



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 60 2005 005 024 T2** 2009.03.12

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 716 155 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **60 2005 005 024.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/GB2005/000339**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **05 702 081.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2005/075483**

(86) PCT-Anmeldetag: **01.02.2005**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **18.08.2005**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **02.11.2006**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **27.02.2008**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **12.03.2009**

(51) Int Cl.⁸: **C07D 495/04** (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

0402518 05.02.2004 GB

(73) Patentinhaber:

AstraZeneca AB, Södertälje, SE

(74) Vertreter:

derzeit kein Vertreter bestellt

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LI, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR

(72) Erfinder:

JONES, Clifford D. AstraZeneca, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, GB; LUKE, Richard W. A. AstraZeneca, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, GB; MCCOULL, William AstraZeneca, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, GB

(54) Bezeichnung: **SUBSTITUIERTE THIENO- UND THIAZOLOÄ2,3-DÜPYRIMIDINE UND Ä2,3-CÜPYRIDINE ALS INHIBITOREN VON TIE2**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Diese Erfindung betrifft Verbindungen oder pharmazeutisch annehmbare Salze derselben, die eine antiangiogenetische Aktivität besitzen und dementsprechend bei Verfahren zum Behandeln von Krankheitszuständen, die mit der Angiogenese im tierischen oder menschlichen Körper verbunden sind, nützlich sind. Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Herstellung der Verbindungen, pharmazeutischen Zusammensetzungen, die die Verbindungen als aktive Bestandteile enthalten, und Verfahren zur Verwendung der Verbindungen bei der Herstellung von Medikamenten zur Verwendung zur Erzeugung antiangiogenetischer Wirkungen bei warmblütigen Tieren wie Menschen.

[0002] Die Tie2-Rezeptortyrosinkinase (auch als TEK bekannt) wird hauptsächlich in Endothel- und blutbildenden Zellen exprimiert und ist für die Gefäßbildung und -erhaltung wesentlich (Jones, N. Et al. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2001: 2, 257–67).

[0003] Die Angiogenese ist ein grundlegender Vorgang, der als die Bildung neuer Blutgefäße aus vorhandenen Gefäßsystemen definiert wird. Sie ist ein lebenswichtiger, jedoch komplizierter biologischer Vorgang, der zur Bildung und das physiologische Funktionieren von fast allen Organen erforderlich ist. Normalerweise ist er transitorischer Natur und wird durch örtlichen Ausgleich zwischen angiogenetischen und angiostatischen Faktoren im Laufe eines Mehrschrittvorgangs reguliert, der das Entwickeln, Verzweigen und Bilden von Tubuli durch Endothelzellen (was Vorgänge wie die Aktivierung von Endothelzellen (EZ), die Gefäßdestabilisierung, Synthese und Freisetzung abbauender Enzyme, die EZ-Migration, EZ-Proliferation, EZ-Organisation und Differenzierung und Gefäßreifung involviert), involviert.

[0004] Die normale Angiogenese spielt bei einer Reihe verschiedener Vorgänge eine wichtige Rolle und unterliegt strikter Kontrolle. Beim Erwachsenen ist die physiologische Angiogenese im Wesentlichen auf die Wundheilung und verschiedene Teile der weiblichen Fortpflanzungsfunktion und der Embryoentwicklung beschränkt. Bei unerwünschter oder pathologischer Angiogenese wird das örtliche Gleichgewicht zwischen angiogenetischen und angiostatischen Faktoren falsch gesteuert, was zu unangebrachter und/oder strukturell anormaler Blutgefäßbildung führt. Die pathologische Angiogenese ist auch mit Krankheitszuständen, einschließlich diabetischer Retinopathie, Schuppenflechte, Krebs, rheumatoider Arthritis, atherosklerotischer Plaque, Kaposi-Sarkom und Hämangiom in Verbindung gebracht worden (Fan et al, 1995, Trends Pharmacology. Science. 16: 57–66; Folkman, 1995, Nature Medicine 1: 27–31). Bei Krebs ist die Angiogenese für das Wachstum primärer und sekundärer Tumore auf eine Größe von mehr als 1–2 mm³ erforderlich (Folkman, J. New England Journal of Medicine 1995; 33, 1757–1763).

[0005] Bei Krankheiten wie Krebs, bei denen die Weiterentwicklung von anormaler Angiogenese abhängt, kann das Blockieren des Vorgangs zum Verhindern des Fortschreitens der Krankheit führen (Folkman, J. 1995, Nature Medicine. 1: 27–31). In der wissenschaftlichen Literatur sind schon viele Faktoren beschrieben worden, von denen man glaubt, dass sie bei der Steuerung der Angiogenese eine wichtige Rolle spielen. Zwei Hauptgruppen angiogenetischer Faktoren sind der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF) und die Angiopietine. Diese Polypeptidanteile treten mit ihren jeweiligen Rezepturen (Transmembranthyrosinkinasen, die hauptsächlich endothelzellenspezifisch sind) in Wechselwirkung und induzieren Zellreaktionen durch durch Liganden vermittelte Signaltransduktion. Man hat vermutet, dass VEGF und die Angiopietine miteinander zusammenarbeiten, um verschiedene Aspekte des angiogenetischen Vorgangs während der normalen sowie der pathologischen Angiogenese durch Signalisieren über ihre jeweiligen Rezeptoren zu steuern.

[0006] Rezeptortyrosinkinasen (RTK) sind beim Übertragen biochemischer Signale durch die Plasmamembran von Zellen hindurch wichtig. Diese Transmembranmoleküle bestehen charakteristischerweise aus einer extrazellulären Ligandenbindungsdomäne, die durch ein Segment in der Plasmamembran mit einer intrazellulären Tyrosinkinasedomäne verbunden ist. Das Binden eines Liganden an den Rezeptor führt zum Stimulieren der rezeptorassoziierten Tyrosinkinaseaktivität, was zur Phosphorylierung von Tyrosinresten sowohl am Rezeptor als auch an anderen intrazellulären Molekülen führt. Diese Änderungen der Tyrosinphosphorylierung löst eine Signalkaskade aus, die zu einer Reihe verschiedener Zellreaktionen führt. Bisher sind mindestens neunzehn verschiedene RTK-Subfamilien, die durch Aminosäuresequenzhomologie definiert sind, identifiziert worden. Eine dieser Subfamilien besteht zur Zeit aus dem fms-ähnlichen Tyrosinkinaserezeptor Fit oder Flt1, dem Kinaseinsertionsdomäne enthaltenden Rezeptor KDR (auch als Flk-1 bezeichnet) und einem anderen fms-ähnlichen Tyrosinkinaserezeptor Flt4. Von zwei dieser verwandten RTK, nämlich Fit und KDR, ist gezeigt worden, dass sie VEGF mit hoher Affinität binden (De Vries et al, 1992, Science 255: 989–991; Terman et al, 1992, Biochem. Biophys. Res. Comm. 1992, 187: 1579–1586). Das Binden von VEGF an diese Rezeptoren, die in heterologen Zellen exprimiert sind, ist mit Änderungen im Tyrosinphosphorylierungsstatus von zellulären

Proteinen und Calciumflüssen in Verbindungen gebracht worden.

[0007] Vor kurzem ist eine zweite Familie von überwiegend endothelzellenspezifischen Rezeptoren, die die Gefäßdestabilisierung und -reifung steuern, identifiziert worden. Die Tie-Rezeptoren und ihre Liganden, nämlich die Angiopoietine, kooperieren eng mit VEGF sowohl während der normalen als auch der pathologischen Angiogenese. Die Transmembranrezeptoren Tie1 und Tie2 stellen eine Familie endothelzellenspezifischer Tyrosinkinaserzeptoren dar, die beim Aufrechterhalten der Blutgefäßintegrität und die beim angiogenetischen Auswachsen und Gefäßummodellieren involviert sind. Strukturell sind Tie1 und Tie2 eine Anzahl von Charakteristiken gemein (z. B. enthalten die intrazellulären Domänen beider dieser Rezeptoren jeweils eine Tyrosinkinasedomäne, die durch eine Kinaseinsertionsregion unterbrochen ist) und bilden so eine individuelle RTK-Subfamilie. Die Sequenzidentität zwischen Tie1- und Tie2-Rezeptoren insgesamt beträgt 44 an der Aminosäure, während ihre intrazellulären Domänen eine Homologie von 76 aufweisen. Das gezielte Spalten des Tie1-Gens führt zu einem letalen Phänotyp, der durch ausgedehnte Blutung und schlechte Mikrogefäßintegrität gekennzeichnet ist (Pur, M. et al. 1995 EMBO Journal: 14: 5884–5891). Transgene Mäuse, denen Tie2 mangelt, weisen Defekte bei der Gefäßentwicklung und beim Remodellieren und einen lethalen Phänotyp im mittleren Gestationsstadium (E9,5–10,5) auf, der durch schwere Defekte im Embryogefäßsystem verursacht wird (Sato, T. et al. 1995 Nature 370: 70–74).

[0008] Bisher sind noch keine Liganden für Tie1 identifiziert worden und es ist wenig über seine Signalisierungsfähigkeiten bekannt. Jedoch glaubt man, dass Tie1 die Tie2-Signalisierung durch Heterodimerisierung mit dem Tie2-Rezeptor beeinflusst (wodurch potentiell die Fähigkeit von Tie2 zur Autophosphorylierung moduliert wird) (Marron, M. et al. 2000 Journal of Biological Chemistry: 275, 39741–39746) und vor kurzem an Chimären Tie1-Rezeptoren durchgeführte Studien haben angezeigt, dass Tie-1 die Apoptosis durch den PI 3-Kinase/Akt-Signaltransduktionsweg hemmen kann (Kontos, C. D., et al., 2002 Molecular and Cellular Biology: 22, 1704–1713). Im Gegensatz dazu sind eine Anzahl von Liganden, Angiopoietine genannt, für Tie2 identifiziert worden, von denen Angiopoietin 1 (Ang1) das am besten charakterisierte ist. Die Bindung von Ang1 induziert die Tyrosinphosphorylierung des Tie2-Rezeptors durch Autophosphorylierung und daraufhin die Aktivierung seiner Signalwege durch Signaltransduktion. Von Ang2 ist berichtet worden, dass es diese Wirkungen in Endothelzellen antagonisiert (Maisonpierre, P. et al. 1997 Science: 277, 55–60). Die Knock-out- und transgene Manipulation von Tie2 und seiner Liganden weist darauf hin, dass eine strikte räumliche und zeitliche Kontrolle der Tie2-Signalisierung für die richtige Entwicklung eines neuen Gefäßsystems unerlässlich ist. Es liegen auch Berichte von mindestens zwei anderen Liganden (Ang3 und Ang4) sowie der Möglichkeit der Heterodimerisierung zwischen den Angiopoietinliganden vor, die potentiell ihre Aktivität (agonistische/antagonistische) auf das Assoziieren mit dem Rezeptor hin modifizieren kann. Die Aktivierung des Tie2-Rezeptors durch Ang1 weist eine Apoptose auf (Papapetropoulos, A., et al., 2000 Journal of Biological Chemistry: 275 9102–9105), unterstützt die Entwicklung vaskulärer Endothelzellen (Witzenbicher, B., et al., 1998 Journal of Biological Chemistry: 273, 18514–18521) und fördern in vivo die Blutgefäßvollentwicklung während der Angiogenese und reduziert die Durchlässigkeit und daher das Lecken aus ausgewachsenen Mikrogefäßen (Thurston, G. et al., 2000 Nature Medicine: 6, 460–463). So wird vom aktivierten Tie2-Rezeptor berichtet, dass er beim Verästeln, Entwickeln und Auswachsen neuer Gefäße und dem Rekrutieren und der Wechselwirkung zwischen periendothelialen Stützzellen involviert ist, die beim Aufrechterhalten der Gefäßintegrität wichtig sind und insgesamt mit dem Unterstützen der Mikrogefäßstabilität im Einklang zu stehen scheint. Das Fehlen der Tie2-Aktivierung oder die Hemmung der Tie2-Autophosphorylierung kann zu einem Verlust an Vaskularstruktur und Matrix/Zellkontakten führen (Brindle, N., in Druck, 2002) und wiederum den Endothelzelltod, insbesondere in Abwesenheit von Überlebens- oder Wachstumsstimuli auslösen. Aufgrund der oben berichteten Auswirkungen, die der Tie2-Kinaseaktivität zuzuschreiben sind, kann das Hemmen der Tie2-Kinase eine antiangiogenetische Wirkung bieten und so bei der Therapie von Krankheitszuständen, die mit der pathologischen Angiogenese verbunden sind, angewendet werden. Es ist gezeigt worden, dass die Tie2-Expression im Gefäßneubildungssystem einer Reihe verschiedener Tumore aufreguliert wird (z. B. Peters, K. G. et al. (British Journal of Cancer 1998; 77, 51–56), was darauf hinweist, dass das Hemmen der Tie2-Kinaseaktivität zu einer antiangiogenetischen Aktivität führt. Zur Unterstützung dieser Hypothese haben Studien mit löslichem Tie2-Rezeptor (extrazelluläre Domäne) (Pengnian, L. et al., 1997, Journal of Clinical Investigation 1997: 100, 2072–2078 und Pengnian, L. et al., 1998, Proceedings of the National Academy of Sciences 1998: 95, 8829–8834) eine Antitumoraktivität in Tumormodellen in vivo gezeigt. Außerdem zeigen diese Versuche auch, dass das Unterbrechen der Tie2-Signalisierungswege bei einem normalen gesunden Individuum eventuell gut toleriert wird, da bei diesen Studien keine negativen Toxizitäten beobachtet worden sind.

[0009] Die Untersuchung von Proben von menschlichem primärem Brustkrebs und menschlichen und murinen Brustkrebszelllinien (Stratmann, A., et al., 2001, International Journal of Cancer: 91, 273–282) zeigen, dass Tie2-abhängige Wege von Tumorangiogenese gleichzeitig mit KDR-abhängigen Wegen vorliegen und in

der Tat sowohl unabhängig (Siemeister G., et al., 1999 Cancer Research: 59, 3185–3191) als auch im Verein miteinander (es ist z. B. von VEGF A und Ang1 berichtet worden, dass sie zum Induzieren der Angiogenese zusammenarbeiten und nicht leckende voll entwickelte Gefäße erzeugen, Thurston, G. et al., 1999 Science: 286, 2511–2514) funktionieren können. Es ist auch völlig möglich, dass eine Mischung derartiger angiogenetischer Vorgänge selbst innerhalb eines einzigen Tumors vorliegt.

[0010] Es ist auch gezeigt worden, dass Tie2 bei der venöse Fehlbildung genannten vaskulären Anomalität (VA) eine Rolle spielt (Mulliken, J. B. & Young, A. E. 1998, Vascular Birthmarks (Vaskuläre Muttermale): W. B. Saunders, Philadelphia). Derartige Defekte können entweder geerbt werden oder sporadisch auftreten. VA sind gewöhnlich in der Haut oder in Schleimhautmembranen anzutreffen, können jedoch in irgendeinem Organ auftreten. Typischerweise treten Läsionen als schwammförmige, blau bis purpurrote Gefäßmassen auf, die aus zahlreichen dilatierten Gefäßkanälen bestehen, die durch Endothelzellen ausgekleidet sind. Unter den geerbten Formen dieser Erkrankung scheint der am häufigsten aufzutretende Effekt eine Tie2-Kinase Mutation C2545T in der Tie2-Kodiersequenz zu sein (Calvert, J. T., et al., 1999 Human Molecular genetics: 8, 1279–1289), die eine R849W-Aminosäuresubstitution in der Kinasedomäne erzeugt. Die Analyse der Tie2-Mutante zeigt an, dass sie selbst in Abwesenheit eines Liganden konstitutiv aktiviert wird (Vikkula, M., et al., 1996 Cell: 87, 1181–1190).

[0011] Die Aufregulation der Tie2-Expression ist auch innerhalb des vaskulären Synovialpanus arthritischer Gelenke bei Menschen vorgefunden worden, was mit der Rolle der unangebrachten Neovaskularisierung im Einklang steht.

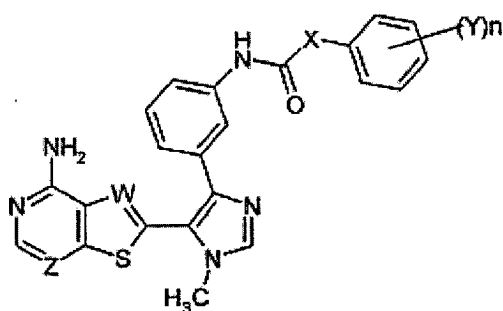
[0012] Derartige Beispiele bieten weitere Anzeichen, dass das Hemmen der Tie2-Phosphorylierung und der darauffolgenden Signaltransduktion beim Behandeln von Beschwerden und anderen Vorkommnissen ungünstiger Revaskularisation nützlich ist. Bisher sind im Stand der Technik nur einige wenige Inhibitoren von Tie2 bekannt.

[0013] Tie-2-Inhibitoren sind z. B. aus US2004/0014756 oder WO03/022852 bekannt. Weitere Proteinkinaseinhibitoren sind aus WO02/062804 und aus WO2004/013141 bekannt.

[0014] Es besteht so ein Bedarf dafür, zusätzliche Tie2-Inhibitoren zu identifizieren, durch die das volle therapeutische Potential des Hemmens/Modulierens der Tie2-Signalisierungswege ausgenutzt werden könnte.

[0015] Wir haben nun gefunden, dass gewisse Verbindungen eine Hemmungsaktivität für die Tie2-Rezeptor-tyrosinkinase besitzen und dementsprechend bei der Behandlung von Krankheitszuständen, die mit pathologischer Angiogenese verbunden sind, wie beispielsweise Krebs, rheumatoider Arthritis und anderer Krankheiten, wo die aktive Angiogenese unerwünscht ist, von Wert sind.

[0016] Einer ersten Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung gemäß werden eine Verbindung der Formel I:



Formel I

wobei:

Z unter N und CH ausgewählt ist;

W unter N und CH ausgewählt ist;

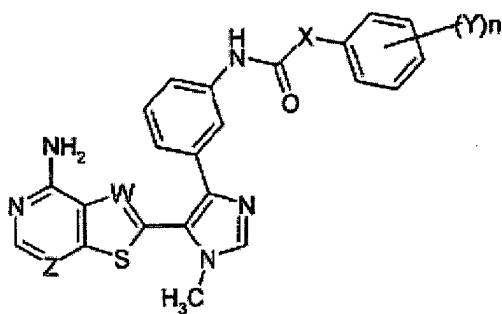
X unter NH und CH₂ ausgewählt ist;

Y unter F, Cl, Br und I ausgewählt ist; und

n 1, 2 oder 3 beträgt;

und Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben) bereitgestellt.

[0017] Einer zweiten Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung gemäß werden eine Verbindung der Formel I:



Formel I

wobei:

Z N beträgt;

W unter N und CH ausgewählt ist;

X unter N und CH ausgewählt ist;

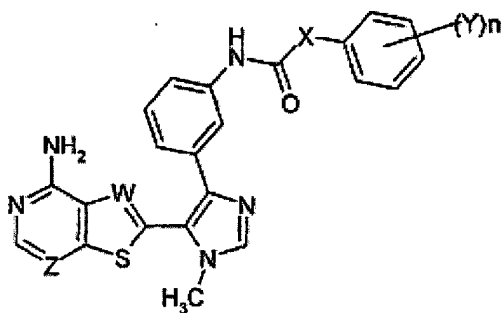
Y unter F, Cl, Br und I ausgewählt ist; und

n 1, 2 oder 3 beträgt;

und Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben) bereitgestellt.

[0018] Besondere erfindungsgemäße Verbindungen umfassen beispielsweise Verbindungen der Formel I oder Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben), wobei Z N ist, W N ist und X, Y und n die obige Definition aufweisen. Weitere spezifische erfindungsgemäße Verbindungen umfassen beispielsweise Verbindungen der Formel I oder Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben), wobei Z CH ist, W CH ist und X, Y und n die oben angegebene Definition aufweisen.

[0019] Einer dritten Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung gemäß werden eine Verbindung der Formel I:



FORMEL I

wobei:

Z unter N und CH ausgewählt ist;

W unter N ist;

X unter NH und CH₂ ausgewählt ist;

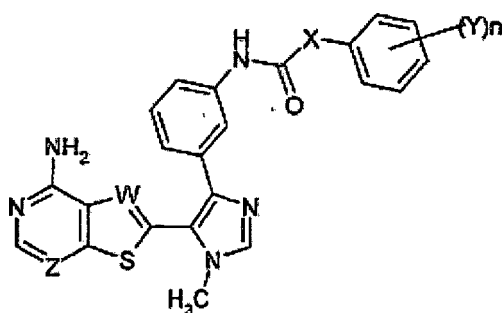
Y unter F, Cl, Br und I ausgewählt ist; und

n 1, 2 oder 3 beträgt

und Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben) bereitgestellt.

[0020] Besondere Verbindungen der vorliegenden Erfindung umfassen beispielsweise Verbindungen der Formel I oder Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben), wobei Z CH ist, W N ist und X, Y und n die oben angegebene Definition aufweisen.

[0021] Einer vierten Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung gemäß werden eine Verbindung der Formel I:



FORMEL I

wobei:

Z unter N und CH ausgewählt ist;

W CH ist;

X unter NH und CH₂ ausgewählt ist;

Y unter F, Cl, Br und I ausgewählt ist; und

n 1, 2 oder 3 beträgt;

und Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben) bereitgestellt.

[0022] Besondere erfindungsgemäße Verbindungen umfassen beispielsweise Verbindungen der Formel I oder Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben), wobei Z CH ist, W CH ist und X, Y und n die oben angegebene Definition aufweisen.

[0023] Wie oben angegeben wird in den erfindungsgemäßen Verbindungen Y unter Fluor, Chlor, Brom und Iod, insbesondere unter Fluor und Chlor ausgewählt.

[0024] Man sollte sich im Klaren darüber sein, dass, wenn n 2 oder 3 beträgt, Y gleich oder verschieden sein kann.

[0025] Spezifische Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind eine oder mehrere der Folgenden:

N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N-(3-fluorphenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N-(2-fluorphenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N-(3-chlorphenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N-(2-chlorphenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(3-fluorphenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(2-fluorphenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(3-chlorphenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2'-(2-chlorphenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'-(3-fluorphenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N-(2-fluorphenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N-(3-chlorphenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'-(2-chlorphenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(3-fluorphenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(2-fluorphenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(3-chlorphenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyridin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(2-chlorphenyl)acetamid;
 und Salze oder Solvate derselben (insbesondere pharmazeutisch annehmbare Salze derselben).

[0026] Ein geeignetes pharmazeutisch annehmbares Salz einer Verbindung der Formel I ist beispielsweise ein Säureadditionssalz einer Verbindung der Formel I, beispielsweise ein Säureadditionssalz mit einer anorganischen oder organischen Säure wie Salz-, Bromwasserstoff-, Schwefel-, Trifluoressig-, Zitronen- oder Maleinsäure; oder beispielsweise ein Salz einer Verbindung der Formel I, die ausreichend sauer ist, beispielsweise ein Alkali- oder Erdalkalimetallsalz wie beispielsweise ein Calcium- oder Magnesiumsalz oder ein Ammoniumsalz oder ein Salz mit einer organischen Base wie Methylamin, Dimethylamin, Trimethylamin, Piperidin, Morpholin oder Tris(2-hydroxyethyl)arm.

[0027] Man sollte sich im Klaren darüber sein, dass insoweit gewisse der oben definierten Verbindungen der Formel I eventuell in optisch aktiven oder razemischen Formen aufgrund eines oder mehrerer asymmetrischer

Kohlenstoffatome vorliegen können, die Erfindung in ihrer Definition irgendwelche derartige optisch aktive oder razemische Form umfasst, die die oben erwähnte Aktivität besitzt. Die Synthese optisch aktiver Formen kann durch Standardtechniken der organischen Chemie, die im Stand der Technik allgemein bekannt sind, beispielsweise durch Synthese aus optisch aktiven Ausgangsmaterialien oder durch Auflösung einer razemischen Form durchgeführt werden. Desgleichen kann die oben erwähnte Aktivität unter Anwendung der Standardlabortechniken, auf die im Folgenden Bezug genommen wird, beurteilt werden.

[0028] Man sollte sich im Klaren darüber sein, dass gewisse Verbindungen der Formel I in solvatierten sowie unsolvatierten Formen, beispielsweise hydratisierten Formen vorkommen können. Man sollte sich auch im Klaren darüber sein, dass die Erfindung alle solvatierten Formen umfasst, die eine hemmende Wirkung auf eine Tie2-Rezeptortyrosinkinase aufweisen.

[0029] Man sollte sich auch darüber im Klaren sein, dass gewisse Verbindungen der Formel I einen Polymorphismus aufweisen können und dass die Erfindung alle Formen umfasst, die eine Hemmungswirkung auf eine Tie2-Rezeptortyrosinkinase aufweisen.

[0030] Man sollte sich auch im Klaren darüber sein, dass die Erfindung alle tautomeren Formen der Verbindungen der Formel I betrifft, die eine Hemmungswirkung auf eine Tie2-Rezeptortyrosinkinase aufweisen.

[0031] Während pharmazeutisch annehmbare Salze von erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt werden, können andere, nicht pharmazeutisch annehmbare Salze von erfindungsgemäßen Verbindungen, beispielsweise bei der Herstellung pharmazeutisch annehmbarer Salze erfindungsgemäßer Verbindungen nützlich sein.

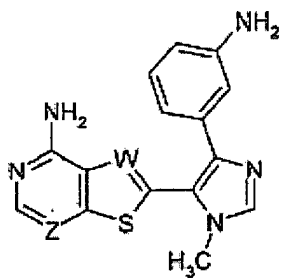
[0032] Ebenfalls als weitere Ausgestaltung der Erfindung bereitgestellt sind Prodrugs von erfindungsgemäßen Verbindungen, wie oben oder im Folgenden definiert. Erfindungsgemäße Verbindungen können in Form eines Prodrugs verabreicht werden, das im menschlichen oder tierischen Körper abgebaut wird, um eine Verbindung der Formel (I) zu ergeben. Beispiele von Prodrugs umfassen in vivo hydrolysierbare Amide einer Verbindung der Formel (I).

[0033] Verschiedene Formen von Prodrugs sind im Stand der Technik bekannt. Beispiele derartiger Prodrug-derivate sind im Folgenden zu finden:

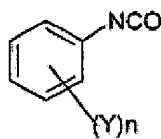
- a) Design of Prodrugs (Konstruktion von Prodrugs), herausgegeben von H. Bundgaard (Elsevier, 1985) und Methods in Enzymology (Methoden der Enzymologie), Band 42 Seite 309–396; herausgegeben von K. Widder et al. (Academic Press, 1985);
- b) A Textbook of Drug Design and Development (Ein Handbuch der Arzneimittelkonstruktion und -entwicklung), herausgegeben von Krogsgaard-Larsen und H. Bundgaard, Kapitel 5 „Design and Application of Prodrugs (Konstruktion und Anwendung von Prodrugs)“ von H. Bundgaard Seite 113–191 (1991);
- c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews (Fortgeschrittene Arzneimittelabgabeüberblicke), 8, 1-38 (1992);
- d) H. Bundgaard et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988); und
- e) N. Kakeya, et al., Chem Pharm Bull, 32 692 (1984).

[0034] Eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben kann durch irgendein Verfahren hergestellt werden, das dafür bekannt ist, dass es bei der Herstellung von chemisch verwandten Verbindungen angewendet werden kann. Derartige Verfahren, werden sie zum Herstellen einer Verbindung der Formel I benutzt, werden als weiteres charakteristisches Merkmal der Erfindung bereitgestellt und durch die folgenden repräsentativen Prozessvarianten veranschaulicht. Die erforderlichen Ausgangsmaterialien können durch Standardvorgehensweisen der organischen Chemie erhalten werden. Die Herstellung derartiger Ausgangsmaterialien ist in Verbindung mit den folgenden repräsentativen Prozessvarianten und in den beiliegenden Beispielen beschrieben. Alternativ werden die erforderlichen Ausgangsmaterialien durch Vorgehensweisen, die den veranschaulichten analog sind, die innerhalb der Fähigkeit eines organischen Chemikers liegen, erhalten.

[0035] Einer weiteren Ausgestaltung gemäß bietet die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wobei X NH ist und Z, W, Y und n die in Formel I angegebene Definition aufweisen, welches Verfahren das Reagieren eines Amins der Formel II mit einem Isocyanat der Formel III



Formel II



Formel III

und daraufhin nötigenfalls:

- i) das Umwandeln einer Verbindung der Formel (I) in eine andere Verbindung der Formel (I);
- ii) das Bilden eines Salzes oder Solvats umfasst.

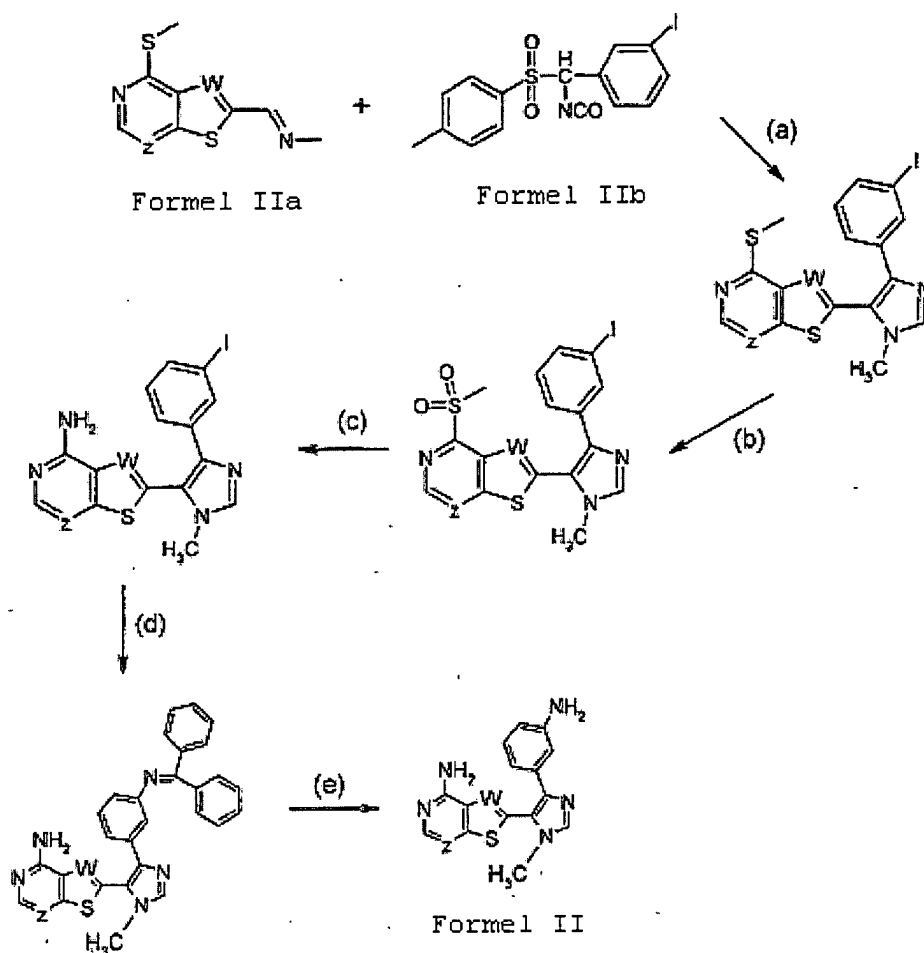
[0036] Das oben erwähnte Verfahren lässt sich ohne Weiteres in einem geeigneten inerten Lösungsmittel oder Verdünnungsmittel wie beispielsweise einem Ether, beispielsweise Tetrahydrofuran, DMF, DCM, DMA oder Pyridin ausführen. Das Verfahren wird bevorzugt bei einer Temperatur von weniger als 50°C, beispielsweise bei 0 bis 30°C, bevorzugt bei Raumtemperatur durchgeführt.

[0037] Das Amin der Formel II kann durch das unten angegebene Reaktionsschema (i) hergestellt werden:

Schema (i)

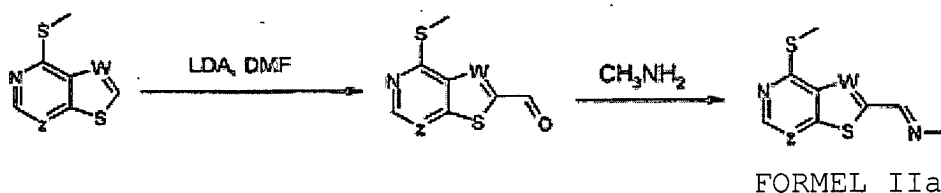
wobei:

- (a) Piperazin in THF
- (b) m-CPBA in DCM
- (c) Konzentriertes wässriges Ammoniak in 1,4-Dioxan
- (d) Benzophenonimin, 1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen, Bis(benzylidenaceton)palladium und Natrium-tert.-butoxid in Dioxan
- (e) HCl in THF



[0038] Die Verbindung der Formel IIa kann durch das unten angegebene Reaktionsschema (ii) hergestellt werden:

Schema (ii)



[0039] Das Sulfon der Formel IIb kann durch die Reaktion von Trimethylsilylchlorid, 3-Iodobenzaldehyd, Formamid und Toluolsulphinsäure unter Bildung von {(3-Iodophenyl)[(4-methylphenyl)sulphonyl]methyl}formamid und daraufhin der Reaktion des {(3-Iodophenyl)[(4-methylphenyl)sulphonyl]methyl}formamids mit Phosphoroxychlorid unter Bildung des Sulfons der Formel IIb hergestellt werden.

[0040] Einer anderen Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung gemäß bietet die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wobei X CH_2 ist und Z, W, Y und n die in Formel I angegebene Definition aufweisen, welches Verfahren das Reagieren eines Amins der Formel II mit einem geeigneten Acylchlorid oder Acylester, wie dem Fachmann bekannt sein wird, umfasst.

[0041] Wenn ein pharmazeutisch annehmbares Salz einer Verbindung der Formel I, beispielsweise ein Säureadditionssalz, erforderlich ist, kann es beispielsweise durch Reaktion einer Verbindung der Formel I mit einer geeigneten Säure wie Salzsäure unter Anwendung einer herkömmlichen Vorgehensweise erhalten werden. Wenn die Verbindung der Formel I in Form der freien Phase benötigt wird, so kann ein Säureadditionssalz der Verbindung der Formel I mit einer geeigneten Base, beispielsweise einer organischen Aminbase, wie beispielsweise Pyridin, 2,6-Lutidin, Collidin, 4-Dimethylaminopyridin, Triethylamin, Morpholin, N-Methylmorpholin

oder Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en oder beispielsweise einem Alkali- oder Erdalkalimetallcarbonat oder Hydroxid, beispielsweise Natriumcarbonat, Kaliumcarbonat, Calciumcarbonat, Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid behandelt werden.

[0042] Gewisse Verbindungen der Formel I sind dazu fähig, in stereoisomeren Formen zu existieren. Man wird sich im Klaren darüber sein, dass die Erfindung alle geometrischen und optischen Isomere der Verbindungen der Formel I und Mischungen derselben, einschließlich Razemate, umfasst. Tautomere und Mischungen derselben bilden ebenfalls eine Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung.

[0043] Isomere können durch herkömmliche Techniken, z. B. Chromatografie oder fraktionierte Kristallisation aufgelöst oder getrennt werden. Enantiomere können durch Trennen einer razemischen oder anderen Mischung der Verbindungen unter Anwendung herkömmlicher Techniken (z. B. chiraler Hochleistungsflüssigchromatografie (HPLC)) isoliert werden. Alternativ können die erwünschten optischen Isomere durch Reaktion der geeigneten optisch aktiven Ausgangsmaterialien unter Bedingungen, die keine Razemisierung verursachen, oder durch Derivatisieren beispielsweise mit homochiraler Säure, gefolgt vom Trennen der diastereomeren Derivate durch herkömmliche Mittel (z. B. HPLC, Chromatografie über Siliciumdioxid) hergestellt werden oder sie können mit achiralen Ausgangsmaterialien und chiralen Reagenzien hergestellt werden. Alle Stereoisomere sind innerhalb des Umfangs der Erfindung eingeschlossen.

[0044] Die erfindungsgemäßen Verbindungen können von ihren Reaktionsmischungen unter Anwendung herkömmlicher Techniken isoliert werden.

[0045] Man wird sich im Klaren darüber sein, dass es bei einigen der hier erwähnten Reaktion eventuell notwendig/wünschenswert sein kann, die empfindlichen Gruppen in den Verbindungen zu schützen. Die Fälle, wo ein Schutz erforderlich oder wünschenswert ist und geeignete Schutzverfahren sind den Fachleuten bekannt. Herkömmliche Schutzgruppen können Standardpraktiken gemäß verwendet werden (zur Veranschaulichung vergleiche T. W. Green, *Protective Groups in Organic Synthesis* (Schutzgruppen in der organischen Synthese), John Wiley and Sons, 1991). So kann es, wenn Reaktanden Gruppen wie Amino, Carboxy oder Hydroxy umfassen, wünschenswert sein, die Gruppe bei einigen der hier erwähnten Reaktion zu schützen. Schutzgruppen können durch irgendein Verfahren, wie es in der Literatur beschrieben oder dem Fachchemiker als für die Entfernung der fraglichen Schutzgruppe geeignet bekannt ist, entfernt werden, wobei derartige Verfahren so gewählt werden, dass sie die Entfernung der Schutzgruppe mit einer so gering wie möglichen Störung der Gruppen anderswo im Molekül bewirken.

[0046] Spezifische Beispiele von Schutzgruppen sind der Einfachheit halber unten angegeben, wobei „nieder“ wie beispielsweise bei Niederalkyl, bedeutet, dass die Gruppe, auf die es angewendet wird, bevorzugt 1–4 Kohlenstoffatome aufweist. Man wird sich im Klaren darüber sein, dass diese Beispiele nicht erschöpfend sind. Wo spezifische Beispiele von Verfahren zur Entfernung von Schutzgruppen unten angegeben sind, so sind diese gleichfalls nicht erschöpfend. Die Verwendung von Schutzgruppen und Verfahren zum Entschützen, die hier nicht spezifisch erwähnt werden, liegen natürlich innerhalb des Umfangs der Erfindung.

[0047] Eine Carboxyschutzgruppe kann aus dem Rest eines esterbildenden aliphatischen oder arylaliphatischen Alkohols oder eines esterbildenden Silanols bestehen (wobei der Alkohol oder das Silanol bevorzugt 1–20 Kohlenstoffatome enthalten). Beispiele von Carboxyschutzgruppen umfassen geradkettige oder verzweigte (1–12 C-)Alkylgruppen (beispielsweise Isopropyl und tert-Butyl); Niederalkoxyniederalkylgruppen (beispielsweise Methoxymethyl, Ethoxymethyl und Isobutoxymethyl); Niederacyloxyniederalkylgruppen (beispielsweise Acetoxymethyl, Propionyloxymethyl, Butyryloxymethyl und Pivaloyloxymethyl); Niederalkoxycarbonyloxyniederalkylgruppen (beispielsweise Methoxycarbonyloxyethyl und 1-Ethoxycarbonyloxyethyl); Arylniederalkylgruppen (beispielsweise Benzyl, 4-Methoxybenzyl, 2-Nitrobenzyl, 4-Nitrobenzyl, Benzhydryl und Phthalidyl); Tri(niederalkyl)silylgruppen (beispielsweise Trimethylsilyl und tert-Butyldimethylsilyl); Tri(niederalkyl)silylniederalkylgruppen (beispielsweise Trimethylsilylethyl); und (2–6 C-)Alkenylgruppen (beispielsweise Allyl). Verfahren, die für das Entfernen von Carboxylschutzgruppen besonders geeignet sind, umfassen beispielsweise säure-, basen-, metall- oder enzymatisch katalysierte Spaltung.

[0048] Beispiele von Hydroxyschutzgruppen umfassen Niederalkylgruppen (beispielsweise tert-Butyl), Niederalkenylgruppen (beispielsweise Allyl); Niederalkanoylgruppen (beispielsweise Acetyl); Niederalkoxycarbonylgruppen (beispielsweise tert-Butoxycarbonyl); Niederalkenylloxycarbonylgruppen (beispielsweise Allyloxycarbonyl); Arylniederalkoxycarbonylgruppen (beispielsweise Benzyloxycarbonyl, 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, 2-Nitrobenzyloxycarbonyl und 4-Nitrobenzyloxycarbonyl); Tri(niederalkyl)silyl (beispielsweise Trimethylsilyl und tert-Butyldimethylsilyl) und Arylniederalkyl-(beispielsweise Benzyl-)Gruppen.

[0049] Beispiele von Aminoschutzgruppen umfassen Formyl-, Arylniederalkylgruppen (beispielsweise Benzyl- und substituierte Benzyl-, 4-Methoxybenzyl-, 2-Nitrobenzyl- und 2,4-Dimethoxybenzyl- und Triphenylmethylgruppen); Di-4-anisylmethyl- und Furylmethylgruppen; Niederalkoxycarbonyl-(beispielsweise tert-Butoxycarbonylgruppen); Niederalkenyloxycarbonyl- (beispielsweise Allyloxycarbonyl-); Arylniederalkoxycarbonylgruppen (beispielsweise Benzylloxycarbonyl-, 4-Methoxybenzylloxycarbonylgruppen, 2-Nitrobenzylloxycarbonyl- und 4-Nitrobenzylloxycarbonylgruppen); Trialkylsilyl-(beispielsweise Trimethylsilyl- und tert-Butyldimethylsilylgruppen); Alkyliden-(beispielsweise Methyliden-) und Benzyliden- und substituierte Benzylidengruppen.

[0050] Verfahren, die für die Entfernung von Hydroxy- und Aminoschutzgruppen geeignet sind, umfassen beispielsweise die säure-, basen-, metall- oder enzymatisch katalysierte Hydrolyse für Gruppen wie 2-Nitrobenzylloxycarbonyl, die Hydrierung bei Gruppen wie Benzyl und photolytisch bei Gruppen wie 2-Nitrobenzylloxycarbonyl.

[0051] Man wird sich auch im Klaren darüber sein, dass gewisse der verschiedenen Ringsubstituenten in den erfindungsgemäßen Verbindungen durch aromatische Standardsubstitutionsreaktionen eingeführt werden oder durch herkömmliche Modifikationen funktioneller Gruppen entweder vor oder sofort nach den oben erwähnten Vorgängen gebildet werden können und als solche in die Verfahrensausgestaltung der Erfindung eingeschlossen sind. Derartige Reaktionen und Modifikationen umfassen beispielsweise das Einführen eines Substituenten durch eine aromatische Substitutionsreaktion, das Reduzieren von Substituenten, das Alkylieren von Substituenten und das Oxydieren von Substituenten. Die Reagentien und Reaktionsbedingungen für derartige Verfahren sind im Stand der Chemie allgemein bekannt. Ein spezifisches Beispiel einer aromatischen Substitutionsreaktion umfasst die Einführung einer Halogengruppe.

Biologische Versuche

[0052] Die folgenden Versuche können zum Messen der Auswirkungen der erfindungsgemäßen Verbindungen als Tie2-Inhibitoren in vitro und als Inhibitoren der Tie2-Autophosphorylierung in Ganzzellen verwendet werden.

a. In vitro-Versuch zur Hemmung der Rezeptortyrosinkinase

[0053] Um auf die Hemmung der Tie2-Rezeptortyrosinkinase hin zu testen, werden Verbindungen in einem nicht auf Zellbasis durchgeführten Proteinkinaseversuch aufgrund ihrer Fähigkeit beurteilt, die Proteinkinaseenzymphosphorylierung eines tyrosinhaltigen Polypeptidsubstrats in einem Mikrotiterplattenassay auf ELISA-Basis zu hemmen. In diesem spezifischen Fall war es Ziel des Assays, den IC_{50} -Wert für drei verschiedene rekombinante menschliche Tyrosinkinasen, nämlich Tie2, KDR und Flt, zu bestimmen.

[0054] Um die Herstellung der Tyrosinkinasen zu erleichtern, wurden rekombinante Rezeptorgene mit Hilfe von molekularbiologischen Standardklonier- und Mutagenesetechniken hergestellt. Diese rekombinanten Proteinfragmente, die innerhalb dieser Gene kodiert sind, bestehen nur aus dem intrazellulären Teil des C-terminalen Abschnitts des jeweiligen Rezeptors, innerhalb dessen die Kinasedomäne anzutreffen ist. Die rekombinanten Gene, die die Kinasedomäne kodieren, die die Fragmente enthält, wurden in einem Standard-Baculovirus/Sf21-System (oder alternativen Äquivalent) kloniert und exprimiert.

[0055] Lysate wurden aus den Wirtsinsektenzellen auf die Proteinexpression hin durch Behandlung mit eiskaltem Lysepuffer (20 mM N-2-Hydroxyethylpiperizin-N'-2-ethansulphonsäure (HEPES), pH-Wert 7,5, 150 mM NaCl, 10 Glycerin, 1 Triton X-100, 1,5 mM $MgCl_2$, 1 mM Ethylenglykol-bis(β -Aminoethylether)-N',N',N',N'-tetraessigsäure (EGTA) und Proteaseinhibitoren hergestellt und daraufhin durch Zentrifugieren gereinigt. Die Tie2-, KDR- und Flt1-Lysate wurden in aliquoten Teilen bei $-80^{\circ}C$ gelagert.

[0056] Die konstitutive Kinaseaktivität dieser rekombinanten Proteine wurde aufgrund ihrer Fähigkeit bestimmt, ein synthetisches Peptid (das aus einem statistischen Copolymer von Glutaminsäure, Alanin und Tyrosin im Verhältnis von 6:3:1 bestand) bestimmt. Spezifisch wurden Nunc Maxisorb^{WZ}-Immunplatten mit 96 Vertiefungen mit 100 Mikrolitern von synthetischem Peptid Sigma P3899 (1 mg/ml Stammlösung in PBS, 1:500 in PBS vor dem Beschichten der Platte verdünnt) beschichtet und über Nacht bei $4^{\circ}C$ inkubiert. Die Platten wurden in 50 mM HEPES, pH-Wert 7,4, bei Raumtemperatur gewaschen, um irgendwelchen Überschuss von ungebundenem synthetischem Peptid zu entfernen.

[0057] Die Tie2-, KDR- oder Flt1-Aktivitäten wurden durch Inkubieren der entsprechenden frisch verdünnten Lysate (jeweils 1:200, 1:400 bzw. 1:1000) in mit Peptid beschichteten Platten 60 Minuten (Tie2) oder 20 Minu-

ten (KDR, Fit) lang bei Raumtemperatur in 100 mM HEPES, pH-Wert 7,4, Adenosintriphosphat (ATP), 5 mikromolar (oder einer Km-Konzentration für das jeweilige Enzym von 10 mM MnCl_2 , 0,1 mM Na_3VO_4 , 0,2 mM DL-Dithiothreitol (DTT), 0,1% Triton X-100 zusammen mit der bzw. den Testverbindung(en) in DMSO gelöst (Endkonzentration 2,5%) mit schließlichen Verbindungskonzentrationen im Bereich von 0,05 mikromolar–100 mikromolar beurteilt. Die Reaktionen wurden durch Entfernung der flüssigen Komponenten des Tests gefolgt vom Waschen der Platten mit PBS-T (mit Phosphat gepufferter physiologische Kochsalzlösung mit 0,5 Tween 20) oder einem alternativen äquivalenten Waschpuffer beendet.

[0058] Das immobilisierte Phosphopeptidprodukt der Reaktion wurde durch immunologische Verfahren erfasst. Zuerst wurden Platten 4 Stunden lang bei Raumtemperatur mit mit murinem monoklonalem Antiphosphotyrosin-HRP (Meerrettischperoxidase) konjugierten Antikörpern (4G10 von Upstate Biotechnology UBI 16-105) inkubiert. Auf das gründliche Waschen mit PBS-T hin wurde die HRP-Aktivität in jeder Vertiefung der Platte kolorimetrisch mit Hilfe von 22'-Azinodi[3-ethylbenzthiazolinsulfonat(6)]diammoniumsalzkristallen ABTS (Sigma P4922, den Anweisungen des Herstellers gemäß hergestellt) als Substrat 30–45 Minuten lang inkubiert, damit eine Farbentwicklung vonstatten geht, bevor 100 μl 1 M H_2SO_4 zum Abbrechen der Reaktion hinzugegeben wurden.

[0059] Die Quantifizierung der Farbentwicklung und so der Enzymaktivität wurde durch Messen der Extinktion bei 405 nm an einem ThermoMax-Mikroplattenablesgerät von Molecular Devices erreicht. Die Kinasehemmung wurde bei einer vorgegebenen Verbindung als IC_{50} -Wert ausgedrückt. Dies wurde durch Berechnen der Konzentration der Verbindung, die erforderlich war, um eine 50%-ige Hemmung der Phosphorylierung bei diesem Versuch zu erreichen, bestimmt. Der Phosphorylierungsbereich wurde aufgrund der positiven (Vehikel plus ATP) und negativen (Vehikel minus ATP) Kontrollwerte berechnet.

b. Zell-Tie2-Autophosphorylierungsversuch

[0060] Dieser Versuch basierte auf dem Messen der Fähigkeit von Verbindungen, die Autophosphorylierung des Tie2-Rezeptors zu hemmen, die normalerweise zur Bildung von „aktiviertem“ Rezeptor führt, der wiederum die spezifischen mit der Rezeptorfunktion assoziierten Signaltransduktionswege auslöst.

[0061] Die Autophosphorylierung lässt sich durch eine Anzahl verschiedener Möglichkeiten erreichen. Es ist bekannt, dass die Expression rekombinanter Kinasedomänen in Baculovirussystemen zur Bildung von phosphoryliertem und aktiviertem Rezeptor führen kann. Es ist auch berichtet worden, dass die Überexpression von Rezeptoren in rekombinanten Zelllinien in Abwesenheit des Liganden selbst zur Rezeptorautophosphorylierung führen kann (Heldin C-H. 1995 Cell: 80, 213–223; Blume-J. P., Hunter T. 2001 Nature: 411, 355–65). Des Weiteren gibt es zahlreiche Beispiele in der Literatur, bei denen chimäre Rezeptoren konstruiert worden sind. In diesen Fällen ist die natürliche externe Zelloberflächendomäne des Rezeptors durch diejenige einer Domäne ersetzt worden, von der bekannt ist, dass sie durch Addition des geeigneten Liganden ohne Weiteres dimersiert werden kann (z. B. des TrkA-Tie2/NGF-Liganden (Marron, M. B., et al., 2000 Journal of Biological Chemistry: 275: 39741–39746) oder des C-fms-Tie-1/CSF-1-Liganden (Kontos, C. D., et al., 2002 Molecular and Cellular Biology: 22, 1704–1713). So induziert dies, wenn der chimäre Rezeptor, der in einer Wirtszelllinie exprimiert wird, und der entsprechende Ligand zugesetzt werden, die Autophosphorylierung der Kinasedomäne des chimären Rezeptors. Dieser Ansatz bietet den Vorteil, dass er es oft erlaubt, dass ein bekannter (und oft ohne Weiteres erhältlicher) Ligand verwendet werden kann, statt den natürlichen Liganden für jeden Rezeptor, der von Interesse ist, identifizieren und isolieren zu müssen.

[0062] Natürlich kann man, wenn der Ligand verfügbar ist, natürliche Zelllinien oder primäre Zelllinien, von denen bekannt ist, dass sie den Rezeptor der Wahl exprimieren, verwenden und einfach mit Ligand stimulieren, um die ligandeninduzierte Phosphorylierung zu erreichen. Die Fähigkeit von Verbindungen, die Autophosphorylierung des Tie2-Rezeptors zu hemmen, der beispielsweise in EA.hy926B3-Zellen (von J. McLean/B. Tuchi, Univ. Of N. Carolina at Chapel Hill, CB-4100, 300 Bynum Hall, Chapel Hill, N. C. 27599–41000, USA geliefert) oder primären HUVEC (menschlichen Nabelvenenendothelzellen – von verschiedenen handelsüblichen Quellen erhältlich) exprimiert wird, kann durch diesen Versuch gemessen werden.

[0063] Der natürliche Ang1-Ligand kann mit Hilfe der Standardreinigungstechnologie entweder von bei Tumorzellen überstehenden Flüssigkeiten isoliert werden oder alternativ kann das Ang1-Gen rekombinant mit Hilfe von Standardtechniken aus der molekularen Biologie und Expressionssystemen kloniert und exprimiert werden. In diesem Fall kann man versuchen, den Liganden entweder in seinem nativen Zustand oder als rekombinantes Protein herzustellen, das beispielsweise genmanipuliert worden sein kann, um zusätzliche Reinigungsetiketten (z. B. Polyhistidinpeptide, Antikörper-Fc-Domänen) zu enthalten, um den Vorgang zu erleichtern.

[0064] Durch Ligandenstimulierung von entweder EA.hy926B3 oder HUVEC Zell-Tie2-Rezeptor, als Beispiel, kann ein durch Ang1-Ligand stimulierter Zellrezeptorphosphorylierungsversuch erstellt werden, der zum Analysieren zum Bestimmen des Potentials von Verbindungen, diesen Vorgang zu hemmen, verwendet werden kann. Beispielsweise wurden EA.hy926/B3-Zellen in einem geeigneten Gewebekulturmedium plus 10% Fötalkalbsserum (FKS) zwei Tage lang in Platten von 6 Vertiefungen ausgehend von einer anfänglichen Ansetzdichte von 5×10^5 Zellen/Vertiefung gezüchtet. Am dritten Tag wurden die Zellen insgesamt 2 Stunden lang durch Ersetzen des vorhergehenden Mediums durch Medium, das nur 1% FKS enthielt, an Serum ausgehungert. Nach 1 Stunde 40 Minuten des Aushungerns an Serum wurde das Medium entfernt und durch 1 ml der Testverbindungsverdünnungen (Verdünnungen der Verbindung, die in Serumaushungerungsmedium jedoch unter Beibehaltung der DMSO-Konzentration unter 0,8% hergestellt wurden) ersetzt. Nach 1,5 Stunden Serumaushungerung wurde Orthovanadat hinzugegeben, um für die letzten 10 Minuten der Serumaushungerung eine Endkonzentration von 0,1 mM zu erreichen.

[0065] Auf insgesamt 2 Stunden Serumaushungerung hin wurden der Ligand plus Orthovanadat zum Stimulieren der Autophosphorylierung des Zell-Tie2-Rezeptors hinzugegeben (der Ligand kann entweder als gereinigtes Material, im Serumaushungerungsmedium verdünnt, hinzugegeben werden oder es kann ungereinigte überstehende Zellflüssigkeit, die den Liganden enthält, z. B. wenn er rekombinant in Säugerzellen exprimiert ist, hinzugegeben werden).

[0066] Nach 10 Minuten langem Inkubieren mit dem Liganden bei 37°C wurden die Zellen auf Eis gekühlt, mit etwa 5 ml kaltes PBS enthaltendem 1 mM Orthovanadat gewaschen, woraufhin 1 ml eiskalter Lysepuffer (10 mM Tris, pH-Wert 7,6, 150 mM NaCl, 50 mM NaF, 0,1% SDS, 1% NP40, 0,5% DOC, 1 mM Orthovanadat, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF, 30 µl/ml Aprotinin, 10 µg/ml Pepstatin, 10 µg/ml. Leupeptin) den Zellen hinzugegeben und 10–20 Minuten lang auf Eis gehalten wurde. Das Lysat wurde entfernt und in eine 1,5 ml Eppendorfröhre überführt und 3 Minuten lang bei 13000 UpM bei 4°C zentrifugiert. 800 µl jedes Lysats wurde in frische 2 ml Eppendorfröhren zur Immunausfällung überführt. 3 mg = 15 µl Antiphosphotyrosinantikörper (Santa Cruz PY99-sc-7020) wurden den Lysaten hinzugegeben und 2 Stunden lang bei 4°C zum Inkubieren gelassen. 600 µl gewaschene MagnaBind-Perlen (Ziegen-Antimaus-IgG, Pierce 21354) wurden den Lysaten hinzugegeben und man ließ die Röhren über Nacht bei 4°C rotieren.

[0067] Die Proben wurden 1 Minute lang im Magnetprüfer behandelt, bevor die überstehende Lyseflüssigkeit sorgfältig entfernt wurde. 1 ml Lysepuffer wurde dann zu den Perlen hinzugegeben und dieser Schritt wurde noch zweimal wiederholt. Die Perlen wurden in 25 µl 94°C heißem 2 × Laemmli-Beladungspuffer plus Beta-mercaptoethanol suspendiert und 15 Minuten lang bei Raumtemperatur gelassen.

[0068] Die Perlen wurden durch Aussetzen der Röhren 1 Minute lang im Magnetprüfer entfernt und die gesamte Flüssigkeit, die von den Perlen von jeder Immunausfällung getrennt worden war, wurde auf Polyacrylamid/SDS-Proteingele (vorgegossene BisTris NuPAGE/MOPS 12 Wellplattengele von 4–12%, von Novex) aufgeladen. Die Proteingele wurden 200 V unterworfen und dann 1 Stunde 30 Minuten lang bei 50 V/250 mA auf NC-Membranen geblottet. Alle Blots wurden mit 5% Marvel in PBS-Tween 1 Stunde lang bei Raumtemperatur behandelt, um die nichtspezifische Bindung des Erfassungsantikörpers zu reduzieren. Ein Kaninchen-Anti-Tie2 (Santa Cruz sc-324) wurde in einer Verdünnung von 1:500 in 0,5% Marvel/PBS-Tween hinzugegeben und über Nacht bei 4°C zum Inkubieren gelassen. Die Blots wurden gründlich mit PBS-Tween gewaschen, bevor das Ziegen-Antikaninchen-POD-Konjugat (Dako 20448) in einer Verdünnung von 1:5000 in 0,5% Marvel/PBS-Tween hinzugegeben wurde. Man ließ den Antikörper 1 Stunde lang bei Raumtemperatur vor dem darauffolgenden Waschen der Blots mit PBS-Tween stehen. Die Western-Blots der verschiedenen Immunausfällungsproben wurden mit LumiGlo (NEB 7003) entwickelt und in eine Röntgenkassette überführt und die Filme wurden 15 sec/30 sec bzw. 60 sec lang belichtet. Die relative Stärke der Proteinbande, die zum phosphorylierten Tie2-Rezeptor gehört, wurde mit Hilfe eines Fluor S-Bildanalysatorsystems von BioRad beurteilt. Der Prozentsatz der Phosphorylierung bei jeder Prüfverbindungsverdünnungsserie wurde bestimmt, wovon die IC₅₀-Wert durch Standardverfahren mit Hilfe geeigneter Kontrollproben als Bezugsproben berechnet wurden.

[0069] Obwohl die pharmakologischen Eigenschaften der Verbindungen der Formel I mit der strukturellen Änderung, wie zu erwarten, variieren, kann die Aktivität, die die Verbindungen der Formel I aufweisen, bei folgenden Konzentrationen oder Dosen in einem oder mehreren der obigen Tests (a) und (b) aufgezeigt werden:

Test (a): – IC₅₀ beispielsweise im Bereich von < 100 µM;

Test (b): – IC₅₀ beispielsweise im Bereich von < 50 µM;

[0070] Beispiel 1 wies beispielsweise einen IC₅₀-Wert von 16 µM in Test (a) und einen IC₅₀-Wert von 0,4 µM in Test (b) auf.

[0071] Einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird eine pharmazeutische Zusammensetzung bereitgestellt, die eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben, wie in einem der Ansprüche 1 bis 4 definiert, in Verbindung mit einem pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmittel oder Träger umfasst, bereitgestellt.

[0072] Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können in einer Form vorliegen, die für die orale Verwendung (beispielsweise als Tabletten, Pastillen, Hart- oder Weichkapseln, wässrige oder ölige Suspensionen, Emulsionen, dispergierfähige Pulvern oder Granulate, Syrupe oder Elixiere), für die topische Anwendung (beispielsweise als Cremes, Salben, Gele oder wässrige oder ölige Lösungen oder Suspension), zur Verabreichung durch Inhalation (beispielsweise als fein verteiltes Pulver oder flüssiges Aerosol), für die Verabreichung durch Einatmen (beispielsweise als fein verteiltes Pulver) oder für die parenterale Verabreichung (beispielsweise als sterile wässrige oder ölige Lösung für die intravenöse, subkutane oder intramuskuläre Dosierung oder als Zäpfchen für die rektale Dosierung) geeignet sind.

[0073] Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können durch herkömmliche Verfahren unter Anwendung herkömmlicher pharmazeutischer Vehikel, die im Stand der Technik allgemein bekannt sind, erhalten werden. So können Zusammensetzungen, die für die orale Anwendung bestimmt sind, beispielsweise ein oder mehrere Farbstoffe, Süßmittel, Geschmacksstoffe und/oder Konservierungsmittel enthalten.

[0074] Die Menge an aktivem Bestandteil, der mit einem oder mehreren Vehikeln unter Bildung einer Eindosisform kombiniert wird, wird notwendigerweise je nach dem behandelten Wirt und dem spezifischen Verabreichungsweg variieren. Beispielsweise wird eine Rezeptur, die für die orale Verabreichung an Menschen bestimmt ist, im Allgemeinen beispielsweise 0,5 mg bis 0,5 g aktives Mittel (noch geeigneter 0,5 bis 100 mg, beispielsweise 1 bis 30 mg) enthalten, das mit einer entsprechenden und geeigneten Menge Vehikel komprimiert ist, die zwischen etwa 5 und etwa 98 Gewichtsprozent, auf die gesamte Zusammensetzung bezogen, variieren kann.

[0075] Die Dosisgröße einer Verbindung der Formel I für therapeutische oder vorbeugende Zwecke wird natürlich je nach der Natur und der Ernsthaftigkeit des Zustands, dem Alter und Geschlecht des Tiers oder Patienten und dem Verabreichungsweg allgemein bekannten Prinzipien der Medizin gemäß variieren.

[0076] Bei Verwendung einer Verbindung der Formel I für therapeutische oder vorbeugende Zwecke wird sie im Allgemeinen so verabreicht, dass eine tägliche Dosis im Bereich von beispielsweise 0,1 mg/kg bis 75 mg/kg Körpergewicht aufgenommen wird, die nötigenfalls in geteilten Dosen verabreicht wird. Im Allgemeinen werden niedrigere Dosen verabreicht, wenn ein parenteraler Weg benutzt wird. So wird beispielsweise für die intravenöse Verabreichung eine Dosis im Bereich von beispielsweise 0,1 mg/kg bis 30 mg/kg Körpergewicht im Allgemeinen angewendet. Desgleichen wird für die Verabreichung durch Inhalieren eine Dosis im Bereich von beispielsweise 0,05 mg/kg bis 25 mg/kg Körpergewicht eingesetzt. Die orale Verabreichung, insbesondere in Tablettenform, ist jedoch bevorzugt. Typischerweise werden Einheitsdosisformen etwa 0,5 mg bis 0,5 g einer erfindungsgemäßen Verbindung enthalten.

[0077] Die erfindungsgemäßen Verbindungen, wie hier definiert, sind unter anderem auf Grund ihrer antiangiogenetischen Wirkung von Interesse. Es ist zu erwarten, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen bei der Behandlung oder Vorbeugung einer umfangreichen Reihe von Krankheitszuständen, die mit der unerwünschten oder der pathologischen Angiogenese verbunden sind, einschließlich Krebs, Diabetes, Schuppenflechte, rheumatoider Arthritis, Kaposi-Sarkom, Hämangiom, Lymphödem, akuten oder chronischen Nephropathien, atherosklerotischer Plaque, arterieller Stenose, von Autoimmunerkrankungen, akuter Entzündung, übermäßiger Narbenbildung und Adhäsionen, Endometriose, dysfunktioneller Uterusblutung und Okularen Erkrankungen mit Netzhautgefäßproliferation nützlich sind. Krebs kann irgendein Gewebe angreifen und umfasst Leukämie, multiples Myelom und Lymphom. Insbesondere ist zu erwarten, dass derartige erfindungsgemäße Verbindungen das Wachstum von primären und rezidivierenden festen Tumoren beispielsweise im Kolon, der Brust, der Prostata, den Lungen oder der Haut auf vorteilhafte Weise verlangsamt.

[0078] Wir glauben, dass die antiangiogenetischen Eigenschaften der erfindungsgemäßen Verbindungen auf ihre die Tie2-Rezeptortyrosinkinase hemmenden Eigenschaften zurückzuführen sind. Dementsprechend ist zu erwarten, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen zum Erzeugen einer Tie2-Hemmungswirkung bei einem warmblütigen Tier, das einer derartigen Behandlung bedarf, nützlich sind. So können die erfindungsgemäßen Verbindungen zum Erzeugen einer antiangiogenetischen Wirkung verwendet werden, die als solche oder teilweise Hemmung der Tie2-Rezeptortyrosinkinase vermittelt wird.

[0079] Noch spezifischer ist zu erwarten, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen irgende Form von Krebs, der mit Tie2 verbunden ist, beispielsweise das Wachstum derjenigen primären und rezidivierenden festen Tumore, die mit Tie2 verbunden sind, insbesondere derjenigen Tumore, die in signifikantem Maße bezüglich ihres Wachstums und Ausbreitens von der Tie2-Rezeptortyrosinkinase abhängig sind, hemmt.

[0080] Einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben, wie oben definiert, zur Verwendung als Medikament bereitgestellt.

[0081] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird die Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie oben definiert, bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung als Tie2-Rezeptortyrosinkinaseinhibitor in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, bereitgestellt.

[0082] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird die Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie oben definiert, bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Erzeugung einer antiangiogenetischen Wirkung in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, bereitgestellt.

[0083] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird die Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie oben definiert, bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Krebsen in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, bereitgestellt.

[0084] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird die Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie oben definiert, bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung eines Krebses ausgewählt unter Brust-, Lungen-, Kolon-, Rektum-, Magen-, Prostata-, Blasen-, Bauchspeicheldrüsen-, Ovarial-, Lymphom-, Hoden-, Neuroblastom-, Leber-, Gallengang-, Nierenzellen-, Gebärmutter-, Schilddrüsen- und Hautkrebs in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, bereitgestellt.

[0085] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird ein Verfahren zum Hemmen der Tie2-Rezeptortyrosinkinase in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, der einer solchen Behandlung bedarf, die das Verabreichen dem Tier einer wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie oben definiert, umfasst, bereitgestellt.

[0086] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird ein Verfahren zum Erzeugen einer antiangiogenetischen Wirkung in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, der einer derartigen Behandlung bedarf, die das Verabreichen dem Tier einer wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie oben definiert, umfasst, bereitgestellt.

[0087] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird ein Verfahren zum Behandeln von Krebsen in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, der einer solchen Behandlung bedarf, die das Verabreichen dem Tier einer wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie oben definiert, umfasst, bereitgestellt.

[0088] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird ein Verfahren zum Behandeln eines Krebses ausgewählt unter Leukämie, Brust-, Lungen-, Kolon-, Rektum-, Magen-, Prostata-, Blasen-, Bauchspeicheldrüsen-, Ovarial-, Lymphom-, Hoden-, Neuroblastom-, Leber-, Gallengang-, Nierenzellen-, Gebärmutter-, Schilddrüsen- oder Hautkrebs in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, der einer derartigen Behandlung bedarf, die das Verabreichen dem Tier einer wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie oben definiert, umfasst, bereitgestellt.

[0089] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben, wie oben definiert, zur Verwendung zum Hemmen der Tie2-Rezeptortyrosinkinase in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, bereitgestellt.

[0090] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben, wie oben definiert, zur Verwendung zum Erzeugen einer antiangiogenetischen Wirkung in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen, bereitgestellt.

[0091] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben wie oben definiert zur Verwendung bei der Behandlung von Krebs bereitgestellt.

[0092] Einer anderen Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben, wie oben definiert, zur Verwendung bei der Behandlung von Krebs ausgewählt unter Leukämie, Brust-, Lungen-, Kolon-, Rektum-, Magen-, Prostata-, Blasen-, Bauchspeicheldrüsen-, Ovarial-, Lymphom-, Hoden-, Neuroblastom-, Leber-, Gallengang-, Nierenzellen-, Gebärmutter-, Schilddrüsen- und Hautkrebs bereitgestellt.

[0093] Wie oben erwähnt ist des Weiteren zu erwarten, dass eine Verbindung der vorliegenden Erfindung eine Aktivität gegen andere Krankheiten, die durch die unerwünschte oder pathologische Angiogenese vermittelt wird, einschließlich Schuppenflechte, rheumatoider Arthritis, Kaposi-Sarkom, Hämangiom, Lymphödem, akuter oder chronischer Nephropathien, atherosklerotischer Plaque, arterieller Stenose, von Autoimmunerkrankungen, akuter Entzündung, übermäßiger Narbenbildung und Adhäsionen, Endometriose, dysfunktionaler Uterusblutung und Okularen Erkrankungen mit Netzhautgefäßproliferation, aufweist.

[0094] Die hier definierte antiangiogenetische Aktivität kann als einzige Therapie angewendet werden oder kann zusätzlich zu einer erfindungsgemäßen Verbindung eine oder mehrere andere Substanzen und/oder Behandlungen involvieren. Eine derartige gleichzeitige Behandlung kann durch gleichzeitige, sequentielle oder getrennte Verabreichung der einzelnen Komponenten der Behandlung erreicht werden. Auf dem Gebiet der medizinischen Onkologie ist es normale Praxis, eine Kombination verschiedener Behandlungsformen zum Behandeln jedes Patienten mit Krebs anzuwenden. In der medizinischen Onkologie kann bzw. können die andere(n) Komponente(n) einer derartigen gleichzeitigen Behandlung zusätzlich zur oben definierten Zellzyklushemmungsbehandlung Folgende sein: chirurgischer Eingriff, Radiotherapie oder Chemotherapie. Eine derartige Chemotherapie kann eine oder mehrere der folgenden Kategorien von Antitumormitteln umfassen:

- (i) Antiinvasionsmittel (beispielsweise Metallproteinaseinhibitoren wie Marimastat und Inhibitoren der Urokinaseplasminogenaktivatorrezeptorfunktion);
- (ii) antiproliferative/antineoplastische Arzneimittel und Kombinationen derselben, wie sie in der medizinischen Onkologie verwendet werden, wie beispielsweise Alkylmittel (beispielsweise cis-Platin, Carboplatin, Cyclophosphamid, Stickstofflost, Melphalan, Chlorambucil, Busulfan und Nitrosoharnstoffe); Antimetabolite (beispielsweise Antifolate wie Fluorpyrimidine wie 5-Fluoruracil und Tegafur, Raltitrexed, Methotrexat, Zytosinarabinosid und Hydroxyharnstoff oder beispielsweise einer der bevorzugten Antimetabolite, die in der Europäischen Patentanmeldung Nr. 562734 offenbart sind wie beispielsweise (2S)-2-{o-Fluor-2-[N-{2,7-dimethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-6-ylmethyl)-N-(prop-2-ynyl)amino]benzamido}-4-(tetrazol-5-yl)buttersäure); Antitumorantibiotika (beispielsweise Anthracycline wie Adriamycin, Bleomycin, doxorubicin, Daunomycin, Epirubicin, Idarubicin, Mitomycin-C, Dactinomycin und Mithramycin); antimitotische Mittel (beispielsweise Vincaalkaloide wie Vincristin, Vinblastin, Vindesin und Vinorelbin und Taxoide wie Taxol und Taxoter); und Topoisomeraseinhibitoren (beispielsweise Epipodophyllotoxine wie Etoposid und Teniposid, Amsacrin, Topotecan und Camptothecin);
- (iii) Zytostatische Mittel wie Antiöstrogene (beispielsweise Tamoxifen, Toremifen, Raloxifen, Droloxifen und Iodoxyfen), Antiandrogene (beispielsweise Bicalutamid, Flutamid, Nilutamid und Cyproteronacetat), LHRH-Antagonisten oder LHRH-Agonisten (beispielsweise Goserelin, Leuprorelin und Buserelin); Progestagene (beispielsweise Megestrolacetat), Aromataseinhibitoren (beispielsweise als Anastrozol, Letrazol, Vorazol und Exemestan) und Inhibitoren der 5 α -Reductase wie Finasterid;
- (iv) Inhibitoren der Wachstumsfaktorfunktion, beispielsweise umfassen derartige Inhibitoren Wachstumsfaktorantikörper, Wachstumsfaktorrezeptorantikörper, Farnesyltransferaseinhibitoren, Tyrosinkinaseinhibitoren und Serin/Threoninkinaseinhibitoren, beispielsweise Inhibitoren der Epidermalwachstumsfaktorfamilie (beispielsweise die EGFR-Tyrosinkinaseinhibitoren N-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-7-methoxy-6-(3-morpholinopropoxy)chinazolin-4-amin (ZD1839), N-(3-Ethynylphenyl)-6,7-bis(2-methoxyethoxy)chinazolin-4-amin (CP 358774) und 6-Acrylamido-N-(3-chlor-4-fluorphenyl)-7-(3-morpholinopropoxy)chinazolin-4-amin (CI 1033)), beispielsweise Inhibitoren der plättchenderivierten Wachstumsfaktorfamilie und beispielsweise Inhibitoren der Hepatozytwachstumsfaktorfamilie;
- (v) antiangiogenetische Mittel, die durch Mechanismen wirken, die von den oben definierten verschieden sind, wie beispielsweise diejenigen, die den Gefäßendothelwachstumsfaktor hemmen, wie beispielsweise die Verbindungen, die in den internationalen Patentanmeldungen WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 und WO 98/13354 offenbart sind und diejenigen, die durch andere Mechanismen wirken (beispielsweise Linomid, Inhibitoren der Integrin- $\alpha\beta$ 3-Funktion und Angiostatin);
- (vi) biotherapeutische therapeutische Ansätze beispielsweise diejenigen, bei denen Peptide oder Proteine verwendet werden (wie beispielsweise Antikörper oder lösliche externe Rezeptordomänenkonstruktionen),

die entweder Rezeptorliganden sequestrieren, die Ligandenbindung an den Rezeptor blockieren oder die Rezeptorsignalisierung (z. B. aufgrund von verbessertem Rezeptorabbau oder niedrigeren Expressionsniveaus) reduzieren;

(vii) Antisense-Therapien, beispielsweise diejenigen, die auf die oben aufgelisteten Targets gerichtet sind, wie beispielsweise ISIS 2503, einem Antiras-Antisense;

(viii) Gentherapieansätze, einschließlich beispielsweise Ansätze zum Ersetzen aberranter Gene wie beispielsweise aberrantem p53- oder aberrantem BRCA1 oder BRCA2, GDEPT (die gezielte Enzym-Prodrugtherapie), Ansätze wie diejenigen, bei denen Zytosindeaminase-, Thymidinkinase- oder Bakteriennitroreduktaseenzym verwendet werden und Ansätze zum Erhöhen der Patiententoleranz von Chemotherapie oder Radiotherapie wie beispielsweise multiple Arzneimittelresistenz-Gentherapie; und

(ix) Immuntherapieansätze einschließlich beispielsweise ex-vivo und in-vivo Ansätze zum Erhöhen der Immunogenizität von Patiententumorzellen wie beispielsweise Transfektion mit Zytokinen wie Interleukin 2, Interleukin 4 oder Granulozyt-Makrophagenkolonie stimulierender Faktor, Ansätze zum Reduzieren der T-Zellenenergie, Ansätze unter Anwendung von transfizierten Immunzellen wie zytokintransfizierten dendritischen Zellen, Ansätze unter Anwendung von zytokintransfizierten Tumorzelllinien und Ansätze unter Anwendung von antiidiotypischen Antikörpern.

[0095] Eine derartige gleichzeitige Behandlung kann durch gleichzeitiges sequentielles oder getrenntes Dosieren der einzelnen Behandlungskomponenten erreicht werden. Bei derartigen Kombinationsprodukten werden die erfindungsgemäßen Verbindungen innerhalb des oben beschriebenen Dosisbereichs und das andere pharmazeutisch aktive Mittel innerhalb des gutgeheißenen Dosisbereichs verwendet.

[0096] Dieser Ausgestaltung der Erfindung gemäß wird ein pharmazeutisches Produkt, das eine Verbindung der Formel I, wie oben definiert, und eine zusätzliche Antitumorsubstanz, wie oben definiert, für die gleichzeitige Krebsbehandlung umfasst, bereitgestellt.

[0097] Zusätzlich zu ihrer Verwendung in der therapeutischen Medizin sind die Verbindungen der Formel I und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze auch als pharmakologische Werkzeuge bei der Entwicklung und Standardisierung von in vitro- und in vivo-Testsystemen für die Beurteilung der Auswirkungen von Inhibitoren der Zellzyklusaktivität bei Labortieren wie Katzen, Hunden, Kaninchen, Affen, Ratten und Mäusen als Teil des Suchens nach neuen therapeutischen Mitteln ebenfalls nützlich.

[0098] Die Erfindung wird nun durch die folgenden nicht einschränkenden Beispiele veranschaulicht, in denen, es sei denn, es wird etwas Anderes angegeben:

(i) die Temperaturen in Grad Celsius (°C) angegeben sind; die Arbeiten bei Raumtemperatur oder Umgebungstemperatur, das heißt bei einer Temperatur im Bereich von 18–25°C, durchgeführt wurden;

(ii) organische Lösungen über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurden; die Verdampfung von Lösungsmitteln unter Anwendung eines Rotationsverdampfers unter reduziertem Druck (600–4000 Pascal; 4,5–30 mmHg) bei einer Badtemperatur von bis zu 60°C durchgeführt wurde;

(iii) Chromatografie die Flashchromatografie auf Kieselgel bedeutet; die Dünnschichtchromatografie (TLC) auf Kieselgelplatten durchgeführt wurde;

(iv) im Allgemeinen der Verlauf der Reaktionen durch TLC und/oder analytische LC-MS verfolgt wurde und die Reaktionszeiten nur zur Veranschaulichung angegeben sind;

(v) die Endprodukte zufriedenstellende Protonnuklearmagnetresonanz-(NMR-)Spektral- und/oder Massenspektraldaten aufwiesen;

(vi) die Ausbeuten ausschließlich zur Veranschaulichung aufgeführt sind und nicht unbedingt diejenigen sind, die durch sorgfältige Verfahrensentwicklung erhalten werden können, die Herstellungen wiederholt wurden, wenn mehr Material erforderlich war;

(vii) werden sie angegeben, so liegen die NMR-Daten in Form der Deltawerte für die diagnostischen Hauptprotonen vor und werden in Teilen pro Million (ppm) auf Tetramethylsilan (TMS) als internem Standard bezogen, bei 300 MHz mit Hilfe von Perdeuteriodimethylsulphoxid (DMSO-d₆) als Lösungsmittel bestimmt, wenn nichts anderes angegeben wird, angegeben; die folgenden Abkürzungen wurden verwendet: s, Singulett; d, Dublett; t, Triplett; q, Quartett; m, Multiplett; b, breit;

(viii) die chemischen Symbole besitzen ihre gewöhnlichen Bedeutungen; es werden SI-Einheiten und – Symbole benutzt;

(ix) die Lösungsmittelverhältnisse sind in Volumen:Volumen (Vol./Vol.) angegeben; und

(x) die Massenspektren (MS) wurden mit einer Elektronenenergie von 70 Elektronenvolt im chemischen Ionisations-(CI-)Modus unter Anwendung einer Direktexpositionssonde durchgeführt; wo angegeben, wurde die Ionisierung durch Elektronenstoß (EI), Schnellbombardierung (FAB) oder Elektrospray (ESP) durchgeführt; es werden die Werte für m/z angegeben; im Allgemeinen werden nur Ionen, die die Ursprungsmasse

angeben, aufgezeichnet; das angegebene Massenion ist MH^+ , es sei denn, es wird etwas anderes angegeben;

(xi) Verbindungen, die ein asymmetrisch substituiertes Kohlenstoff- und/oder Schwefelatom enthalten, sind nicht aufgelöst worden, es sei denn, es wird etwas Anderes angegeben;

(xii) wird eine Synthese als derjenigen, die in einem früheren Beispiel beschrieben worden ist, analog beschrieben, so sind die angewendeten Mengen millimolare Verhältnisäquivalente zu denjenigen, die im vorhergehenden Beispiel verwendet worden sind;

(xvi) die folgenden Abkürzungen sind benutzt worden:

AcOH Essigsäure

AIBN 2,2'-Azobisisobutyronitril

DCM Dichlormethan

DIPEA Diisopropylethylamin

DMA N,N-Dimethylacetamid

DMF N,N-Dimethylformamid

DMSO Dimethylsulfoxid

DMTMM 4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholin-4-iumchlorid

dppf 1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen

EtOAc Ethylacetat

HATU O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluorphosphat

PrMgCl Isopropylmagnesiumchlorid

LDA Lithiumdiisopropylamid

LHMDS Lithiumbis(trimethylsilyl)amid

m-CPBA meta-Chlorperbenzoesäure

MeOH Methanol

MeCN Acetonitril

MCX Gemischtes Kationenaustauschharz

MTBE Methyl-tert-butylether

LCMS Flüssigchromatografie-Massenspektrometrie

NMP 1-Methyl-2-pyrrolidinon

PhTosMIC α -Tosylbenzylisocyanid

POCl₃ Phosphorylchlorid

RPHPLC Umkehrphasenhochleistungsflüssigchromatografie

TFA Trifluoressigsäure

THF Tetrahydrofuran

(xvii) Wo eine Synthese als zu einem sauren Additionssalz (z. B. HCl-Salz) führend beschrieben ist, wird keine Bemerkung bezüglich der Stöchiometrie dieses

[0099] Salzes hinzugefügt. Alle NMR-Daten 5 werden mit Bezug auf aus einer freien Base bestehendem Material angegeben, wobei isolierte Salze vor der Charakterisierung zu einer freien Basenform umgewandelt werden, es sei denn, es wird etwas anderes angegeben.

Beispiel 1

N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'-(3-fluorphenyl)harnstoff

[0100] 6-[4-(3-Aminophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]thieno[2,3-d]pyrimidin-4-amin (64 mg) in wasserfreiem Tetrahydrofuran (10 ml) wurde 3-Fluorphenylisocyanat (41 mg) hinzugegeben und unter einer inerten Atmosphäre bei Umgebungstemperatur 1 h lang gerührt. Die Mischung wurde mit DCM (5 ml) verdünnt, dann durch Chromatografie auf Kieselgel unter Eluieren mit einem Gradienten von 0–50% EtOAc/DCM und daraufhin 0–20% MeOH/DCM gereinigt, um die Verbindung in der Überschrift als Feststoff (71 mg, 77%) zu ergeben; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3,65 (s, 3H), 6,83 (m, 1H), 7,15 (m, 2H), 7,25 (m, 1H), 7,35 (m, 2H), 7,48 (m, 1H), 7,68 (s, br 2H), 7,72 (s, 1H), 7,80 (m, 1H), 7,99 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,89 (s, 1H); MS m/e MH^+ 460.

Beispiel 2

N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'-(2-fluorphenyl)harnstoff

[0101] 6-[4-(3-Aminophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]thieno[2,3-d]pyrimidin-4-amin (64 mg) in wasserfreiem Tetrahydrofuran (10 ml) wurde 2-Fluorphenylisocyanat (34 mg) hinzugegeben und unter einer inerten At-

mosphäre bei Umgebungstemperatur 1 h lang gerührt. Die Mischung wurde mit DCM (5 ml) verdünnt, dann durch Chromatografie auf Kieselgel unter Eluieren mit einem Gradienten von 0–50% EtOAc/DCM und daraufhin 0–50% MeOH (enthaltend 1% konzentrierten wässrigen Ammoniak)/DCM gereinigt, um die Verbindung in der Überschrift als Feststoff (76 mg, 82%) zu ergeben. ^1H NMR (DMSO-d₆) δ 3,58 (s, 3H), 7,00 (m, 1H), 7,20 (m, 5H), 7,58 (s, br 2H), 7,68 (s, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,91 (s, 1H), 8,04 (m, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 9,00 (s, 1H); MS m/e MH⁺ 460.

[0102] Das Ausgangsmaterial wurde wie folgt hergestellt:

Zwischenprodukt 1

{(3-Iodophenyl)[4-methylphenyl)sulfonyl]methyl}formamid

[0103] Trimethylsilylchlorid (9,1 ml) wurde einer gerührten Lösung von 3-Iodobenzaldehyd (15,1 g) und Formamid (6,5 ml) in MeCN (34 ml) und Toluol (34 ml) unter einer inerten Atmosphäre hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde dann 5 Stunden lang bei 50°C erhitzt. Toluolsulfinsäure (15,3 g) wurde hinzugegeben und die Reaktionsmischung wurde weitere 5 Stunden lang bei 50°C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, Methyl-tert-butylether (55 ml) wurde hinzugegeben und 5 Minuten lang gerührt. Wasser (275 ml) wurde hinzugegeben, die Reaktionsmischung wurde auf 0°C abgekühlt und 1 Stunde lang gerührt. Der Feststoff wurde filtriert und der Reaktionskolben mit MTBE (2 × 35 ml) gewaschen und die Waschflüssigkeit über den Filterkuchen gegossen. Der Feststoff wurde in einem Vakuumofen 10 Stunden lang bei 60°C getrocknet, um die reine in der Überschrift angegebene Verbindung als Feststoff zu ergeben (14 g, 51%), der ohne weitere Reinigung verwendet wurde. Eine kleine Probe wurde aus EtOH auskristallisiert; ^1H NMR (DMSO-d₆) δ für das Haupt-(6:1)Rotamer δ ; 2,43 (s, 3H), 6,42 (d, 1H), 7,15–8,00 (m, 914), 9,73 (d, 1H). MS m/e MH⁺ 416,

Zwischenprodukt 2

(3-Iodophenyl)(isocyano)methyl-4-methylphenylsulfon

[0104] POCl₃ (3,05 ml) wurde einer gerührten Lösung von {(3-Iodophenyl)[4-Methylphenyl)sulfonyl]methyl}formamid (6,23 g) in trockenem THF (35 ml) bei 25°C hinzugegeben und 5 Minuten lang gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf 0°C abgekühlt und Et₃N (13,7 ml) wurde im Laufe von 45 Minuten tropfenweise hinzugegeben, wobei die Innentemperatur unter 10°C gehalten wurde. Die Reaktionsmischung wurde weitere 45 Minuten bei 5–10°C gerührt. EtOAc (140 ml) und Wasser (140 ml) wurden hinzugegeben und dann 5 Minuten lang gerührt. Die organische Phase wurde mit Wasser (2 × 140 ml), NaHCO₃ (gesättigt, wässrig, 140 ml) und daraufhin Sole (140 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde unter Vakuum konzentriert, um einen dunkelbraunen Gummi zu ergeben. Dieser wurde durch ein Kissen von Kieselgel hindurchgeführt, mit DCM gewaschen und unter Vakuum konzentriert, um einen dunkelbraunen Gummi (etwa 70% rein, 3,5 g, 58%) zu ergeben; ^1H NMR (CDCl₃) δ 2,42 (s, 3H), 5,45 (s, 1H), 7,00–7,75 (m, 8H); MS m/e (M-H)⁻ 396,

Zwischenprodukt 3

4-Methylthio)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-carbaldehyd

[0105] 4-(Methylthio)thieno[2,2-d]pyrimidin (J. Heterocycl. Chem. 1975, 12, 921–924) (1 g) in THF (5 ml) wurde einer vorher gebildeten Lösung von LDA [BuLi (1,6 M in Hexan, 3,8 ml) und Diisopropylamin (0,85 ml)] in THF (20 ml) bei –78°C hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 Stunde lang bei –78°C gerührt und dann wurde DMF (1,1 ml) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 30 Minuten lang bei –78°C gerührt, dann ließ man sie sich auf Umgebungstemperatur erwärmen und sie wurde weitere 3 Stunden lang gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser verdünnt und das Produkt mit EtOAc (4 × 30 ml) extrahiert. Die kombinierten organischen Extrakte wurden mit Sole (30 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄), filtriert und unter Vakuum konzentriert. Die Reinigung durch Flashchromatografie auf Kieselgel unter Eluieren mit DCM ergab die in der Überschrift angegebene Verbindung als weißen Feststoff (1,17 g, 51%); ^1H NMR (CDCl₃) δ 2,76 (s, 3H), 8,03 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 10,10 (s, 1H); MS m/e MH⁺ 211,

Zwischenprodukt 4

N-[4-(Methylthio)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-ylmethyliden]methanamin

[0106] 4-(Methylthio)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-carbaldehyd (13 g), Methylamin (33% in EtOH, 20,6 ml) und wasserfreies MgSO_4 (20 g) wurden 2 Tage lang bei Umgebungstemperatur unter einer inerten Atmosphäre in DCM (465 ml) gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert, dann unter Vakuum konzentriert, um die in der Überschrift angegebene Verbindung als braunen Feststoff (13,8 g, 100%) zu ergeben;

^1H NMR (DMSO-d₆) δ 2,70 (s, 3H), 3,45 (s, 3H), 7,82 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,89 (s, 1H).

Zwischenprodukt 5

6-[4-(3-Iodophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]-4-(methylthio)thieno[2,3-d]pyrimidin

[0107] N-[4-(Methylthio)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-ylmethyliden]methanamin (1,0 g), (3-Iodophenyl)(isocyanomethyl)-4-methylphenylsulfon (3,4 g, 70% rein) und Piperazin (0,77 g) in THF (80 ml) wurden unter einer inerten Atmosphäre 4 Tage lang gerührt. Die Reaktionsmischung wurde konzentriert, mit Wasser verdünnt und mit EtOAc extrahiert. Der Extrakt wurde mit gesättigtem wässrigem NaHCO_3 gewaschen, getrocknet (MgSO_4), filtriert und unter Vakuum konzentriert. Die Reinigung durch Chromatografie auf Kieselgel unter Eluieren mit einem Gradienten von 0–100% EtOAc/DCM und daraufhin 0–5% MeOH/DCM, gefolgt vom Kristallisieren aus EtOH, ergab das in der Überschrift angegebene Produkt als Feststoff (1,2 g, 57%);

^1H NMR (DMSO-d₆) δ 2,68 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 7,04 (t, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,94 (m, 2H), 8,89 (s, 1H);

MS m/e MH^+ 465,

Zwischenprodukt 6

6-[4-(3-Iodophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]-4-(methylsulfonyl)thieno[2,3-d]pyrimidin

[0108] m-CPBA (70–75%, 399 mg) wurde einer Lösung von 6-[4-(3-Iodophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]-4-(methylthio)thieno[2,3-d]pyrimidin (300 mg) in DCM (20 ml) hinzugegeben und 24 Stunden lang gerührt. Wässriges Natriummetabisulfit wurde hinzugegeben und die Mischung mit DON extrahiert. Die organische Phase wurde mit gesättigtem wässrigem NaHCO_3 gewaschen, getrocknet (MgSO_4), filtriert und unter Vakuum konzentriert, um die in der Überschrift angegebene Verbindung als gelben Feststoff (220 mg, 68%) zu ergeben;

^1H NMR (DMSO-d₆) δ 3,50 (s, 3H), 3,66 (s, 3H), 7,04 (t, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,59 (d, 1H), 8,00 (m, 3H), 9,34 (s, 1H);

MS m/e MH^+ 497.

Zwischenprodukt 7

6-(4-(3-Iodophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-amin

[0109] 6-[4-(3-Iodophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]-4-(methylsulfonyl)thieno[2,3-d]pyrimidin (200 mg) und konzentrierter wässriger Ammoniak (5 ml) wurden in 1,4 Dioxan (15 ml) 1,7 Stunden lang gerührt. Das Lösungsmittel wurde verdampft und der Rückstand durch Chromatografie auf Kieselgel unter Eluieren mit einem Gradienten von 0–50% EtOAc/DCM und daraufhin 0–20% MeOH/DCM gereinigt, um die in der Überschrift angegebene Verbindung als farblosen Feststoff (136 mg, 78%) zu ergeben;

^1H NMR (DMSO-d₆) δ 3,58 (s, 3H), 7,06 (t, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,56 (d, 1H), 7,65 (m, 3H), 7,95 (m, 2H), 8,32 (s, 1H).

MS m/e MH^+ 434.

Zwischenprodukt 8

6-(4-{3-[(Diphenylmethyl)amino]phenyl}-1-methyl-1H-imidazol-5-yl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-amin

[0110] 6-[4-(3-Iodophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]thieno[2,3-d]pyrimidin-4-amin (860 mg), Benzophenonimin (540 mg), 1,1'-Bis(diphenylphosphin)ferrocen (120 mg), Bis(benzylidenacetone)palladium (100 mg) und Natrium-tert-Gutoxid (960 mg) in Dioxan (40 ml) wurden entgast, dann unter einer inerten Atmosphäre bei 90°C erhitzt. Nach 17 Stunden wurde die Reaktionsmischung abgekühlt, mit Wasser (50 ml) verdünnt, mit EtOAc (2

× 30 ml) extrahiert, die organischen Extrakte wurden mit Sole gewaschen, getrocknet, filtriert und unter Vakuum konzentriert. Die Reinigung durch Flashchromatografie auf Kieselgel unter Eluieren mit DCM/MeOH (0–10%) ergab die in der Überschrift angegebene Verbindung (0,48 g, 50%);

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 3,32 (s, 3H), 5,75 (bs, 2H), 6,40–6,45 (m, 1H), 6,85–6,94 (m, 4H), 6,83–7,15 (m, 5H), 7,28–7,32 (m, 2H), 7,35–7,40 (m, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,57–7,62 (m, 2H), 8,40 (s, 1H);
MS m/e MH^+ 487.

Zwischenprodukt 9

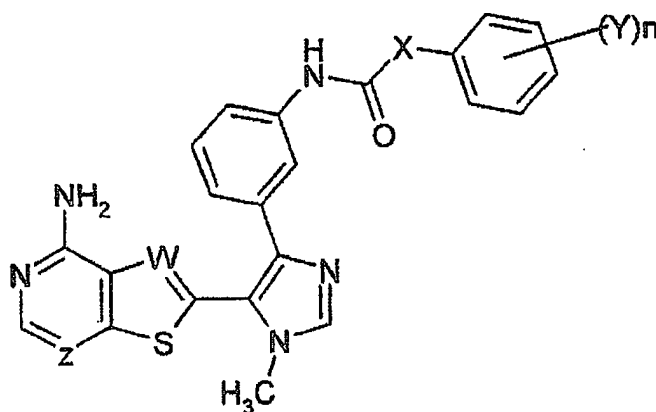
6-[4-(3-Aminophenyl)-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]thieno[2,3-d]pyrimidin-4-amin

[0111] 2 M HCl (0,75 ml) wurden einer Lösung von 6-[4-{3-[(Diphenylmethyl)amino]phenyl}-1-methyl-1H-imidazol-5-yl]thieno[2,3-d]pyrimidin-4-amin (0,45 g) in THF (15 ml) hinzugegeben, 10 min lang gerührt, dann zwischen Wasser und EtOAc verteilt. Die wässrige Schicht wurde abgetrennt, auf einen pH-Wert von 9 mit konzentriertem wässrigem Ammoniak basisch eingestellt, mit DCM (3 × 30 ml) extrahiert, die kombinierten organischen Substanzen wurden getrocknet, filtriert und unter Vakuum konzentriert, um die in der Überschrift angegebene Verbindung als farblosen Feststoff (0,33 g, 100%) zu ergeben;

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 3,54 (s, 3H), 4,96 (bs, 2H), 6,36–6,39 (m, 1H), 6,55–6,57 (m, 1H), 6,83–6,88 (m, 2H), 7,56 (bs, 2H), 7,59 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 8,28 (s, 1H);
MS m/e MH^+ 323.

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel I:



Formel I

wobei:

Z unter N und CH ausgewählt ist;

W unter N und CH ausgewählt ist;

X unter NH und CH_2 ausgewählt ist;

Y unter F, Cl, Br und I ausgewählt ist; und

n 1, 2 oder 3 beträgt;

und Salze oder Solvate derselben.

2. Verbindung der Formel I nach Anspruch 1, wobei Z N ist, und Salze oder Solvate derselben.

3. Verbindung der Formel I nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei Y unter F und/oder Cl ausgewählt ist, und Salze oder Solvate derselben.

4. Verbindung der Formel I nach Anspruch 1, ausgewählt unter einem oder mehreren der Folgenden:

- N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'(3-fluorphenyl)harnstoff;
- N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'(2-fluorphenyl)harnstoff;
- N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'(3-chlorphenyl)harnstoff;
- N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'(2-chlorphenyl)harnstoff;
- N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(3-fluorphenyl)acetamid;
- N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(2-fluorphenyl)acetamid;
- N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(3-chlorphenyl)acetamid;

N-{3-[5-(4-Aminothieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2'-(2-chlorophenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'-(3-fluorophenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'-(2-fluorophenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'-(3-chlorophenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-N'-(2-chlorophenyl)harnstoff;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(3-fluorophenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(2-fluorophenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(3-chlorophenyl)acetamid;
 N-{3-[5-(4-Aminothiazol[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-1-methyl-1H-imidazol-4-yl]phenyl}-2-(2-chlorophenyl)acetamid;
 und Salzen oder Solvaten derselben.

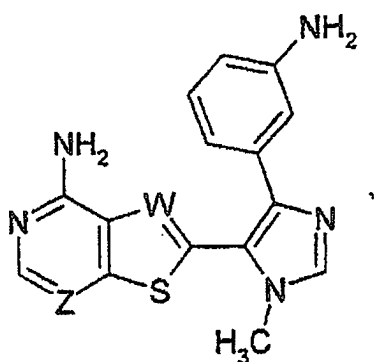
5. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben, wie in einem der Ansprüche 1 bis 4 definiert, in Verbindung mit einem pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmittel oder Träger.

6. Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz derselben, wie in einem der Ansprüche 1 bis 4 definiert, zur Verwendung als Medikament.

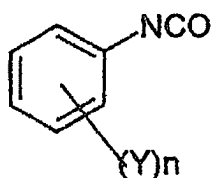
7. Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie in einem der Ansprüche 1 bis 4 definiert, bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung als Tie2-Rezeptortyrosinkinaseinhibitor in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen.

8. Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes derselben, wie in einem der Ansprüche 1 bis 4 definiert, bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Erzeugung einer antiangiogenetischen Wirkung in einem warmblütigen Tier, wie dem Menschen.

9. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder eines Salzes oder Solvats derselben, wobei X NH ist und Z, W, Y und n die in Formel I angegebene Definition aufweisen, wobei das Verfahren das Reagieren eines Amins der Formel II mit einem Isocyanat der Formel III und daraufhin nötigenfalls:



Formel II



Formel III

- i) das Umwandeln einer Verbindung der Formel (I) in eine andere Verbindung der Formel (I);
- ii) das Bilden eines Salzes oder Solvats umfasst.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen