NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO (11) **309892** (13) B1

(51) Int Cl[7] A 61 K 31/519, C 07 D 471/04, 487/04, A 61 P 43/00

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19963094	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	1995.01.23, PCT/US95/00941
(22) Inng. dag	1996.07.24	(85) Videreføringsdag	1996.07.24
(24) Løpedag	1995.01.23	(30) Prioritet	1994.01.25, US, 186735
(41) Alm. tilgj.	1996.07.24		1994.01.25, US, 186745
(45) Meddelt dato	2001.04.17		1994.12.23, US, 358351

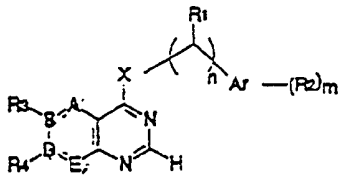
(71) Patenthaver Warner-Lambert Co, 201 Tabor Road, Morris Plains, NJ 07950, US
(72) Oppfinner Alexander James Bridges, Saline, MI, US
William Alexander Denny, Pakuranga, Auckland, NZ
David Fry, Ypsilanti, MI, US
Alan Kraker, Ann Arbor, MI, US
Robert Frederick Meyer, Ann Arbor, MI, US
Gordon William Rewcastle, Manurewa, Auckland, NZ
Andrew Mark Thompson, Mount Eden, Auckland, NZ
(74) Fullmektig Bryn & Aarflot AS, 0104 Oslo

(54) Benevnelse **Farmasøytisk blanding, bicykliske forbindelser i stand til å inhibere tyrosin-kinaser fra epidermal-vekstfaktorreseptorfamilien samt kontraseptiv blanding**

(56) Anførte publikasjoner EP A 566226, US 2949466
J.Am.Chem.Soc. vol. 82 1960 s. 5711-5718

(57) Sammendrag

Det beskrives epidermale vekstfaktor-inhibitorer med formel (I)



(1)

hvor:

minst én og opp til tre av A-E er nitrogen, idet de gjenværende atomer utgjør karbon, eller hvor to naboposisjoner i A-E sammen kan utgjøre et enkelt heteroatom, N, O eller S, idet ett av de to gjenværende atomer da må være karbon og det andre kan være enten karbon eller nitrogen; X = O, S, NH eller NR^7, slik at R^7 = lavere alkyl (1-4 karbonatomer), OH, NH_2, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer) eller lavere monoalkylamino (1-4 karbonatomer); n = 0, 1 eller 2.

Oppfinnelsesområde

Foreliggende oppfinnelse vedrører en farmasøytisk blanding, bicykliske heteroaromatiske forbindelser som inhiberer den epidermale vekstfaktorreseptor og beslektede reseptorer og spesielt deres enzymatiske tyrosinkinaseaktivitet, samt en kontraseptiv blanding.

Bakgrunn for oppfinnelsen

Kreft er generelt en sykdom i det intracellulære signaliseringssystem eller i signaloverføringsmekanismen. Celler mottar instruksjoner fra mange ekstracellulære kilder som enten gir dem i oppdrag å proliferere eller ikke proliferere. Hensikten med signaloverføringssystemet er å motta disse og andre signaler ved celleoverflaten, bringe dem inn i cellen og deretter sende signalene videre til kjernen, celleskjelettet og transport- og proteinsyntese-maskineriet. Den vanligste årsak til kreft er en rekke defekter, enten i disse proteiner, når de er mutert, eller i reguleringen av proteinmengden i cellen slik at det over- eller underproduseres. Oftest forekommer avgjørende celle-lesjoner som fører til en konstitutiv tilstand, hvorved cellekjernen mottar et signal om å proliferere når dette signal faktisk ikke foreligger. Dette kan skje gjennom en rekke mekanismer. Enkelte ganger kan cellen innlede produksjon av en autentisk vekstfaktor for dens egne reseptorer når den ikke burde, den såkalte "autocrine loop mechanism". Mutasjoner i celleoverflatereseptorene som vanligvis gir signal inn i cellen ved hjelp av tyrosinkinaser, kan føre til aktivering av kinasen når liganden ikke er tilstede og til overføring av et signal som i virkeligheten ikke er der. Alternativt kan mange overflatekinaser overuttrykkes på celleoverflaten og feilaktig føre til en sterk respons på et svakt signal. Det finnes mange nivåer inne i cellen hvor mutasjon eller over-ekspresjon kan føre til at det samme falske signal oppstår i cellen, og mange andre signaldefekter er involvert ved kreft. Denne oppfinnelse vedrører kreftformer som styres av de her beskrevne tre mekanismer og som involverer celleoverflate-reseptorer for EGFR (epidermal growth factor receptor) tyrosinkinasefamilien. Denne familien består av EGF-reseptoren (også kjent som Erb-B1), Erb-B2-reseptoren og dens konstitutivt virksomme onkoproteinmutant Neu, Erb-B3-reseptoren og Erb-B4-reseptoren. Dessuten kan andre biologiske prosesser som styres via medlemmer av EGF-

reseptorfamilien, også behandles med forbindelser ifølge den nedenfor beskrevne oppfinnelse.

EGFR har som de to viktigste ligander EGF (epidermal growth factor) og TGFalfa (Transforming Growth Factor alfa). Reseptorene synes kun å ha underordnede funksjoner hos voksne personer, men er åpenbart implisert i sykdomsprosessen i en stor del av alle kreftformer, spesielt tykktarm- og brystkreft. De nært beslektede Erb-B2-, Erb-B3- og Erb-B4-reseptorer har en familie av Hereguliner som deres hovedligander, og det har helt klart vært vist at reseptor-overekspresjon og mutasjon er hovedrisikofaktor ved brystkreft med dårlig prognose. Dessuten har det vært vist at alle fire medlemmer av denne reseptorfamilie kan danne heterodimere signaliseringskomplekser med andre medlemmer innen denne familie, hvilket kan gi evne til synergistisk transformering dersom mer enn ett medlem av familien over-uttrykkes ved malignitet. Over-ekspresjon av mer enn ett familiemedlem har vist seg å være relativt vanlig ved human malignitet.

For den proliferative hudsykdom psoriasis, finnes for tiden ingen god behandling. Den behandles ofte med anti-cancermidler som f.eks. metotrexat, som har meget alvorlige bivirkninger og som ikke er særlig effektiv i de toksisitetsbegrensede doser som må anvendes. Det antas at TGFalfa er den vesentligste vekstfaktor som overproduseres ved psoriasis siden 50% av transgene mus som over-uttrykker TGFalfa, utvikler psoriasis. Dette kan tyde på at en god inhibitor av EGFR-signalisering vil kunne benyttes som et anti-psoriasismiddel, fortrinnsvis, men ikke nødvendigvis, ved lokal dosering.

EGF er et potent mitogen for nyretubulus-celler. En fire gangers økning både av EGF-urinsekresjon og EGF-mRNA har vært registrert i mus med tidlig stadium av streptozoicin-indusert diabetes. I tillegg har det vært registrert øket ekspresjon av EGFR i pasienter med proliferativ glomerulonefritt (Roychaudhury et al., Pathology **1993**, 25, 327). Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse burde kunne anvendes ved behandling av både proliferativ glomerulonefritt og diabetesindusert nyresykdom.

Kronisk pankreatitt hos pasienter har vært angitt å korrelere med store økninger i ekspresjon av både EGFR og TGFalfa. (Korc et al., Gut **1994**, 35, 1468). Hos pasienter som oppviser en mer alvorlig form av sykdommen, noe som gir seg utslag i en forstørrelse av pankreashodet, har det også vist seg å være overekspresjon av Erb-B2-reseptoren (Friess et al., Ann. Surg. **1994**, 220, 183).

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse burde vise seg egnet ved behandlingen av pankreatitt.

I løpet av blastocytt-modningsprosessen, blastocytt-implanteringen i uterus-endometriet og andre periimplantasjoner, produserer uterusvev EGF og TGFalfa (Taga Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi **1992**, 44, 939), har forhøyede nivåer av EGFR (Brown et al., Endocrinology, **1989**, 124, 2882) og kan godt induseres til å fremstille heparin-bindende EGF i nærheten av den utviklende, men ikke stansede, blastocytt (Das et al. Development **1994**, 120, 1071). Blastocytten har på sin side et høyt nivå av TGFalfa- og EGFR-ekspresjon (Adamson Mol. Reprod. Dev. **1990**, 27, 16). Kirurgisk fjerning av de submandibulære kjertlene, hovedsetet for EGF-sekresjon i kroppen, og behandling med anti-EGFR-monoklonale antistoffer, har begge i høy grad redusert fertiliteten hos mus (Tsutsumi et al., J. Endocrinology **1993**, 138, 437) ved å redusere vellykket blastocyttimplantasjon. Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse burde således kunne vise seg å ha anvendelige kontraseptive egenskaper.

PCT publikasjon nr. WO92/07844 publisert 14. mai, 1992 og WO92/14716 publisert 3. september, 1992, beskriver 2,4-diaminokinazolin som potensiator av kjemoterapeutiske midler i kreftbehandlingen.

PCT publikasjon nr. WO92/20642 publisert 26. november, 1992, omtaler bismono- og bicykliske aryl- og heteroarylforbindelser som inhiberer EGF- og/eller PDGF-reseptortyrosinkinase. Det er et av formålene ved foreliggende oppfinnelse å inhibere de mitogene virkningene av den epidermale vekstfaktor ved å benytte en effektiv mengde av bicykliske pyrimidin-derivater, særlig kondenserte hetero-cykliske pyrimidin-derivater.

EP-566 226 beskriver forbindelser med en ringstruktur som adskiller seg fra ringstrukturen for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. Ved forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse er hver av ringene heterocykliske, mens dette ikke er tilfellet i strukturen som omtales i det europeiske patentet. Foribndelsene ifølge foreliggende oppfinnelse har reaktivitet med hensyn til vekstfaktorreseptor-tyrosinkinase. I det nevnte patentet beskrives beroligende midler eller anti-depresjonsmidler. De to klassene av forbindelser har derfor forskjellige anvendelsesområder og også forskjellige virkestyrker.

Et annet formål ved foreliggende oppfinnelse er å beskrive bicykliske pyrimidin-derivater, særlig kondenserte heterocykliske pyrimidin-derivater, som inhibitorer av EGF-, Erb-B2- og Erb-B4-reseptor-tyrosinkinasene.

Det er ytterligere et formål ved foreliggende oppfinnelse å beskrive bicykliske pyrimidin-derivater, særlig kondenserte heterocykliske pyrimidin-derivater, som i lave doseringer er egnet som inhibitorer av EGF-indusert mitogenese. Dette fører således til et ytterligere formål ved forbindelser som har ekstremt lav cytotoksisitet.

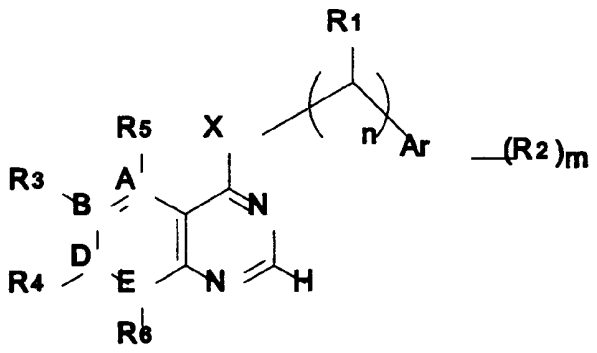
Det er ytterligere et formål ved foreliggende oppfinnelse å beskrive bicykliske pyrimidin-derivater, særlig kondenserte heterocykliske pyrimidin-derivater, som kan benyttes til å undertrykke svulster, spesielt brystkreft, hvor mitogenesen i sterk grad styres av medlemmer av EGFR-familien.

Et annet formål ved foreliggende oppfinnelse er å beskrive bicykliske pyrimidin-derivater, særlig kondenserte heterocykliske pyrimidin-derivater, som har varig terapeutisk anvendelse som inhibitorer av EGF-induserte responser.

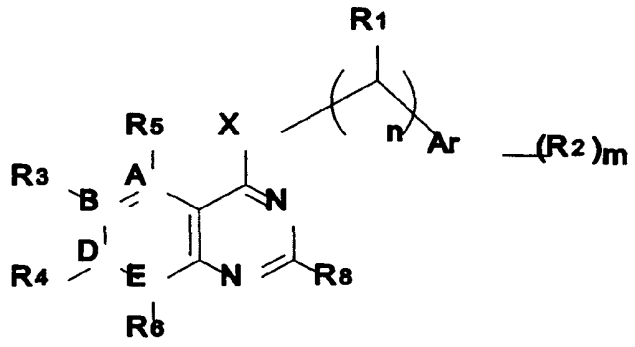
Et annet formål ved foreliggende oppfinnelse er å beskrive bicykliske pyrimidin-derivater, særlig kondenserte heterocykliske pyrimidin-derivater, som har anvendelse som terapeutiske midler mot proliferative overvekstsykdommer, inklusivt, men ikke begrenset til, synovial pannus-invasjon ved artritt, vaskulær restenose, psoriasis og angiogenese. De forbindelsene som her er omtalt er også anvendelige som farmasøytisk blanding for behandling av pankreatitt og nyre-sykdommer og til bruk som kontraseptive midler.

Sammenfatning av oppfinnelsen

Det beskrives en farmasøytisk blanding som omfatter en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel I eller formel II i blanding med et farmasøytisk akseptabelt hjelpestoff, fortynningsmiddel eller en bærer:



Formel I



Formel II

hvor:

minst én og opp til to av A-E er nitrogen, idet de øvrige atomer er karbon, eller hvor to naboposisjoner i A-E sammen kan utgjøre et enkelt heteroatom, N, O eller S, idet det ene av de to gjenværende atomer da må være karbon og det andre kan være enten karbon eller nitrogen;

X = NH eller NR^7, slik at R^7 = lavere alkyl (1-4 karbonatomer), OH, NH_2, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer) eller lavere monoalkylamino (1-4 karbonatomer);

n = 0, 1 eller 2;

R^1 = H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer); dersom n = 2, kan R^1 uavhengig være H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer) på det ene eller andre av de sammenkoblende karbonatomer;

R^2 er lavere alkyl (1-4 karbonatomer), lavere alkoksy (1-4 karbon-atomer), nitro, halogen (fluor, klor, brom, jod), lavere perfluoralkyl (1-4 karbonatomer), hydroksy, amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer), lavere sulfonylalkyl (1-4 karbonatomer);

m = 0-3, hvor Ar er fenyl eller tienyl;

R^3, R^4, R^5 og R^6 uavhengig av hverandre, ikke forekommer eller utgjør H, halogen, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer), amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer), lavere acylamino (1-4 karbonatomer);

dersom en av substituentene R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 eller R^6 inneholder chirale sentra eller dersom R^1 forårsaker chirale sentra på de sammenkoblende atomer, er alle stereoisomerer av disse både hver for seg og som racemiske og/eller diastereoisomere blandinger, inkludert;

R^8 er lavere alkyl med 1-4 karbonatomer, amino- eller mono- eller di-lavere-alkylamino (1-4 karbonatomer);

eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav,

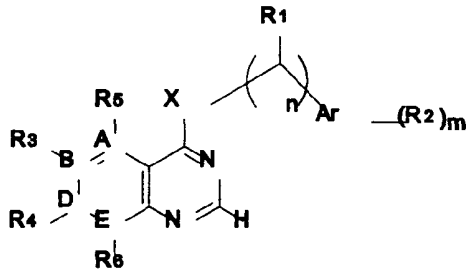
under den forutsetning at når

E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 0, 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; Ar er fenyl eller tienyl; eller n er 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; og Ar er fenyl eller tienyl, så kan R^4 ikke være hydrogen, amino, lavere monoalkylamino; eller

når E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 1, R^1 er H, Ar er fenyl parasubstituert med dietylamino, så kan R^4 ikke være amino;

eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav,

Det beskrives også en forbindelse, kjennetegnet ved formel I:



Formel I

hvor:

minst én og opp til to av A-E er nitrogen, idet de øvrige atomer er karbon, eller hvor to naboposisjoner i A-E sammen kan utgjøre et enkelt heteroatom, N, O eller S, idet det ene av de to gjenværende atomer da må være karbon og det andre kan være enten karbon eller nitrogen;

X = NH eller NR^7, slik at R^7 = lavere alkyl (1-4 karbonatomer), OH, NH_2, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer) eller lavere monoalkylamino (1-4 karbonatomer);

n = 0, 1 eller 2;

R^1 = H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer); dersom n = 2, kan R^1 uavhengig være H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer) på det ene eller andre av de sammenkoblende karbonatomer;

R^2 er lavere alkyl (1-4 karbonatomer), lavere alkoksy (1-4 karbon-atomer), nitro, halogen (fluor, klor, brom, jod), lavere perfluoralkyl (1-4 karbonatomer), hydroksy, amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer);

m = 0-3, hvor Ar er fenyl eller tienyl;

R^3, R^4, R^5 og R^6 uavhengig av hverandre, ikke forekommer eller utgjør H, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer), amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer);

dersom en av substituentene R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 eller R^6 inneholder chirale sentra eller dersom R^1 forårsaker chirale sentra på de sammen-koblende atomer, er alle stereoisomerer av disse både hver for seg og som racemiske og/eller diastereoisomere blandinger, inkludert;

med det forbehold av minst én av R^3-R^6-substituentene må være forskjellig fra hydrogen eller lavere alkoksy (1-4 karbonatomer);

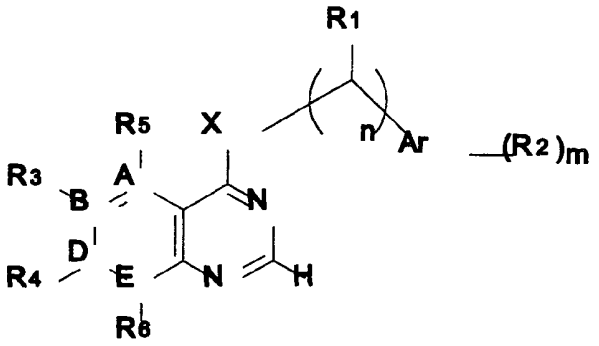
under den forutsetning at når

E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 0, 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; Ar er fenyl eller tienyl; eller n er 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; og Ar er fenyl eller tienyl, så kan R^4 ikke være hydrogen, amino, lavere monoalkylamino; eller

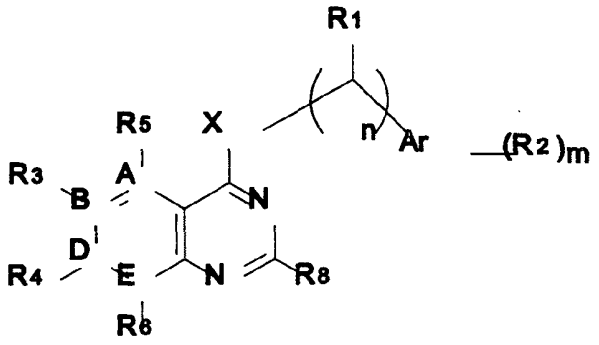
når E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 1, R^1 er H, AR er fenyl parasubstituert med dietylamino, så kan R^4 ikke være amino;

eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav.

Oppfinnelsen vedrører også en konraseptiv blanding som omfatter en kontraseptivt effektiv mengde av en forbindelse med den etterfølgende formel I eller II i blanding med et kontraseptivt akseptabelt hjelpestoff, fortynningsmiddel eller bærer:



Formel I



Formel II

hvor:

minst én og opp til to av A-E er nitrogen, idet de øvrige atomer er karbon, eller hvor to naboposisjoner i A-E sammen kan utgjøre et enkelt heteroatom, N, O eller S, idet det ene av de to gjenværende atomer da må være karbon og det andre kan være enten karbon eller nitrogen;

X = NH eller NR^7, slik at R^7= lavere alkyl (1-4 karbonatomer), OH, NH_2, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer) eller lavere monoalkylamino (1-4 karbonatomer);

n = 0, 1 eller 2;

R^1 = H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer); dersom n = 2 kan R^1 uavhengig være H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer) på det ene eller andre av de sammenkoblende karbonatomer;

R^2 er lavere alkyl (1-4 karbonatomer), lavere alkoksy (1-4 karbon-atomer), nitro, halogen, (fluor, klor, brom, jod), lavere perfluoralkyl (1-4 karbonatomer), hydroksy, amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer), lavere sulfonylalkyl (1-4 karbonatomer);

m = 0-3, hvor Ar er fenyl eller tienyl;

R^3, R^4, R^5 og R^6 uavhengig av hverandre, ikke forekommer eller utgjør H, halogen, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer), amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer), lavere acylamino (1-4 karbonatomer); og

dersom en av substituentene R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 eller R^6 inneholder chirale sentra eller dersom R^1 forårsaker chirale sentra på de sammen-koblende atomer, er alle stereoisomerer av disse både hver for seg og som racemiske og/eller diastereoisomere blandinger, inkludert;

R^8 er lavere alkyl med 1-4 karbonatomer, amino- eller mono- eller di-lavere-alkylamino (1-4 karbonatomer);

under den forutsetning at når

E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 0, 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; Ar er fenyl eller tienyl; eller n er 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; og Ar er fenyl eller tienyl, så kan R^4 ikke være hydrogen, amino, lavere monoalkylamino; eller

når E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 1, R^1 er H, Ar er fenyl parasubstituert med dietylamino, så kan R^4 ikke være amino;

eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav.

Kort beskrivelse av tegningene

FIGUR 1 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 6 og 7 på autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 humant epidermoid karsinom;

FIGUR 2 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 8 på autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 humant epidermoid karsinom;

FIGUR 3 viser tidens innvirkning på inhiberingen av autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 med forbindelsen ifølge Eksempel 7;

FIGUR 4 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 27 på autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 celler; FIGUR 5 viser inhibering av

autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 humant epidermoid karsinom med forbindelsen ifølge Eksempel 40;

FIGUR 6 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 40 på vekstfaktor-mediert tyrosin-fosforylering i Swiss 3T3;

FIGUR 7 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 40 på vekstfaktor-avhengig ekspresjon av c-jun mRNA i fibroblaster fra Swiss 3T3-mus;

FIGUR 8 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 40 på vekstfaktor-mediert ekspresjon av $p39^{c\text{-}jun}$;

FIGUR 9 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 59 på autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 humane epidermoide karsinomer;

FIGUR 10 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 60 på autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 humane epidermoide karsinomer;

FIGUR 11 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 61 på autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 humane epidermoide karsinomer;

FIGUR 12 viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 70 på autofosforyleringen av EGF-reseptorer i A431 humane epidermoide karsinomer;

FIGUR 13 er et diagram som viser inhibering av EGF-reseptor-tyrosinkinase med forbindelsen ifølge Eksempel 27;

FIGUR 14 er et diagram som viser en virkning av forbindelsen ifølge Eksempel 40 på vekstfaktor-mediert mitogenese i fibroblaster fra Swiss 3T3-mus;

FIGUR 15 er et fotografi av en NIH 3T3 musefibroblast-linje, transfektert med det humane EGFR-gen, som viser en normalt avflatet morfologi;

FIGUR 16 er et fotografi av den samme cellelinje behandlet med 100 ng/mL EGF som viser en typisk "spindly"-transformert morfologi; og

FIGUR 17 er et fotografi av den samme cellelinje i nærvær av både 100 ng/mL EGF og 5 µm av forbindelsen ifølge Eksempel 27 som viser at morfologien er endret fra den transformerte type tilbake til den normale type.

Beskrivelse av foretrukne utførelsesformer

1. En foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, idet R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E er karbon, med A = nitrogen og R^3 eller R^4 = H, idet den andre utgjør lavere alkoksy eller halogen.

2. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik H, idet den andre utgjør amino.

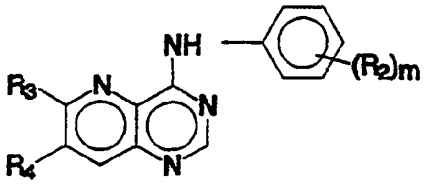
3. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik H, idet den andre utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

4 En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 og R^4 utgjør lavere alkoksy.

5 En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik amino, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

6 En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik lavere mono- eller dialkylamino, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

En passende ringstruktur for gruppene 1-6 er:



7. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, D & E lik karbon, med B nitrogen og hvor R^4 utgjør lavere alkoksy eller halogen.

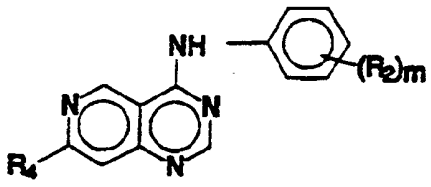
8. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har

X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, D & E lik karbon, med B nitrogen og hvor R^4 utgjør amino.

9. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har

X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, D & E lik karbon, med B nitrogen og hvor R^4 utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

En passende ringstruktur for gruppene 7-9 er:



10. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har

X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & E lik karbon, med D nitrogen og hvor R^3 utgjør lavere alkoksy eller halogen.

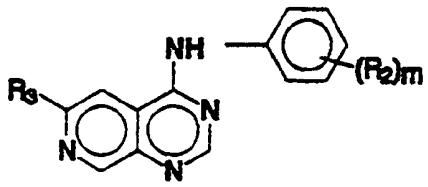
11. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har

X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & E lik karbon, med D nitrogen og hvor R^3 utgjør amino.

12. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har

X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & E lik karbon, med D nitrogen og hvor R^3 utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

En passende ringstruktur for gruppene 11-12 er:



13. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og hvor R^3 eller R^4 er H, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

14. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og hvor R^3 eller R^4 er H, idet den andre utgjør amino.

15. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og hvor R^3 eller R^4 er H, idet den andre utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

16. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og hvor R^3 og R^4 utgjør lavere alkoksy.

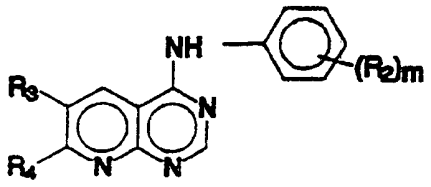
17. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og hvor R^3 eller R^4 er amino, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

18. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har

X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og hvor R^3 eller R^4 er lavere mono- eller dialkylamino, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

19. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har
X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og hvor R^4 utgjør lavere mono- eller dialkylamino med R^3 lik hydroksy.

En passende ringstruktur for gruppene 13-19 er:

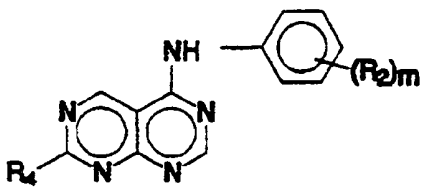


20. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har
X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A & D lik karbon, med B og E nitrogen og hvor R^4 utgjør lavere alkoksy.

21. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har
X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A & D lik karbon, med B og E nitrogen og hvor R^4 utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

22. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har
X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A & D lik karbon, med B og E nitrogen og hvor R^4 utgjør amino.

En passende ringstruktur for gruppene 20-22 er:



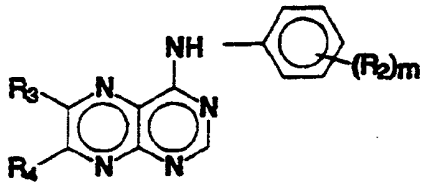
23. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har

X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B & D lik karbon, med A og E nitrogen og hvor R^3 og R^4 utgjør lavere alkoksy.

24. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B & D lik karbon, med A og E nitrogen og hvor R^3 og R^4 utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

25. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B & D lik karbon, med A og E nitrogen og hvor R^3 eller R^4 er lavere alkoksy, idet den andre utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

En passende ringstruktur for gruppene 23-25 er:



26. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl og hvor enten, A og B sammen utgjør et svovelatom, idet D & E er karbon, eller A & B utgjør karbon, idet D og E sammen utgjør et svovelatom, med R^4 eller R^3 lik H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

27. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl og hvor enten, A og B sammen utgjør et oksygenatom, idet D & E er karbon, eller A & B utgjør karbon, idet D og E sammen utgjør et oksygenatom, med R^4 eller R^3 lik H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

28. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl og hvor enten, A og B sammen utgjør et nitrogenatom, idet D & E er karbon,

eller A & B utgjør karbon, idet D og E sammen utgjør et nitrogenatom, med R^4 eller R^3 lik H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

29. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl og hvor enten, A og B sammen utgjør et svovelatom, idet D er karbon og E er nitrogen, eller D og E sammen utgjør et svovelatom og A er nitrogen og B er karbon, med $R^{3/4}$ lik H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

30. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl og hvor enten, A og B sammen utgjør et oksygenatom, idet D er karbon og E er nitrogen, eller D og E sammen utgjør et oksygenatom og A er nitrogen og B er karbon, med $R^{3/4}$ lik H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

31. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A og B sammen utgjør et nitrogenatom, idet D er karbon og E er nitrogen, med $R^{3/6}$ = H og R^4 = H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

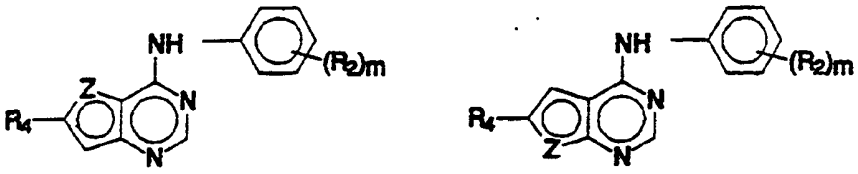
32. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et oksygenatom, med D nitrogen og E karbon, eller A og B sammen utgjør et karbonatom med D nitrogen og E oksygen, med $R^{3/6}$ = H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

33. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et svovelatom, med D nitrogen og E karbon, eller A og B sammen utgjør et karbonatom med D nitrogen og E svovel, med $R^{3/6}$ = H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

34. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har

X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et nitrogenatom, med D nitrogen og E karbon, eller A og B sammen utgjør et karbonatom med D og E nitrogenatomer, med $R^{3/6}$ = H dersom på nitrogen, eller H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino dersom på karbon.

Andre passende ringstrukturer er:



hvor Z = nitrogen, oksygen eller svovel

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse fremstilles i henhold til en rekke alternative reaksjonsfølger.

Fremstillingsmåter for forbindelser ifølge oppfinnelsen

Reaksjonsskjema 1 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 1-3, R^4 = H

Fortrengning av 2-kloratomet i 2,6-diklor-3-nitropyridin foretas med kobber(I)cyanid i NMP. Fortrengning av det andre kloratom i dette nitril med fluorid kan være fordelaktig på dette trinn. Dette etterfølges av en forsiktig reduksjon av nitrogruppen under betingelser hvor halogenet ikke hydrogenolyseres. Hydrolyse av nitrilet med påfølgende ortoformiatcyklisering og Vilsmeier-klorering vil gi dihalogenpyridopyrimidinet. Fortrengning av det mer reaktive 4-klor med et passende amin etterfølges av fortrengning av 6-halogenet med det passende nukleofil, ammoniakk, lavere alkylamin, hydrazin, metoksyd, for å danne sluttproduktene. (NMP er et løsningsmiddel, N-metyl-2-pyrrolidon).

1. En foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik H, idet den andre utgjør lavere alkoksy eller halogen.

2. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik H, idet den andre utgjør amino.

3. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik H, idet den andre utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 2 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 1-3, R^3 = H

Fortrengning av klor fra 2-klor-3,5-dinitropyridin foretas med CuCN i NMP. Reduksjon av nitrogruppene til aminer etterfølges av hydrolyse av nitrilet til et amid. Dette cykliseres til pyrimidonet med ortoformiat og omdannes deretter til kloridet med $POCl_3$ eller til tiometylderivatet ved behandling med fosforpentasulfid og deretter med MeI og en svak base, Fortrengning med det passende amin gir den ønskede 7-amino-forbindelse. Aminogruppen kan alkyleres reduktivt eller aktiveres ved diazotering av aminogruppen under sure eller basiske betingelser med påfølgende reduksjon til hydrazidet eller omdannelse til en lavere alkyleter eller til et halogen, med påfølgende kuprat- eller Stille-kobling etter fremgangsmåter kjent for fagmannen. Alternativt kan aminet amineres reduktivt eller acyleres og reduseres for å danne alkylamino-sidekjeden.

Reaksjonsskjema 3 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 4-6, hvor R^4 = RO

Den kjente metallisering av 2,6-difluorpyridin utnyttes to ganger. LDA-behandling etterfulgt av borat/hydrogen-peroksyd fører inn 3-hydroksy-substituenten. Dersom den andre metalliseringen av pyridinet skjer i 4-stillingen, kan alkoholen beskyttes som en TIPS (triisopropylsilyl)eter, hvilket vil tvinge den andre metalliseringen til 5-stillingen. Alternativt kan det benyttes nitreringer, slik at

litium-mellomproduktet omdannes til et stannan som behandles med tetranitrometan, eller det kan benyttes NO_2BF_4 (nitronium-tetrafluorborat). C_1-fortrengning kan oppnås ved hjelp av kobber(I)cyanid eller en annen cyanidione-kilde. Etter nitrilhydrolyse og nitrogruppe-reduksjon kan etylortoformiat benyttes i stedet for formamid for cykliseringen, og det kan hende at enkelte cykliseringer vil fordre fortrengning av F med MeS før reaksjonen. 4-stillingen aktiveres ved klorering, hvoretter sidekjede-aminet innføres. Den endelige fortrengning kan skje med alkoksyd- eller amin-nukleofiler for å frembringe de ulike dialkoksy- og aminoalkoksy-forbindelsene, og passende bruk av R kan bevirke at 7-hydroksylgruppen er ubeskyttet ved avslutningen av syntesen. (LDA står for litium-diisopropylamid).

4. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 og R^4 lavere alkoksy.

5. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik amino, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

6. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B, D & E lik karbon, med A nitrogen og R^3 eller R^4 lik lavere mono- eller dialkylamino, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

Reaksjonsskjema 5 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 5, 6, R^3 = OR

Dinitrering av 2,6-dihydroksypyridin etterfølges av omdannelse til den meget reaktive diklorforbindelsen. Det ene kloratom i dinitrodiklorpyridinet fortrenges med kobber(I)cyanid i NMP, hvorpå forbindelsen reduseres under milde betingelser, til diaminet. Nitrilet hydrolyseres til amidet som så kan cykliseres til pyridopyrimidon som 4-kloreres på vanlig måte. Fortrengning av det mer reaktive klor med 4-sidekjeden etterfølges av fortrengning av 6-klor med alkoksyd. For

Gruppe 6 bør aminet alkyleres hensiktsmessig etter fremgangsmåter kjent for fagmannen.

Reaksjonsskjema 7 - Syntesevei til foretrukket Gruppe 7-9

2,4-diamino-5-cyanopyridin kan cykliseres direkte til flere 4-benzylaminopyridopyrimidin-derivater ved behandling med benzylamin og maursyre ved høy temperatur. For mindre nukleofile aminer omdannes 2,4-diamino-5-cyanopyridin via etylortoformiat/eddiksyre-anhydrid-behandling og påfølgende cyklisering med hydrogensulfid-ion under vannfrie betingelser, til 7-amino-4-tiono-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin. S-alkylering og fortrengning med et passende amin gir det ønskede produkt. Dersom R^4 ikke er amino, kan aminet acyleres eller reduktivt alkyleres. Som et alternativ kan 2,4-diamino-5-cyanopyridin hydrolyseres til det tilsvarende amid og denne forbindelse cykliseres til 7-amino-4-okso-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin med ortoformiat. Diazotering av 7-aminet og erstatning med fluor, gjør det mulig å innføre andre amin- og alkoksyd-nukleofiler på slutten av syntesen etter at C4-substituenten er innført på vanlig måte. Diazotering og erstatning av aminet med bromid gir mulighet for Stille-koblinger i 7-stillingen.

7. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, D & E lik karbon, med B nitrogen og R^4 lik lavere alkoksy eller halogen.

8. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, D & E lik karbon, med B nitrogen og R^4 lik amino.

9. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, D & E lik karbon, med B nitrogen og R^4 lik lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 8 - Syntesevei til foretrukket Gruppe 10-12

2-klor-5-nitropyridin omdannes til den tilsvarende 2-fluorforbindelse med KF i DMSO. Reduksjon av nitrogruppen og påfølgende behandling med Boc-anhydrid gir Bocamino-derivatet som kan metalliseres og karboksyleres i 4-stillingen. Fjerning av Boc med TFA og cyklisering av pyrimidonringen med formamid gir 6-fluor-4-okso-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin. Dette 4-kloreres på vanlig måte og 4-sidekjeden innføres ved fortrengning med et passende amin. Fortrengning av 6-fluoratomet med det passende nukleofil fører til diverse forskjellige sluttprodukter. Dersom fluoratomet fortrenges med tiometoksyd, kan dette i sin tur fortrenges av alkylgrupper gjennom Ni-katalyserte Grignard-reaksjoner.

10. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & E lik karbon, med D nitrogen og R^3 lik lavere alkoksy eller halogen.

11. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & E lik karbon, med D nitrogen og R^3 lik amino.

12. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & E lik karbon, med D nitrogen og R^3 lik lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 9 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 13-15, R^4 = H

Nitrering av 2-metoksynikotinsyre etterfølges av fortrengning av den aktiverte metoksygruppen og cyklisering av pyrimidonringen, eventuelt i ett trinn med formamidin, eller alternativt i to trinn med ammoniakk og påfølgende cyklisering med en formamid-ekvivalent. Karbonylgruppen omdannes til kloridet og fortrenges med sidekjeden på vanlig måte, hvorpå nitrogruppen selektivt reduseres til amino. Denne kan alkyleres, acyleres eller diazoteres. Diazoforbindelsen kan omdannes til hydroksy eller til bromidet eller jodidet, hvoretter de sistnevnte kan underkastes en Stille-kobling for å innføre lavere alkyl, alkenyl, aryl, etc. ved R^3.

13. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og R^3 eller R^4 lik H, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

14. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og R^3 eller R^4 lik H, idet den andre utgjør amino.

15. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og R^3 eller R^4 lik H, idet den andre utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 10 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 13-15, R^3 = H

Ved denne syntese benyttes den kjente metallisering og karboksylering av 2,6-difluorpyridin med påfølgende fortrengning av 2-fluor-substituenten. Cyklisering av pyrimidonringen med formamid med påfølgende omdannelse av karbonylgruppen til klorid på vanlig måte, gir et klorfluorpyridopyrimidin. Ar(alk)ylamino-sidekjeden innføres ved fortrengning av pyrimidinets mer reaktive klor, hvoretter R^4-substituenten innføres ved fortrengning med fluorid. Ved innføringen av alkyl benyttes fortrengning av F med alkoksyd, deretter eterspaltning til pyridonet, "O-triflatering" og Stille-kobling.

Reaksjonsskjema 11 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 16 og 17-19, R^3 = RO

Dette reaksjonsskjema baserer seg på metalliseringen av 2,6-difluorpyridin på lignende måte som i Reaksjonsskjema 10. Den første metalliseringen benyttes for å innføre oksygen og den andre for å innføre karboksylsyren. Dersom det er nødvendig for å tvinge den andre metalliseringen til 5-stillingen, kan oksygenet beskyttes som den meget voluminøse TIPS-eteren, og det kan trenges sterkere baser enn LDA. Ammoniakk innføres i 2-stillingen under høye temperatur- og trykkbetingelser, hvoretter pyridonringen cykliseres og aktiveres i 4-stillingen på

vanlig måte, for deretter å fortrenges av sidekjeden i 4-stillingen. Fortrengning av 7-fluor-substituenten med en passende nukleofil, fulgt av omdannelser som beskrevet i tidligere reaksjonsskjemaer, fullfører syntesen.

16. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og R^3 og R^4 utgjør lavere alkoksy.

17. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og R^3 eller R^4 lik amino, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

18. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og R^3 eller R^4 lik lavere mono- eller dialkylamino, idet den andre utgjør lavere alkoksy.

19. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A, B & D lik karbon, med E nitrogen og R^4 lik lavere mono- eller dialkylamino, idet R^3 utgjør hydroksy.

Reaksjonsskjema 13 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 17 og 18, R^4 = RO

Nitrering av den kommersielt tilgjengelige diklornikotinsyre etterfølges av en selektiv fortrengning av det mer reaktive Cl under milde betingelser, etterfulgt av en mer tvangsstyrt fortrengning av det andre Cl i riktig rekkefølge. Den resulterende 6-alkoksy-2-amino-5-nitro-nikotinsyre cykliseres til pyrimidonet, og 4-karbonylgruppen omdannes til klor og fortrenges på vanlig måte med et passende amin for å gi 4-amino-7-alkoksy-6-nitropyrido[2,3-d]pyrimidinet. Reduksjon av nitrogruppen, eventuelt etterfulgt av alkylering eller acylering, gir de ønskede forbindelser.

Reaksjonsskjema 15 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 20-22

Reaksjon mellom et passende S-alkylisotiouroniumsalt og metoksymetylidin-malonnitril fører til en fullstendig funksjonalisert pyrimid-forløper. Det innledningsvis dannede pyrimidin kan få SEt fortrengt av R^4 enten før eller etter nitrilhydrolysen dersom fortrengning eller oksydasjon senere viser seg problematisk. Fortrengning av SEt-gruppen kan også oppnås uten en oksydasjon for å aktivere svovelet. Cyklisering av den andre pyrimidinringen etterfølges av aktivering av 4-karbonylgruppen ved "thiation" og alkylering. Selv om 7-tiogruppen ikke er fortrengt på dette tidspunkt, innføres 4-amino-sidekjeden fortrinnsvis.

20. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A & D lik karbon, med B og E nitrogen og hvor R^4 utgjør lavere alkoksy.

21. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A & D lik karbon, med B og E nitrogen og R^4 lik lavere mono- eller dialkylamino.

22. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A & D lik karbon, med B og E nitrogen og R^4 lik amino.

Reaksjonsskjema 16 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 23-25

Pterin-kjernen fremstilles ved hjelp av en veletablert fremgangsmåte. For Gruppe 23 kan pterindion-mellomproduktet O-alkyleres, og for denne og de øvrige grupper, kan pterindionet omdannes til triklorpterin og selektive fortrengninger foretas av halogenatomene i en rekkefølge som er egnet til å gi den ønskede forbindelse.

23. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B & D lik karbon, med A og E nitrogen og hvor R^3 og R^4 utgjør lavere alkoksy.

24. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B & D lik karbon, med A og E nitrogen og hvor R^3 og R^4 utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

25. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, B & D lik karbon, med A og E nitrogen og hvor R^3 eller R^4 lik lavere alkoksy, idet den andre utgjør lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 17 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 26 [3,2-d]-ringfusjon

3,H-tieno[3,2-d]pyrimid-4-on kan ved standardteknikk, fremstilles fra kommersielt tilgjengelig etyl-3-amino-tiofenkarboksylat og formamid. Omdannelse av karbonylgruppen til klorid ved hjelp av standardteknikker og påfølgende fortrengning med et passende amin, gir de ønskede tieno[3,2-d]pyrimidiner. Dersom R^4 ikke er H, kan det innføres en passende elektrofil, for eksempel nitro, for amin-baserte eller diazoterings-avledede substituenter, eller Br for Stille-koblede sluttprodukter, enten på det viste trinn eller et tidligere trinn, og denne deretter omdannes til R^4, for eksempel ved reduksjon og aminering, eller ved Stille-kobling, eller ved hjelp av andre kjente fremgangsmåter. [Denne teknikk følges også for alle de etterfølgende foretrukne kategorier som har mulighet for substitusjon på R^3 eller R^4, idet de alle inneholder elektronrike 5-leddede ringer som lett kan omdannes ved elektrofil aromatisk substitusjon]. (DMSO er dimetylsulfoksyd).

26. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et svovelatom, med D & E lik karbon, eller A & B er karbon, idet D og E sammen utgjør et svovelatom, med R^4 eller R^3 lik H, lavere alkyl, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 18 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 26 [2,3-d]-ringfusjon

Tieno[2,3-d]pyrimid-4-on fremstilles ved hjelp av Gewald-syntesen fra 2,4-dihydroksy-1,4-ditian og etyl-cyanoacetat, etterfulgt av formamid-cyklisering. Omdannelse av karbonyl til klorid ved hjelp av standardteknikk og påfølgende fortrengning med et passende amin, gir de ønskede tieno[2,3-d]pyrimidiner.

Reaksjonsskjema 19 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 27 [3,2-d]-ringfusjon

[3,2-d]-ringkondensasjonsforbindelsene oppnås fra 3-bromfurfural som vist ovenfor i Reaksjonsskjema A. Fortrengning av bromidet med azid, etterfulgt av oksydasjon av aldehydet, etablerer den grunnleggende aminofurankarboksylsyre som er nødvendig for å tilkondensere pyrimidinringen. Den viste kondensasjon kan benyttes, eller man kan benytte en rekke andre ringslutninger og eventuelle påfølgende aktiveringer av 4-stillingen ved å styre hvilket syrederivat som faktisk benyttes.

27. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et oksygenatom, med D & E lik karbon, eller A & B lik karbon, idet D og E sammen utgjør et oksygenatom, med R^4 eller R^3 lik H, lavere alkyl, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 20 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 27 [2,3-d]-ringfusjon

Reaksjon mellom 6-klor-4-metyltiopyrimidin og LDA, etterfulgt av DMF, gir det tilsvarende 5-aldehyd som så behandles med natriumsaltet av en passende glykollatester, hvorved klor fortrenges og furanringen dannes in situ ved intramolekylær aldolkondensasjon. Spaltning av esteren og dekarboksylering av den uønskede 7-syrefunksjon kan foretas ved en enkelt reaksjon med en god nukleofil i et dipolart, aprotisk løsningsmiddel ved høy temperatur, eller i egne forsåpnings- og Cu/kinolin-dekarboksyleringstrinn. Fortrengning av 4-metyltio-gruppen med et passende amin gir de ønskede furano[2,3-d]pyrimidiner.

Reaksjonsskjema 21 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 28 [2,3-d]-ringfusjon

For å fremstille pyrrolo[2,3-d]pyrimidinet cykliseres en pyrimidinring til cyanoaminopyrrolet ved å benytte kjente teknikker slik som vist i Reaksjonsskjema B ovenfor. Aktivering og fortrengning av tiolet med sidekjeden kan skje før eller etter den eventuelle elektrofile substitusjon av pyrrolringen.

28. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et nitrogenatom, med D & E lik karbon, eller A & B lik karbon, idet D og E sammen utgjør et nitrogenatom, med R^4 eller R^3 lik H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 22 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 28 [3,2-d]-ringfusjon

Fremstillingen av pyrrolo[3,2-d]pyrimidin gjør bruk av den kjente kondensasjon av ortoformiat med den surgjorte 4-metylgruppen i 6-pyrimidoner for å danne pyrrolopyrimidinet vist ovenfor. Sidekjeden kan adderes ved hjelp av standardteknikker som vist i Reaksjonsskjema 1, og R^4-substituenten kan innføres ved vanlig elektrofil-kjemi som beskrevet ovenfor.

Reaksjonsskjema 23 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 29 [5,4-d]-ringfusjon

Kondensasjon av ditiomaursyre med 2-aminomalonnitril i nærvær av et dehydratiseringsmiddel som f.eks. PPA, gir 5-amino-4-cyanotiazol. Omsetning av dette med ortoformiat etterfulgt av behandling med MeSNa, gir et tiazolo[5,4-d]pyrimidin-derivat, som etter behandling med et passende amin, gir de ønskede forbindelser.

29. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et svovelatom, med D lik karbon og E lik nitrogen, eller D og E sammen utgjør et svovelatom og A er nitrogen og B er

karbon, med $R^{3/4}$ lik H, lavere alkyl, lavere alkoksy, amino, eller lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 24 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 29 [4,5-d]-ringfusjon

Omsetning av N-cyanobismetyltiometylenimin med etyltioglykollat gir etyl-2-metyltio-4-aminotiazol-5-karboksamid. Cyklisering med formamid eller tilsvarende, etterfulgt av desulfurering av metyltiogruppen gir et tiazolopyrimidon som kan aktiveres med Vilsmeier-reagens, hvorpå kloridet kan fortrenges av det ønskede amin for å gi de ønskede tiazolo[4,5-d]pyrimidin-derivater som vist ovenfor.

Reaksjonsskjema 25 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 30 [5,4-d]-ringfusjon

Det kjente 5-amino-4-cyanooksazol behandles med etylorto-formiat/eddiksyre-anhydrid og omsettes deretter med MeSNa for å gi 4-metyltiooksazolo[5,4-d]pyrimidin, som etter fortrengning med det passende amin, gir de ønskede oksazolo[5,4-d]pyrimidiner som vist ovenfor.

30. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl og hvor enten, A og B sammen utgjør et oksygenatom, idet D er karbon og E er nitrogen, eller D og E sammen utgjør et oksygenatom og A er nitrogen og B er karbon, med $R^{3/4}$ lik H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 26 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 30 [4,5-d]-ringfusjon

Diazotering av det kjente 5-amino-4,6-diklorpyrimidin, etterfulgt av behandling med fortynnet svovelsyre, gir den tilsvarende 5-hydroksyforbindelse. Et av kloratomene fortrenges med ammoniakk, og oksazolringen tilkondenseres med maursyre eller en passende ekvivalent. Fortrengning av det andre kloratomet med et passende amin, gir de ønskede oksazolo[4,5-d]pyrimidiner som vist ovenfor.

Reaksjonsskjema 27 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 31

Disse forbindelsene kan fremstilles ved direkte fortrengning av halogen fra passende 6-klorpuriner etter velkjent teknikk. R^3-substituenter kan innføres via lett tilgjengelige elektrofile substitusjoner i purinkjernens aktiverte 8-stilling, etterfulgt av de omdannelsestyper som er diskutert i tidligere eksempler.

31. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, A og B sammen utgjør et nitrogenatom og hvor D er karbon og E er nitrogen, med $R^{3/6}$ = H og R^4 = H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 28 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 32 [5,4-d]-ringfusjon

Omsetning av 6-klor-4-metyltiopyrimidin med LDA etterfulgt av DMF, gir det tilsvarende 5-aldehyd som behandles med hydroksylamin under svakt sure betingelser og deretter under basiske betingelser for å fullføre ringslutningen som fører til 4-metyltioisooksazolo[5,4-d]pyrimidin, som etter fortrengning med et passende amin, gir de ønskede isoksazolo[5,4-d]pyrimidin-derivater som vist ovenfor.

32. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et oksygenatom, med D nitrogen og E karbon, eller A og B sammen utgjør et karbonatom med D nitrogen og E oksygen, med $R^{3/6}$ = H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 29 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 32 [4,5-d]-ringfusjon

Omsetning av 4,6-diklor-5-nitropyrimidin med CuCN/NMP gir 4-nitrilet. Reduksjon av nitrogruppen til det tilsvarende amin etterfølges av diazotering og behandling med fortynnet svovelsyre for å gi den tilsvarende 5-hydroksyforbindelse. Omsetning av denne med Me_3Al/NH_4Cl gir amidinet som

oksydativt cykliseres til 7-amino-4-klorisoksazolo[4,5-d]pyrimidin. Fjerning av aminofunksjonen ved diazotering/fosfinsyre etterfølges av fortrengning av 4-kloratomet med et passende amin, for å gi de ønskede isoksazolo[4,5-d]pyrimidin-derivater som vist ovenfor.

Reaksjonsskjema 30 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 33 [5,4-d]-ringfusjon

Omsetning av 6-klor-4-metyltiopyrimidin med LDA etterfulgt av DMF, gir det tilsvarende 5-aldehyd som behandles suksessivt med NaSH, NBS og ammoniakk, for å fullføre ringkondensasjonen som gir 4-metyltioisotiazolo[5,4-d]pyrimidin som etter fortrengning med et passende amin, gir de ønskede isotiazolo[5,4-d]pyrimidin-derivatene som vist ovenfor.

33. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et svovelatom, med D nitrogen og E karbon, eller A og B sammen utgjør et karbonatom med D nitrogen og E svovel, med $R^{3/6}$ = H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino.

Reaksjonsskjema 31 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 33 [4,5-d]-ringfusjon

Omsetning av 4,6-diklor-5-nitropyrimidin med CuCN/NMP gir 4-nitrilet. Reduksjon av nitrogruppen til aminet etterfølges av diazotrering/"tiering" for å gi den tilsvarende 5-merkaptoforbindelse. Omsetning av denne med Me_3Al/NH_4Cl gir amidinet som cykliseres oksydativt med NBS til 7-amino-4-klorisotiazolo[4,5-d]pyrimidin. Fjerning av aminfunksjonen ved diazotering/fosfinsyre etterfølges av fortrengning av 4-kloratomet med et passende amin for å gi de ønskede isotiazolo[4,3-d]pyrimidin-derivater som vist ovenfor.

Reaksjonsskjema 32 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 34 [3,4-d]-ringfusjon

Omsetning av 6-klor-4-metyltiopyrimidin med LDA, etterfulgt av DMF, gir det tilsvarende 5-aldehyd som behandles med hydrazin for å oppnå ringkondensasjonen som fører til 4-metyltiopyrazolo[3,4-d]pyrimidin som etter

fortrengning med et passende amin, gir de ønskede pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-derivater som vist ovenfor.

34. En annen foretrukket form av oppfinnelsen har X = NH, n = 0 eller 1, hvor R^1 = H, den aromatiske ring lik eventuelt substituert fenyl, og enten A og B sammen utgjør et nitrogenatom, med D nitrogen og E karbon, eller A og B sammen utgjør et karbonatom med D og E lik nitrogenatomer, med $R^{3/6}$ = H dersom på nitrogen, eller H, lavere alkoksy, amino eller lavere mono- eller dialkylamino dersom på karbon.

Reaksjonsskjema 33 -

Syntesevei til foretrukket Gruppe 34 [4,3-d]-ringfusjon

Nitrering av pyrazol-3-karboksylsyre etterfulgt av reduksjon, gir 4-aminopyrazol-3-karboksylsyre. Denne cykliseres til pyrazolo[4,3-d]pyrimid-4-on med formamidin/HCl, hvorpå fortrengning av karbonylgruppen med halogenid etter standardmetoder og påfølgende fortrengning av kloridet med et passende amin, fører til det ønskede pyrazolo[4,3-d]pyrimidin som vist ovenfor.

Mest foretrukne former ifølge oppfinnelsen

1. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, B, D & E er karbon, A er nitrogen og R^4 er amino.

2. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, B, D & E er karbon, A er nitrogen og R^4 er metylamino.

3. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, B, D & E er karbon, A er nitrogen og R^4 er dimetylamino.

4. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-nitrofenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er amino.

5. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er amino.

6. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 4-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er amino.

7. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-trifluormetylfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er amino.

8. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er acetylamino.

9. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 1, R^1 = H, den aromatiske ring er fenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen.

10. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 1, R^1 = H, den aromatiske ring er fenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er acetylamino.

11. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, B & E er karbon, D er nitrogen og R^3 er Cl.

12. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^3 er metoksy.

13. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^3 er metylamino.

14. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^3 er dimetylamino.

15. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, D & E er karbon, og A og B sammen utgjør S.

16. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 1, R^1 = H, den aromatiske ring er fenyl, D & E er karbon, og A og B sammen utgjør S.

17. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A & B er karbon, og D og E sammen utgjør S.

18. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, B er karbon, og A, samt D og E sammen, er nitrogen.

19. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er fluor.

20. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-hydroksyfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er amino.

21. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er metylamino.

22. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er dimetylamino.

23. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NMe, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er metylamino.

24. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, D & E er karbon, B er nitrogen og R^4 er metoksy.

25. En mest foretrukket form av oppfinnelsen er en form hvor X = NH, x = 0, den aromatiske ring er 3-bromfenyl, A, B & D er karbon, E er nitrogen og R^4 er fluor.

Biologi

Disse forbindelsene er potente og selektive inhibitorer av tyrosinkinasen for humane EGF-reseptorer og andre medlemmer av EGF-reseptorfamilien, inklusivt ERB-B2-, ERB-B3- og ERB-B4-reseptorkinasene, og er egnet til behandling av proliferative sykdommer hos pattedyr. Disse inhibitorene forhindrer mitogenese i celler hvor mitogenesen styres av én eller flere av denne familie av reseptorkinaser. Dette kan inkludere normale celler hvor det er ønskelig å forhindre mitogenese, som for eksempel celler transformert ved overekspresjon eller mutasjon av denne kinasefamilie som eksemplifisert ved brystkreft med dårlig prognose, hvor overekspresjon av EGFR, ERB-B2 og ERB-B3 eller mutasjon av ERB-B2 til onkoproteinet NEU er en vesentlig faktor ved cellulær transformasjon. Siden de foretrukne forbindelsene ikke er meget cytotoksiske og ikke oppviser sterkt veksthemmende egenskaper som følge av deres høye spesifisitet for inhibering av EGFR-kinasefamilien, burde de ha en vesentlig bedre toksisitetsprofil

enn de fleste anti-cancermidler og anti-proliferative medikamenter. Deres meget forskjellige virkningsmåte i forhold til vanlige anti-cancermedikamenter, burde gjøre dem anvendelige ved flerstoffbehandling, hvor synergisme med tilgjengelige midler forventes.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen har vist seg å være meget potente, reversible inhibitorer av EGF-reseptor-tyrosinkinasen, ved å binde seg med høy affinitet til kinasens adenosintrifosfat (ATP) bindingssete. Disse forbindelsene oppviser ifølge en analyse hvor man bestemmer fosforylering av et peptid fra fosforyleringssetet til proteinet PLCgamma1, et kjent EGFR-fosforyleringssubstrat, potente IC_{50}-verdier varierende fra 10 mikromolar til 50 pikomolar for enzymets tyrosinkinaseaktivitet. Disse data er vist i Tabell 1.

Biologiske data

Materialer og metoder

Rensing av epidermal vekstfaktor-reseptor-tyrosinkinase

Human EGF-reseptor-tyrosinkinase ble isolert fra A431 humane epidermoide karsinomceller, som overuttrykker EGF-reseptor, ved hjelp av følgende metoder: Celler ble dyrket i roterende flasker i 50% Delbeccos' Modifiserte Eagle og 50% HAM F-12-næringsmedium (Gibco) inneholdende 10% føtalt kalveserum. Ca. 10^9 celler ble lysert i to volumer buffer inneholdende 20 mM 2-(4**N**-[2-hydroksyetyl]piperazin-1-yl)etansulfonsyre (HEPES), pH 7,4, 5 mM etylenglykol-bis(2-aminoetyleter) N,N,N',N'-tetraeddiksyre, 1% Triton X-100, 10% glycerol, 0,1 mM natriumortovanadat, 5 mM natriumfluorid, 4 mM pyrofosfat, 4 mM benzamid, 1 mM ditiotreitol, 80 µg/mL aprotinin, 40 µg/mL leupeptin og 1 mM fenylmetylsulfonylfluorid. Etter sentrifugering ved 25.000 x g i 10 minutter, ble supernatanten likevekts-innstillet i 2 timer ved 4°C med 10 mL hvetekim-agglutinin-Sepharose som på forhånd var ekvilibrert med 50 mM HEPES, 10% glycerol, 0,1% Triton X-100 og 150 mM NaCl, pH 7,5 (ekvilibreringsbuffer). Forurensende proteiner ble vasket ut av harpiksen med 1 M NaCl i ekvilibrerings-buffer, og enzymet eluert med 0,5 M N-acetyl-1-D-glukosamin i ekvilibreringsbuffer, etterfulgt av 1 mM urea. Enzymet ble eluert med 0,1 mg/mL EGF. Reseptoren syntes ifølge bestemmelser hvor polyakrylamid-elektroforesegel ble farvet med Coomassieblått, å være homogen.

Bestemmelse av IC_{50}-verdier

Enzymmålinger for IC_{50}-bestemmelser ble foretatt i et volum på totalt 0,1 mL, inneholdende 25 mM HEPES, pH 7,4, 5 mM $MgCl_2$, 2 mM $MnCl_2$, 50 µM natriumvanadat, 5-10 ng EGF-reseptor-tyrosinkinase, 200 µM av et substratpeptid (Ac-Lys-His-LysLys-Leu-Ala-Glu-Gly-Ser-Ala-Tyr^{472}-Glu-Glu-Val-NH_2, avledet fra aminosyren (Tyr^{472} har vært vist å utgjøre én av fire tyrosiner i PLC (fosfolipaseC)-gamma 1 som fosforyleres av EGF-reseptor-tyrosinkinasen [Wahl, M.I.; Nishibe, S.; Kim, J.W.; Kim, H.; Rhee, S.G.; Carpenter, G., J. Biol. Chem., (1990), 265, 3944-3948], og peptider avledet fra den enzymsekvens som omgir dette sete, er utmerkede substrater for enzymet), samt 10 µM ATP inneholdende 1 µCi av [^{32}P]ATP og inkubert i 10 minutter ved romtemperatur. Reaksjonen ble avbrutt ved tilsetning av 2 mL 75 mM fosforsyre og blandingen sendt gjennom et 2,5 cm fosfo-cellulosefilterlag for å binde peptidet. Filteret ble vasket fem ganger med 75 mM fosforsyre og overført til et glass sammen med 5 mL scintillasjonsvæske (Ready gel Beckman).

Tabell 1

EGF-reseptor-tyrosinkinase-inhibering

Eksempel #	IC_{50}
1	8 µM
2	3,6 µM
3	1,1 µM
4	225 nM
5	1,9 µM
6	7,6 nM
7	3,1 nM
8	9,6 nM
9	405 nM
10	6,1 µM
11	194 nM
12	13 nM

Eksempel #	IC_{50}
13	250 nM
14	70 nM
15	134 nM
16	3,7 µM
17	1,55 µM
18	173 nM
19	1,8 µM
20	4,9 µM
21	1,25 µM
22	39 nM
23	840 nM
24	123 nM
25	377 nM
26	241 nM
27	10 nM
28	94 nM
29	262 nM
30	10 µM
31	15 nM
32	4,7 µM
33	130 pM
34	91 pM
35	3,1 nM
36	29 nM
37	39 nM
38	71 nM
39	590 nM
40	578 nM
41	220 nM
42	226 nM
43	10 µM
44	10 µM

Eksempel #	IC_{50}
45	2,87 µM
46	1,42 µM
47	1,67 µM
48	1,0 µM
49	2,5 µM
50	10 µM
51	1,95 µM
52	8 µM
53	1,8 µM
54	100 nM
55	400 nM
56	110 nM
57	124 nM
58	40 nM
59	2,6 nM
60	8 pM
61	6 pM
62	6,1 µM
63	6,1 µM
64	11 nM
65	5,1 µM
66	190 nM
67	6,1 µM
68	263 nM
69	7,0 µM
70	473 nM
71	11 nM
72	35 nM
73	36 nM
74	11,5 µM
75	55 nM
76	10 µM

Eksempel #	IC_{50}
77	39 nM
78	670 nM
79	6,7 nM

Celler

Swiss 3T3 musefibroblaster, A431 humane epidermoide karsinomceller og MCF-7 (Michigan Cancer Foundation human mammary carcinoma cells), SK-BR-3 (human mammary carcinoma cells), MDA-MB-231 og MDA-MB-468 (human mammary carcinoma cells) brystkarsinomer ble anskaffet fra American Type Culture Collection, Rockville, Maryland og opprettholdt som monolag i dMEM (Dulbecco's modifiserte Eagle medium)/F12, 50:50 (Gibco/BRL) inneholdende 10% føtalt storfeserum. For å oppnå kondisjonert medium, ble MDA-MB-231-celler dyrket til konfluens i en 850 cm^2 roterende flaske og mediet erstattet med 50 mL serumfritt medium. Etter 3 dager ble det kondisjonerte mediet fjernet, nedfrosset i alikvoter og benyttet som "Heregulin"-kilde for å stimulere erbB-2, 3 og 4.

Antistoffer

Monoklonale antistoffer utviklet mot PDGF- (platelet derived growth factor) reseptorer og fosfotyrosin, var fra Upstate Biotechnology, Inc., Lake Placid, NY. Anti-$pp39^{jun}$ (antistoff mot transkripsjonsfaktoren c-jun, som er et 39 kDalton fosfo-protein), og anti-EGF-reseptorantistoffer ble anskaffet fra Oncogene Science, Uniondale, NY.

Immunopresipitasjon og western blott

Celler ble dyrket til 100% konfluens i 100 mm petriskåler (Corning). Etter at cellene var behandlet i 5 minutter enten med EGF (epidermal growth factor), PDGF eller bFGF (basic fibroblast growth factor) (20 ng/mL) eller 1 mL kondisjonert medium fra MDA-MB-231-celler, ble mediet fjernet og monolaget skrapet over i 1 mL iskald lyseringsbuffer (50 mM HEPES, pH 7,5, 150 mM NaCl, 10% glycerol, 1% Triton X-100, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 10 mM natriumpyrofosfat, 30 mM p-nitrofenylfosfat, 1 mM ortovanadat, 50 mM natriumfluorid, 1 mM fenylmetylsulfonylklorid, 10 µg/mL aprotinin og 10 µg/mL

leupeptin). Lysatet ble overført til et mikrofugerør (liten sentrifuge som kan ta 1-2 mL sentrifugerør av plast), ble sedimentert på is i 15 minutter og sentrifugert i 5 minutter ved 10.000 x g. Supernatanten ble overført til et rent mikrofugerør og de angitte prøver tilsatt 5 µg antistoff. Rørene ble rotert i 2 timer ved 4°C, hvoretter 25 µL protein A-sepharose ble tilsatt og roteringen fortsatt i minst 2 timer til. Protein A-sepharosen ble vasket 5 ganger med 50 mM HEPES, pH, 7,5, 150 mM NaCl, 10% glycerol og 0,02% natriumazid. Bunnfallene ble resuspendert med 30 µL Laemmli-buffer (Laemmli, Nature, Vol. 727, s. 680-685, 1970), oppvarmet til 100°C i 5 minutter og sentrifugert for å oppnå supernatanten. Helcelle-ekstrakter ble fremstillet ved å skrape celler som vokste i brønnene i 6-brønnsplater, over i 0,2 mL kokende Laemmli-buffer. Ekstraktet ble overført til et mikrofugerør og oppvarmet til 100°C i 5 minutter. Hele supernatanten fra immunpresipitasjonen eller 35 µL av helcelle-ekstraktet, ble avsatt på en polyakrylamidgel (4-20%) og elektroforese utført etter metoden til Laemmli (Laemmli, 1970). Proteiner i gelen ble elektroforetisk overført til nitrocellulose og membranen vasket én gang i 10 mM Tris-buffer, pH 7,2, 150 mM NaCl, 0,01% Azide (TNA) og blokkert over natten i TNA inneholdende 5% bovint serumalbumin og 1% ovalbumin (blokkeringsbuffer). Membranen ble blottet i 2 timer med det primære antistoff (1 µg/mL i blokkerings-buffer) og deretter suksessivt vasket to ganger i TNA, TNA inneholdende 0,05% Tween-20 og 0,05% Nonidet P-40 (kommersielt tilgjengelig detergent) og TNA. Membranene ble deretter inkubert i 2 timer i blokkeringsbuffer inneholdende 0,1 µCi/mL av [^{125}I]protein A og deretter på nytt vasket som ovenfor. Etter at blottene var tørre, ble de plassert i en filmkassett og eksponert for X-AR røntgenfilm i 1-7 dager. Protein A er et bakterielt protein som spesifikt binder visse IgG-subtyper, og som er anvendelig ved binding til, og isolering av, antistoff-antigen-komplekser.

Northern blott

Totalt cellulært RNA ble isolert fra ubehandlede kontroll- eller behandlede Swiss 3T3-celler under bruk av RNAzol-B (varemerke tilhørende Tel Test Inc. for et sett benyttet til isolering av RNA fra vev) og følge produsentens anvisninger. 40-50 µg RNA ble avsatt på en 1% agarose gel og elektroforese foretatt ved 65 volt i 3-4 timer. RNA i gelen ble ved kapillarvirkning overført til en nylonmembran (Hybond-N, Amersham). Den 40 mer c-jun probe ble endemerket med [^{32}P]ATP

ved å benytte T4-nukleotidkinase (Promega) og renset på en G25 sephadex kolonne i henhold til fremgangsmåten anbefalt av leverandøren, Oncogene Science. Hybridisering ble foretatt over natten ved 65°C (c-jun er en umiddelbar tidlig transkripsjonsfaktor, og er den ene av komponentene av AP-1 mens FOS er den andre komponenten av AP-1).

Vekstfaktor-mediert mitogenese

Swiss 3T3-fibroblaster ble dyrket til 90-100% konfluens i 24-brønns plater (1,7 x 1,6 cm, flat bunn) og veksten stanset i serumfritt medium i 18 timer. Medikamentet ble tilsatt til nærmere angitte brønner 2 timer før vekstfaktorer og cellene deretter eksponert enten for 20 ng/mL EGF, PDGF eller bFGF eller 10% serum i 24 timer. 2 µCi av [metyl-^{3}H]-thymidin ble tilsatt til hver brønn som så ble inkubert i 2 timer ved 37°C. Cellene ble trypsinisert og injisert i 2 mL iskald 15% trikloreddiksyre (TCA). Det resulterende bunnfall ble oppsamlet på glassfiberfiltere, vasket fem ganger med 2-mL alikvoter iskald 15% TCA, tørket og overført til scintillasjonsglass sammen med 10 mL Ready gel (Beckman, Irvine, CA). Radioaktiviteten ble bestemt i en Beckman LS 6800 scintillasjonsteller.

Vekstinhiberingsbestemmelse

Celler (2 x 10^4) ble utsådd i 24-brønns plater (1,7 x 1,6 cm, flat bunn) i 2 mL medium med eller uten forskjellige medikamentkonsentrasjoner. Platene ble inkubert i 3 dager ved 37°C i fuktregulert atmosfære inneholdende 5% CO_2 i luft. Celleveksten ble bestemt ved celletelling med en Coulter Model AM elektronisk celleteller (Coulter Electronics, Inc., Hialeah, FL).

INHIBERING AV EGF-INDUSERT AUTOFOSFORYLERING I A431 EPIDERMOIDE KARSINOMCELLER OG KONDISJONERT MEDIUM-INDUSERT AUTOFOSFORYLERING I SK-BR-3 BRYSTTUMORCELLER MED FORBINDELSER IFØLGE FORELIGGENDE OPPFINNELSE

Eksempel #	EGFR IC_{50} nM	A431 IC_{50} nM	SKBR-3 IC_{50} nM
4	225	>1000	>10.000
6	7,6	53	2660
7	3,1	20	100
8	9,6	32	71
22	39	252	~1500
27	10	110	~800
59	2,6	12	<10
60	0,008	13	<10
61	0,006	21	39
70	11	124	<10
74	55	>1000	>1000

Antiproliferative egenskaper til tyrosinkinaseinhibitorer, IC_{50} (nM)

	Eksempel 60	Eksempel 61
B104-1-1	2100	1000
SK-BR-3	600	900
MDA-468	3000	12000

B104-1-1 - NIH-3T3-fibroblaster transfektert med neu-onkogenet: Stem et al., SCIENCE, 234, s. 321-324 (1987);

SK-BR-3 - Humant brystkarsinom som gir overekspresjon av erbB-2 og erbB-3;
MDA-468 - Humant brystkarsinom som gir overekspresjon av EGF-reseptoren.

Den ovenfor omtalte gel, utviklet som utførlig angitt i den eksperimentelle del, viser effekten av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse når det gjelder blokkering av visse EGF-stimulerte mitogene signaliseringer i helceller. Tallene til venstre for gelbanene angir molekylvekt-standardenes posisjoner i kiloDalton. Banen merket kontroll, viser graden av ekspresjon av det vekst-relaterte signal uten EGF-stimulering, mens banen merket EGF (eller PDGF eller b-FGF) viser størrelsen av det vekstfaktor-stimulerte signal. De øvrige baner viser effekten av de oppførte mengder av de angitte medikamenter på den målte vekstfaktor-stimulerte virkning, hvilket viser at forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse har potensielle virkninger i helceller, i overensstemmelse med deres evne til å inhibere EGF-reseptorens tyrosinkinaseaktivitet.

Gel fra Eksempel 40 (Fig. 7) påviser mRNA for c-jun ved hybridisering med en spesifikk radioaktivt merket RNA-probe for c-jun. Gelen viser at vekstfaktorene EFG, PDGF og b-FGF stimulerer c-jun-produksjon i Swiss 3T3-celler og at forbindelse 40 blokkerer denne produksjon for EGF-stimulerte celler, men ikke for PDGF- eller b-FGF-stimulerte celler.

Effekt av Eksempel 40 på vekstfaktor-mediert ekspresjon av $p39^{c\text{-}jun}$

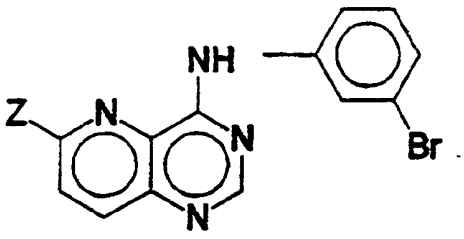
Denne gel viser mengden av c-jun indusert i Swiss 3T3-celler av vekstfaktor EGF, PDGF og b-FGF, under kvantifisering med et anti-c-jun-spesifikt monoklonalt antistoff. Det demonstrerer evnen til forbindelsene ifølge Eksempel 40 til å blokkere c-jun-ekspresjon i Swiss 3T3-celler når disse er stimulert med EGF, men ikke når de er stimulert med PDGF eller b-FGF.

Det vil være klart at de her beskrevne forbindelsene kan benyttes i kombinasjon med andre komponenter for å øke deres aktivitet. Slike ytterligere komponenter er antineoplastiske materialer som doxorubicin, taxol, cisplatin og lignende.

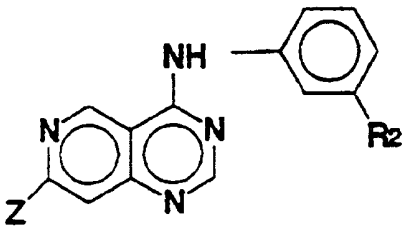
Det har vist seg at de her beskrevne forbindelsene kan inhibere både erb-B2- og erb-B4-reseptorer og derfor har betydelig høyere klinisk aktivitet som er fordelaktig i kombinasjon med de nevnte antineoplastiske midlene.

Se også resultatene vist i Figurene 1-17.

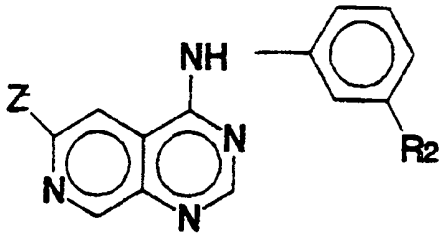
Enkelte foretrukne strukturer er de følgende:



Eks. #	Z
4	- fluor
6	- NH_2
7	- $NHCH_3$
8	- N $(CH_3)_2$



Eks. #	Z	R_2
22	NH_2	- NO_2
27	NH_2	Br



Eks. #	Z	R_2
59	- OCH_3	Br
60	- NH CH_3	Br
61	- N $(CH_3)_2$	Br

Kjemisk eksperimentell del

Nedenfor er angitt foretrukne utførelsesformer hvor alle temperaturer er i °C og alle deler utgjør vektdeler om intet annet er angitt.

Eksempel 1

4-anilinopyrido[3,2-d]pyrimidin-mesylat

3H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on. En løsning av 6-klor-3-nitropikolinamid (2,00 g, 9,91 mmol) i EtOAc/MeOH (1:1, 100 mL) hydrogeneres over 5% Pd-C (0,40 g) ved 4,2 kg/cm^2 i 6 dager med tilsetning av frisk katalysator etter 2 og 4 dager. Etter fjerning av katalysatoren ved filtrering, konsentreres løsningen til tørrhet for å gi 3-aminopikolinamid som en orange olje som benyttes direkte i det neste trinn. Råproduktet omrøres under tilbakeløpsbehandling med trietylortoformiat (50 mL) i 42 timer hvorunder det danner seg et lysebrunt bunnfall. Etter avkjøling frafiltreres faststoffet, som så vaskes grundig med petroleter og tørkes under vakuum for å gi 3H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on (1,27 g, 87%), smp. 343-345°C [Price, C.C. & Curtin, D.Y. J. Amer. Chem. Soc., 68, 914, 1946 angir smp. 346-347°C].

4-klorpyrido[3,2-d]pyrimidin. En suspensjon av det ovenfor oppnådde pyrimidinon (1,00 g, 6,80 mmol) i $POCl_3$ (30 mL) kokes under tilbakeløpskjøling i 4 timer og konsentreres deretter til tørrhet under redusert trykk. Residuet fordeles mellom CH_2Cl_2 og mettet $NaHCO_3$-løsning og det organiske lag opparbeides for å gi 4-klorpyrido[3,2-d]pyrimidin (0,97 g, 86%) som et lysebrunt faststoff, smp. 335°C (dekomp.) som benyttes uten ytterligere karakterisering.

4-anilinopyrido[3,2-d]pyrimidin-mesylat. En løsning av 4-klorpyrido[3,2-d]pyrimidin (84 mg, 0,5 mmol), anilin (56 mg, 0,6 mmol) og trietylamin (62 mg,

0,6 mmol) i EtOH (2 mL) tilbakeløpsbehandles under N_2 og omrøring i 2 timer. Den rå reaksjonsblandingen renses på en preparativ TLC-plate (silika) under eluering én gang med 3% MeOH i $CHCl_3$. Hovedbåndet ekstraheres og inndampes til tørrhet under redusert trykk og det gjenværende faststoff løses i aceton (5 mL), filtreres og tilsettes langsomt under omvirvling, metansulfonsyre (32 µL, 0,5 mmol). Bunnfallet oppsamles ved sugfiltrering, renses med aceton og tørkes i en vakuumovn for å gi 4-anilinopyrido[3,2-d]pyrimidin-mesylat (91 mg, 57%) som blekgule nåler.

^{1}H NMR (DMSO) δ 11,75 (1H, slbrs), 9,11 (1H, dd, J=1,5, 4,3Hz), 8,97 (1H, s), 8,32 (1H, dd, J=1,5, 8,4Hz), 8,12 (1H, dd, J=4,3, 8,5Hz), 7,88 (2H, d, J=8,2Hz), 7,49 (2H, t, J=8,0Hz), 7,32 (1H, t, J=7,0Hz), 2,34 (3H, s).

Eksempel 2

4-benzylaminopyrido[3,2-d]pyrimidin

En løsning av nylig fremstillet 4-klorpyrido[3,2-d]pyrimidin (0,10 g, 0,60 mmol) (fremstillet som beskrevet i foregående eksempel) og benzylamin (0,13 mL, 1,20 mmol) i propan-2-ol (15 mL) inneholdende spor av kons. HCl, oppvarmes til 50°C i 30 minutter og konsentreres deretter til tørrhet. Residuet fordeles mellom vann og EtOAc og det organiske lag opparbeides og kromatograferes på silikagel. Ved EtOAc elueres forfraksjoner mens MeOH/EtOAc (1:9) eluerer 4-(benzylamino)pyrido[3,2-d]pyrimidin (0,11 g, 77%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,67 (1H, s), 6,50 (1H, dd, J=4,3, 1,5Hz), 8,10 (1H, dd, J=8,5, 1,5Hz), 7,63 (1H, dd, J=8,8, 4,3Hz), 7,55 (1H, brs), 7,41-7,29 (5H, m), 4,86 (2H, d, J=5,9Hz).

Eksempel 3

4-(3-bromanilino)pyrido[3,2-d]pyrimidin

Omsetning av 4-klorpyrido[3,2-d]pyrimidin (fremstillet som beskrevet i et tidligere eksempel) med 3-bromanilin i propan-2-ol inneholdende spor av kons. HCl, ved 50°C i 30 minutter og deretter kromatografi av produktet på silikagel, gir 4-(3-bromfenyl)aminopyrido[3,2-d]pyrimidin (87% utbytte).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 9,19 (1H, brs), 8,83 (1H, s), 8,80 (1H, dd, J=4,3, 1,5Hz), 8,29 (1H, brs), 8,19 (1H, dd, J=8,5, 1,5Hz), 7,83 (1H, m), 7,76 (1H, dd, J=8,5, 4,3Hz), 7,29-7,27 (2H, m).

Eksempel 4

4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin

2-cyano-6-fluor-3-nitropyridin. En blanding av 6-klor-2-cyano-3-nitropyridin [Colbry, N.L.; Elslager, E.F.; Werbel, L.M.; J. Het. Chem., **1984**, 21, 1521-1525] (10,0 g, 0,054 mol) og KF (9,48 g, 0,163 mol) i MeCN (200 mL) kokes under tilbakeløpskjøling under omrøring i 18 timer og helles deretter over i vann og ekstraheres med EtOAc. Ekstraktet vaskes med vann og opparbeides og residuet kromatograferes på silikagel under eluering med EtOAc/petroleter (3:7) for etter fjerning av løsningsmidlet under redusert trykk, å gi 2-cyano-6-fluor-3-nitropyridin (7,2 g, 79%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,79 (1H, dd, J=9,0, 6,0Hz), 7,48 (1H, dd, J=9,0, 3,0Hz).

6-fluor-3-nitropyridin-2-karboksamid. En løsning av 2-cyano-6-fluor-3-nitropyridin (1,40 g, 8,39 mmol) i 90% H_2SO_4 (30 mL) oppvarmes til 70°C i 90 minutter, avkjøles deretter og helles over på is og gjøres basisk med kons. ammoniakk. Ekstraksjon med EtOAc og opparbeidning gir 6-fluor-3-nitropyridin-2-karboksamid (0,94 g, 61%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,70 (1H, dd, J=8,9, 6,5Hz), 8,30, 8,03 (1H, 1H, brs), 7,62 (1H, dd, J=8,9, 2,9Hz).

6-fluor-3H-pyrido[3,2-d]pyrimid-4-on. En løsning av 6-fluor-3-nitropyridin-2-karboksamid (1,50 g, 8,10 mmol) i EtOAc (80 mL) hydrogeneres over 5% Pd-C (0,30 g) ved 4,2 kg/cm^2 i 2 timer. Etter fjerning av katalysatoren ved filtrering, fjernes løsningsmidlet under redusert trykk for å gi et residuum av rå 3-amino-6-fluorpyridin-2-karboksamid som benyttes direkte i det neste trinn. Trietylortoformiat (60 mL) tilsettes og blandingen kokes deretter under tilbakeløpskjøling under kraftig omrøring i 18 timer. Den avkjølte blandingen fortynnes med et like stort volum petroleter og det resulterende bunnfall oppsamles ved filtrering og vaskes grundig med petroleter for å gi 6-fluor-3H-pyrido[3,2-d]pyrimid-4-on (1,26 g, 84%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 12,72 (1H, brs), 8,31 (1H, dd, J=8,6, 7,7Hz), 8,20 (1H, s), 7,66 (1H, dd, J=8,6, 3,0Hz).

4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin. En suspensjon av 6-fluor-3H-pyrido[3,2-d]pyrimid-4-on (0,20 g, 1,21 mmol) i $POCl_3$ (30 mL) kokes under tilbakeløpskjøling under omrøring til den er homogen (2 timer) og deretter i ytterligere 1 time. Overskudd av $POCl_3$ fjernes under redusert trykk og residuet fordeles mellom CH_2Cl_2 og mettet vandig $NaHCO_3$. Opparbeidning av den organiske delen gir rå 4-klor-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin (100%) som et ustabilt, hvitt faststoff som benyttes direkte i det neste trinn.

En løsning av 4-klor-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin (0,20 g, 1,1 mmol) og 3-bromanilin (0,12 mL, 2,18 mmol) i propan-2-ol (20 mL) inneholdende kons. HCl (1 dråpe) kokes under tilbakeløpskjøling i 15 minutter, avkjøles deretter, helles over i vann og ekstraheres med EtOAc. Ekstraktet opparbeides og residuet kromatograferes på silikagel under eluering med EtOAc/petroleter (1:2) for etter fjerning av løsningsmidlet under redusert trykk, å gi 4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin (0,18 g, 52%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,82 (1H, s), 8,65 (1H, brs), 8,31 (1H, t, J=7,4Hz), 8,27 (1H, brs), 7,77 (1H, m), 7,41 (1H, dd, J=8,9, 2,2Hz), 7,29 (2H, brs).

Eksempel 5

4-(3-bromanilino)-6-klorpyrido[3,2-d]pyrimidin

6-klor-3-nitropikolinamid. En løsning av 6-klor-3-nitropikolin-nitril (1,00 g, 5,45 mmol) i 90% H_2SO_4 (15 mL) oppvarmes til 70°C i 3,5 timer og helles deretter over i is-vann. Blandingen ekstraheres fire ganger med EtOAc og de kombinerte ekstraktene opparbeides for å gi 6-klor-3-nitropikolinamid (0,80 g, 73%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 8,55 (1H, d, J=8,5Hz), 8,31, 8,04 (1H, 1H, 2 brs), 7,93 (1H, d, J=8,5Hz).

6-klor-3H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on. En løsning av 6-klor-3-nitropikolinamid (0,30 g, 1,49 mmol) i EtOAc (30 mL) hydrogeneres over 5% Pd-C (0,10 g) ved 4,2 kg/cm^2 i 20 minutter. Etter fjerning av katalysatoren ved filtrering konsentreres løsningen til tørrhet for å gi 3-amino-6-klorpikolinamid som en gul olje som benyttes direkte i det neste trinn. Den løses i trietylortoformiat (30 mL) og blandingen kokes under tilbakeløpskjøling i 18 timer. Petroleter (30 mL) tilsettes til

den avkjølte løsning og det resulterende bunnfall av rå 6-klor-3H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on (0,27 g, 99%) frafiltreres og tørkes i en vakuumovn.

4-(3-bromanilino)-6-klorpyrido[3,2-d]pyrimidin. En suspensjon av det ovenfor oppnådde kinazolon (0,20 g, 1,10 mmol) i $POCl_3$ (30 mL) kokes under tilbakeløpskjøling i 3 timer og konsentreres deretter til tørrhet under redusert trykk. Residuet fordeles mellom CH_2Cl_2 og mettet $NaHCO_3$-løsning og den organiske delen opparbeides for å gi 4,6-diklorpyrido[3,2-d]pyrimidin (0,16 g, 73%) som et lysebrunt faststoff som benyttes direkte i det neste trinn. En løsning av det rå diklorpyridopyrimidin (0,16 g, 0,80 mmol) og 3-bromanilin (0,17 mL, 1,60 mmol) i propan-2-ol (25 mL) inneholdende spor av kons. HCl, oppvarmes til 50°C i 30 minutter. Den avkjølte blandingen helles over i mettet $NaHCO_3$ og ekstraheres med EtOAc og ekstraktet opparbeides og kromatograferes på silikagel. Eluering med EtOAc/petroleter (1:4) gir 3-bromanilin, mens EtOAc/petroleter (1:1) eluerer 4-(3-bromanilin)-6-klorpyrido[3,2-d]pyrimidin (0,17 g, 63%).
^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,90 (1H, brs), 8,84 (1H, s), 8,30 (1H, dd, J=2,1, 2,0Hz), 8,17 (1H, d, J=8,8Hz), 7,82-7,78 (1H, m), 7,73 (1H, d, J=8,8Hz), 7,32-7,29 (2H, m).

Eksempel 6

4-(3-bromanilino)-6-aminopyrido[3,2-d]pyrimidin

Omsetning av 4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin (0,12 g, 0,38 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) med en mettet løsning av ammoniakk i etanol i en trykkbeholder ved 100°C i 18 timer, gir 6-amino-4-(3-bromanilino)pyrido[3,2-d]pyrimidin (87 mg, 72%).
^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,76 (1H, brs), 8,64 (1H, s), 8,23 (1H, brs), 7,93 (1H, d, J=9,0Hz), 7,81 (1H, dt, J_d=7,7Hz, J_t=1,8Hz), 7,28-7,22 (2H, m), 7,00 (1H, d, J=9,0Hz), 4,90 (2H, brs).

Eksempel 7

4-(3-bromanilino)-6-metylaminopyrido[3,2-d]pyrimidin

Omsetning av 4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin (50 mg, 0,16 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) med metylamin-hydroklorid (32 mg, 0,47 mmol) og trietylamin (70 µL, 0,55 mmol) i etanol (10 mL) i en trykkbeholder

ved 100°C i 18 timer, gir 6-metylamino-4-(3-bromanilino)pyrido[3,2-d]pyrimidin (43 mg, 81%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,81 (1H, brs), 8,61 (1H, s), 8,19 (1H, t, J=1,8Hz), 7,86 (1H, d, J=9,1Hz), 7,83 (1H, dt, J_d=7,7Hz, J_t=1,8Hz), 7,28-7,21 (2H, m), 6,92 (1H, d, J=9,1Hz), 4,97 (1H, q, J=5,0Hz), 3,13 (3H, d, J=5,0Hz).

Eksempel 8

4-(3-bromanilino)-6-dimetylaminopyrido[3,2-d]pyrimidin

En blanding av 4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin (0,15 g, 0,47 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel), dimetylamino-hydroklorid (0,11 g, 1,41 mmol) og trietylamin (0,23 mL, 1,64 mmol) i EtOH (15 mL) kokes i en trykkbeholder ved 100°C i 18 timer. Løsningsmidlet fjernes under redusert trykk og residuet fordeles mellom EtOAc og vann. Den organiske delen opparbeides og residuet kromatograferes på silikagel. Eluering med EtOAc/petroleter (1:1) gir forfraksjoner, mens EtOAc eluerer 4-(3-bromanilino)-6-dimetylaminopyrido[3,2-d]pyrimidin (0,14 g, 86%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,72 (1H, brs), 8,56 (1H, s), 8,17 (1H, t, J=1,9Hz), 7,85 (1H, d, J=9,3Hz), 7,77 (1H, dt, J_d=7,5Hz, J_t=1,9Hz), 7,27-7,18 (2H, m), 7,08 (1H, d, J=9,3Hz), 3,21 (6H, s).

Eksempel 9

4-(3-bromanilino)-6-metoksypyrido[3,2-d]pyrimidin

4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,2-d]pyrimidin (beskrevet i et tidligere eksempel) (0,11 g, 0,34 mmol) tilsettes til en løsning av NaOMe (fremstillet ved tilsetning av Na-metall (31 mg, 1,38 mmol) til tørr MeOH (15 mL). Etter oppvarming i en trykkbeholder til 90°C i 3 timer konsentreres løsningen til tørrhet og residuet fordeles mellom EtOAc og vann. Opparbeidning av den organiske delen gir 4-(3-bromfenyl)-amino-6-metoksypyrido[3,2-d]pyrimidin (92 mg, 82%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,73 (1H, s), 8,66 (1H, brs), 8,18 (1H, m), 8,05 (1H, d, J=8,9Hz), 7,83-7,80 (1H, m), 7,30-7,24 (2H, m), 7,23 (1H, d, J=8,9Hz), 4,12 (3H, s).

Eksempel 10

4-anilinopyrido[4,3-d]pyrimidin

4-(N-t-butoksykarbonylamino)pyridin. Til en blanding av 4-aminopyridin (2 g, 21,24 mmol), kaliumhydroksyd (3,57 g, 63,72 mmol), vann (10 mL) og 2-metyl-2-propanol (4 mL) på is, tilsettes di-t-butyl-dikarbonat (6,95 g, 31,87 mmol). Den resulterende tofase-løsningen omrøres ved 25°C i 1 uke og tilsettes deretter vann (20 mL). Løsningen ekstraheres med 1 x CH_2Cl_2 og 2 x EtOAc. Det organiske lag tørkes ($MgSO_4$) og konsentreres under redusert trykk for å gi 4-(N-t-butoksykarbonylamino)pyridin (4,08 g, 99%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,84 (1H, s), 8,35 (2H, d, J=6Hz), 7,44 (2H, d, J=7Hz), 1,49 (9H, s).

4-(N-t-butoksykarbonylamino)nikotinsyre. n-butyllitium (2,18 M, 24 mL, 52,51 mmol) tilsettes langsomt til en løsning av 4-(N-t-butoksykarbonylamino)pyridin (4,08 g, 21 mmol) i THF (50 mL, omrørt under N_2 ved -78°C). Løsningen får oppvarmes til 0°C, omrøres i 3 timer og avkjøles deretter på nytt til -78°C og helles over i eter (100 mL) inneholdende tørris. Løsningen oppvarmes til romtemperatur under konstant omrøring. Vann tilsettes og blandingen nøytraliseres med eddiksyre. Det resulterende faststoff oppsamles ved vakuumfiltrering og tørkes i en vakuumovn for å gi 4-(N-t-butoksykarbonylamino)nikotinsyre (2,72 g, 54%) som et brunt faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 11,75 (1H, brs), 8,95 (1H, s), 8,50 (1H, d, J=6,0Hz), 8,20 (1H, d, J=6,0Hz), 1,49 (9H, s).

4-amino-nikotinsyre. En blanding av 4-(N-t-butoksy-karbonylamino)nikotinsyre (2,72 g, 11,4 mmol), TFA (10 mL) og CH_2Cl_2 (20 mL) omrøres ved romtemperatur i 12 timer. Flyktig materiale fjernes under redusert trykk og den resulterende rå 4-aminonikotinsyre benyttes direkte ved den neste omsetning.

3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-4-on. Rå 4-aminonikotinsyre (2,72 g, 11,4 mmol) i formamid (20 mL) oppvarmes til 170°C i 12 timer. Flyktig materiale

fradestilleres under redusert trykk (0,8 mmHg). Det gjenværende faststoff renses deretter under en silikagelkolonne for middels trykk under eluering med 10% MeOH i $CHCl_3$ for å gi 3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-4-on (780 mg, 47%) som et gulhvitt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 12,64 (1H, brs), 9,28 (1H, s), 8,83 (1H, d, J=5,5Hz), 8,30 (1H, s), 7,58 (1H, d, J=5,8Hz).

3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-4-tion. Fosforpentasulfid (2,59 g, 5,83 mmol) tilsettes til en løsning av 3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-4-on (780 mg, 5,3 mmol) i pyridin (5 mL). Blandingen tilbakeløpsbehandles i 5 timer. Ved avkjøling dannes et bunnfall, hvorpå supernatanten avdekanteres. Faststoffet suspenderes i vann (20 mL) og frafiltreres deretter for å gi 3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-4-tion (676 mg, 78%) som et sort faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 14,53 (1H, brs), 9,65 (1H, s), 8,84 (1H, d, J=7,0Hz), 8,32 (1H, s), 7,64 (1H, d, J=8,0Hz).

4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin. En blanding av 3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-4-tion (676 mg, 4,14 mmol), trietylamin (1,4 mL, 10,31 mmol), DMSO (4 mL) og jodmetan (0,48 mL, 7,72 mmol) omrøres i 12 timer under N_2 ved 25°C. Blandingen helles over i vann og ekstraheres med EtOAc. De organiske ekstraktene tørkes ($MgSO_4$) og løsningsmidlet fjernes under redusert trykk for å oppnå 4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (1,15 g, kvant.) som et brunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,52 (1H, s), 9,16 (1H, s), 8,95 (1H, d, J=6Hz), 7,86 (1H, d, J=8Hz), 2,75 (1H, s).

4-anilinopyrido[4,3-d]pyrimidin. En blanding av 4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (174 mg, 0,97 mmol) og anilin (186,2 mg, 1,99 mmol) i EtOH (2 mL) tilbakeløpsbehandles under N_2 i 12 timer. Avkjøling til 0°C fører til et faststoff som frafiltreres for å gi 4-anilinopyrido[4,3-d]pyrimidin (34,5 mg, 16%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,29 (1H, brs), 9,86 (1H, s), 8,82 (1H, d, J=5,8Hz), 8,72 (1H, s), 7,85 (2H, d, J=7,5Hz), 7,66 (1H, d, J=5,5Hz), 7,45 (2H, t, J=8,0Hz), 7,23 (1H, t, J=7,3Hz).

Eksempel 11

4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (171 mg, 0,96 mmol) (se foregående eksempel) og 3-bromanilin (1 mL) oppvarmes til 100°C i 2 timer. Ved avkjøling dannes et fast bunnfall som oppsamles ved vakuumfiltrering og deretter omkrystalliseres fra EtOH for å gi 4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (30 mg, 10%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,33 (1H, s), 9,86 (1H, s), 8,84 (1H, d, J=5,8Hz), 8,79 (1H, s), 8,22 (1H, s), 7,89 (1H, d, J=7,2Hz), 7,69 (1H, d, J=5,8Hz), 7,40 (2H, dt, J_d=8,0Hz, J_t=1,5Hz).

Eksempel 12

4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[4,3-d]pyrimidin

3-cyano-4,6-diaminopyridin. Rå 2-brom-3-cyano-4,6-diaminopyridin [W.J. Middleton, US-patent 2.790.806 (30. april, 1957), Du Pont; Chem. Abst. 51:P14829 (1957) se også neste eksempel] (15,1 g, 0,071 mol) hydrogeneres i THF/MeOH (200 mL, 2:1) inneholdende KOAc (7,0 g, 0,071 mol) og 5% Pd/C (4 g) ved 3,9 kg/cm^2 og 20°C i 7 dager. Filtrering over Celite, vasking med THF/MeOH og fjerning av løsningsmidlet gir et faststoff som oppløses i fortynnet HCl og vann. Justering av løsningen til pH 10 (kons. NaOH) og avkjøling gir 3-cyano-4,6-diaminopyridin (6,58 g, 69%) som et gult faststoff, smp. 197-198°C [Metzger, R.; Oberdorfer, J.: Schwager, C.; Thielecke, W.; Boldt, P. Liebigs Ann. Chem. 1980, 946-953 angir smp. (benzen) til 205°C]. Ekstraksjon av den gjenværende væske med EtOAc (4 x 200 mL) gir mer produkt (2,12 g, 22%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 7,91 (1H, s), 6,26, 6,24 (2H, 2H, brs), 5,63 (1H, s).

4,6-diamino-3-pyridylkarboksamid. 3-cyano-4,6-diaminopyridin (4,30 g, 0,032 mol) tilsettes til 90% H_2SO_4 (25 mL) og omrøres deretter ved 60-70°C i 3 timer. Den resulterende løsning tilsettes til kald kons. NaOH (40%) for å gi en blanding av 4,6-diamino-3-pyridylkarboksamid og uorganiske salter. En analytisk ren prøve oppnås ved kromatografi på aluminiumoksyd (10-50% MeOH/$CHCl_3$) for å gi et blekgult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 8,15 (1H, s), 6,91 (2H, brs), 7,7-6,3 (2H, brm), 5,78 (2H, brs), 5,56 (1H, s).

7-amino-4-okso-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin. Rå 4,6-diamino-3-pyridylkarboksamid (9,2 g) oppvarmes i renset $(EtO)_3CH$ (destillert fra Na, 60 mL) ved 170°C i 1,5 dager. Etter fjerning av løsningsmidlet oppløses residuet i varm 2 M NaOH, filtreres, nøytraliseres (kons. HCl) og avkjøles for å gi 7-amino-4-okso-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin (3,57 g, 69% fra nitrilet) som et lysebrunt faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 11,79 (1H, brs), 8,74 (1H, s), 7,97 (1H, s), 6,76 (2H, brs), 6,38 (1H, s).

7-fluor-4-okso-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin. En løsning av 7-amino-4-okso-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin (1,00 g, 6,17 mmol) i 60% HBF_4 (25 mL) behandles ved 0°C med fast $NaNO_2$ (0,85 g, 12,3 mmol, tilsatt i porsjoner i løpet av 2 timer) og omrøres deretter ved 0°C i ytterligere 1 time og ved 20°C i 30 minutter. Den resulterende blanding isavkjøles, nøytraliseres med mettet vandig Na_2CO_3 og ekstraheres med EtOAc (4 x 100 mL). Ekstraktet vaskes med vann og filtreres deretter gjennom silikagel (EtOAc) for å gi 7-fluor-4-okso-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin (0,48 g, 47%) som et kremgult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 12,69 (1H, brs), 9,01 (1H, s), 8,31 (1H, s), 7,34 (1H, s).

4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[4,3-d]pyrimidin. En suspensjon av 7-fluor-4-okso-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin (0,23 g, 1,39 mmol) i $POCl_3$ (10 mL) omrøres under tilbakeløpskjøling i 3,5 timer og konsentreres deretter under vakuum. Den resulterende olje isavkjøles, fortynnes med CH_2Cl_2 (100 mL), mettet vandig Na_2CO_3 (40 mL) og is og omrøres ved 20°C i 2 timer. CH_2Cl_2-ekstraktet fraskilles og den vandige porsjon ekstraheres videre med CH_2Cl_2 (2 x 100 mL), hvorpå de kombinerte ekstraktene tørkes (Na_2SO_4) og filtreres for å gi rå 4-klor-7-fluorpyrido[4,3-d]pyrimidin. 3-bromanilin (1,26 g, 7,35 mmol), 3-bromanilin-hydroklorid (20 mg) og tørr ispropanol (5 mL) tilsettes og den resulterende løsning konsentreres under vakuum for å fjerne CH_2Cl_2, og omrøres ved 20°C i 1 time. Etter tilsetning av fortynnet $NaHCO_3$ og vann, krystalliseres produktet. Filtrering,

vasking med vann og CH_2Cl_2 gir rent 4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[4,3-d]-pyrimidin (297 mg, 67%) som et kremgult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 10,38 (1H, brs), 9,59 (1H, s), 8,72 (1H, s), 8,17 (1H, s), 7,85 (1H, m), 7,38 (3H, m).

Eksempel 13
7-amino-4-anilinopyrido[4,3-d]pyrimidin.

4,6-diamino-2-brom-3-cyanopyridin. HBr bobles i 2 timer inn i en blanding av malon-nitril (16,3 g, 0,247 mol) og toluen (400 mL) ved 0°C. Det dannes et lysegult bunnfall. Reaksjonsblandingen oppvarmes deretter til 100°C i 2 timer under sterk gassutvikling. Etter avkjøling til romtemperatur isoleres det gule faststoff ved sugfiltrering, vaskes med toluen og lufttørkes. Faststoffet (25,96 g) blandes med vann (500 mL) og pH i suspensjonen justeres til 9~10 med NH_4OH (kons. ~ 15 mL). Etter omrøring ved romtemperatur i 1 time filtreres blandingen. Omkrystallisasjon fra EtOH fører til et gult faststoff. Etter tørking ved 60°C i en vakuumovn, oppnås 4,6-diamino-2-brom-3-cyanopyridin (12,95 g, 49%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 6,67 (2H, brs), 6,55 (2H, brs), 5,59 (1H, s).

2,4-diamino-5-cyanopyridiniumacetat. 4,6-diamino-2-brom-3-cyanopyridin (12,77 g, 60 mmol) hydrogeneres i THF/MeOH (240 mL, 2:1) inneholdende KOAc (5,9 g, 60 mmol) og 20% Pd/C (0,5 g) ved 1,3 kg/cm^2 ved 25°C i 4 timer. Blandingen filtreres gjennom Celite og løsningsmidlet inndampes under redusert trykk for å gi et faststoff (11,15 g) som omrøres med THF (100 mL) ved romtemperatur i 20 minutter. Blandingen filtreres på nytt og filtratet inndampes til tørrhet for å gi det ønskede produkt. Etter tørking i en vakuumovn oppsamles 2,4-diamino-5-cyanopyridiniumacetat (10,65 g, 92%) som et gult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 7,90 (1H, s), 6,26 (4H, brs), 5,62 (1H, s), 1,90 (3H, s).

7-amino-4-tiono-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin. En blanding av 2,4-diamino-5-cyanopyridiniumacetat (0,199 g, 1,0 mmol), trietylortoformiat (1,95 mL) og Ac_2O (1,95 mL) tilbakeløpsbehandles under N_2 under omrøring i 3 timer. Løsningsmidlet inndampes deretter og residuet løses i MeOH (10 mL) inneholdende NaOMe

(0,81 g, 15 mmol). H_2S bobles gjennom blandingen i ~ 5 minutter, hvorpå den tilbakeløpsbehandles over natten. Etter fordampning av løsningsmidlet løses residuet i varmt vann og kokes med aktivkull. Etter filtrering nøytraliseres filtratet i varm tilstand med eddiksyre for å frembringe et gult faststoff. Ved avkjøling oppsamles faststoffet ved sugfiltrering og tørkes i en vakuumovn over natten. 7-amino-4-tiono-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin (84 mg, 51%) isoleres som et lysegult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,82 (1H, s), 9,34 (1H, s), 8,37 (1H, s), 7,80 (2H, d, J=7,5Hz), 7,38 (2H, t, J=7,5Hz), 7,12 (1H, t, J=7,5Hz), 6,61 (2H, brs), 6,43 (1H, s).

7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin. NEt_3 (6 mL, 43 mmol) tilsettes til en løsning av 7-amino-4-tiono-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin (0,77 g, 4,3 mmol) i DMSO (7 mL) omrørt under N_2 ved 25°C. Etter at de to fasene var omrørt i 20 minutter tilsettes MeI (0,26 mL, 4,2 mmol). Etter 2 timer helles reaksjonsblandingen over i omrørt isvann. Faststoff dannes umiddelbart. Etter ytterligere avkjøling til 0°C oppsamles faststoffet ved sugfiltrering og tørkes i en vakuumovn for å gi 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (0,564 g, 68%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 8,98 (1H, s), 8,71 (1H, s), 6,94 (2H, brs), 6,49 (1H, s), 2,63 (3H, s).

7-amino-4-anilinopyrido[4,3-d]pyrimidin. En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (0,136 g, 0,7 mmol) og anilin (0,5 mL, 5,5 mmol) tilbakeløpsbehandles under N_2 ved 180°C i 2 timer. Reaksjonsblandingen avkjøles til 25°C hvor den utfelles. Faststoffet oppsamles ved sugfiltrering og omkrystalliseres fra isopropanol og tørkes i en vakuumovn over natten. 7-amino-4-anilinopyrido[4,3-d]pyrimidin (84 mg, 51%) isoleres som et lysegult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,82 (1H, s), 9,34 (1H, s), 8,37 (1H, s), 7,80 (2H, d, J=7,5Hz), 7,38 (2H, t, J=7,5Hz), 7,12 (1H, t, J=7,5Hz), 6,61 (2H, brs), 6,43 (1H, s).

Eksempel 14

7-amino-4-(3-hydroksyanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (299 mg, 1,56 mmol) og 3-aminofenol (1,60 g, 14,7 mmol) omrøres ved 160°C i 15 minutter.

Det resulterende produkt kromatograferes over silikagel (9% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(3-hydroksyanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (108 mg, 18%) som et blekorange faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,69 (1H, brs), 9,44 (1H, brs), 9,33 (1H, s), 8,38 (1H, s), 7,37 (1H, t, J=2,1Hz), 7,21 (1H, brd, J=8,4Hz), 7,14 (1H, t, J=8,0Hz), 6,59 (2H, brs), 6,53 (1H, ddd, J=7,9, 2,2, 0,8Hz), 6,43 (1H, s).

Eksempel 15

7-amino-4-(3-metoksyanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (226 mg, 1,18 mmol) (beskrevet i foregående eksempel) og m-anisidin (1,00 mL, 8,90 mmol) omrøres under N_2 ved 190°C i 1,5 timer. Det resulterende produkt kromatograferes over silikagel (5-7% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-(3-metoksyanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (136 mg, 43%) som et lysebrunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,78 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,40 (1H, s), 7,50 (1H, brs), 7,44 (1H, d, J=8,0Hz), 7,28 (1H, t, J=8,2Hz), 6,71 (1H, dd, J=8,2, 2,3Hz), 6,61 (2H, brs), 6,45 (1H, s), 3,77 (3H, s).

Eksempel 16

7-amino-4-(2-metoksyanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (227 mg, 1,18 mmol) og o-anisidin (1,00 mL, 8,87 mmol) omrøres under N_2 ved 180°C i 2,5 timer. Det resulterende produkt kromatograferes over silikagel (5% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-(2-metoksyanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (147 mg, 47%) som et gult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,44 (1H, brs), 9,25 (1H, s), 8,22 (1H, s), 7,54 (1H, dd, J=7,7, 1,4Hz), 7,24 (1H, ddd, J=8,1, 7,4, 1,5Hz), 7,10 (1H, dd, J=8,2, 1,2Hz), 6,98 (1H, dt, J_d=1,3Hz, J_t=7,5Hz), 6,52 (2H, brs), 6,41 (1H, s), 3,79 (3H, s).

Eksempel 17

7-amino-4-(3-aminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (307 mg, 1,60 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 3-nitroanilin (2,00 g, 14,5 mmol)

omrøres ved 200°C i 1,5 timer, hvorpå råproduktet suspenderes i MeOH/THF (4:1, 250 mL) og hydrogeneres over 5% Pd/C (2 g) ved 4,2 kg/cm^2 og 20°C i 24 timer. Løsningen filtreres gjennom Celite, vaskes grundig (varm MeOH) og absorberes deretter på aluminiumoksyd og kromatograferes på aluminiumoksyd (4-8% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(3-aminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (66 mg, 16%) som et grønt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,57 (1H, brs), 9,30 (1H, s), 8,33 (1H, s), 7,04 (1H, t, J=2,0Hz), 6,99 (1H, t, J=8,0Hz), 6,88 (1H, brd, J=8,0Hz), 6,55 (2H, brs), 6,40 (1H, s), 6,34 (1H, dd, J=7,9, 1,3Hz), 5,10 (2H, brs).

Eksempel 18

7-amino-4-(4-aminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

7-amino-4-(4-acetamidoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin. En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (138 mg, 0,72 mmol) og 4-aminoacetanilid (1,50 g, 10,0 mmol) omrøres under N_2 ved 200°C i 1 time. Det resulterende produkt kromatograferes over aluminiumoksyd (8-10% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(4-acetamidoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (110 mg, 52%) som et blekgult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,94, 9,79 (1H, 1H, 2 brs), 9,31 (1H, s), 8,34 (1H, s), 7,69 (2H, d, J=8,9Hz), 7,57 (2H, d, J=8,9Hz), 6,57 (2H, brs), 6,43 (1H, s), 2,05 (3H, s).

7-amino-4-(4-aminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin. En løsning av 7-amino-4-(4-acetamidoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (0,30 g, 1,02 mmol) i vandig NaOH (2 M, 10 mL) og MeOH (10 mL) omrøres ved 100°C i 7 timer. Det resulterende produkt kromatograferes over aluminiumoksyd (3-4% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(4-aminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (86 mg, 33%) som et orange faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,58 (1H, brs), 9,24 (1H, s), 8,25 (1H, s), 7,31 (2H, d, J=8,6Hz), 6,58 (2H, d, J=8,6Hz), 6,48 (2H, brs), 6,39 (1H, s), 5,00 (2H, brs).

Eksempel 19

7-amino-4-(3-dimetylaminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (245 mg, 1,28 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og N,N-dimetyl-1,3-fenylendiamin (1,60 g, 11,8 mmol) omrøres under N_2 ved 190°C i 1 time, hvorpå det resulterende produkt kromatograferes (to ganger) over aluminiumoksyd (3% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(3-dimetylaminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (113 mg, 32%) som et blekgult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,66 (1H, brs), 9,33 (1H, s), 8,36 (1H, s), 7,22 (1H, brd, J=7,8Hz), 7,16 (2H, m), 6,57 (2H, brs), 6,51 (1H, ddd, J=8,0, 2,3, 1,2Hz), 6,42 (1H, s), 2,91 (6H, s).

Eksempel 20

7-amino-4-(4-dimetylaminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (256 mg, 1,33 mmol) og N,N-dimetyl-1,4-fenylendiamin (1,95 g, 14,4 mmol) omrøres under N_2 ved 190°C i 20 minutter. Det resulterende produkt kromatograferes over aluminiumoksyd (3-7% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(4-dimetylaminoanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (198 mg, 53%) som et orange faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,67 (1H, brs), 9,27 (1H, s), 8,27 (1H, s), 7,51 (2H, d, J=8,9Hz), 6,75 (2H, d, J=8,9Hz), 6,51 (2H, brs), 6,39 (1H, s), 2,89 (6H, s).

Eksempel 21

7-amino-4-(2-nitroanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (220 mg, 1,15 mmol) og 2-nitroanilin (2,00 g, 14,5 mmol) oppvarmes til 100°C, hvorpå overskudd av HCl-gass tilføres til den varme omrørte løsning og blandingen omrøres ved 160°C i 20 minutter. Det resulterende produkt nøytraliseres med overskudd av $NaHCO_3$, løses i MeOH/$CHCl_3$, tørkes på silikagel og kromatograferes over silikagel (2-4% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(2-nitroanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (108 mg, 33%) som et gulbrunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,40 (1H, brs), 9,24 (1H, brs), 8,20 (1H, brs), 8,12 (1H, brs), 8,01 (2H, brs), 7,75 (1H, brs), 6,70 (2H, brs), 6,43 (1H, brs).

Eksempel 22

7-amino-4-(3-nitroanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (127 mg, 0,66 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 3-nitroanilin (1,70 g, 12,3 mmol) omrøres under N_2 ved 200°C i 1,5 timer. Det resulterende produkt kromatograferes over aluminiumoksyd (5-20% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(3-nitroanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (81 mg, 39%) som et brunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,17 (1H, brs), 9,37 (1H, s), 8,87 (1H, brs), 8,48 (1H, s), 8,33 (1H, brd, J=7,5Hz), 7,95 (1H, ddd, J=8,2, 2,1, 1,0Hz), 7,67 (1H, t, J=8,2Hz), 6,70 (2H, brs), 6,47 (1H, s).

Eksempel 23

7-amino-4-(3-fluoranilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (215 mg, 1,12 mmol) og 3-fluoranilin (1,16 g, 10,4 mmol) omrøres ved 160°C i 30 minutter. Det resulterende produkt kromatograferes over silikagel (6-7% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(3-fluoranilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (185 mg, 65%) som et hvitt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,94 (1H, brs), 9,36 (1H, s), 8,46 (1H, s), 7,91 (1H, brd, J=11,9Hz), 7,63 (1H, brd, J=8,1Hz), 7,41 (1H, dd, J=15,7, 7,7Hz), 6,93 (1H, dt, J_t=8,5Hz, J_d=2,4Hz), 6,68 (2H, brs), 6,38 (1H, s).

Eksempel 24

7-amino-4-(3-kloranilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (208 mg, 1,08 mmol) og 3-kloranilin (1,21 g, 9,48 mmol) omrøres ved 150°C i 20 minutter. Det resulterende produkt kromatograferes over aluminiumoksyd (5-10% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(3-kloranilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (177 mg, 60%) som et hvitt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,92 (1H, brs), 9,35 (1H, s), 8,45 (1H, s), 8,08 (1H, brs), 7,79 (1H, brd, J=8,0Hz), 7,40 (1H, t, J=8,1Hz), 7,16 (1H, dd, J=7,9, 1,3Hz), 6,68 (2H, brs), 6,46 (1H, s).

Eksempel 25

7-amino-4-(3,4-dikloranilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (247 mg, 1,29 mmol) og 3,4-dikloranilin (1,50 g, 9,26 mmol) omrøres ved 165°C i 30 minutter. Det resulterende produkt kromatograferes over silikagel (7-8% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(3,4-dikloranilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (252 mg, 64%) som et blekgult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,97 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,47 (1H, s), 8,29 (1H, brs), 7,86 (1H, brd, J=8,6Hz), 7,62 (1H, d, J=8,8Hz), 6,70 (2H, brs), 6,46 (1H, s).

Eksempel 26

7-amino-4-(2-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (198 mg, 1,03 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 2-bromanilin (1,00 mL, 9,18 mmol) omrøres under N_2 ved 180°C i 2,5 timer og det resulterende produkt kromatograferes på aluminiumoksyd (1% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(2-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (108 mg, 33%) som et blekgult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,91 (1H, brs), 9,27 (1H, s), 8,20 (1H, s), 7,73 (1H, d, J=7,9Hz), 7,50 (1H, m), 7,44 (1H, t, J=6,9Hz), 7,25 (1H, m), 6,59 (2H, brs), 6,42 (1H, s).

Eksempel 27

7-amino-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (167 mg, 0,87 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 3-bromanilin (0,75 mL, 7,8 mmol) omrøres under N_2 ved 190°C i 2,5 timer, hvoretter bunnfallet som oppstår ved avkjøling omkrystalliseres fra Pr^iOH.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,91 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,45 (1H, s), 8,19 (1H, s), 7,84 (1H, d, J=8,0Hz), 7,34 (1H, t, J=8,0Hz), 7,29 (1H, d, J=8,2Hz), 6,68 (2H, brs), 6,45 (1H, s).

Eksempel 28

7-amino-4-(4-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (261 mg, 1,36 mmol) og 4-bromanilin (1,00 g, 5,81 mmol) omrøres under N_2 ved 200°C i 15 minutter. Det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (10-15% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-(4-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (200 mg, 46%) som et blekgult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,88 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,40 (1H, s), 7,83 (2H, d, J=8,8Hz), 7,55 (2H, d, J=8,8Hz), 6,64 (2H, brs), 6,44 (1H, s).

Eksempel 29

7-amino-4-(3-jodanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (72 mg, 0,37 mmol) og 3-jodanilin (1,25 g, 5,71 mmol) omrøres ved 160°C i 30 minutter. Det resulterende produkt kromatograferes over silikagel (5-7% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(3-jodanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (83 mg, 61%) som lysebrune rosetter.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,84 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,44 (1H, s), 8,30 (1H, brs), 7,90 (1H, dd, J=7,9, 0,8Hz), 7,47 (1H, d, J=7,7Hz), 7,18 (1H, t, J=8,0Hz), 6,66 (2H, brs), 6,46 (1H, s).

Eksempel 30

7-amino-4-(2-trifluormetylanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (300 mg, 1,56 mmol), 2-aminobenzotrifluorid-hydroklorid (1,00 g, 5,06 mmol) og 2-aminobenzotrifluorid (2,00 g, 12,4 mmol) omrøres ved 160°C i 10 minutter. Det resulterende produkt nøytraliseres med overskudd av $NaHCO_3$, løses i MeOH/$CHCl_3$, tørkes på silikagel og kromatograferes over silikagel (6-7% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(2-trifluormetylanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (194 mg, 41%) som et kremgult faststoff, smp. (MeOH/$CHCl_3$/petroleter) 126-130°C (dekomp.).

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,60 (1H, brs), 9,17 (1H, brs), 8,13 (1H, brs), 7,76, 7,69 (1H, 1H, m, m), 7,45 (2H, m), 6,66 (2H, brs), 6,36 (1H, s).

Eksempel 31

7-amino-4-(3-trifluormetylanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (234 mg, 1,22 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 3-aminobenzotrifluorid (2,00 mL, 16,0 mmol) omrøres under N_2 ved 190-200°C i 2 timer, hvorpå det resulterende produkt kromatograferes over silikagel (5-10% EtOH/EtOAc), og deretter over aluminuiumoksyd (5-7% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(3-trifluormetylanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (157 mg, 42%) som et kremgult faststoff. ^{1}H NMR (DMSO) δ 10,04 (1H, s), 9,37 (1H, s), 8,46 (1H, s), 8,31 (1H, s), 8,19 (1H, d, J=8,2Hz), 7,62 (1H, t, J=8,0Hz), 7,45 (1H, d, J=7,7Hz), 6,69 (2H, brs), 6,47 (1H, s).

Eksempel 32

7-amino-4-(4-trifluormetylanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (390 mg, 2,03 mmol), 4-aminobenzotrifluorid-hydroklorid (0,40 g, 2,02 mmol) og 4-aminobenzotrifluorid (1,61 g, 10,0 mmol) omrøres ved 180°C i 2 minutter. Det resulterende produkt nøytraliseres med overskudd av $NaHCO_3$, løses i MeOH/$CHCl_3$, tørkes på aluminiumoksyd og kromatograferes over aluminiumoksyd (4-7% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(4-trifluormetylanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (390 mg, 63%) som et kremgult faststoff. Analytisk rent materiale ble oppnådd ved ytterligere kromatografering over silikagel (5% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi blekgule nåler. ^{1}H NMR (DMSO) δ 10,09 (1H, brs), 9,40 (1H, s), 8,48 (1H, s), 8,13 (2H, d, J=8,2Hz), 7,74 (2H, d, J=8,7Hz), 6,72 (2H, brs), 6,40 (1H, s).

Eksempel 33

4-(3-bromanilino)-7-metylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-fluor-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (74 mg, 0,23 mmol), trietylamin (7 mL, 50 mmol) og metylamin-hydroklorid (3,0 g, 44 mmol) i isopropanol (30 mL) i en stålreaktor, omrøres ved 95°C (oljebad) i 5 timer. Den resulterende blanding konsentreres under vakuum, gjøres basisk med

vandig Na_2CO_3, fortynnes med vann og ekstraheres med EtOAc (3 x 100 mL). Kromatografi av ekstraktet på silikagel (3% MeOH/CH_2Cl_2) gir 4-(3-bromanilino)-7-metylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin (50 mg, 65%) som et blekgult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,93 (1H, brs), 9,37 (1H, s), 8,47 (1H, s), 8,18 (1H, s), 7,84 (1H, d, J=7,8Hz), 7,34 (1H, t, J=7,9Hz), 7,30 (1H, brd, J=8,1Hz), 7,19 (1H, q, J=4,7Hz), 6,35 (1H, s), 2,85 (3H, d, J=4,8Hz).

Eksempel 34

4-(3-bromanilino)-7-dimetylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-fluor-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (101 mg, 0,32 mmol), trietylamin (4,4 mL, 32 mmol) og dimetylamin-hydroklorid (2,58 g, 32 mmol) i isopropanol (30 mL) i en stålreaktor, omrøres ved 100°C (oljebad) i 4 timer. Den resulterende løsning konsentreres under vakuum, gjøres basisk med vandig Na_2CO_3 og fortynnes med vann for å gi et faststoff. Filtrering og omkrystallisering fra MeOH/$CHCl_3$ gir 7-dimetylamino-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (102 mg, 94%) som et blekgult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,93 (1H, brs), 9,42 (1H, s), 8,48 (1H, s), 8,19 (1H, s), 7,85 (1H, d, J=7,7Hz), 7,35 (1H, t, J=7,9Hz), 7,30 (1H, brd, J=7,8Hz), 6,53 (1H, s), 3,16 (6H, s).

Eksempel 35

4-[N-(3-bromfenyl)-N-metylamino]-7-metylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-fluor-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (100 mg, 0,31 mmol), trietylamin (4,4 mL, 32 mmol) og metylamin-hydroklorid (2,12 g, 32 mmol) i isopropanol (30 mL) i en stålreaktor, omrøres ved 100°C (oljebad) i 5 timer. Den resulterende blanding konsentreres under vakuum, gjøres basisk med vandig Na_2CO_3, fortynnes med vann og ekstraheres med EtOAc (3 x 100 mL). Kromatografi av ekstraktet på silikagel (1-2% MeOH/CH_2Cl_2) gir 4-[N-(3-bromfenyl)-N-metylamino]-7-metylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin (23 mg, 21%) som et blekgult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 8,14 (1H, s), 7,79 (1H, s), 7,30 (1H, t, J=8,0Hz), 7,20 (1H, ddd, J=7,9, 1,8, 0,8Hz), 7,03 (1H, brq, J=4,9Hz), 7,01 (1H, t, J=1,9Hz), 6,82 (1H, ddd, J=7,8, 1,8, 0,9Hz), 6,25 (1H, s), 3,40 (3H, s), 2,73 (3H, d, J=4,9Hz).

Eksempel 36

7-acetylamino-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (0,154 g, 0,49 mmol), eddiksyreanhydrid (0,14 mL, 1,5 mmol), trietylamin (0,14 mL, 1,0 mmol) og en katalytisk mengde 4-(N,N-dimetylamino)pyridin omrøres under N_2 ved romtemperatur i 18 timer. Reaksjonen avbrytes deretter ved tilsetning av isvann. Det mørke bunnfallet oppsamles ved Büchner-filtrering og renses ved preparativ TLC (Rf = 0,25, 7% MeOH/$CHCl_3$). Omkrystallisasjon fra EtOH gir 7-acetylamino-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (13,5 mg, 7,7%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,92 (1H, s), 10,22 (1H, s), 9,64 (1H, s), 8,70 (1H, s), 8,28 (1H, s), 8,21 (1H, s), 7,88 (1H, d, J=7,7Hz), 7,41-7,34 (3H, m), 2,16 (3H, s).

Eksempel 37

4-(3-bromanilino)-7-metoksypyrido[4,3-d]pyrimidin

En løsning av 7-fluor-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (100 mg, 0,31 mmol) i 1 M natriummetoksyd-metanol (30 mL) omrøres under tilbakeløpsbetingelser i 42 timer. Den resulterende blanding konsentreres under redusert trykk, fortynnes med vann og nøytraliseres med fortynnet HCl for å gi 7-metoksy-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (92 mg, 89%) som et hvitt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,22 (1H, brs), 9,57 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,19 (1H, s), 7,86 (1H, brd, J=7,9Hz), 7,39 (1H, t, J=7,9Hz), 7,35 (1H, dd, J=7,9, 1,5Hz), 6,96 (1H, s), 4,00 (3H, s).

Eksempel 38

4-benzylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin

4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (160,4 mg, 0,902 mmol) og benzylamin (106,3 mg, 0,992 mmol) i EtOH (2 mL) oppvarmes til 80°C i 12 timer hvoretter løsningsmidlet fjernes under redusert trykk. Det resulterende faststoff suspenderes i CH_2Cl_2 og filtreres, og det resulterende faststoff renses ved preparativ TLC på silika under eluering med 5% MeOH i $CHCl_3$. Fjerning av løsningsmidlet under redusert trykk fører til 4-benzylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin (36 mg, 17%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,60 (1H, s), 9,37 (1H, t, J=5,8Hz), 8,72 (1H, d, J=5,8Hz), 8,57 (1H, s), 7,54 (1H, d, J=5,8Hz), 7,37 (2H, d, J=7,0Hz), 7,33 (2H, t, J=7,3Hz), 7,25 (1H, t, J=7,2Hz), 4,81 (2H, d, J=5,8Hz).

Eksempel 39

4-([R]-1-fenyletylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (85 mg, 0,48 mmol) og EtOH (2,5 mL) tilsettes dråpevis R-metylbenzylamin (0,13 mL, 1,0 mmol). Den resulterende blanding tilbakeløpsbehandles ved 80°C i 20 timer. Løsningsmidlet fjernes under redusert trykk for å gi en olje som krystalliseres fra MeOH for å gi 4-([R]-1-fenyletylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (41,6 mg, 35%), smp. 138-138,5°C.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,77 (1H, d, J=0,7Hz), 9,00 (1H, d, J=7,7Hz), 8,73 (1H, d, J=5,8Hz), 8,54 (1H, s), 7,53 (1H, dd, J=5,8, 0,5Hz), 7,45 (2H, d, J=7,2Hz), 7,33 (2H, t, J=7,6Hz), 7,23 (1H, tt, J=7,5, 1,2Hz), 5,63 (1H, p, J=7,2Hz), 1,61 (3H, t, J=7,0Hz).

Eksempel 40

7-amino-4-benzylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 2,4-diamino-5-cyanopyridiniumacetat (8,78 g, 45 mmol), maursyre (10,66 g, 0,204 mol) og benzylamin (45 mL, 0,41 mol) oppvarmes til 200°C under N_2 i 2 timer. Etter avkjøling størkner blandingen. Vann (500 mL) tilsettes og den gummiaktige faststoff/vann-blanding omrøres i ~20 minutter ved 0°C. Væsken avdekanteres. Faststoffet vaskes med vann og omkrystalliseres deretter fra isopropanol (25 mL). Etter tørking i en vakuumovn over natten oppnås 7-amino-2-benzylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin (8,29 g, 73%) som et lysegult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,10 (1H, s), 8,85 (1H, t, J=5,8Hz), 8,25 (1H, s), 7,21-7,36 (5H, m), 6,46 (2H, brs), 6,35 (1H, s), 4,74 (2H, d, J=6,0Hz).

Eksempel 41

7-amino-4-([R]-1-fenyletylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av [R]-1-fenyletylamino (0,072 mL, 0,55 mmol) og 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (97 mg, 0,5 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel)

oppvarmes til 180°C under N_2 i 1,5 timer. Reaksjonsblandingen avkjøles til romtemperatur, hvilket gir et bunnfall. Blandingen tilsettes til vann og $CHCl_3$, ultralydbehandles og filtreres. Fasene skilles og den vandige fase ekstraheres med $CHCl_3$. De kombinerte ekstraktene vaskes med vann, mettet saltvann og tørkes ($MgSO_4$). Løsningsmidlet fjernes under redusert trykk og residuet renses ved å benytte preparativ TLC (5% MeOH/$CHCl_3$) og omkrystallisasjon fra $CHCl_3$ for å gi 7-amino-4-([R]-1-fenyletylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (14,5 mg, 11%), smp. 231,8-232,1°C.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,23 (1H, s), 8,50 (1H, d, J=8,0Hz), 8,19 (1H, s), 7,41 (2H, d, J=7,0Hz), 7,31 (2H, t, J=8,0Hz), 7,21 (1H, tt, J=7,4, 1,2Hz), 6,45 (2H, s), 6,33 (1H, s), 5,56 (1H, p, J=7,2Hz), 1,55 (3H, d, J=7,0Hz).

Eksempel 42

7-amino-4-(2-aminobenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (136 mg, 0,71 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 2-aminobenzylamin (1,70 g, 13,8 mmol) i isopropanol (5 mL) omrøres under tilbakeløpsbetingelser i 1 time, hvorpå det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (7-20% EtOH/EtOAc) og aluminiumoksyd (6-10% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(2-aminobenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (89 mg, 47%) som et hvitt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,08 (1H, s), 8,68 (1H, t, J=5,8Hz), 8,26 (1H, s), 7,05 (1H, d, J=7,4Hz), 6,96 (1H, t, J=7,6Hz), 6,63 (1H, d, J=7,9Hz), 6,51 (1H, t, J=7,4Hz), 6,46 (2H, brs), 6,35 (1H, s), 5,20 (2H, brs), 4,56 (2H, d, J=5,8Hz).

Eksempel 43

7-amino-4-(3-dimetylaminobenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (236 mg, 1,23 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 3-dimetylamino-benzylamin (1,36 g, 9,07 mmol) i isopropanol (5 mL) omrøres under N_2 under tilbakeløpsbetingelser i 1 time og det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (10-15% EtOH/EtOAc) og deretter på aluminiumoksyd (1% EtOH/$CHCl_3$) for å gi 7-amino-4-(3-dimetylaminobenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (145 mg, 40%) som et hvitt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,11 (1H, s), 8,79 (1H, t, J=5,9Hz), 8,26 (1H, s), 7,11 (1H, dd, J=8,0, 7,7Hz), 6,73 (1H, brs), 6,63 (1H, d, J=7,6Hz), 6,60 (1H, dd, J=8,1, 2,2Hz), 6,44 (2H, brs), 6,35 (1H, s), 4,67 (2H, d, J=5,8Hz), 2,86 (6H, s).

Eksempel 44

7-amino-4-(3-nitrobenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (228 mg, 1,19 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 3-nitrobenzylamin (0,81 g, 5,33 mmol) omrøres under N_2 ved 150-160°C i 1,5 timer og det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (5-10% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-(3-nitrobenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (151 mg, 43%) som et gult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,11 (1H, s), 8,98 (1H, t, J=5,5Hz), 8,26 (1H, s), 8,22 (1H, brs), 8,12 (1H, dd, J=8,0, 1,8Hz), 7,83 (1H, d, J=7,7Hz), 7,63 (1H, t, J=7,9Hz), 6,50 (2H, brs), 6,38 (1H, s), 4,85 (2H, d, J=5,8Hz).

Eksempel 45

7-amino-4-(3-metoksybenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (136 mg, 0,71 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 3-metoksybenzylamin (1,37 g, 10,0 mmol) i isopropanol (3 mL) omrøres under N_2 og tilbakeløpsbetingelser i 3 timer. Fordampning av løsningsmidlet og kromatografi på silikagel (5-10% EtOH/EtOAc) gir 7-amino-4-(3-metoksybenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (153 mg, 77%) som et hvitt faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,11 (1H, s), 8,83 (1H, t, J=5,7Hz), 8,26 (1H, s), 7,24 (1H, dt, J_d=0,8Hz, J_t=8,1Hz), 6,92 (2H, m), 6,81 (1H, dt, J_d=8,2Hz, J_t=1,2Hz), 6,46 (2H, brs), 6,37 (1H, s), 4,71 (2H, d, J=5,8Hz), 3,73 (3H, s).

Eksempel 46

7-amino-4-(4-klorbenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin-mesylat

Den frie base (56 mg, 0,20 mmol) (fremstillet fra 2,4-diamino-5-cyanopyridiniumacetat, maursyre og 4-klorbenzylamin ved 200°C, som beskrevet i et tidligere eksempel, utfelles fra aceton-løsning med metansulfonsyre (105 µL, 0,23 mmol) for å gi et polymesylatsalt.

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,59 (1H, t, J=5,6Hz), 9,24 (1H, s), 8,69 (1H, s), 7,42 (4H, s), 6,42 (1H, s), 5,8 (~6H, vbrs), 4,89 (2H, d, J=5,8Hz), 2,41 (~7,5H, s).

Eksempel 47

7-amino-4-(2-brombenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrmidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (225 mg, 1,17 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 2-brombenzylamin (0,84 g, 4,52 mmol) omrøres under N_2 ved 140°C i 1 time og det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (1-5% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-(2-brombenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (175 mg, 45%) som et lysebrunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,16 (1H, s), 8,85 (1H, t, J=5,7Hz), 8,24 (1H, s), 7,64 (1H, d, J=7,8Hz), 7,34 (1H, dd, J=7,7, 7,1Hz), 7,31 (1H, dd, J=7,7, 2,4Hz), 7,21 (1H, ddd, J=7,8, 6,9, 2,4Hz), 6,50 (2H, brs), 6,39 (1H, s), 4,74 (2H, d, J=5,7Hz).

Eksempel 48

7-amino-4-(3-brombenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (228 mg, 1,19 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og 3-brombenzylamin (0,84 g, 4,52 mmol) omrøres under N_2 ved 140°C i 1 time. Det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (2-10% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-[(3-bromfenyl)metylamino]pyrido[4,3-d]pyrimidin (203 mg, 52%) som et lysebrunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,09 (1H, s), 8,86 (1H, t, J=5,8Hz), 8,26 (1H, s), 7,54 (1H, s), 7,44 (1H, d, J=7,8Hz), 7,36 (1H, d, J=7,6Hz), 7,29 (1H, t, J=7,7Hz), 6,48 (2H, s), 6,37 (1H, s), 4,73 (2H, d, J=5,8Hz).

Eksempel 49

7-amino-4-(4-brombenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (234 mg, 1,22 mmol) ((beskrevet i et tidligere eksempel) og 4-brombenzylamin (0,84 g, 4,52 mmol) omrøres under N_2 ved 140°C i 1 time og det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (10% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-(4-brombenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (192 mg, 48%) som et kremgult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,09 (1H, s), 8,87 (1H, t, J=5,7Hz), 8,25 (1H, s), 7,51 (2H, d, J=8,3Hz), 7,31 (2H, d, J=8,3Hz), 6,46 (2H, brs), 6,37 (1H, s), 4,70 (2H, d, J=5,8Hz).

Eksempel 50

7-amino-4-(2-trifluormetylbenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (225 mg, 1,17 mmol) og 2-(trifluormetyl)benzylamin (0,90 mL, 6,42 mmol) omrøres under N_2 ved 150°C i 1 time. Det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (5% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-(2-trifluormetylbenzyl)aminopyrido[4,3-d]pyrimidin (0,22 g, 59%) som et hvitt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,16 (1H, s), 8,88 (1H, t, J=5,7Hz), 8,23 (1H, s), 7,75 (1H, d, J=7,7Hz), 7,62 (1H, t, J=7,5Hz), 7,50 (1H, d, J=7,4Hz), 7,47 (1H, t, J=7,6Hz), 6,51 (2H, brs), 6,39 (1H, s), 4,92 (2H, d, J=5,5Hz).

Eksempel 51

7-amino-4-(3-trifluormetylbenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (225 mg, 1,17 mmol) og 3-(trifluormetyl)benzylamin (0,63 mL, 4,40 mmol) omrøres under N_2 ved 140°C i 1 time. Det resulterende produkt kromatograferes på silikagel (3-5% EtOH/EtOAc) for å gi 7-amino-4-[(3-trifluormetylfenyl)metylamino]pyrido[4,3-d]pyrimidin (0,24 g, 63%) som et lysebrunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,10 (1H, s), 8,92 (1H, t, J=5,7Hz), 8,26 (1H, s), 7,71 (1H, s), 7,66 (1H, d, J=7,4Hz), 7,62 (1H, d, J=7,8Hz), 7,57 (1H, t, J=7,6Hz), 6,49 (2H, brs), 6,38 (1H, s), 4,82 (2H, d, J=5,8Hz).

Eksempel 52

7-amino-4-(4-trifluormetylbenzylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (225 mg, 1,17 mmol) og 4-(trifluormetyl)benzylamin (0,63 mL, 4,42 mmol) omrøres under N_2 ved 140°C i 1 time. Det resulterende produkt kromatograferes på aluminiumoksyd (5-10% EtOH/$CHCl_3$) og deretter på silikagel (2-10% EtOH/EtOAc) for å gi 7-

amino-4-[(4-trifluormetylfenyl)metylamino]pyrido[4,3-d]pyrimidin (0,21 g, 56%) som et lysebrunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,12 (1H, s), 8,94 (1H, t, J=5,8Hz), 8,24 (1H, s), 7,69 (2H, d, J=8,1Hz), 7,56 (2H, d, J=8,1Hz), 6,48 (2H, brs), 6,38 (1H, s), 4,82 (2H, d, J=5,8Hz).

Eksempel 53

7-amino-4-(tien-2-ylmetylamino)[4,3-d]pyrimidin-dimesylat

Forbindelsen oppnås fra 2,4-diamino-5-cyanopyridiniumacetat (190 mg, 0,98 mmol), maursyre (0,23 g, 4,4 mmol) og tienylmetylamin (1,07 mL, 10 mmol) som beskrevet i et tidligere eksempel. Råproduktet omdannes til et dimesylatsalt som tidligere beskrevet og omkrystalliseres fra Pr^{i}OH for å gi 7-amino-4-(tien-2-ylmetylamino)pyrido[4,3-d]pyrimidin-dimesylat i 19% utbytte.

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,67 (1H, t, J=5,8Hz), 9,21 (1H, s), 8,77 (1H, s), 7,48 (1H, dd, J=5,1, 1,2Hz), 7,16 (1H, dd, J=3,4, 0,7Hz), 7,02 (1H, dd, J=4,8, 3,4Hz), 6,42 (1H, s), 5,06 (2H, d, J=5,7Hz), 2,41 (6H, s).

Eksempel 54

7-acetylamino-4-benzylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin

7-acetylamino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin. Acetylklorid (0,70 mL, 9,84 mmol) tilsettes til en løsning av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (0,20 g, 1,04 mmol) (beskrevet i et tidligere eksempel) og Et_3N (1,51 mL, 10,8 mmol) i THF ved 0°C, hvoretter blandingen omrøres ved 20°C i 4 timer. Vann (50 mL) tilsettes og løsningen ekstraheres med EtOAc (3 x 50 mL). Inndampning og kromatografi på aluminiumoksyd (1% EtOH/$CHCl_3$) fører til 7-acetylamino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (0,12 g, 49%) som et gult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 11,05 (1H, s), 9,30 (1H, s), 9,02 (1H, s), 8,38 (1H, s), 2,71 (3H, s), 2,18 (3H, s).

7-acetylamino-4-benzylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin. En blanding av 7-acetylamino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (0,40 g, 1,71 mmol) og benzylamin (?,0 mL, 9,15 mmol) omrøres under N_2 ved 140°C i 1 time og det resulterende

produkt kromatograferes på silikagel (EtOAc) for å gi 7-acetylamino-4-benzylaminopyrido[4,3-d]pyrimidin (0,31 g, 62%) som et hvitt faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 10,79 (1H, s), 9,42 (1H, s), 9,23 (1H, t, J=5,8Hz), 8,49 (1H, s), 8,18 (1H, s), 7,39 (1H, dt, J_d=6,9Hz, J_t=1,7Hz), 7,34 (1H, tt, J=7,3, 1,7Hz), 7,25 (1H, tt, J=7,1, 1,7Hz), 4,80 (2H, d, J=5,8Hz), 2,15 (3H, s).

Eksempel 55
4-anilinopyrido[3,4-d]pyrimidin

4-karboksamidonikotinsyre. 3,4-pyridin-dikarboksylsyre-anhydrid (8,3 g, 55,6 mmol) tilsettes til kons. NH_4OH (12 mL) i H_2O (60 mL) som omrøres ved 0°C i 5 minutter. Etter tilsetning dannes en pasta som omrøres i 1 time ved romtemperatur. Den hvite pasta spyles med N_2 i 30 minutter og fortynnes med H_2O (10 mL) for å danne en klar løsning. Deretter bobles SO_2 gjennom løsningen i 15 minutter, hvilket reduserer dens pH til 2. Etter avkjøling frafiltreres det resulterende faststoff som så renses med H_2O og ovnstørkes for å gi 4-karboksamidonikotinsyre (7 g, 76%) som et hvitt faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 8,93 (1H, s), 8,76 (1H, d, J=5,0Hz), 8,08 (1H, s), 7,62 (1H, s), 7,45 (1H, d, J=5,0Hz).

Isokinolinsyreimid. 4-karboksamidonikotinsyre (280 mg, 1,68 mmol) oppvarmes ufortynnet til 200°C i 5 timer, hvilket fører til isokinolinsyreimid (177,2 mg, 71%) som et hvitt faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 11,68 (1H, s), 9,12-9,03 (2H, m), 7,80 (1H, d, J=5,1Hz).

3-amino-isonikotinsyre. Brom (1,71 g) tilsettes til 10% KOH (30 mL) på is. Den resulterende løsning tilsettes til finmalt isokinolinsyreimid (1,46 g, 9,86 mmol). Etter tilsetning begynner blandingen å skumme. Når alt faststoffet er løst opp tilsettes vandig KOH (15%, 7 mL) og blandingen oppvarmes til 80°C i 1 minutt og avkjøles deretter. Blandingen nøytraliseres med SO_2 og avkjøles til 0°C inntil utfelling inntrer. Faststoffet oppsamles ved sugfiltrering og vaskes med H_2O og tørkes i en vakuumovn for å gi 3-amino-isonikotinsyre (485 mg, 36%) som et hvitt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,5-8,8 (2H, brs), 8,20 (1H, s), 7,70 (1H, d, J=5Hz), 7,46 (1H, d, J=5Hz).

3H-pyrido[3,4-d]pyrimid-4-on. En blanding av 3-amino-isonikotinsyre (485 mg, 3,51 mmol) i formamid (3 mL) oppvarmes til 160°C i 12 timer. Etter avkjøling frafiltreres det resulterende faststoff og vaskes med H_2O og tørkes i en vakuumovn for å gi 3H-pyrido[3,4-d]pyrimid-4-on (373 mg, 72%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 12,60 (1H, brs), 9,06 (1H, s), 8,68 (1H, d, J=5,3Hz), 8,23 (1H, s), 7,96 (1H, d, J=5,1Hz).

4-tiopyrido[3,4-d]pyrimidin. Fosforpentasulfid (1,25 g, 2,74 mmol) tilsettes til en løsning av 3H-pyrido[3,4-d]pyrimid-4-on (366 mg, 2,49 mmol) i pyridin (4 mL). Blandingen tilbakeløpsbehandles i 4 timer under N_2. Den resulterende sorte tjære løses i H_2O og det dannes et faststoff. Faststoffet frafiltreres og vaskes med H_2O og tørkes i en vakuumovn for å gi 4-tiopyrido[3,4-d]pyrimidin (369,8 mg, 91%) som et gult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 14,48 (1H, brs), 9,13 (1H, s), 8,70 (1H, d, J=5,4Hz), 8,29 (1H, s), 8,27 (1H, d, J=5,4Hz).

4-metyltiopyrido[3,4-d]pyrimidin. En blanding av 4-tiopyrido[3,4-d]pyrimidin (369,8 mg, 2,26 mmol), trietylamin (0,6 mL, 4,5 mmol), DMSO (2 mL) og jodmetan (0,24 mL, 3,96 mmol) omrøres under N_2 ved 25°C i 12 timer. Blandingen helles over i H_2O og det resulterende faststoff frafiltreres og tørkes i en vakuumovn for å gi 4-metyltiopyrido[3,4-d]pyrimidin (222 mg, 55%) som et brunt faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,51 (1H, s), 9,18 (1H, s), 8,79 (1H, d, J=8Hz), 7,97 (1H, d, J=8Hz).

4-anilinopyrido[3,4-d]pyrimidin. En blanding av 4-metyltiopyrido[3,4-d]pyrimidin (75 mg, 0,42 mmol) og anilin (1 mL) oppvarmes til 100°C under N_2 i 2 timer. Reaksjonsblandingen kromatograferes deretter på silikagel ved bruk av MPLC og eluering med et gradientsystem ($CHCl_3$ til 5% MeOH i $CHCl_3$). Fraksjonene konsentreres under redusert trykk og det resulterende faststoff

omkrystalliseres fra Et_2O for å gi 4-anilinopyrido[3,4-d]pyrimidin (21,2 mg, 23%) som et gult faststoff.

^1H NMR (DMSO) δ 10,09 (1H, s), 9,18 (1H, s), 8,74 (1H, d, J=5,3Hz), 8,46 (1H, d, J=5,8Hz), 7,89 (2H, d, J=8,5Hz), 7,45 (2H, t, J=7,9Hz), 7,21 (1H, t, J=7,4Hz).

Eksempel 56

4-(3-bromanilino)pyrido[3,4-d]pyrimidin

En blanding av 4-metyltiopyrido[3,4-d]pyrimidin (75 mg, 0,42 mmol) (se tidligere eksempel) og 3-bromanilin (1 mL) oppvarmes til 100°C under N_2 i 2 timer. Reaksjonsblandingen kromatograferes deretter på silika ved bruk av MPLC og eluering med et gradientsystem ($CHCl_3$ til 5% MeOH i $CHCl_3$). Fraksjonene konsentreres under redusert trykk og det resulterende faststoff omkrystalliseres fra Et_2O for å gi 4-(3-bromanilino)pyrido[3,4-d]pyrimidin (66 mg, 52,7%) som et lysebrunt faststoff.

^1H NMR (DMSO) δ 10,15 (1H, s), 9,21 (1H, s), 8,80 (1H, s), 8,76 (1H, d, J=5,8Hz), 8,44 (1H, d, J=5,6Hz), 8,25 (1H, s), 7,93 (1H, d, J=7,7Hz), 7,45-7,37 (2H, m).

Eksempel 57

4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,4-d]pyrimidin

5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-fluorpyridin. 5-amino-2-fluorpyridin fremstilles ved hydrogenering (Pd/C) av 2-fluor-5-nitropyridin (oppnådd fra 2-klor-5-nitropyridin ved omsetning med KF i MeCN med Ph_4PBr [J.H. Clark & D.J. Macquarrie, Tetrahedron Lett., **1987**, **28**, 111-114]. Omsetning av det rå amin med t-Boc-anhydrid gir 5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-fluorpyridin.

^1H NMR ($CDCl_3$) δ 8,07 (1H, s), 8,05 (1H, m), 6,89 (1H, dd, J=9,2, 3,3Hz), 6,66 (1H, m), 1,52 (9H, s).

5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-fluorpyridin-4-karboksylsyre. Omsetning av 5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-fluorpyridin (5,3 g, 25 mmol) suksessivt med n-BuLi og CO_2 som beskrevet i det etterfølgende eksempel, gir 5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-fluorpyridin-4-karboksylsyre (1,60 g, 25%).

^1H NMR (DMSO) δ 9,83 (1H, brs), 8,84 (1H, s), 7,49 (1H, d, J=2,9Hz), 1,47 (9H, s).

5-amino-2-fluorpyridin-4-karboksylsyre. Omsetning av 5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-fluorpyridin-4-karboksylsyre (1,0 g, 3,9 mmol) med TFA som beskrevet ovenfor, gir 5-amino-2-fluorpyridin-4-karboksylsyre (0,46 g, 74%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 7,85 (1H, d, J=1,5Hz), 7,23 (1H, d, J=2,5Hz).

6-fluor-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-4-on. Omsetning av 5-amino-2-fluorpyridin-4-karboksylsyre med formamid ved 140°C som ovenfor, ga 6-fluor-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-4-on (~20%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 12,48 (1H, m), 8,74 (1H, s), 8,16 (1H, s), 7,63 (1H, d, J=3Hz).

4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,4-d]pyrimidin. Omsetning av 6-fluor-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-4-on (0,60 g, 3,6 mmol) med $POCl_3$ etterfulgt av omsetning av den rå 4,6-dihalogenforbindelse med 3-bromanilin, gir 4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,4-d]pyrimidin (0,73 g, 63%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 10,09 (1H, brs), 8,96 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,25 (2H, m), 7,90 (1H, brd, J=6,5Hz), 7,44-7,34 (2H, m).

Eksempel 58

4-(3-bromanilino)-6-klorpyrido[3,4-d]pyrimidin

5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-klorpyridin. En blanding av 5-amino-2-klorpyridin (12,86 g, 0,1 mol), di-tert-butyldikarbonat (24,0 g, 0,11 mol) og Et_3N (12,1 g, 1,12 mol) i CH_2Cl_2 (150 mL) kokes under tilbakeløpskjøling i 12 timer og avkjøles, hvoretter bunnfallet frafiltreres. Det organiske lag vaskes med vann, tørkes ($CaCl_2$) og filtreres gjennom et kort kolonne av aluminiumoksyd. Fjerning av løsningsmidlet fører til 5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-klorpyridin (11,9 g, 52%).
^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,31 (1H, d, J=2,9Hz), 7,94 (1H, dd, J=8,6, 2,6Hz), 7,24 (1H, d, J=8,7Hz), 7,15 (1H, m), 1,51 (9H, s).

5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-klorpyridin-4-karboksylsyre. En løsning av 5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-klorpyridin (22,87 g, 0,1 mol) og TMEDA (47 mL, 0,31 mol) i tørr Et_2O (600 mL) avkjøles til -78°C og n-BuLi (10 M i

heksaner, 30 mL, 0,3 mol) tilsettes dråpevis. Løsningen får oppvarmes til -10°C og holdes ved denne temperatur i 2 timer før den på nytt avkjøles til -78°C. Tørr CO_2 bobles deretter inn og den resulterende blanding får oppvarmes til 20°C, hvorpå reaksjonen avbrytes med vann (300 mL) inneholdende litt NH_4OH. Det resulterende vandige lag vaskes med EtOAc og surgjøres langsomt med fortynnet HCl for å utfelle 5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-klorpyridin-4-karboksylsyre (15,5 g, 57%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,00 (1H, s), 9,13 (1H, s), 7,74 (1H, s), 1,47 (9H, s).

5-amino-2-klorpyridin-4-karboksylsyre. En omrørt suspensjon av 5-[N-(tert-butoksykarbonyl)amino]-2-klorpyridin-4-karboksylsyre (1,91 g, 7 mmol) i CH_2Cl_2 (200 mL) behandles langsomt med trifluoreddiksyre inntil den blir homogen (ca. 12 mL). Løsningen omrøres over natten og ekstraheres med fortynnet NH_4OH, hvorpå det vandige lag surgjøres med fortynnet HCl for å gi et bunnfall av 5-amino-2-klorpyridin-4-karboksylsyre (1,05 g, 87% utbytte).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,01 (2H, m), 8,03 (1H, s), 7,48 (1H, s).

6-klor-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-4-on. En løsning av 5-amino-2-klorpyridin-4-karboksylsyre (8,1 g, 4,7 mmol) i formamid (100 mL) omrøres ved 140°C i 12 timer. Fortynning av den avkjølte blandingen med vann gir et bunnfall av 6-klor-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-4-on (7,3 g, 86% utbytte).

^{1}H NMR (DMSO) δ 12,73 (1H, m), 8,90 (1H, d, J=0,7Hz), 8,23 (1H, s), 7,97 (1H, d, J=0,7Hz).

4,6-diklorpyrido[3,4-d]pyrimidin. En omrørt suspensjon av 6-klorpyrido[3,4-d]pyrimidin-4-on (1,82 g, 10 mmol) i $POCl_3$ (10 mL) oppvarmes under tilbakeløpskjøling inntil oppløsning (ca. 2 timer) og i ytterligere 30 minutter. Overskudd av reagens fjernes under redusert trykk og residuet behandles med en blanding av CH_2Cl_2 og iskald vandig Na_2CO_3. Det resulterende organiske lag tørkes (Na_2SO_4) og inndampes for å gi et kvantitativt utbytte av rå, ustabil, 4,6-diklorpyrido[3,4-d]pyrimidin som benyttes direkte i det neste trinn.

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 9,38 (1H, d, J=0,5Hz, 9,19 (1H, s), 8,09 (1H, d, J=0,5Hz).

4-(3-bromanilino)-6-klorpyrido[3,4-d]pyrimidin. En blanding av det ovenfor oppnådde rå diklorpyrimidin og 3-bromanilin (3,8 g, 22 mmol) løses i i-PrOH (100 mL). En dråpe kons. HCl tilsettes for å starte reaksjonen, hvorpå blandingen kokes under tilbakeløpskjøling i 30 minutter, avkjøles og fortynnes med vann for å utfelle 4-(3-bromanilino)-6-klorpyrido[3,4-d]pyrimidin (1,26 g, 38% utbytte).

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,12 (1H, s), 9,03 (1H, s), 8,77 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,21 (1H, s), 7,89 (1H, d, J=8,1Hz), 7,43-7,32 (2H, m).

Eksempel 59

4-(3-bromanilino)-6-metoksypyrido[3,4-d]pyrimidin

Behandling av 4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,4-d]pyrimidin (se tidligere eksempel) ved 100°C i en trykkbeholder, med natriummetoksyd i metanol gir 4-(3-bromanilino)-6-metoksypyrido[3,4-d]pyrimidin.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,93 (1H, s), 8,94 (1H, s), 8,61 (1H, s), 8,26 (1H, brs), 7,94 (1H, brd, J=7,6Hz), 7,88 (1H, s), 7,43-7,32 (2H, m), 4,01 (3H, s).

Eksempel 60

4-(3-bromoanilino)-6-metylaminopyrido[3,4-d]pyrimidin

Behandling av 4-(3-bromoanilino)-6-fluorpyrido[3,4-d]pyrimidin (0,20 g, 0,63 mmol) (se et tidligere eksempel) ved 100 °C i en trykkbeholder, med metylamin i etanol etterfulgt av kromatografi på aluminiumoksyd (CH_2Cl_2/MeOH, 99:1) gir 4-(3-bromoanilino)-6-metylaminopyrido[3,4-d]pyrimidin (0,07 g, 34%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,69 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,41 (1H, s), 8,21 (1H, brs), 7,93 (1H, brd, J=7,6 Hz), 7,41-7,28 (2H, m), 7,06 (1H, s), 6,82 (1H, q, J=5,0 Hz), 4,95 (3H, d, J=5,0 Hz).

Eksempel 61

4-(3-bromoanilino)-6-dimetylaminopyrido[3,4-d]pyrimidin

Behandling av 4-(3-bromoanilino)-6-fluorpyrido[3,4-d]pyrimidin (se et tidligere eksempel) ved 100 °C i en trykkbeholder, med dimetylamin i etanol gir 4-(3-bromoanilino)-6-dimetylaminopyrido[3,4-d]pyrimidin.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,71 (1H, s), 8,83 (1H, s), 8,43 (1H, s), 8,21 (1H, brs), 7,94 (1H, brd, J=7,5 Hz), 7,42-7,29 (2H, m), 7,26 (1H, s), 3,17 (6H, s).

Eksempel 62

4-(benzylamino)pyrido[3,4-d]pyrimidin

En blanding av 4-metyltiopyrido[3,4-d]pyrimidin (74 mg, 0,41 mmol) (se et tidligere eksempel) og benzylamin (1 mL) oppvarmes til 100°C i 2 timer. Etter avkjøling konsentreres blandingen under redusert trykk og renses direkte ved preparativ TLC på silikagel under eluering med CH_2Cl_2 for å gi 4-(benzylamino)pyrido[3,4-d]pyrimidin (21,2 mg, 20%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,21 (1H, t, J=5,8 Hz), 9,19 (1H, s), 8,63 (1H, d, J=5,8 Hz), 8,58 (1H, s), 8,20 (1H, d, J=5,1 Hz), 7,41-7,30 (4H, m), 7,26 (1H, t, J=7,1 Hz).

Eksempel 63

4-(3-bromanilino)pyrido[2,3-d]pyrimidin

3H-pyrido[2,3-d]pyrmidin-4-on. 2-amino-nikotinsyre (15 g, 108,6 mmol) i formamid (35 mL) oppvarmes til 165-170°C i 3,5 timer. Etter avkjøling utfelles et faststoff. Faststoffet frafiltreres og vaskes med H_2O og tørkes i en vakuumovn for å gi 3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-on (7,87 g, 49,4%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 12,50 (1H, s), 8,97 (1H, dd, J=1,9, 4,5 Hz), 8,53 (1H, dd, J=2,1, 7,9 Hz), 8,34 (1H, s), 7,57 (1H, dd, J=4,6, 8,0 Hz).

4-tiopyrido[2,3-d]pyrimidin. Fosforpentasulfid (6 g, 13,5 mmol) tilsettes til en løsning av 3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-on (2 g, 13,5 mmol) i pyridin (50 mL). Blandingen tilbakeløpsbehandles i 3 timer. Etter avkjøling dannes et faststoff og pyridinet avdekanteres. Faststoffet suspenderes i H_2O (20 mL), hvoretter det filtreres og tørkes i en vakuumovn for å gi 4-tiopyrido[2,3-d]pyrimidin (1,72 g, 78%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,06 (1H, dd, J=1,9, 4,3 Hz), 8,90 (1H, dd, J=1,9, 8,2 Hz), 8,36 (1H, s), 7,65 (1H, dd, J=4,3, 8,2 Hz).

4-metyltiopyrido[2,3-d]pyrimidin. En blanding av 4-tiopyrido[2,3-d]pyrimidin (100 mg, 0,76 mmol), trietylamin (154 mg, 1,52 mmol), DMSO (2 mL)

og jodmetan (161 mg, 1,14 mmol) omrøres i 12 timer ved 25°C. Blandingen helles over i H_2O og ekstraheres med EtOAc. De kombinerte ekstraktene vaskes med vann, mettet saltvann og tørkes ($MgSO_4$) og løsningsmidlet fjernes under redusert trykk for å gi 4-metyltiopyrido[2,3-d]pyrimidin (134 mg, kvant.).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,25 (1H, dd, J=1,8, 4,2Hz), 9,17 (1H, s), 8,59 (1H, dd, J=1,9, 8,2Hz), 7,75 (1H, dd, J=4,3, 8,2Hz), 2,73 (3H, s).

En blanding av 4-metyltiopyrido[2,3-d]pyrimidin (157 mg, 0,89 mmol) og 3-bromanilin (1 mL) oppvarmes til 100°C i 2 timer. Etter avkjøling dannes et bunnfall som frafiltreres og deretter vaskes med EtOH og lufttørkes for å gi 4-(3-brom-anilino)pyrido[2,3-d]pyrimidin (55,5 mg, 20%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,13 (1H, s), 9,11 (1H, dd, J=1,7, 4,3Hz), 9,01 (1H, dd, J=1,7, 8,2Hz), 8,81 (1H, s), 8,22 (1H, s), 7,90 (1H, d, J=7,7Hz), 7,71 (1H, dd, J=4,3, 8,0Hz), 7,40 (2H, m).

Eksempel 64

4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimidin

2,6-difluornikotinsyre. 2,6-difluorpyridin (7,89 mL, 0,087 mmol) tilsettes dråpevis under N_2 ved 78°C til en omrørt løsning av litiumdiisopropylamid (59,0 mL av en 1,5 N løsning i cykloheksan, 0,089 mmol) i THF (250 mL). Etter 2 timer ved 78°C sendes en strøm av tørr CO_2 gjennom løsningen, hvorpå blandingen fortynnes med vann og vaskes med EtOAc. Den vandige delen nøytraliseres med 3 N HCl, ekstraheres med EtOAc og opparbeides for å gi 2,6-difluornikotinsyre (13,4 g, 97%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 8,59 (1H, dd, J=9,2, 8,2Hz), 7,30 (1H, dd, J=8,2, 2,1Hz), 4,03 (1H, brs).

2,6-difluornikotinamid. En løsning av 2,6-difluornikotinsyre (7,4 g, 0,046 mmol) og $SOCl_2$ (20 mL) i 1,2-dikloretan (60 mL) inneholdende DMF (1 dråpe) kokes under tilbakeløpskjøling i 4 timer og konsentreres deretter til tørrhet under redusert trykk. Residuet løses i Et_2O (100 mL), avkjøles til 0°C og behandles dråpevis med konsentrert ammoniakk (10,0 mL, 0,17 mmol). Etter 10

minutter vaskes løsningen med vandig $NaHCO_3$ og opparbeides for å gi 2,6-difluornikotinamid (5,61 g, 76%).

^1H NMR ($CDCl_3$) δ 8,70 (1H, dd, J=9,6, 8,3Hz), 7,00 (1H, ddd, J=8,3, 2,9, 1,1Hz), 6,71, 6,55 (1H, 1H, 2 brs).

2-amino-6-fluornikotinamid. En løsning av 2,6-difluornikotinamid (4,68 g, 0,029 mmol) i tørr formamid (30 mL) mettes med ammoniakk og får stå ved romtemperatur i 24 timer. Vann (50 mL) tilsettes og det resulterende bunnfall frafiltreres og vaskes grundig med vann for å gi 6-amino-2-fluornikotinamid (1,41 g, 31%), smp. 236-237°C.

^1H NMR (DMSO) δ 7,89 (1H, dd, J=10,4, 8,4Hz), 7,31, 7,16 (1H, 1H, 2 brs), 6,93 (2H, brs), 6,36 (1H, dd, J=8,4, 2,4Hz).

Filtrat og vaskevæsker kombineres og ekstraheres fullstendig med EtOAc og ekstraktet kromatograferes på silikagel. EtOAc/petroleter (1:1) eluerer forfraksjoner, mens EtOAc/petroleter (2:1) og deretter EtOAc gir 2-amino-6-fluornikotinamid (1,57 g, 35%), smp. (EtOAc/petroleter) 199-200°C [Rogers, R.B. et al., US-patent 4.383.851, angir smp. 198-200°C].

^1H NMR (DMSO) δ 8,13 (1H, dd, J=10,4, 8,4Hz), 7,90, 7,30 (1H, 1H, 2 brs), 7,65 (2H, brs), 6,23 (1H, dd, J=8,4, 2,6Hz).

En suspensjon av 2-amino-6-fluornikotinamid (0,74 g, 4,77 mmol) i trietylortoformiat (25 mL) kokes under tilbakeløpskjøling i 8 timer. Etter avkjøling til romtemperatur frafiltreres bunnfallet og vaskes grundig med petroleter for å gi 7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimid-4(3H)-on (0,76 g, 96%).

^1H NMR (DMSO) δ 12,75 (1H, brs), 8,66 (1H, dd, J=10,4, 8,4Hz), 8,38 (1H, s), 7,33 (1H, dd, J=8,4, 2,6Hz).

4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimidin. En suspensjon av 7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimid-4(3H)-on (0,20 g, 1,21 mmol) i $POCl_3$ (10 mL) kokes under tilbakeløpskjøling i 2 timer. Flyktig materiale fjernes under redusert trykk og residuet fordeles mellom vandig $NaHCO_3$ og EtOAc. Det organiske ekstraktet opparbeides for å gi rå 4-klor-7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimidin som benyttes direkte i den neste reaksjon. En løsning av dette produktet (0,20 g, 1,09 mmol) og 3-bromanilin (0,23 mL, 2,18 mmol) i propan-2-ol (1,0 mL) og THF (10 mL)

inneholdende spor av kons. HCl, omrøres ved 20°C i 1 time og konsentreres deretter til tørrhet. Residuet løses i EtOAc, vaskes med vandig $NaHCO_3$ og opparbeides for å gi en olje som kromatograferes på silikagel. Eluering med EtOAc/petroleter (1:5) gir 3-bromanilin, mens EtOAc/petroleter (1:1) eluerer 4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimidin (0,18 g, 47%), smp. (MeOH) 211-213°C. ^{1}H NMR (DMSO) δ 10,18 (1H, brs), 9,17 (1H, t, J=8,6Hz), 8,80 (1H, s), 8,17 (1H, t, J=1,8Hz), 7,85 (1H, dt, J_d=7,6Hz, J_t=1,8Hz), 7,53 (1H, dd, H=8,6, 2,7Hz), 7,41-7,34 (2H, m).

Eksempel 65

7-amino-4-(3-bromanilino)pyrido[2,3-d]pyrimidin

En løsning av 4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimidin (0,20 g, 0,63 mmol) i EtOH (20 mL) mettes med ammoniakk og oppvarmes til 100°C i en trykkbeholder i 30 timer. Løsningsmidlet fjernes under redusert trykk for å gi 7-amino-4-(3-bromanilino)pyrido[2,3-d]pyrimidin (0,18 g, 90%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,97 (1H, brs), 8,59 (1H, s), 8,51 (1H, d, J=9,3Hz), 8,11 (1H, sl brs), 7,77 (1H, brd, J=6,3Hz), 7,44 (2H, brs), 7,37-7,30 (2H, m), 6,81 (1H, d, J=9,3Hz).

Eksempel 66

4-(3-bromanilino)-7-metylaminopyrido[2,3-d]pyrimidin

En løsning av 4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimidin (se et tidligere eksempel) (0,20 g, 0,63 mmol), metylamin-hydroklorid (0,13 g, 1,88 mmol) og Et_3N (0,30 mL, 2,19 mmol) i EtOH (15 mL) oppvarmes til 100°C i en trykkbeholder i 18 timer. Løsningsmidlet fjernes under redusert trykk og residuet fordeles mellom EtOAc og vann. Opparbeidning av det organiske lag gir 4-(3-bromanilino)-7-(metylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidin (0,16 g, 77%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,53 (1H, s), 8,54 (1H, s), 8,41 (1H, d, J=8,1Hz), 8,17 (1H, t, J=1,8Hz), 7,83 (1H, dd, J=8,0, 1,9Hz), 7,66 (1H, brs), 7,32 (1H, t, J=8,0Hz), 7,24 (1H, dd, J=8,0, 1,8Hz), 6,77 (1H, d, J=8,1Hz), 2,92 (3H, d, J=4,8Hz).

Eksempel 67

4-(3-bromanilino)-7-dimetylaminopyrido[2,3-d]pyrimidin

Omsetning av 4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimidin (se et tidligere eksempel) (0,12 g, 0,38 mmol) med dimetylamin-hydroklorid (92 mg, 1,13 mmol) og Et_3N (0,18 mL, 1,32 mmol) i EtOH (15 mL) ved 100°C i 18 timer i en trykkbeholder, etterfulgt av fordampning av løsningsmidlet og opparbeidning, gir 4-(3-bromanilino)-7-(dimetylamino)pyrido[2,3-d]pyrimidin (0,11 g, 84%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,58 (1H, brs), 8,56 (1H, d, J=9,3Hz), 8,54 (1H, s), 8,18 (1H, t, J=1,9Hz), 7,84 (dt, J_d=8,0Hz, J_t=1,9Hz), 7,33 (1H, dd, J=8,1, 8,0Hz), 7,25 (1H, dt, J_d=9,3Hz, J_t=1,9Hz), 7,10 (1H, d, J=9,3Hz), 3,18 (6H, s).

Eksempel 68

4-(3-bromanilino)-7-metoksypyrido[2,3-d]pyrimidin

En løsning av 4-(3-bromanilino)-7-fluorpyrido[2,3-d]pyrimidin (0,26 g, 0,81 mmol) og natriummetoksyd (fremstillet fra 75 mg natrium, 3,26 mmol) i tørr MeOH (15 mL) oppvarmes til 90°C i en trykkbeholder i 18 timer. Blandingen helles over i vann og ekstraheres med EtOAc for å gi 4-(3-bromanilino)-7-metoksypyrido[2,3-d]pyrimidin (0,23 g, 86%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,88 (1H, brs), 8,82 (1H, d, J=8,9Hz), 8,71 (1H, s), 8,18 (1H, dd, J=8,0, 1,9Hz), 7,36 (1H, dd, J=8,1, 8,0Hz), 7,29 (1H, ddd, J=8,1, 1,9, 1,9Hz), 7,15 (1H, d, J=8,9Hz), 4,01 (3H, s).

Eksempel 69

4-benzylamino-7-metylaminopyrimido[4,5-d]pyrimidin

S-etylisotiuroniumjodid. En løsning av tiourea (3,80 g, 50 mmol) og jodetan (4 mL, 50 mmol) i MeOH (100 mL) tilbakeløpsbehandles i 24 timer. Løsningsmidlet fordampes under redusert trykk og den gjenværende lysegule olje tørkes under vakuum, hvorved den umiddelbart størkner. Den ønskede forbindelse (13,98 g) oppnås kvantitativt.

4-amino-5-cyano-2-etyltiopyrimidin. En suspensjon av NaOMe (2,7 g, 50 mmol) i EtOH (200 mL) tilsettes til en blanding av S-etylisotiourea-hydrojodid (11,58 g, 50 mmol), etoksymetylidenmalon-nitril (6,1 g, 50 mmol) og etanol (250

mL) ved 25°C. Reaksjonsblandingen tilbakeløpsbehandles under N_2 i 2 timer, hvorpå løsningen konsentreres på en varm plate inntil utfelling iakttas. Etter avkjøling oppsamles faststoffet ved sugfiltrering og omrøres i vann ved 25°C. Filtrering og tørking i vakuumovn fører til 4-amino-5-cyano-2-etyltiopyrimidin (4,02 g, 45%) som et brunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 8,45 (1H, s), 7,90 (2H, brs), 3,00 (2H, q, J=7,3Hz), 1,27 (3H, t, J=7,3Hz).

4-amino-2-etyltiopyrimidin-5-karboksamid. 4-amino-5-cyano-2-etyltiopyrimidin (4,0 g, 22,3 mmol) tilsettes til svovelsyre (kons. 4,3 mL) i små porsjoner. Blandingen omrøres deretter under N_2 ved 40°C i 1,5 timer. Reaksjonen avbrytes med isvann og NH_4OH benyttes for å justere pH til ~9. Faststoffet oppsamles ved sugfiltrering og tørkes i en vakuumovn over natten. 4-amino-2-etyltiopyrimidin-5-karboksamid (2,58 g, 58%) oppnås som et lysebrunt faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 8,52 (1H, s), 7,98 (2H, brs), 7,42 (2H, brs), 3,04 (2H, q, J=7,3Hz), 1,27 (3H, t, J=7,3Hz).

4-okso-7-etyltio-3H-pyrimido[4,5-d]pyrimidin. En blanding av 4-amino-2-etyltiopyrimidin-5-karboksamid (4,66 g, 23,5 mmol) og trietylortoformiat (150 mL) tilbakeløpsbehandles under N_2 i 24 timer og avkjøles deretter til 25°C. Det brune faststoffet isoleres ved sugfiltrering og tørkes i en vakuumovn for å gi 4-okso-7-etyltio-3H-pyrimido[4,5-d]pyrimidin (3,54 g, 72%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 12,80 (1H, s), 9,20 (1H, s), 8,45 (1H, s), 3,18 (2H, q, J=7,4Hz), 1,35 (3H, t, J=7,4Hz).

4-tiono-7-etyltio-3H-pyrimido[4,5-d]pyrimidin. En blanding av 4-okso-7-etyltio-3H-pyrimido[4,5-d]pyrimidin (1,33 g, 6,7 mmol), P_2S_5 (1,48 g, 6,6 mmol) og pyridin (15 mL) tilbakeløpsbehandles under N_2 i 3 timer. Pyridinet fordampes deretter under redusert trykk og residuet løses i NaOH-løsning (0,5 M, 75 mL) og kokes med aktivkull. Etter filtrering nøytraliseres filtratet med eddiksyre for å frembringe et gyldenbrunt faststoff. Büchner-filtrering og tørking i en vakumovn fører til 4-tiono-7-etyltio-3H-pyrimido[4,5-d]pyrimidin (1,42 g, 95%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,47 (1H, s), 8,46 (1H, s), 3,20 (2H, q, J=7,3Hz), 1,35 (3H, t, J=7,3Hz).

7-etyltio-4-metyltiopyrimido[4,5-d]pyrimidin. Den samme fremgangsmåte som beskrevet for 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin i Eksempel 21 benyttes.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,52 (1H, s), 9,15 (1H, s), 3,23 (2H, q, J=7,3Hz), 2,72 (3H, s), 1,38 (3H, t, J=7,3Hz).

4-benzylamino-7-etyltiopyrimido[4,5-d]pyrimidin. Den samme fremgangsmåte som beskrevet for 7-amino-4-anilinopyrido[4,3-d]pyrimidin i Eksempel 21 benyttes.

4-benzylamino-7-metylaminopyrimido[4,5-d]pyrimidin. 4-benzylamino-7-etyltiopyrimido[4,5-d]pyrimidin i EtOH inneholdende overskudd av metylamin, oppvarmes til 150°C i en stålreaktor i 5 timer. Faststoffet frafiltreres og tørkes for å gi 4-benzylamino-7-metylaminopyrimido[4,5-d]pyrimidin.

Eksempel 70

4-benzylamino-7-hydrazinopyrimido[4,5-d]pyrimidin

4-benzylamino-7-etyltio-pyrimido[4,5-d]pyrimidin i EtOH inneholdende overskudd av hydrazin, oppvarmes til 150°C i en rustfri stålreaktor i 5 timer. Faststoffet frafiltreres og tørkes for å gi 4-benzylamino-7-hydrazinopyrimido[4,5-d]-pyrimidin.

Eksempel 71

4-(3-bromanilino)tieno[3,2-d]pyrimidin-hydroklorid

3H-tieno[3,2-d]pyrimid-4-on. En blanding av metyl-3-aminotiofen-2-karboksylat (1 g, 6,3 mmol) og formamid (2 g) oppvarmes til 240°C i 10 minutter. Etter avkjøling dannes et bunnfall. Dette løses i EtOH og filtreres. Filtratet konsentreres under redusert trykk og residuet renses ved kromatografi på silikagel

under eluering med 10% MeOH i CH_2Cl_2 for å gi 3H-tieno[3,2-d]pyrimid-4-on (249 mg, 26%) som et faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 12,61 (1H, brs), 8,20 (1H, s), 8,17 (1H, d, J=5Hz), 7,42 (1H, d, J=5Hz).

4-klortieno[3,2-d]pyrimidin. Til en løsning av DMF (170,3 µL, 2,2 mmol) og dikloretan (1,2 mL) ved 0°C under N_2, tilsettes oksalylklorid (279,2 mg, 3,2 mmol) langsomt under omrøring i 10 minutter. 3H-tieno[3,2-d]pyrimid-4-on (152,2 mg, 1,0 mmol) tilsettes og blandingen tilbakeløpsbehandles i 5 timer. Reaksjonsblandingen helles over i vann og ekstraheres med CH_2Cl_2. Det organiske lag inndampes under redusert trykk for å gi 4-klortieno[3,2-d]pyrimidin (140 mg, 82%) som et gult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 9,05 (1H, s), 8,62 (1H, d, J=5Hz), 7,79 (1H, d, J=5Hz).

4-(3-bromanilino)tieno[3,2-d]pyrimidin-hydroklorid. En blanding av 4-klortieno[3,2-d]pyrimidin (135 mg, 0,79 mmol) og 3-bromanilin (95 µL, 0,89 mmol) i 2-metoksyetanol (2 mL) oppvarmes til 79°C i 30 minutter. Det resulterende bunnfall frafiltreres og vaskes med CH_2Cl_2 for å gi 4-(3-bromanilino)tieno[3,2-d]pyrimidin-hydroklorid (195,5 mg, 72%) som et lysegult faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 11,33 (1H, s), 8,94 (1H, s), 8,23 (1H, s), 8,53 (1H, d, J=5,3Hz), 8,07 (1H, s), 7,77 (1H, d, J=7,9Hz), 7,6 (1H, d, J=5,3Hz), 7,48 (2H, m).

Eksempel 72

4-benzylaminotieno[3,2-d]pyrimidin

Som beskrevet i det foregående eksempel, fører 4-klortieno[3,2-d]pyrimidin (100 mg, 0,586 mmol) og benzylamin (710 µL, 0,645 mmol) i 2-metoksyetanol (2 mL) til 4-benzylaminotieno[3,2-d]pyrimidin (37 mg, 26%).
^{1}H NMR (DMSO) δ 8,42 (1H, s), 8,12 (1H, d, J=5,5Hz), 7,39 (1H, d, J=5,3Hz), 7,40-7,30 (4H, m), 7,24 (1H, t, J=6,8Hz).

Eksempel 73

4-(3-bromanilino)tieno[3,2-d]pyrimidin

Metyl-2-aminotiofen-3-karboksylat. En blanding av metyl-cyanoacetat (3,25 g, 32,3 mmol), 1,4-ditian-2,5-diol (5 g, 32,8 mmol), trietylamin (1 mL, 7,71 mmol) i EtOH (50 mL) omrøres ved 40°C i 1 time. Den avkjølte løsningen elueres gjennom et lag av silika med CH_2Cl_2. Filtratet inndampes til tørrhet for å gi rå metyl-2-aminotiofen-3-karboksylat som benyttes i den neste reaksjon.
^{1}H NMR (DMSO) δ 7,26 (1H, s), 6,82 (1H, d, J=5,8Hz), 6,28 (1H, d, J=5,8Hz), 3,69 (3H, s).

3H-tieno[2,3-d]pyrimid-4-on. En løsning av metyl-2-aminotiofen-3-karboksylat (602,1 mg, 3,83 mmol) i formamid (5 mL) oppvarmes til 200°C i 12 timer. Den resulterende tjære løses i CH_2Cl_2 (10 mL) og anbringes deretter på et lag av silika og elueres med 10% MeOH i CH_2Cl_2. Filtratet inndampes under redusert trykk og det resulterende faststoff vaskes med EtOH for å gi 3H-tieno[2,3-d]pyrimid-4-on (231,4 mg, 40%) som et orange faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 12,50 (1H, brs), 8,13 (1H, s), 7,60 (1H, d, J=5,8Hz), 7,41 (1H, d, J=6,0Hz).

4-klortieno[2,3-d]pyrimidin. En løsning av DMF (90 µL) og CH_2Cl_2 (2 mL) tilsettes langsomt ved 0°C under N_2, oksalylklorid (148 mg, 1,2 mmol) under omrøring i 10 minutter. 3H-tieno[2,3-d]pyrimid-4-on (81 mg, 0,52 mmol) tilsettes som et faststoff til løsningen som oppvarmes med en varmepistol inntil faststoffet oppløses. Reaksjonsblandingen omrøres ved 25°C i 12 timer under N_2. Reaksjonsblandingen helles over i vann og ekstraheres med CH_2Cl_2. Fasene separeres og det organiske lag tørkes (Na_2SO_4) og fordampes under redusert trykk for å gi 4-klortieno[2,3-d]pyrimidin (87,6 mg, 97%) som et faststoff.
^{1}H NMR (DMSO) δ 8,96 (1H, s), 8,17 (1H, d, J=6,0Hz), 7,62 (1H, d, J=6,0Hz).

4-(3-bromanilino)tieno[2,3-d]pyrimidin-hydroklorid. En blanding av 4-klortieno[2,3-d]pyrimidin (135 mg, 0,79 mmol) og 3-bromanilin (95 µL, 0,89 mmol) i 2-metoksyetanol (2 mL) oppvarmes til 79°C i 30 minutter under omrøring. Det

resulterende faststoff frafiltreres og vaskes med CH_2Cl_2 for å gi 4-(3-bromanilino)tieno[2,3-d]pyrimidin-hydroklorid (197 mg, 73%).

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,99 (1H, s), 8,60 (1H, s), 8,23 (1H, s), 7,98 (1H, d, J=6,0Hz), 7,88 (1H, d, J=8,0Hz), 7,79 (1H, d, J=6,0Hz), 7,37 (1H, t, J=8,0Hz), 7,30 (1H, d, J=8,0Hz).

Eksempel 74

4-benzylaminopyrrolo[2,3-d]pyrimidin

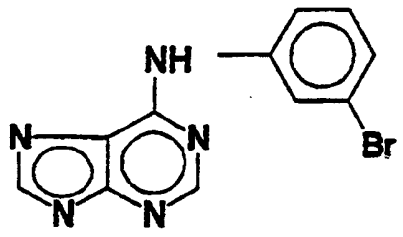
4-benzylaminopyrrolo[2,3-d]pyrimidin fremstilles som tidligere beskrevet. G.H. Hitchings, K.W. Ledig & R.A. West, US-patent 3.037.980, **1962**; **Chemical Abstracts**, **1962**, 57, 15130c.

Eksempel 75

N^6-(3-bromfenyl)adenin

En blanding av 6-klorpurin (1,0 g, 6,47 mmol), 3-bromanilin (0,78 mL, 7,12 mmol) og kons. HCl (4 dråper) i isopropanol (10 mL) omrøres ved 80°C i 5 timer. Etter avkjøling dannes et bunnfall. Faststoffet frafiltreres og vaskes med isopropanol og lufttørkes for å gi N^6-(3-bromfenyl)adenin (1,93 g, 91%) som en lysegult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 11,38 (1H, s), 8,78 (1H, s), 8,75 (1H, s), 7,90 (1H, d, J=8,0Hz), 7,38-7,34 (2H, m).



Eksempel 76

N^6-benzyladenin

N^6-benzyladenin er kommersielt tilgjengelig fra Aldrich Chemical Company, 1001 West Saint Paul Avenue, Milwaukee, Wisconsin 53233.

Eksempel 77

7-amino-4-(3-metylanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (217 mg, 1,13 mmol) og m-toluidin (1,50 g, 14,0 mmol) omrøres ved 155°C i 30 minutter. Det resulterende produkt kromatograferes over silikagel (5% MeOH/CH_2Cl_2) for å gi 7-amino-4-(3-metylanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (190 mg, 67%) som et blekgult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 9,81 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,38 (1H, s), 7,60 (2H, s), 7,26 (1H, dd, J=8,5, 7,6Hz), 6,95 (1H, d, J=7,4Hz), 6,63 (2H, brs), 6,44 (1H, s), 2,33 (3H, s).

Eksempel 78

7-amino-4-(4-metoksyanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin

En blanding av 7-amino-4-metyltiopyrido[4,3-d]pyrimidin (129 mg, 0,62 mmol) og 4-metoksyanilin (0,15 g, 1,2 mmol) i etanol (5 mL) ble oppvarmet til 40°C i 16 timer og deretter tilbakeløpsbehandlet i 3 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 0°C over natten og faststoffet oppsamlet ved vakuumfiltrering og omkrystallisert fra isopropanol for å gi 7-amino-4-(4-metoksyanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin (42 mg, 25%) som et gult faststoff.

^{1}H NMR (DMSO) δ 10,00 (1H, brs), 9,31 (1H, s), 8,35 (1H, s), 7,62 (2H, d, J=9,2Hz), 6,96 (2H, d, J=9,2Hz), 6,70 (2H, slbrs), 6,41 (1H, s), 3,77 (3H, s).

Eksempel 79

4-(3-bromanilino)-6-(piperidin-1-yl)pyrido[3,4-d]pyrimidin

Behandling av 4-(3-bromanilino)-6-fluorpyrido[3,4-d]pyrimidin (se et tidligere eksempel) ved 100°C i en trykkbeholder med piperidin i etanol, gir 4-(3-bromanilino)-6-dimetylaminopyrido[3,4-d]pyrimidin.

De farmasøytiske blandingene ifølge oppfinnelsen kan ha en rekke perorale og parenterale doseringsformer. Doseringsformene omfatter en inhibitor som tidligere definert, som virkestoff.

For fremstilling av farmasøytiske blandinger benyttes inerte, farmasøytisk akseptable bærere som kan være faste eller flytende. Preparater i fast form inkluderer pulvere, tabletter, dispergerbare granuler, kapsler, pulverkapsler og

suppositorier. En fast bærer kan være én eller flere substanser som også kan virke som fortynningsmidler, smaksforbedrende midler, solubiliseringsmidler, glidemidler, suspenderingsmidler, bindemidler eller tablett-sprengningsmidler, eller det kan også være et innkapslingsmateriale. I pulvere er bæremidlet et findelt faststoff som er blandet med det findelte virkestoff. I tabletter er virkestoffene blandet med bæreren som har de nødvendige bindingsegenskaper i passende forhold, og komprimert til ønsket form og størrelse.

Pulverne og tablettene inneholder fortrinnsvis fra 5% eller 10% til ca. 70% virkestoff. Egnede bærere er magnesiumkarbonat, magnesiumstearat, talk, sukker, laktose, pektin, dekstrin, stivelse, gelatin, tragant, metylcellulose, natrium-karboksymetylcellulose, en lavtsmeltende voks, kakaosmør og lignende. Betegnelsen "preparat" er ment å inkludere formuleringen av virkestoffene med innkapslingsmaterialer som bærer, hvilket gir en kapsel hvor virkestoffet (med eller uten andre bærere) er omgitt av bærer som det således er forbundet med. Likeledes er pulverkapsler inkludert. Tabletter, pulvere, pulverkapsler og kapsler kan benyttes som faste doseringsformer egnet for peroral administrering.

Flytende preparater innbefatter løsninger, suspensjoner og emulsjoner. Som eksempel kan nevnes vann eller vann/propylenglykol-løsninger for parenteral injeksjon. Flytende preparater kan også formuleres i løsning i vandig polyetylen-glykol. Vandige løsninger egnet for peroral bruk kan fremstilles ved å løse virkestoffet i vann og tilsette passende farvestoffer, smaksforbedrende stoffer, stabilisatorer og fortykningsmidler etter ønske. Vandige suspensjoner egnet for peroral bruk, kan fremstilles ved å dispergere det findelte virkestoff i vann med viskøst materiale, dvs. naturlige eller syntetiske gummier, harpikser, metylcellulose, natriumkarboksymetylcellulose og andre velkjente suspenderingsmidler.

Fortrinnsvis har det farmasøytiske preparat enhetsdoseform. I denne form er preparatet delt opp i enhetsdoser som inneholder passende mengder av inhibitor og andre anti-cancer-materialer, hver for seg eller som en kombinasjon, dvs. i en blanding. Enhetsdoseformen kan være et pakket preparat hvor pakningen inneholder diskrete mengder preparat, som for eksempel pakkede tabletter, kapsler og pulvere, i glass eller ampuller. Enhetsdoseformen kan også være selve kapselen, pulverkapselen eller tabletten, eller den kan være et passende antall av en av disse i pakket form. I tillegg kan enhetsdoseformen ha

en form som lar seg dele og som har en inhibitor i den ene delen og andre anti-cancer-materialer i den andre delen, som f.eks. en delbar kapsel, en delbar pakke eller en todelt ampulle, glass eller lignende.

Mengden av inhibitor i preparater av enhetsdoseform kan varieres fra ca. 0,01 mg/kg til 100,0 mg/kg, fortrinnsvis 0,03 mg/kg til mindre enn 1,0 mg/kg inhibitor.

De farmasøytiske blandingene er fortrinnsvis slik sammensatt at de kan administreres parenteralt eller peroralt. Løsninger av virkestoffene i form av frie baser eller frie syrer eller farmasøytisk akseptable salter, kan tilberedes i vann blandet med et overflateaktivt middel som f.eks. hydroksypropylcellulose. Dispersjoner kan også fremstilles i glycerol, flytende polyetylenglykoler og blandinger derav, samt i oljer. Under ordinære lagrings- og bruksbetingelser inneholder preparatene et konserveringsmiddel som forhindrer veksten av mikroorganismer.

De farmasøytiske formene som er egnet for injeksjon, innbefatter sterile, vandige løsninger eller dispersjoner og sterile pulvere for fremstilling av sterile, injiserbare løsninger eller dispersjoner, umiddelbart før bruk. Under enhver omstendighet må formen være steril og tilstrekkelig flytende til lett å kunne håndteres med sprøyte. Den må være stabil under fremstillings- og lagringsbetingelser og må konserveres mot den forurensende virkning av mikroorganismer som f.eks. bakterier og sopp. Bæreren kan være et løsnings- eller dispergeringsmedium som for eksempel inneholder vann, etanol, polyol (for eksempel glycerol, propylenglykol og flytende polyetylenglykol og lignende), hensiktsmessige blandinger av disse samt vegetabilske oljer. Den riktige flyteevne kan opprettholdes ved for eksempel å benytte et overtrekk så som lecitin, opprettholdelse av den nødvendige partikkelstørrelse dersom det er tale om en dispersjon, og ved bruk av overflateaktive midler. Forhindringen av mikro-organismers virkning kan skje ved hjelp av forskjellige antibakterielle og sopp-hindrende midler, for eksempel parabener, klorbutanol, fenol, sorbinsyre, tiomerosal og lignende. I mange tilfeller vil det være ønskelig å inkludere isotonitetsbevirkende midler som for eksempel sukkere eller natriumklorid. Forlenget absorpsjon av de injiserbare blandingene oppnås gjennom midler som forsinker absorpsjon, som for eksempel gelatin.

Sterile, injiserbare løsninger fremstilles ved å inkorporere virkestoffene i nødvendig mengde i det passende løsningsmiddel sammen med forskjellige andre av de ovenfor omtalte ingredienser, etterfulgt av sterilfiltrering. I alminnelighet fremstilles dispersjoner ved å inkorporere de ulike steriliserte virkestoffer i en steril bærer som inneholder dispersjonsgrunnlaget og de nødvendige av de ovenfor omtalte ingredienser. Når det gjelder sterile pulvere for fremstilling av sterile injiserbare løsninger, er de foretrukne fremstillingsmetoder vakuumtørkings- og frysetørkingsteknikker som fører til et pulver av virkestoffer pluss en eventuelt ytterligere ingrediens i form av en tidligere sterilfiltrert løsning.

I denne sammenheng inkluderer "farmasøytisk akseptabel bærer" ethvert løsningsmiddel, dispersjonsmedium, overtrekk, antibakterielle og sopphindrende midler, isotonitetsbevirkende og absorpsjonsforsinkende midler og lignende. Anvendelsen av slike medier og midler for farmasøytiske virkestoffer er velkjent på området. Bortsett fra når et konvensjonelt medium eller middel er uforlikelig med virkestoffet, kan anvendelsen i den terapeutiske blanding være aktuell. Ytterligere virkestoffer kan også inkorporeres i blandingene.

Det er spesielt fordelaktig å formulere parenterale blandinger i form av enhetsdoser for å lette administrering og jevn dosering. Enhetsdoseform refererer seg i denne sammenheng til fysisk diskrete enheter som er egnet som enhetsdoser for de pattedyr som skal behandles, hvor hver enhetsdose inneholder en forutbestemt mengde virkestoff som er beregnet på å frembringe den ønskede terapeutiske effekt sammen med den nødvendige farmasøytiske bærer. Spesifikasjonene for de nye enhetsdoseformer ifølge oppfinnelsen dikteres av, og er direkte avhengig av, (a) virkestoffenes særegne karakteristika og den bestemte terapeutiske effekt som skal oppnås, og (b) de begrensninger som naturlig ligger i kunsten å tilberede slike virkestoffer for behandling av sykdommer hos levende individer som lider av en sykdom slik som her mer utførlig omtalt.

De vesentlige virkestoffene tilberedes for hensiktsmessig og effektiv administrering i virksomme mengder sammen med en hensiktsmessig farmasøytisk akseptabel bærer, i enhetsdoseform slik som tidligere angitt. En parenteral enhetsdoseform kan for eksempel inneholde hovedvirkestoffet, dvs. en inhibitor, i mengder varierende fra ca. 0,5 til ca. 100 mg, hvor området fra ca. 0,1 til 50 mg er å foretrekke. De parenterale døgndoser for pattedyr varierer fra 0,01

mg/kg til 10 mg/kg inhibitor. Den foretrukne døgndose varierer fra 0,1 mg/kg til 1,0 mg/kg.

For peroral dosering kan døgndosen variere fra 0,01 mg virkestoff/kg kroppsvekt til 100 mg/kg, fortrinnsvis 0,1 til 10 mg/kg kroppsvekt.

Den ovenfor beskrevne inhibitor kan danne kjente, farmasøytisk akseptable salter, som f.eks. alkalimetallsalter og andre vanlige basesalter eller syreaddisjonssalter, etc. Henvisninger til basissubstansene er derfor ment å inkludere de vanlige saltene som i det vesentlige er likeverdige med opphavsforbindelsen og hydrater av denne.

De virkestoffene som her er beskrevet kan danne både farmasøytisk akseptable syreaddisjons- og/eller basesalter. Samtlige av disse former faller inn under rammen av foreliggende oppfinnelse.

Farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av virkestoffene, inkluderer salter som skriver seg fra ugiftige, uorganiske syrer, som f.eks. salt-, salpeter-, fosfor-, svovel-, hydrogenbromid-, hydrogenjodid-, hydrogenfluorid-, fosfonsyre og lignende, så vel som salter avledet fra ugiftige organiske syrer, som f.eks. alifatiske mono- og dikarboksylsyrer, fenylsubstituerte alkansyrer, hydroksyalkansyrer, alkandikarboksylsyrer, aromatiske syrer, alifatiske og aromatiske sulfonsyrer, etc. Slike salter innbefatter således sulfat, pyrosulfat, bisulfat, sulfitt, bisulfitt, nitrat, fosfat, monohydrogenfosfat, dihydrogenfosfat, metafosfat, pyrofosfat, klorid, bromid, jodid, acetat, trifluoracetat, propionat, kaprylat, isobutyrat, oksalat, malonat, succinat, suberat, sebacat, fumarat, maleat, mandelat, benzoat, klorbenzoat, metylbenzoat, dinitrobenzoat, ftalat, benzensulfonat, toluensulfonat, fenylacetat, citrat, laktat, maleat, tartrat, metansulfonat og lignende. Aktuelle er også salter av aminosyrer som f.eks. arginat og lignende, samt glukonat og galakturonat (se for eksempel Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCE, 66, s. 1-19 (1977)).

Syreaddisjonssaltene av de nevnte basiske forbindelsene fremstilles ved å bringe den frie baseform i kontakt med en tilstrekkelig mengde av den ønskede syre for å frembringe saltet på konvensjonell måte. Fortrinnsvis kan et virkestoff omdannes til et syreaddisjonssalt ved å behandle det med en vandig løsning av den ønskede syre hvor den resulterende pH er mindre enn 4. Løsningen kan sendes gjennom en C18 patron for å absorbere forbindelsen, vaskes med rikelige

mengder vann og forbindelsen elueres med et polart organisk løsningsmiddel som for eksempel metanol, acetonitril og lignende, og isoleres ved konsentrering under redusert trykk med påfølgende lyofilisering. Den frie baseformen kan regenereres ved å bringe saltet i kontakt med en base og deretter isolere den frie base på konvensjonell måte. Den frie baseform avviker noe fra deres respektive saltformer med hensyn til visse fysiske egenskaper som f.eks. løselighet i polare løsningsmidler, men forøvrig er saltene likeverdige med de respektive frie baser.

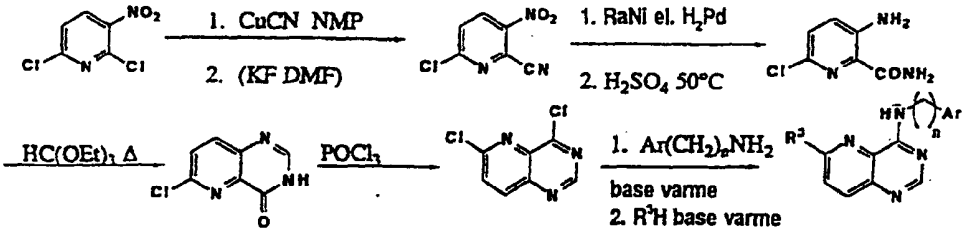
Farmasøytisk akseptable baseaddisjonssalter dannes med metaller eller aminer, som f.eks. alkali- og jordalkalimetaller eller organiske aminer. Eksempler på metaller som benyttes som kationer er natrium, kalium, magnesium, kalsium og lignende. Eksempler på egnede aminer er N,N'-dibenzyletylendiamin, klorprokain, cholin, dietanolamin, dicykloheksylamin, etylendiamin, N-metylglukamin og prokain (se for eksempel Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCE, 66, s. 1-19 (1977)).

Baseaddisjonssaltene av de nevnte sure forbindelsene fremstilles ved å bringe den frie syreform i kontakt med en tilstrekkelig mengde av den ønskede base for å frembringe saltet på konvensjonell måte. Fortrinnsvis kan et virkestoff omdannes til et baseaddisjons-salt ved å behandle det med en vandig løsning av den ønskede base hvor den resulterende pH er mindre enn 9. Løsningen kan sendes gjennom en C18 patron for å absorbere forbindelsen, vaskes med rikelige mengder vann og forbindelsen elueres med et polart organisk løsningsmiddel som for eksempel metanol, acetonitril og lignende, og isoleres ved konsentrering under redusert trykk med påfølgende lyofilisering. Den frie syreformen kan regenereres ved å bringe saltet i kontakt med en syre og deretter isolere den frie syre på konvensjonell måte. Den frie syreform avviker noe fra de respektive saltformer med hensyn til visse fysiske egenskaper som f.eks. løselighet i polare løsnings-midler, men forøvrig er saltene likeverdige med de respektive frie syrer.

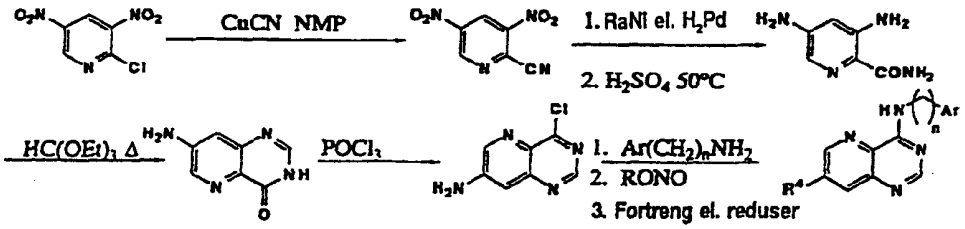
Enkelte av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan eksistere i usolvaterte former så vel som i solvaterte former, inklusivt hydratiserte former. Generelt er de solvaterte formene, inklusivt hydratiserte former, likeverdige med ikke-solvaterte former og ansees å falle inn under rammen av foreliggende oppfinnelse.

Enkelte av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse har ett eller flere chirale sentra, og slike sentra kan eksistere i R(D) eller S(L) konfigurasjonen.

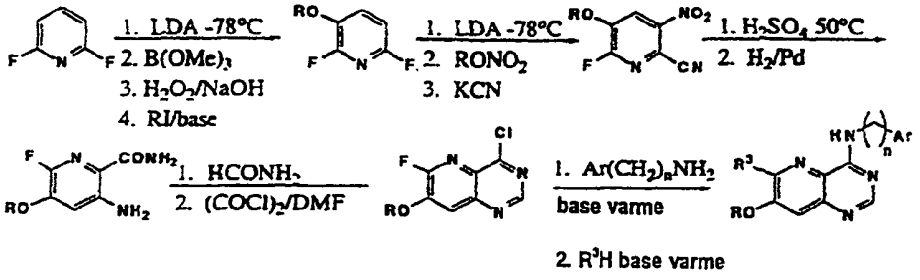
Foreliggende oppfinnelse inkluderer alle enantiomere og epimere former så vel som passende blandinger derav.



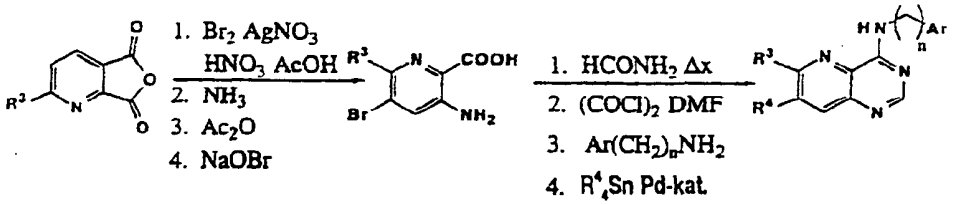
Reaksjonsskjema 1. Syntese av foretrukket gruppe 1-5: R^4=H



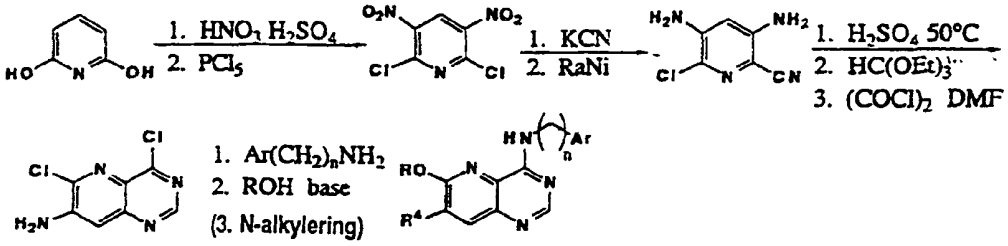
Reaksjonsskjema 2. Syntese av foretrukket gruppe 1-5: R^3=H



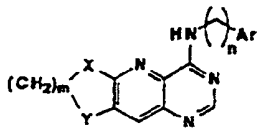
Reaksjonsskjema 3. Syntese av foretrukket gruppe 6 og 8-10: R^4=RO



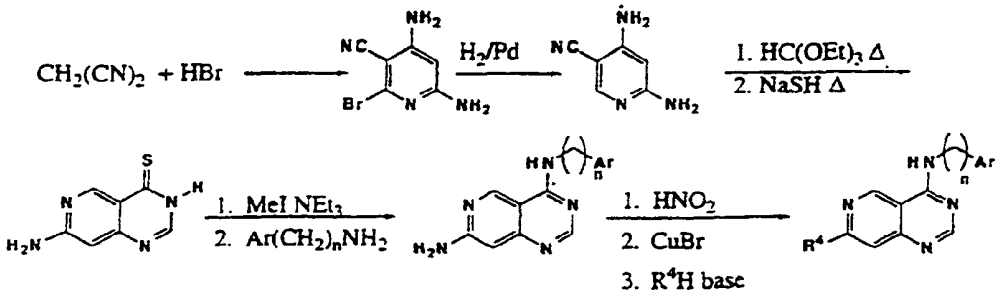
Reaksjonsskjema 4. Syntese av foretrukket gruppe 7



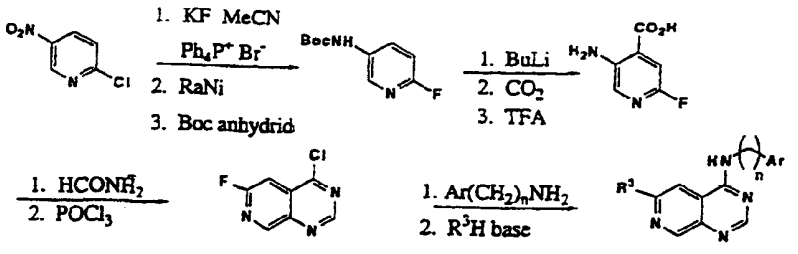
Reaksjonsskjema 5. Syntese av foretrukket gruppe 8 & 9: R^3=OR



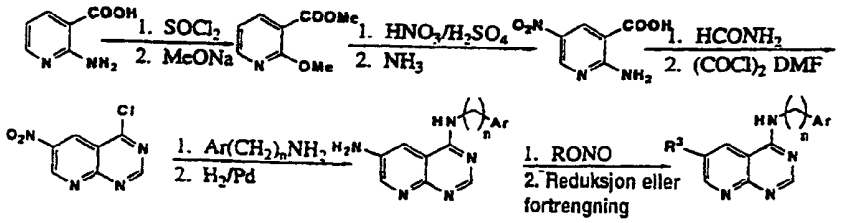
Reaksjonsskjema 6. Foretrukket gruppe 11



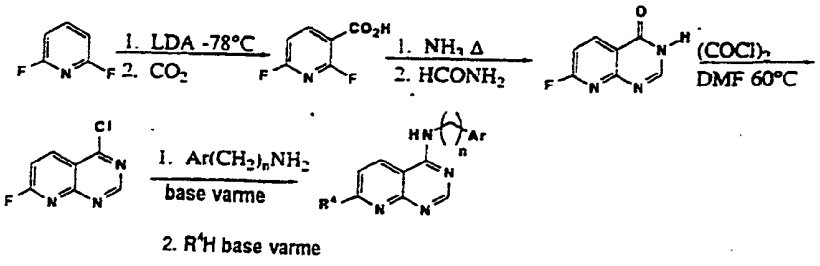
Reaksjonsskjema 7. Syntese av foretrukket gruppe 12-16



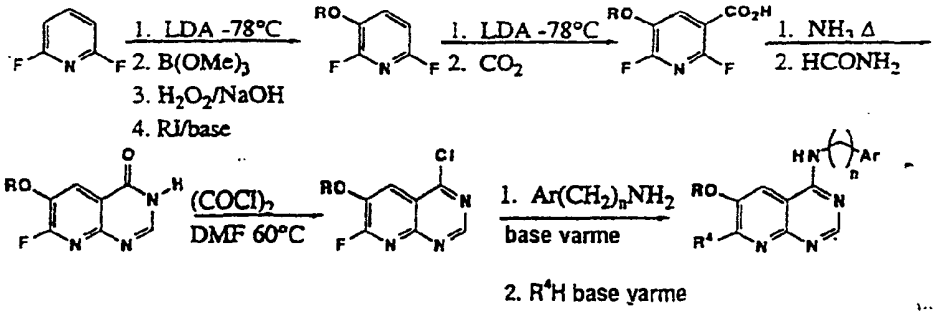
Reaksjonsskjema 8. Syntese av foretrukket gruppe 17-21



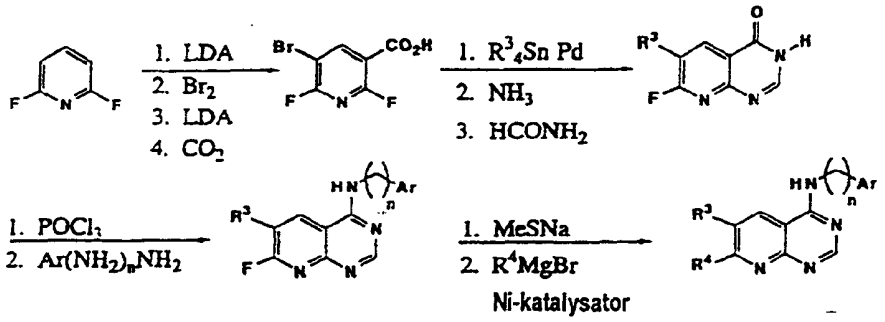
Reaksjonsskjema 9. Syntese av foretrukket gruppe 22-26: R^4=H



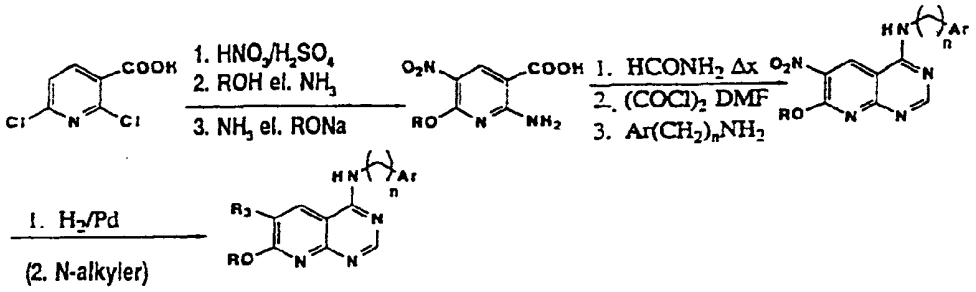
Reaksjonsskjema 10. Syntese av foretrukket gruppe 22-26: R^3=H



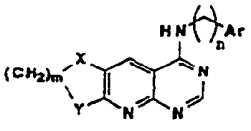
Reaksjonsskjema 11. Syntese av foretrukket gruppe 27 & 29-31: R^3=RO



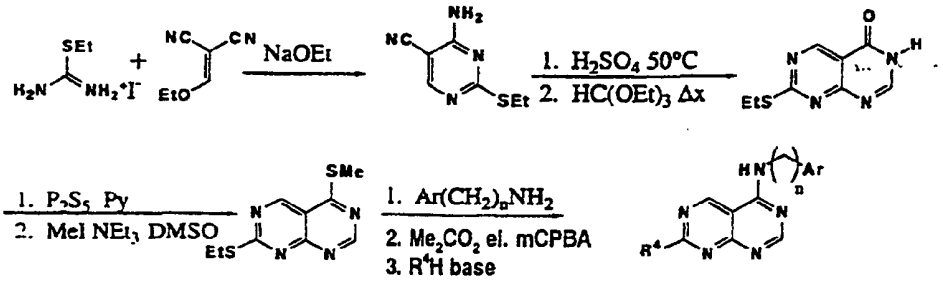
Reaksjonsskjema 12. Syntese av foretrukket gruppe 28



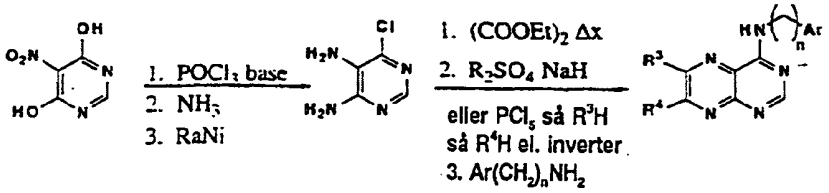
Reaksjonsskjema 13. Syntese av foretrukket gruppe 29 & 30: R^4=OR



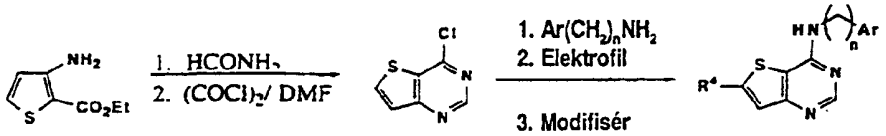
Reaksjonsskjema 14. Foretrukket gruppe 32



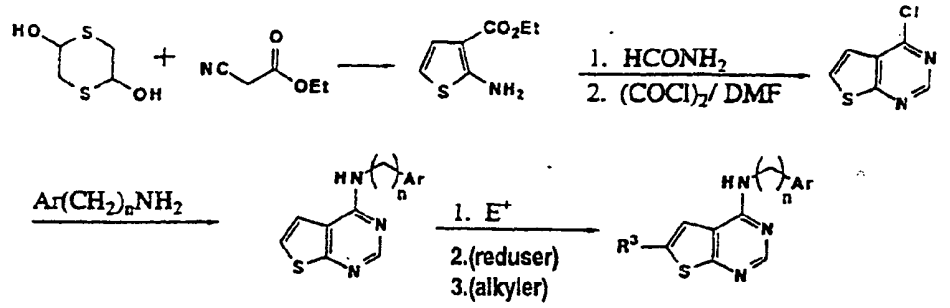
Reaksjonsskjema 15. Syntese av foretrukket gruppe 33-36



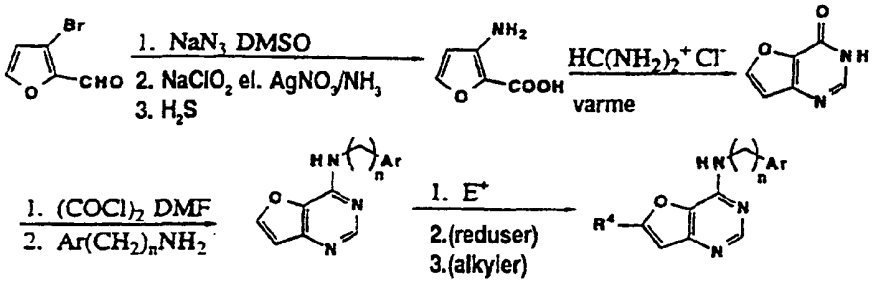
Reaksjonsskjema 16. Syntese av foretrukket gruppe 37-40



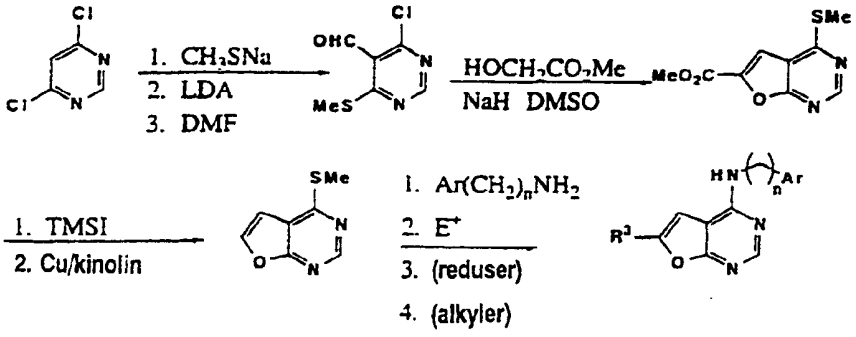
Reaksjonsskjema 17. Syntese av foretrukket gruppe 41:[3,2-d]-ringfusjon



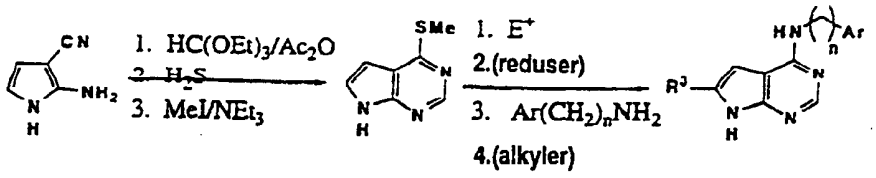
Reaksjonsskjema 18. Syntese av foretrukket gruppe 41:[2,3-d]-ringfusjon



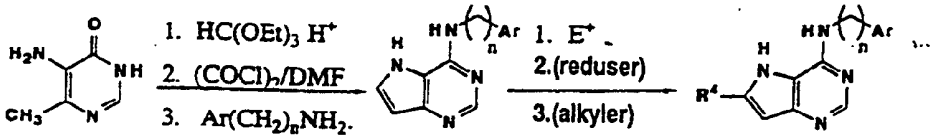
Reaksjonsskjema 19. Syntese av foretrukket gruppe 42:[3,2-d]-ringfusjon



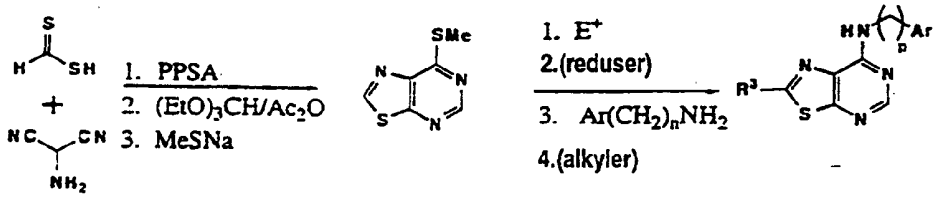
Reaksjonsskjema 20. Syntese av foretrukket gruppe 42:[2,3-d]-ringfusjon



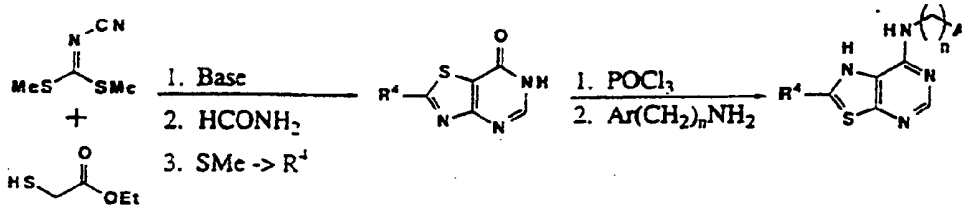
Reaksjonsskjema 21. Syntese av foretrukket gruppe 43:[2,3-d]-ringfusjon



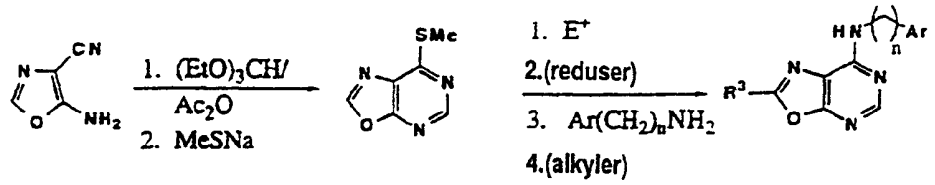
Reaksjonsskjema 22. Syntese av foretrukket gruppe 43:[3,2-d]-ringfusjon



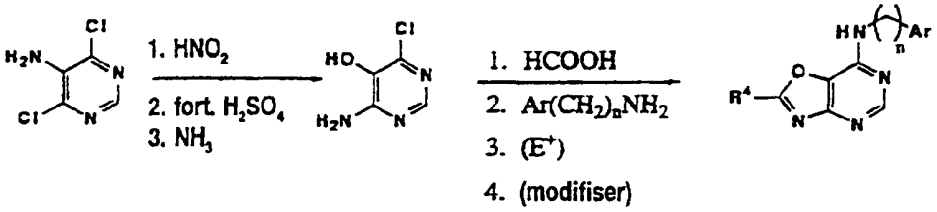
Reaksjonsskjema 23. Syntese av foretrukket gruppe 44:[5,4-d]-ringfusjon



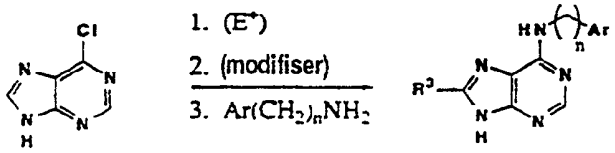
Reaksjonsskjema 24. Syntese av foretrukket gruppe 44:[4,5-d]-ringfusjon



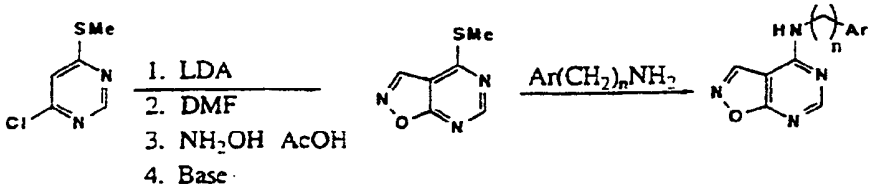
Reaksjonsskjema 25. Syntese av foretrukket gruppe 45:[5,4-d]-ringfusjon



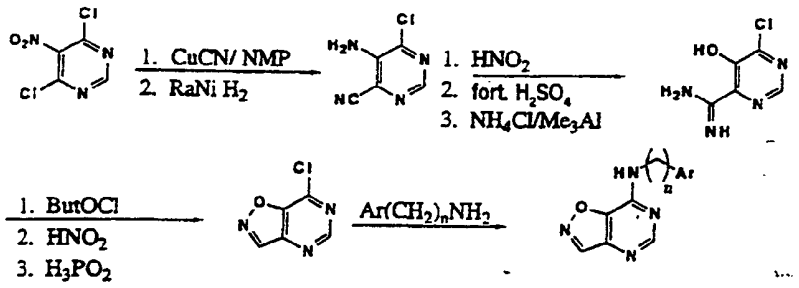
Reaksjonsskjema 26. Syntese av foretrukket gruppe 45:[4,5-d]-ringfusjon



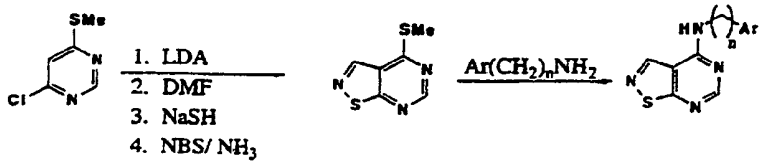
Reaksjonsskjema 27. Syntese av foretrukket gruppe 46



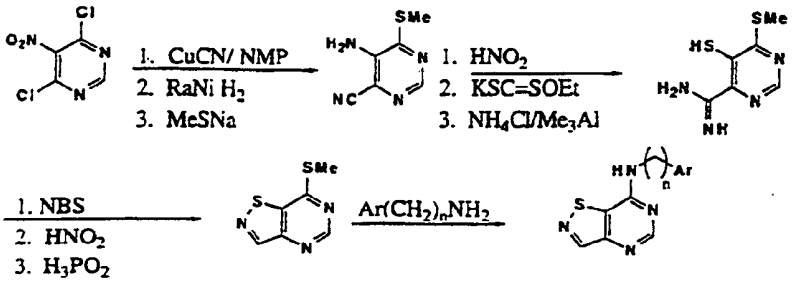
Reaksjonsskjema 28. Syntese av foretrukket gruppe 47:[5,4-d]-ringfusjon



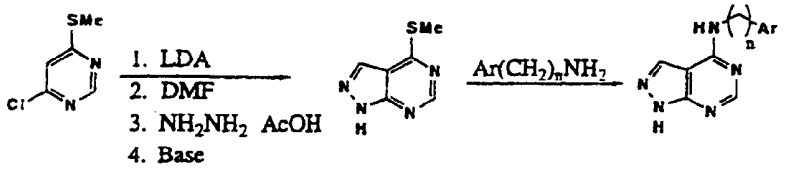
Reaksjonsskjema 29. Syntese av foretrukket gruppe 47:[4,5-d]-ringfusjon



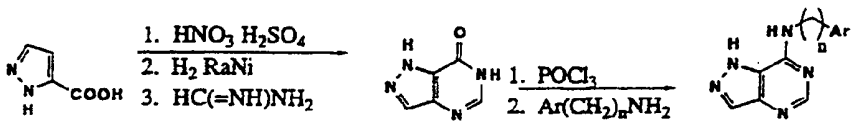
Reaksjonsskjema 30. Syntese av foretrukket gruppe 48:[5,4-d]-ringfusjon



Reaksjonsskjema 31. Syntese av foretrukket gruppe 48:[4,5-d]-ringfusjon



Reaksjonsskjema 32. Syntese av foretrukket gruppe 49:[3,4-d]-ringfusjon

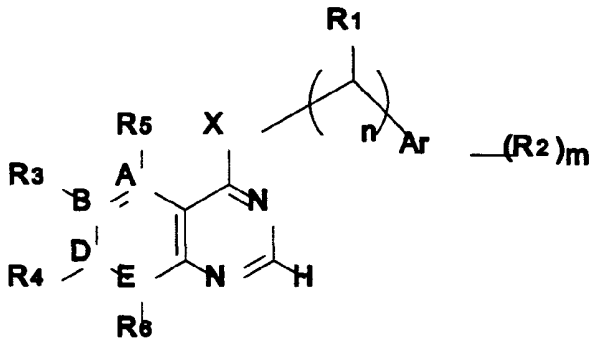


Reaksjonsskjema 33. Syntese av foretrukket gruppe 49:[4,3-d]-ringfusjon

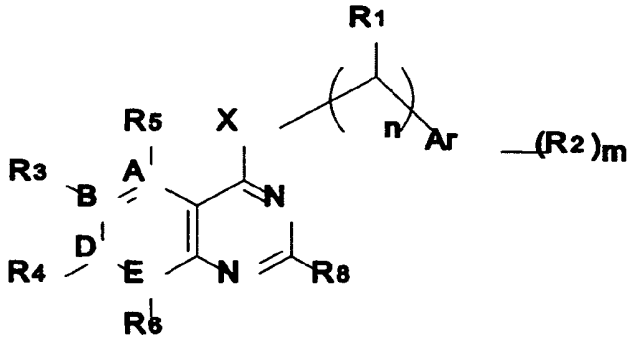
Patentkrav

1. Farmasøytisk blanding,

karakterisert ved at den omfatter en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel I eller formel II i blanding med et farmasøytisk akseptabelt hjelpestoff, fortynningsmiddel eller en bærer:



Formel I



Formel II

hvor:

minst én og opp til to av A-E er nitrogen, idet de øvrige atomer er karbon, eller hvor to naboposisjoner i A-E sammen kan utgjøre et enkelt heteroatom, N, O eller S, idet det ene av de to gjenværende atomer da må være karbon og det andre kan være enten karbon eller nitrogen;

X = NH eller NR^7, slik at R^7 = lavere alkyl (1-4 karbonatomer), OH, NH_2, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer) eller lavere monoalkylamino (1-4 karbonatomer);

n = 0, 1 eller 2;

R^1 = H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer); dersom n = 2, kan R^1 uavhengig være H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer) på det ene eller andre av de sammenkoblende karbonatomer;

R^2 er lavere alkyl (1-4 karbonatomer), lavere alkoksy (1-4 karbon-atomer), nitro, halogen (fluor, klor, brom, jod), lavere perfluoralkyl (1-4 karbonatomer), hydroksy, amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer), lavere sulfonylalkyl (1-4 karbonatomer);

m = 0-3, hvor Ar er fenyl eller tienyl;

R^3, R^4, R^5 og R^6 uavhengig av hverandre, ikke forekommer eller utgjør H, halogen, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer), amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer), lavere acylamino (1-4 karbonatomer);

dersom en av substituentene R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 eller R^6 inneholder chirale sentra eller dersom R^1 forårsaker chirale sentra på de sammenkoblende atomer, er alle stereoisomerer av disse både hver for seg og som racemiske og/eller diastereoisomere blandinger, inkludert;

R^8 er lavere alkyl med 1-4 karbonatomer, amino- eller mono- eller di-lavere-alkylamino (1-4 karbonatomer);

eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav,

under den forutsetning at når

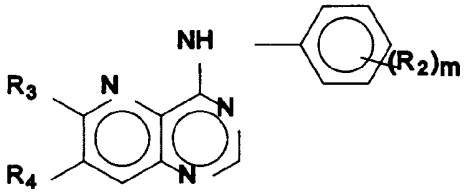
E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 0, 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; Ar er fenyl eller tienyl; eller n er 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; og Ar er fenyl eller tienyl, så kan R^4 ikke være hydrogen, amino, lavere monoalkylamino; eller

når E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 1, R^1 er H, Ar er fenyl parasubstituert med dietylamino, så kan R^4 ikke være amino;

eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav.

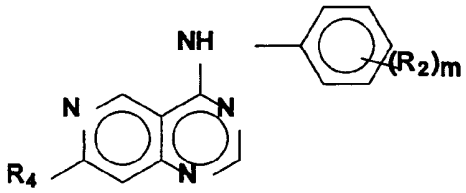
2. Blanding ifølge krav 1,

karakterisert ved at den inneholder én av ringstrukturene:



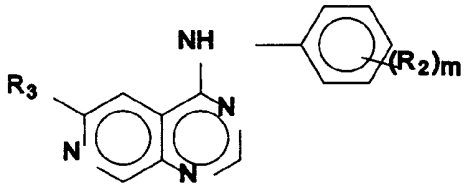
3. Blanding ifølge krav 1,

karakterisert ved at den inneholder én av ringstrukturene:



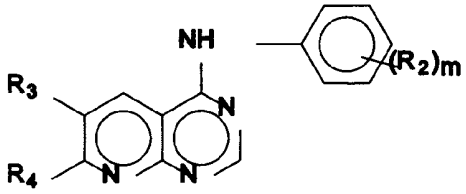
4. Blanding ifølge krav 1,

karakterisert ved at den inneholder én av ringstrukturene:



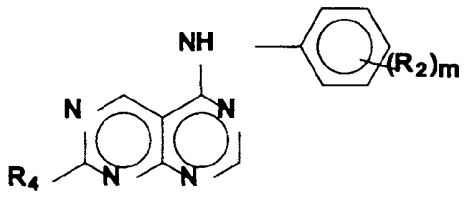
5. Blanding ifølge krav 1,

karakterisert ved at den inneholder én av ringstrukturene:



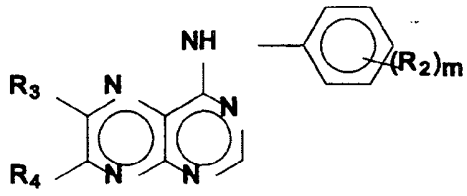
6. Blanding ifølge krav 1,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den inneholder én av ringstrukturene:



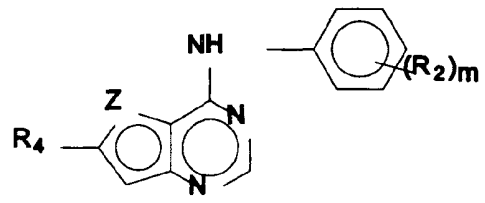
7. Blanding ifølge krav 1,

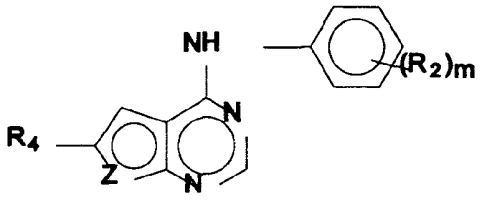
k a r a k t e r i s e r t v e d at den inneholder én av ringstrukturene:



8. Blanding ifølge krav 1,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den inneholder én av ringstrukturene:

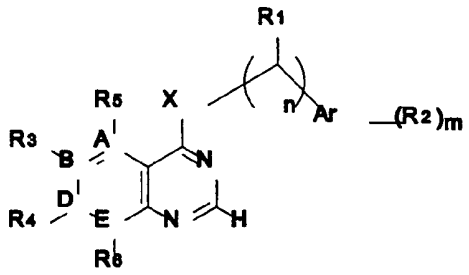




hvor Z = nitrogen, oksygen eller svovel

9. Forbindelse,

karakterisert med formel I:



Formel I

hvor:

minst én og opp til to av A-E er nitrogen, idet de øvrige atomer er karbon, eller hvor to naboposisjoner i A-E sammen kan utgjøre et enkelt heteroatom, N, O eller S, idet det ene av de to gjenværende atomer da må være karbon og det andre kan være enten karbon eller nitrogen;

X = NH eller NR^7, slik at R^7 = lavere alkyl (1-4 karbonatomer), OH, NH_2, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer) eller lavere monoalkylamino (1-4 karbonatomer);

n = 0, 1 eller 2;

R^1 = H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer); dersom n = 2, kan R^1 uavhengig være H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer) på det ene eller andre av de sammenkoblende karbonatomer;

R^2 er lavere alkyl (1-4 karbonatomer), lavere alkoksy (1-4 karbon-atomer), nitro, halogen (fluor, klor, brom, jod), lavere perfluoralkyl (1-4 karbonatomer), hydroksy, amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer);

m = 0-3, hvor Ar er fenyl eller tienyl;

R^3, R^4, R^5 og R^6 uavhengig av hverandre, ikke forekommer eller utgjør H, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer), amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer);

dersom en av substituentene R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 eller R^6 inneholder chirale sentra eller dersom R^1 forårsaker chirale sentra på de sammen-koblende atomer, er alle stereoisomerer av disse både hver for seg og som racemiske og/eller diastereoisomere blandinger, inkludert;

med det forbehold av minst én av R^3-R^6-substituentene må være forskjellig fra hydrogen eller lavere alkoksy (1-4 karbonatomer);

under den forutsetning at når

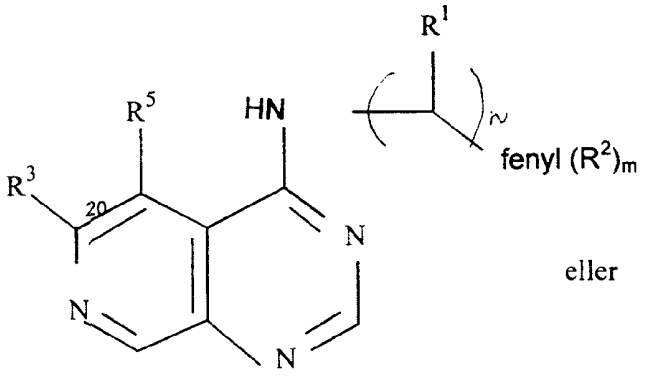
E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 0, 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; Ar er fenyl eller tienyl; eller n er 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; og Ar er fenyl eller tienyl, så kan R^4 ikke være hydrogen, amino, lavere monoalkylamino, lavere dialkylamino; eller

når E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 1, R^1 er H, AR er fenyl parasubstituert med dietylamino, så kan R^4 ikke være amino;

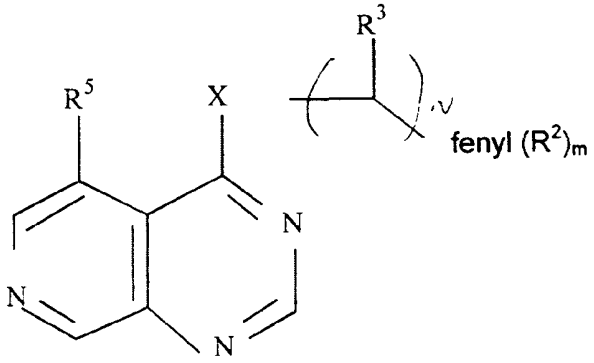
eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav.

10. Forbindelse ifølge krav 9,

karakterisert ved formel Ia eller Ib



eller



hvori X er NH eller NR^7, hvor R^7 er valgt fra gruppen bestående av lavere alkyl (1 – 4 karbonatomer), OH, NH_2, lavere alkoksy (1 – 4 karbon-atomer) og lavere monoalkylamino (1 – 4 karbonatomer);

n er 0, 1 eller 2;

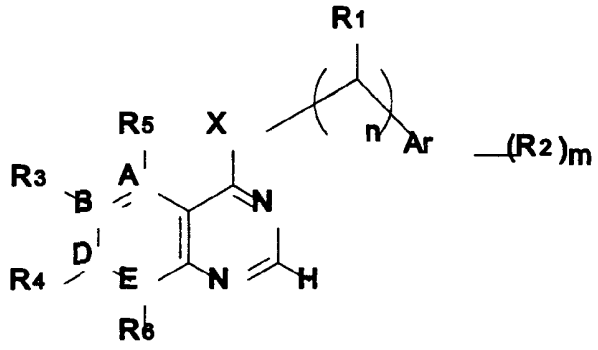
R^1 er H eller lavere alkyl (1 – 4 karbonatomer); dersom n er 2 er R^4 uavhengig H eller lavere alkyl (1 – 4 karobonatomer) på det ene eller det andre av de sammenkoblede karbonatomer;

R^2 er valgt fra gruppen bestående av lavere alkyl (1 – 4 karbonatomer), lavere alkoksy (1 – 4 karbonatomer), nitro, halogen (fluor, klor, brom, jod), lavere

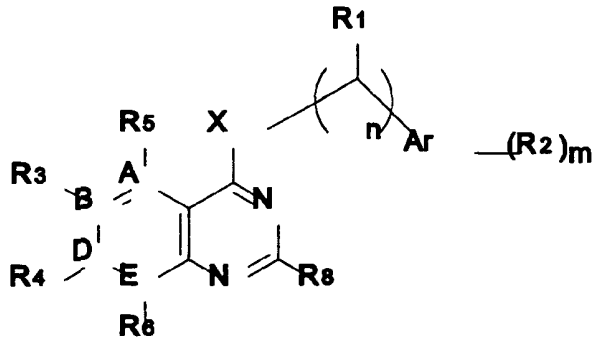
perfluoralkyl (1 – 4 karbonatomer), hydroksy, lavere sulfonylalkyl (1 – 4 karbonatomer);
m er 0 – 3; og
R^3 og R^5 er uavhengig av hverandre valgt fra gruppen bestående av H, halogen, lavere alkoksy (1 – 4 karbonatomer), amino, lavere mono- eller dialkylamino (1 - 4 karbonatomer); og
under den forutsetningen at minst en av gruppe R^3 og R^5 må være forskjellige fra hydrogen, lavere alkyl (1 – 4 karbonatomer), eller lavere alkoksy (1 – 4 karbonatomer);
dersom eventuelt hvilket som helst av substituentene R^1, R^2, R^3, R^5 har chirale sentre, så er alle stereoisomerer derav både separat og som racemiske og/eller diastereoisomere blandinger innbefattet;
eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav.

11. Forbindelse ifølge krav 9,
karakterisert ved at forbindelsen er valgt fra gruppen bestående av 6-amino-4-(3-bromanilino)pyrido[3,2-d]pyrimidin; 4-(3-bromanilino)-6-metylaminopyrido[3,2-d]pyrimidin; 4-(3-bromanilino)-6-dimetylaminopyrido[3,2-d]pyrimidin; 7-amino-4-(3-nitroanilino)pyrido-[4,3-d]pyrimidin; 7-amino-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin; 7-amino-4-(4-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin; 7-amino-4-(3-trifluormetylanilino)pyrido[4,3-d]-pyrimidin; 7-acetylamino-4-(3-bromanilino)pyrido[4,3-d]pyrimidin; 7-acetamido-4-benzylaminopyrido-[4,3-d]pyrimidin; 4-(3-bromanilino)-6-metylaminopyrido[3,4-d]pyrimidin; og 4-(3-bromanilino)-6-dimetylaminopyrido[3,4-d]pyrimidin.

12. Kontraseptiv blanding,
karakterisert ved at den omfatter en kontraseptivt effektiv mengde av en forbindelse med den etterfølgende formel I eller II i blanding med et kontraseptivt akseptabelt hjelpestoff, fortynningsmiddel eller bærer:



Formel I



Formel II

hvor:

minst én og opp til to av A-E er nitrogen, idet de øvrige atomer er karbon, eller hvor to naboposisjoner i A-E sammen kan utgjøre et enkelt heteroatom, N, O eller S, idet det ene av de to gjenværende atomer da må være karbon og det andre kan være enten karbon eller nitrogen;

X = NH eller NR^7, slik at R^7= lavere alkyl (1-4 karbonatomer), OH, NH_2, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer) eller lavere monoalkylamino (1-4 karbonatomer);

n = 0, 1 eller 2;

R^1 = H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer); dersom n = 2 kan R^1 uavhengig være H eller lavere alkyl (1-4 karbonatomer) på det ene eller andre av de sammenkoblende karbonatomer;

R^2 er lavere alkyl (1-4 karbonatomer), lavere alkoksy (1-4 karbon-atomer), nitro, halogen, (fluor, klor, brom, jod), lavere perfluoralkyl (1-4 karbonatomer), hydroksy, amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer), lavere sulfonylalkyl (1-4 karbonatomer);

m = 0-3, hvor Ar er fenyl eller tienyl;

R^3, R^4, R^5 og R^6 uavhengig av hverandre, ikke forekommer eller utgjør H, halogen, lavere alkoksy (1-4 karbonatomer), amino, lavere mono- eller dialkylamino (1-4 karbonatomer), lavere acylamino (1-4 karbonatomer); og

dersom en av substituentene R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 eller R^6 inneholder chirale sentra eller dersom R^1 forårsaker chirale sentra på de sammen-koblende atomer, er alle stereoisomerer av disse både hver for seg og som racemiske og/eller diastereoisomere blandinger, inkludert;

R^8 er lavere alkyl med 1-4 karbonatomer, amino- eller mono- eller di-lavere-alkylamino (1-4 karbonatomer);

under den forutsetning at når

E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 0, 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; Ar er fenyl eller tienyl; eller n er 1 eller 2, R^1 er H eller lavere alkyl; og Ar er fenyl eller tienyl, så kan R^4 ikke være hydrogen, amino, lavere monoalkylamino, lavere dialkylamino; eller

når E og B er nitrogen og D og A er karbon, R^3 og R^6 ikke er til stede, R^5 er hydrogen, X er NH, n er 1, R^1 er H, Ar er fenyl parasubstituert med dietylamino, så kan R^4 ikke være amino;

eller et farmasøytisk salt eller hydrat derav.

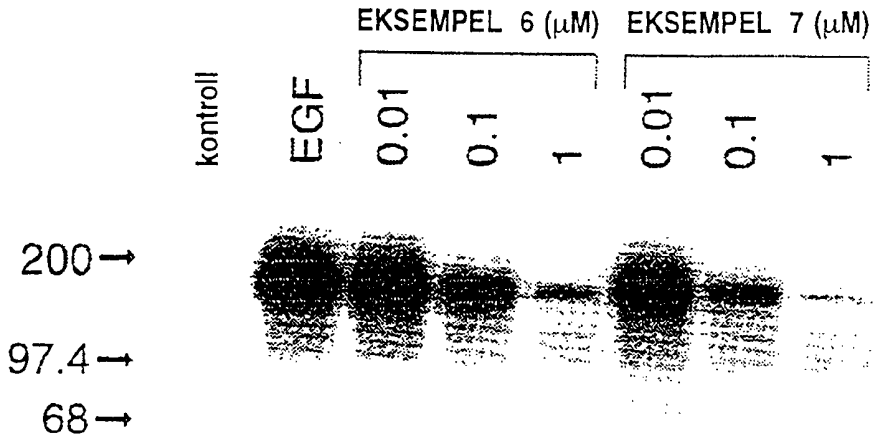

EKSEMPEL 6 (μM)
EKSEMPEL 7 (μM)
kontroll
EGF
0.01
0.1
1
0.01
0.1
1
200
97.4
68

FIG. 1

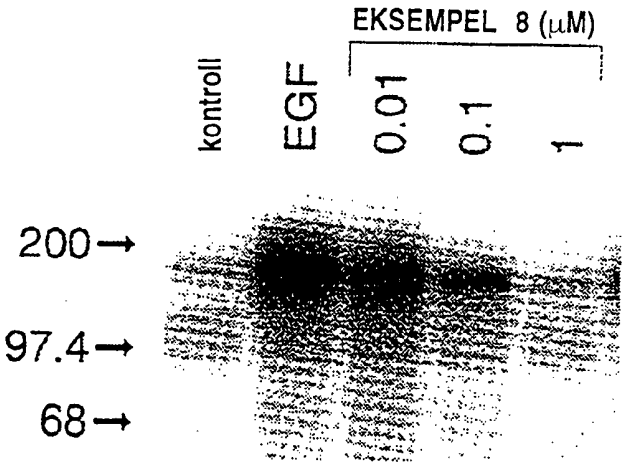


FIG. 2

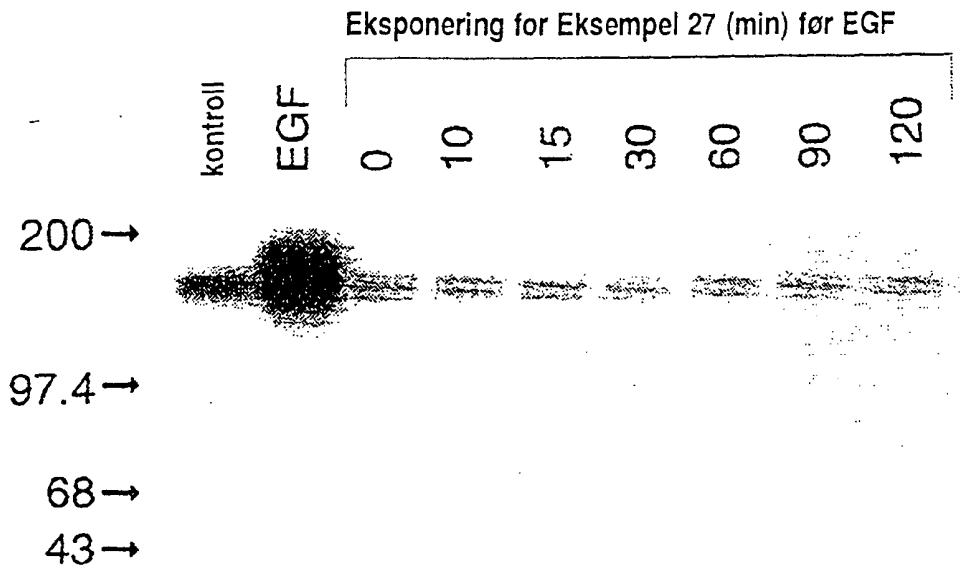

Eksponering for Eksempel 27 (min) før EGF
kontroll
EGF
0
10
15
30
60
90
120
200→
97.4→
68→
43→

FIG. 3

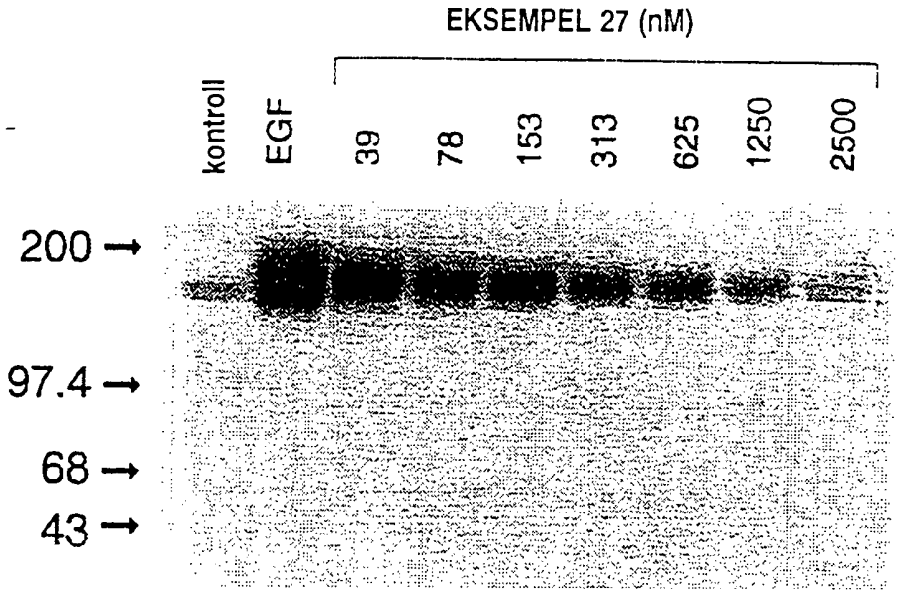

EKSEMPEL 27 (nM)
kontroll
EGF
39
78
153
313
625
1250
2500
200
97.4
68
43

FIG. 4

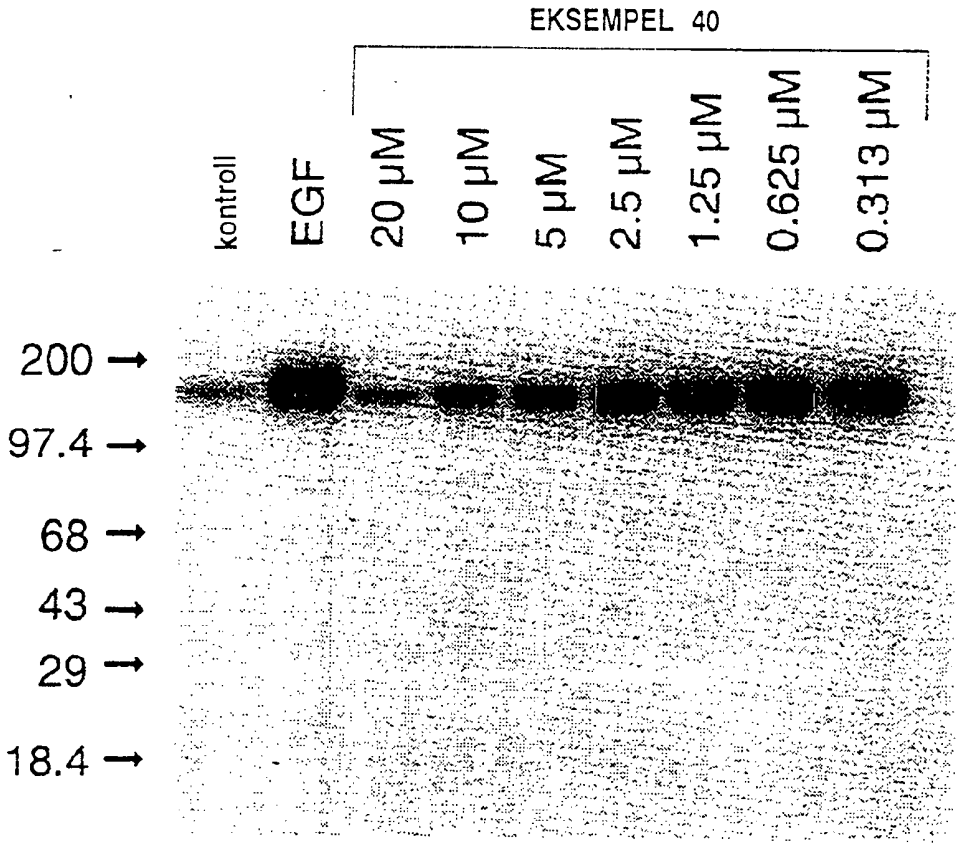

EKSEMPEL 40
kontroll
EGF
20 µM
10 µM
5 µM
2.5 µM
1.25 µM
0.625 µM
0.313 µM
200
97.4
68
43
29
18.4

FIG. 5

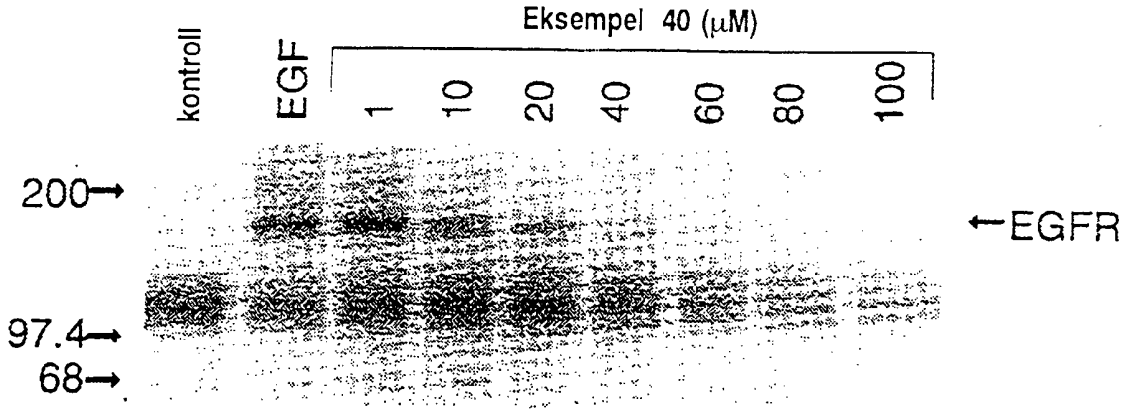


FIG. 6A

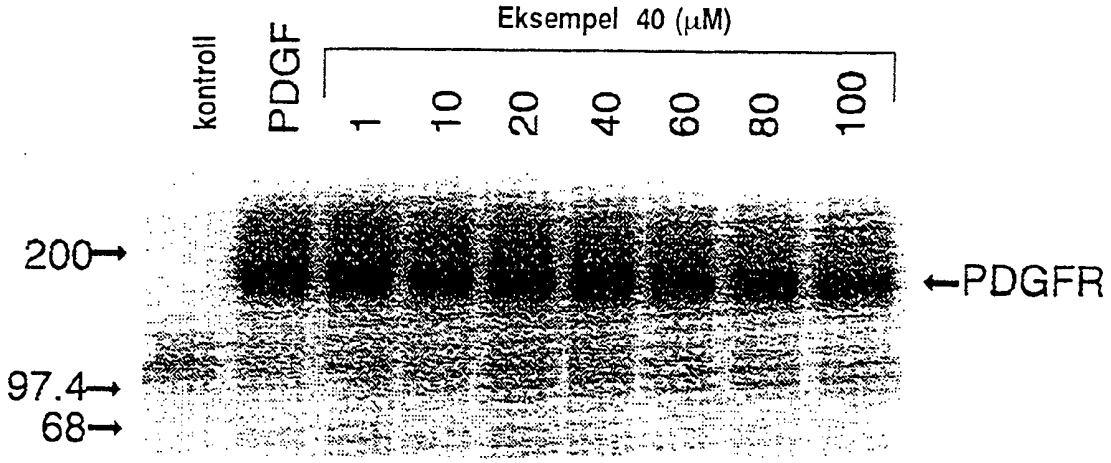


FIG. 6B

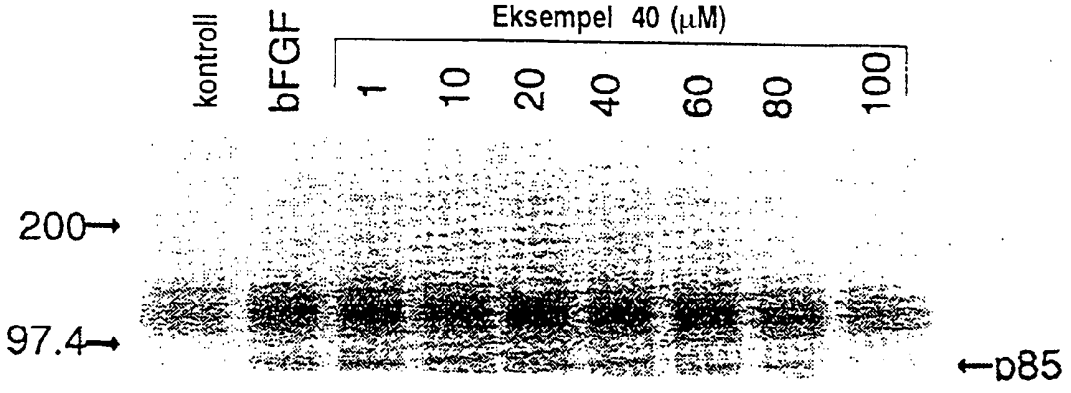


FIG. 6C

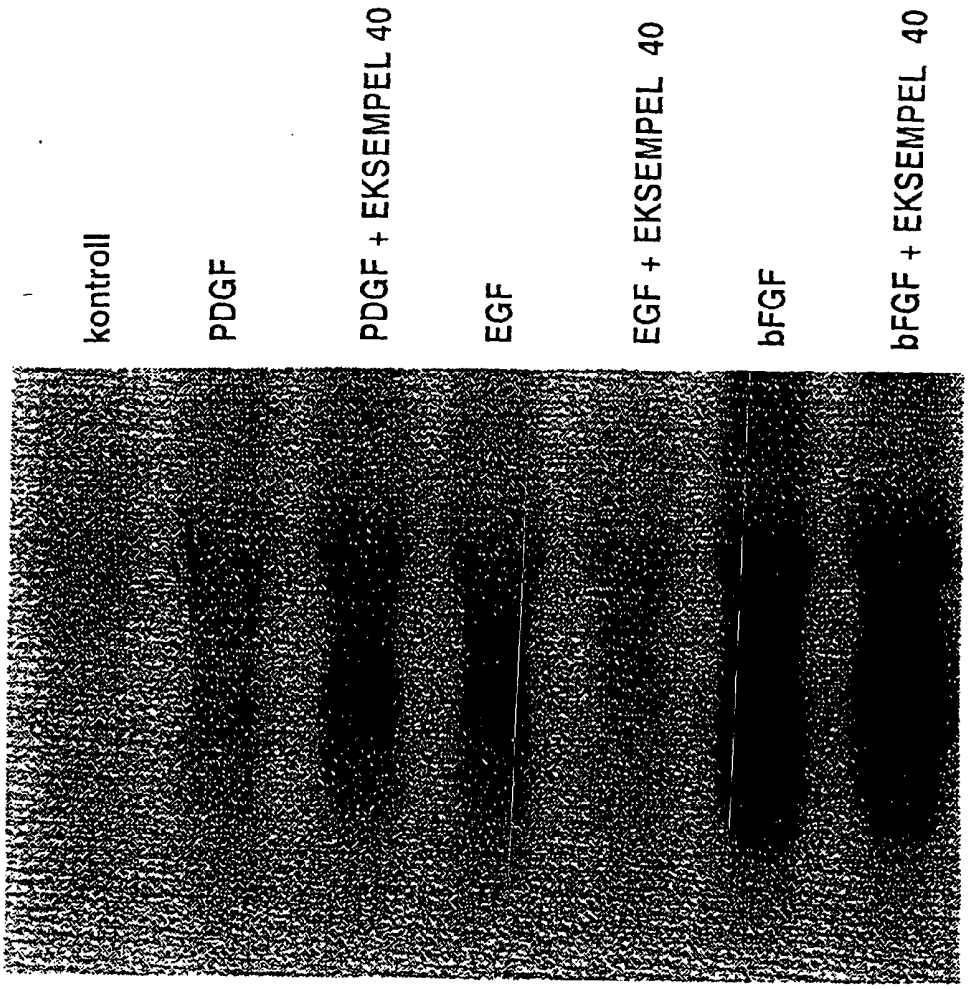

kontroll
PDGF
PDGF + EKSEMPEL 40
EGF
EGF + EKSEMPEL 40
bFGF
bFGF + EKSEMPEL 40

FIG. 7

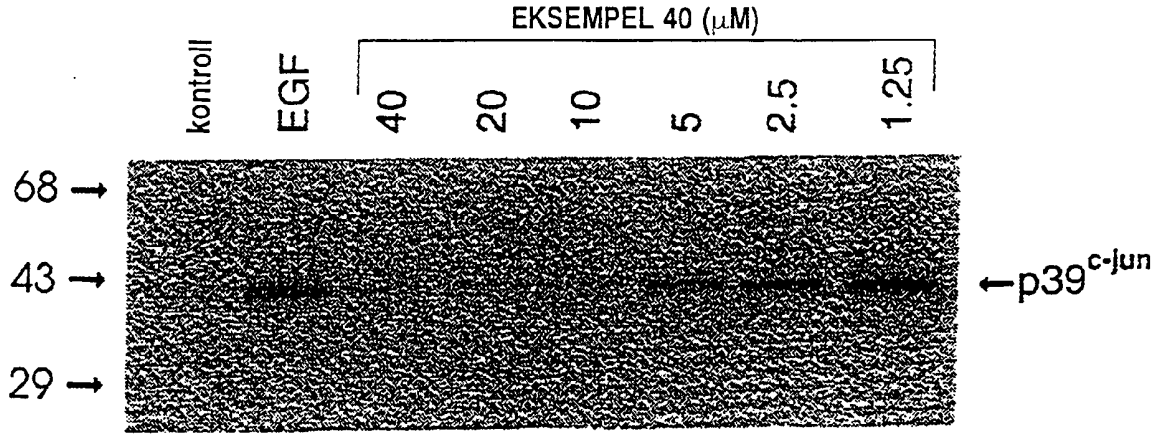


FIG. 8A

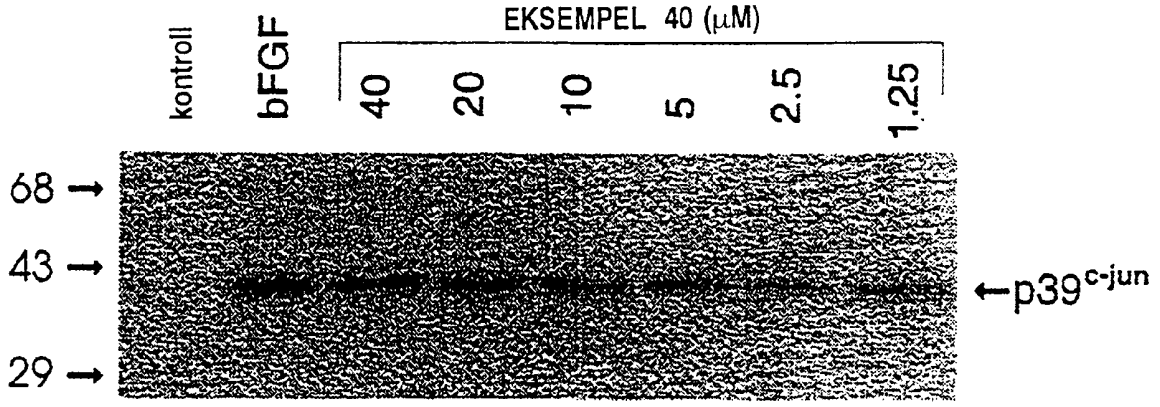


FIG. 8B

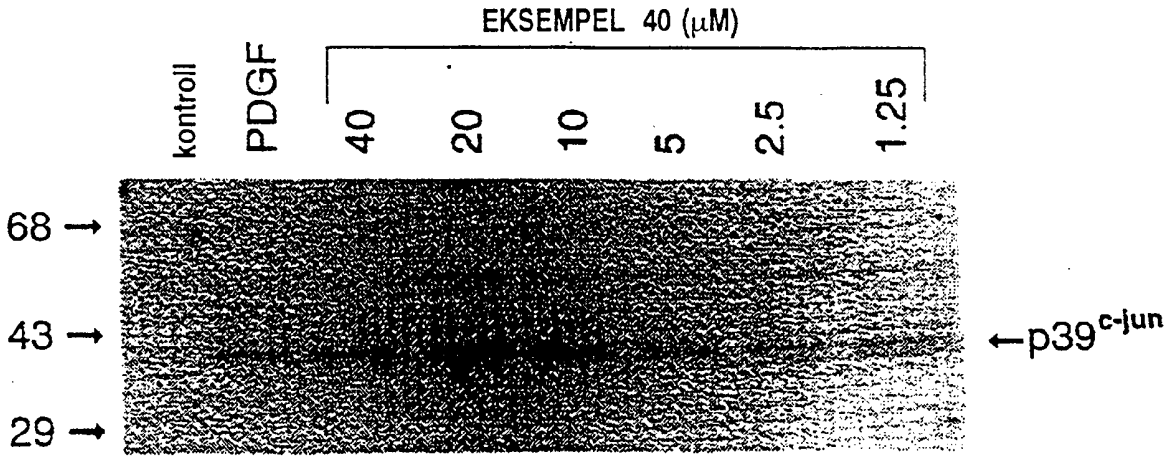


FIG. 8C

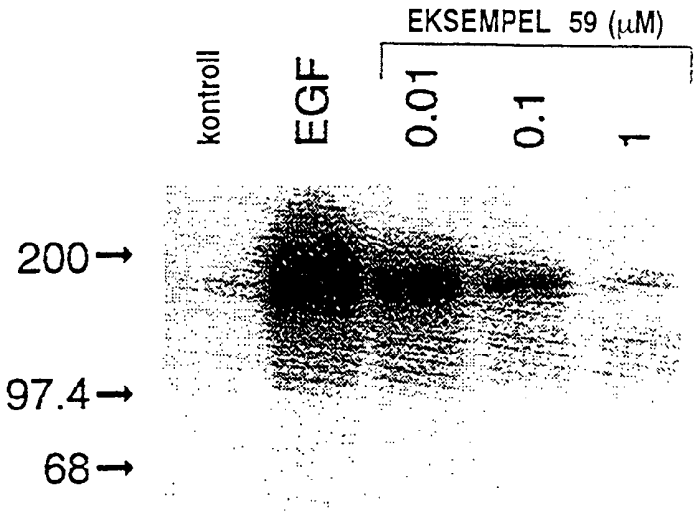


FIG. 9

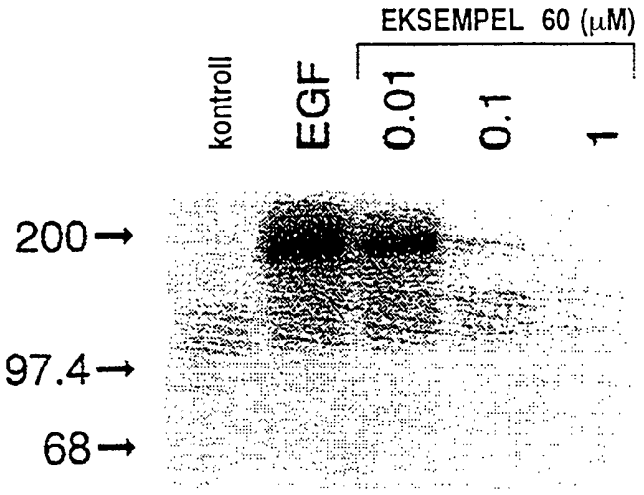


FIG. 10

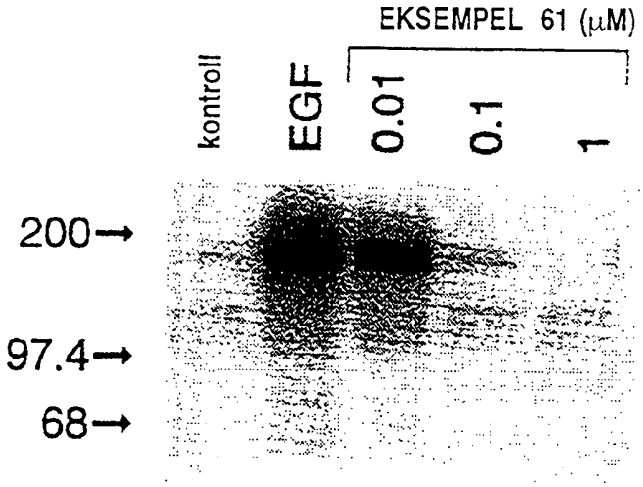


FIG. 11

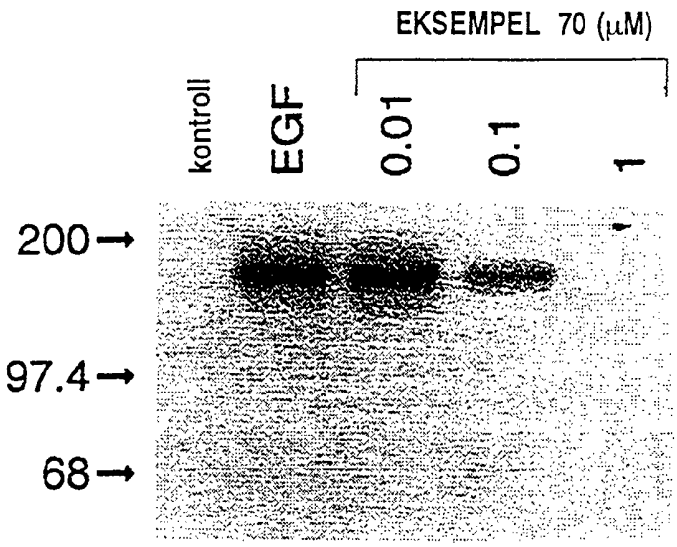


FIG. 12

FIG. 13

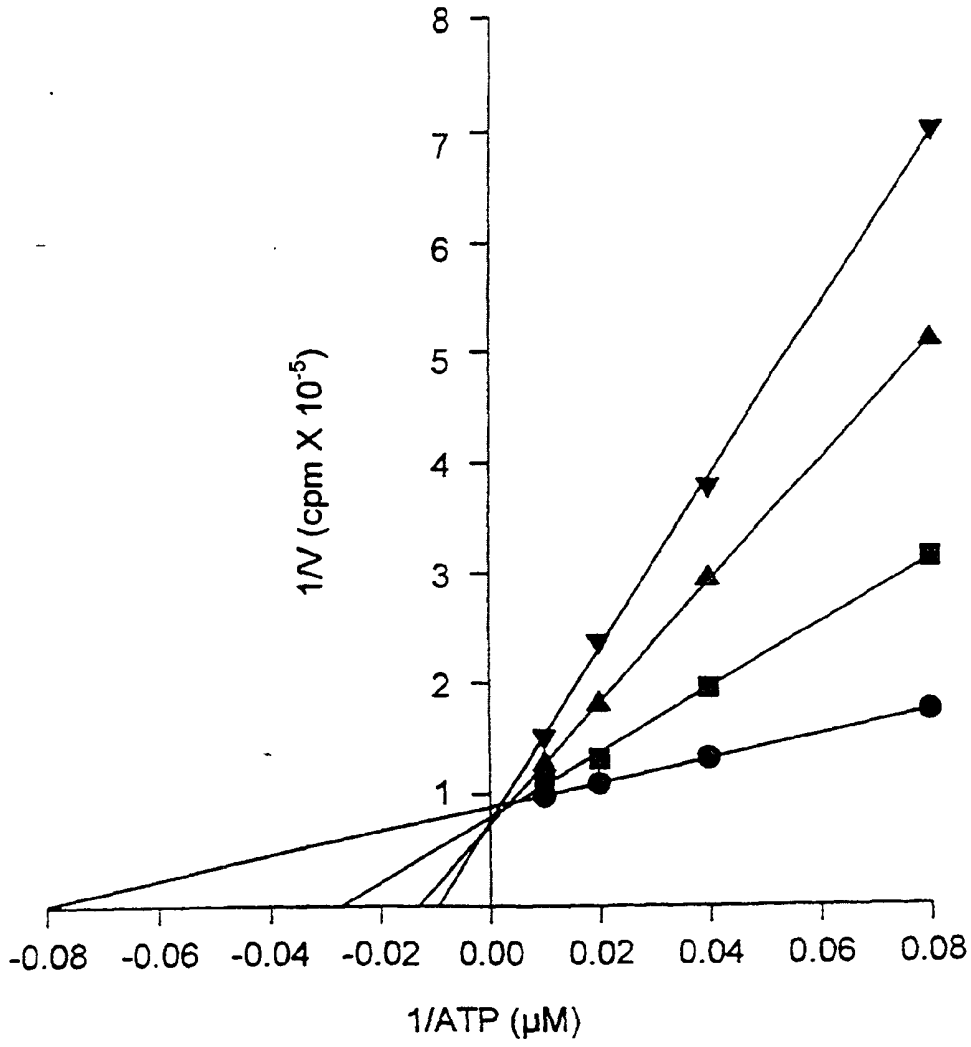
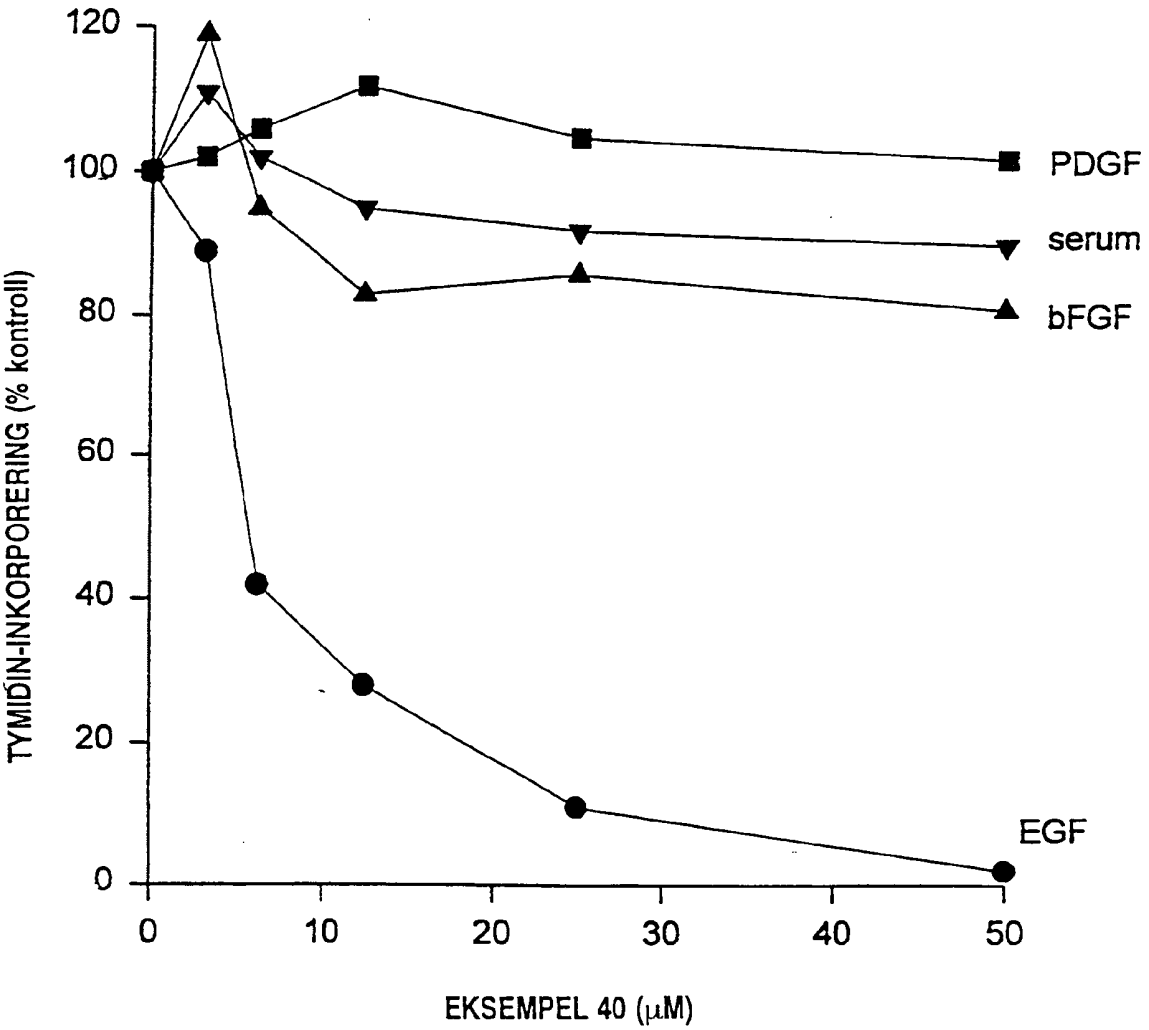

8
7
6
5
4
3
2
1
1/V (cpm X 10-5)
-0.08
-0.06
-0.04
-0.02
0.00
0.02
0.04
0.06
0.08
1/ATP (μM)

FIG. 14


120
100
80
60
40
20
0
TYMIDIN-INKORPORERING (% kontroll)
0
10
20
30
40
50
EKSEMPEL 40 (μM)
PDGF
serum
bFGF
EGF

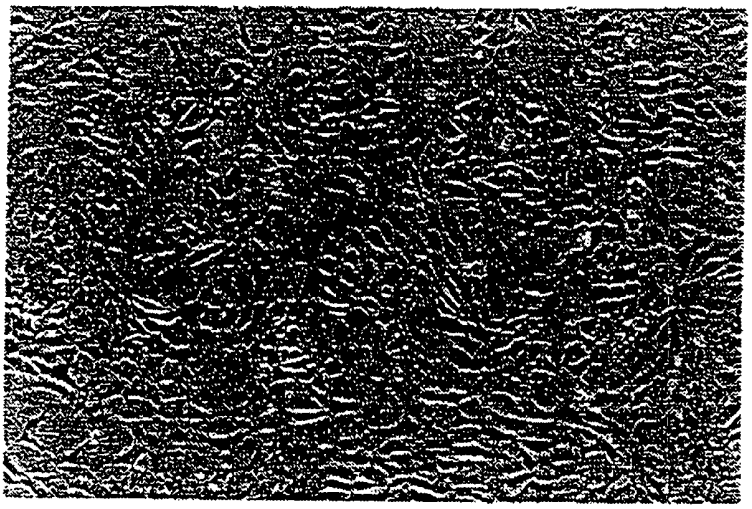


FIG. 15

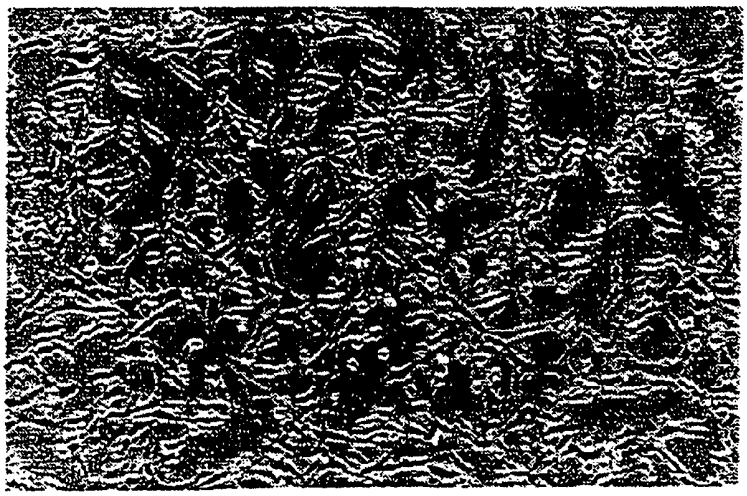


FIG. 16

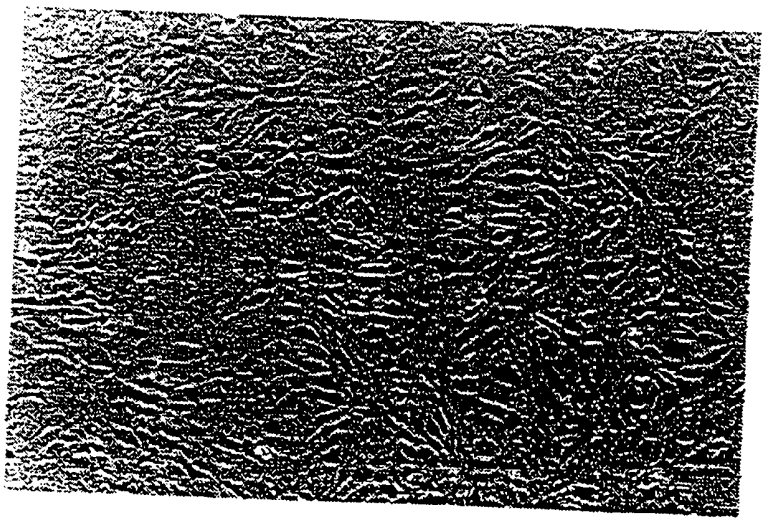


FIG. 17