PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:
2003 - 828

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.[7]:
C 07 D 495/04
C 07 D 239/78
A 61 K 31/519
A 61 P 5/24

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **17.09.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **22.09.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/00203287**

(33) Země priority: **EP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.08.2003**
(Věstník č. 8/2003)

(86) PCT číslo: **PCT/EP01/10743**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO02/024703**

(71) Přihlašovatel:
AKZO NOBEL N. V., Arnhem, NL;

(72) Původce:
Timmers Cornelis Marius, Berghem, NL;
Karstens Willem Frederik Johan, Oss, NL;

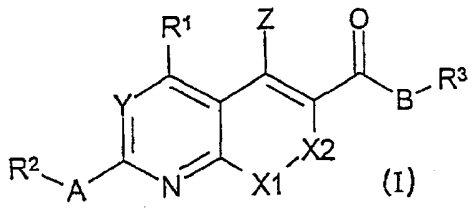
(74) Zástupce:
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Bicyklické heteroaromatické sloučeniny

(57) Anotace:

Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I, v němž jednotlivé obecné symboly mají význam, uvedený u vzorce I, jsou látky, které jsou analogy hormonů s nízkou molekulovou hmotností a selektivně aktivují některé receptory gonadotropinů. Z tohoto důvodu je možno je použít pro výrobu farmaceutického prostředku, který rovněž tvoří součást řešení a je určen zejména pro antikoncepční účely.



(I)

CZ 2003 - 828 A3

28.05.03
2003-828

Bicyklické heteroaromatické sloučeniny

Oblast techniky

Vynález se týká bicyklických heteroaromatických sloučenin, které mají agonistickou nebo antagonistickou účinnost vzhledem ke glykoproteinovému hormonu, zvláště k hormonům s účinností luteinizačního hormonu LH. Součást vynálezu tvoří také farmaceutický prostředek, který uvedené látky obsahuje a použití uvedených látek pro výrobu těchto farmaceutických prostředků.

Dosavadní stav techniky

Gonadotropiny mají důležité funkce v organismu včetně metabolických funkcí, řízení tělesné teploty a reprodukce. Hypofyzální gonadotropin FSH hraje například klíčovou úlohu při stimulaci vývoje a zrání folikulů, kdežto LH vyvolává ovulaci podle publikací Sharp, R. M. Clin Endocrinol. 33, 787-807, 1990, Dorrington a Armstrong, Recent Prog. Horm. Res. 35, 301-342, 1979. V současné době se LH podává v kombinaci s FSH například při stimulaci vaječníků, zejména při hyperstimulaci vaječníků při oplodnění in vitro, IVF a při indukci ovulace u neplodných žen bez ovulace podle publikací Insler, V., Int. J. Fertility 33, 85-97, 1988, Navot a Rosenwaks, J. Vitro Fert. Embryo Transfer 5, 3-13, 1988, uvedená kombinace hormonů se podává také u mužské neplodnosti nebo mužského hypogonadismu.

Gonadotropiny působí na specifické typy buněk pohlavních orgánů tak, aby došlo k diferenciaci buněk ve vaječnících a ve varlatech a k produkci steroidů v těchto buňkách. Působení těchto hormonů z hypofýzy a placenty je

28.05.03

zprostředkováno přes specifické receptory na membránách, jde o velkou skupinu receptorů, souvisejících s G-proteiny. Tyto receptory jsou tvořeny jediným polypeptidem se sedmi transmembránovými oblastmi, receptory jsou schopné interakce s proteinem Gs, čímž dochází k aktivaci adenylcyklázy.

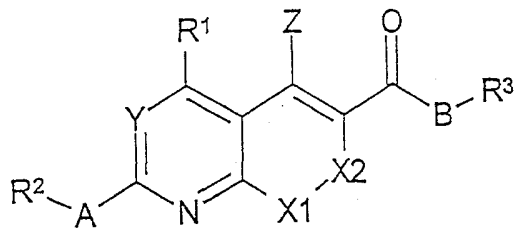
Gonadotropiny, určené pro léčebné účely je možno izolovat z lidské moči s nízkou čistotou podle publikací Morse a další, Amer. J. Reproduct. Immunol. a Microbiology, 17, 143, 1988. Mimoto je možno připravit také rekombinantní gonadotropiny.

Stejně jako u jiných bílkovin pro léčebné účely je gonadotropiny nutno podávat podkožně nebo nitrosvalově. Bylo by však výhodné aktivovat příslušné receptory malými molekulami, které by bylo možno podávat například perorálně nebo transdermálně.

Vynález si klade za úkol nalézt analogy hormonů s nízkou molekulovou hmotností, jimiž by bylo možno dosáhnout selektivní aktivace gonadotropinových receptorů.

Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I



(I)

28.05.03

kde

R^1 znamená C3-C8cykloalkyl, C2-C7heterocykloalkyl, C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl, s výhodou jde o C6-C14aryl nebo C4-C13 heteroaryl,

R^2 znamená C1-C4alkyl, C2-C4alkenyl, C2-C4alkinyl, C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl,

R^3 znamená C1-C8alkyl, C3-C8cykloalkyl, C2-C7heterocykloalkyl, C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl,

Y znamená CH nebo N,

Z znamená NH_2 nebo OH,

A znamená S, N(H), $N(R^4)$, O nebo chemickou vazbu,

R^4 se volí ze skupin, uvedených pro R^2,

B znamená N(H), O nebo chemickou vazbu,

jakož i farmaceuticky přijatelné soli těchto látek.

Kruhový systém ve významu R^1 je popřípadě substituován jedním nebo větším počtem substituentů, které se volí ze skupiny R^5, NHR^5, $N(R^4)R^5$, OR^5 a/nebo SR^5, kde R^5 znamená C6-C14aryl, C4-C13heteroaryl, C6-C14arylkarbonyl, C2-C7heterocykloalkyl, C3-C8cykloalkyl, C6-C14arylsulfonyl, C6-C14arylaminokarbonyl, C6-C14aryloxykarbonyl, C6-C14arylaminosulfonyl, C6-C14aryloxysulfonyl, C2-C8alkenyl, C2-C8alkinyl, C2-C7heterocykloalkylkarbonyl, C2-C8alkenylsulfonyl, C2-C8alkenoxykarbonyl, C1-C8alkyl, C1-C8alkylkarbonyl, C1-C8alkylsulfonyl, C1-C8dialkylaminokarbonyl, C1-C8alkoxykarbonyl, C1-C8dialkylaminosulfonyl nebo C1-C8alkoxysulfonyl, přičemž alkylová skupina těchto zbytků je popřípadě substituována jedním nebo větším počtem substituentů, které se volí ze skupiny hydroxyskupina, C1-C8alkoxyskupina, C2-C7heterocykloalkylC1-C8alkoxyskupina, C3-C8cykloalkylC1--C8alkoxyskupina, C6-C14arylC1-C8alkoxyskupina,

C4-C13heteroarylC1-C8alkoxyskupina, C2-C7heterocykloalkyl, C3-C8cykloalkyl, C6-C14aryl, C4-C13heteroaryl, C1-C8alkoxykarbonyl, C6-C14aryloxykarbonyl, C1-C8alkylkarbonyloxyskupina, C6-C14arylkarbonyloxyskupina, C1-C8alkylkarbonyl, C6-C14arylkarbonyl, aminoskupina, C1-C8alkylaminokarbonyl, C6-C14arylaminokarbonyl, C1-C8alkylkarbonylaminoskupina, C6-C14arylkarbonylaminoskupina, C6-C14diarylaminoskupina, diC1-C3alkoxyC1-C3alkylamino- a/nebo -C1-C8dialkylaminoskupina. S výhodou se substituenty na skupině R^1 volí ze skupiny NHR^5 nebo OR^5. R^5 s výhodou znamená C2-C7heterocykloalkylkarbonyl, C6-C14arylkarbonyl nebo C1-C8alkyl, C1-C8alkylkarbonyl nebo C1-C8dialkylaminokarbonyl, přičemž alkylová skupina těchto zbytků je popřípadě substituována substituenty ze skupiny C2-C7heterocykloalkyl, C4-C14heteroaryl, C1-C8alkoxykarbonyl, C1-C8alkylaminokarbonyl, C1-C8alkylkarbonylaminoskupina, C6-C14arylkarbonylaminoskupina, aminoskupina a/nebo C1-C8dialkylaminoskupina. Nejvýhodnějšími substituenty na alkylové skupině jsou C2-C7heterocykloalkyl, C1-C8dialkylaminoskupina, aminoskupina a C1-C8dialkylaminokarbonyl. Nejvýhodnější skupinou ve významu R^1 je fenyl, popřípadě substituovaný jedním ze svrchu uvedených substituentů v poloze meta.

Ve sloučeninách podle vynálezu znamená X1-X2 skupiny C=C, C(O)-NH, NH-C(O), C(O)-O, O-C(O), C=N nebo N=C. V případě, že R^5 znamená C1-C8alkylsulfonyl, C6-C14arylsulfonyl, C1-C8dialkylaminokarbonyl, C6-C14arylaminokarbonyl, C1-C8alkoxykarbonyl, C6-C14aryloxykarbonyl, C1-C8dialkylaminosulfonyl, C6-C14arylaminosulfonyl, C1-C8alkoxysulfonyl,

28.05.03

C2-C7heterocykloalkylkarbonyl, C2-C8alkenylsulfonyl, C2-C8alkenoxykarbonyl nebo C6-C14aryloxysulfonyl, pak může X1-X2 mimoto znamenat S nebo O.

Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I, v němž B znamená N(H) nebo chemickou vazbu a/nebo Z znamená NH_2. Z těchto výhodných sloučenin jsou zvláště výhodné ty látky, v nichž B znamená N(H) nebo chemickou vazbu a Z znamená NH_2. Zvláště výhodné jsou ty látky, v nichž kromě svrchu uvedených významů pro B a Z znamená R^1 buď C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl, přičemž tyto skupiny jsou popřípadě substituovány jedním nebo větším počtem substituentů ze skupiny $N(R^4)R^5$, NHR^5, R^5, OR^5 a/nebo SR^5, s výhodou jde o skupiny NHR^5 nebo OR^5.

Výhodným významem pro Y ve všech uvedenýchs sloučeninách je N, výhodným významem pro B je N(H) nebo chemická vazba. V případě, že B znamená chemickou vazbu, znamená R^3 s výhodou C2-C7heterocykloalkyl.

Mimoto ve všech svrchu uvedených sloučeninách X1-X2 s výhodou znamená C=C, C=N nebo N=C, nejvýhodnějším významem je C=C. V případě, že R^5 znamená C1-C8alkylsulfonyl C6-C14arylsulfonyl, C1-C8dialkylaminokarbonyl, C6-C14arylaminokarbonyl, C1-C8alkoxykarbonyl, C6-C14aryloxykarbonyl, C1-C8dialkylaminosulfonyl, C6-C14arylaminosulfonyl, C1-C8alkoxysulfonyl, C2-C7heterocykloalkylkarbonyl, C2-C8alkenylsulfonyl, C2-C8alkenoxykarbonyl nebo C6-C14aryloxysulfonyl, pak může X1-X2 mimoto s výhodou znamenat S.

28.05.03

Nejvýhodnějšími sloučeninami podle vynálezu jsou terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-((N,N-diethylamino)-karbonyloxy)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(methoxykarbonyl-amino)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(alyloxykarbonyl-amino)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(ethoxykarbonylamino)--fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-((morfolin-4-yl)--karbonylamino)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(1,2,3,6--tetrahydropyridinokarbonylamino)-fenyl)thieno-[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-((N,N-dimethylamino)-karbonylamino)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid.

Vynález nezahrnuje následující látky: ethyl-5-hydroxy-2-methyl-4-(piperidin-1-yl)pyrido[2,3-d]--pyrimidin-6-karboxylát, ethyl-5-hydroxy-2-methyl-4-(morfolin-4-yl)pyrido[2,3-d]--pyrimidin-6-karboxylát a ethyl-5-hydroxy-2-methyl-4-(pyrrolidin-1-yl)pyrido[2,3-d]--pyrimidin-6-karboxylát.

Tyto látky byly vyloučeny vzhledem k obsahu publikace Chem. Pharm. Bull. 18(7), 1385-1393, 1970.

C1-C8alkyl v obecném vzorci I znamená alkyl s přímým nebo rozvětveným řetězcem, obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, například methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, sek.butyl, terc.butyl, hexyl a oktyl. Výhodné jsou C1-C6alkylové skupiny a zvláště C1-C3alkylové skupiny.

28.05.03

C2-C8alkenyl znamená alkenylové skupiny s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 2 až 8 atomech uhlíku, jako ethenyl, 2-butenyl a podobně. Výhodné jsou C1-C6alkenylové skupiny a zvláště C1-C3alkenylové skupiny.

C2-C8alkinylové skupiny znamenají alkinylové skupiny s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 2 až 8 atomech uhlíku, jako ethinyl, a propinyl. Nejvýhodnější jsou C2-C4alkinylové skupiny.

C6-C14aryl znamená aromatickou uhlovodíkovou skupinu, obsahující 6 až 14 uhlíkových atomů, jako fenyl, naftyl, tetrahydronaftyl, indenyl, anthracyl, tyto skupiny jsou popřípadě substituovány jedním nebo větším počtem substituentů, jako jsou například hydroxyskupina, atom halogenu, nitroskupina, trifluormethyl, kyanoskupina, C1-C8alkylkarbonylaminoskupina, C1-C8alkylaminokarbonyl nebo C1-C8dialkylaminoskupina, kde alkylové skupiny mají svrchu uvedený význam. Výhodné jsou zvláště C6-C10arylové skupiny, nejvýhodnější je fenyl.

C3-C8cykloalkyl znamená cykloalkylovou skupinu o 3 až 8 atomech uhlíku, to znamená cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl, cykloheptyl nebo cyklooktyl.

C2-C7heterocykloalkyl znamená heterocykloalkyl, obsahující 2 až 7 atomů uhlíku, s výhodou 2 až 5 atomů uhlíku a alespoň jeden heteroatom ze skupiny N, O nebo S. Výhodnými heteroatomy jsou N nebo O. Heterocykloalkylové skupiny s obsahem dusíku mohou být vázány atomem uhlíku nebo atomem dusíku. Nejvýhodnějšími skupinami jsou piperidinyl, morfolinyl a pyrrolidinyl.

28.05.03

C2-C7heterocykloalkylkarbonyl znamená skupiny, obsahující 2 až 7 atomů uhlíku, tak jak bylo uvedeno svrchu, jde o skupiny, vázané karbonylovou skupinou.

C1-C8alkoxyskupina je alkoxyskupina, obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, výhodné jsou zejména C1-C6alkoxyskupiny a zvláště C1-C3alkoxyskupiny.

C1-C8alkoxykarbonyl znamená alkoxykarbonylovou skupinu, v níž alkylová skupina obsahuje 1 až 8 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou zejména C1-C6alkoxykarbonylové skupiny a zvláště C1-C3alkoxykarbonylové skupiny.

C2-C8alkenoxykarbonyl znamená skupinu, v níž alkenylová část obsahuje 2 až 8 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C2-C6alkenoxykarbonylové skupiny a zvláště C2-C3alkenoxykarbonylové skupiny.

C1-C8alkoxysulfonyl znamená alkoxysulfonylovou skupinu, obsahující 1 až 8 atomů uhlíku v alkylové části ve svrchu uvedeném významu. Výhodné jsou C1-C6alkoxysulfonylové skupiny a zvláště C1-C3alkoxysulfonylové skupiny.

C1-C8dialkylaminoskupina znamená dialkylaminoskupinu, obsahující 1 až 8 atomů uhlíku v alkylových částech ve svrchu uvedeném významu. Výhodné jsou zvláště C1-C6dialkylaminoskupiny.

28.05.03

DiC1-C3alkoxyC1-C3alkylaminoskupiny znamenají skupiny, v nichž alkylová skupina i alkoxyskupina obsahují 1 až 3 atomy uhlíku.

C6-C14diarylaminoskupina znamená skupiny znamená skupiny obsahující 6 až 14 atomů uhlíku, přičemž arylová skupina má svrchu uvedený význam. Výhodnější jsou C6-C10diarylaminoskupiny. Nejvýhodnější skupinou je difenylaminoskupina.

C1-C8alkylthioskupina znamená skupinu, obsahující 1 až 8 atomů uhlíku v alkylové skupině ve svrchu uvedeném významu. Výhodné jsou zejména C1-C4alkylthioskupiny.

C6-C14aryloxykarbonyl znamená skupinu, v níž arylová část obsahuje 6 až 14 atomů uhlíku, s výhodou 6 až 10 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Nejvýhodnější je fenoxykarbonylová skupina.

C6-C14aryloxysulfonylznamená skupinu, v níž arylová skupina obsahuje 6 až 14 atomů uhlíku, s výhodou 6 až 10 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Nejvýhodnější je fenoxysulfonylová skupina.

C6-C14arylC1-C8alkyl znamená arylalkylovou skupinu, obsahující celkem 7 až 22 atomů uhlíku, přičemž alkylovou skupinou je C1-C8alkylová skupina a arylovou skupinou je C6-C14arylová skupina v svrchu uvedeném významu. Výhodné jsou C6-C10arylC1-C4alkylové skupiny. Nejvýhodnější jsou fenylC1-C4alkylové skupiny, například benzyl.

C4-C13heteroaryl znamená substituovanou nebo nesubstituovanou aromatickou skupinu, obsahující 4 až 13

28.05.03

atomů uhlíku, s výhodou 4 až 9 atomů uhlíku a alespoň 1 heteroatom ze skupin N, O a/nebo S, jako imidazolyl, thienyl, benzthienyl, chinolyl, tetrahydrochinolyl, isochinolyl, tetrahydroisochinolyl, indolyl, akridinolyl, furyl nebo pyridyl. Substituenty na heteroarylové skupině je možno volit ze substituentů, které byly uvedeny pro arylovou skupinu. Výhodnými skupinami tohoto typu jsou thienyl, furyl, pyridyl a pyrimidyl. Heteroarylové skupiny s obsahem dusíku mohou být vázány přes atom uhlíku nebo přes atom dusíku.

Atomem halogenu se v průběhu přihlášky rozumí atom fluoru, chloru, bromu nebo jodu.

C2-C7heterocykloalkylC1-C8alkoxyskupina znamená heterocykloalkylovou skupinu ve svrchu uvedeném významu, obsahující 2 až 7 atomů uhlíku a vázanou na C1-C8alkoxyskupinu ve svrchu uvedeném významu. Výhodné jsou zvláště C2-C5heterocykloalkylC1-C4alkoxyskupiny.

C3-C8cykloalkylC1-C8alkoxyskupina znamená cykloalkylovou skupinu ve svrchu uvedeném významu s obsahem 3 až 8 atomů uhlíku, vázanou na C1-C8alkoxyskupinu ve svrchu uvedeném významu. Výhodné jsou zvláště C3-C6cykloalkylC1-C4alkoxyskupiny.

C6-C14arylC1-C8alkoxyskupina znamená arylovou skupinu o 6 až 14 atomech uhlíku ve svrchu uvedeném významu, vázanou na C1-C8alkoxyskupinu ve svrchu uvedeném významu. Výhodné jsou C6-C10arylC1-C4alkoxyskupiny, nejvýhodnější jsou fenylC1-C4alkoxyskupiny.
C4-C13heteroarylC1-C8alkoxyskupiny jsou analogické svrchu uvedeným skupinám a obsahují v heteroarylovém kruhu alespoň

28.05.03

jeden heteroatom ze skupiny N, O a S. Výhodné jsou zvláště C4-C9heteroarylC1-C4alkoxyskupiny.

C1-C8alkylkarbonyl znamená skupinu, obsahující 1 až 8 atomů uhlíku ve svrchu uvedeném významu, výhodné jsou C1-C6alkylkarbonylové skupiny a zvláště C1-C4alkylkarbonylové skupiny.

C6-C14arylkarbonyl znamená arylkarbonylovou skupinu ve svrchu uvedeném významu, obsahující 6 až 14 atomů uhlíku. Výhodné jsou C6-C10arylkarbonylové skupiny, nejvýhodnější je fenylkarbonylová skupina.

C1-C8alkylsulfonyl znamená alkylsulfonylovou skupinu ve svrchu uvedeném významu, obsahující 1 až 8 atomů uhlíku. Výhodné jsou C1-C6alkylsulfonylové skupiny a zvláště C1-C4alkylsulfonylové skupiny.

C2-C8alkenylsulfonylové skupiny znamenají alkenylsulfonylové skupiny ve svrchu uvedeném významu, obsahující 2 až 8 atomů uhlíku. Výhodné jsou C2-C6alkenylsulfonylové skupiny a zvláště C2-C4alkenylsulfonylové skupiny.

C6-C14arylsulfonylové skupiny jsou arylsulfonylové skupiny, v nichž arylová skupina obsahuje 6 až 14 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C6-C10arylsulfonylové skupiny, nejvýhodnější je fenylsulfonyl.

C1-C8alkylkarbonyloxyskupina znamená alkylkarbonyloxyskupinu, v níž alkylová část obsahuje 1 až 8 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou

28.05.03

C1-C6alkylkarbonyloxyskupiny a zvláště C1-C4alkylkarbonyloxyskupiny.

C6-C14arylkarbonyloxyskupina je arylkarbonyloxyskupina, v níž arylová část obsahuje 6 až 14 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C6-C10arylkarbonyloxyskupiny, nejvýhodnější je fenylkarbonyloxyskupina.

C1-C8dialkylaminokarbonylová skupina je dialkylaminokarbonylová skupina, v níž alkylová skupina obsahuje 1 až 8 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C1-C6dialkylaminokarbonylové skupiny a zvláště C1-C4dialkylaminokarbonylové skupiny.

C6-C14diarylaminokarbonylová skupina je diarylaminokarbonylová skupina, v níž arylová skupina obsahuje 6 až 14 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C6-C10diarylaminokarbonylové skupiny a zvláště difenylaminokarbonylová skupina.

C1-C8dialkylaminosulfonylové skupiny jsou dialkylaminosulfonylové skupiny, v nichž alkylové skupiny obsahují 1 až 8 atomů uhlíku a mají svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C1-C6dialkylaminosulfonylové skupiny a zvláště C1-C4dialkylaminosulfonylové skupiny.

C6-C14diarylaminosulfonyl je diarylaminosulfonyl, v němž arylová část obsahuje 6 až 14 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C6-C10diarylaminosulfonylové skupiny a zvláště difenylaminosulfonylová skupina.

28.05.03

C1-C8alkylkarbonylaminoskupina je alkylkarbonylaminoskupina, jejíž alkylová část obsahuje 1 až 8 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C1-C6alkylkarbonylaminoskupiny a zvláště C1-C4alkylkarbonylaminoskupiny.

C6-C14arylkarbonylskupina znamená arylkarbonylaminoskupinu, jejíž arylová část obsahuje 6 až 14 atomů uhlíku a má svrchu uvedený význam. Výhodné jsou C6-C10arylkarbonylaminoskupiny a zvláště fenylkarbonylaminoskupina.

C2-C7heterocykloalkyloxyskupina znamená heterocykloalkylovou skupinu, obsahující 2 až 7 atomů uhlíku ve svrchu uvedeném významu, vázanou atomem kyslíku. Nejvýhodnější jsou C2-C5heterocykloalkyloxyskupiny.

C3-C8cykloalkyloxyskupina znamená cykloalkylovou skupinu, obsahující 3 až 8 atomů uhlíku ve svrchu uvedeném významu, vázanou atomem kyslíku.

C6-C14aryloxyskupina je arylová skupina, obsahující 6 až 14 atomů uhlíku ve svrchu uvedeném významu, vázaná atomem kyslíku. Výhodnější jsou C6-C10aryloxyskupiny a zvláště fenoxyskupina. C4-C14heteroaryloxyskupiny jsou analogické skupiny, které obsahují alespoň jeden heteroatom ze skupiny N, O a S v heteroarylovém kruhu. Zvláště výhodné jsou C4-C9heteroaryloxyskupiny.

Bylo prokázáno, že sloučeniny obecného vzorce I jsou schopné se vázat na receptor LH a mají agonistický účinek vzhledem k LH.

28.05.03

Součást podstaty vynálezu proto tvoří farmaceutický prostředek, který jako svou účinnou složku obsahuje bicyklickou heteroaromatickou sloučeninu obecného vzorce I nebo její sůl.

Sloučeniny podle vynálezu je tedy možno použít k léčebným účelům, zejména pro výrobu farmaceutických prostředků k antikoncepčním účelům. Zejména aktivují uvedené látky receptor LH.

Bicyklické heteroaromatické sloučeniny podle vynálezu mohou mít jeden nebo větší počet asymetrických uhlíkových atomů. Tyto látky se tedy mohou vyskytovat v chirálně čisté formě nebo ve formě směsi diastereomerů a/nebo enanciomerů. Postupy pro získány chirálně čistých látek jsou známé, jde například o krystalizační nebo chromatografické postupy.

K léčebným účelům je možno použít soli sloučenin obecného vzorce I s farmaceuticky přijatelným iontem, tvořícím sůl. Je možno použít například adiční soli s kyselinami, například pro přípravu nebo čištění farmaceuticky přijatelných sloučenin. Všechny soli, farmaceuticky přijatelné i nepřijatelné jsou tedy zahrnuty do rozsahu vynálezu.

Jak příklad adičních solí s kyselinami je možno uvést soli, odvozené od anorganických kyselin, například od kyseliny chlorovodíkové, fosforečné, sírové, s výhodou od kyseliny chlorovodíkové a také soli, odvozené od organických kyselin, například od kyseliny citronové, vinné, octové, mléčné, maleinové, malonové, fumarové, glykolové, jantarové a podobně.

28.05.03

Vhodným způsobem podání sloučenin obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí je nitrosvalové, podkožní, nitrožilní, intraperitoneální nebo perorální podání a také podání nosní sliznicí. Výhodným způsobem podání je perorální podání. Dávka účinné látky a způsob podávání účinné látky nebo farmaceutického prostředku s jejím obsahem bude záviset na předpokládaném dosaženém účinku, například léčení neplodnosti nebo antikoncepčním účinku a může se měnit podle použité sloučeniny, způsobu podání, věku a stavu subjektu, kterému je léčivo podáváno.

Obecně je možno uvést, že při parenterálním podání lze použít nižší dávky než u jiných způsobů podávání, které jsou závislejší na vstřebávání. Účinná dávka u člověka se obvykle pohybuje v rozmezí 0,0001 až 25 mg/kg tělesné hmotnosti. Požadovanou dávku je možno podat jako jedinou denní dávku nebo v rozdělené formě v dílčích dávkách, podávaných v příslušných intervalech v průběhu dne nebo u žen může jít o dávky, podávané v příslušných denních intervalech v průběhu menstruačního cyklu. Dávkování i způsob podávání se mohou lišit u ženy a u muže.

V případě aplikací in vitro nebo ex vivo, například v případě IVF se sloučeniny podle vynálezu používají v inkubačním prostředí v koncentraci přibližně 0,01 až 5 μg/ml.

Součást podstaty vynálezu tvoří také farmaceutické prostředky, které obsahují bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I spolu s farmaceuticky přijatelnými pomocnými látkami a popřípadě dalšími účinnými látkami. Tyto pomocné látky musí být „přijatelné" v tom

28.05.03

smyslu, že musí být kompatibilní s ostatními složkami prostředku a nesmí být škodlivé pro příjemce.

Farmaceutické prostředky zahrnují prostředky, vhodné pro perorální, rektální, nosní, místní podání včetně transdermálního podání, podání ústní sliznicí a podání pod jazyk, dále podání do pochvy nebo parenterální podání včetně podání podkožního, nitrosvalového, nitrožilního a nitrokožního. Farmaceutické prostředky je možno připravit známými postupy, například postupy, které jsou uvedeny v souhrnné publikaci Gennaro a další, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. vydání, Mack Publishing company, 1990, zvláště část 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture.

Uvedené postupy obvykle spočívají v tom, že se účinná látka smísí s pomocnými látkami. Jde obvykle o běžné pomocné látky jako jsou plniva, pojiva, ředidla, desintegrační látky, kluzné látky, barviva, látky pro úpravu chuti a smáčedla.

Farmaceutické prostředky, vhodné pro perorální podání mohou být zpracovány na jednotlivé dávky ve formě pilulek, tablet nebo kapslí, nebo může jít o prášky nebo granuláty, roztoky nebo suspenze. Účinná látka může být také zpracována na pastu. Může také jít o čípek nebo nálev, určený pro rektální podání.

Pro parenterální podání jsou vhodnou lékovou formou sterilní injekční vodné a nevodné roztoky nebo suspenze. Prostředky mohou být baleny po jednotlivých dávkách nebo po větším počtu dávek, může jít například o ampule nebo uzavřené lahvičky nebo mohou být tyto prostředky skladovány

28.05.03

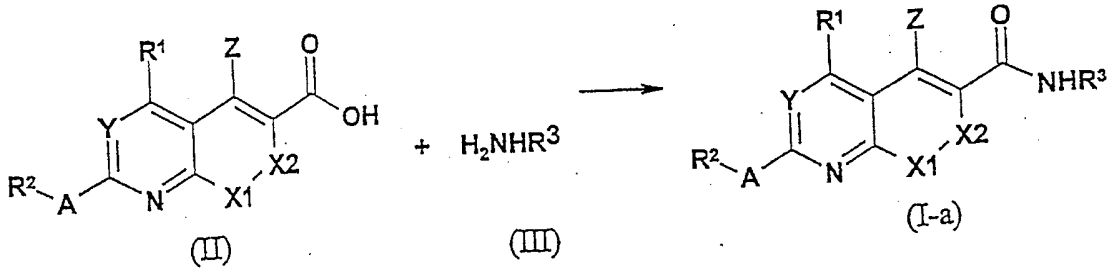
v lyofilizovaném stavu, takže je před použitím nutno přidat pouze sterilní kapelné prostředí, například vodu.

Prostředky, vhodné pro podání nosní sliznicí zahrnují jemné prášky nebo rozprášené roztoky, které je možno připravit pomocí odměrného ventilu z tlakových aerosolových nádobek nebo rozprašovačů.

Bicyklické heteroaromatické sloučeniny podle vynálezu je možno podávat také jako implantáty, které se skládají z jádra účinného materiálu, které je obklopeno membránou, řídící rychlost jeho uvolňování. Tyto implantáty je možno uložit například pod kůži tak, aby byl zajištěn přísun účinné látky přibližně stálou rychlostí v průběhu delšího časového období, například po dobu týdnů až let. Způsoby výroby těchto implantovatelných forem jsou rovněž známé a jsou popsány například v dokumentu EP 303306 (AKZO N.V.).

Je tedy zřejmé, že sloučeniny podle vynálezu je možno použít pro tytéž klinické účely jako nativní LH s tou výhodou, že tyto látky jsou stálejší a je možno je podávat výhodnějším způsobem.

Sloučeniny podle vynálezu, v nichž B znamená NH, je možno vyjádřit obecným vzorcem I-a a obecně je možno je připravit známou kondenzací kyseliny obecného vzorce II s aminem obecného vzorce III podle následujícího schématu

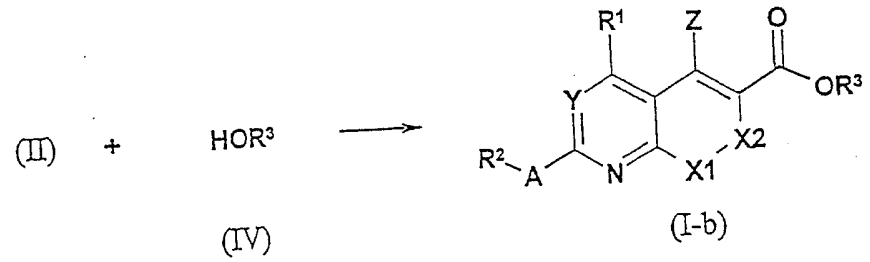


(II) (III) (I-a)

28.05.03

Reakce se provádí při teplotě místnosti ve vhodném rozpouštědle, například aprotickém rozpouštědle jako N,N-dimethylformamidu DMF nebo dichlormethanu při použití vazného reakčního činidla, jako je O-(benzotriazol-1-yl)--N,N,N',N'-tetramethyluroniumtetrafluorboritanu TBTU nebo bromtripyrrolidinofosfoniumhexafluorfosfátu PyBrOP a terciární amin jako baze, například N,N-diisopropylamin DiPEA.

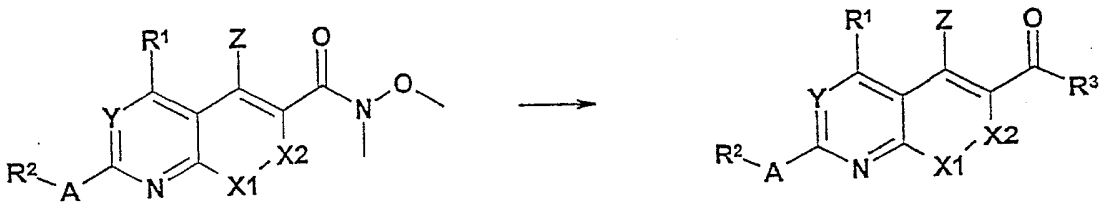
Sloučeniny obecného vzorce I, v nichž B znamená O je možno vyjádřit obecným vzorcem I-b a je možno je připravit obdobným způsobem jako sloučeniny obecného vzorce I-a tak, že se vychází z kyselin obecného vzorce II a alkoholů obecného vzorce IV podle schématu



Sloučeniny obecného vzorce I, v němž B znamená chemickou vazbu, je možno vyjádřit obecným vzorcem I-c a je možno je připravit reakcí příslušného organokovového reakčního činidla s deriváty obecného vzorce V v aprotickém rozpouštědle, například THF. Příbuzné substituční reakce je monžo nalézt v literatuře, například v publikaci S. V. Frye, M. C. Johnson, N. L. Valvano, J. Org. Chem. 56, 3750, 1991. Amidy obecného vzorce V je možno syntetizovat z kyselin obecného vzorce II a N-methoxy-N-methylaminu při

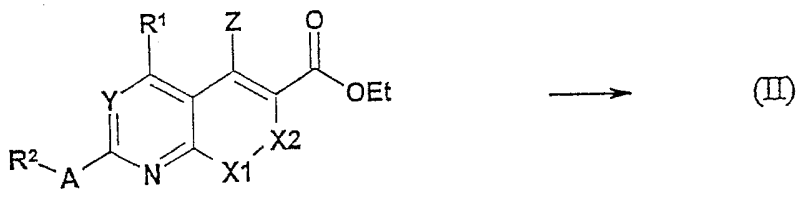
28.05.03

použití podmínek, popsaných pro přípravu amidů obecného vzorce I-a.



(V) (I-c)

Vhodným postupem pro přípravu meziproduktů obecného vzorce II je známé zmýdelnění ethylesterů obecného vzorce VI. Toto zmýdelnění je možno uskutečnit v přítomnosti baze, například hydroxidu lithného, draselného nebo sodného ve směsi vody a dioxanu při vyšší teplotě 40 °C až teplotě varu pod zpětným chladičem, pak se reakční směs zpracovává působením kyseliny.

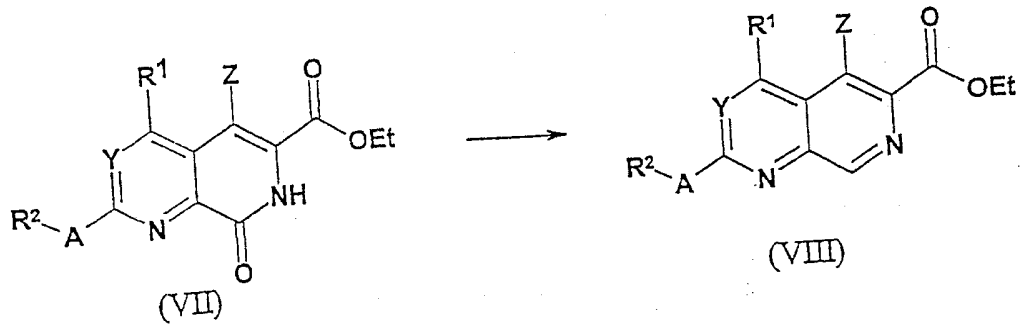


(VI)

Bicyklické laktamy obecného vzorce VII jsou vhodnými výchozími látkami pro přípravu odpovídajících iminů obecného vzorce VIII. Typicky probíhá reakce tak, že se laktam převede na odpovídají chlorimin při použití fosforylchloridu při zvýšené teplotě 60 °C až teplotě varu pod zpětným chladičem v příslušném rozpouštědle, například

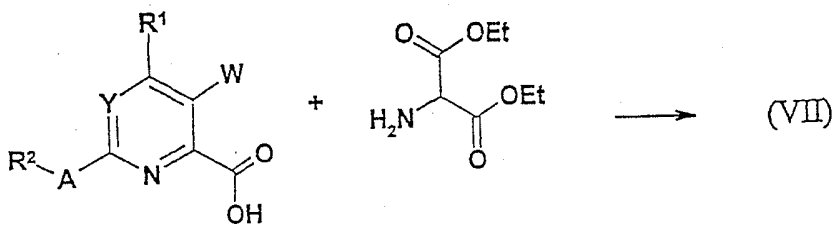
28.05.03

1,4-dioxanu. Po zpracování redukčním činidlem, například vodíkem v přítomnosti vhodného katalyzátoru v ethanolu je možno izolovat požadovaný imin obecného vzorce VIII. Příbuzné redukce jsou popsány v literatuře, například v publikaci E. Bisagni, C. Landras, S. Thirot a C. Huel, Tetrahedron 52, 10427, 1996.



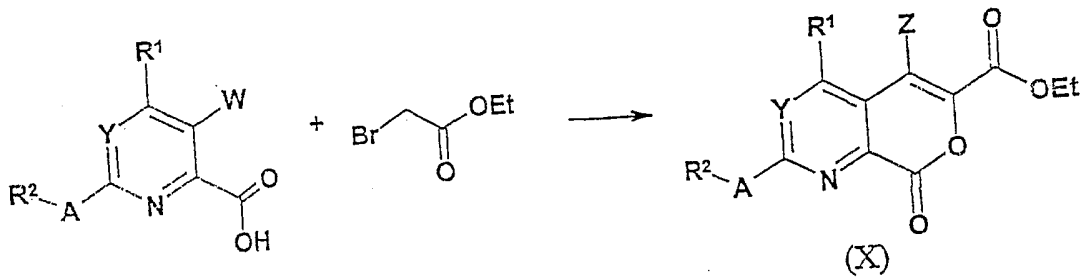
Bicyklické laktamy obecného vzorce VII je možno přípavit kondenzací kyselin obecného vzorce IX s diethylaminomalonátem při použití vazného činidla, například TBTU/DiPEA s následnou cyklizací amidů, které vzniknou jako meziprodukty, v ethanolu v alkalickém prostředí. Aromatizací se současnou deethoxykarbonylací je pak možno získat bicyklické látky obecného vzorce VII. Při alternativním postupu je možno místo diethylaminomalonátu použít glycinethylester. Postupy jsou popsány v literatuře, například v publikaci M. Blanco, M. G. Lorenzo, I. Perillo, C. B. Schapira, J. Heterocycl. Chem. 33, 361, 1996. Cyklizaci amidů, které jsou meziprodukty tohoto postupu je také možno uskutečnit působením chloridu číničitého. Použití chloridu číničitého k uzavření kruhu v příbuzných systémech je popsáno v publikaci A. C. Veronese, R. Callegari, C. F. Morelli, Tetrahedron 51, 12277, 1995.

28.05.03



(IX)

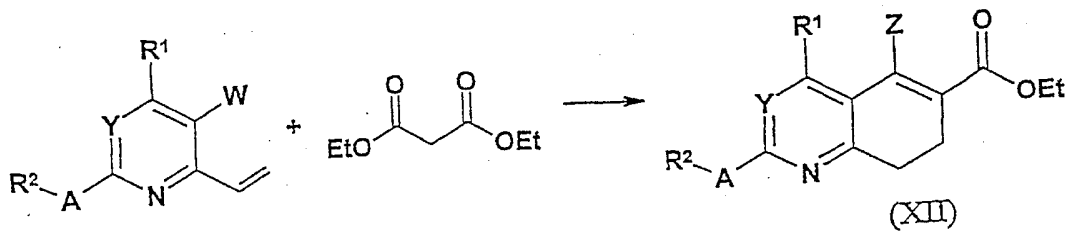
V případě, že se na kyselinu obecného vzorce IX působí ethylbromacetátem v aprotickém rozpouštědle v přítomnosti nenukleofilní baze, jako uhličitanu draselného nebo terc.butoxidu draselného, je možno připravit aromatický lakton obecného vzorce X. Příbuzné struktury byly popsány například v publikaci C. Bhakta, Indian J. Chem. Sect. B. 25, 189, 1986.



(IX) (X)

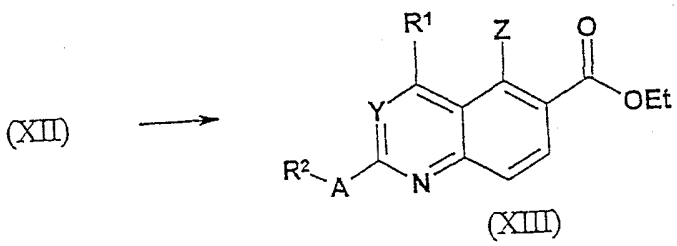
Vinylové deriváty obecného vzorce XI se zpracovávají působením diethylmalonátu v alkalickém prostředí za vzniku konjugátu. Tento adiční produkt je možno jako meziprodukt cyklizovat na bicyklické sloučeniny obecného vzorce XII působením chloridu cíničitého s následným zpracováním. Při této reakci je místo diethylmalonátu možno použít terc.butylethylmalonát.

28.05.03



(XI) (XII)

Působením vhodného oxidačního činidla, například DDQ nebo katalyzátoru na bazi paladia při vyšší teplotě v příslušném rozpouštědle, například xylenu dochází k aromatizaci derivátů obecného vzorce XII na chinazoliny nebo chinoliny obecného vzorce XIII. Podobná reakce je popsána v publikaci K. Kobayashi, T. Uneda, K. Takada, H. Tanaka, T. Kitamura, O. Morikawa, H. Konishi, J. Org. Chem. 62, 664, 1997.

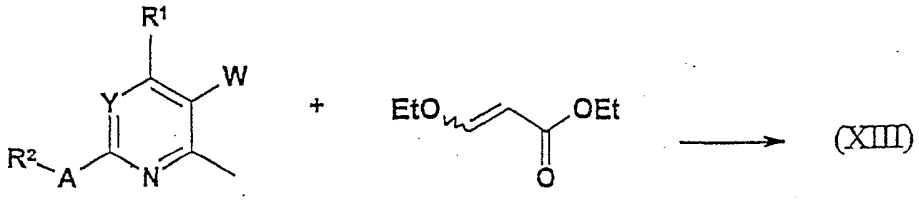


(XIII)

V průběhu jiné reakce se methylpyri(mi)diny obecného vzorce XIV podrobí deprotonaci na methylové skupině působením silné baze, například lithiumhexamethyldisilazanu LiHMDS nebo diisopropylamidu lithia LDA ve vhodném aprotickém rozpouštědle, například THF při nízké teplotě -78 °C. Anion se pak nechá reagovat s ethyl-3--ethoxyakrylátem. Po adici konjugátu dochází k cyklizaci na chinoliny nebo chinazoliny obecného vzorce XIII podle publikací K. Kobayashi, K. Takada, H. Tanaka, T. Uneda, T. Kitamura, Chem. Lett. 25, 1996, K. Kobayashi, T. Uneda, K.

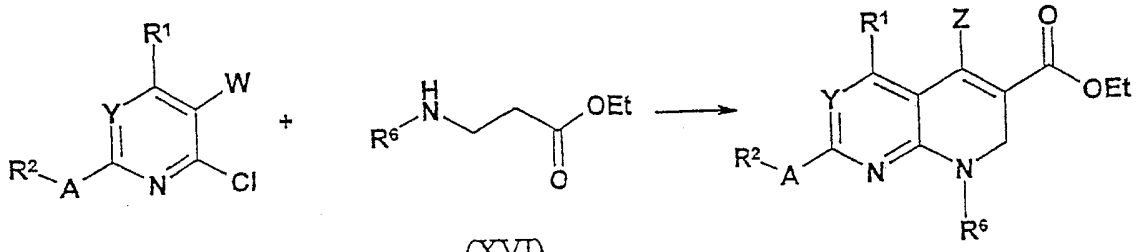
28.05.03

Takada, H. Tanaka, T. Kitamura, O. Morikawa, H. Konishi, J. Org. Chem. 62, 664, 1997.



(XIV) (XIII)

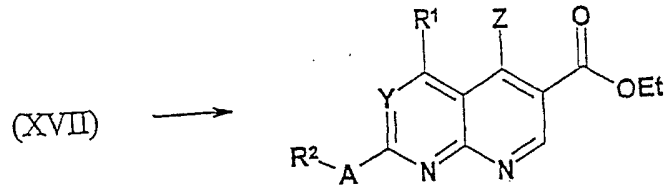
Výsledné chloridy obecného vzorce XV se zpracovávají působením N-alkyl-beta-alaninethylesteru vzorce XVI za alkalických podmínek, čímž vzniknou bicyklické sloučeniny obecného vzorce XVII. Podobné transformace jsou popsány v publikaci P. Y. Boamah, N. Haider, G. Heinisch, Arch. Pharm., Weinheim, 323, 207, 1990.



(XV) (XVI) (XVII)

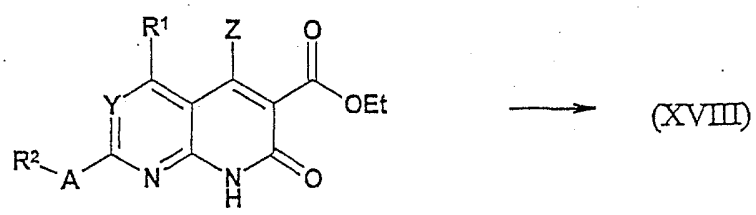
Sloučeniny obecného vzorce XVII, v nichž R^6 znamená atom vodíku, je možno oxidovat na deriváty obecného vzorce XVIII při použití paladia na aktivním uhlí při vyšší teplotě. Postup je popsán například v publikaci M. Onda, K. Kawakami, Chem. Pharm. Bull. 20, 1484, 1972. Sloučeniny obecného vzorce XVII, v němž R^6 znamená atom vodíku nebo alkyl, je možno převést na iminy obecného vzorce XVIII při použití DDQ podle publikací H.Ishii, Chem. Pharm. Bull. 26, 864, 1978, J. I. DeGraw, P. H. Christie, W. T. Colwell, F. M. Sirotnak, J. Med. Chem. 35: 320, 1992.

28.05.03



(XVIII)

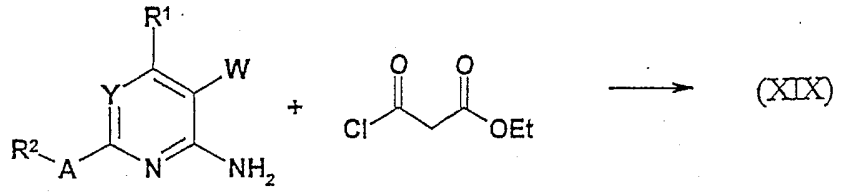
Iminy obecného vzorce XVIII je také možno připravit z odpovídajících laktamů obecného vzorce XIX podobným způsobem jako jejich regioisomerní analogy vzorce VIII, to znamená přeměnou na chlorimin při použití $POCl_3$ s následnou dehalogenací s použitím vodíku a příslušného katalyzátoru.



(XIX)

Laktam obecného vzorce XIX je možno připravit acylací aminopyri(mi)dinu obecného vzorce XX chlorethylmalonátem při použití vhodné baze. Následným uzavřením kruhu v acyklickém malonamidu, získaném jako meziprodukt působením baze, obvykle ethoxidu sodného v ethanolu nebo působením chloridu cíničitého se pak získá bicyklický laktam obecného vzorce XIX. Podobné transformace jsou popsány v literatuře, například v publikacích A. C. Veronese, R. Callegari, C. F. Morelli, Tetrahedron 51, 12277, 1995, W. Stadlbauer, S. Prattes, W. Fiala, J. Heterocycl. Chem. 35, 627, 1998.

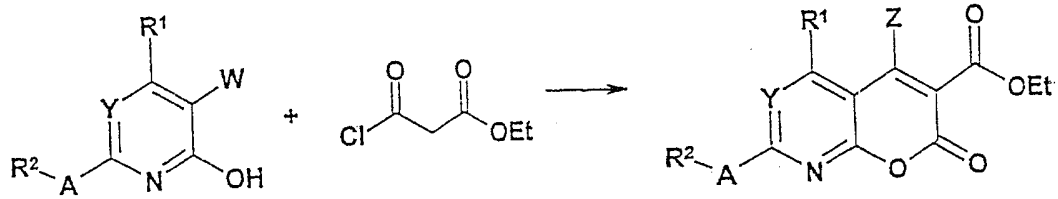
28.05.03



(XX) (XIX)

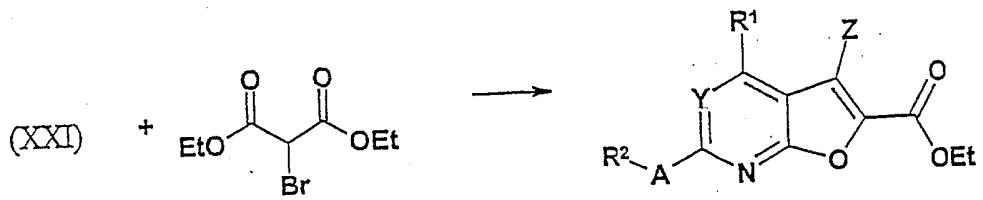
V závislosti na substituci aminopyri(mi)dinů obecného vzorce XX je možno připravit laktamy obecného vzorce XIX z diethylmalonátu působením chloridu číničitého s následnou cyklizací při vyšší teplotě ve vhodném rozpouštědle, například při teplotě 240 °C v difenyletheru.

Obdobným způsobem je možno připravit laktomy obecného vzorce XXII O-acylací laktamů obecného vzorce XXI působením chlorethylmalonátu s následnou cyklizací.



(XXI) (XXII)

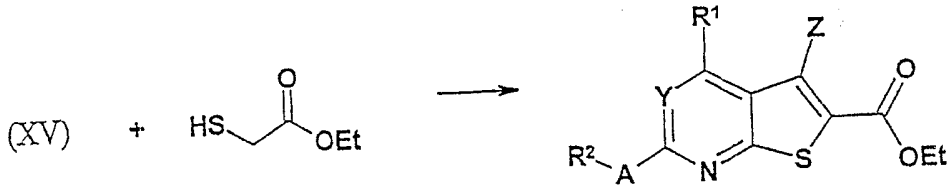
Furopyri(mi)diny obecného vzorce XXIII je monžo připravit selektivní O-alkylací laktamů obecného vzorce XXI při použití uhličitanu draselného v acetonu s následným uzavřením kruhu působením ethoxidu sodíku v ethanolu.



(XXI) (XXIII)

28.05.03

Thienopyri(mi)diny obecného vzorce XXIV je možno připravit tak, že se na chloridy vzorce XV působí ethylmarkaptoacetátem v přítomnosti silné baze. Při typickém průběhu pokusu se nechá reagovat jeden ekvivalent chloridu XV s 1,5 ekvivalenty ethylmerkaptoacetátu a 2 ekvivalenty terc.butoxidu draslíku v THF. Za těchto podmínek dojde ke spontánní cyklizaci acyklického sulfidu za vzniku thienopyri(mi)dinu obecného vzorce XXIV. V případě, že R^1 znamená (hetero)aryl, substituovaný skupinou, odnímající elektrony, například nitroskupinou, je možno uvedenou cyklizaci uskutečnit dvoustupňovým způsobem, který zahrnuje izolaci thioetheru, vznikající jako meziprodukt, s následným působením terciární baze, například DIPEA ve směsi toluenu a ethanolu při teplotě varu pod zpětným chladičem, čímž dojde ke tvorbě thiofenového kruhu.

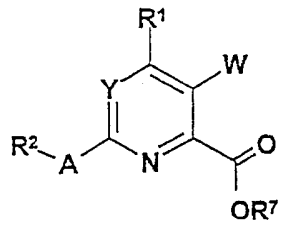


(XXIV)

Karboxyláty pyri(mi)dinu obecného vzorce IX je možno připravit zmýdelněním alkoxykarbonylpyri(mi)dinu obecného vzorce XXV při použití silné baze, například hydroxidu lithného nebo draselného ve směsi vody a pomocného organického rozpouštědla, například 1,4-dioxanu nebo methanolu při vyšší teplotě 40 °C až teplotě varu pod zpětným chladičem s následným zpracováním působení kyseliny. V případě, že W znamená CO_2-alkyl, znamená R^7 s výhodou benzyl, což umožní selektivní hydrogenolýzu

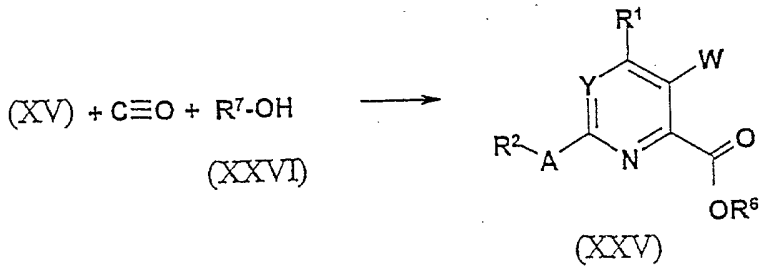
28.05.03

benzylesterové funkce, zatímco substituent ve významu W zůstane neovlivněn.



(XXV) → (IX)

Sloučeniny obecného vzorce XXV je možno připravit alkoxykarbonylací chloridů vzoce XV v přítomnosti katalyzátoru na bazi paladia, oxidu uhelnatého a příslušného alkoholu R^7OH vzorce XXVI. Podobná transformace je popsána v literatuře, například v publikaci Y. Bessard, R. Crettaz, Heterocycles 51, 2589, 1999.

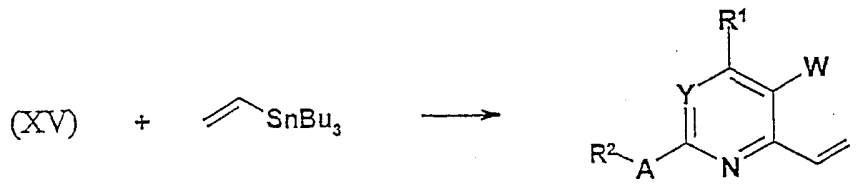


Reakce chloridů vzorce XV s vinyltributylcínanem nebo tetravinylcínanem, katalyzovaná paladiem dává vznik vinylpyri(mi)dinům obecného vzorce XI. Tento typ přeměny je důkladně popsán v literatuře, například v publikacích L. L. Gundersen, A. K. Bakkestuen, A. J. Aasen, H. Oeveras, F. Rise, Tetrahedron 50, 9743, 1994, F. Guillier, F. Nivoliers, A. Godard, F. Marsais, G. Queguiner, J. Heterocycl. Chem. 36, 1157, 1999.

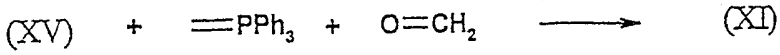
V závislosti na typu substituentů na chloridech obecného vzorce XV je možno připravit vinylpyri(mi)diny obecného vzorce XI také substitucí chloridu

28.05.03

methylentrifenylfosfanem s následnou reakcí s (para)formaldehydem.



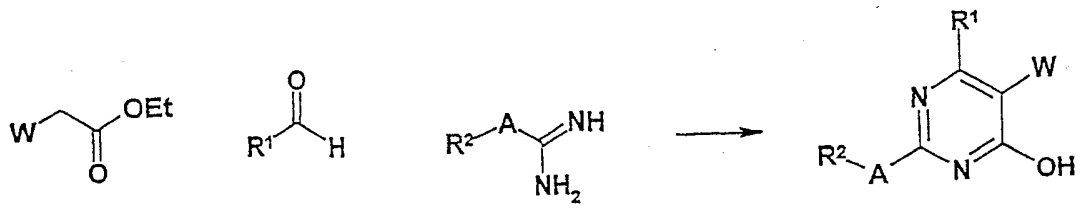
(XI)



Podobným způsobem je možno působením trimethylalanu na chloridy obecného vzorce XV v přítomnosti paladia jako katalyzátoru v aprotickém rozpouštědle, například THF získat methylpyri(mi)diny obecného vzorce XIV. Příbuzné postupy jsou popsány v publikaci Q. Lu, I. Mangalagiu, T. Benneche a K. Undheim, Acta Chem. Sc. 51, 302, 1997.

(XIV)

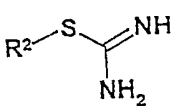
Sloučeniny obecného vzorce XXI, v nichž Y znamená atom dusíku a které je možno vyjádřit obecným vzorcem XXI-a je možno připravit několika postupy, popsanými v literatuře.



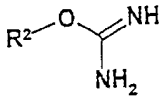
(XXVII) (XXVIII) (XXIX-a-e) (XXI-a)

28.05.03

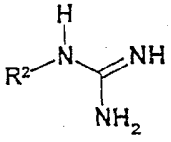
Například deriváty obecného vzorce XXI-a, v nichž R^1 znamená C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl je možno připravit kondenzací ethylesterů obecného vzorce XXVII, kde W má svrchu uvedený význam s aldehydy vzorce XXVIII a sloučeninami vzorce XXIX, může jít o isothiomočovinu vzorce XXIX-a, isomočovinu vzorce XXIX-b, monosubstituované guanidiny vzorce XXIX-c, disubstituované guanidiny vzorce XXIX-d nebo amidiny vzorce XXIX-e.



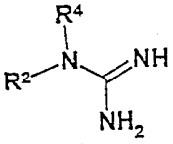
(XXIX-a)



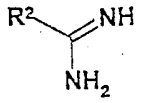
(XXIX-b)



(XXIX-c)



(XXIX-d)



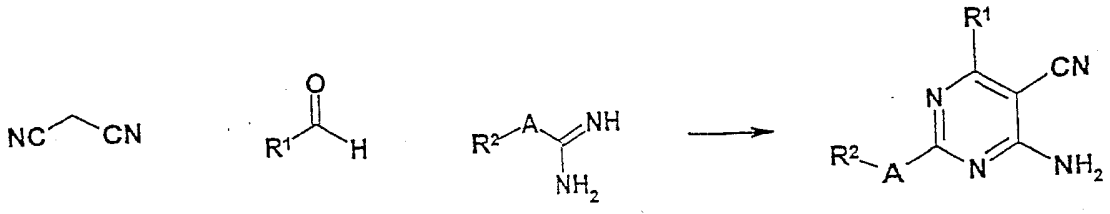
(XXIX-e)

Při typickém průběhu této reakce se postupuje tak, že se složky vzorce XXVII, XXVIII a XXIX-a až -e uvedou do suspenze v příslušném rozpouštědle, například ethanolu, methanolu, N,N-dimethylformamidu, N-methylpyrrolidinonu, tetrahydrofuranu nebo pyridinu v přítomnosti baze, například uhličitanu draselného, octanu sodného, methoxidu sodíku nebo ethoxidu sodíku. Reakce probíhá při zvýšené teplotě 70 °C až teplotě varu pod zpětným chladičem a je popsána například v publikacích S. Kambe, K. Saito a H. Kishi, Synthesis, 287, 1979, A. M. Abd-Elfattah, S. M. Hussain a A. M. El-Reedy, Tetrahedron 39, 3197, 1983, S. M. Hussain, A. A. El-Barbary a S. A. Mansour, J. Heterocycl. Chem. 22, 169, 1985. V případě, že W znamená C(O)OEt, dochází k aromatizaci po přidání oxidačního činidla, například DDQ nebo kyslíku. Obdobná cyklizace může proběhnout také na pevném nosiči, například na Merrifieldově pryskyřici při použití příslušného vazného řetězce, jak je například popsáno v publikacích A. L.

28.05.03

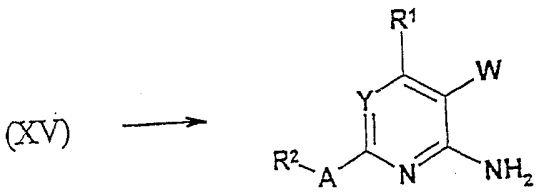
Mrzinzik a E. R. Felder, J. Org. Chem. 63, 723, 1998, T. Masquelin, D. Sprenger, R. Baer, F. Gerber a Y. Mercadal, Helv. Chim. Acta 81, 646, 1998.

Sloučeniny obecného vzorce 20, v němž Y znamená atom dusíku, je možno vyjádřit obecným vzorcem XX-a a je možno je připravit podobnou kondenzací při použití nitrilu kyseliny molonové.



(XXVIII) (XXIX-a-e) (XX-a)

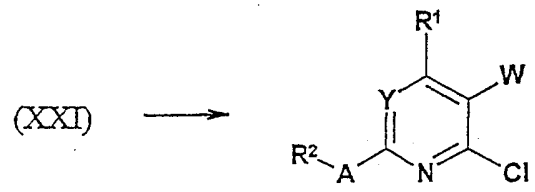
Sloučeniny obecného vzorce XX je také možno získat ammonolýzou chloridů obecného vzorce XV při použití vodného amoniaku a příslušného organického pomocného rozpouštědla, například 1,4-dioxanu. Tuto transformaci je také možno uskutečnit působením chloridu amonného a terciárního aminu jako baze, je například možno použít DiPEA v aprotickém rozpouštědle, jako DMF.



(XV) (XX)

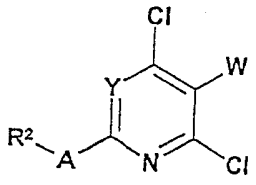
Chloridy obecného vzorce XV je možno syntetizovat známou reakcí laktamů obecného vzorce XXI s oxychloridem fosforitým v příslušném rozpouštědle, například 1,4-dioxanu při vyšší teplotě 60 °C až teplotě varu pod zpětným chladičem.

28.05.03



(XV)

Deriváty obecného vzorce XV, v němž Y znamená atom dusíku a R^1 má význam, odlišný od C6-C14arylové skupiny nebo C4-C13heteroarylové skupiny je možno připravit monosubstitucí chloru v derivátech obecného vzorce XXX různými nukleofily. Příbuzné substituční reakce je možno nalézt například v publikacích S. Kohra, Y. Tominaga a A. Hosomi, J. Heterocycl. Chem. 25, 959, 1988, A. A. Santili, D. H. Kim a S. V. Wanser, J. Heterocycl. Chem. 8, 445, 1971, J. Clark, M. S. Shannet, D. Korakas a G. Varvounis, J. Heterocycl. Chem. 30, 1065, 1993, S. Tumkevicius, Liebigs Ann. Org. Bioorg. Chem. 9, 1703, 1995.

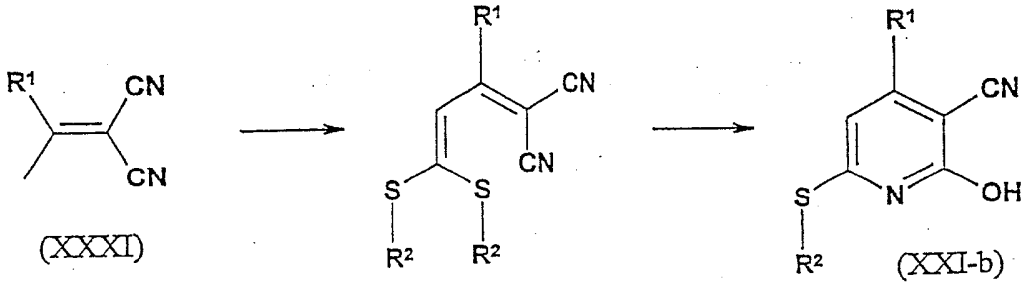


(XXX)

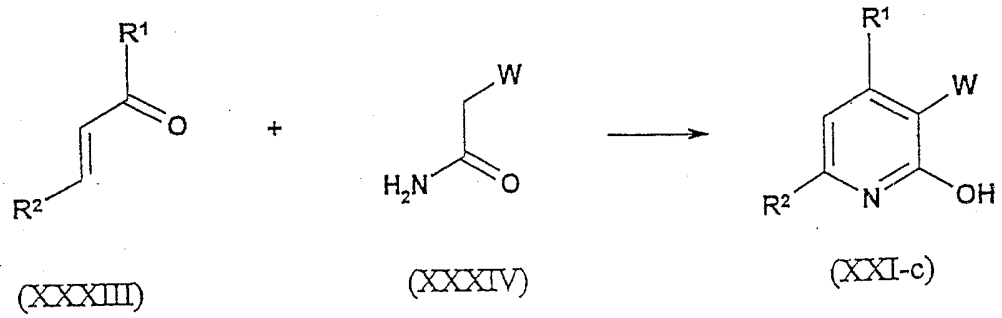
Pyridiny obecného vzorce XXI, v nichž Y znamená CH, A znamená atom síry a W znamená kyanoskupinu, je možno vyjádřit obecným vzorcem XXI-b a je možno je připravit postupnou alkylací α,β-nenasycených dinitrilů obecného vzorce XXXI působením sulfidu uhličitého a alkyljodidu vzorce R^2-I, čímž se získají sloučeniny obecného vzorce XXXII, popsané v publikaci P. Milart, Tetrahedron 54, 15643-15656, 1998. Cyklizací sloučenin obecného vzorce

28.05.03

XXXII v kyselém prostředí způsobem podle publikace K. Peseke, Z. Chem. 29, 442-443 (1989) se připraví pyridiny obecného vzorce XXI-b.



Sloučeniny obecného vzorce XXI, v nichž A znamená chemickou vazbu, Y znamená CH a W má svrchu uvedený význam, je možno vyjádřit obecným vzorcem XXI-c a je možno je připravit reakcí α,β-nenasycených ketonů obecného vzorce XXXIII působením amidů obecného vzorce XXXIV, v nichž W má svrchu uvedený význam při použití silné baze, například terc.butoxidu draslíku v přítomnosti kyslíku ve vhodném rozpouštědle, například dimethylsulfoxidu. Příbuzné cyklizace byly popsány v publikaci R. Jain, F. Roschangar, M. A. Ciufolini, Tetrahedron Lett. 36, 3307, 1995.



Způsoby stanovení vazby na receptory in vitro i in vivo ke stanovení biologické účinnosti gonadotropinu jsou známé. Obecně se uvede do styku se zkoumanou látkou exprimovaný receptor a měří se vazba, stimulace nebo inhibice funkční odpovědi.

28.05.03

Aby bylo možno měřit funkční odpověď, musí dojít u buněk vhodného hostitele k expresi izolované DNA, která je kódem pro gen pro receptor LH, s výhodou lidský receptor. Takovými buňkami jsou například vaječníkové buňky čínského křečka, další buňky je však rovněž možno použít. S výhodou jde o buňky savců podle publikace Jia a další, Mol. Endocrin., 5, 759-776, 1991.

Způsob konstrukce buněčných linií, u nichž dochází k expresi rekombinantního LH, je znám například ze souhrnné publikace Sambrook a další, Molecular Cloning, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, poslední vydání. Exprese receptorů se dosahuje expresí DNA, která je kódem pro požadovaný protein. Způsoby řízené mutace, vazby dalších sekvencí, PCR a celé konstrukce vhodných systémů pro expresi jsou nyní rovněž dobře známé. Je možno synteticky zkonstruovat část kódové DNA nebo celou DNA pro požadovaný protein při použití techniky na pevném nosiči, s výhodou se využívá uložení míst působení restrikčních enzymů pro usnadnění vazby. Obvykle obsahuje konstrukce také vhodné řídící prvky pro transkripci a translaci uložené kódové sekvence. Jak je známo, jsou nyní k dispozici systémy pro expresi, které jsou kompatibilní s širokou škálou hostitelů včetně prokaryotických hostitelů, jako jsou bakterie a eukaryotických hostitelů, jako jsou kvasinky, rostlinné buňky, buňky hmyzu, savců, ptáků a podobně.

Buňky, u nichž dochází k expresi receptoru se pak uvedou do styku se zkoumanou látkou, aby bylo možno pozorovat vazbu, stimulaci nebo inhibici funkční odpovědi.

28.05.03

Je také možno použít k měření vazby sloučeniny izolované buněčné membrány, které obsahují exprimovaný receptor.

K měření je možno použít sloučeninu, značené radioaktivně nebo fluorescencí. Jak referenční sloučeninu je možno použít lidský rekombinantní LH. Je také možno provést zkoušky na kompetitivní vazbu.

Další zkoušky zahrnují stanovení stimulace nahromadění cAMP, zprostředkované receptorem zkoumanými látkami s agonistickým účinkem na LH receptor. Tento postup spočívá v tom, že se dosáhne exprese receptoru na buněčném povrchu hostitelské buňky a tato buňka se pak vystaví působení zkoumané látky. Pak se měří množství cAMP. Množství cAMP může být sníženo nebo zvýšeno v závislosti na inhibičním nebo stimulačním účinku zkoumané látky po její vazbě na receptor.

Kromě přímého měření, to znamená například měření množství cAMP u exponovaných buněk je možno využívat také buněčné linie, které kromě transfekce kodovou DNA pro receptor jsou transfekovány ještě druhou DNA, která je kódem pro reporterový gen, jehož exprese závisí na koncentraci cAMP. Tyto reporterové geny mohou být indukovatelné působením cAMP nebo mohou být zkonstruovány takovým způsobem, že reagují na změny koncentrace cAMP. Obecně je možno uvést, že expresi reporterového genu je možno řídit jakýmkoliv prvkem, který reaguje na změny koncentrace cAMP. Vhodnými reporterovými geny jsou například LacZ, geny pro alkalickou fosfatázu, luciferázu světlušek a zeleně fluoreskující protein. Principy těchto transaktivačních zkoušek jsou známé a jsou popsány

28.05.03

například v publikaci Stratowa, Ch., Himmler, A. a Czernilofsky, A. P. 1995, Curr. Opin. Biotechnol. 6, 574.

Při selekci účinných látek musí při koncentraci 10^{-5} N dojít k účinnosti, která je více než 20 % maximální účinnosti při použití LH jako referenční látky. Další kriterium může spočívat v tom, že hodnota EC_{50} musí být nižší než 10^{-5} M a s výhodou nižší než 10^{-7} M.

Odborníkovi bude zřejmé, že žádoucí hodnoty EC_{50} budou záviset na zkoumané látce. Například sloučenina, jejíž hodnota EC_{50} bude nižší než 10^{-5} M bude považována za sloučeninu, kterou je vhodné zařadit do vybraných látek. S výhodou je uvedená hodnota nižší než 10^{-7} M a zvláště nižší než 10^{-8} M. Je však možno použít i látky, jejichž hodnota EC_{50} je vyšší, které však jsou selektivní pro určitý typ receptoru.

Sledování látek na agonistický účinek na receptor LH je rovněž možno provést při použití biologické zkoušky na Leydigových buňkách myší, popsané v publikacích Van Damme, M., Robersen, D. a Diczfalusy, E., 1974, Acta Endocrinol. 77, 655-671 Mannaerts, B., Kloosterboer, H. a Schuurs, A., 1987, Neuroendocrinology of reproduction, R. Rolland a další, eds., Elsevier Science Publishers B. V., 49-58. Při této zkoušce je možno měřit produkci testosteronu, zprostředkovanou stimulací receptoru LH v Leydigových buňkách, izolovaných z myších samců.

Aby bylo možno měřit účinnost sloučenin na receptor LH in vivo, je možno sledovat indukci ovulace u nezralých myší. V tomto pokusu je možno podávat nezralým myším FSH z moči a přibližně po 48 hodinách látku, která by měla mít

28.05.03

agonistický účinek LH. Po určité době se zvířata usmrtí a mikroskopicky se spočítají vajíčka ve vejcovodech.

Sloučeniny podle vynálezu je možno použít klinicky v těch případech, v nichž se nyní užívá LH nebo hCG. Jde o náhradu LH u osob s hypogonadálním hypogonadismem v případě mužů a žen, o podávání uprostřed cyklu k vyvolání ovulace OI nebo u řízené hyperstimulace COH nebo u stimulace žlutého tělíska.

Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady, které však nemají sloužit k omezení rozsahu vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1
Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(methoxykarbonyl-oxy)fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

a) 5-kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthio-6--hydroxypyrimidin

Směs 139 mg sulfátu S-methylisothiomočoviny, 243 µl 3-methoxybenzaldehydu, 112 µl ethylkyanoacetátu a 145 mg uhličitanu draselného ve 2 ml absolutního ethanolu se míchá 5 hodin při teplotě 60 °C. Reakční směs se zchladí na ledové lázni na 0 °C, zfiltruje se a zbytek se zahřívá ve vodě až do vytvoření čirého roztoku. Roztok se okyselí 2 N kyselinou chlorovodíkovou ve vodě na pH 2 a zchladí na 0 °C na ledové lázni. Vzniklé krystalky se odfiltrují a usuší se ve vakuu.

28.05.03

Výtěžek: 186 mg
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 274,2
TLC: R_f = 0,50, silikagel, dichlormethan a methanol v objemovém poměru 9:1

b) 6-chlor-5-kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthiopyrimidin

0,75 ml oxychloridu fosforečného se přidá k míchanému roztoku 305 mg 5-kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthio-6--hydroxypyrimidinu z příkladu 1a) v 1 ml bezvodého 1,4-dioxanu. Přidá se kapka N,N-dimethylanilinu. Po 3 hodinách při teplotě 80 °C se směs zchladí na 0 °C na ledové lázni a pomalu se přidá drcený led. Jakmile odezní exothermní reakce, přidají se ještě 3 ml vody. Pevný podíl se odfiltruje a usuší se ve vakuu.
Výtěžek: 244 mg
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 292,2
TLC: R_f = 0,86, silikagel, dichlormethan CH_2Cl_2

c) ethyl-5-amino-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthiothieno-[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylát

150 mg terc.butoxidu draslíku se přidá k míchanému roztoku 92 µl ethyl-2-merkaptoacetátu a 244 mg 6-chlor-5--kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthiopyrimidinu z příkladu 1b) ve 4 ml bezvodého tetrahydrofuranu. Po 1 hodině se směs zchladí na 0 °C na ledové lázni a zředí se 10 ml vody. Pevný podíl se odfiltruje a usuší se ve vakuu.
Výtěžek: 260 mg
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 376,2
TLC: R_f = 0,44, silikagel, CH_2Cl_2

d) kyselina 5-amino-4-(3-methoxyfenyl)-2-

28.05.03

-methylthiothieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylová

2,27 g ethyl-5-amino-4-(3-methoxyfenyl)-2-methyl-thiothieno-[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylátu z příkladu 1c) se rozpustí ve směsi 270 ml 1,4-dioxanu a 30 ml vody. Přidá se 10 g hydroxidu lithného a směs se míchá 48 hodin při teplotě 80 °C. Pak se 1,4-dioxan ze směsi odpaří a odparek se rozpustí ve vodě. Roztok se okyselí na pH 2 přidáním 3N vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové. Vzniklá sraženina se odfiltruje a promyje se vodou. Stopy vody se odstraní současným odpařováním s 1,4-dioxanem a pak s diethyletherem, produkt se pak suší ve vakuu přes noc při teplotě 50 °C.

Výtěžek: 8,45 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 348,0$

TLC: $R_f = 0,2$, silikagel, CH_2Cl_2/CH_3OH objemový poměr 9:1

e) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(methoxyfenyl)--thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

7,0 g kyseliny 5-amino-4-(3-methoxyfenyl)-2--methylthiothieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové z příkladu 1d) se rozpustí ve 100 ml bezvodého dichlormethanu. Pak se přidá 8,0 g benzotriazol-1-yl-N,N,N,N'-tetramethyluronium-tetrafluorboritanu TBTU, 6,6 ml N,N-diisopropylethylaminu DIPEA a 4,0 ml terc.butylaminu a směs se míchá 5 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se promyje 2krát 100 ml 5% vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a 2krát 100 ml 1M vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří ve vakuu. Výsledná látka se čistí chromatografií na silikagelu při

28.05.03

použití heptanu a ehtylacetátu v objemovém poměru 1:0 až 3:2 jako elučního činidla.

Výtežek: 6,5 g

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 403,0

HPLC: R_t = 33,56 minut, sloupec 3 μm Luna C-18(2) 100krát 2,0 mm, průtok 0,25 ml/min, teplota pece 40 °C, detekce při 210 a 254 nm, elační činidlo voda/acetonitril/methanol v objemovém poměru 70:28,5:1,5 až 0:95:5 v průběhu 50 minut

f) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-hydroxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

1,8 g terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--(methoxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu se rozpustí ve 30 ml bezvodého dichlormethanu a výsledný roztok se zchladí na 0 °C. Pak se po kapkách přidá roztok 1,28 ml bromidu boritého ve 30 ml bezvodého dichlormethanu a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se po kapkách přidává nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného tak dlouho, až ustane exothermní reakce. Pak se dichlormethan ze směsi odpaří a přidá se velké množství ethylacetátu. Organická vrstva se promyje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří ve vakuu.

Výtěžek: 1,3 g

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 389,2

HPLC: R_t = 17,44 minut, sloupec Luna C-18 (příklad 1e), elační činidlo $H_2O/CH_3CN/CH_3OH$, objemový poměr 90:9,5/0,5 až 0:95:5 v průběhu 50 minut

g) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--methoxykarbonyloxy)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-

28.05.03

-karboxamid

100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--hydroxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 1f) se rozpustí v 5 ml bezvodého dichlormethanu. Přidá se 500 µl DIPEA a 199 µl methylchlormravenčanu a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs promyje vodou. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s následujícím gradientem CH_3CN/H_2O v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Produkt se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 93 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 447,4$

HPLC: R_t = 17,56 minut, sloupec Luna C-18 z příkladu 1e), elueční činidlo H_2O/CH_3CN, objemový poměr 40:60 až 0:100 v průběhu 25 minut

Příklad 2

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(alyloxykarbonyloxy)--fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--hydroxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 1f) s 274 µl alylchlormravenčanu se uskuteční způsobem, popsaným v příkladu 1g). Výsledná látka se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s gradientem CH_3CN/H_2O v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 102 mg

28.05.03

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 473,4

HPLC: R_t = 19,82 minut, sloupec Luna C-18 z příkladu 1e), eluční činidlo H_2O/CH_3CN, objemový poměr 40:60 až 0:100 v průběhu 25 minut

Příklad 3

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(benzyloxykarbonyloxy)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-hydroxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 1f) s 368 µl benzylchlormravenčanu se uskuteční způsobem, popsaným v příkladu 1g). Výsledná látka se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s gradientem CH_3CN/H_2O v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 112 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 523,2

HPLC: R_t = 22,22 minut, sloupec Luna C-18 z příkladu 1e), eluční činidlo H_2O/CH_3CN, objemový poměr 40:60 až 0:100 v průběhu 25 minut

Příklad 4

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(p-nitrobenzyloxykarbonyloxy)-fenyl)-thieno-[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-hydroxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 1f) s 554 mg p-nitrobenzylchlormravenčanu se uskuteční způsobem, popsaným v příkladu 1g). Výsledná látka

28.05.03

se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s gradientem CH_3CN/H_2O v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 47 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 568,4$

HPLC: R_t = 21,45 minut, sloupec Luna C-18 z příkladu 1e), eluční činidlo H_2O/CH_3CN, objemový poměr 40:60 až 0:100 v průběhu 25 minut

Příklad 5

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(fenoxykarbonyloxy)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-hydroxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 1f) s 324 µl fenylchlormravenčanu se uskuteční způsobem, popsaným v příkladu 1g). Výsledná látka se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s gradientem CH_3CN/H_2O v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 89 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 509,4$

HPLC: R_t = 21,12 minut, sloupec Luna C-18 z příkladu 1e), eluční činidlo H_2O/CH_3CN, objemový poměr 40:60 až 0:100 v průběhu 25 minut

Příklad 6

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(p-nitrofenoxy-karbonyloxy)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-

28.05.03

-hydroxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 1f) s 207 mg p-nitrofenylchlormravenčanu se uskuteční způsobem, popsaným v příkladu 1g). Odpařením rozpouštědla za sníženého tlaku se získá surový výsledný produkt.

Výtěžek: 569 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 554,6$

HPLC: $R_f = 0,5$, silikagel, heptan/EtOAc = 3:2

Příklad 7

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-((N,N-diethylamino)-karbonyloxy)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-hydroxyfenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 1f) se rozpustí v 5 ml bezvodého dichlormethanu a přidá se několik kapek N,N-dimethylformamidu DMF. Pak se přidá ještě 68 mg diethylkarbamoylchloridu a 217 µl DIPEA a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs promyje vodou. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledná látka se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s následujícím gradientem CH_3CN/H_2O v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledný produkt se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 75 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 488,4$

HPLC: $R_f = 0,6$, silikagel, heptan/EtOAc 1:1

Příklad 8

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(1,2,3,6-tetrahydropyridinokarbonyloxy)-fenyl)-thieno-[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

28.05.03

142 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(p--nitrofenoxy-karbonyloxy)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamidu z příkladu 6 se rozpustí v dichlormethanu. Přidá se 117 µl 1,2,3,6-tetrahydropyridinu a 224 µl DIPEA a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zředí dichlormethanem a promyje se vodou. Organická vrstva se odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s gradientem CH_3CN/H_2O v objemovém poměru 20:80 až 100:0 v průběhu 45 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 76 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 498,2$

HPLC: R_t = 13,90 minut, sloupec 5 µm Luna C-18(2), 150x4,60 mm, průtok 1 ml/minutu, detekce při 210 nm, eluční činidlo H_2O/CH_3CN v objemovém poměru 40:60 až 0:100 v průběhu 15 minut

Příklad 9

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(p-toluensulfonamido)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

a) 5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-methylthio-6-hydroxypyrimidin

Směs 69,0 g sulfátu S-methylisothiomočoviny, 75,0 g 3-nitrobenzaldehydu, 56,0 ml ethylkyanoacetátu a 72,5 g uhličitanu draselného v 1500 ml absolutního ethanolu se míchá 16 hodin při teplotě 60 °C. Pak se reakční směs zchladí ledovou lázní na 0 °C. Výsledná sraženina se odfiltruje, promyje se absolutním ethanolem a rozpustí ve vodě s teplotou 100 °C. Roztok se zchladí na teplotu místnosti přidáním 2N kyseliny chlorovodíkové se okyselí na

28.05.03

pH 2 a zchladí na 0 °C v ledové lázni. Výsledná sraženina se odfiltruje a promyje se směsí vody a ledové drti. Zbývající voda ve sraženině se odstraní současným odpařováním s 1,4-dioxanem.

Výtěžek: 54,0 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 289,0

HPLC: R_f = 0,3, silikagel, DCM/MeOH 9:1 (objemový poměr)

b) 6-chlor-5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-methylthiopyrimidin

100 ml oxychloridu fosforečného se přidá k míchanému roztoku 25,0 g 5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-methylthio-6-hydroxypyrimidinu z příkladu 9a) ve 300 ml bezvodého 1,4-dioxanu. Po 3 hodinách při teplotě 90 °C se směs zchladí na teplotu místnosti a odpaří za sníženého tlaku. Odparek se rozpustí ve 100 ml 1,4-dioxanu a výsledný roztok se zchladí na 0 °C. Pak se opatrně přidá směs vody a ledové drti. Výsledná sraženina se odfiltruje a promyje se vodou. Zbývající voda se ze sraženiny odstraní současným odpařováním s 1,4-dioxanem.

Výtěžek: 26,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 307,0

HPLC: R_f = 0,5, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

c) ethyl-5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-methylthio-6-
-(ethoxykarbonylmethylthio)-pyrimidin

15,7 ml DIPEA se přidá k míchanému roztoku 9,3 ml ethyl-2-merkaptoacetátu a 26,0 g 6-chlor-5-kyano-4-(3-
-nitrofenyl)-2-methylthiopyrimidinu ve směsi 250 ml ethanolu a 250 ml DCM. Po 1 hodině při teplotě místnosti se

28.05.03

ke směsi přidá 500 ml 0,1N vodného roztoku HCl a směs se extrahuje 3x500 ml DCM, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku.

Výtěžek: 28,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 390,4

HPLC: R_f = 0,5, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

d) ethyl-5-amino-4-(3-nitrofenyl)-2-methylthiothieno-[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylát

Směs 28,0 g ethyl-5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2--methylthio-6-(ethoxykarbonylmethylthio)-pyrimidinu ze stupně 9c) a 30 ml DIPEA ve směsi 150 ml toluenu a 150 ml ethanolu se míchá 16 hodin při teplotě varu 100 °C pod zpětným chladičem. Pak se směs zchladí na teplotu místnosti a odpaří za sníženého tlaku. Zbývající DIPEA se odstraní současným odpařováním s toluenem.

Výtěžek: 28,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 391,2

HPLC: R_f = 0,6, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

e) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-aminofenyl)--thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamid

780 mg ethyl-5-amino-4-(3-nitrofenyl)-2--methylthiothieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylátu z příkladu 9d) se rozpustí v 10 ml 1,4-dioxanu. Přidá se 10 ml ethanolu a 1,1 g chloridu cínatého a reakční směs se míchá přes noc při teplotě 90 °C. Pak se reakční směs odpaří ve vakuu, odparek se znovu rozpustí v 50 ml ethylacetátu, promyje se 10 ml 4M vodného roztoku NaOH, vysuší se síranem

hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Ethylesterová skupina ve výsledných 558 mg ethyl-5-amino-2-methylthio)-4--(3-aminofenyl)-thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxylátu se zmýdelní na odpovídající kyselinu, způsobem podle příkladu 1d) se získá 430 mg této kyseliny, která se pak nechá reagovat s 200 µl terc.butylaminu, čímž se vytvoří odpovídající terc.butylamid způsobem podle příkladu 1e). Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a ethylacetátu v objemovém poměru 3:1 jako elučního činidla.

Výtěžek: 391 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 388,0

HPLC: R_f = 0,43, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

f) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(p--toluensulfonamido)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamid

100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 9e) se rozpustí v 5 ml bezvodého pyridinu. Přidá se 70 mg p-toluensulfonylchloridu a směs se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zředí dichlormethanem a promyje se 0,1M vodným roztokem HCl. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a ethylacetátu v objemovém poměru 3:2 jako elučního činidla.

Výtěžek: 63 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 542,4

HPLC: R_t = 23,46 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), elučním činidlem je fosfátový pufr

28.05.03

50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN/CH_3OH v objemovém poměru 10/72/17/1 až 10/18/68/4 v průběhu 50 minut

Příklad 10

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(vinylsulfonamido)--fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

2,5 g terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 9e) se rozpustí ve směsi 25 ml dichlormethanu a 25 ml pyridinu. 2-bromethansulfonylchlorid se připraví podle publikace Bull. Chem. Soc. Jpn. 39, 1937-1941, 1966. Po kapkách se přidá roztok 2 g 2-bromethansulfonylchloridu v 5 ml dichlormethanu a směs se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zředí dichlormethanem a promyje se nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledná látka se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a ethylacetátu v objemovém poměru 3:2 jako elučního činidla.

Výtěžek: 1,4 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 478,6$

HPLC: $R_f = 0,80$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

Příklad 11

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2--piperidinoethansulfonamido)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin--6-karboxamid

10,87 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--(vinylsulfonamido)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-

28.05.03

-karboxamidu z příkladu 10 se rozpustí v 5 ml bezvodého THF. Přidá se 181 µl piperidinu a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zředí dichlormethanem a promyje se nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se nejprve čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a ethylacetátu v objemovém poměru 3:2 jako elučního činidla a pak pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a 0,1% vodného roztoku TFA.

Výtěžek: 89 mg (TFA sůl)

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 563,4

HPLC: R_t = 18,4 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), eluční činidlo H_2O/CH_3CN 60:40 až 0:100 (objemový poměr) v průběhu 25 minut

Příklad 12

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-(thiomorfolin-4-yl)-ethansulfonamido)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

Reakce mezi 184 µl thiomorfolinu a 87 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(vinylsulfonamido)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 10 se uskuteční způsobem podle příkladu 11. Výsledná látka se nejprve čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a ethylacetátu v objemovém poměru 3:2 jako elučního činidla a pak pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v

28.05.03

průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a 0,1% vodného roztoku TFA.

Výtěžek: 120 mg (TFA sůl)

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 581,2

HPLC: R_t = 17,2 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), elueční činidlo H_2O/CH_3CN 60:40 až 0:100 (objemový poměr) v průběhu 25 minut

Příklad 13

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(bis-(2-methoxyethyl)--amino)-ethansulfonamido)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamid

Reakce mezi 244 mg bis-(2-methoxyethyl)aminu a 87 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(vinylsulfonamido)--fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 10 se uskuteční způsobem podle příkladu 11. Výsledná látka se nejprve čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a ethylacetátu v objemovém poměru 3:2 jako elučního činidla a pak pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a 0,1% vodného roztoku TFA.

Výtěžek: 60 mg (TFA sůl)

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 611,4

HPLC: R_t = 17,9 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), elueční činidlo H_2O/CH_3CN 60:40 až 0:100 (objemový poměr) v průběhu 25 minut

Příklad 14

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-(N-methylpiperazino)-ethansulfonamido)-fenyl)-thieno-

28.05.03

[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

Reakce mezi 184 µl N-methylpiperazinu a 87 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(vinylsulfonamido)--fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 10 se uskuteční způsobem podle příkladu 11. Výsledná látka se nejprve čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a ethylacetátu v objemovém poměru 3:2 jako elučního činidla a pak pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a 0,1% vodného roztoku TFA.

Výtěžek: 85 mg (TFA sůl)

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 578,4

HPLC: R_t = 16,1 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), eluční činidlo H_2O/CH_3CN 60:40 až 0:100 (objemový poměr) v průběhu 25 minut

Příklad 15

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--(methoxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamid

100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 9e) se rozpustí v 5 ml bezvodého dichlormethanu. Přidá se 199 µl methylchlormravenčanu a 500 µl DIPEA a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs promyje vodou. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové

28.05.03

TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 80 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 446,2$

HPLC: R_t = 20,44 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), eluční činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN 10:72:18 až 10:18:72 (objemový poměr) v průběhu 20 minut

Příklad 16

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--(allyloxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 9e) s 274 µl allychlormravenčanu se uskuteční způsobem podle příkladu 15. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 66 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 472,2$

HPLC: R_t = 22,37 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), eluční činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN 10:72:18 až 10:18:72 (objemový poměr) v průběhu 20 minut

Příklad 17

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-

28.05.03

-(benzyloxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 9e) s 368 µl benzylchlormravenčanu se uskuteční způsobem podle příkladu 15. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 112 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 522,4

HPLC: R_t = 24,10 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), elueční činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN 10:72:18 až 10:18:72 (objemový poměr) v průběhu 20 minut

Příklad 18

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--(ethoxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 9e) s 274 µl ethylchlormravenčanu se uskuteční způsobem podle příkladu 15. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

28.05.03

Výtěžek: 74 mg
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 460,4
HPLC: R_t = 21,77 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), eluční činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN 10:72:18 až 10:18:72 (objemový poměr) v průběhu 20 minut

Příklad 19

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--(fenoxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamid

Reakce 100 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 9e) s 324 µl fenylchlormravenčanu se uskuteční způsobem podle příkladu 15. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu CH_3CN/0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 47 mg
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 508,4
HPLC: R_t = 23,25 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), eluční činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN 10:72:18 až 10:18:72 (objemový poměr) v průběhu 20 minut

Příklad 20

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--(p-nitrofenoxykarbonylamino)-fenyl)-thieno-[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

28.05.03

1 g terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-aminofenyl)--thieno[2,3-d]-pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 9e) se rozpustí v 10 ml bezvodého dichlormethanu. Pak se po kapkách přidá roztok 520 mg p-nitrofenylchlormravenčanu v 10 ml dichlormethanu a reakční směs se míchá při teplotě místnosti. Po 1 hodině se reakční směs promyje vodou. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku.

Výtěžek: 1,42 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 553,6$

TLC: $R_f = 0,7$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

Příklad 21

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-((morfolin-4-yl)--karbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

142 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(p--nitrofenoxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamidu z příkladu 20 se rozpustí v 5 ml bezvodého dichlormethanu. Přidá se 112 µl morfolinu a 225 µl DIPEA a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zředí dichlormethanem a promyje se vodou, organická vrstva se odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 při použití gradientu H_2O/CH_3CN 80:20 a 0:100 (objemový poměr) v průběhu 45 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 22 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 501,2$

HPLC: $R_t = 8,62$ minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 8, eluční činidlo je H_2O/CH_3CN 40:60 až 0:100 (objemový poměr) v průběhu 15 minut

28.05.03

Příklad 22

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(o--anisidinokarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamid

Vazba 142 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(p--nitrofenoxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamidu z příkladu 20 se 159 mg orthoanisidinu se uskuteční způsobem podle příkladu 21. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 při použití gradientu H_2O/CH_3CN 80:20 a 0:100 (objemový poměr) v průběhu 45 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 18 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 537,2$

HPLC: R_t = 12,94 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 8, elueční činidlo je H_2O/CH_3CN 40:60 až 0:100 (objemový poměr) v průběhu 15 minut

Příklad 23

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(1,2,3,6-tetrahydropyridinokarbonylamino)-fenyl)-thieno-[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

Vazba 142 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(p--nitrofenoxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6--karboxamidu z příkladu 20 se 118 µl 1,2,3,6--tetrahydropyridinu se uskuteční způsobem podle příkladu 21. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 při použití gradientu H_2O/CH_3CN 80:20 a 0:100 (objemový poměr) v průběhu 45 minut. Výsledná látka se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 18 mg

29.05.03

MS-ESI: $[M+H]^+ = 497,2$

HPLC: R_t = 11,19 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 8, elueční činidlo je H_2O/CH_3CN 40:60 až 0:100 (objemový poměr) v průběhu 15 minut

Příklad 24

Terc.butyl-5-hydroxy-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxamid

a) ethyl-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyrimidin-5-karboxylát

Směs 13,9 g sulfátu S-methylisothiomočoviny, 7,5 g 3-methoxybenzaldehydu, 6,5 g ethylacetoacetátu a 21 g hydrogenuhličitanu sodného ve 200 ml DMF se míchá 18 hodin při teplotě 70 °C. Reakční směs se zchladí na teplotu místnosti, zředí se diethyletherem a promyje se vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Výsledná látka se čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a EtOAc v objemovém poměru 3:2 jako elučního činidla.

Výtěžek: 7,3 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 321,0$

TLC: R_f = 0,2, silikagel, heptan/EtOAc 3:1 (objemový poměr)

b) ethyl-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)-6-methylpyrimidin--5-karboxylát

7,65 g ethyl-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)-6-methyl--1,4-dihydropyrimidin-5-karboxylátu z příkladu 24a) se rozpustí ve směsi 200 ml toluenu a 100 ml dichlormethanu. Přidá se 5,45 g 2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinonu a reakční směs se míchá 15 minut při teplotě místnosti. Pak se přidá 250 ml 0,2M vodného roztoku NaOH. Organická vrstva

28.05.03

se oddělí, promyje se 2x250 ml vody a 2x250 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a EtOAc 4:1 (objemový poměr) jako elučního činidla.

Výtěžek: 4,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 319,2$

TLC: $R_f = 0,4$, silikagel, heptan/EtOAc 3:1 (objemový poměr)

c) ethyl-5-hydroxy-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxylát

Roztok 318 mg ethyl-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)-6--methylpyrimidin-5-karboxylátu z příkladu 24b) ve 2 ml bezvodého THF se přidá k čerstvě připravenému roztoku LDA v 1 ml THF, zchlazeného na -78 °C. Směs se míchá 30 minut při teplotě -78 °C a pak se přidá 217 µl 3-ethoxyakrylátu. Pak se směs míchá ještě 3 hodiny nejprve při teplotě -78 °C a pak až do dosažení teploty místnosti. K reakční směsi se přidá 20 ml 0,1M vodného roztoku HCl a roztok se extrahuje 25 ml EtOAc. Organická vrstva se promyje 25 ml vody a 25 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a EtOAc 3:1 (objemový poměr) jako elučního činidla a pak se nechá překrystalizovat z methanolu.

Výtěžek: 38 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 371,2$

TLC: $R_f = 0,6$, silikagel, heptan/EtOAc 2:3 (objemový poměr)

d) terc.butyl-5-hydroxy-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxamid

28.05.03

38 mg ethyl-5-hydroxy-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxylátu z příkladu 24c) se rozpustí ve směsi 4 ml 1,4-dioxanu a 0,5 ml 1M vodného roztoku KOH. Směs se vaří 48 hodin pod zpětným chladičem, pak se zchladí na teplotu místnosti a okyselí přidáním 15 ml 0,1M vodného roztoku HCl. Pak se směs extrahuje 15 ml dichormethanu. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku, čímž vznikne kyselina 5-hydroxy-4-(3--methoxyfenyl)-2-methylthiochinazolin-6-karboxylová. Tato kyselina se rozpustí ve 2 ml DMF, přidá se 53 µl terc.butylaminu a 96 mg TBTU a směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti. Pak se přidá 15 ml EtOAc a organická vrstva se promyje 15 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a 15 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledná látka se nejprve čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a EtOAc 7:3 (objemový poměr) jako elučního činidla. Pak se produkt čistí pomocí HPLC při použití gradientu 10% vodný roztok CH_3CN/CH_3CN/0,1% vodný roztok TFA 75:40:3 až 7:90:3 (objemový poměr) v průběhu 30 minut. Výsledná látka se lyofilizuje ze směsi vody a 1,4-dioxanu.

Výtěžek: 25 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 398,2$

HPLC: R_t = 9,75 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), eluční činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN/CH_3OH 5:35:57:3 až 5:10:81:4 (objemový poměr) v průběhu 15 minut

Příklad 25

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxamid

a) 5-kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthio-6-vinylpyrimidin

1,46 g 6-chlor-5-kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2--methylthiopyrimidinu z příkladu 1b) se uvede do suspenze v 10 ml 1,4-dioxanu. Přidá se 350 mg tetrakis(trifenylfosfinu)paladia(0) a směsí se nechá probublávat plynný dusík. Pak se přidá 1,26 ml tetravinylcínu a směs se vaří 5 hodin pod zpětným chladičem. Pak se reakční směs vlije do směsi 100 ml ethylacetátu a 100 ml vody. Organická vrstva se promyje nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a dichlormethanu v objemovém poměru 1:0 až 1:3.
Výtěžek: 1,05 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 284,2$
TLC: $R_f = 0,4$, silikagel, heptan/CH_2Cl_2 1:2 (objemový poměr)

b) 5-kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthio-6-(1,1-bis--(ethoxykarbonyl)prop-3-yl)pyrimidin

5-kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthio-6--vinylpyrimidin z příkladu 25a) se rozpustí ve směsi 2 ml ethanolu a 2 ml toluentu. Přidá se 690 mg uhličitanu draselného a 272 µl diethylmalonátu a směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti. Pak se reakční směs vlije do směsi 25 ml 0,5M vodného roztoku HCl a 50 ml EtOAc. Organická vrstva se promyje 50 ml vody a 50 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití toluenua a ethylacetátu 100:0 až 95:5 (objemový poměr) jako elučního činidla.

28.05.03

Výtěžek: 344 mg
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 444,2
TLC: R_f = 0,3, silikagel, toluen/EtOAc 95:5 (objemový poměr)

c) ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)-7,8--dihydrochinazolin-6-karboxylát

81 mg 5-kyano-4-(3-methoxyfenyl)-2-methylthio-6-(1,1--bis-(ethoxykarbonyl)prop-3-yl)pyrimidinu z příkladu 25b) se rozpustí v 1 ml bezvodého dichlormethanu. Pak se po kapkách přidá 1 ml 1M roztoku chloridu cíničitého v dichlormethanu a směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti. Pak se k reakční směsi přidá ještě 10 ml vody a 10 ml EtOAc. Organická vrstva se promyje 10 ml vody a 10 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a EtOAc 1:0 až 3:2 (objemový poměr) jako elučního činidla.
Výtěžek: 24 mg
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 372,2
TLC: R_f = 0,05, silikagel, heptan/EtOAc 3:1 (objemový poměr)

d) ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxylát

22 mg ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--7,8-dihydrochinazolin-6-karboxylátu z příkladu 25c) se rozpustí v 1 ml dichlormethanu. Přidá se 1,2 ml 0,06M roztoku 2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinonu v dichlormethanu a směs se míchá 15 minut při teplotě

místnosti. Pak se reakční směs odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití toluenu a EtOAc 95:5 (objemový poměr) jako elučního činidla.

Výtěžek: 20 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 370,0

TLC: R_f = 0,3, silikagel, heptan/EtOAc 1:3 (objemový poměr)

e) kyselina 5-amino-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxylová

490 mg ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxylátu z příkladu 25d) se rozpustí v 15 ml 1,4-dioxanu a přidají se 3 ml 2M vodného roztoku KOH. Směs se vaří 5 hodin pod zpětným chladičem a pak se 76 hodin zahřívá na 70 °C. Pak se směs zchladí na teplotu místnosti a přidá se 0,5M roztok HCl. Směs se extrahuje 2x50 ml dichlormethanu, organické vrstvy se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku, čímž se získá surový výsledný produkt.

Výtěžek: 406 mg (surový produkt)

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 342,2

TLC: R_f = 0,0, silikagel, heptan/EtOAc 2:3 (objemový poměr)

f) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-methoxyfenyl)--chinazolin-6-karboxamid

K 1,8 ml 1,8M roztoku kyseliny 5-amino-2-methylthio-4--(3-methoxyfenyl)-chinazolin-6-karboxylové v DMF se přidá 173 mg TBTU a 95 ml terc.butylaminu. Reakční směs se míchá 2 hodiny a pak se vlije do směsi 25 ml EtOAc a 50 ml

nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Organická fáze se oddělí a promyje se 50 ml 0,5M vodného roztoku HCl a 50 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, pak se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatrografií na silikagelu při použití směsi heptanu a EtOAc 1:0 až 2:3 (objemový poměr) jako elučního činidla. Výsledný produkt se lyofilizuje ze směsi dioxanu a vody s obsahem 1,5 ekvivalentu HCl.

Výtěžek: 44 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 397,2

HPLC: R_t = 21,52 minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), eluční činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN 10:70:20 až 10:10:80 (objemový poměr) v průběhu 20 minut

Příklad 26

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-pyrrolidin-1-yl)--ethoxy)-fenyl)-chinazolin-6-karboxamid

a) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-hydroxyfenyl)--chinazolin-6-karboxamid

Roztok 1,5 g terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--methoxyfenyl)-chinazolin-6-karboxamidu z příkladu 25f) v bezvodém dichlormethanu se zchladí na 0 °C. Pak se po kapkách přidá roztok 1,1 ml bromidu boritého ve 25 ml dichlormethanu a po skončeném přidávání se směs míchá 3 hodiny při teplotě místnosti. Pak se směs zředí dichlormethanem a opatrně se přidá 200 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Směs se energicky míchá 1,5 hodiny až do rozpuštění pevného podílu. Vodná vrstva se 2krát extrahuje dichlormethanem. Organická

28.05.03

vrstva se promyje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Organické vrstvy se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a EtOAc 1:0 až 1:1 (objemový poměr) jako elučního činidla.

Výtěžek: 930 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 383,4$

TLC: $R_f = 0,3$, silikagel, heptan/EtOAc 2:3 (objemový poměr)

b) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-(pyrrolidin-1-yl)-ethoxy)-fenyl)-chinazolin-6-karboxamid

Směs 1,0 g uhličitanu draselného, 66 mg 1-(2-chlorethyl)pyrrolidinhydrochloridu a 121 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-hydroxyfenyl)-chinazolin-6-karboxamidu v acetonu se vaří přes noc pod zpětným chladičem. Pak se směs zchladí na teplotu místnosti, pevný podíl se odfiltruje a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Odparek se rozpustí v EtOAc a promyje se vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Oragnická fáze se vysuší síranem hořečnatým a odpaří ve vakuu. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 a gradientu: 10% vodný roztok CH_3CN/CH_3CN/0,1% vodný roztok TFA 72:25:3 až 27:70:3 (objemový poměr) v průběhu 30 minut. Výsledný produkt se lyofilizuje ze směsi vody, TFA a CH_3CN.

Výtěžek: 42 mg (TFA sůl)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 480,4$

HPLC: $R_t = 12,93$ minut, sloupec Luna C-18 podle příkladu 1e), elueční činidlo fosfátový pufr 50 mM

o pH 2,1/H_2O/CH_3CN 10:70:20 až 10:10:80 (objemový poměr) v průběhu 20 minut

Příklad 27

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-aminofenyl)--chinazolin-6-karboxamid

a) 5-kyano-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)-6-[(trifenylfosfanyliden)-methyl]-pyrimidin

K suspenzi 29,5 g bezvodého methyltrifenylfosfoniumbromidu ve 400 ml dimethoxyethanu se při teplotě -78 °C přidá 1,6M roztok n-butyllithia v hexanech. Směs se míchá 1 hodinu při teplotě -78 °C a pak se přidá roztok 10,1 g 6-chlor-5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2--methylthiopyrimidinu z příkladu 9b) ve 100 ml dimethoxyethanu a chladicí lázeň se odstraní. Po jedné hodině je reakce ukončena a přidá se 15 ml vody. Pevný podíl se odfiltruje a reakční směs se odpaří, čímž se získá tmavý zbytek, který se míchá s ethylacetátem do vzniku suspenze. Suspenze se zfiltruje, pevný podíl se promyje vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří ve vakuu. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a EtOAc v objemovémo poměru 4:1 až 1:1 jako elučního činidla.

Výtěžek: 7,04 g

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 299,2

TLC: R_f = 0,4, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

b) 5-kyano-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)-6-vinylpyrimidin

Roztok 7,04 g 5-kyano-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)-6--[(trifenylfosfanyliden)-methyl]-pyrimidinu z příkladu 27a) v 64 ml THF se zpracovává 1 hodinu při teplotě 60 °C působením 3,55 ml 37% vodného roztoku formaldehydu. Směs se zchladí na teplotu místnosti, zředí se 100 ml EtOAc a promyje se 2x50 ml vody, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a EtOAc v objemovém poměru 9:1 až 3:2 jako elučního činidla.

Výtěžek: 1,42 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 547,2$

TLC: $R_f = 0,6$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

c) terc.butylethyl-(2-(5-kyano-2-methylthio-4-(3--nitrofenyl)-pyrimidin-6-yl)-ethyl)-malonát

1,88 g uhličitanu draselného a terc.butylethylmalonát se uvedou do suspenze v 82 ml ethanolu a pomalu se přidá roztok 2,71 g 5-kyano-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)-6--vinylpyrimidinu z příkladu 27b) ve 33 ml směsi toluenu a dichlormethanu. Přidávání trvá přibližně 1,5 hodiny. Po skončeném přidávání se směs ještě 40 minut míchá. Pak se směs zředí EtOAc a promyje se 2krát vodou a 1krát nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a dichlormethanu v objemovém poměru 1:1 jako elučního činidla.

Výtěžek: 1,42 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 487,2$

TLC: $R_f = 0,5$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

28.05.03

d) ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)-7,8--dihydrochinazolin-6-karboxylát

Roztok 1,40 g terc.butylethyl-(2-(5-kyano-2--methylthio-4-(3-nitrofenyl)-pyrimidin-6-yl)-ethyl)--malonátu z příkladu 27c) v 15 ml dichlormethanu se zchladí na 0 °C. Pak se po kapkách přidá 11,5 ml 1M roztoku chloridu číničitého v dichlormethanu, ledová lázeň se odstraní a roztok se míchá ještě 30 minut při teplotě místnosti. Pak se přidá 64 ml vody a 64 ml EtOAc a směs se energicky míchá až do rozpuštění pevného podílu. Organická fáze se promyje vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku, čímž se získá surový produkt.

Výtěžek: 1,19 g (surový produkt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 387,2$

TLC: $R_f = 0,5$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

e) ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)-chinazolin--6-karboxylát

Roztok 1,19 g surového ethyl-5-amino-2-methylthio-4--(3-nitrofenyl)-7,8-dihydrochinazolin-6-karboxylátu z příkladu 27d) ve 31 ml dichlormethanu se zchladí na 0 °C. Pak se po kapkách přidá roztok 1,14 g DDQ ve 31 ml toluenu, ledová lázeň se odstraní a roztok se míchá ještě 30 minut při teplotě místnosti. Pak se směs zředí přibližně 100 ml dichlormethanu a promyje se 3x100 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a 2x50 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného. Vodné vrstvy se spojí a zpětně se extrahují dichlormethanem. Spojené organické

28.05.03

vrstvy se pak vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a EtOAc v objemovém poměru 9:1 až 3:2 jako elučního činidla.

Výtěžek: 735 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 385,2

TLC: R_f = 0,5, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

f) ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-aminofenyl)-chinazolin--6-karboxylát

Ke směsi 1,54 g ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--nitrofenyl)-chinazolin-6-karboxylátu z příkladu 27e) a 4,52 g $SnCl_2.2H_2O$ ve 35 ml 1,4-dioxanu se přidá 35 ml ethanolu a 690 µl. Reakční směs se míchá 5 hodin při teplotě 90 °C. Po zchlazení na teplotu místnosti a odpaření za sníženého tlaku se odparek uvede do suspenze ve 35 ml EtOAc. Pak se pH směsi upraví na 10 přidáním 2M roztoku NaOH a přidá se THF a nasycený vodný roztok chloridu sodného. Výsledná směs se ještě 40 minut míchá, pak se organická vrstva oddělí, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a EtOAc v objemovém poměru 9:1 až 3:2 jako elučního činidla.

Výtěžek: 818 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 355,2

TLC: R_f = 0,3, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

g) kyselina 5-amino-2-methylthio-4-(3-aminofenyl)--chinazolin-6-karboxylová

28.05.03

Roztok 658 mg ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-chinazolin-6-karboxylátu z příkladu 27f) v 1,4-dioxanu se zpracovává působením 4,2 ml 2M vodného roztoku KOH 18 hodin při teplotě 70 °C. Reakční směs se zchladí na teplotu místnosti a pak se okyselí na pH 1 přidáním 4N roztoku HCl. Výsledná směs se 3krát extrahuje dichlormethanem. Organické vrstvy se spojí, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku, čímž se získá surový výsledný produkt.

Výtěžek: 215 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 327,2$

TLC: $R_f = 0$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

h) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-aminofenyl)--chinazolin-6-karboxamid

Přeměna 192 mg kyseliny 5-amino-2-methylthio-4-(3--aminofenyl)-chinazolin-6-karboxylové na odpovídající terc.butylamid se uskuteční způsobem, popsaným v příkladu 1e). Výsledná látka se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a EtOAc v objemovém poměru 9:1 až 3:2 jako elučního činidla.

Výtěžek: 243 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 382,2$

HPLC: $R_t = 6,57$ minut, sloupec Luna C-18 z příkladu 1e), eluční činidlo H_2O/CH_3CN v objemovém poměru 45:55 až 0:100 v průběhu 20 minut

Příklad 28

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-(morfolin-4-yl)--acetamido)fenyl)-chinazolin-6-karboxamid

28.05.03

a) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-bromacetamido)--fenyl)-chinazolin-6-karboxamid

K suspenzi 791 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4--(3-aminofenyl)-chinazolin-6-karboxamidu z příkladu 27h) v 60 ml dichlormethanu se přidá 1,08 ml DIPEA a pak se ještě pomalu přidá 242 µl bromacetylchloridu ve 20 ml dichlormethanu. Po 40 minutách při teplotě místnosti se reakční směs 3krát promyje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se užije v následujícím stupni bez dalšího čištění.

Výtěžek: 1,20 g (surový produkt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 504,2$

TLC: $R_f = 0,4$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

b) terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-(morfolin-4-yl)--acetamido)-fenyl)-chinazolin-6-karboxamid

K roztoku 88 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3--(2-bromacetamido)-fenyl)-chinazolin-6-karboxamidu z příkladu 28a) v acetonitrilu se přidá 148 µl morfolinu a směs se míchá 18 hodin. Po této době se přidá 15 ml dichlormethanu a směs se promyje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří ve vakuu. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi dichlormethanu a methanolu v objemovém poměru 1:0 až 9:1 jako elučního činidla. Výsledný produkt se lyofilizuje ze směsi acetonitrilu a vody s obsahem 1,5 ekvivalentu HCl.

Výtěžek: 82 mg (hydrochlorid)

28.05.03

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 509,2

HPLC: R_t = 13,00 minut, sloupec Luna C-18 z příkladu 1e), eluční činidlo H_2O/CH_3CN v objemovém poměru 75:25 až 0:100 v průběhu 20 minut

Příklad 29

Terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-(terc.butyl)-glycinyl)-amino)-fenyl)-chinazolin-6-karboxamid

Reakce mezi 275 µl terc.butylaminu a 130 mg terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-bromacetamido)--fenyl)-chinazolin-6-karboxamidu z příkladu 28a) se uskuteční způsobem podle příkladu 28b). Výsledný produkt se nejprve čistí chromatografií na silikagelu při použití heptanu a EtOAc v objemovém poměru 3:2 jako elučního činidla a pak pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s následujícím gradientem: CH_3CN/0,1% vodná TFA v objemovém poměru 10:90 až 90:10 v průběhu 30 minut. Pak se výsledný produkt lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vodné HCl.

Výtěžek: 28 mg (hydrochlorid)

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 495,4

HPLC: R_t = 12,93 minut, sloupec Luna C-18 z příkladu 1e), eluční činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/H_2O/CH_3CN v objemovém poměru 10:70:20 až 10:10:80 v průběhu 20 minut

Příklad 30

Ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)-7--hydroxypyrido[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylát

a) 6-amino-5-kyano-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)pyrimidin

Roztok 10,0 g 6-chlor-5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-

28.05.03

-methylthiopyrimidinu z příkladu 9b) se zpracovává působením 15 ml 28% roztoku amoniaku ve vodě, reakční směs se míchá přes noc. Vytvořené krystalky se odfiltrují a promyjí se vodou. Produkt se suší ve vakuu při teplotě 50 °C, čímž se získá výsledný produkt.

Výtěžek: 8,9 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 288,2$

TLC: $R_f = 0,3$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

b) diethyl-2-(amino-[6-amino-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)--pyrimidin-5-yl]-methylen)malonát

K suspenzi 5,74 g 6-amino-5-kyano-2-methylthio-4-(3--nitrofenyl)pyrimidin z příkladu 30a) ve 200 ml 1,2-dichlorpropanu se přidá 9,1 ml diethylmalonátu. Směs se zchladí na 0 °C a po kapkách se přidá roztok 14 ml chloridu cíničitého v 50 ml 1,2-dichlorpropanu. Po skončeném přidávání se suspenze 18 hodin zahřívá na teplotu varu pod zpětným chladičem. Směs se nechá zchladnout na teplotu místnosti a po usazení pevného podílu se 1,2-dichlorpropan opatrně slije. Výsledný pevný podíl se míchá s 300 ml EtOAc a 300 ml vody až do úplného rozpuštění. Organická vrstva se promyje 500 ml vody a 500 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří ve vakuu. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a EtOAc v objemovém poměru 1:0 až 3:2 jako elučního činidla.

Výtěžek: 3,78 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 448,4$

TLC: $R_f = 0,2$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

28.05.03

c) ethyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-nitrofenyl)-7--hydroxypyrido[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylát

Suspenze 1,34 g diethyl-2-(amino-[6-amino-2--methylthio-4-(3-nitrofenyl)-pyrimidin-5-yl]--methylen)malonátu z příkladu 30b) ve 30 ml difenyletheru se zahřívá 2 hodiny v proudu dusíku na 240 °C. Pak se směs zchladí na teplotu místnosti, přidá se 200 ml heptanu a pevný podíl se odfiltruje. Výsledný produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi dichlormethanu a acetonu v objemovém poměru 1:10 až 4:1 jako elučního činidla.

Výtěžek: 590 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 402,4$

TLC: $R_f = 0,3$, silikagel, dichlormethan/aceton 9:1 (objemový poměr)

Příklad 31

Terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-((thiomorfolin-4-yl)--karbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

a) 5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-fenyl-6-hydroxypyrimidin

Směs 16,4 g benzamidinhydrochloridu, 15,1 g 3-nitrobenzaldehydu, 11,2 ml ethylkyanoacetátu a 16,6 g uhličitanu draselného ve 250 ml absolutního ethanolu se míchá 8 hodin při teplotě 60 °C. Pak se reakční směs zchladí na 0 °C na ledové lázni. Výsledná sraženina se odfiltruje, promyje se absolutním ethanolem a zahřívá ve vodě na 100 °C až do vzniku čirého roztoku. Tento roztok se zchladí na 50 °C, okyselí se na pH 2 přidáním 2N vodné HCl a pak se zchladí na 0 °C na ledové lázni. Výsledný

28.05.03

sraženina se odfiltruje a promyje se ledovou vodou. Zbývající voda se odstraní současným odpařováním s 1,4-dioxanem.

Výtěžek: 15,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 319,2$

TLC: $R_f = 0,3$, silikagel, DCM/MeOH 9:1 (objemový poměr)

b) 6-chlor-5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-fenylpyrimidin

50 ml $POCl_3$ se přidá k míchanému roztoku 15,0 g 5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-fenyl-6-hydroxypyrimidinu a 0,5 ml dimethylanilinu ve 200 ml analyticky čistého bezvodého 1,4-dioxanu. Po 3 hodinách zahřívání na 90 °C se teplá směs zfiltruje a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Odparek se rozpustí v 1,4-dioxanu a přidá se směs vody a ledu. Výsledná sraženina se odfiltruje a promyje se vodou. Zbytek vody se odstraní současným odpařováním s 1,4-dioxanem.

Výtěžek: 15,8 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 337,4$

TLC: $R_f = 0,8$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

c) ethyl-5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-fenyl-6-
-(ethoxykarbonylmethylthio)-pyrimidin

8,71 ml DIPEA se přidá k míchanému roztoku 5,15 ml ethyl-2-merkaptoacetátu a 15,8 g 6-chlor-5-kyano-4-(3-
-nitrofenyl)-2-fenylpyrimidinu z příkladu 31b) ve směsi 125 ml ethanolu a 125 ml DCM v atmosféře dusíku. Po 2 hodinách při teplotě místnosti se směs zředí DCM až do

úplného rozpuštění složek, promyje se 0,5M vodnou HCl, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku.
Výtěžek: 19,7 g
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 421,2
TLC: R_f = 0,7, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

d) ethyl-5-amino-4-(3-nitrofenyl)-2-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylát

20,0 ml DIPEA se přidá k míchanému roztoku 19,7 g ethyl-5-kyano-4-(3-nitrofenyl)-2-fenyl-6-(ethoxykarbonylmethylthio)-pyrimidinu z příkladu 31c) ve směsi 100 ml absolutního ethanolu a 100 ml analyticky čistého toluenu. Po 48 hodinách při teplotě 100 °C se směs zchladí na 0 °C. Výsledná sraženina se odfiltruje, promyje se chladným ethanolem a suší ve vakuu při teplotě 40 °C.
Výtěžek: 17,0 g
MS-ESI: $[M+H]^+$ = 421,2
TLC: R_f = 0,5, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

e) ethyl-5-amino-4-(3-aminofenyl)-2-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylát

Roztok 23,0 g chloridu cínatého ve 250 ml absolutního ethanolu se přidá k roztoku 16,6 g ethyl-5-amino-4-(3-nitrofenyl)-2-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylátu z příkladu 31d) ve 250 ml analyticky čistého 1,4-dioxanu. Přidá se 6,9 ml 37% vodné HCl a směs se 16 hodin zahřívá na teplotu 90 °C pod zpětným chladičem. Pak se směs nechá zchladnout na teplotu místnosti a odpaří se za sníženého tlaku. Odparek se uvede do suspenze v 500 ml EtOAc. Pak se

28.05.03

přidá 4N vodný roztok NaOH až do pH 10 až 11. Směs se pak zředí nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se oddělí, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku.

Výtěžek: 17,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 421,2$

TLC: $R_f = 0,5$, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

f) kyselina 5-amino-4-(3-aminofenyl)-2-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylová

20,0 g hydroxidu draselného se přidá k roztoku 17,0 g ethyl-5-amino-4-(3-aminofenyl)-2-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylátu z příkladu 31e) ve směsi 210 ml 1,4-dioxanu a 80 ml vody. Po 16 hodinách při teplotě 90 °C se směs zchladí na 0 °C. Výsledná sraženina se odfiltruje, uvede se do suspenze ve 300 ml vody a suspenze se zchladí na 0 °C. Pak se směs okyselí na pH 3 přidáním 2N roztoku kyseliny citronové, načež se míchá 2 hodiny při teplotě 0 °C až teplotě místnosti. Výsledná sraženina se odfiltruje, promyje se vodou a suší ve vakuu při 40 °C.

Výtěžek: 13,3 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 363,0$

TLC: $R_f = 0,2$, silikagel, DCM/MeOH 95:5 (objemový poměr)

g) terc.butyl-5-amino-4-(3-aminofenyl)-2-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

15,3 ml DIPEA, 9,3 ml terc.butylaminu a 14,1 g TBTU se přidá ke směsi 13,3 g kyseliny 5-amino-4-(3-aminofenyl)-2-

28.05.03

-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové z příkladu 31f) ve směsi 250 ml DCM a 50 ml DMF v atmosféře dusíku. Po 3 hodinách při teplotě místnosti se směs zředí DCM a promyje se nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, 0,1N vodným roztokem HCl a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se čistí chromatografií na silikagelu při použití směsi heptanu a EtOAc v objemovém poměru 3:7 až 1:1 jako elučního činidla.

Výtěžek: 14,7 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 418,4$

TLC: R_f = 0,4, silikagel, heptan/EtOAc 3:2 (objemový poměr)

h) terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-(p-nitrofenoxy-karbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

2,0 g terc.butyl-5-amino-4-(3-aminofenyl)-2--fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 31g) se rozpustí ve 20 ml bezvodého dichlormethanu. Pak se po kapkách přidá roztok 520 mg p-nitrofenylchlormravenčanu v 10 ml bezvodého dichlormethanu a reakční směs se míchá při teplotě místnosti. Po 3 hodinách se reakční směs promyje vodou. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku.

Výtěžek: 2,9 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 583,2$

TLC: R_f = 0,6, silikagel, heptan/EtOAc 1:1 (objemový poměr)

i) terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-((thiomorfolin-4-yl)--karbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

28.05.03

300 µl thiomorfolinu se přidá k roztoku 150 mg terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-(p-nitrofenoxy-karbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 31h) v 5 ml dichlormethanu a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zředí dichlormethanem a promyje se vodou. Organická vrstva se odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s následujícím gradientem: H_2O/CH_3CN v objemovém poměru 80:20 až 0:100 v průběhu 45 minut. Výsledný produkt se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 89 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 547,2$

TLC: R_f = 11,71 minut, sloupec Luna C-18(2), 3 µm, 100x2,0 mm, detekce UV při 210 nm, teplota pece 40 °C, rychlost průtoku 0,25 ml/min, elační činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/voda/ACN v objemovém poměru 10:30:60 až 10:5:85 v průběhu 20 minut

Příklad 32

Terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-((N,N-dimethylamino)--karbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

150 mg dimethylaminhydrochloridu se přidá k roztoku 0,50 ml N,N-diisopropylethylaminu, DIPEA a 250 mg terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-(p-nitrofenoxy-karbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 31h) v 5 ml dichlormethanu a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zředí dichlormethanem a promyje se vodou. Organická vrstva se odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí

28.05.03

pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s následujícím gradientem: H_2O/CH_3CN v objemovém poměru 80:20 až 0:100 v průběhu 45 minut. Výsledný produkt se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 75 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 489,2

TLC: R_f = 19,58 minut, sloupec Luna C-18(2), 3 μm, 100x2,0 mm, detekce UV při 210 nm, teplota pece 40 °C, rychlost průtoku 0,25 ml/min, elační činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/voda/ACN v objemovém poměru 10:60:30 až 10:5:85 v průběhu 20 minut

Příklad 33

Terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-((morfolin-4-yl)-karbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid

250 mg morfolinu se přidá k roztoku 150 mg terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-(p-nitrofenoxykarbonylamino)-fenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamidu z příkladu 31h) v 5 ml dichlormethanu a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zředí dichlormethanem a promyje se vodou. Organická vrstva se odpaří za sníženého tlaku. Výsledný produkt se čistí pomocí HPLC při použití sloupce Luna C-18 s následujícím gradientem: H_2O/CH_3CN v objemovém poměru 80:20 až 0:100 v průběhu 45 minut. Výsledný produkt se pak lyofilizuje ze směsi 1,4-dioxanu a vody.

Výtěžek: 63 mg

MS-ESI: $[M+H]^+$ = 489,2

TLC: R_f = 19,58 minut, sloupec Luna C-18(2), 3 μm, 100x2,0 mm, detekce UV při 210 nm, teplota pece 40 °C, rychlost průtoku 0,25 ml/min, elační

28.05.03

činidlo fosfátový pufr 50 mM o pH 2,1/voda/ACN v objemovém poměru 10:60:30 až 10:5:85 v průběhu 20 minut

Příklad 34

Biologická účinnost CHO-LH a CHO-FSH in vitro

LH-agonistická účinnost sloučenin byla sledována na buňkách vaječníků čínského křečka, CHO po stabilní transfekci lidským receptorem LH a současné transfekci s prvkem CRE, odpovídajícím na koncentraci cAMP/promotorem, který řídí expresi reporterového genu pro luciferázu světlušek. V případě, že dojde k vazbě ligandu na Gs-vázaný receptor LH, dojde také ke zvýšení koncentrace cAMP a tato zvýšená koncentrace vyvolá zvýšenou transaktivaci konstrukce reporterového genu pro luciferázu. Signál luciferázy je pak možno kvantitativně stanovit při použití počítače pro luminiscenci. Pro zkoumané látky byly vypočítány hodnoty EC_{50} jako koncentrace látky, která vyvolá 50% stimulaci. K tomuto účelu byl použit program GraphPad PRISM, verse 3.0 (GraphPad software Inc., San Diego). Při těchto pokusech byly hodnoty EC_{50} pro sloučeniny z příkladu 9, 11, 12, 13, 14, 25 a 27 v rozmezí 10^{-6} až 10^{-7} M. Sloučeniny z příkladu 1, 2, 3, 4, 5, 17, 22, 26, 28, 29, 31 a 33 měly hodnoty EC_{50} v rozmezí 10^{-7} až 10^{-8} M, kdežto hodnoty EC_{50} pro sloučeninu z příkladu 7, 15, 16, 18, 21, 23 a 32 byly nižší než 10^{-8} M.

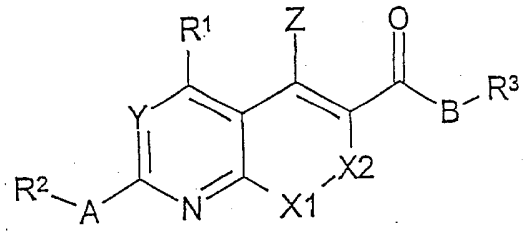
Zastupuje:

28.05.03

2003-929

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I



(I)

kde

R^1 znamená C3-C8cykloalkyl, C2-C7heterocykloalkyl, C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl, s výhodou jde o C6-C14aryl nebo C4-C13 heteroaryl,

R^2 znamená C1-C4alkyl, C2-C4alkenyl, C2-C4alkinyl, C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl,

R^3 znamená C1-C8alkyl, C3-C8cykloalkyl, C2-C7heterocykloalkyl, C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl,

R^4 se volí ze skupin, uvedených pro R^2,

R^5 znamená C6-C14aryl, C4-C13heteroaryl, C6-C14arylkarbonyl, C2-C7heterocykloalkyl, C3-C8cykloalkyl, C6-C14arylsulfonyl, C6-C14arylaminokarbonyl, C6-C14aryloxykarbonyl, C6-C14arylaminosulfonyl, C6-C14aryloxysulfonyl, C2-C8alkenyl, C2-C8alkinyl, C2-C7heterocykloalkylkarbonyl, C2-C8alkenylsulfonyl, C2-C8alkenoxykarbonyl, C1-C8alkyl, C1-C8alkylkarbonyl, C1-C8alkylsulfonyl, C1-C8dialkylaminokarbonyl, C1-C8alkoxykarbonyl, C1-C8dialkylaminosulfonyl nebo C1-C8alkoxysulfonyl, přičemž alkylová skupina těchto zbytků je popřípadě substituována jedním nebo větším počtem substituentů, které se volí ze skupiny hydroxyskupina, C1-C8alkoxyskupina, C2-C7heterocykloalkylC1--C8alkoxyskupina, C3-C8cykloalkylC1-

28.05.03

-C8alkoxyskupina, C6-C14arylC1-C8alkoxyskupina,
C4-C13heteroarylC1-C8alkoxyskupina, C2-C7heterocykloalkyl,
C3-C8cykloalkyl, C6-C14aryl, C4-C13heteroaryl,
C1-C8alkoxykarbonyl, C6-C14aryloxykarbonyl,
C1-C8alkylkarbonyloxyskupina, C6-C14arylkarbonyloxyskupina,
C1-C8alkylkarbonyl, C6-C14arylkarbonyl, aminoskupina,
C1-C8alkylaminokarbonyl, C6-C14arylaminokarbonyl,
C1-C8alkylkarbonylaminoskupina,
C6-C14arylkarbonylaminoskupina, C6-C14diarylaminoskupina,
diC1-C3alkoxyC1-C3alkylamino- a/nebo
-C1-C8dialkylaminoskupina,
Y znamená CH nebo N,
Z znamená NH_2 nebo OH,
A znamená S, N(H), $N(R^4)$, O nebo chemickou vazbu,
B znamená N(H), O nebo chemickou vazbu,
jakož i farmaceuticky přijatelné soli těchto látek,
X1-X2 znamená skupiny C=C, C(O)-NH, NH-C(O), C(O)-O,
O-C(O), C=N nebo N=C. V případě, že R^5 znamená
C1-C8alkylsulfonyl, C6-C14arylsulfonyl,
C1-C8dialkylaminokarbonyl, C6-C14arylaminokarbonyl,
C1-C8alkoxykarbonyl, C6-C14aryloxykarbonyl,
C1-C8dialkylaminosulfonyl, C6-C14arylaminosulfonyl,
C1-C8alkoxysulfonyl, C2-C7heterocykloalkylkarbonyl,
C2-C8alkenylsulfonyl, C2-C8alkenoxykarbonyl nebo
C6-C14aryloxysulfonyl, pak může X1-X2 mimoto znamenat S
nebo O,
za předpokladu, že do rozsahu vynálezu nespadají
ethyl-5-hydroxy-2-methyl-4-(piperidin-1-yl)pyrido[2,3-d]-
-pyrimidin-6-karboxylát,
ethyl-5-hydroxy-2-methyl-4-(morfolin-4-yl)pyrido[2,3-d]-
-pyrimidin-6-karboxylát a
ethyl-5-hydroxy-2-methyl-4-(pyrrolidin-1-yl)pyrido[2,3-d]-
-pyrimidin-6-karboxylát.

28.05.03

2. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1, v nichž B znamená N(H) nebo chemickou vazbu.

3. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1 nebo 2, v nichž Z znamená NH_2.

4. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 3, v nichž R^1 znamená C6-C14aryl nebo C4-C13heteroaryl, popřípadě substituovaný jedním nebo větším počtem substituentů ze skupiny $N(R^4)R^5$, NHR^5, R^5, OR^5 nebo SR^5.

5. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 4, v nichž R^5 znamená C2-C7heterocykloalkylkarbonyl, C6-C14arylkarbonyl nebo C1-C8alkyl, C1-C8alkylkarbonyl nebo C1-C8dialkylaminokarbonyl, přičemž alkylová skupina těchto zbytků je popřípadě substituována substituenty ze skupiny C2-C7heterocykloalkyl, C4-C14heteroaryl, C1-C8alkoxykarbonyl, C1-C8alkylaminokarbonyl, C1-C8alkylkarbonylaminoskupina, C6-C14arylkarbonylaminoskupina, aminoskupina a/nebo C1-C8dialkylaminoskupina.

6. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 4 nebo 5, v nichž R^1 znamená fenyl, popřípadě substituovaný jedním nebo větším počtem substituentů.

7. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného

28.05.03

vzorce I podle nároku 6, v nichž R^1 znamená skupinu, substituovanou v poloze meta.

8. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 7, v nichž Y znamená atom dusíku.

9. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 8, v nichž B znamená N(H) nebo znamená B chemickou vazbu a R^3 znamená C2-C7heterocykloalkyl.

10. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 9, v nichž X1-X2 znamená C=C, C=N, S nebo N=C.

11. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 10, v nichž X1-X2 znamená C=C nebo S.

12. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1 ze skupiny terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-((N,N-diethylamino)-karbonyloxy)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(methoxykarbonyl-amino)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(alyloxykarbonyl-amino)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(ethoxykarbonylamino)--fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-((morfolin-4-yl)--karbonylamino)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid, terc.butyl-5-amino-2-methylthio-4-(3-(1,2,3,6--tetrahydropyridinokarbonylamino)-fenyl)thieno-

28.05.03

[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid,
terc.butyl-5-amino-2-fenyl-4-(3-((N,N-dimethylamino)-karbonylamino)-fenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-karboxamid.

13. Bicyklické heteroaromatické sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1 až 12 pro použití k léčebným účelům.

14. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako svou účinnou složku obsahuje bicyklickou heteroaromatickou sloučeninu obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 12 nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl nebo solvát ve směsi s farmaceuticky přijatelnými pomocnými látkami.

15. Použití bicyklických heteroaromatických sloučenin obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 12 nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli nebo solváty pro výrobu farmaceutických prostředků pro antikoncepční účely.

Zastupuje: