhodných kapalných látkách neutrální povahy jako mazací tuk, parafinový olej nebo kapalný polyethylen glykol či estery mastných kyselin a ethylen nebo propylenglykolu, přičemž je také možno přidat stabilizátory
30 a detergenty např. typu esterů polyethylen sorbitanových mastných kyselin.

Další formy orálního podávání jsou např. sirupy připravované běžným způsobem, které obsahují aktivní složku např. v suspendované formě a v koncentraci okolo 5 až 20 %, přednostně okolo
35 10 % nebo podobné koncentrace, která umožňuje vhodnou individuální dávku, např. když je odměřeno 5 nebo 10 ml. Ostatní formy jsou např. práškové nebo kapalné koncentráty pro přípravu koktejlů, např. v mléce. Takovéto koncentráty mohou být také baleny v množství odpovídajícím jednotkové dávce.

Farmaceutické přípravky, které mohou být používány rektálně, jsou např. čípky, které obsahují
40 kombinaci aktivní látky se základem. Vhodné základy jsou např. přírodní nebo syntetické triglyceridy, parafinové uhlovodíky, polyethylen glykoly nebo vyšší alkoholy.

Přípravky vhodné pro parenterální podání jsou vodné roztoky aktivní složky ve formě rozpustné ve vodě, např. ve vodě rozpustná sůl nebo vodná injekční suspenze, která obsahuje látky zvyšující
45 viskozitu, např. sodnou sůl karboxymethylcelulózy, sorbitol a/nebo dextran, a stabilizátory tam kde je to vhodné. Aktivní látka může být také přítomna ve formě lyofilizátu společně s excipienty kde je to vhodné a může být rozpuštěna před parenterální aplikací přidáním vhodných rozpouštědel. Roztoky, které jsou použity pro parenterální aplikaci, mohou být použity např. i pro infúzní roztoky. Preferovaná konzervovadla jsou s výhodou antioxidanty jako kyselina askorbová, nebo
50 mikrobicidy kyselina sorbová či benzoová.

Tinkтуры a roztoky obvykle obsahují vodně-etanolicou bázi, ke které jsou přimíchána zvlhčovadla pro snížení odpařování jako jsou polyalkoholy, např. glycerol, glykoly a/nebo polyethylen glykol, dále promazávací jako estery mastných kyselin a nižších polyethylen glykolů, tj. lipofilní látky

rozpustné ve vodné směsi nahrazující tukové látky odstraněné z kůže etanolem, a pokud je to nutné, i ostatní excipienty a aditiva.

Vynález se také vztahuje na procesy nebo metody pro léčení nemocí zmíněných výše. Látky mohou být podávány profylakticky nebo terapeuticky jako takové nebo ve formě farmaceutických přípravků, přednostně v množství, které je efektivní proti zmíněným nemocem, přičemž u teplokrevných živočichů, např. člověka, vyžadujícího takovéto ošetření, je látka používána zejména ve formě farmaceutického přípravku. Na tělesnou hmotnost okolo 70 kg je aplikována denní dávka látky okolo 0,01 až 1 g, s výhodou 0,05 až 1 g.

Objasnění výkresů

Obr. 1 ukazuje účinek sloučeniny 9 na buněčný cyklus v buňkách MV4-11 po 24 hodinách.

Obr. 2 ukazuje účinek sloučeniny 9 na buněčný cyklus v buňkách EOL-1 po 24 hodinách.

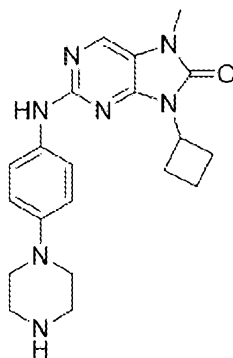
Příklady uskutečnění vynálezu

Následující příklady slouží k ilustraci vynálezu, aniž by omezovaly jeho rozsah. Výchozí látky a pomocný materiál pro přípravu sloučeniny I lze získat z komerčních zdrojů (Merck, Fluorochem, atd.). Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku pomocí rotační vakuové odparky při teplotách nižších než 60 °C. MS spektra (m/z) byly měřeny na AQUILITY UPLC systému (Waters, USA) s detektorem diodového pole a hmotnostním spektrometrem s HESI a s kvadrupólovým analyzátozem s QDA detektorem. Pro sloupcovou chromatografii byl použit Merck silika gel Kieselgel 60 (zmitost 230 až 400). Všechny sloučeniny vykazaly uspokojivé elementární analýzy ($\pm 0,4$ %).

Metoda A

Příklad 1

9-Cyklobutyl-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on
(sloučenina nespádá do rozsahu vynálezu)



Roztok 2,4-dichlorpyrimidin-5-aminu (5 g; 30,5 mmol) v MeOH (90 ml) byl ochlazen na 0 °C. Následně byla k roztoku přidána ledová kyselina octová (10 ml; 183 mmol) a 37% vodný roztok formaldehydu (2,7 ml; 36,6 mmol). Směs byla míchána 1 hodinu, následně vytažena z ledové lázně, kdy bylo přidáno další množství ledové kyseliny octové (20 ml). Po 3 hodinách byl po částech ke směsi přidán NaBH₃CN (4,6 g; 73,2 mmol). Po 20 hodinách, kdy byla směs míchána při 5 °C, bylo rozpouštědlo odpařeno za sníženého tlaku, odparek byl naředěn destilovanou vodou (100 ml) a ochlazen v ledové lázni. Kyselina octová byla neutralizována pevným NaHCO₃.

Následně byla vodná fáze extrahována DCM (2× 80 ml) a spojené organické fáze byly promyty solankou, vysušeny bezvodým MgSO₄ a odpařeny za sníženého tlaku. Odparek byl naředěn MeOH (10 ml), ochlazen v ledové lázni a bylo přidáno 80 ml destilované vody. Po důkladném vymíchání byla pevná látka zfiltrována a promyta vodou. 2,4-Dichlor-*N*-methylpyrimidin-5-amin byl získán jako pevná bílá látka ve výtěžku 4,4 g (81 %).

K roztoku 2,4-dichlor-*N*-methylpyrimidin-5-aminu (178 mg, 1,00 mmol) v butanolu (10 ml) byl přidán cyklobutylamin (71 mg; 82 µl; 1,00 mmol), *N,N*-diisopropylethylamin (259 mg; 348 µl; 2,00 mmol) a směs byla míchána při 80 °C. Po 48 hodinách byl butanol odpařen za sníženého tlaku a surový produkt přečištěn na chromatografické koloně s mobilní fází hexan/EtOAc (1:1). Produkt 2-chlor-*N*⁴-cyklobutyl-*N*⁵-methylpyrimidin-4,5-diamin byl získán ve výtěžku 179 mg (84 %).

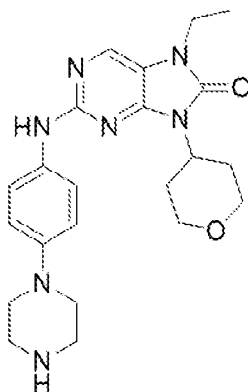
2-Chlor-*N*⁴-cyklobutyl-*N*⁵-methylpyrimidin-4,5-diamin (150 mg; 0,70 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém THF (10 ml) pod inertní atmosférou dusíku a ochlazen na -10 °C. K roztoku byl pomalu přidán 15 wt % COCl₂ v toluenu (560 µl; 0,85 mmol) a po kapkách byl přidán 1M LiHMDS v hexanu (1,4 ml; 1,40 mmol). Po 1 hodině byla směs vytemperována na teplotu místnosti a míchána 20 min. Reakční směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází EtOAc/hexan (2:1). Produkt 2-chlor-9-cyklobutyl-7-methyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 130 mg (77 %).

Vialka do mikrovlnného reaktoru byla naplněna 2-chlor-9-cyklobutyl-7-methyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-onem (65 mg; 0,27 mmol), směsí rozpouštědel 4:1 dioxan / H₂O (1 ml), *tert*-butyl 4-(4-aminofenyl)piperazin-1-karboxylátem (60 mg; 0,22 mmol), K₂CO₃ (150 mg; 1,08 mmol) a XPhos Pd G2 (4 mg; 2 mol. %). Reakční směs byla míchána při teplotě 100 °C pod mikrovlnným zářením (150 W) po dobu 90 min. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (1:1). Produkt *tert*-butyl 4-(4-((9-cyklobutyl-7-methyl-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl) piperazin-1-karboxylát byl získán ve výtěžku 60 mg (57 %).

K roztoku *tert*-butyl 4-(4-((9-cyklobutyl-7-methyl-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylátu (60 mg; 0,13 mmol) ve směsi 1:1 DCM/MeOH (2,5 ml) byla přidána 36% HCl (200 µl). Po 48 hodinách byl pevný produkt zfiltrován, rozpuštěn v destilované vodě (1,3 ml) a směs byla neutralizovaná pevným K₂CO₃. Krystalický produkt byl zfiltrován, promyt vodou a vysušen za sníženého tlaku. Produkt 9-cyklobutyl-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 29 mg (61 %).

Příklad 2

7-ethyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-9-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (sloučenina nespadá do rozsahu vynálezu)



2,4-Dichlor-*N*-ethylpyrimidin-5-amin byl připraven podle Příkladu 2 s tím, že byl použit 1,1-dimethoxyethan.

K roztoku 2,4-dichlor-*N*-ethylpyrimidin-5-aminu (192 mg; 1,00 mmol) v butanolu (10 ml) byl přidán tetrahydro-2*H*-pyran-4-amin hydrochlorid (137 mg; 1,00 mmol), *N,N*-diisopropylethylamin (389 mg; 522 μ l; 3,00 mmol) a směs byla míchána při 85 °C. Po 48 hodinách byl butanol odpařen za sníženého tlaku a surový produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází EtOAc/hexan (2:1). Produkt 2-chlor-*N*⁵-ethyl-*N*⁴-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-4,5-diamin byl získán ve výtěžku 205 mg (80 %).

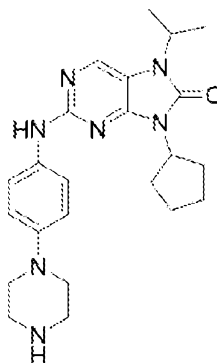
2-Chlor-*N*⁵-ethyl-*N*⁴-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-4,5-diamin (189 mg; 0,74 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém THF (10 ml) pod inertní atmosférou dusíku a ochlazen na -10 °C. K roztoku byl pomalu přidán 15 wt % COCl₂ v toluenu (592 μ l; 0,89 mmol) a po kapkách byl přidán 1M LiHMDS v hexanu (1,5 ml; 1,50 mmol). Po 1 hodině byla směs vytemperována na teplotu místnosti a míchána 20 minut. Reakční směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází EtOAc/hexan (2:1). Produkt 2-chlor-7-ethyl-9-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 86 mg (41 %).

Vialka do mikrovlnného reaktoru byla naplněna 2-chlor-7-ethyl-9-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-onem (79 mg; 0,28 mmol), směsí rozpouštědel 4:1 dioxan / H₂O (1,4 ml), *tert*-butyl 4-(4-aminofenyl)piperazin-1-karboxylátem (62 mg; 0,22 mmol), K₂CO₃ (155 mg; 1,12 mmol) a XPhos Pd G2 (4,5 mg; 2 mol. %). Reakční směs byla míchána při teplotě 100 °C pod mikrovlnným zářením (150 W) dvě hodiny. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází EtOAc/hexan (2:1). Produkt *tert*-butyl 4-(4-((7-ethyl-8-oxo-9-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylát byl získán ve výtěžku 107 mg (93 %).

K roztoku *tert*-butyl 4-(4-((7-ethyl-8-oxo-9-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylátu (102 mg; 0,20 mmol) ve směsi 1:1 DCM/MeOH (4,9 ml) byla přidána 36% HCl (384 μ l). Po 72 hodinách byla přidána destilovaná voda (1 ml) a pevný K₂CO₃ k dosažení pH >12. Roztok byl odpařen a produkt čištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází (10:1 DCM/MeOH). Produkt 7-ethyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-9-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 53 mg (64 %).

Příklad 3

*9-cyklopentyl-7-isopropyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on*
(sloučenina nespádá do rozsahu vynálezu)



Baňka s kulatým dnem byla naplněna 2,4-dichlor-pyrimidin-5-aminem (5 g; 30,5 mmol), 2,2-dimethoxypropanem (61 ml; 50 mmol) a ledovou kyselinou octovou (7,3 ml; 134 mmol). Směs byla ochlazená v ledové lázni, k níž byl následně přidán roztok NaBH(OAc)₃ (26 g; 122 mmol) v

DCM (61 ml). Po dvou hodinách byla reakční směs vytažena z ledové lázně a míchána dalších 20 minut při teplotě místnosti. Směs byla zahuštěna za sníženého tlaku, naředěna DCM (150 ml), promyta 10% K₂CO₃ (100 ml), destilovanou vodou (100 ml), solankou (100 ml) a následně vysušena bezvodým MgSO₄ a odpařena za sníženého tlaku. Surový produkt 2,4-dichlor-*N*-isopropylpyrimidin-5-amin byl získán pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (1:1) ve výtěžku 6,18 g (98 %).

K roztoku 2,4-dichlor-*N*-isopropylpyrimidin-5-aminu (412 mg; 2,00 mmol) v butanolu (20 ml) byl přidán cyklopentylamin (170 mg; 197 µl; 2,00 mmol), *N,N*-diisopropylethylamin (518 mg; 696 µl; 4,00 mmol) a směs byla míchána při 90 °C. Po 48 hodinách byl butanol odpařen za sníženého tlaku a surový produkt byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (7:2). Produkt 2-chlor-*N*⁴-cyklopentyl-*N*⁵-isopropylpyrimidin-4,5-diamin byl získán ve výtěžku 377 mg (74 %).

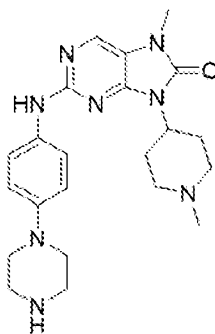
2-Chlor-*N*⁴-cyklopentyl-*N*⁵-isopropylpyrimidin-4,5-diamin (203 mg; 0,80 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém THF (12 ml) pod inertní atmosférou dusíku a ochlazen na -10 °C. K roztoku byl pomalu přidán 15 wt % COCl₂ v toluenu (640 µl; 0,96 mmol) a po kapkách byl přidán 1M LiHMDS v hexanu (1,6 ml; 1,60 mmol). Po 1 hodině byla směs vytemperována na teplotu místnosti a míchána 20 minut. Reakční směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (3:1). Produkt 2-chlor-9-cyklopentyl-7-isopropyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 207 mg (92 %).

Vialka do mikrovlnného reaktoru byla naplněna 2-chlor-9-cyklopentyl-7-isopropyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-onem (94 mg; 0,33 mmol), směsí rozpouštědel 4:1 dioxan / H₂O (1,65 ml), *tert*-butyl 4-(4-aminofenyl)piperazin-1-karboxylátem (73 mg; 0,26 mmol), K₂CO₃ (182 mg; 1,32 mmol), a XPhos Pd G2 (5 mg; 2 mol. %). Reakční směs byla míchána při teplotě 100 °C pod mikrovlnným zářením (150 W) po dobu 90 minut. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (2:1 až 1:1). Produkt *tert*-butyl 4-(4-((9-cyklopentyl-7-isopropyl-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylát byl získán ve výtěžku 85 mg (70 %).

K roztoku *tert*-butyl 4-(4-((9-cyklopentyl-7-isopropyl-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylátu (80 mg; 0,15 mmol) ve směsi 1:1 DCM/MeOH (3 ml) byla přidána 36% HCl (240 µl). Po 72 hodinách byla přidána destilovaná voda (0,75 ml) a pevný K₂CO₃ k dosažení pH >12. Roztok byl odpařen a čištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází DCM/MeOH (10:1). Produkt 9-cyklopentyl-7-isopropyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 16 mg (25%).

Příklad 4

7-methyl-9-(1-methylpiperidin-4-yl)-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (sloučenina nespadá do rozsahu vynálezu)



Roztok 2,4-dichlorpyrimidin-5-aminu (5 g; 30,5 mmol) v MeOH (90 ml) byl ochlazen na 0 °C. Následně byla k roztoku přidána ledová kyselina octová (10 ml; 183 mmol) a 37% vodný roztok formaldehydu (2,7 ml; 36,6 mmol). Směs byla míchána 1 hodinu, následně vytažena z ledové lázně, kdy bylo přidáno další množství ledové kyseliny octové (20 ml). Po 3 hodinách byl po
 5 částech ke směsi přidán NaBH₃CN (4,6 g; 73,2 mmol). Po 20 hodinách, kdy byla směs míchána při 5 °C, bylo rozpouštědlo odpařeno za sníženého tlaku, odparek byl naředěn destilovanou vodou (100 ml) a ochlazen v ledové lázni. Kyselina octová byla neutralizována pevným NaHCO₃. Následně byla vodná fáze extrahována DCM (2× 80 ml) a spojené organické fáze byly promyty solankou, vysušeny bezvodým MgSO₄ a odpařeny za sníženého tlaku. Odparek byl naředěn MeOH
 10 (10 ml), ochlazen v ledové lázni a bylo přidáno 80 ml destilované vody. Po důkladném vymíchání byla pevná látka zfiltrována a promyta vodou. 2,4-Dichlor-*N*-methylpyrimidin-5-amin byl získán jako pevná bílá látka ve výtěžku 4,4 g (81 %).

K roztoku 2,4-dichlor-*N*-methylpyrimidin-5-aminu (356 mg; 2,00 mmol) v butanolu (10 ml) byl
 15 přidán 1-methylpiperidin-4-amin (228 mg; 2,00 mmol) a *N,N*-diisopropylethylamin (518 mg; 696 µl; 4,00 mmol) a směs byla míchána při 60 °C. Po 48 hodinách byl přidán 1-methylpiperidin-4-amin (228 mg; 2,00 mmol) a *N,N*-diisopropylethylamin (518 mg; 696 µl; 4,00 mmol) a směs byla míchána při 60 °C 5 dní. Butanol byl odpařen za sníženého tlaku a surový produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází EtOAc/hexan (2:1). Produkt 2-chlor-*N*⁵-methyl-*N*⁴-(1-methylpiperidin-4-yl)pyrimidin-4,5-diamin byl získán ve výtěžku 480 mg (94 %).
 20

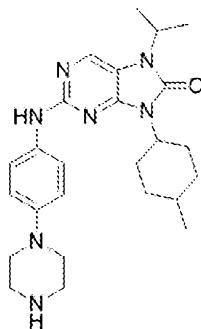
2-Chlor-*N*⁵-methyl-*N*⁴-(1-methylpiperidin-4-yl)pyrimidin-4,5-diamin (224 mg; 0,88 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém THF (12 ml) pod inertní atmosférou dusíku a ochlazen na -10 °C. K roztoku byl pomalu přidán 15 wt % COCl₂ v toluenu (725 µl; 1,10 mmol) a po kapkách byl přidán
 25 1M LiHMDS v hexanu (1,76 ml; 1,76 mmol). Po 1 hodině byla směs vytemperována na teplotu místnosti a míchána 20 minut. Reakční směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází EtOAc/hexan (2:1). Produkt 2-chlor-7-methyl-9-(1-methylpiperidin-4-yl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 101 mg (41 %).

Vialka do mikrovlnného reaktoru byla naplněna 2-chlor-7-methyl-9-(1-methylpiperidin-4-yl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-onem (76 mg; 0,27 mmol), směsí rozpouštědel 4:1 dioxan / H₂O (1 ml), *tert*-butyl 4-(4-aminofenyl)piperazin-1-karboxylátem (60 mg; 0,22 mmol), K₂CO₃ (150 mg; 1,08 mmol) a XPhos Pd G2 (4 mg; 2 mol. %). Reakční směs byla míchána při teplotě 100 °C pod mikrovlnným zářením (150 W) po dobu 60 min. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna
 35 pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází DCM/MeOH (30:1 až 10:1). Produkt *tert*-butyl 4-(4-((7-methyl-9-(1-methylpiperidin-4-yl)-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylát byl získán ve výtěžku 103 mg (95 %).

K roztoku *tert*-butyl 4-(4-((7-methyl-9-(1-methylpiperidin-4-yl)-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylátu (103 mg; 0,20 mmol) ve směsi 1:1 DCM/MeOH (3,85 ml) byla přidána 36% HCl (308 µl). Po 24 hodinách byla přidána 36% HCl (308 µl) a směs byla míchána dalších 24 hodin. Následně byl pevný produkt zfiltrován, rozpuštěn v destilované vodě (1,3 ml) a směs byla neutralizovaná pevným K₂CO₃. Krystalický produkt byl zfiltrován, promyt vodou a vysušen za sníženého tlaku. Produkt 7-methyl-9-(1-methylpiperidin-4-yl)-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 26 mg (31 %).
 45

Příklad 5

7-isopropyl-9-(4-methylcyklohexyl)-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (sloučenina nespadá do rozsahu vynálezu)
 50



Baňka s kulatým dnem byla naplněna 2,4-dichlorpyrimidin-5-aminem (5 g; 30,5 mmol), 2,2-dimethoxypropanem (61 ml; 50 mmol) a ledovou kyselinou octovou (7,3 ml, 134 mmol). Směs byla ochlazená v ledové lázni, k níž byl následně přidán roztok NaBH(OAc)₃ (26 g; 122 mmol) v DCM (61 ml). Po dvou hodinách byla reakční směs vytažena z ledové lázně a míchána dalších 20 min při teplotě místnosti. Směs byla zahuštěna za sníženého tlaku, naředěna DCM (150 ml) a promyta 10% K₂CO₃ (100 ml), destilovanou vodou (100 ml), solankou (100 ml) a následně vysušena bezvodým MgSO₄ a odpařena za sníženého tlaku. Surový produkt 2,4-dichlor-*N*-isopropylpyrimidin-5-amin byl získán pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází (1:1 hexan/EtOAc) ve výtěžku 6,18 g (98 %).

K roztoku 2,4-dichlor-*N*-isopropylpyrimidin-5-aminu (615 mg; 3,00 mmol) v butanolu (30 ml) byl přidán 4-methylcyclohexan-amin (340 mg; 400 μl; 3,00 mmol), *N,N*-diisopropylethylamin (777 mg; 1,05 ml; 6,00 mmol) a směs byla míchána při 90 °C. Po 48 hodinách byl butanol odpařen za sníženého tlaku a surový produkt byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (7:2). Produkt 2-chlor-7-isopropyl-*N*⁴-(4-methylcyclohexyl)pyrimidin-4,5-diamin byl získán ve výtěžku 509 mg (60 %).

2-Chlor-7-isopropyl-*N*⁴-(4-methylcyclohexyl)pyrimidin-4,5-diamin (226 mg; 0,80 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém THF (12 ml) pod inertní atmosférou dusíku a ochlazen na -10 °C. K roztoku byl pomalu přidán 15 wt % COCl₂ v toluenu (640 μl; 0,96 mmol.) a po kapkách byl přidán 1M LiHMDS v hexanu (1,6 ml; 1,60 mmol). Po 1 hodině byla směs vytemperována na teplotu místnosti a míchána 20 minut. Reakční směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (4:1). Produkt 2-chlor-7-isopropyl-9-(4-methylcyclohexyl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 159 mg (65 %).

Vialka do mikrovlnného reaktoru byla naplněna 2-chlor-7-isopropyl-9-(4-methylcyclohexyl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-onem (103 mg; 0,33 mmol), směsí rozpouštědel 4:1 dioxan / H₂O (1,65 ml), *tert*-butyl 4-(4-aminofenyl)piperazin-1-karboxylátem (73 mg; 0,26 mmol), K₂CO₃ (182 mg; 1,32 mmol) a XPhos Pd G2 (5 mg; 2 mol. %). Reakční směs byla míchána při teplotě 100 °C pod mikrovlnným zářením (150 W) po dobu 3 hodin. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí chromatografické kolony s mobilní fází hexan/EtOAc (2:1 až 3:2). Produkt *tert*-butyl 4-(4-((7-isopropyl-9-(4-methylcyclohexyl)-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylát byl získán ve výtěžku 78 mg (55 %).

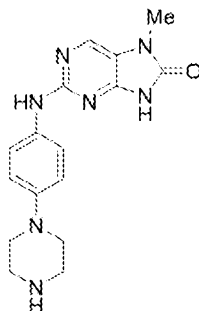
K roztoku *tert*-butyl 4-(4-((7-isopropyl-9-(4-methylcyclohexyl)-8-oxo-8,9-dihydro-7*H*-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylátu (36 mg; 0,065 mmol) ve směsi 1:1 DCM/MeOH (1,25 ml) byla přidána 36% HCl (104 μl). Po 72 hodinách byla přidána destilovaná voda (0,75 ml) a pevný K₂CO₃ k dosažení pH >12. Roztok byl odpařen a čištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází DCM/MeOH (10:1). Produkt 7-isopropyl-9-(4-methylcyclohexyl)-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 26 mg (90 %).

Metoda B

Příklad 6

7-Methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (sloučenina nespadá do rozsahu vynálezu)

5



K roztoku 2,4-dichlor-*N*-methylpyrimidin-5-aminu (379 mg; 2,13 mmol) v butanolu (22 ml) byl přidán (2,4-dimethoxyfenyl)methanamin (356 mg; 320 μ l; 2,13 mmol), *N,N*-diisopropylethylamin (552 mg; 741 μ l; 4,26 mmol) a směs byla míchána při 90 °C. Po 48 hodinách byl butanol odpařen za sníženého tlaku a surový produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (1:1). Produkt 2-chlor-*N*-(2,4-dimethoxybenzyl)-*N*⁵-methylpyrimidin-4,5-diamin byl získán ve výtěžku 518 mg (79 %).

2-Chlor-*N*-(2,4-dimethoxybenzyl)-*N*⁵-methylpyrimidin-4,5-diamin (309 mg, 1,00 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém THF (14 ml) pod inertní atmosférou dusíku a ochlazen na -10 °C. K roztoku byl pomalu přidán 15 wt % COCl₂ v toluenu (960 μ l; 1,20 mmol) a po kapkách byl přidán 1M LiHMDS v hexanu (2 ml; 2,00 mmol). Po 1 hodině byla směs vytemperována na teplotu místnosti a míchána 20 minut. Reakční směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (3:2 až 2:1). Produkt 2-chlor-9-(2,4-dimethoxybenzyl)-7-methyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on byl získán ve výtěžku 314 mg (94%).

Vialka do mikrovlnného reaktoru byla naplněna 2-chlor-9-(2,4-dimethoxybenzyl)-7-methyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-onem (188 mg; 0,56 mmol), směsí rozpouštědel 4:1 dioxan / H₂O (2 ml), *tert*-butyl 4-(4-aminofenyl)piperazin-1-karboxylátem (124 mg; 0,5 mmol), K₂CO₃ (309 mg; 2,24 mmol) a XPhos Pd G2 (9 mg; 2 mol. %). Reakční směs byla míchána při teplotě 100 °C pod mikrovlnným zářením (150 W) po dobu 90 min. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a čištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází hexan/EtOAc (2:1) až EtOAc/hexan (2:1). Produkt *tert*-butyl 4-(4-((9-(2,4-dimethoxybenzyl)-7-methyl-8-oxo-8,9-dihydro-7H-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylát byl získán ve výtěžku 252 mg (88%).

K roztoku *tert*-butyl 4-(4-((9-(2,4-dimethoxybenzyl)-7-methyl-8-oxo-8,9-dihydro-7H-purin-2-yl)amino)fenyl)piperazin-1-karboxylátu (219 mg; 0,38 mmol) ve směsi 1:1 DCM/MeOH (7,6 ml) byla přidána 36% HCl (608 μ l). Po 48 hodinách byl pevný produkt zfiltrován, rozpuštěn v destilované vodě (4 ml) a směs byla neutralizovaná pevným K₂CO₃. Krystalický produkt byl zfiltrován, promyt vodou a vysušen za sníženého tlaku. Produkt 9-(2,4-dimethoxybenzyl)-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on byl získán ve výtěžku 110 mg (61 %).

9-(2,4-Dimethoxybenzyl)-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (109 mg; 0,23 mmol) byl rozpuštěn v anisolu (1,2 ml), následně byla přidána trifluoroctová kyselina (1 ml) a reakční směs byla zahřívána v kulaté baňce opatřené zpětným chladičem při 90 °C 5 dnů. TFA byla odfoukána proudem dusíku a anisol byl odpařen za sníženého tlaku a čištěn pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází DCM/MeOH (5:1). Po odpaření byl produkt

naředěn směsí 1:1 H₂O/MeOH (2 ml) a pevná látka byla zfiltrována. Produkt 7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on byl získán ve výtěžku 26 mg (35 %).

Tabulka 1: Sloučeniny připravené metodou A a B (X = CH)

5

Č.	PURINOVÝ SUBSTITUENT			CHN ANALÝZA	MS (ZMD)-ANALÝZA	
	R1	R2	R3	[%]	[M-H] ⁻ a)	[M+H] ⁺ b)
8	Methyl	Cyklohexyl	-Boc	C 63,95; H 7,55; N 19,16	506,3	508,3
9	Methyl	Cyklohexyl	-H	C 64,74; H 7,35; N 24,20	406,2	408,3
10	Methyl	Cykloheptyl	-Boc	C 64,60; H 7,74; N 18,67	520,3	522,3
11	Methyl	Cykloheptyl	-H	C 65,45; H 7,50; N 23,33	420,3	422,3
12	Methyl	Cyklooktyl	-Boc	C 65,20; H 7,61; N 18,45	534,3	536,3
13	Methyl	Cyklooktyl	-H	C 66,40; H 7,75; N 22,55	434,3	436,3
26	Methyl	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-3-Methylcyklohexyl	-Boc	C 64,60; H 7,42; N 18,98	520,3	522,3
27	Methyl	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-3-Methylcyklohexyl	-H	C 65,72; H 7,33; N 23,35	420,3	422,3
28	Methyl	(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-3-Methylcyklohexyl	-Boc	C 64,71; H 7,65; N 18,72	520,3	522,3
29	Methyl	(1 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-3-Methylcyklohexyl	-H	C 65,62; H 7,54; N 23,33	420,3	422,3
30	Methyl	(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-Methylcyklohexyl	-Boc	C 64,61; H 7,47; N 18,96	520,3	522,3
31	Methyl	(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-Methylcyklohexyl	-H	C 65,45; H 7,49; N 23,35	420,3	422,3
32	Methyl	(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-Methylcyklohexyl	-Boc	C 64,52; H 7,43; N 18,99	520,3	522,3
33	Methyl	(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-Methylcyklohexyl	-H	C 65,70; H 7,51; N 23,05	420,3	422,3
66	Ethyl	Cyklohexyl	-Boc	C 64,54; H 7,42; N 18,57	520,3	522,3
67	Ethyl	Cyklohexyl	-H	C 65,42; H 7,51; N 23,01	420,3	422,3
72	Isopropyl	Cyklohexyl	-Boc	C 65,11; H 7,66; N 18,03	534,3	536,3
73	Isopropyl	Cyklohexyl	-H	C 66,22; H 7,71; N 22,28	434,3	436,3
74	Isopropyl	Cykloheptyl	-Boc	C 65,72; H 7,93; N 17,65	548,3	550,4
75	Isopropyl	Cykloheptyl	-H	C 66,85; H 7,74; N 21,52	448,3	450,3

Příklad 7 *Inhibice kináz*

Schopnost nově připravených sloučenin inhibovat dané proteinkinázy byla zjištěna a kvantifikována enzymovým měřením s rekombinantními proteinkinázami. Proteinkinázy byly produkovány ve hmyzí buněčné linii Sf9 po infekci bakulovirovým vektorem a purifikovány separací na NiNTA koloně. Aktivita kináz byla měřena v následujícím uspořádání: 1 mg/ml RB peptid (pro CDK4 a CDK6) nebo AGLT peptid (pro FLT3 a PDGFRa), 1 μ M ATP, 0,05 μ Ci [γ - 33 P]ATP, testovaná sloučenina, vše v pufru (60 mM HEPES-NaOH, pH 7,5, 3 mM MgCl₂, 3 mM MnCl₂, 3 μ M Na-orthovanadičnan, 1,2 mM DTT, 2,5 μ g / 50 μ l PEG20 000), v celkovém objemu 10 μ l. Reakce byla zastavena přidáním 5 μ l 3% aq H₃PO₄. Fosfopeptidy byly separovány pomocí fosfocelulózy P-81 (Whatman), která byla promyta 3 $\times$ 0,5% aq H₃PO₄ a usušena. Aktivita kináz byla kvantifikována digitálním laserovým analyzátozem Fujifilm FLA7000 a vyjádřena jako IC₅₀, tedy koncentrace látky nutná pro snížení aktivity enzymu na 50 %. Příklady výsledků jsou uvedeny v tabulce 2 a dokládají, že sloučeniny jsou silnými inhibitory kináz CDK4, CDK6, FLT3-ITD nebo PDGFR. Zároveň byla měřením inhibičního vlivu na jiné proteinkinázy ověřována selektivita většiny sloučenin, přičemž všechny testované sloučeniny vykazovaly výrazně slabší účinek na CDK1, CDK2 a CDK9. Hodnoty IC₅₀ pro tyto enzymy byly vyšší minimálně 20 $\times$ (obvykle však až 100 $\times$) než IC₅₀ pro CDK4 nebo FLT3-ITD.

Tabulka 2: Příklady inhibice kináz novými deriváty purinu.

sloučenina	IC ₅₀ (nmol/l)		% inhibice @ 1 μ M	
	CDK4	FLT3-ITD	CDK6	PDGFRa
9	50	25	>80	>80
10	100	100	>80	>80
11	10	30	>80	>80
12	50	50	>80	>80
13	20	10	>80	>80
29	10	30	>80	>80
30	50	100	>80	>80
31	10	30	>80	>80
32	50	50	>80	>80
33	10	30	>80	>80
66	200	200		
73	>1000	80		
75	1000	30		

Příklad 8 *Protinádorová aktivita nových sloučenin*

Protinádorová aktivita sloučenin byla ověřena na buněčných nádorových liniích in vitro. Jedním ze standardních způsobů zjištění buněčné proliferace a počtu živých buněk v kultuře je měření metabolické aktivity buněk, která je počtu živých buněk úměrná. Pro stanovení počtu živých buněk při hledání a charakterizaci cytotoxických sloučenin se běžně využívá např. resazurin. Metabolicky aktivní živé buňky redukují resazurin na resorufin a množství vzniklého resorufinu je úměrné počtu živých buněk v kultuře. Účinek nových derivátů purinu byl ověřován na následujících buněčných liniích: MV4-11 (akutní myeloidní leukémie, FLT3-ITD pozitivní), MOLM-13 (akutní myeloidní leukémie, FLT3-ITD pozitivní), EOL-1 (eosinofilní leukémie, fúze FIP1L1-PDGFRa), H1703 (nemalobuněčný karcinom plic, amplifikace PDGFRa), MCF7 (adenokarcinom prsu), BT549 (duktální karcinom prsu), U2932 (difúzní velkobuněčný B-lymfom), JEKO1 (lymfom plášťových buněk).

Pro měření byly buňky vysazeny do 96-jamkového panelu a ovlivněny novými deriváty v různých koncentracích. Čtyři dny po přidání derivátů byl přidán do kultury roztok resazurinu (finální koncentrace 100 μM) a po hodinové inkubaci byla měřena fluorescence resorufinu vytvořeného živými buňkami (570 nm/610 nm, ex/em) fluorimetrem Fluoroskan Ascent (Labsystems).
 5 Účinnost derivátů byla vyjádřena hodnotou EC_{50} , která vyjadřuje koncentraci snižující počet živých buněk na 50 %.

Velmi významné aktivity byly zjištěny zejména vůči buněčnými liniím MV4-11 a MOLM-13 exprimujícím onkogen FLT3-ITD a EOL-1 exprimující onkogen FIP1L1-PDGFR α , pro které byly dosaženy nanomolární hodnoty EC_{50} . Některé sloučeniny byly aktivní také v dalších buněčných liniích odvozených od lymfomů a karcinomů plic. Nádorové buněčné linie bez těchto typických onkogenních změn (např. MCF7 nebo K562) byly výrazně méně citlivé, s hodnotami EC_{50} v jednotkách až desítkách mikromolů/l.

15 Tabulka 3: Příklad protinádorové aktivity některých 2,7,9-substituovaných 8-oxopurinů.

sloučenina	EC_{50} (nmol/l)		
	MV4-11	MOLM13	EOL1
9	200	100	100
10	100	500	800
11	50	50	50
12	80	200	200
13	60	80	30
29	100	300	100
30	200	500	400
31	100	300	100
32	400	500	400
33	80	200	80
66	100	200	100
73	50	100	80
75	50	100	200

Příklad 9 Vliv derivátů na buněčný cyklus

20 Inhibice kináz CDK4 a FLT3 se na buněčné úrovni projevuje zastavením proliferace v G1 fázi buněčného cyklu. Pro ověření předpokládaného mechanismu účinku byly novými deriváty ovlivněny buněčné kultury MV4-11 a EOL-1 a jejich účinek na buněčný cyklus byl analyzován průtokovou cytometrií. Po 24-hodinovém působení byly buňky sklizeny centrifugací a fixovány 70% ethanolem. Po nabarvení propidiumjodidem (finální koncentrace 10 $\mu\text{g/ml}$) byl relativní
 25 obsah DNA v jednotlivých buňkách kvantifikován průtokovým cytometrem BD FACSVerse (Beckman Coulter, USA).

Nové deriváty prokazatelně a velmi silně zastavují proliferaci v G1 fázi buněčného cyklu v obou použitých buněčných liniích již v nanomolárních koncentracích. Vyšší koncentrace způsobovaly
 30 také nárůst apoptotických buněk, pozorovaný jako subdiploidní populace. Příklady zastoupení fází buněčného cyklu buněčných linií MV4-11 a EOL-1 ošetřených různými koncentracemi nového derivátu jsou uvedeny na obrázcích 1 a 2. Na svislé ose jsou počty buněk.

Příklad 10 Indukce senescence

35 Inhibitory CDK4/6 jsou schopny kromě zastavení proliferace buněk navodit také buněčnou senescenci. Pro ověření schopnosti navodit senescenci byly buňky MCF-7 kultivovány s novými deriváty (koncentrace 1 μM) 3 až 10 dní. Jako marker senescence byla využita β -galaktózydáza,

která byla detekována zavedenou metodou (Nature Protocols 2009:4:1798–1806). Po uvedené kultivaci byly buňky opláchnuty PBS a fixovány směsí 4% paraformaldehydu a 0.2% glutaraldehydu v PBS (10 min). Aktivita β -galaktósidázy byla detekována barevnou reakcí inkubací v roztoku 5-brom-4-chlor-3-indolyl β -D-galaktósidu (1 mg/ml), $K_4[Fe(CN)_6]$ (5 mM), $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 mM), NaCl (105 mM), $MgCl_2$ (2 mM), vše v 40 mM sodnocitrátovém pufru (pH 6,0). Mikroskopické pozorování (po opláchnutí PBS) odhalilo značné množství zvětšených a zploštělých buněk s výrazným modrým zbarvením, indikujícím jejich senescenci. Jako pozitivní kontrola byl použit palbociclib, který navozoval obdobný fenotyp.

Tabulka 4: Příklad indukce secescence buněk MCF7 novými 2,7,9-substituovanými 8-oxopuriny.

sloučenina	% buněk pozitivních na galaktosidázu*
palbociclib	++
9	++
11	++
13	+
29	++
Symbol (+) vyjadřuje pozitivitu 40-79% buněk; (++) vyjadřuje pozitivitu 80-100% buněk.	

Příklad 11 *Suché tobolky*

5000 tobolek, každá obsahující jako aktivní složku 0,25 g jedné ze sloučenin vzorce I se připraví následujícím postupem:

Složení

Aktivní složka	1250 g
Talek	180 g
Pšeničný škrob	120 g
Magnesium stearát	80 g
Laktosa	20 g

Postup přípravy: Rozetřené látky jsou protlačeny přes síto s velikostí ok 0,6 mm. Dávka 0,33 g směsi je přenesena do želatinové tobolky pomocí přístroje na plnění tobolek.

Příklad 12 *Měkké tobolky*

5000 měkkých želatinových tobolek, každá z nich obsahující jako aktivní složku 0,05 g jedné z látek obecného vzorce I jako aktivní složky se připraví následujícím postupem:

Složení

Aktivní složka	250 g
Lauroglykol	2 litry

Postup přípravy: Prášková aktivní látka je suspendována v Lauroglykolu® (propylenglykol laurát, Gattefoscé S. A., Saint Priest, Francie) a rozetřena ve vlhkém pulverizátoru na velikost částic asi 1 až 3 μ m. Dávka o velikosti 0,419 g směsi je potom přenesena do měkkých želatinových tobolek pomocí přístroje na plnění tobolek.

Příklad 13 *Měkké tobolky*

- 5 5000 měkkých želatinových tobolek, každá z nich obsahující jako aktivní složku 0,05 g jedné ze sloučenin obecného vzorce I jako aktivní ingredience se připraví následujícím postupem:

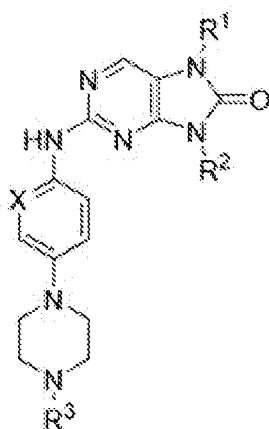
Složení

	Aktivní složka	250 g
10	PEG 400	1 litr
	Tween 80	1 litr

- 15 Postup přípravy: Prášková aktivní složka je suspendována v PEG 400 (polyethylenglykol o Mr mezi 380 a 420, Sigma, Fluka, Aldrich, USA) a Tween[®] 80 (polyoxyethylen sorbitan monolaurát, Atlas Chem. Ind., Inc., USA, dodává Sigma, Fluka, Aldrich, USA) a rozetřena ve vlhkém pulverizátoru na částice o velikosti 1 až 3 μm . Dávka o velikosti 0,43 g směsi je potom přenesena do měkkých želatinových tobolek pomocí přístroje na plnění tobolek.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Substituovaný 2-piperazinyarylamo-8-oxopurin obecného vzorce I,



(I),

ve kterém

X je CH,

R1 je methyl, ethyl, nebo isopropyl,

R2 je vybrán ze skupiny zahrnující cyklohexyl, cykloheptyl, cyklooktyl, 3-methylcyklohexyl; a

R3 je H nebo *tert*-butyloxykarbonyl,

a jejich farmaceuticky přijatelné soli, kterými jsou soli s alkalickými kovy, amoniem nebo aminy, nebo adiční soli s kyselinami, a jejich farmaceuticky přijatelné solváty včetně hydrátů.

2. Sloučenina obecného vzorce I podle nároku 1, kde R2 je vybrán ze skupiny zahrnující stereoisomery v 1*R*,3*R*, 1*R*,3*S*, 1*S*,3*R*, 1*S*,3*S* konfiguraci 3-methylcyklohexylskupiny.

3. Sloučenina obecného vzorce I podle nároku 1, vybraná ze skupiny zahrnující 9-cyklohexyl-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on; 9-cykloheptyl-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on; 9-cyklooktyl-7-methyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on; 9-cyklohexyl-7-isopropyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on; 9-cykloheptyl-7-isopropyl-2-((4-(piperazin-1-yl)fenyl)amino)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on.

4. Sloučenina obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, pro použití jako léčivo.

5. Sloučenina obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, pro použití pro léčbu proliferativních chorob zahrnujících dysregulaci, zejména upregulaci, kináz CDK4, CDK6, FLT3 a/nebo PDGFR.

6. Sloučenina obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, pro použití pro léčbu chorob vybraných ze skupiny zahrnující následující choroby a poruchy: rakovina, restenóza, revmatoidní artritida, lupus, diabetes typu I, roztroušená skleróza, Alzheimerova choroba, růst parazitů, kterými jsou zvířata, houby, protisté, odmítnutí štěpu – hostitel versus štěp, štěp versus hostitel, polycystická onemocnění ledvin a dna.

7. Sloučenina obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, pro použití pro léčbu leukémií, zejména vybraných ze skupiny zahrnující následující leukémie: akutní myeloidní leukémie, akutní lymfocytární leukémie, akutní promyelocytární leukémie, chronická lymfocytární leukémie, chronická myeloidní leukémie, chronická neutrofilní leukémie, akutní nediferencovaná leukémie, anaplastický velkobuněčný lymfom, prolymfocytární leukémie, juvenilní myelomonocytární leukémie, adultní T-buněčná leukémie, myelodysplastický syndrom a myeloproliferativní porucha.

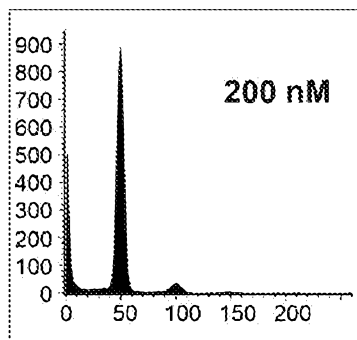
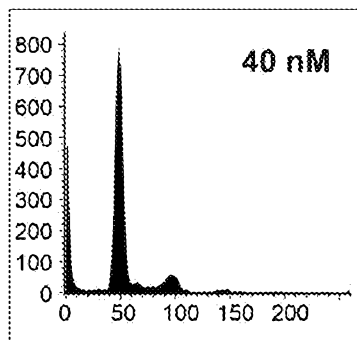
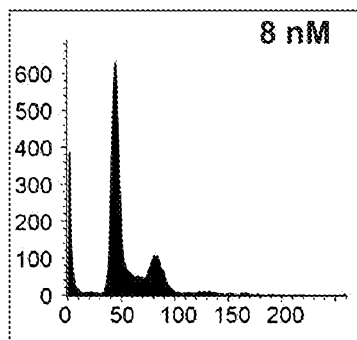
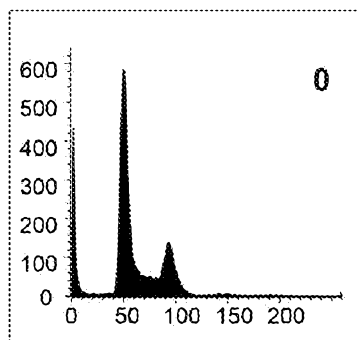
8. Sloučenina obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, pro použití pro léčbu hematologických poruch spojených s eosinofilií, zejména pro léčbu chronické eosinofilní leukémie, hypereosinofilního syndromu, lymfocytární varianty hypereosinofilie, idiopatického hypereosinofilního syndromu, akutní myeloidní leukémie, B-buněčné nebo T-buněčné akutní lymfoblastické leukémie, lymfoblastického lymfomu, myeloidního sarkomu exprimujícího FIP1L1-PDGFR α .

9. Sloučenina obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, pro použití pro léčbu solidních tumorů s amplifikovaným, aktivovaným, deregulovaným nebo zvýšeně exprimovaným genem CDK4, CDK6, cyklinem D nebo PDGFR α , zejména pro léčbu karcinomu prsu, rakoviny hlavy a krku, karcinomu plic, opakujících se metastáz mozku, spinocelulárního karcinomu, nádorů centrálního nervového systému, gliomů, sarkomů, nádoru kolorekta, nádorů gastrického systému, nádoru slinivky, nádoru jater, nádoru varlat, nádoru dělohy, nádoru prostaty, nádoru vaječníků, nádoru močového měchýře.

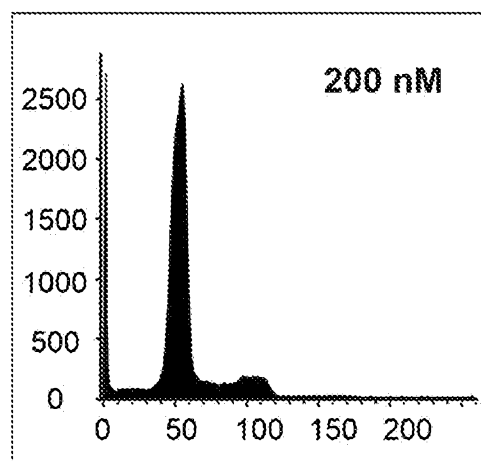
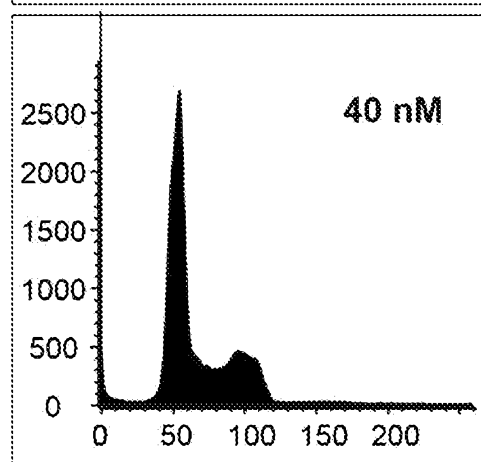
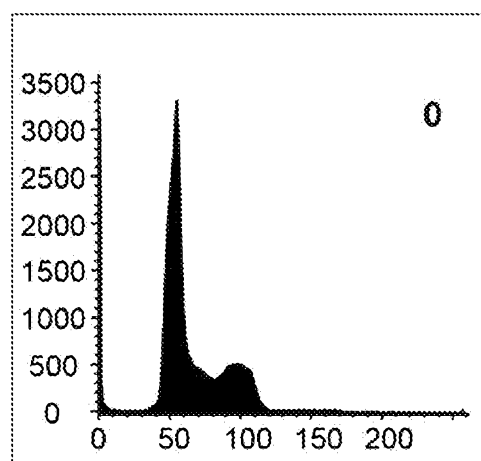
10. Použití sloučeniny obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, v buněčných kulturách jako inhibitoru buněčné proliferace nebo induktory apoptózy v hyperproliferujících buňkách *in vitro*, nebo jako induktoru senescence v hyperproliferujících buňkách *in vitro*.

11. Farmaceutický přípravek, **vyznačující se tím**, že obsahuje alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, a alespoň jeden farmaceuticky přijatelný nosič či pomocnou látku.

2 výkresy



Obr. 1



Obr. 2