



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 04 340 T2 2004.06.09**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 165 544 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 04 340.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US00/08192**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 919 742.7**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 00/59901**

(86) PCT-Anmeldetag: **28.03.2000**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **12.10.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **02.01.2002**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **06.08.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **09.06.2004**

(51) Int Cl.⁷: **C07D 401/12**

**C07D 231/54, C07D 403/12, C07D 495/04,
A61K 31/416, A61P 35/00, A61P 43/00**

(30) Unionspriorität:

127963 P 06.04.1999 US

(73) Patentinhaber:

Abbott GmbH & Co. KG, 65205 Wiesbaden, DE

(74) Vertreter:

Schieber und Kollegen, 80469 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**DOYLE, J., Kevin, Nottingham NG1 1GF, GB;
RAFFERTY, Paul, Nottingham NG1 1GF, GB;
STEELE, W., Robert, Nottingham NG1 1 GF, GB;
TURNER, Allyson, Nottingham NG1 1GF, GB;
WILKINS, J., David, Nottingham NG1 1GF, GB;
ARNOLD, D., Lee, Westborough, US**

(54) Bezeichnung: **SUBSTITUIERTE 1,4-DIHYDROINDENO[1,2-C]PYRAZOLE ALS INHIBITOREN VON TYROSINKINASE**

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

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

Beschreibung

[0001] Diese Erfindung betrifft bestimmte 3-Arylpyrazole mit 4,5(3,4)-bicyklischer Ringkondensation, welche Inhibitoren von Proteinkinasen sind, insbesondere von Tyrosinkinasen und Serin-/Threoninkinasen, wovon einige neuartige Verbindungen sind, pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Pyrazole enthalten, und Verfahren zur Herstellung dieser Pyrazole.

[0002] Es gibt mindestens 400 Enzyme, die als Proteinkinasen identifiziert wurden. Diese Enzyme katalysieren die Phosphorylierung von Zielproteinsubstraten. Diese Phosphorylierung ist normalerweise eine Übertragungsreaktion von einer Phosphatgruppe aus ATP zu dem Proteinsubstrat. Die spezifische Struktur in dem Zielsubstrat, zu welchem das Phosphat übertragen wird, ist ein Tyrosin-, Serin- oder Threoninrest. Da diese Aminosäurereste die Zielstrukturen für die Phosphorübertragung sind, werden diese Proteinkinaseenzyme für gewöhnlich als Tyrosinkinasen oder Serin-/Threoninkinasen bezeichnet.

[0003] Die Phosphorylierungsreaktionen und entgegenwirkende Phosphatasereaktionen an den Tyrosin-, Serin- und Threoninresten sind in unzählige Zellprozesse, die den Reaktionen auf verschiedene intrazelluläre Signale unterliegen (typischerweise durch Zellrezeptoren vermittelt), Regulierung von Zellfunktionen, und Aktivierung oder Desaktivierung von Zellprozessen verwickelt. Eine Kaskade an Proteinkinasen nimmt häufig an intrazellulärer Signalübertragung teil und ist zur Realisierung dieser Zellprozesse notwendig. Wegen ihrer Allgegenwart in diesen Prozessen können die Proteinkinasen als ein integraler Teil der Plasmamembran oder als zytoplasmatische Enzyme oder in dem Kern lokalisiert vorgefunden werden, oftmals als Komponenten von Enzymkomplexen. In vielen Fällen sind diese Proteinkinasen ein wesentliches Element von Enzym- und Strukturproteinkomplexen, die bestimmen, wo und wann ein Zellprozess sich innerhalb einer Zelle ereignet.

Proteintyrosinkinasen

[0004] Proteintyrosinkinasen (PTKs) sind Enzyme, welche die Phosphorylierung von spezifischen Tyrosinresten in Zellproteinen katalysieren. Diese posttranslationale Modifikation von diesen Substratproteinen, die häufig selbst Enzyme sind, wirkt als eine Molekülumstellung, die die Zellproliferation, Aktivierung oder Differenzierung reguliert (zur Nachprüfung siehe Schlessinger und Ulrich, 1992, Neuron 9: 383–391). Anomale oder übermäßige PTK-Aktivität ist in vielen Krankheitszuständen beobachtet worden, einschließlich gutartig und bösartig wuchernde Störungen sowie Krankheiten, die aus unangemessener Aktivierung des Immunsystems resultieren (z.B. Autoimmunkrankheiten), Transplantatabstoßung und Transplantat-gegen-Empfänger-Reaktion. Zusätzlich vermitteln Endothelzell-spezifische Rezeptor-PTKs wie KDR und Tie-2 den angiogenen Prozess und sind folglich verwickelt in die Unterstützung des Fortschreitens von Krebs und anderer Krankheiten, die unangemessene Vaskularisation einschließen (z.B. diabetische Retinopathie, Choroideaneovaskularisation wegen altersbezogener Makuladegeneration, Schuppenflechte (Psoriasis), Arthritis, infantiler Hämangiome).

[0005] Tyrosinkinasen können vom Rezeptortyp sein (mit extrazellulärer Transmembran und intrazellulären Domänen) oder vom Nichtrezeptortyp (vollständig intrazellulär).

Rezeptortyrosinkinasen (RTKs)

[0006] Die RTKs umfassen eine große Familie von Transmembranrezeptoren mit verschiedenen biologischen Aktivitäten. Gegenwärtig sind mindestens neunzehn (19) unterschiedliche RTK-Subfamilien identifiziert worden. Die Rezeptortyrosinkinase(RTK)-Familie umfasst Rezeptoren, die für das Wachstum und die Differenzierung von einer Vielfalt von Zelltypen entscheidend sind (Yarden und Ullrich, Ann. Rev. Biochem. 57: 433–478, 1988; Ullrich und Schlessinger, Cell 61: 243–254, 1990). Die intrinsische Funktion von RTKs wird aktiviert nach Ligandbindung, welche zu Phosphorylierung des Rezeptors und mehrerer Zellsubstrate führt, und anschließend zu einer Vielfalt von Zellreaktionen (Ullrich & Schlessinger, 1990, Cell 61: 203–212). Folglich wird eine Rezeptortyrosinkinasevermittelte Signalübertragung durch extrazelluläre Wechselwirkung mit einem spezifischen Wachstumsfaktor (Ligand) initiiert, typischerweise gefolgt von Rezeptordimerisation, Stimulation der intrinsischen Proteintyrosinkinaseaktivität und Rezeptor-Trans-Phosphorylierung. Bindungsstellen werden dadurch für intrazelluläre Signalübertragungsmoleküle erzeugt und führen zu der Bildung von Komplexen mit einem Spektrum von zytoplasmatischen Signalmolekülen, die die entsprechende Zellreaktion erleichtern (z.B. Zellteilung, Differenzierung, metabolische Effekte, Änderungen der extrazellulären Mikroumgebung) (siehe Schlessinger und Ullrich, 1992, Neuron 9: 1–20).

[0007] Proteine mit SH2(src-Homologie-2)- oder Phosphotyrosinbindungs(PTB)-Domänen binden aktivierte Tyrosinkinase-rezeptoren und deren Substrate mit hoher Affinität, um Signale in Zellen weiterzuleiten. Beide Domänen erkennen Phosphotyrosin (Fantl et al., 1992, Cell 69: 413–423; Songyang et al., 1994, Mol. Cell. Biol. 14: 2777–2785; Songyang et al., 1993, Cell 72: 767–778; Koch et al., 1991, Science 252: 668–678; Shoelson, Curr. Opin. Chem. Biol. (1997), 1(2), 227–234; und Cowburn, Curr. Opin. Struct. Biol. (1997), 7(6), 835–838). Mehrere intrazelluläre Substratproteine, die mit Rezeptortyrosinkinasen (RTKs) assoziieren, sind identifiziert

worden. Sie können in zwei Hauptgruppen unterteilt werden: (1) Substrate, welche eine katalytische Domäne besitzen; und (2) Substrate, welchen eine solche Domäne fehlt, welche aber als Adapter dienen und sich mit katalytisch aktiven Molekülen zusammenschließen (Songyang et al., 1993, Cell 72: 767–778). Die Spezifität der Wechselwirkungen zwischen Rezeptoren oder Proteinen und SH2- oder PTB-Domänen ihrer Substrate wird bestimmt durch die Aminosäurereste, die den phosphorylierten Tyrosinrest unmittelbar umgeben. Zum Beispiel korrelieren Differenzen in den Bindungsaffinitäten zwischen SH2-Domänen und den Aminosäuresequenzen um die Phosphotyrosinreste an einzelnen Rezeptoren herum mit den beobachteten Differenzen in ihren Substratphosphorylierungsprofilen (Songyang et al., 1993, Cell 72: 767–778). Beobachtungen legen nahe, dass die Funktion von jeder Rezeptortyrosinkinase nicht nur durch deren Muster der Expression und Ligandenverfügbarkeit bestimmt wird, sondern auch durch die Anordnung von nachgeschalteten Signalübertragungswegen, die durch einen speziellen Rezeptor aktiviert werden, sowie der zeitlichen Anordnung und Dauer solcher Stimuli. Somit stellt die Phosphorylierung einen wichtigen Regulationsschritt bereit, welcher die Selektivität von Signalwegen bestimmt, die durch spezifische Wachstumsfaktorrezeptoren sowie durch Differenzierungsfaktorrezeptoren rekrutiert werden.

[0008] Für mehrere Rezeptortyrosinkinasen und Wachstumsfaktoren, die daran binden, ist vorgeschlagen worden, dass sie eine Rolle bei der Angiogenese spielen, auch wenn einige die Angiogenese indirekt fördern können (Mustonen und Alitalo, J. Cell Biol. 129: 895–898, 1995). Eine solche Rezeptortyrosinkinase, die als "fötale Leberkinase 1" (FLK-1) bekannt ist, ist ein Mitglied der Typ-III-Subklasse von RTKs. Eine alternative Bezeichnung für Human-FLK-1 ist "Kinase-Insert-Domäne-haltiger Rezeptor" (KDR) (Terman et al., Oncogene 6: 1677–83, 1991). Eine andere alternative Bezeichnung für FLK-1/KDR ist "vaskulärer Endothelzellwachstumsfaktorrezeptor 2" (VEGFR-2), da er VEGF mit hoher Affinität bindet. Die Mausversion von FLK-1/VEGFR-2 ist auch NYK genannt worden (Oelrichs et al., Oncogene 8(1): 11–15, 1993). DNAs, die FLK-1 für Maus, Ratte und Mensch codieren, sind isoliert worden, und das Nukleotid und die codierten Aminosäuresequenzen berichtet worden (Matthews et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 9026–30, 1991; Terman et al., 1991, oben; Terman et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 187: 1579–86, 1992; Sarzani et al., oben; und Millauer et al., Cell 72: 835–846, 1993). Zahlreiche Studien wie jene, die in Millauer et al., oben, berichtet wurden, legen nahe, dass VEGF und FLK-1/KDR/VEGFR-2 ein Ligand-Rezeptor-Paar sind, das eine wichtige Rolle spielt bei der Proliferation von vaskulären Endothelzellen und bei der Bildung und dem Wachstum von Blutgefäßen, bezeichnet als Vaskulogenese bzw. Angiogenese.

[0009] Eine andere Typ-III-Subklassen-RTK mit der Bezeichnung "Flossenartige Tyrosinkinase-1" (Flt-1) ist verwandt mit FLK-1/KDR (DeVries et al., Science 255: 989–991, 1992; Shibuya et al. Oncogene 5: 519–524, 1990). Eine alternative Bezeichnung für Flt-1 ist "vaskulärer Endothelzellwachstumsfaktorrezeptor 1" (VEGFR-1). Bis heute wurde für Mitglieder der Subfamilien FLK-1/KDR/VEGFR-2 und Flt-1/VEGFR-1 herausgefunden, dass sie primär auf Endothelzellen exprimiert werden. Diese Subklassenmitglieder werden spezifisch stimuliert durch Mitglieder der vaskulären Endothelzellwachstumsfaktor(VEGF)-Familie von Liganden (Klagsburn und D'Amore, Cytokine & Growth Factor Reviews 7: 259–270, 1996). Vaskulärer Endothelzellwachstumsfaktor (VEGF) bindet an Flt-1 mit höherer Affinität als FLK-1/KDR und ist mitogen gegenüber vaskulären Endothelzellen (Terman et al., 1992, oben; Mustonen et al., oben; DeVries et al., oben). Für Flt-1 wird angenommen, dass es wesentlich ist zur Endothelorganisation während der Gefäßentwicklung. Flt-1-Expression ist verbunden mit früher Gefäßentwicklung bei Mäuseembryonen und mit Neovaskularisation während Wundheilung (Mustonen und Alitalo, oben). Expression von Flt-1 in Organen von Erwachsenen wie Nierenglomeruli legt eine zusätzliche Funktion für diesen Rezeptor nahe, der nicht mit Zellwachstum in Beziehung steht (Mustonen und Alitalo, oben).

[0010] Wie zuvor bemerkt, legt ein zuvor festgestellter, jüngster Beweis nahe, dass VEGF eine Rolle spielt bei der Stimulation von sowohl normaler als auch pathologischer Angiogenese (Jakeman et al., Endocrinology 133: 848–859, 1993; Kolch et al., Breast Cancer Research and Treatment 36: 139–155, 1995; Ferrara et al., Endocrine Reviews 18(1): 4–25, 1997; Ferrara et al., Regulation of Angiogenesis (Herausgeber L. D. Goldberg und E. M. Rosen), 209–232, 1997). Zusätzlich ist VEGF mit der Steuerung und Erhöhung der vaskulären Permeabilität in Zusammenhang gebracht

[0011] worden (Connolly et al., J. Biol. Chem. 264: 20017–20024, 1989; Brown et al., Regulation of Angiogenesis (Herausgeber L. D. Goldberg und E. M. Rosen) 233–269, 1997).

[0012] Unterschiedliche Formen von VEGF, die aus alternativem Spleißen von mRNA hervorgehen, sind berichtet worden, einschließlich die vier Spezies, die beschrieben wurden durch Ferrara et al. (J. Cell. Biochem. 47: 211–218, 1991). Sowohl sekretierte als auch vorherrschend Zell-assoziierte Spezies von VEGF sind identifiziert worden durch Ferrara et al. oben, und für das Protein ist bekannt, dass es in der Form von Disulfidverknüpften Dimeren vorkommt.

[0013] Mehrere verwandte Homologe von VEGF sind kürzlich identifiziert worden. Jedoch sind deren Rollen in normalen physiologischen und Krankheitsprozessen noch nicht aufgeklärt worden. Zusätzlich werden die Mitglieder der VEGF-Familie häufig mit VEGF in vielen Geweben koexprimiert und sind, im Allgemeinen, in der Lage, Heterodimere mit VEGF zu bilden. Diese Eigenschaft ändert wahrscheinlich die Rezeptorspezifität und

biologischen Effekte der Heterodimere und verkompliziert weiter die Aufklärung von deren spezifischen Funktionen, wie unten veranschaulicht (Korpelainen und Alitolo, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 159–164, 1998 und darin genannte Referenzen).

[0014] Plazentawachstumsfaktor (PlGF) hat eine Aminosäuresequenz, die signifikante Homologie zu der VEGF-Sequenz zeigt (Park et al., *J. Biol. Chem.* 269: 25646–54, 1994; Maglione et al., *Oncogene* 8: 925–31, 1993). Wie bei VEGF gehen unterschiedliche Spezies von PlGF aus alternativem Spleißen von mRNA hervor und die Proteine kommen in dimerer Form vor (Park et al., oben). PlGF-1 und PlGF-2 binden an Flt-1 mit hoher Affinität, und PlGF-2 bindet außerdem begierig an Neuropilin-1 (Migdal et al., *J. Biol. Chem.* 273 (35): 22272–22278), aber keines bindet an FLK-1/KDR (Park et al., oben). Für PlGF ist berichtet worden, dass es sowohl die vaskuläre Permeabilität als auch den mitogenen Effekt von VEGF auf Endothelzellen verstärkt, wenn VEGF in niedrigen Konzentrationen vorhanden ist (angeblich wegen der Heterodimerbildung (Park et al., oben)).

[0015] VEGF-B wird als zwei Isoformen produziert (167 und 185 Reste), die auch Flt-1/VEGFR-1 zu binden scheinen. Es kann eine Rolle spielen bei der Regulation von extrazellulärer Matrixdegradation, Zelladhäsion und Migration durch Modulation der Expression und Aktivität von Urokinase-Typ-Plasminogenaktivator und Plasminogenaktivatorhemmer 1 (Pepper et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1998), 95(20): 11709–11714).

[0016] VEGF-C wurde ursprünglich kloniert als ein Ligand für VEGFR-3/Flt-4, welcher primär exprimiert wird durch lymphatische Endothelzellen. In seiner vollständig verarbeiteten Form kann VEGF-C außerdem KDR/VEGFR-2 binden und die Proliferation und Migration von Endothelzellen *in vitro* und Angiogenese in *In-Vivo*-Modellen stimulieren (Lymboussaki et al., *Am. J. Pathol.* (1998), 153(2): 395–403; Witzenbichler et al., *Am. J. Pathol.* (1998), 153(2), 381–394). Die transgene Überexpression von VEGF-C verursacht Proliferation und Vergrößerung nur von Lymphgefäßen, während Blutgefäße unbeeinträchtigt bleiben. Anders als bei VEGF wird die Expression von VEGF-C nicht durch Hypoxie hervorgerufen (Ristimaki et al., *J. Biol. Chem.* (1998), 273(14), 8413–8418).

[0017] Das allerjüngst entdeckte VEGF-D ist strukturell sehr ähnlich zu VEGF-C. Für VEGF-D wird berichtet, dass es mindestens zwei VEGFRs, VEGFR-3/Flt-4 und KDR/VEGFR-2, bindet. Es wurde ursprünglich als ein c-fos-induzierbares Mitogen für Fibroblasten kloniert und wird am auffallendsten in den Mesenchymzellen der Lunge und der Haut exprimiert (Achen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1998), 95(2), 548–553 und Referenzen darin).

[0018] Für VEGF-C und VEGF-D ist beansprucht worden, dass sie in einem Miles-Assay Erhöhungen in vaskulärer Permeabilität *in vivo* induzieren, wenn sie in kutanes Gewebe injiziert werden (PCT/US97/14696; WO98/07832, Witzenbichler et al., oben). Die physiologische Rolle und Bedeutung dieser Liganden bei der Modulierung von vaskulärer Hyperpermeabilität und Endothelreaktionen in Geweben, wo sie exprimiert werden, bleibt unbestimmt.

[0019] Beruhend auf sich herausstellenden Entdeckungen von anderen Homologen von VEGF und VEGFRs und den Präzedenzfällen für Ligand- und Rezeptorheterodimerisierung können die Aktionen solcher VEGF-Homologe die Bildung von VEGF-Ligandheterodimeren einschließen, und/oder Heterodimerisierung von Rezeptoren oder Bindung an ein noch unentdecktes VEGFR (Witzenbichler et al., oben). Außerdem legen jüngste Berichte nahe, dass Neuropilin-1 (Migdal et al., oben) oder VEGFR-3/Flt-4 (Witzenbichler et al., oben) oder andere Rezeptoren als KDR/VEGFR-2 verantwortlich sein können für die Induktion von vaskulärer Permeabilität (Stacker, S. A., Vitali, A., Domagala, T., Nice, E. und Wilks, A. F., "Angiogenesis and Cancer", Conference, Amer. Assoc. Cancer Res., Jan. 1998, Orlando, FL; Williams, *Diabetologia* 40: 5118–120 (1997). Bis jetzt ist kein direkter Beweis für die wesentliche Rolle von KDR in VEGF-vermittelter vaskulärer Hyperpermeabilität offenbart worden.

Die Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen

[0020] Die Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen stellen eine Sammlung von Zellenzymen dar, welchen extrazelluläre und transmembrane Sequenzen fehlen. Gegenwärtig sind mehr als vierundzwanzig einzelne Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen identifiziert worden, die elf (11) Subfamilien (Src, Frk, Btk, Csk, Abl, Zap70, Fes/Fps, Fak, Jak, Ack und LIMK) umfassen. Gegenwärtig setzt sich die Src-Subfamilie von Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen aus der größten Anzahl von PTKs zusammen und umfasst Src, Yes, Fyn, Lyn, Lck, Blk, Hck, Fgr und Yrk. Die Src-Subfamilie von Enzymen ist mit Onkogenese verknüpft worden. Eine ausführlichere Diskussion von Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen wird bereitgestellt in Bolen, 1993, *Oncogene* 8: 2025–2031.

[0021] Für viele der Tyrosinkinasen, ob eine RTK oder Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinase, ist herausgefunden worden, dass sie in zelluläre Signalisierungswege verwickelt sind, die in zahlreiche pathogene Zustände verwickelt sind, einschließlich Krebs, Schuppenflechte (Psoriasis) und andere hyperproliferative Störungen oder Hyperimmunreaktionen.

[0022] In Hinblick auf die vermutete Bedeutung von PTKs für die Steuerung, Regulation und Modulation von Zellproliferation, der Krankheiten und Störungen, die mit anomaler Zellproliferation verbunden sind, sind viele Versuche unternommen worden, um Rezeptor- und Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinase-"Inhibitoren" unter Verwendung einer Vielfalt von Annäherungen zu identifizieren, einschließlich der Verwendung von mutierten Liganden (US-Patent Nr. 4.966.849), löslichen Rezeptoren und Antikörpern (Anmeldung Nr. WO 94/10202; Kendall & Thomas, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. 90: 10705–09; Kim et al., 1993, Nature 362: 841–844), RNA-Liganden (Jellinek, et al., Biochemistry 33: 10450–56; Takano, et al., 1993, Mol. Bio. Cell 4: 358A; Kinsella, et al., 1992, Exp. Cell Res. 199: 56–62; Wright, et al., 1992, J. Cellular Phys. 152: 448–57) und Tyrosinkinasehemmern (WO 94/03427; WO 92/21660; WO 91/15495; WO 94/14808; US-Patent Nr. 5.330.992; Mariani, et al., 1994, Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 35: 2268).

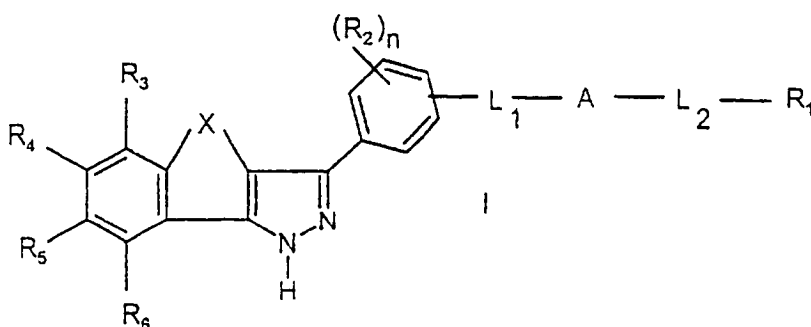
[0023] Vor kurzem sind Versuche unternommen worden, um kleine Moleküle zu identifizieren, welche als Tyrosinkinasehemmer agieren. Zum Beispiel sind bimonozyklische, bityklische oder heterozyklische Arylverbindungen (PCT WO 92/20642) und Vinylen-Azaindol-Derivate (PCT WO 94/14808) allgemein als Tyrosinkinasehemmer beschrieben worden. Styrylverbindungen (US-Patent Nr. 5.217.999), Styryl-substituierte Pyridylverbindungen (US-Patent Nr. 5.302.606), bestimmte Chinazolinderivate (EP-Anmeldung Nr. 0 566 266 A1; Expert Opin. Ther. Pat. (1998), 8(4): 475–478), Selenoindole und Selenide (PCT WO 94/03427), trizyklische Polyhydroxylverbindungen (PCT WO 92/21660) und Benzylphosphonsäureverbindungen (PCT WO 91/15495) sind beschrieben worden als Verbindungen zur Verwendung als Tyrosinkinasehemmer zum Gebrauch bei der Behandlung von Krebs. Anilincinnoline (PCT WO 97/34876) und Chinazolinderivatverbindungen (PCT WO 97/22596; PCT WO 97/42187) sind beschrieben worden als Hemmer von Angiogenese und vaskulärer Permeabilität.

[0024] Zusätzlich sind Versuche unternommen worden, kleine Moleküle zu identifizieren, welche als Serin/Threoninkinasehemmer agieren. Insbesondere für Bis(indolylmaleimid)-Verbindungen ist beschrieben worden, dass sie spezielle PKC-Serin/Threoninkinaseisoformen hemmen, deren Fehlfunktion verbunden ist mit geänderter vaskulärer Permeabilität in VEGF-verwandten Krankheiten (PCT WO 97/40830; PCT WO 97/40831).

[0025] Die Identifizierung von wirksamen, kleinen Verbindungen, welche Signalübertragung spezifisch hemmen, indem sie die Aktivität von Rezeptor- und Nicht-Rezeptor-Tyrosin- und Serin/Threoninkinasen modulieren, um anomale oder unangemessene Zellproliferation, Differenzierung oder Metabolismus zu regulieren und zu modulieren, ist deshalb erwünscht. Insbesondere wäre die Identifikation von Verfahren und Verbindungen vorteilhaft, die die Funktion einer Tyrosinkinase spezifisch hemmen, welche für angiogene Prozesse oder zur Bildung von vaskulärer Hyperpermeabilität wesentlich ist, die zu Ödemen, Aszites, Ergüssen, Exsudaten und makromolekularer Extravasation und Matrixablagerung sowie verbundenen Krankheiten führen.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0026] Die vorliegende Erfindung stellt Verbindungen der Formel I bereit:



und pharmazeutisch verträgliche Salze davon, in denen

L_1 eine Gruppe der Formel $(E)_s(CH_2)_q$ darstellt, in der E NR_{24} , O oder S darstellt, s ist 0 oder 1 und q ist eine ganze Zahl von 0 bis 6, vorausgesetzt, dass, wenn s 1 ist, q mindestens 1 ist, in der die Alkylkette wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C_1 - C_6 -Alkylgruppe, wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; eine C_1 - C_6 -Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; Hydroxy; Halo; oder wahlweise substituiertes Amino;

A stellt $CONH$, $NHCO$, SO_2NH , $NHSO_2$ oder NR_{25} dar;

L_2 stellt eine Gruppe der Formel $(CH_2)_r$ dar, in der r eine ganze Zahl von 0 bis 6 ist, in der die Alkylkette wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C_1 - C_6 -Alkylgruppe, wahlweise substituiert

durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; eine C₁-C₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; Hydroxy; Halo; oder wahlweise substituiertes Amino;

R₂ stellt eine C₁-C₆-Alkylgruppe dar, wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Halo, Hydroxy, C₁-C₆-Alkoxy oder wahlweise substituiertes Amino; eine C₁-C₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Halo, Hydroxy, C₁-C₆-Alkoxy oder wahlweise substituiertes Amino; oder R₂ ist Halo, Hydroxy, Cyano, Nitro, Carbamoyl, eine C₁-C₆-Alkanoylgruppe, eine (C₁-C₆-Alkoxy)carbonylgruppe oder wahlweise substituiertes Amino;

n stellt 0, 1, 2 oder 3 dar;

X stellt folgendes dar: a) substituiertes Methylen, b) Carbonyl, c) Sauerstoff, d) eine Gruppe der Formel -C=NOR₇, in der R₇ H oder eine C₁₋₄-Alkylgruppe darstellt, e) eine Gruppe der Formel NR₈, in der R₈ H darstellt, eine wahlweise substituierte C₁₋₄-Alkylgruppe oder wahlweise substituiertes Phenyl, f) eine Gruppe der Formel (CH₂)_n, in der n 1, 2 oder 3 ist, oder g) eine Gruppe der Formel S(O)_p, in der p 0, 1 oder 2 ist;

R₃, R₄, R₅ und R₆ stellen unabhängig folgendes dar: a) H, b) Halo, c) eine C₁₋₆-Alkylgruppe, wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy, eine C₁₋₆-Alkoxygruppe, Halo oder eine wahlweise substituierte Aminogruppe; d) eine C₁₋₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy; eine C₁₋₆-Alkoxygruppe; Halo; oder eine wahlweise substituierte Aminogruppe, vorausgesetzt, dass diese Gruppen nicht an den Kohlenstoff gebunden sind, der an den Sauerstoff der Alkoxygruppe gebunden ist; e) wahlweise substituiertes Phenoxy, f) Hydroxy, g) eine Gruppe der Formel COR_a, in der R_a Hydroxy, eine C₁₋₆-Alkoxygruppe darstellt, oder R_a stellt eine wahlweise substituierte Aminogruppe dar, h) eine wahlweise substituierte Aminogruppe, i) eine C₁₋₆-Alkanoylgruppe, j) Nitro, k) wahlweise substituiertes Phenyl-C₁₋₆-Alkyl, l) wahlweise substituiertes Phenyl-C₁₋₆-Alkoxy, m) Cyano; oder o) eine C₂₋₄-Alkenylgruppe oder eine C₂₋₄-Alkylgruppe, die jeweils wahlweise substituiert sind durch Phenyl, das wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁₋₆-Alkylgruppe, eine C₁₋₆-Alkoxygruppe oder Halo; und

1) wenn A SO₂NH oder NHSO₂ ist

dann stellt R₁ folgendes dar: a) wahlweise substituiertes Phenyl, b) wahlweise substituiertes Heteroaryl, c) einen fünf-, sechs- oder siebengliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring, ein Stickstoffatom enthaltend, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und wahlweise substituiert ist durch eine C₁₋₆-Alkylgruppe, worin der gesättigte Ring gebunden sein kann durch Kohlenstoff oder ein Heteroatom, d) eine wahlweise substituierte Aminogruppe oder e) eine C₁₋₆-Alkoxygruppe;

2) wenn A CONH oder NHCO darstellt,

dann stellt R₁ folgendes dar: a) Phenyl substituiert durch Nitro oder ein oder mehrere C₁₋₆-Alkoxygruppen, wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Halo, Hydroxy, C₁₋₆-Alkoxy oder wahlweise substituiertes Amino, b) wahlweise substituiertes Heteroaryl oder c) einen fünf- sechs- oder siebengliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring, ein Stickstoffatom enthaltend, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und wahlweise substituiert ist durch eine C₁₋₆-Alkylgruppe, worin der gesättigte Ring durch ein Kohlenstoffatom gebunden ist, oder d) eine C₁₋₆-Alkoxygruppe;

3) wenn A eine Gruppe NR₂₅ darstellt und q mindestens 1 ist, dann stellt R₁ a) wahlweise substituiertes Phenyl, b) wahlweise substituiertes Heteroaryl oder c) eine wahlweise substituierte Aminogruppe dar; und

4) wenn A eine Gruppe NR₂₅ darstellt und q 0 ist und s 0 ist, dann stellt R₁ wahlweise substituiertes Heteroaryl dar;

R₂₄ und R₂₅ stellen unabhängig H dar; eine C₁₋₆-Alkylgruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy, eine C₁₋₆-Alkoxygruppe, Halo oder eine wahlweise substituierte Aminogruppe; eine C₁₋₆-Alkanoylgruppe oder eine C₁₋₆-Alkylsulphonylgruppe; vorausgesetzt, dass keine zwei Heteroatome an das gleiche sp³-hybridisierte Kohlenstoffatom gebunden sind.

[0027] Es wird vom Fachmann verstanden werden, dass wenn n etwas anderes als 0 oder 1 ist, die Gruppen R₂ die gleichen oder verschieden sein können.

[0028] Der Ausdruck wahlweise substituierte Aminogruppe bedeutet eine Gruppe der Formel NR_kR_l, worin R_k und R_l unabhängig Wasserstoff, eine C₁₋₁₂-Alkylgruppe, eine C₁₋₁₂-Alkoxygruppe, eine C₃₋₁₂-Cycloalkylgruppe, eine Phenylgruppe, eine Phenyl-C₁₋₆-Alkylgruppe, eine Heteroarylgruppe oder eine Heteroaryl-C₁₋₆-Alkylgruppe darstellen, worin jede der Gruppen wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁₋₆-Alkylgruppe, eine C₁₋₆-Alkoxygruppe, Hydroxy, Halo; oder R_k und R_l zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, stellen einen fünf-, sechs- oder siebengliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring dar, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und wahlweise substituiert ist durch eine C₁₋₆-Alkylgruppe.

[0029] Der Ausdruck wahlweise substituiert, wie er hier bezüglich Phenyl und Heteroaryl verwendet wird, bedeutet substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: a) Halo, b) eine C₁₋₆-Alkylgruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy, Halo, eine wahlweise substituierte Aminogruppe oder ein fünf-, sechs- oder siebengliedriger gesättigter heterozyklischer Ring, ein Stickstoffatom enthaltend, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und der wahlweise substituiert ist

durch eine C₁₋₆-Alkylgruppe, worin der gesättigte Ring durch ein Kohlenstoffatom gebunden ist; c) eine C₁₋₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy; eine C₁₋₆-Alkoxygruppe; Halo; oder eine wahlweise substituierte Aminogruppe, vorausgesetzt, dass diese Gruppen nicht an den Kohlenstoff gebunden sind, der an den Sauerstoff der Alkoxygruppe gebunden ist, oder ein fünf-, sechs- oder siebengliedriger gesättigter heterozyklischer Ring ist, ein Stickstoffatom enthaltend, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und wahlweise substituiert ist durch eine C₁₋₆-Alkylgruppe, worin der gesättigte Ring durch ein Kohlenstoffatom gebunden ist, d) wahlweise substituiertes Phenoxy, e) Hydroxy, f) eine Gruppe der Formel COR_a, in der R_a Hydroxy, eine C₁₋₆-Alkoxygruppe darstellt, oder R_a stellt eine Gruppe der Formel NR_bR_c dar, in der R_b und R_c unabhängig Wasserstoff, eine C₁₋₁₂-Alkylgruppe, eine C₃₋₁₂-Cycloalkylgruppe oder Phenyl darstellen, worin die Alkylgruppe, die Cycloalkylgruppe und Phenyl wahlweise substituiert sind durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy, Halo, eine C₃₋₁₂-Cycloalkylgruppe oder eine Aminogruppe der Formel NR_hR_i, worin R_h und R_i unabhängig Wasserstoff oder eine C₁₋₆-Alkylgruppe darstellen, oder worin R_h und R_i zusammen mit dem Stickstoffatom, an welches sie gebunden sind, einen fünf-, sechs- oder siebengliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring darstellen, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und wahlweise substituiert ist durch eine C₁₋₆-Alkylgruppe, g) eine Gruppe der Formel NR_dR_e, in der R_d und R_e unabhängig gewählt sind aus Wasserstoff, einer C₁₋₁₂-Alkylgruppe, einer C₃₋₁₂-Cycloalkylgruppe oder Phenyl, oder einer Gruppe der Formel COR_f, worin R_f Wasserstoff, eine C₁₋₁₂-Alkylgruppe, eine C₃₋₁₂-Cycloalkylgruppe, eine Phenyl-C₁₋₆-Alkylgruppe oder Phenyl darstellen, worin in jedem Fall die Alkylgruppe, die Cycloalkylgruppe und das Phenyl wahlweise substituiert sind durch ein oder mehrere der folgenden: Halo, Hydroxy, Nitro oder eine Aminogruppe der Formel NR_hR_i, worin R_h und R_i wie oben definiert sind, h) eine Gruppe der Formel O(CH₂)_mR_g, in der m 2, 3, 4 oder 5 ist, und R_g stellt Hydroxy oder eine Gruppe der Formel NR_dR_e dar, in der R_d und R_e wie oben definiert sind; oder R_g stellt eine Gruppe der Formel COR_a dar, worin R_a wie oben definiert ist und m ist 1, 2, 3, 4 oder 5, i) Nitro, j) wahlweise substituiertes Phenyl-C₁₋₆-Alkyl, k) wahlweise substituiertes Phenyl-C₁₋₆-Alkoxy, l) Cyano, m) eine C₃₋₆-Alkenyloxygruppe, n) eine Pyridyloxy- oder Pyridylthiogruppe, in der der Pyridinring wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: Trifluormethyl oder Nitro, o) Hydroxyamidino, p) Aminomethyl, q) Formamidomethyl, r) eine C₁₋₆-Alkylthiogruppe, s) Phenyl oder t) eine C₂₋₄-Alkenylgruppe oder eine C₂₋₄-Alkylgruppe, wobei jede wahlweise substituiert ist durch Phenyl, das wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁₋₆-Alkylgruppe, eine C₁₋₆-Alkoxygruppe oder Halo.

[0030] Der Ausdruck Heteroaryl bedeutet einen wahlweise substituierten mono- oder bicyklischen Heterozyklus, in dem der Heterozyklus 1, 2, 3 oder 4 Heteroatome enthält, gewählt aus Stickstoff, Schwefel oder Sauerstoff. Die Heteroarylgruppe kann durch Kohlenstoff oder ein Heteroatom angelagert sein. Geeignete Heteroarylgruppen umfassen Imidazolyl, Furyl, Pyrrolyl, Thienyl, Oxazolyl, Thiazolyl, Isoxazolyl, Thiadiazolyl, Oxadiazolyl, Pyridinyl, Pyrimidinyl, Pyrazinyl, Pyridazinyl, Chinolyl, Isochinolyl, Indazolyl, Benzoxazolyl, Benzofuryl, Benzothiazolyl, Indolizinyl, Imidazopyridinyl oder Benzo(b)thienyl, die jeweils wahlweise wie oben beschrieben substituiert sind.

[0031] Wenn die wahlweise substituierte Aminogruppe einen gesättigten heterozyklischen Ring darstellt, ist der Ring vorzugsweise Morpholin, Perhydrothiazin-4-yl, Piperidino, Pyrrolidin-1-yl, Piperazin-1-yl, 4-Methylpiperazin-4-yl, Thiamorpholinyl, Perhydro-1,4-diazepin-1-yl oder Perhydroazepinyl.

[0032] Der Ausdruck substituiertes Methylen bedeutet Methylen, substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy oder eine C₁₋₄-Alkylgruppe, worin die Alkylgruppe wahlweise weiter substituiert ist durch eine Gruppe der Formel NR_rR_s, worin R_r und R_s unabhängig H oder eine C₁₋₆-Alkylgruppe darstellen.

[0033] Es versteht sich, dass jede hierin erwähnte Gruppe, welche eine Kette von drei oder mehr Atomen enthält, eine Gruppe bedeutet, in der die Kette gerade oder verzweigt sein kann. Zum Beispiel kann eine Alkylgruppe Propyl umfassen, welches n-Propyl und Isopropyl einschließt, und Butyl, welches n-Butyl, sec-Butyl, Isobutyl und tert-Butyl einschließt. Der Ausdruck C₃₋₁₂-Cycloalkylgruppe umfasst gebrückte Gruppen, zum Beispiel Adamantyl. Der Ausdruck 'Halo', wie er hierin verwendet wird, bedeutet Fluor, Chlor, Brom und Iod.

[0034] Vorzugsweise ist X CH₂ oder S.

[0035] In einer ersten Gruppe bevorzugter Verbindungen der Formel I ist X CH₂ und A ist NR₂₅.

[0036] In einer zweiten Gruppe bevorzugter Verbindungen der Formel I ist X S und A ist NR₂₅.

[0037] In einer dritten Gruppe bevorzugter Verbindungen der Formel I ist X CH₂ und A ist HNSO₂.

[0038] In einer vierten Gruppe bevorzugter Verbindungen der Formel I ist X CH₂ und A ist SO₂NH.

[0039] In einer fünften Gruppe bevorzugter Verbindungen der Formel I ist X CH₂ und A ist CONH.

[0040] In einer sechsten Gruppe bevorzugter Verbindungen der Formel I ist X CH₂ und A ist HNCO.

[0041] In den am meisten bevorzugten Verbindungen der Formel I ist X CH₂, A ist NR₂₅, L₁ ist (CH₂)_q, worin q eine ganze Zahl von 1 bis 6 ist, und die Alkylkette ist wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁₋₆-Alkylgruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; eine C₁₋₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; Hydroxy; Halo; oder wahlweise substituiertes Amino; L₂ ist eine Bindung und R₁ ist wahlweise substituiertes Pyridyl.

[0042] Verbindungen der Formel I können als Salze mit pharmazeutisch verträglichen Säuren vorkommen. Die vorliegende Erfindung schließt solche Salze ein. Beispiele für solche Salze umfassen Hydrochloride, Hydrobromide, Sulfate, Methansulfonate, Nitrate, Maleate, Acetate, Citrate, Fumarate, Tartrate [z.B. (+)-Tartrate, (-)-Tartrate oder Mischungen davon einschließlich racemischer Gemische], Succinate, Benzoate und Salze mit Aminosäuren wie Glutaminsäure. Diese Salze können hergestellt werden durch Verfahren, die dem Fachmann bekannt sind.

[0043] Bestimmte Verbindungen der Formel I, welche saure Substituenten haben, können als Salze mit pharmazeutisch verträglichen Basen vorkommen. Die vorliegende Erfindung schließt solche Salze ein. Beispiele für solche Salze umfassen Natriumsalze, Kaliumsalze, Lysinsalze und Argininsalze. Diese Salze können durch Verfahren hergestellt werden, die dem Fachmann bekannt sind.

[0044] Bestimmte Verbindungen der Formel I und deren Salze können in mehr als einer Kristallform vorkommen, und die vorliegende Erfindung schließt jede Kristallform und Mischungen davon ein..

[0045] Bestimmte Verbindungen der Formel I und deren Salze können in der Form von Solvaten vorkommen, zum Beispiel Hydrate, und die vorliegende Erfindung schließt jedes Solvat und Mischungen davon ein.

[0046] Bestimmte Verbindungen der Formel I können ein oder mehrere Chiralitätszentren enthalten und in unterschiedlichen optisch aktiven Formen vorkommen. Wenn Verbindungen der Formel I ein Chiralitätszentrum enthalten, kommen die Verbindungen in zwei Enantiomeren Formen vor, und die vorliegende Erfindung schließt beide Enantiomere und Mischungen von Enantiomeren ein. Die Enantiomere können getrennt werden durch Verfahren, die dem Fachmann bekannt sind, zum Beispiel durch Bildung von diastereomeren Salzen, welche getrennt werden können, zum Beispiel durch Kristallisation; Bildung von diastereomeren Derivaten oder Komplexen, welche getrennt werden können, zum Beispiel durch Kristallisation, Gas-Flüssig- oder Flüssig-Chromatographie; selektive Reaktion von einem Enantiomer mit einem Enantiomer-spezifischen Reagenz, zum Beispiel enzymatische Veresterung; oder Gas-Flüssig- oder Flüssig-Chromatographie in einer chiralen Umgebung, zum Beispiel auf einem chiralen Träger, zum Beispiel Silicagel mit einem gebundenen chiralen Liganden oder in der Anwesenheit eines chiralen Lösungsmittels. Es wird verstanden werden, dass da, wo das gewünschte Enantiomer in eine andere chemische Einheit umgewandelt wird durch eines der oben beschriebenen Trennverfahren, ein weiterer Schritt erforderlich ist, um die gewünschte enantiomere Form freizusetzen. Alternativ können spezifische Enantiomere synthetisiert werden durch asymmetrische Synthese unter Verwendung optisch aktiver Reagenzien, Substrate, Katalysatoren oder Lösungsmittel, oder durch Umwandlung eines Enantiomers in den anderen durch asymmetrische Transformation.

[0047] Wenn eine Verbindung der Formel I mehr als ein Chiralitätszentrum enthält, kann sie in diastereomeren Formen vorkommen. Die Diastereomerenpaare können getrennt werden durch Verfahren, die dem Fachmann bekannt sind, zum Beispiel Chromatographie oder Kristallisation, und die einzelnen Enantiomere innerhalb jedes Paares können wie oben beschrieben getrennt werden. Die vorliegende Erfindung schließt jedes Diastereomer von Verbindungen der Formel I und Mischungen davon ein.

[0048] Bestimmte Verbindungen der Formel I können in verschiedenen tautomeren Formen oder als unterschiedliche geometrische Isomeren vorkommen, und die vorliegende Erfindung schließt jedes Tautomer und/oder geometrisches Isomer von Verbindungen der Formel I und Mischungen davon ein.

[0049] Bestimmte Verbindungen der Formel I können in unterschiedlichen stabilen Konformationsformen vorkommen, die getrennt werden können. Torsionsasymmetrie wegen eingeschränkter Rotation um eine asymmetrische Einfachbindung, zum Beispiel wegen sterischer Hinderung oder Ringspannung, kann die Trennung von unterschiedlichen Konformeren erlauben. Die vorliegende Erfindung schließt jedes Konformationsisomer von Verbindungen der Formel I und Mischungen davon ein.

[0050] Bestimmte Verbindungen der Formel I kommen in zwitterionischer Form vor, und die vorliegende Erfindung schließt jede zwitterionische Form von Verbindungen der Formel I und Mischungen davon ein.

[0051] Die Verbindungen dieser Erfindung sind nützlich als Inhibitoren von Serin/Threonin- und Tyrosinkinasen. Insbesondere sind die Verbindungen dieser Erfindung nützlich als Inhibitoren von Tyrosinkinasen, die wichtig sind bei Hyperproliferationskrankheiten, besonders in dem Prozess der Angiogenese. Da diese Verbindungen anti-angiogen sind, sind sie wichtige Substanzen zur Hemmung der Progression von Krankheitszuständen, wo Angiogenese eine bedeutende Komponente ist.

[0052] Bevorzugte Definitionen der Substituenten werden jetzt gegeben.

[0053] Vorzugsweise stellt R_1 wahlweise substituiertes Phenyl, wahlweise substituiertes Thienyl, wahlweise substituiertes Pyridyl, wahlweise substituiertes Furyl oder wahlweise substituiertes Pyrrolyl dar.

[0054] Bevorzugter stellt R_1 2-Thienyl, 3-Thienyl, 2-Furyl, 3-Furyl, 2-Pyridyl, 3-Pyridyl oder 4-Pyridyl dar, wobei jedes davon wahlweise substituiert ist, und wahlweise mono-, di- und tri-substituiertes Phenyl, worin die Substituenten gewählt sind aus wahlweise substituiertem Alkoxy (insbesondere Methoxy, 3-Morpholinopropoxy, 2-Morpholinoethoxy, 3-Carboxypropoxy, Carboxymethoxy, 2-Carboxyethoxy, 2-Carbamoylethoxy, Carbamoylmethoxy, 3-Carbamoylpropoxy, 2-Piperidinoethoxy, 2-(Piperazin-1-yl)ethoxy, 2-(Pyrrolidin-1-yl)ethoxy, 2-Dimethylaminoethoxy, 2-(Perhydro-thiazin-4-yl)ethoxy, 3-Piperidinopropoxy, 3-(Piperazin-1-yl)propoxy, 3-(Pyrrolidin-1-yl)propoxy, 3-Dimethylaminopropoxy, 3-(Perhydrothiazin-4-yl)propoxy), Niederalkyl (insbeson-

dere Methyl), Halo (insbesondere Fluor und Chlor), Aryl (insbesondere Phenyl), Hydroxy, Aryloxy (insbesondere Phenoxy), Arylalkoxy (insbesondere Benzyloxy), Di-Niederalkylamino (insbesondere Dimethylamino), Polyhalo-Niederalkyl, Polyhalo-Niederalkoxy (insbesondere Difluoromethoxy), Nitro, Cyano, Niederalkylthio (insbesondere Methylthio), Carboxy, Niederalkoxycarbonyl (insbesondere Methoxycarbonyl), Amido (insbesondere Acetamido und Benzamido) und wahlweise substituiertes Carbamoyl (insbesondere Carbamoyl, N-Methylcarbamoyl, N-Phenylcarbamoyl) und eine Pyridyloxy- oder Pyridylthiogruppe, in der der Pyridinring wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: Trifluoromethyl oder Nitro.

[0055] Am meisten bevorzugt stellt R_1 4-Pyridyl dar, 2-Formamidomethyl-4-Pyridyl, 2-Aminomethyl-4-Pyridyl, 2-(Hydroxyamidino)-4-Pyridyl, 2-Carbamoyl-4-Pyridyl, 4-Pyridyl-N-oxid, 2-Chloro-4-Pyridyl, 2-Cyano-4-Pyridyl, 5-Methyl-2-furyl, 5-(2-Nitro-4-trifluoromethylphenyl)furyl-2-yl, Phenyl, 4-Methoxyphenyl, 3-Methoxyphenyl, 2-Methoxyphenyl, 3,4-Dimethoxyphenyl, 3,4,5-Trimethoxyphenyl, 4-(3-Morpholinopropoxy)phenyl, 4-(2-Morpholinoethoxy)phenyl, 4-(3-Carboxypropoxy)phenyl, 4-Carboxymethoxyphenyl, 4-(3-Carbamoylpropoxy)phenyl, 4-Carbamoylmethoxyphenyl, 3-(3-Morpholinopropoxy)phenyl, 3-(2-Morpholinoethoxy)phenyl, 3-(3-Carboxypropoxy)phenyl, 4-Carboxymethoxyphenyl, 3-(3-Carbamoylpropoxy)phenyl, 3-Carbamoylmethoxyphenyl, 2-Hydroxyphenyl, 3-Hydroxyphenyl, 4-Hydroxyphenyl, 3-Hydroxy-4-methoxyphenyl, 4-Hydroxy-3-methoxyphenyl, 4-Difluormethoxyphenyl, 3-Nitrophenyl, 4-Nitrophenyl, 3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl, 4-Methylphenyl, 4-Fluorphenyl, 2-Chlorphenyl, 3-Chlorphenyl, 4-Chlorphenyl, 2,4-Dichlorphenyl, 2-Chlor-5-nitrophenyl, 4-Fluor-2-chlorphenyl, 4-Methylthiophenyl, 4-Biphenyl, 3-Phenoxyphenyl, 4-Phenoxyphenyl, 4-Benzyloxyphenyl, 4-Dimethylaminophenyl, 4-Diethylaminophenyl, 4-Methoxycarbonylphenyl, 4-Carbamoylphenyl, 4-Cyanophenyl, 4-N-Methylcarbamoylphenyl, 4-N-Phenylcarbamoylphenyl, 4-Acetamidophenyl, 4-Benzamidophenyl, 4-Carboxyphenyl, 4-[N-(2-Diethylaminoethyl)carbamoyl]phenyl, 4-(Prop-1-enyloxy)phenyl, 3-(2-Hydroxyethoxy)phenyl, 3-(N-(2-Diethylaminoethyl)carbamoylmethoxy)phenyl, 3-[3-(N-(2-Diethylaminoethyl)carbamoyl)propoxy]phenyl, 4-(N-(2-Diethylaminoethyl)carbamoylmethoxy)phenyl, 4-[3-(N-(2-Diethylaminoethyl)carbamoyl)propoxy]phenyl, 2-Furyl, 5-(3,5-Bis(trifluormethyl)phenyl)-2-furyl, 3-Brom-2-thienyl, 5-Methoxy-2-furyl, 5-(2-Nitro-4-trifluormethylphenyl)-2-furyl, 3-N-(2-Morpholinoethyl)carbamoylmethoxyphenyl, 3-[3-(N-(2-Morpholinoethyl)carbamoyl)propoxy]phenyl, 4-(N-(2-Morpholinoethyl)carbamoylmethoxy)phenyl, 4-(Morpholinoacetamido)phenyl und 4-[3-(N-(2-Morpholinoethyl)carbamoyl)propoxy]phenyl.

[0056] Vorzugsweise stellen R_3 , R_4 , R_5 und R_6 unabhängig Wasserstoff dar, Halo (insbesondere Fluor), wahlweise substituiertes Niederalkoxy (insbesondere Methoxy, 3-Morpholinopropoxy, 2-Morpholinoethoxy, 3-Carboxypropoxy, Carboxymethoxy, 2-Carboxyethoxy, 2-Carbamoylethoxy, 3-Carbamoylpropoxy, 2-Piperidinoethoxy, 2-(Piperazin-1-yl)ethoxy, 2-(Pyrrolidin-1-yl)ethoxy, 2-Dimethylaminoethoxy, 2-(Perhydrothiazin-1-yl)ethoxy, 3-Piperidinopropoxy, 3-(Piperazin-1-yl)propoxy, 3-(Pyrrolidin-1-yl)propoxy, 3-Dimethylaminopropoxy, 3-(Perhydrothiazin-4-yl)propoxy), Carbamoylmethoxy, Hydroxypropyloxy, Hydroxyethoxy, (3-Morpholino)propoxy und 2-Morpholinoethoxy), Amido (insbesondere Acetamido und Benzamido), wahlweise substituiertes Carbamoyl (insbesondere Carbamoyl, N-Methylcarbamoyl und N-Phenylcarbamoyl), Carboxy, Nitro und Amino.

[0057] Bevorzugter stellen R_3 , R_4 , R_5 und R_6 das Folgende dar: 6,7-Dimethoxy, 6,7,8-Trimethoxy, 6-Fluoro, 6-Acetamido, 7-Methoxy, 6-Carbamoyl, 6-(N-Methylcarbamoyl), 6-(N-Phenylcarbamoyl), (3-Morpholino)propoxy und 2-Morpholino-ethoxy.

[0058] Der Ausdruck Nieder, wie er hierin verwendet wird, bedeutet eine Gruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen.

[0059] Spezielle Verbindungen der vorliegenden Erfindung schließen folgende ein:

4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol)-N-(4-pyridyl)benzylamin
 N-[4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)phenyl]benzensulphonamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-methoxyethyl)benzamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(4-nitrophenyl)benzamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)imidazol-1-ylacetanilid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-[2-(imidazol-1-yl)ethyl]anilin
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinoethyl)benzensulphonamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-methoxyethyl)benzensulphonamid
 N-[2-(N,N-Diethylamino)ethyl]-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzylamin
 N-[2-(N,N-Diethylamino)ethyl]-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzensulphonamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinoethyl)benzylamin
 N-(4-Ethoxyphenyl)-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzylamin
 (S)-4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(pyrrolidin-2-ylmethyl)benzamid
 4-(1H-[1]Benzothieno[3,2-c]pyrazol-3-yl)-N-[3-(imidazol-1-yl)propyl]benzylamin
 4-(1H-[1]Benzothieno[3,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinoethyl)benzylamin
 und pharmazeutisch verträgliche Salze davon einschließlich einzelner Enantiomere und Mischungen von Enantiomeren.

[0060] Die vorliegende Erfindung schließt weiter die Verwendung dieser Verbindungen in pharmazeutischen Zusammensetzungen mit einer pharmazeutisch wirksamen Menge der oben beschriebenen Verbindungen

und einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Bindemittel ein. Diese pharmazeutischen Zusammensetzungen können an Individuen verabreicht werden, um den Prozess der Angiogenese in Angiogenese-gestützten Krankheiten zu verlangsamen oder aufzuhalten, oder um Ödeme, Ergüsse, Exsudate oder Aszites und andere Zustände zu behandeln, die mit vaskulärer Hyperpermeabilität verbunden sind.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0061] Die Verbindungen dieser Erfindung haben anti-angiogene Eigenschaften. Diese anti-angiogenen Eigenschaften sind mindestens teilweise der Hemmung von Proteintyrosinkinasen zuzuschreiben, die für angiogene Prozesse wesentlich sind. Aus diesem Grund können diese Verbindungen verwendet werden als aktive Substanzen gegen solche Krankheitszustände wie Arthritis, Atherosklerose, Schuppenflechte (Psoriasis), Hämangiome, myokardiale Angiogenese, koronare und zerebrale kollaterale Vaskularisation, ischämische Gliederangiogenese, Wundheilung, peptischer Ulkus-Helicobacter-bezogene Krankheiten, Frakturen, Katzenkratzkrankheit, Hautrötung, neovaskuläres Glaukom und Retinopathien wie jene, die mit diabetischer Retinopathie oder alters-bezogener Makuladegeneration verbunden sind. Zusätzlich können einige dieser Verbindungen verwendet werden als aktive Substanzen gegen feste Tumoren, maligne Aszites, hämatopoetische Krebsformen und Hyperproliferationserkrankungen wie Schilddrüsenhyperplasie (insbesondere Basedow-Krankheit) und Zysten (wie Hypervaskularität von Ovarialstroma charakteristisch für polyzystisches Ovarialsyndrom (Stein-Leventhal-Syndrom), da solche Krankheiten eine Proliferation von Blutgefäßzellen für Wachstum und/oder Metastase erfordern.

[0062] Weiter können einige dieser Verbindungen verwendet werden als aktive Substanzen gegen Verbrennungen, chronische Lungenkrankheit, Anfall, Polypen, Anaphylaxie, chronische und allergische Entzündung, ovariales Hyperstimulationssyndrom, Gehirntumor-assoziiertes zerebrales Ödem, Höhenkrankheit, Trauma- oder Hypoxie-induziertes zerebrales oder Lungenödem, Okular- und Makulaödem, Aszites, und andere Krankheiten, wo vaskuläre Hyperpermeabilität, Ergüsse, Exsudate, Proteinextravasation oder Ödem eine Manifestation der Krankheit sind. Die Verbindungen werden auch nützlich sein bei der Behandlung von Störungen, in denen Proteinextravasation zu der Ablagerung von Fibrin und extrazellulärer Matrix führt, was die Stromaproliferation fördert (z.B. Fibrosis, Zirrhose und Karpaltunnelsyndrom).

[0063] VEGFs sind einzigartig insofern, als dass sie die einzigen angiogenen Wachstumsfaktoren sind, von denen bekannt ist, dass sie zu vaskulärer Hyperpermeabilität und zu der Bildung eines Ödems beitragen. Tatsächlich scheinen vaskuläre Hyperpermeabilität und Ödem, die mit der Expression oder Anwendung von vielen anderen Wachstumsfaktoren verbunden sind, über eine VEGF-Produktion vermittelt zu werden. Entzündliche Zytokine stimulieren die VEGF-Produktion. Hypoxie führt zu einer deutlichen Hochregulierung von VEGF in zahlreichen Geweben, da Situationen, die Infarkt, Okklusion, Ischämie, Anemie oder zirkulatorische Beeinträchtigung einschließen, VEGF/VPF-vermittelte Reaktionen hervorrufen. Vaskuläre Hyperpermeabilität, assoziiertes Ödem, geänderter Transendothelaustausch und makromolekulare Extravasation, welche häufig von Diapedese begleitet ist, können zu exzessiver Matrixablagerung, abweichender Stromaproliferation, Fibrose usw. führen. Daher kann VEGF-vermittelte Hyperpermeabilität signifikant zu Erkrankungen mit diesen ätiologischen Merkmalen beitragen.

[0064] Es wird in Aussicht genommen, dass die oben aufgeführten Erkrankungen in einem bedeutenden Ausmaß durch Proteintyrosinkinaseaktivität vermittelt werden, die die KDR/VEGFR-2- und/oder die Flt-1/VEGFR-1-Tyrosinkinasen einschließt. Durch Hemmen der Aktivität dieser Tyrosinkinasen wird die Progression der aufgeführten Erkrankungen gehemmt, da die angiogene oder vaskuläre Hyperpermeabilitätskomponente des Krankheitsstatus ernsthaft beschnitten wird. Die Aktion von den Verbindungen dieser Erfindung führt durch ihre Selektivität für spezielle Tyrosinkinasen zu einer Minimierung von Nebenwirkungen, die vorkommen würden, wenn weniger selektive Tyrosinkinasehemmer verwendet würden.

[0065] Die Verbindungen dieser Erfindung haben hemmende Wirksamkeit gegen Proteinkinasen. Das heißt, diese Verbindungen modulieren Signalübertragung durch Proteinkinasen. Verbindungen dieser Erfindung hemmen Proteinkinasen aus Serin/Threonin- und Tyrosinkinaseklassen. Insbesondere hemmen diese Verbindungen selektiv die Aktivität der KDR/FLK-1/VEGFR-2-Tyrosinkinasen. Bestimmte Verbindungen dieser Erfindung hemmen außerdem die Aktivität zusätzlicher Tyrosinkinasen wie Flt-1/VEGFR-1, -Src-Subfamilie-Kinasen wie Lck, Src, fyn, yes usw. Zusätzlich hemmen einige Verbindungen dieser Erfindung Serin/Threoninkinasen wie CDKs signifikant, welche eine wesentliche Rolle bei der Zellzyklusprogression spielen. Die Wirksamkeit und die Spezifität der generischen Verbindungen dieser Erfindung gegenüber einer bestimmten Proteinkinase können oftmals durch Variationen in der Natur, der Zahl und der Anordnung der Substituenten (d.h. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ und R₆) und Konformationsrestriktionen geändert und optimiert werden. Zusätzlich können die Metabolite von bestimmten Verbindungen ebenfalls signifikante Proteinkinasehemmwirksamkeit besitzen.

[0066] Die Verbindungen dieser Erfindung hemmen, wenn sie Individuen verabreicht werden, die solche Verbindungen benötigen, die vaskuläre Hyperpermeabilität und die Bildung eines Ödems bei diesen Individuen. Diese Verbindungen wirken, wie geglaubt wird, durch Hemmen der Aktivität der KDR-Tyrosinkinase, welche in

den Prozess der vaskulären Hyperpermeabilität und Ödembildung verwickelt ist. Die KDR-Tyrosinkinase kann auch als FLK-1-Tyrosinkinase, NYK-Tyrosinkinase oder VEGFR-2-Tyrosinkinase bezeichnet werden. KDR-Tyrosinkinase wird aktiviert, wenn vaskulärer Endothelzellwachstumsfaktor (VEGF) oder ein anderer aktivierender Ligand (wie VEGF-C, VEGF-D oder HIV-Tat-Protein) an einen KDR-Tyrosinkinase-Rezeptor bindet, welcher auf der Oberfläche von vaskulären Endothelzellen liegt. Nach einer solchen KDR-Tyrosinkinaseaktivierung tritt eine Hyperpermeabilität der Blutgefäße ein und Fluid bewegt sich aus dem Blutstrom über die Blutgefäßwände in die Zwischenräume, wodurch ein Ödembereich gebildet wird. Diapedese begleitet ebenfalls häufig diese Reaktion. Ähnlich kann exzessive vaskuläre Hyperpermeabilität normalen Molekülaustausch zwischen dem Endothel in kritischen Geweben und Organen (z.B. Lunge oder Niere) stören, wodurch makromolekulare Extravasation und Ablagerung verursacht werden. Im Anschluss an diese akute Reaktion auf eine KDR-Stimulation, von der angenommen wird, dass sie den nachfolgenden angiogenen Prozess erleichtert, führt eine verlängerte KDR-Tyrosinkinaseaktivierung zu der Proliferation und Chemotaxie von vaskulären Endothelzellen und zur Bildung neuer Gefäße. Indem die KDR-Tyrosinkinaseaktivität gehemmt wird, entweder durch Blockieren der Produktion des aktivierenden Liganden, oder durch Blockieren der aktivierenden Ligandbindung an den KDR-Tyrosinkinase-Rezeptor, durch Verhindern der Rezeptordimerisation und Transphosphorylierung, durch Hemmen der Enzymaktivität der KDR-Tyrosinkinase (Hemmen der Phosphorylierungsfunktion des Enzyms) oder durch einige andere Mechanismen, die ihre nachfolgende Signalisierung unterbricht (D. Mukhopedhyay et al., Cancer Res. 58: 1278–1284 (1998) und Referenzen darin), können Hyperpermeabilität sowie damit verbundene Extravasation, nachfolgende Ödembildung und Matrixablagerung und angiogene Reaktionen gehemmt und minimiert werden.

[0067] Eine Gruppe bevorzugter Verbindungen dieser Erfindung hat die Eigenschaft, die KDR-Tyrosinkinaseaktivität zu hemmen, ohne die Flt-1-Tyrosinkinaseaktivität zu hemmen (Flt-1-Tyrosinkinase wird auch als VEGFR-1-Tyrosinkinase bezeichnet). Sowohl KDR-Tyrosinkinase als auch Flt-1-Tyrosinkinase werden durch VEGF-Bindung an KDR-Tyrosinkinase-Rezeptoren bzw. an Flt-1-Tyrosinkinase-Rezeptoren aktiviert. Da Flt-1-Tyrosinkinaseaktivität wichtige Ereignisse in der Endothelerhaltung und vaskulären Funktion vermitteln kann, kann eine Hemmung dieser Enzymaktivität zu toxischen oder nachteiligen Wirkungen führen. Allermindestens ist eine solche Hemmung unnötig zum Blockieren der angiogenen Reaktionen, Induktion von vaskulärer Hyperpermeabilität und der Bildung von Ödem, so dass sie verschwenderisch ist und wertlos für das Individuum. Bestimmte bevorzugte Verbindungen dieser Erfindung sind einzigartig, da sie die Aktivität einer VEGF-Rezeptortyrosinkinase (KDR) hemmen, die aktiviert wird durch aktivierende Liganden, aber keine anderen Rezeptortyrosinasen wie Flt-1 hemmen, die ebenfalls durch bestimmte aktivierende Liganden aktiviert werden. Die bevorzugten Verbindungen dieser Erfindung sind deshalb selektiv in ihrer Tyrosinkinasehemmwirksamkeit. [0068] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind außerdem nützlich bei der Behandlung von Geschwüren – bakteriell, fungal, Mooren-Ulcus und Colitis ulcerosa.

[0069] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind außerdem nützlich bei der Behandlung von Zuständen, worin unerwünschte Angiogenese, Ödem oder Stromaablagerung vorkommen, bei Virusinfektionen wie Herpes simplex, Herpes zoster, AIDS, Karposi-Sarkom, Protozoeninfektionen und Toxoplasmosen, im Anschluss an Trauma, Bestrahlung, Schlag, Endometriose, ovariales Hyperstimulationssyndrom, systemischer Lupus, Sarkoidose, Synovitis, Crohn-Krankheit, Sichelzellenanämie, Lyme-Krankheit, Pemphigoid, Paget-Krankheit, Hyperviskositätssyndrom, Osler-Weber-Rendu-Krankheit, chronische Entzündung, chronische Lungenentzündung, Asthma, rheumatoide Arthritis und Osteoarthritis.

[0070] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind außerdem nützlich bei der Behandlung von okulären Erkrankungen wie Okular- und Makulaödem, okuläre neovaskuläre Krankheit, Skleritis, radiale Keratotomie, Uveitis, Vitritis, Myopie, Sehgruben, chronische Netzhautablösung, Postlaserkomplikationen, Konjunktivitis, Stargardt-Krankheit und Eales-Krankheit zusätzlich zu Retinopathie und Makuladegeneration.

[0071] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind außerdem nützlich bei der Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen wie Atherosklerose, Restenose, vaskuläre Okklusion und obstruktive Carotis-Krankheit.

[0072] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind außerdem nützlich bei der Behandlung von Krebs-bezogene Indikationen wie festen Tumoren, Sarkoma (insbesondere Ewing-Sarkom und Osteosarkom), Retinoblastom, Rhabdomyosarkome, Neuroblastom, hämatopoetische Malignitäten einschließlich Leukämie und Lymphom, Tumor-induzierte pleurale oder perikardiale Ergüsse und maligne Aszites.

[0073] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind außerdem nützlich bei der Behandlung von diabetischen Erkrankungen wie Glaukom, diabetische Retinopathie und Mikroangiopathie.

[0074] Es wird in Aussicht genommen, dass die oben aufgeführten Erkrankungen in einem bedeutenden Ausmaß durch Proteintyrosinkinaseaktivität vermittelt werden, die die VEGF-Rezeptoren (z.B. KDR und Flt-1) einschließt. Indem die Aktivität dieser Rezeptortyrosinasen gehemmt wird, wird die Progression der aufgeführten Erkrankungen gehemmt, da die angiogene Komponente des Krankheitsstatus ernsthaft beschnitten wird. Die Aktion der Verbindungen dieser Erfindung führt durch ihre Selektivität für spezielle Tyrosinasen zu einer Minimierung von Nebenwirkungen, die vorkommen würden, wenn weniger selektive Tyrosinkinasehemmer

verwendet würden.

[0075] Unter einem anderen Gesichtspunkt stellt die vorliegende Erfindung Verbindungen der Formel I bereit wie anfänglich definiert (einschließlich der Bedingungen) zur Verwendung als Medikamente, insbesondere als Inhibitoren der Proteinkinaseaktivität, zum Beispiel Tyrosinkinaseaktivität, Serinkinaseaktivität und Threoninkinaseaktivität. Unter einem noch anderen Gesichtspunkt stellt die vorliegende Erfindung die Verwendung von Verbindungen der Formel I wie ursprünglich definiert (einschließlich der Bedingungen) bei der Herstellung eines Medikamentes bereit zur Verwendung bei der Hemmung der Proteinkinaseaktivität.

[0076] In dieser Erfindung sind die folgenden Definitionen anwendbar:

[0077] "Pharmazeutisch verträgliche Salze" verweisen auf solche Salze, welche die biologische Wirksamkeit und Eigenschaften der freien Basen erhalten und welche erhalten werden durch Reaktion mit anorganischen Säuren wie Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, und organischen Säuren wie Sulfonsäure, Carbonsäure, organische Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, p-Toluensulfonsäure, Salicylsäure, Milchsäure, Weinsäure und dergleichen.

[0078] "Alkyl" bezeichnet einen gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoff einschließlich geradkettiger und verzweigter Gruppen mit 1 bis 4 Kohlenstoff.

[0079] "Alkoxy" bezeichnet eine "O-Alkyl"-Gruppe, worin "Alkyl" wie oben beschrieben definiert ist.

Pharmazeutische Formulierungen

[0080] Die Verbindungen dieser Erfindung können selbst an einen humanen Patienten verabreicht werden oder in pharmazeutischen Zusammensetzungen, wo sie mit geeigneten Trägern oder Bindemitteln gemischt sind bei Dosen, um vaskuläre Hyperpermeabilität, Ödem und assoziierte Erkrankungen zu behandeln oder zu verbessern. Mischungen dieser Verbindungen können außerdem an den Patienten verabreicht werden als eine einfache Mischung oder in geeignet formulierten pharmazeutischen Zusammensetzungen. Eine therapeutisch wirksame Dosis bezeichnet weiter die Menge der Verbindung oder der Verbindungen, die ausreichend ist, um zu der Verhinderung oder Dämpfung von unangemessener Neovaskularisation, Progression von Hyperproliferationserkrankungen, Ödem, VEGF-assoziiierter Hyperpermeabilität und/oder VEGF-bezogener Hypotonie zu führen. Techniken zur Formulierung und Verabreichung der Verbindungen der vorliegenden Anmeldung sind zu finden in "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA, letzte Ausgabe.

Wege der Verabreichung

[0081] Geeignete Wege zur Verabreichung können zum Beispiel einschließen: orale, als Augentropfen, rektale, transmukosale, topische oder intestinale Verabreichung; parenterale Verabreichung einschließlich intramuskuläre, subkutane, intramedulläre Injektionen sowie intrathekale, direkt intraventrikuläre, intravenöse, intraperitoneale, intranasale oder intraokulare Injektionen.

[0082] Alternativ kann man die Verbindung eher auf eine lokale als eine systemische Art und Weise verabreichen, zum Beispiel durch Injektion der Verbindung direkt in eine ödematöse Stelle, häufig in einem Depot oder einer Formulierung mit verzögerter Freisetzung.

[0083] Weiterhin kann man den Arzneistoff in einem zielgerichteten Arzneistoffabgabesystem verabreichen, zum Beispiel in einem Liposom, das mit Endothelzellen-spezifischem Antikörper beschichtet ist.

Zusammensetzung/Formulierung

[0084] Die pharmazeutischen Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können auf eine Art und Weise hergestellt werden, die selbst bekannt ist, z.B. durch herkömmliche Misch-, Auflöse-, Granulier-, Dragee-Herstellungs-, Glätt-, Emulgier-, Einkapsel-, Einschließ- oder Lyophilisierungsverfahren.

[0085] Pharmazeutische Zusammensetzungen zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung können somit auf herkömmliche Art und Weise hergestellt werden unter Verwendung von einem oder mehreren physiologisch verträglichen Trägern, die Bindemittel und Hilfsmittel umfassen, welche die Verarbeitung der aktiven Verbindungen in Zubereitungen erleichtern, welche pharmazeutisch verwendet werden können. Die richtige Formulierung ist abhängig von dem gewählten Weg der Verabreichung.

[0086] Zur Injektion können die Substanzen der Erfindung in wässrigen Lösungen formuliert werden, vorzugsweise in physiologisch kompatiblen Puffern wie Hank-Lösung, Ringer-Lösung oder physiologischen Salzpuffern. Zur transmukosalen Verabreichung werden Penetrationsmittel in der Formulierung verwendet, die geeignet sind für die Barriere, die zu durchdringen ist. Solche Penetrationsmittel sind auf dem Gebiet allgemein bekannt.

[0087] Zur oralen Verabreichung können die Verbindungen ohne weiteres formuliert werden, indem die aktiven Verbindungen mit pharmazeutisch verträglichen Trägern kombiniert werden, die auf dem Gebiet gut be-

kannt sind. Solche Träger ermöglichen, dass die Verbindungen der Erfindung als Tabletten, Pillen, Dragees, Kapseln, Flüssigkeiten, Gele, Sirupe, Aufschlämungen, Suspensionen und dergleichen formuliert werden können zur oralen Aufnahme durch einen zu behandelnden Patienten. Pharmazeutische Präparate zur oralen Verwendung können erhalten werden durch Kombinieren der aktiven Verbindung mit einem festen Bindemittel, wahlweise Zerkleinern einer resultierenden Mischung und Verarbeiten der Mischung von Granulaten, bei Bedarf nach Zugabe geeigneter Hilfsmittel, um Tabletten oder Drageekerne zu erhalten. Geeignete Bindemittel sind insbesondere Füllstoffe- wie Zucker, einschließlich Laktose, Saccharose, Mannitol oder Sorbitol; Cellulosepräparate wie zum Beispiel Maisstärke, Weizenstärke, Reisstärke, Kartoffelstärke, Gelatine, Tragantgummi, Methylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon (PVP). Bei Bedarf können auflösende Mittel hinzugegeben werden wie das quervernetzte Polyvinylpyrrolidon, Agar, oder Algensäure, oder ein Salz davon wie Natriumalginat.

[0088] Drageekerne werden mit geeigneten Überzügen versehen. Zu diesem Zweck können konzentrierte Zuckerlösungen verwendet werden, welche wahlweise Gummi arabicum, Talk, Polyvinylpyrrolidon, Carbopolgel, Polyethylenglykol und/oder Titandioxid, Lacklösungen und geeignete organische Lösungsmittel oder Lösungsmittelmischungen enthalten können. Farbstoffe oder Pigmente können zu den Tabletten oder Drageeüberzügen hinzugegeben werden zur Identifikation, oder um unterschiedliche Kombinationen von aktiven Verbindungsdosen zu kennzeichnen.

[0089] ° Pharmazeutische Zubereitungen, welche oral verwendet werden können, schließen push-fit Kapseln aus Gelatine sowie weiche, abgedichtete Kapseln aus Gelatine und einen Weichmacher wie Glycerol oder Sorbitol ein. Die push-fit Kapseln können die aktiven Bestandteile in Beimischungen mit Füllstoffen wie Laktose, Bindemitteln wie Stärken und/oder Gleitmitteln wie Talk oder Magnesiumstearat, und wahlweise Stabilisatoren enthalten. In weichen Kapseln können die aktiven Verbindungen in geeigneten Flüssigkeiten wie fette Öle, flüssiges Paraffin oder flüssigen Polyethylenglykolen gelöst oder suspendiert sein. Zusätzlich können Stabilisatoren zugesetzt werden. Alle Formulierungen zur oralen Verabreichung sollten in Dosierungen sein, die für eine solche Verabreichung geeignet sind.

[0090] Zur bukkalen Verabreichung können die Zusammensetzungen die Form von Tabletten oder Pastillen annehmen, die auf eine herkömmliche Art und Weise formuliert werden.

[0091] Zur Verabreichung durch Inhalation werden die Verbindungen zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung praktischerweise in der Form einer Aerosolspraypräsentation aus unter Druck gesetzten Packungen oder eines Zerstäubers abgegeben, unter Verwendung eines geeigneten Treibgases, z.B. Dichlordifluormethan, Trichlorfluormethan, Dichlortetrafluorethan, Kohlendioxid oder einem anderen geeigneten Gas. In dem Fall eines unter Druck gesetzten Aerosols kann die Dosierungseinheit bestimmt werden, indem ein Ventil bereitgestellt wird, um eine abgemessene Menge abzugeben. Kapseln und Patronen z.B. aus Gelatine zur Verwendung in einem Inhalator oder Insufflator können formuliert werden, dass sie eine Pulvermischung der Verbindung und eine geeignete Pulverbasis wie Laktose oder Stärke enthalten.

[0092] Die Verbindungen können formuliert werden zur parenteralen Verabreichung durch Injektion, z.B. Bolusinjektion oder fortlaufende Injektion. Formulierungen zur Injektion können in Einheitsdosierungsform präsentiert werden, z.B. in Ampullen oder in Multidosisbehältern mit einem zugesetzten Konservierungsmittel. Die Zusammensetzungen können solche Formen annehmen wie Suspensionen, Lösungen oder Emulsionen in öligen oder wässrigen Trägersubstanzen und können Formulierungsmittel enthalten wie Suspensionsmittel, Stabilisatoren und/oder Dispersionsmittel.

[0093] Pharmazeutische Formulierungen zur parenteralen Verabreichung umfassen wässrigen Lösungen der aktiven Verbindungen in wasserlöslicher Form. Zusätzlich können Suspensionen der aktiven Verbindungen hergestellt werden als geeignete ölige Injektionssuspensionen. Geeignete lipophile Lösungsmittel oder Trägersubstanzen umfassen fette Öle wie Sesamöl, oder synthetische Fettsäureester wie Ethyloleat oder Triglyzeride, oder Liposome. Wässrige Injektionssuspensionen können Substanzen enthalten, welche die Viskosität der Suspension erhöhen, wie Natriumcarboxymethylcellulose, Sorbitol oder Dextran. Wahlweise kann die Suspension außerdem geeignete Stabilisatoren oder Mittel enthalten, welche die Löslichkeit der Verbindungen erhöhen, um die Herstellung von hoch konzentrierten Lösungen zu ermöglichen.

[0094] Alternativ kann der wirksame Inhaltsstoff in Pulverform sein zur Konstitution mit einer geeigneten Trägersubstanz, z.B. sterilem pyrogenfreien Wasser, vor der Verwendung.

[0095] Die Verbindungen können außerdem in rektalen Zusammensetzungen formuliert werden, wie z.B. Zäpfchen oder Retentionsklistieren, die herkömmliche Zäpfchenbasen wie Kakaobutter oder andere Glyceride enthalten.

[0096] Zusätzlich zu den zuvor beschriebenen Formulierungen können die Verbindungen außerdem als ein Depotpräparat formuliert werden. Solche lang wirkenden Formulierungen können durch Implantation verabreicht werden (zum Beispiel subkutan oder intramuskulär oder durch intramuskuläre Injektion). Somit können zum Beispiel die Verbindungen mit geeigneten polymeren oder hydrophoben Materialien (zum Beispiel als eine Emulsion in einem verträglichen Öl) oder Ionenaustauscherharzen formuliert werden, oder als schwerlösliche Derivate, zum Beispiel als ein schwerlösliches Salz.

[0097] Ein Beispiel für einen pharmazeutischen Träger für die hydrophoben Verbindungen der Erfindung ist ein Hilfslösungsmittelsystem, das Benzylalkohol, einen unpolaren oberflächenaktiven Stoff, ein wassermischbares organisches Polymer und eine wässrige Phase umfasst. Das Hilfslösungsmittelsystem kann das VPD-Hilfslösungsmittelsystem sein. VPD ist eine Lösung aus 3% m/V Benzylalkohol, 8% m/V des unpolaren oberflächenaktiven Stoffs Polysorbat 80 und 65% m/V Polyethylenglykol 300, in absolutem Ethanol auf Volumen gebracht. Das VPD-Hilfslösungsmittelsystem (VDP : 5W) besteht aus VPD verdünnt 1 : 1 mit einer 5%igen Dextrose-Wasserlösung. Dieses Hilfslösungsmittelsystem löst hydrophobe Verbindungen gut und produziert selbst wenig Toxizität nach systemischer Verabreichung. Natürlich können die Proportionen eines Hilfslösungsmittelsystems beträchtlich variiert werden, ohne dass seine Löslichkeits- und Toxizitätsmerkmale zerstört werden. Des Weiteren kann die Identität der Hilfslösungsmittelkomponenten variiert werden; zum Beispiel können anstelle von Polysorbat 80 andere gering toxische unpolare oberflächenaktive Stoffe verwendet werden; die Fraktionsgröße von Polyethylenglykol kann variiert werden; andere biokompatible Polymere können Polyethylenglykol ersetzen, z.B. Polyvinylpyrrolidon; und andere Zucker oder Polysaccharide können Dextrose ersetzen.

[0098] Alternativ können andere Abgabesysteme für hydrophobe pharmazeutische Verbindungen eingesetzt werden. Liposome und Emulsionen sind gut bekannte Beispiele von Abgabeträgersubstanzen oder Träger für hydrophobe Arzneistoffe. Bestimmte organische Lösungsmittel wie Dimethylsulfoxid können ebenfalls eingesetzt werden, auch wenn normalerweise auf Kosten einer größeren Toxizität. Zusätzlich können die Verbindungen abgegeben werden unter Verwendung eines langsam freisetzenden Systems wie semipermeable Matrizen aus festen hydrophoben Polymeren, die das therapeutische Mittel enthalten. Verschiedene langsam freisetzende Materialien haben sich etabliert und sind dem Fachmann gut bekannt. Langsam freisetzende Kapseln können je nach ihrer chemischen Natur die Verbindungen für ein paar Wochen bis zu mehr als 100 Tage freisetzen. Je nach der chemischen Natur und der biologischen Stabilität des therapeutischen Reagenzes können zusätzliche Strategien zur Proteinstabilisierung eingesetzt werden.

[0099] Die pharmazeutischen Zusammensetzungen können außerdem geeignete feste oder Gelphasenträger oder Bindemittel enthalten. Beispiele für solche Träger oder Bindemittel umfassen, sind aber nicht beschränkt auf, Calciumcarbonat, Calciumphosphat, verschiedene Zucker, Stärken, Cellulosederivate, Gelatine und Polymere wie Polyethylenglykole.

[0100] Viele der organischen Molekülverbindungen der Erfindung können als Salze mit pharmazeutisch kompatiblen Gegenionen bereitgestellt werden. Pharmazeutisch kompatible Salze können mit vielen Säuren gebildet werden, einschließlich, aber nicht beschränkt auf, Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure usw. Salze neigen dazu, in wässrigen oder anderen protonischen Lösungsmitteln löslicher zu sein als die entsprechenden freien Basenformen.

Wirksame Dosierung

[0101] Pharmazeutische Zusammensetzungen, die zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeignet sind, umfassen Zusammensetzungen, worin die wirksamen Bestandteile in einer wirksamen Menge enthalten sind, um den beabsichtigten Zweck zu erreichen. Ausdrücklicher bedeutet eine therapeutisch wirksame Menge eine Menge, die wirksam ist, um die Entwicklung bestehender Symptome bei dem behandelten Patienten zu verhindern oder diese bestehenden Symptome zu lindern. Die Bestimmung der wirksamen Menge liegt gut innerhalb der Fähigkeit eines Fachmanns.

[0102] Für jede Verbindung, die in dem Verfahren der Erfindung verwendet wird, kann die therapeutisch wirksame Dosis anfänglich aus Zellassays abgeschätzt werden. Zum Beispiel kann eine Dosis in Zell- und Tiermodellen formuliert werden, um einen Umlaufkonzentrationsbereich zu erreichen, der den IC_{50} -Wert einschließt, wie er in Zellassays bestimmt wurde (d.h. die Konzentration der Testverbindung, welche eine halbe maximale Hemmung einer gegebenen Proteinkinaseaktivität erreicht). In einigen Fällen ist es geeignet, den IC_{50} -Wert in der Anwesenheit von 3 bis 5% Serumalbumin zu bestimmen, da solch eine Bestimmung den Bindungswirkungen von Plasmaprotein an die Verbindung näher kommt. Solche Informationen können verwendet werden, um nützliche Dosen für Menschen genauer zu bestimmen. Weiter hemmen die am meisten bevorzugten Verbindungen zur systemischen Verabreichung die Proteinkinasesignalisierung in intakten Zellen wirksam bei Spiegeln, die in Plasma sicher erhältlich sind.

[0103] Eine therapeutisch wirksame Dosis bezeichnet die Menge der Verbindung, die zu einer Verbesserung von Symptomen bei einem Patienten führt. Toxizität und therapeutische Wirksamkeit von solchen Verbindungen können bestimmt werden durch pharmazeutische Standardverfahren in Zellkulturen oder Versuchstieren, z.B. zur Bestimmung der maximalen tolerierten Dosis (MTD) und des ED_{50} -Wertes (effektive Dosis für 50% der maximalen Reaktion). Das Dosisverhältnis zwischen toxischen und therapeutischen Wirkungen ist der therapeutische Index, und er kann ausgedrückt werden als das Verhältnis zwischen MTD und ED_{50} . Verbindungen, welche hohe therapeutische Indizes zeigen, sind bevorzugt. Die Daten, die aus diesen Zellkulturassays und Tierstudien gewonnen werden, können verwendet werden bei der Formulierung eines Bereichs der Dosierung

zur Verwendung bei Menschen. Die Dosierung von solchen Verbindungen liegt vorzugsweise innerhalb eines Bereichs der Umlaufkonzentration, die den ED₅₀-Wert einschließt mit geringer oder keiner Toxizität.

[0104] Die Dosierung kann innerhalb dieses Bereichs variieren, abhängig von der eingesetzten Dosierungsform und dem verwendeten Weg der Verabreichung. Die genaue Formulierung, Weg der Verabreichung und Dosierung kann von dem einzelnen Arzt in Hinblick auf den Zustand des Patienten gewählt werden. (Siehe z.B. Fingl et al., 1975, in "The Pharmaceutical Basis of Therapeutics", Kapitel 1, Seite 1.) Bei der Behandlung von Krisen kann die Verabreichung eines akuten Bolus oder einer Infusion erforderlich sein, die sich dem MTD nähert, um eine schnelle Reaktion zu erhalten.

[0105] Dosierungsmenge und Intervall können individuell eingestellt werden, um Plasmaspiegel der wirksamen Komponente bereitzustellen, die ausreichend sind, um die Kinase-modulierenden Wirkungen beizubehalten oder die minimale wirksame Konzentration (MEC). Der MEC-Wert wird für jede Verbindung variieren, aber er kann aus in vitro-Daten abgeschätzt werden; z.B. die Konzentration, die notwendig ist, um 50–90% Hemmung von Proteinkinase zu erreichen unter Verwendung der hierin beschriebenen Assays. Dosierungen, die notwendig sind, um den MEC-Wert zu erreichen, werden von individuellen Merkmalen und Weg der Verabreichung abhängen. Es können jedoch HPLC-Assays oder Bioassays verwendet werden, um Plasmakonzentrationen zu bestimmen.

[0106] Dosierungsintervalle können außerdem unter Verwendung des MEC-Wertes bestimmt werden. Verbindungen sollten verabreicht werden unter Verwendung eines Therapieschemas, welches Plasmaspiegel über dem MEC beibehält für 10–90% der Zeit, vorzugsweise zwischen 30–90%, und am besten zwischen 50–90%, bis die gewünschte Besserung von Symptomen erreicht ist. In Fällen von lokaler Verabreichung oder selektiver Aufnahme kann die wirksame lokale Konzentration des Arzneistoffes nicht auf die Plasmakonzentration bezogen werden.

[0107] Die Menge der verabreichten Zusammensetzung wird selbstverständlich abhängig sein von dem Patienten, der behandelt werden soll, von dem Gewicht des Patienten, der Ernsthaftigkeit der Beschwerden, der Art und Weise der Verabreichung und dem Urteil des anordnenden Arztes.

Verpackungen

[0108] Die Zusammensetzungen können bei Bedarf in einer Packung oder einer Abgabevorrichtung präsentiert werden, welche ein oder mehrere Einheitsdosierungsformen enthält, die den wirksamen Bestandteil enthalten. Die Packung kann zum Beispiel Metall oder Kunststoffolie umfassen, wie eine Blisterpackung. Die Packung oder die Abgabevorrichtung kann begleitet sein von Anweisungen zur Verabreichung. Zusammensetzungen, die eine Verbindung der Erfindung umfassen, die in einem kompatiblen pharmazeutischen Träger formuliert ist, können ebenfalls hergestellt werden, in einen geeigneten Behälter gebracht werden und zur Behandlung auf eine indizierte Erkrankung etikettiert werden.

[0109] In einigen Formulierungen kann es vorteilhaft sein, die Verbindungen der vorliegenden Erfindung in der Form von Partikeln von sehr kleiner Größe zu verwenden, wie sie zum Beispiel durch eine Strahlmühle erhalten werden.

[0110] In den Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung kann die wirksame Verbindung bei Bedarf mit anderen kompatiblen pharmakologisch wirksamen Bestandteilen verbunden werden. Zum Beispiel können die Verbindungen dieser Erfindung in Kombination mit einer oder mehreren zusätzlichen pharmazeutischen Substanzen verabreicht werden, die die Produktion von VEGF hemmen oder verhindern, intrazelluläre Reaktionen auf VEGF dämpfen, intrazelluläre Signalübertragung blockieren, vaskuläre Hyperpermeabilität hemmen, Entzündung verringern oder die Bildung von Ödem oder die Neovaskularisation hemmen oder verhindern. Die Verbindungen der Erfindung können vor, nach oder gleichzeitig mit der zusätzlichen pharmazeutischen Substanz verabreicht werden, welcher Weg der Verabreichung auch immer geeignet ist. Die zusätzlichen pharmazeutischen Substanzen umfassen, sind aber nicht beschränkt auf, anti-ödemische Steroide, NSAIDS, Ras-Inhibitoren, anti-TNF-Mittel, anti-IL1-Mittel, Antihistamine, PAF-Antagonisten, COX-1-Hemmer, COX-2-Hemmer, NO-Synthase-Hemmer, PKC-Hemmer und PI3-Kinase-Hemmer. Die Verbindungen der Erfindung und die zusätzlichen pharmazeutischen Substanzen wirken entweder additiv oder synergetisch. Folglich kann die Verabreichung einer solchen Kombination von Substanzen, die vaskuläre Hyperpermeabilität hemmen und/oder die Bildung von Ödem hemmen, größere Linderung von den schädlichen Wirkungen einer Hyperproliferationserkrankung, Angiogenese, vaskulärer Hyperpermeabilität oder Ödem bereitstellen als die Verabreichung irgendeiner Substanz allein. Bei der Behandlung maligner Störungen werden Kombinationen mit antiproliferativen oder zytotoxischen Chemotherapien oder Bestrahlung erwartet.

[0111] Die vorliegende Erfindung umfasst auch die Verwendung einer Verbindung der Formel I als einem Medikament.

[0112] Sowohl die Src- als auch die Syk-Familien von Kinasen spielen zentrale Rollen bei der Regulierung der Immunfunktion. Die Src-Familie umfasst zur Zeit Fyn; Lck, Fgr, Fes, Lyn, Src, Yes, Hck und Blk. Für die Syk-Familie wird zur Zeit verstanden, dass sie nur Zap und Syk einschließt. Die Janus-Familie von Kinasen ist

in die Übertragung von Wachstumsfaktor und Proentzündungs-Zytokinsignalen durch viele Rezeptoren verwickelt. Obwohl BTK und ITK, Mitglieder der Tec-Familie von Kinasen, eine weniger verstandene Rolle in der Immunbiologie spielen, kann deren Modulation durch einen Hemmer therapeutische Vorteile zeigen. Die Kinasen RIP, IRAK-1, IRAK-2, NIK, IKK-1 und IKK-2 sind in die Signalübertragungswege für die Proentzündungs-Schlüsselzytokine TNF und IL-1 verwickelt. Auf Grund ihrer Fähigkeit, eine oder mehrere dieser Kinasen zu hemmen, können Verbindungen der Formel I als Immunmodulatormittel funktionieren, die nützlich sind für die Beibehaltung von Alлотransplantaten und die Behandlung von Autoimmunerkrankungen. Durch ihre Fähigkeit, T-Zellaktivierung oder die Potenzierung eines Entzündungsprozesses zu regulieren, könnten diese Verbindungen verwendet werden, um solche Autoimmunerkrankungen zu behandeln. Transplantationen sind wegen der Abstoßphänomene, entweder Empfänger gegen Transplantat für feste Organe oder Transplantat gegen Empfänger für Knochenmark, begrenzt durch die Toxizität von derzeit verfügbaren immunsuppressiven Mitteln und würden von einem wirksamen Arzneistoff mit verbessertem therapeutischen Index profitieren. Zielorientierte Genexperimente haben die wesentliche Rolle von Src in der Biologie von Osteoklasten gezeigt, den Zellen, die für Knochenresorption verantwortlich sind. Verbindungen der Formel I können durch ihre Fähigkeit, Src zu regulieren, nützlich sein bei der Behandlung von Osteoporose, Osteopetrose, Paget-Krankheit, Tumor-induzierter Hyperkalzämie und bei der Behandlung von Knochenmetastasen.

[0113] Für viele Proteinkinasen ist gezeigt worden, dass sie Protoonkogene sind. Chromosombruch (an dem Itk-Kinas-Bruchpunkt auf Chromosom 5), Translokation wie in dem Fall des Abl-Gens mit BCR (Philadelphia-Chromosom), Abstumpfung in Fällen wie c-Kit oder EGFR, oder Mutation (z.B. Met) führen zu der Erzeugung fehlregulierter Proteine, was sie von Protoonkogen- zu Onkogenprodukten wandelt. Bei anderen Tumoren wird die Onkogenese angetrieben durch eine autokrine oder parakrine Ligand/Wachstumsfaktor-Rezeptor-Wechselwirkung. Mitglieder der src-Familien-Kinasen sind typischerweise verwickelt in nachfolgende Signalübertragung, wodurch die Onkogenese potenziert wird und sie selbst onkogen werden können durch eine Überexpression oder Mutation. Indem die Proteinkinaseaktivität dieser Proteine gehemmt wird, kann der Krankheitsprozess unterbrochen werden. Vaskuläre Restenose kann den Prozess von FGF- und/oder PDGF-geförderter glatter Muskel- und Endothelzellproliferation einschließen. Hemmung der FGFR- oder PDGFR-Kinaseaktivität kann eine wirksame Strategie zum Hemmen dieses Phänomens sein. Somit können Verbindungen der Formel I, welche die Kinaseaktivität von normalen oder abweichenden c-kit, c-met, c-fms, scr-Familienmitgliedern, EGFR, erbB2, erbB4, BCR-Abl, PDGFR, FGFR und anderen Rezeptor- oder zytosolischen Tyrosinkinasen hemmen, wertvoll sein bei der Behandlung von gutartigen und neoplastischen Proliferationskrankheiten.

[0114] Bei vielen pathologischen Zuständen (zum Beispiel feste Primärtumoren und Metastasen, Kaposi-Sarkom, rheumatoide Arthritis, Blindheit wegen unangemessener Augengefäßneubildung, Schuppenflechte (Psoriasis) und Atherosklerose) ist der Krankheitsfortschritt abhängig von anhaltender Angiogenese. Polypeptidwachstumsfaktoren, die häufig durch das erkrankte Gewebe oder assoziierter Entzündungszellen produziert werden, und deren entsprechenden Endothelzell-spezifischen Rezeptortyrosinkinasen (z.B. KDR/VEGFR-2, Flt-1/VEGFR-1, Tie-2/Tek und Tie) sind wesentlich für die Stimulation von Endothelzellwachstum, Migration, Organisation, Differenzierung und die Etablierung der erforderlichen neuen funktionellen Blutgefäßanordnung.

[0115] Als ein Ergebnis der "vaskulären Permeabilitätsfaktor"aktivität von VEGF bei der Vermittlung von vaskulärer Hyperpermeabilität wird für die VEGF-Stimulation einer VEGFR-Kinase ebenfalls angenommen, dass sie eine bedeutende Rolle spielt bei der Bildung von Tumoraszites, zerebralem und pulmonarem Ödem, pleuralen oder perikardialen Ergüssen, verzögerten Hypersensitivitätsreaktionen, Gewebeödem und Organfunktionsstörungen im Anschluss an Trauma, Verbrennungen, Ischämie, diabetische Komplikationen, Endometriose, Schocklunge (adult respiratory distress Syndrome (ARDS)), postkardiopulmonare Bypass-bezogene Hypotonie und Hyperpermeabilität, und Okularödem, das zu Glaukom oder Blindheit führt wegen unangemessener Neovaskularisation. Zusätzlich zu VEGF können kürzlich identifiziertes VEGF-C und VEGF-D und HIV-Tat-Protein ebenfalls eine vaskuläre Hyperpermeabilitätsreaktion verursachen durch die Stimulation einer VEGFR-Kinase.

[0116] Tie-2 wird ebenfalls in einer ausgewählten Population von hämatopoetischen Stammzellen exprimiert, in denen es eine Rolle spielen kann bei deren Rekrutierung, Adhäsion, Regulation und Differenzierung (Blood 89, 4317-4326 (1997)); diese Tie-2-exprimierende Population kann als zirkulierende angiogene endotheliale Progenitor-Zellen dienen. Bestimmte Mittel gemäß Formel I, die in der Lage sind, die Kinaseaktivität von Endothelzell-spezifischen Kinasen zu blockieren, könnten deshalb den Krankheitsfortschritt unter Verwicklung dieser Situationen hemmen.

[0117] Die Verbindungen der Formel I oder ein Salz davon, oder pharmazeutische Zusammensetzungen, die eine therapeutisch wirksame Menge davon enthalten, können bei der Behandlung von gutartigen und neoplastischen Proliferationskrankheiten und Erkrankungen des Immunsystems verwendet werden. Solche Krankheiten schließen Autoimmunkrankheiten ein wie rheumatoide Arthritis, Schilddrüsenentzündung, Typ-1-Diabetes, multiple Sklerose, Sarkoidose, Crohn-Krankheit, Myasthenia gravis und systemischen Lupus erythematosus; Schuppenflechte (Psoriasis), Organtransplantatabstoßung (z.B. Nierenabstoßung, Transplantat-gegen-Emp-

fänger-Krankheit), gutartige und neoplastische Proliferationskrankheiten, humane Krebserkrankungen wie Lungen-, Brust-, Magen-, Blasen-, Dickdarm-, Pankreas-, Eierstock-, Prostata- und Mastdarmkrebs und hämatopoetische Zellen (Leukämie und Lymphom); und Krankheiten, die unangemessene Vaskularisation umfassen, zum Beispiel diabetische Retinopathie, choroidale Neovaskularisation wegen altersbezogener Makuladegeneration und infantiles Hämangiom bei Menschen. Zusätzlich können solche Hemmer nützlich sein bei der Behandlung von Erkrankungen, die VEGF-vermitteltes Ödem, Aszites, Ergüsse und Exsudate einschließen, einschließlich zum Beispiel Makulaödem, zerebrales Ödem und Schocklunge (adult respiratory distress Syndrome (ARDS)).

[0118] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können außerdem nützlich sein bei der Prophylaxe der obigen Krankheiten.

[0119] Ein weiterer Gesichtspunkt der vorliegenden Erfindung stellt die Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines Salzes davon bei der Herstellung eines Medikaments bereit zur Behandlung vaskulärer Hyperpermeabilität, Angiogenese-abhängiger Erkrankungen, Proliferationskrankheiten und/oder Erkrankungen des Immunsystems bei Säugern, insbesondere Menschen.

[0120] Die vorliegende Erfindung stellt auch ein Verfahren bereit zur Behandlung von vaskulärer Hyperpermeabilität, unangemessener Neovaskularisation, Proliferationskrankheiten und/oder Erkrankungen des Immunsystems, welches die Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I an einen Säuger, insbesondere einen Menschen umfasst, der einer solchen Behandlung bedarf.

[0121] Die in vitro-Wirksamkeit von Verbindungen bei der Hemmung dieser Proteinkinasen kann bestimmt werden durch die Verfahren, die unten ausführlich beschrieben werden.

[0122] Die Wirksamkeit von Verbindungen kann bestimmt werden durch das Ausmaß der Hemmung der Phosphorylierung eines exogenen Substrats (z.B. eines synthetischen Peptids (Z. Songyang et al., Nature. 373: 536–539) durch eine Testverbindung in bezug auf eine Kontrolle.

[0123] KDR Tyrosinkinase-Produktion unter Verwendung des Baculovirus-Systems:

Die codierende Sequenz für die Human-KDR-intrazelluläre Domäne (aa789-1354) wurde erzeugt durch PCR unter Verwendung von cDNAs, die aus HUVEC-Zellen isoliert waren. Eine poly-His₆-Sequenz wurde bei dem N-Terminus von diesem Protein ebenso eingeführt. Dieses Fragment wurde in den Transfektionsvektor pVL1393 an die Stelle Xba 1 und Not 1 kloniert. Rekombinantes Baculovirus (BV) wurde erzeugt durch co-Transfusion unter Verwendung des BaculoGold Transfection-Reagenzes (PharMingen).

[0124] Rekombinantes BV wurde Plaque-gereinigt und durch Western-Analyse verifiziert. Zur Proteinproduktion wurden SF-9-Zellen in SF-900-II-Medium bei 2×10^6 /ml aufgezogen und wurden bei 0,5 Plaquebildungseinheiten pro Zelle (MOI) infiziert. Zellen wurden 48 Stunden nach der Infektion geerntet.

Reinigung von KDR

[0125] SF-9-Zellen, die (His)₆KDR(aa789-1354) exprimieren, wurden lysiert durch Zugabe von 50 ml Lyse-puffer Triton X-100 (20 mM Iris, pH 8,0, 137 mM NaCl, 10% Glycerol, 1% Triton X-100, 1 mM PMSF, 10 µg/ml Aprotinin, 1 µg/ml Leupeptin) zu dem Zellpellet aus 1 l Zellkultur. Das Lysat wurde bei 19.000 Upm in einem Sorval SS-34-Rotor 30 Minuten lang bei 4°C zentrifugiert. Das Zelllysate wurde auf eine chelatbildende Sepharose-Säule aufgebracht, mit 50 mM HEPES, pH 7,5, 0,3 M NaCl ins Gleichgewicht gebracht. KDR wurde eluiert unter Verwendung- des gleichen Puffers, der 0,25 M Imidazol enthielt. Säulenfraktionen wurden analysiert unter Verwendung von SDS-PAGE und einem ELISA-Assay (unten), wodurch die Kinaseaktivität gemessen wurde. Das gereinigte KDR wurde in 25 mM HEPES, pH 7,5, 25 mM NaCl, 5 mM DTT-Puffer ausgetauscht und bei -80°C gelagert.

Humane Tie-2-Kinase-Produktion und -Reinigung

[0126] Die codierende Sequenz für die humane Tie-2-intrazelluläre Domäne (aa775-1124) wurde erzeugt durch PCR unter Verwendung von cDNAs, die aus humaner Plazenta als eine Matrize isoliert waren. Eine poly-His₆-Sequenz wurde bei dem N-Terminus eingeführt und dieses Konstrukt in den Transfektionsvektor pVL 1939 an der Stelle Xba 1 und Not 1 kloniert. Rekombinantes BV wurde erzeugt durch co-Transfusion unter Verwendung des BaculoGold Transfection-Reagenzes (PharMingen). Rekombinantes BV wurde Plaque-gereinigt und durch Western-Analyse verifiziert. Zur Proteinproduktion wurden SF-9-Insektenzellen in SF-900-II-Medium bei 2×10^6 /ml aufgezogen und wurden bei einem MOI von 0,5 infiziert. Die Reinigung der His-markierten Kinase, die beim Screenen verwendet wurde, war analog zu der, die für KDR beschrieben wurde.

Humane Flt-1-Tyrosinkinase-Produktion und -Reinigung

[0127] Der Baculovirus-Expressionsvektor pVL1393 (PharMingen, Los Angeles, CA) wurde verwendet. Eine Nucleotidsequenz, die poly-His₆ codiert, wurde 5' an die Nucleotidregion angeordnet, die die gesamte intrazel-

luläre Kinasedomäne von Human-Flt-1 codiert (Aminosäuren 786–1338). Die Nucleotidsequenz, die die Kinasedomäne codiert, wurde erzeugt durch PCR unter Verwendung von cDNA-Bibliotheken, die aus HUVEC-Zellen isoliert waren. Die Histidinreste ermöglichten Affinitätsreinigung des Proteins auf eine Art und Weise analog zu der für KDR und ZAP70. SF-9-Insektenzellen wurden bei einer Mehrfachheit von 0,5 infiziert und 48 Stunden nach Infektion geerntet.

EGFR-Tyrosinkinase-Quelle

[0128] EGFR wurde gekauft von Sigma (Kat.-Nr. E-3641); 500 Einheiten/50 µl) und der EGF-Ligand wurde erworben von Oncogene Research Products/Calbiochem (Kat.-Nr. PF011-100).

Expression von ZAP70

[0129] Der Baculovirus-Expressionsvektor, der verwendet wurde, war pVL1393 (Pharmingen, Los Angeles, CA). Die Nucleotidsequenz, die Aminosäuren M(H)6 LVPR₉S codiert, wurde 5' an die Region angeordnet, die die Gesamtheit von ZAP70 codiert (Aminosäuren 1-619). Die Nucleotidsequenz, die die ZAP70-codierende Region codiert, wurde erzeugt durch PCR unter Verwendung von cDNA-Bibliotheken, die aus Jurkat-immortalisierten T-Zellen isoliert waren. Die Histidinreste ermöglichten die Affinitätsreinigung des Proteins (siehe unten). Die LVPR₉S-Brücke bildet eine Erkennungssequenz zur proteolytischen Spaltung durch Thrombin, was die Entfernung des Affinitätsmarkers aus dem Enzym ermöglicht. SF-9-Insektenzellen wurden bei einer Mehrfachheit der Infektion von 0,5 infiziert und 48 Stunden nach Infektion geerntet.

Extraktion und Reinigung von ZAP70

[0130] SF-9-Zellen wurden in einem Puffer lysiert; der aus 20 mM Tris, pH 8,0, 137 mM NaCl, 10% Glycerol, 1% Triton X-100, 1 mM PMSF, 1 µg/ml Leupeptin, 10 µg/ml Aprotinin und 1 mM Natriumorthovanadat bestand. Das lösliche Lysat wurde auf eine chelatbildende Sepharose-HiTrap-Säule (Pharmacia) aufgebracht, die in 50 mM HEPES, pH 7,5, 0,3 M NaCl ins Gleichgewicht gebracht war. Fusionsprotein wurde mit 250 mM Imidazol eluiert. Das Enzym wurde in Puffer gelagert, der 50 mM HEPES, pH 7,5, 50 mM NaCl und 5 mM DTT enthielt.

Lck-Quelle

[0131] Lck oder abgestumpfte Formen von Lck können kommerziell erhalten werden (z.B. von Upstate Biotechnology Inc. (Saranac Lake, N.Y.) und Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA)) oder aus bekannten natürlichen oder rekombinanten Quellen unter Verwendung herkömmlicher Verfahren gereinigt werden.

Cdc2-Quelle

[0132] Das humane rekombinante Enzym und Assaypuffer können kommerziell erhalten werden (New England Biolabs, Beverly, MA. USA) oder aus bekannten natürlichen oder rekombinanten Quellen unter Verwendung herkömmlicher Verfahren gereinigt werden.

Cdc2-Assay

[0133] Das verwendete Protokoll war das, das mit den gekauften Reagenzien bereitgestellt wurde, mit geringen Modifikationen. Kurz gesagt, die Reaktion wurde in einem Puffer ausgeführt, der aus 50 mM Tris pH 7,5, 100 mM NaCl, 1 mM EGTA, 2 mM DTT, 0,01 Brij, 5% DMSO und 10 mM MgCl₂ bestand (handelsüblicher Puffer), angereichert mit frischem 300 µM ATP (31 µCi/ml) und 30 µg/ml Histon-Typ-IIIss-Endkonzentration. Ein Reaktionsvolumen von 80 µl, das Einheiten von Enzym enthielt, wurde 20 Minuten lang bei 25 Grad Celsius in der Anwesenheit oder Abwesenheit von Hemmer ausgeführt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 120 µl 10%iger Essigsäure beendet. Das Substrat wurde von nicht eingelagertem Marker getrennt, indem die Mischung auf Phosphocellulosepapier getüpfelt wurde, gefolgt von 3 Waschungen von jeweils 5 Minuten mit 75 mM Phosphorsäure. Zählungen wurden durch einen Betazähler in der Anwesenheit von Flüssigszintillationsmittel gemessen.

[0134] Bestimmte Verbindungen dieser Erfindung hemmen cdc2 bei Konzentration unter 50 µM signifikant.

PKC-Kinasequelle

[0135] Die katalytische Untereinheit von PKC kann kommerziell erhalten werden (Calbiochem).

PKC-Kinaseassay

[0136] Ein radioaktiver Kinaseassay wurde eingesetzt unter Befolgung eines veröffentlichten Verfahrens (Yasuda, I., Kirshimoto, A., Tanaka, S., Tominaga, M., Sakurai, A., Nishizuka, Y. Biochemical and Biophysical Research Communication 3: 166, 1220–1227 (1990)). Kurz gesagt, alle Reaktionen wurden in einem Kinase-Puffer ausgeführt, der aus 50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 10 mM MgCl₂, 2 mM DTT, 1 mM EGTA, 100 µM ATP, 8 µM Peptid, 5% DMSO und ³³P-ATP (8 Ci/mM) bestand. Verbindung und Enzym wurden in dem Reaktionskessel gemischt und die Reaktion wurde durch Zugabe der ATP- und Substratmischung initiiert. Im Anschluss an die Beendigung der Reaktion durch die Zugabe von 10 µl Stopppuffer (5 mM ATP in 75 mM Phosphorsäure) wurde ein Teil der Mischung auf Phosphocellulosefilter aufgetüpfelt. Die aufgetüpfelten Proben wurden 3 mal in 75 mM Phosphorsäure bei Raumtemperatur 5 bis 15 Minuten lang gewaschen. Einlagerung von radioaktivem Marker wurde durch Flüssigszintillationszählung quantitativ bestimmt.

Erk2-Enzymquelle

[0137] Das rekombinante Mäuseenzym und Assaypuffer können kommerziell erhalten werden (New England Biolabs, Beverly MA, USA) oder aus bekannten natürlichen oder rekombinanten Quellen unter Verwendung herkömmlicher Verfahren gereinigt werden.

Erk2-Enzymassay

[0138] Kurz gesagt, die Reaktion wurde in einem Puffer ausgeführt, der aus 50 mM Tris pH 7,5, 1 mM EGTA, 2 mM DTT, 0,01% Brij, 5% DMSO und 10 mM MgCl₂ bestand (handelsüblicher Puffer), angereichert mit frischem 100 µM ATP (31 µCi/ml) und 30 µM Myelinbasisprotein unter Bedingungen, die von den Lieferanten empfohlen wurden. Reaktionsvolumina und Verfahren zur Untersuchung der eingelagerten Radioaktivität waren wie für den PKC-Assay beschrieben (siehe oben).

Heterogener Enzymimmunoassay (ELISA) für PTKs

[0139] Heterogene Enzymimmunoassays (ELISA) wurden verwendet, um die Anwesenheit von Tyrosinkinaseaktivität zu detektieren und zu messen. Der ELISA wurde ausgeführt gemäß bekannter Protokolle, welche beschrieben sind zum Beispiel in Voller, et al., 1980, "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay", in: Manual of Clinical Immunology, 2. Ausgabe, herausgegeben von Rose und Friedman, Seite 359–371 Am. Soc. of Microbiology, Washington, DC.

[0140] Das offenbarte Protokoll wurde zur Bestimmung der Aktivität bezüglich einer spezifischen PTK angepasst. Zum Beispiel werden bevorzugte Protokolle zum Ausführen der ELISA-Experimente unten bereitgestellt. Anpassung dieser Protokolle zur Bestimmung der Aktivität einer Verbindung für andere Mitglieder der Rezeptor-PTK-Familie sowie für Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen liegen gut innerhalb der Fähigkeiten eines Fachmanns. Zum Zwecke der Bestimmung der Hemmeselektivität wurde ein universelles PTK-Substrat (z.B. zufälliges Copolymer von poly(Glu₄ Tyr), 20.000–50.000 Molekulargewicht) eingesetzt zusammen mit ATP (typischerweise 5 µM) bei Konzentrationen von ungefähr zweimal dem scheinbaren K_m in dem Assay.

[0141] Das folgende Verfahren wurde verwendet, um die Hemmwirkung von Verbindungen dieser Erfindung auf KDR, Flt-1, Tie-2, EGFR und ZAP70-Tyrosinkinaseaktivität zu untersuchen:

Puffer und Lösungen

[0142] PGT: Poly (Glu,Tyr) 4 : 1

Pulver bei –20°C lagern. Pulver in Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) auf 50 mg/ml Lösung lösen. 1-ml-Aliquote bei –20°C lagern. Bei Herstellung von Platten auf 250 µg/ml in Gibco-PBS verdünnen.

Reaktionspuffer: 100 mM HEPES, 20 mM MgCl₂, 4 mM MnCl₂, 5 mM DTT, 0,02 BSA, 200 µM NaVO₄, pH 7,10
ATP: Aliquote von 100 mM bei –20°C lagern. Auf 20 µM in Wasser verdünnen.

Waschpuffer: PBS mit 0,1% Tween 20

Antikörperverdünnungspuffer: 0,1% Rinderserumalbumin (BSA) in PBS

TMB-Substrat: TMB-Substrat und Peroxidlösungen 9 : 1 mischen kurz vor Verwendung oder K-Blue-Substrat von Neogen verwenden

Stopplösung: 1 M Phosphorsäure

Verfahren

1. Plattenherstellung

[0143] PGT-Vorrat (50 mg/ml, gefroren) in PBS auf 250 µg/ml verdünnen. 125 µl pro Vertiefung von modifizierten Corning-Flachboden-Hochaffinitäts-ELISA-Platten (Corning Nr. 25805-96) hinzugegeben. 125 µl PBS zu leeren Vertiefungen hinzugegeben. Mit Dichtungsband abdecken und über Nacht bei 37°C inkubieren. 1 × mit 250 µl Waschpuffer waschen und etwa 2 Stunden lang in 37°C-Trockeninkubator trocknen. Überzogene Platten in dichtem Beutel bei 4°C bis zur Verwendung lagern.

2. Tyrosinkinasereaktion

[0144] Hemmlösungen bei einer 4 × Konzentration in 20% DMSO in Wasser herstellen. Reaktionspuffer herstellen.

Enzymlösung herstellen, so dass gewünschte Einheiten in 50 µl sind, z.B. für KDR auf 1 ng/µl für insgesamt 50 ng pro Vertiefung in den Reaktionen herstellen. Auf Eis lagern.

4 × ATP-Lösung zu 20 µM aus 100-mM Vorrat in Wasser herstellen. Auf Eis lagern.

50 µl der Enzymlösung pro Vertiefung hinzugeben (typischerweise 5–50 ng Enzym/Vertiefung abhängig von der spezifischen Aktivität der Kinase)

25 µl 4 × Hemmer hinzugeben.

25 µl 4 × ATP für Hemmassay hinzugeben.

10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.

Reaktion durch Zugabe von 50 µl 0,05 N HCl pro Vertiefung stoppen.

Platte waschen.

**Endkonzentrationen für die Reaktion: 5 µM ATP, 5% DMSO

3. Antikörperbindung

[0145] 1 mg/ml Aliquot von PY20-HPR(Pierce)-Antikörper (ein Phosphotyrosinantikörper) auf 50 ng/ml in 0,1% BSA in PBS durch eine 2-Schritt-Verdünnung verdünnen (100fach, dann 200fach).

100 µl Ab pro Vertiefung hinzugeben. 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubieren. 1 Stunde bei 4°C inkubieren.

Platte 4 × waschen.

4. Farbreaktion

[0146] TMB-Substrat herstellen und 100 µl pro Vertiefung hinzugeben.

OD bei 650 nm überwachen, bis 0,6 erreicht ist.

Mit 1 M Phosphorsäure stoppen. Auf Plattenleser schütteln.

OD sofort bei 450 nm ablesen.

[0147] Optimale Inkubationszeiten und Enzymreaktionsbedingungen variieren leicht mit Enzympräparaten und werden für jede Charge empirisch bestimmt.

[0148] Für Lck war der verwendete Reaktionspuffer 100 mM MOPSO, pH 6,5, 4 mM MnCl₂, 20 mM MgCl₂, 5 mM DTT, 0,2% BSA, 200 mM NaVO₄ unter den analogen Assaybedingungen.

[0149] Verbindungen der Formel I können therapeutische Nützlichkeit haben bei der Behandlung von Krankheiten, die sowohl identifizierte, einschließlich solcher, die hierin nicht genannt sind, als auch bisher nicht identifizierte Proteintyrosinkinasen einschließen, welche durch Verbindungen der Formel I gehemmt werden. Alle Verbindungen, die hier beispielhaft aufgeführt sind, hemmen KDR-Kinase bei Konzentrationen von 50 mikromolar oder darunter signifikant.

[0150] Einige Verbindungen dieser Erfindung hemmen außerdem andere PTKs wie Ick bei Konzentrationen von 50 mikromolar oder darunter signifikant.

In vitro-Modelle zur T-Zell-Aktivierung

[0151] Nach Aktivierung durch Mitogen oder Antigen sind T-Zellen induziert, um IL-2 zu sekretieren, einen Wachstumsfaktor, der deren nachfolgende Proliferationsphase unterstützt. Deshalb kann man entweder die Produktion von IL-2 aus oder Zellproliferation von primären T-Zellen oder entsprechenden T-Zelllinien als einen Stellvertreter für T-Zellaktivierung messen. Beide dieser Assays sind gut in der Literatur beschrieben und deren Parameter gut dokumentiert (in Current Protocols in Immunology, Vol. 2, 7.10.1–7.11.2).

[0152] Kurz gesagt, T-Zellen können aktiviert werden durch Co-Kultur mit allogenen Stimulatorzellen, ein Pro-

zess, der als gemischte Einweg-Lymphozytreaktion bezeichnet wird. Responder- und Stimulator-Peripherblut-mononuclearzellen werden durch Ficoll-Hypaque-Gradient (Pharmacia) nach Anweisungen des Herstellers aktiviert. Stimulatorzellen werden mitotisch inaktiviert durch Behandlung mit Mitomycin C (Sigma) oder Gammastrahlung. Responder- und Stimulatorzellen werden zusammen kultiviert bei einem Verhältnis von zwei zu eins in der Anwesenheit oder Abwesenheit der Testverbindung. Typischerweise 10^5 Responder werden mit 5×10^4 Stimulatoren gemischt und in einer U-Boden-Mikrotiterplatte (Costar Scientific) plattiert (200 μ l Volumen). Die Zellen werden kultiviert in RPMI 1640, ergänzt entweder mit hitzedesaktiviertem fötalem Rinderserum (Hyclone Laboratories) oder gepooltem humanen AB-Serum von männlichen Spendern, 5×10^{-5} M 2-Mercaptoethanol und 0,5% DMSO. Die Kulturen werden mit 0,5 μ Ci von 3 H Thymidin (Amersham) einen Tag vor der Ernte (typischerweise Tag drei) gepulst. Die Kulturen werden geerntet (Betaplatten-Erntegerät, Wallac) und durch Isotopenaufnahme durch Flüssigszintillation (Betaplate, Wallac) bewertet.

[0153] Das gleiche Kultursystem kann verwendet werden, um T-Zellaktivierung durch Messung der IL-2-Produktion zu bewerten.

[0154] Achtzehn bis vierundzwanzig Stunden nach Kulturinitiierung werden die Überstände entfernt und die IL-2-Konzentration wird durch ELISA (R- und D-Systeme) unter Befolgung der Anweisungen des Herstellers gemessen.

In vivo-Modelle zur T-Zell-Aktivierung

[0155] Die in-vivo-Wirksamkeit von Verbindungen kann in Tiermodellen getestet werden, die bekannt sind dafür, dass sie die T-Zell-Aktivierung direkt messen oder für welche sich T-Zellen als die Effektoren erwiesen haben. T-Zellen können in vivo aktiviert werden durch Ligation des konstanten Abschnitts des T-Zellrezeptors mit einem monoklonalen anti-CD3-Antikörper (Ab). In diesem Modell wird BALB/c-Mäusen 10 μ g anti-CD3-Ab intraperitoneal zwei Stunden vor dem Ausbluten verabreicht. Tiere, die ein Testarzneimittel erhalten, werden vorbehandelt mit einer Einzeldosis der Verbindung eine Stunde vor der anti-CD3-Ab-Verabreichung. Serumspiegel der Proentzündungszytokine Interferon-g (IFN-g) und Tumornekrosefaktor-a (TNF-a), Indikatoren der T-Zellaktivierung, werden durch ELISA gemessen. Ein ähnliches Modell verwendet in vivo-T-Zell-Priming mit einem spezifischen Antigen wie ein Keyhole-Limpet-Hämocyanin (KLH), gefolgt von einer zweiten in vitro-Reizung von Drainage-Lymphknotenzellen mit dem gleichen Antigen. Wie zuvor wird Messung der Zytokinproduktion verwendet, um den Aktivierungszustand der kultivierten Zellen zu bewerten. Kurz gesagt, C57BL/6-Mäuse werden subkutan immunisiert mit 100 μ g KLH, emulgiert in komplettem Freund Adjuvans (CFA) am Tag 0. Tiere werden mit der Verbindung vorbehandelt einen Tag vor der Immunisierung und danach an den Tagen eins, zwei und drei nach der Immunisierung behandelt. Drainage-Lymphknoten werden geerntet an Tag 4 und deren Zellen kultiviert bei 6×10^6 pro ml in Gewebekulturmedium (RPMI 1640 angereichert, mit hitzeinaktiviertem fötalem Rinderserum (Hyclone Laboratories), 5×10^{-5} M 2-Mercaptoethanol und 0,5% DMSO) sowohl für vierundzwanzig als auch für achtundvierzig Stunden. Kulturüberstände werden dann auf den autokrinen T-Zellwachstumsfaktor Interleukin-2 (IL-2) und/oder IFN-g-Spiegel durch ELISA bewertet.

[0156] Leitverbindungen können ebenfalls in Tiermodellen für humane Krankheit getestet werden. Diese werden beispielhaft dargestellt durch experimentelle Autoimmun-Enzephalomyelitis (EAE) und Kollagen-induzierte Arthritis (CIA). EAE-Modelle, welche Aspekte von humaner multipler Sklerose nachahmen, sind beschrieben worden sowohl für Mäuse als auch für Ratten (besprochen in FASEB J. 5: 2560–2566, 1991; Mäusemodell: Lab. Invest. 4(3): 278, 1981; Nagetiermodell: J. Immunol. 146(4): 1163–8, 1991). Kurz gesagt, Mäuse oder Ratten werden mit einer Emulsion von Myelinbasisprotein (MBP), oder neurogenen Peptidderivaten davon, und CFA immunisiert. Akute Krankheit kann durch die Zugabe von bakteriellen Toxinen wie Bordetella Pertussis induziert werden. Rückfall/remittierende Krankheit wird induziert durch adoptive Übertragung von T-Zellen aus MBP/Peptid-immunisierten Tieren.

[0157] CIA kann in DBR/1-Mäusen induziert werden durch Immunisierung mit Typ-II-Kollagen (J. Immunol. 142(7): 2237–2243). Mäuse werden Zeichen von Arthritis schon innerhalb von zehn Tagen im Anschluss an die Antigenreizung entwickeln und können bis zu neunzig Tage nach Immunisierung gezählt werden. Sowohl in dem EAE- als auch in dem CIA-Modell kann eine Verbindung entweder prophylaktisch oder zum Zeitpunkt des Einsetzens der Krankheit verabreicht werden. Wirksame Arzneimittel sollten die Schwere und/oder Häufigkeit verringern.

[0158] Bestimmte Verbindungen dieser Erfindung, welche eine oder mehrere angiogene Rezeptor-PTK und/oder eine Proteinkinase wie Ick hemmen, die in die Vermittlung von Entzündungsreaktionen verwickelt sind, können die Schwere und Häufigkeit von Arthritis in diesen Modellen verringern.

[0159] Verbindungen können auch in Mäusetransplantationsmodellen getestet werden, entweder Haut (besprochen in Ann. Rev. Immunol., 10: 333–58, 1992; Transplantation: 57(12): 1701–17D6, 1994) oder Herz (Am. J. Anal.: 113–273, 1963). Kurz gesagt, Hauttransplantate in voller Dicke werden von C57BL/6-Mäusen auf BALB/c-Mäuse transplantiert. Die Transplantationen werden täglich, beginnend an Tag sechs, auf Beweis der Abstoßung untersucht. In dem Mäuseneonatalherztransplantatmodell werden neugeborene Herzen ektopisch

von C57BL/6-Mäusen in die Ohrmuscheln von erwachsenen CBA/J-Mäusen transplantiert. Herzen fangen vier bis sieben Tage nach Transplantation zu schlagen an und Abstoßung kann visuell bewertet werden unter Verwendung eines Präpariermikroskops, um nach dem Beenden des Herzschlags zu suchen.

Zelluläre Rezeptor-PTK-Assays

[0160] Der folgende zelluläre Assay wurde verwendet, um den Spiegel der Aktivität und die Wirkung der unterschiedlichen Verbindungen der vorliegenden Erfindung auf KDR/VEGFR2 zu bestimmen. Ähnliche Rezeptor-PTK-Assays, die einen spezifischen Ligandenstimulus einsetzen, können nach den gleichen Grundsätzen für andere Tyrosinkinase gestaltet werden unter Verwendung von Verfahren, die auf dem Gebiet gut bekannt sind.

[0161] VEGF-induzierte KDR-Phosphorylierung in humanen Nabelvenenendothelzellen (HUVEC), wie gemessen durch Western-Blots

1. HUVEC-Zellen (von gepoolten Spendern) wurden von Clonetics (San Diego, CA) gekauft und gemäß den Anweisungen des Herstellers kultiviert. Nur frühe Passagen (3–8) wurden für diesen Assay verwendet. Zellen wurden in 100-mm-Schalen (Falcon für Gewebekultur; Becton Dickinson; Plymoth, England) kultiviert unter Verwendung von komplettem EBM-Medium (Clonetics).
2. Zur Bewertung der Hemmaktivität einer Verbindung wurden Zellen mit Trypsin behandelt und bei $0,5\text{--}1,0 \times 10^5$ Zellen/Vertiefung in jede Vertiefung von 6-Vertiefungs-Gruppenplatten (Costar; Cambridge, MA) ausgesät.
3. 3–4 Tage nach Aussaat waren Platten 90–100% zusammengewachsen. Das Medium wurde aus allen Vertiefungen entfernt, Zellen wurden mit 5–10 ml PBS gespült und 18–24 Stunden mit 5 ml EBM-Basismedium ohne Zusatz von Ergänzungen (d.h. Serummangel) inkubiert.
4. Serielle Verdünnungen von Inhibitoren wurden in 1 ml EBM-Medium (25 μM , 5 μM oder 1 μM Endkonzentration) zu Zellen hinzugeben und eine Stunde lang bei 37°C inkubiert. Humanes rekombinantes VEGF₁₆₅ (R- und D-Systeme) wurde dann zu allen Vertiefungen in 2 ml EBM-Medium bei einer Endkonzentration von 50 ng/ml hinzugegeben und bei 37°C 10 Minuten lang inkubiert. Kontrollzellen, unbehandelt oder behandelt mit VEGF allein, wurden verwendet, um die Hintergrundphosphorylierung und Phosphorylierungsinduktion durch VEGF zu bewerten.

[0162] Alle Vertiefungen wurden dann mit 5–10 ml kaltem PBS mit 1 mM Natriumorthovanadat (Sigma) gespült und Zellen wurden lysiert und in 200 μl RIPA-Puffer (50 mM Tris-HCl, pH 7, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0,25% Natriumdesoxycholat, 1 mM EDTA), der Proteasehemmer (PMSF 1 mM, Aprotinin 1 $\mu\text{g/ml}$, Pepstatin 1 $\mu\text{g/ml}$, Leupeptin 1 $\mu\text{g/ml}$, Natriumvanadat, Natriumfluorid 1 mM) enthielt, und 1 $\mu\text{g/ml}$ Dnase gerieben (alle Chemikalien von Sigma Chemical Company, St. Louis, MO). Das Lysat wurde bei 14.000 Upm 30 Minuten lang geschleudert, um Kerne zu eliminieren.

[0163] Gleiche Mengen von Proteinen wurden dann durch Zugabe von kaltem (-20°C) Ethanol (2 Volumen) mindestens 1 Stunde lang oder maximal über Nacht ausgefällt. Pellets wurden verdünnt in Laemli-Probenpuffer, der 5% b-Mercaptoethanol enthielt, (BioRad; Hercules, CA) und 5 Minuten lang gekocht. Die Proteine wurden durch Polyacrylamidgelelektrophorese (6%, 1,5 mm Novex, San Diego, CA) wieder gelöst und auf eine Nitrocellulosemembran unter Verwendung des Novex-Systems überführt. Nach Blockieren mit Rinderserumalbumin (3%) wurden die Proteine über Nacht mit polyklonalem anti-KDR-Antikörper (C20, Santa Cruz Biotechnology; Santa Cruz, CA) oder mit monoklonalem anti-Phosphotyrosin-Antikörper (4G10, Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY) bei 4°C erforscht. Nach Waschen und Inkubieren 1 Stunde lang mit HRP-konjugiertem F(ab)₂ von Ziegen-anti-Kaninchen-IgG oder Ziegen-anti-Maus-IgG wurden die Banden visualisiert unter Verwendung des Emissionschemilumineszenz(ECL)-Systems (Amersham Life Sciences, Arlington Height, IL).

[0164] Bestimmte Beispiele der vorliegenden Erfindung hemmen die zelluläre VEGF-induzierte KDR-Tyrosinkinasephosphorylierung bei Konzentrationen von weniger als 50 μM signifikant.

In vivo-Uterusödem-Modell

[0165] Dieser Assay misst die Kapazität von Verbindungen, die akute Zunahme des Uterusgewichts bei Mäusen zu hemmen, welche in den ersten paar Stunden nach einer Östrogenstimulation eintritt. Für dieses frühe Einsetzen der Uterusgewichtszunahme ist bekannt, dass sie wegen dem Ödem erfolgt, das durch die erhöhte Permeabilität der Uterusblutgefäßverteilung verursacht wird. Cullinan-Bove und Koss (Endocrinology (1993), 133: 829–837) zeigten eine enge zeitliche Beziehung des Östrogen-stimulierten Uterusödems mit der erhöhten Expression von VEGF mRNA in dem Uterus. Diese Ergebnisse sind bestätigt worden durch – die Verwendung von neutralisierendem monoklonalem Antikörper zu VEGF, was die akute Zunahme des Uterusgewichts im Anschluss an eine Östrogenstimulation signifikant verringert (WO 97/42187). Folglich kann dieses System als ein Modell zur in vivo-Hemmung der VEGF-Signalisierung und der damit verbundenen Hyperpermeabilität und

dem verbundenen Ödem dienen.

[0166] Materialien: Alle Hormone wurden von Sigma (St. Louis, MO) oder Cal Biochem (La Jolla, CA) als lyophilisierte Pulver gekauft und gemäß Anweisungen des Lieferanten präpariert.

[0167] Trägersubstanzkomponenten (DMSO, Cremaphor EL) wurden von Sigma (St. Louis, MO) gekauft.

[0168] Mäuse (Balb/c, 8–12 Wochen alt) wurden von Taconic (Germantown, NY) gekauft und in einer Krankheitserreger-freien Tiereinrichtung gemäß Animal Care and Use-Komitee-Richtlinien für Institute untergebracht.

Verfahren

1. Tag: Balb/c-Mäusen wurden eine intraperitoneale (i.p.) Injektion von 12,5 Einheiten des Serums Gonadotropin einer schwangeren Stute (PMSG) verabreicht.

3. Tag: Mäuse erhielten 15 Einheiten von humanem Choriongonadotropin (hCG) i.p.

4. Tag: Mäuse wurden zufällig in Gruppen von 5–10 eingeteilt. Testverbindungen wurden i.p., i.v. oder p.o. verabreicht, wobei die Wege abhängig waren von Löslichkeit und Trägersubstanz, in Dosisbereichen von 1–100 mg/kg. Die Trägersubstanzkontrollgruppe erhielt nur Trägersubstanz und zwei Gruppen blieben unbehandelt.

[0169] Dreißig Minuten später erhielten die experimentellen Gruppen, die Trägersubstanzgruppe und 1 der unbehandelten Gruppen eine i.p.-Injektion von 17 β -Estradiol (500 μ g/kg). Nach 2–3 Stunden wurden die Tiere durch CO₂-Inhalation getötet. Nach einem Mittellinien-Einschnitt wurde jeder Uterus isoliert und durch Abschneiden genau unter der Zervix und an den Verbindungen des Uterus und der Eileiter entfernt. Fett- und Bindegewebe wurden vorsichtig entfernt, damit die Integrität des Uterus vor dem Wiegen nicht gestört wurde. Mittelgewichte von behandelten Gruppen wurden verglichen mit unbehandelten oder Trägersubstanz-behandelten Gruppen. Signifikanz wurde bestimmt durch Student-Test. Die nicht-stimulierte Kontrollgruppe wurde verwendet, um die Östradiolreaktion zu überwachen.

[0170] Die Ergebnisse zeigen, dass bestimmte Verbindungen der vorliegenden Erfindung die Bildung von Ödem hemmen, wenn sie systemisch auf verschiedenen Wegen verabreicht werden.

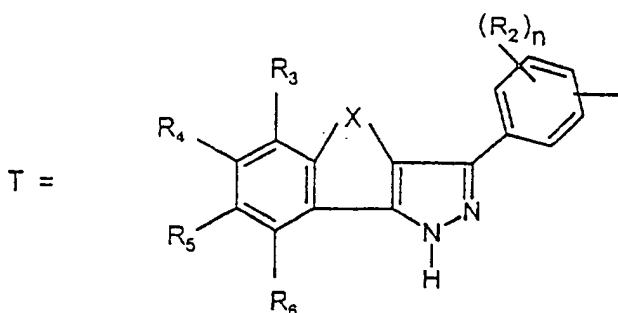
[0171] Für bestimmte Verbindungen dieser Erfindung, welche Hemmer von angiogenen Rezeptortyrosinkinasen sind, kann auch gezeigt werden, dass sie wirksam sind in einem Matrigel-Implantatmodell der Neovaskularisation. Das Matrigel-Neovaskularisationsmodell umfasst die Bildung von neuen Blutgefäßen innerhalb einer klaren "Murmel" von extrazellulärer Matrix, die subkutan implantiert wurde, was durch die Anwesenheit von proangiogenem Faktor angezeigt wird, der Tumorzellen produziert (siehe zum Beispiel: Passaniti, A., et al., Lab. Investig. (1992), 67(4), 519–528; Anat. Rec. (1997), 249(1), 63–73; Int. J. Cancer (1995), 63(5), 694–701; Vasc. Biol. (1995), 15(11), 1857–6). Das Modell läuft vorzugsweise über 3–4 Tage und Endpunkte umfassen makroskopische visuelle Bewertung/Bildbewertung der Neovaskularisation, mikroskopische Mikrogefäßdichtebestimmungen und quantitative Hämoglobinbestimmung (Drabkin-Verfahren) im Anschluss an die Entfernung des Implantats gegenüber Kontrollen von Tieren, die nicht mit Hemmern behandelt wurden. Das Modell kann alternativ bFGF oder HGF als Stimulus einsetzen.

[0172] Bestimmte Verbindungen dieser Erfindung, welche ein oder mehrere onkogene, protonkogene oder Proliferations-abhängige Proteinkinasen oder angiogene Rezeptor-PTK hemmen, hemmen auch die Größe von primären Maus-, Ratten- oder Human-Xenotransplantat-Tumoren bei Mäusen, oder hemmen die Metastase in Mäusemodellen.

ERLÄUTERUNGEN DURCH BEISPIELE

I. Synthese

[0173] Die Verbindungen der Formel I können wie unten beschrieben hergestellt werden. In dem Folgenden ist

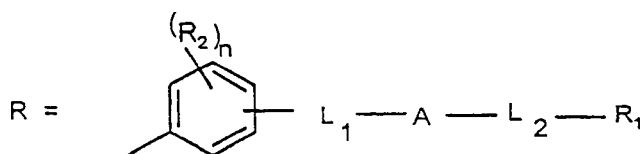


[0174] Verbindungen der Formel I, in denen A CONH darstellt, können hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel TL_1COR_1 , worin R_1 eine Austrittsgruppe ist, zum Beispiel Halo oder Alkoxy, mit einem Amin der Formel $H_2N-L_2-R_1$ bei einer Temperatur im Bereich von 0–250°C umgesetzt wird, wahlweise in der Anwesenheit eines Lösungsmittels.

[0175] Verbindungen der Formel I, in denen $L_1A CH_2NH$ darstellt, können hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel I, in der A CONH darstellt, mit einem Reduktionsmittel, zum Beispiel Lithiumaluminiumhydrid bei einer Temperatur im Bereich von 0–250°C umgesetzt wird, wahlweise in der Anwesenheit eines Lösungsmittels.

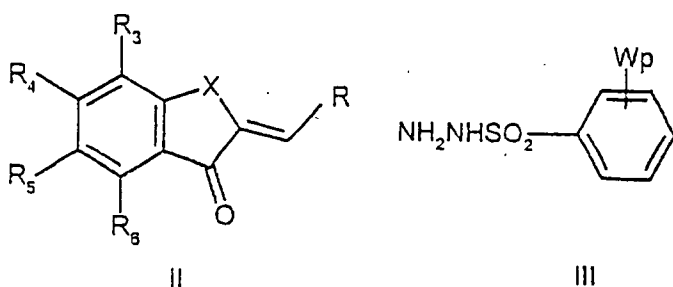
[0176] Alternativ können Verbindungen der Formel I, in denen $L_1A CH_2NH$ darstellt, hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel TL_1CHO mit einem Amin der Formel $HN_2-L_2-R_1$ in der Anwesenheit eines Reduktionsmittels, zum Beispiel Natriumtriacetoxyborohydrid, bei einer Temperatur im Bereich von 0–250°C umgesetzt wird, wahlweise in der Anwesenheit eines Lösungsmittels.

[0177] Alternativ kann die Gruppe $L_1-A-L_2-R_1$ in dem Phenylring vorhanden sein und das Ringsystem kann konstruiert werden wie unten beschrieben, in dem



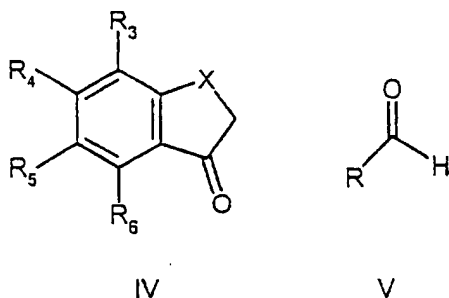
[0178] Es gibt zwei allgemeine Ansätze für die Synthese der Ringsysteme von den Verbindungen der Formel I, die in US-Patent 3.843.665 und US-Patent 3.843.666 bekannt gemacht wurden.

[0179] In US-Patent 3.843.665 wird die Ringschließung des Pyrazolrings bewirkt, indem Verbindungen der Formel II mit einem aromatischen Sulfonylhydrazid der Formel III in einem inerten Lösungsmittel und einer katalytischen Menge einer Säure erhitzt werden. Die Reaktion wird für einen Zeitraum von 5 bis 30 Stunden ausgeführt, vorzugsweise bei einer Temperatur von 75°C bis 100°C, und ergibt Verbindungen der Formel I, in denen R_1 Wasserstoff ist,

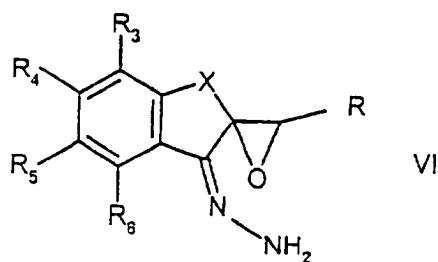


worin:

p 0, 1, 2 ist; W ist ein Niederalkyl; und R, R_3 , R_4 , R_5 , R_6 und X sind wie zuvor definiert. Verbindungen der Formel II werden hergestellt, indem eine geeignet funktionalisierte Verbindung der Formel IV mit einem Aldehyd der Formel V in der Anwesenheit eines Säure- oder Basenkatalysators behandelt wird (Braun, R. A.; Mosher, W. A. J. Amer. Chem. Soc. 1958, 80, 2749).

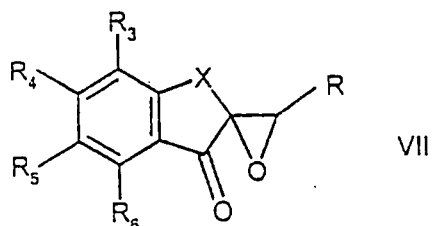


[0180] Ein zweites Verfahren zur Herstellung der Ringsysteme von den Verbindungen der Formel I ist bekannt gemacht worden durch US-Patent 3.843.666, wo Verbindungen mit der allgemeinen Formel VI auf 75° bis 175°C mit einer katalytischen Menge einer organischen Carbonsäure oder einer organischen Sulfonsäure in einem inerten Lösungsmittel wie einem aromatischen Kohlenwasserstoff für einen Zeitraum von 6 bis 24 Stunden erhitzt werden,



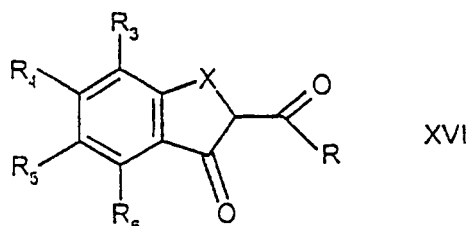
worin R, R₃, R₄, R₅, R₆ und X wie zuvor definiert sind.

[0181] Verbindungen der Formel VI werden hergestellt, indem Verbindungen der allgemeinen Formel VII mit Hydrazin in, einem inerten Lösungsmittel behandelt werden. Die Reaktion wird bei 15°C bis 20°C für einen Zeitraum von bis zu 24 Stunden ausgeführt.



[0182] Alternativ können Verbindungen der Formel I direkt hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel VII mit Hydrazin umgesetzt wird, ohne Isolierung der Verbindung der Formel VI, zum Beispiel durch Erhitzen einer Verbindung der Formel VII mit Hydrazin in einem inerten Lösungsmittel, z.B. Methanol, in der Anwesenheit eines Säurekatalysators, z.B. Essigsäure, bei einer Temperatur im Bereich von 60°C bis zum Siedepunkt – des eingesetzten inerten Lösungsmittels.

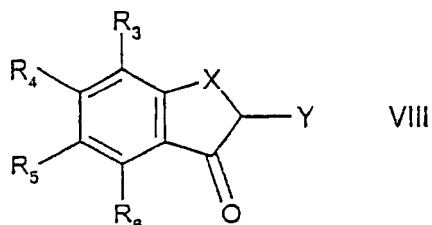
[0183] Verbindungen der Formel I können außerdem hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel XVI



worin:

R, R₃, R₄, R₅, R₆ und X wie zuvor definiert sind, mit einem Hydrazin in einem inerten Lösungsmittel, z.B. Methanol, bei einer Temperatur im Bereich von 15°C bis zum Siedepunkt des eingesetzten inerten Lösungsmittels umgesetzt wird.

[0184] Verbindungen, welche die allgemeine Formel VII haben, werden hergestellt, indem eine Verbindung der Formel VIII mit einem Aldehyd der Formel V unter basischen Bedingungen umgesetzt wird. Die Reaktion wird in einem inerten Lösungsmittel bei einer Temperatur zwischen 5°C und 10°C für einen Zeitraum von 3 bis 6 Stunden ausgeführt,

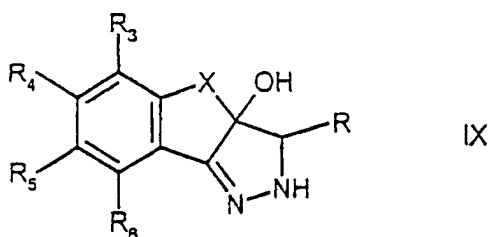


worin:

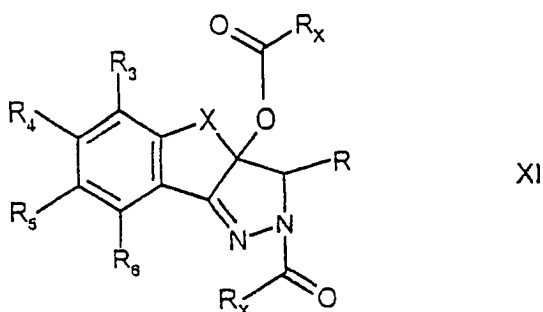
Y eine herkömmliche Austrittsgruppe ist, wie Chlor, Brom, Iod, Tosylat oder Mesylat, und R₃, R₄, R₅, R₆ und X wie zuvor definiert sind.

[0185] Verbindungen der Formel VII können außerdem hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel II mit einem Epoxydierungsmittel, zum Beispiel Wasserstoffperoxid, in einem inerten Lösungsmittel, zum Beispiel Methanol, Dichlormethan, Wasser oder Mischungen davon, bei einer Temperatur im Bereich von 0°C bis 100°C umgesetzt wird, wahlweise in der Anwesenheit einer Base, zum Beispiel Natriumhydroxid.

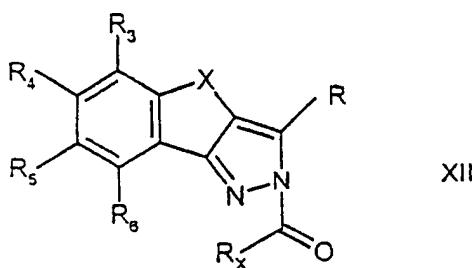
[0186] Ringschließung von VI kann auch bewirkt werden durch Behandlung mit einer Mineralsäure wie Salzsäure, Schwefelsäure oder Phosphorsäure. Die Reaktion wird in einem niederen Alkanol bei einer Temperatur zwischen 15°C und 20°C für einen Zeitraum von 12 bis 48 Stunden ausgeführt. Das Produkt der Reaktion, IX, kann dann zu I aromatisiert werden, indem es auf eine Temperatur von 50°C bis 150°C mit einer organischen Carbonsäure oder einer organischen Sulfonsäure in einem geradkettigen Ether oder einem zyklischen Ether für den Zeitraum von 8 bis 30 Stunden erhitzt wird.



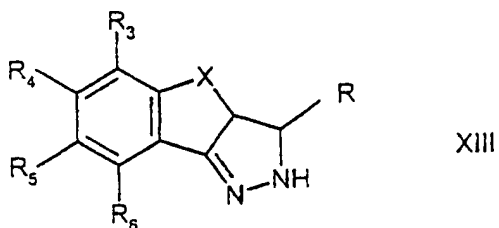
[0187] Verbindung IX kann diacetyliert werden durch Behandlung mit einem Säureanhydrid der Formel $(R_x\text{-CO})_2\text{O}$ (Struktur X), in der R_x eine C_{1-4} -Alkylgruppe ist, in einem inerten Lösungsmittel wie einem aromatischen Kohlenwasserstoff bei einer Temperatur zwischen 35°C und 200°C für einen Zeitraum von 5 bis 8 Stunden, um eine Verbindung der Formel XI zu ergeben.



[0188] Verbindung XI kann dann aromatisiert werden zu Verbindung XII durch Erhitzen auf eine Temperatur von 35°C bis 200°C mit einer Mineralsäure oder einer organischen Säure in einem inerten Lösungsmittel für einen Zeitraum von 4 bis 8 Stunden. Zuletzt kann Verbindung XII umgewandelt werden zu I durch Erhitzen auf eine Temperatur von 50°C bis 150°C in einem inerten Lösungsmittel wie Wasser oder einem niederen Alkohol in der Anwesenheit eines Alkalimetalls oder eines Alkalimetallhydroxids für den Zeitraum von 8 bis 30 Stunden.



[0189] Verbindungen mit der allgemeinen Formel II können zyklisiert werden zu Verbindungen der Formel XIII durch Reaktion mit Hydrazin in einem inerten Lösungsmittel, zum Beispiel Methanol, bei einer Temperatur im Bereich von 35–150°C.



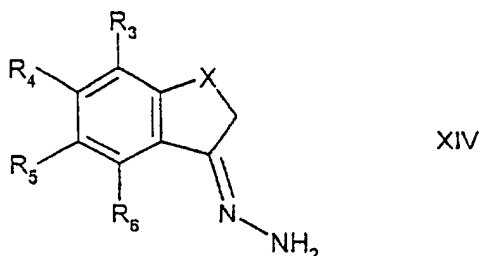
[0190] Verbindungen der Formel I können hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel XIII mit einem Dehydrierungsmittel, zum Beispiel Schwefel, Sauerstoff, Palladium, Mangandioxid oder Bleidioxid, wahlweise in der Anwesenheit eines inerten Lösungsmittels, zum Beispiel einem Kohlenwasserstoff, bei einer Temperatur im Bereich von 15 bis 250°C umgesetzt wird.

[0191] Spezifische Beispiele für die obigen Transformationen sind in US-Patent 3.843.665 und 3.843.666 zu finden.

[0192] Das brückenbildende Carbonyl kann zu einer Methylengruppe umgewandelt werden über eine Wolf-Kishner-Reduktion des entsprechenden Hydrazons (Mosher, W. A., Tawfik, E.-Z., Lipp, D. W., J. Org. Chem. 1971, 36, 3890).

[0193] Zusätzliche Verfahren zur Funktionalisierung des brückenbildenden Carbonyls und spezielle Beispiele sind in der Japanischen Patentanmeldung JP 60 130521 A2, und B. Loev, US-Patent 3.004.983 (1960) zu finden.

[0194] Verbindungen der Formel I können hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel XIV



mit einer starken Base, zum Beispiel n-Buthyllithium, bei einer Temperatur im Bereich von -78° bis 25°C umgesetzt wird, gefolgt von einer Reaktion mit einer Verbindung der Formel R_2COG (Struktur XV), in der R_2 wie zuvor definiert ist und G eine C_{1-6} -Alkoxygruppe darstellt.

[0195] Verbindungen der Formel IV, VIII, XIV, XV und XVI sind kommerziell erhältlich oder können durch Verfahren hergestellt werden, die dem Fachmann bekannt sind.

[0196] Verbindungen der Formel I, in denen X SO oder SO_2 darstellt, können hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel I, in der X S darstellt, durch Verfahren oxidiert wird, die dem Fachmann bekannt sind, zum Beispiel unter Verwendung einer geeigneten Anzahl von Moläquivalenten von 3-Chlorperbenzoesäure.

[0197] Verbindungen der Formel I, in denen X eine Gruppe der Formel $-\text{C}=\text{NOR}_7$ darstellt, können hergestellt werden, indem eine Verbindung der Formel I, in der X Carbonyl darstellt, mit einer Verbindung der Formel H_2NOR_7 umgesetzt wird durch Verfahren, die dem Fachmann bekannt sind.

[0198] Verbindungen der Formel I, in denen $\text{R}_1 = 4\text{-Pyridyl}$ ist, können weiter an der 2-Position des Pyridinrings funktionalisiert werden durch Verfahren, die dem Fachmann bekannt sind, zum Beispiel über Pyridin-N-Oxid-vermittelte Neuordnung.

[0199] Bestimmte Substituenten in Verbindungen der Formel I können gegenseitig umgewandelt werden durch Verfahren, die dem Fachmann bekannt sind. Zum Beispiel können Alkoxy-substituenten mit einem geeigneten Etherspaltreagenz, zum Beispiel Bromwasserstoffsäure, Bortribromid oder Pyridinhydrochlorid, umgesetzt werden, um eine Verbindung der Formel I mit einem Hydroxysubstituenten zu ergeben. Alternativ können Verbindungen der Formel I mit einem Alkoxy-substituenten hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel I, die einen Hydroxysubstituenten aufweisen, alkyliert werden. Carbonsäureestersubstituenten können in Carboxy- oder Aminosubstituenten umgewandelt werden, und Carbonsäuresubstituenten können in Carbonsäureester- oder Amidsubstituenten umgewandelt werden. Nitrosobstituenten können zu Aminen reduziert werden, und Amine können acyliert werden durch Verfahren, die dem Fachmann bekannt sind.

[0200] Es wird vom Fachmann erkannt werden, dass bestimmte Substituenten mit einigen der beschriebenen Reagenzien in den obigen Prozessen reagieren können. In solchen Fällen sollte ein alternativer Prozess verwendet werden, oder der reaktive Substituent sollte vor der Reaktion geschützt und der Schutz nach der Reaktion aufgehoben werden.

[0201] Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele veranschaulicht, welche nur beispielsweise gegeben werden. Das Endprodukt von jedem dieser Beispiele wurde durch eine oder mehrere der folgenden Verfahren charakterisiert:

Hochleistungsflüssigchromatographie, Elementaranalyse, kernmagnetische Resonanzspektroskopie, Infrarotspektroskopie und Hochauflösungsmassenspektroskopie. Die folgenden Abkürzungen werden verwendet:

IMS = denaturierter Spiritus

LCMS = Flüssigchromatographie/Massenspektroskopie

Beispiel 1

a) Eine Mischung von Indan-1-on (3,3 g), Methyl-4-formylbenzoat (5,0 g), Piperidin (0,6 ml) und Eisessig (0,5 ml) wurde auf einem Dampfbad 3 Stunden lang erhitzt. Die erhaltene feste Masse wurde in denaturiertem Spiritus (200 ml) gekocht und dann heiß filtriert. Der erhaltene feste Rückstand wurde mit denaturiertem Spiritus gewaschen und getrocknet, um Methyl-4-(1-oxoindan-2-ylidenmethyl)benzoat zu ergeben, Schmelzpunkt $194\text{--}198^{\circ}\text{C}$.

- b) Das Produkt von a) (1,5 g) wurde in Methanol (10 ml) und Dichlormethan (15 ml) suspendiert und bei 0–5°C gerührt, während 2 M Natriumhydroxidlösung (2,7 ml) hinzugegeben wurde, gefolgt von 30%igem Wasserstoffperoxid (100 Vol. 1,1 ml). Die Mischung wurde bei 0–5°C 5 Minuten lang, dann bei Raumtemperatur 24 Stunden lang gerührt. Dichlormethan (100 ml) wurde zu der Mischung hinzugegeben, welche dann mit Salzlösung (2 × 50 ml) gewaschen, getrocknet, filtriert und eingedampft wurde, um Methyl-4-(1-oxospiro[indan-2,2'-oxiran]-3'-yl)benzoat zu ergeben, Schmelzpunkt 160–163°C. Die wässrige Phase wurde mit 5 M Salzsäure angesäuert und mit Dichlormethan extrahiert, um 4-(1-Oxospiro[indan-2,2'-oxiran]-3'-yl)benzoesäure zu ergeben, Schmelzpunkt 220°C mit Zersetzung.
- c) 4-(1-Oxospiro[indan-2,2'-oxiran]-3'-yl)benzoesäure von Abschnitt b) (780 mg), Methanol (50 ml), Hydrazinhydrat (0,18 ml) und Eisessig (6 Tropfen) wurden unter Rückfluss 24 Stunden lang erhitzt. Die Mischung wurde in Eis gekühlt und filtriert, um 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzoesäure zu ergeben, Schmelzpunkt >320°C.
- d) Eine Mischung des Produkts von c) (5,3 g) und Dichlormethan (250 ml) wurde bei Raumtemperatur gerührt, und dann wurde Oxalylchlorid (5 ml) und trockenes N,N-Dimethylformamid (6 Tropfen) hinzugegeben. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur 10 Minuten lang gerührt und dann am Rückflusskühler 90 Minuten lang erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt, um ein rohes Säurechlorid zu ergeben, das direkt in dem nächsten Experiment verwendet wurde.
- e) Das Säurechlorid von d) (3,73 g) wurde bei Raumtemperatur in Dichlormethan (150 ml) gerührt, dann wurden Triethylamin (3 ml) und dann 4-Aminopyridin (0,9 g) hinzugegeben. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur 3 Stunden lang gerührt. Wasser (150 ml) und 5 M Natriumhydroxidlösung (50 ml) wurden hinzugegeben und die Mischung wurde 90 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde filtriert und der Rückstand wurde mit Dichlormethan und Wasser gewaschen. Das Filtrat und die Waschungen wurden vereinigt, getrennt und die Dichlormethanschicht wurde getrocknet und eingedampft, um einen Feststoff zu ergeben, welcher mit dem ursprünglich aus der Filtration erhaltenen Feststoff vereinigt und durch Flash-Säulenchromatographie auf Silicagel unter Verwendung von Dichlormethan/Ethylalkohol (10 : 1) getrennt wurde, um N-(4-Pyridyl)-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzamid zu ergeben.
- f) Lithiumaluminiumhydrid (830 mg) wurde portionsweise zu einer gerührten Mischung von dem Produkt von e) (1,9 g) in trockenem Tetrahydrofuran (50 ml) bei Raumtemperatur hinzugegeben. Die Mischung wurde unter Rückfluss 1 Stunde lang gekocht. Die Mischung wurde auf 0–5°C gekühlt und zu Ethylacetat (70 ml) hinzugegeben, und dann wurde Wasser (70 ml) hinzugegeben. Die Mischung wurde 10 Minuten lang, gerührt und filtriert, um einen Feststoff A zu ergeben. Die wässrige Schicht wurde abgetrennt und mit weiterem Ethylacetat (100 ml) extrahiert. Der Feststoff A wurde mit Ethanol gerührt und filtriert. Die Ethylacetatextrakte und das Ethanolfiltrat wurden vereinigt und eingedampft. Der erhaltene Rückstand wurde durch Flash-Säulenchromatographie gereinigt unter Verwendung von Dichlormethanol/Ethanol (10 : 1), um 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol)-N-(4-pyridyl)benzylamin zu ergeben, Schmelzpunkt 270–274°C.

Beispiel 2

- a) Eine Mischung von Indan-1-on (20,0 g), 4-Nitrobenzaldehyd (27,0 g), Eisessig (3,0 g) und Piperidin (3,06 g) wurde bei 95°C unter Stickstoff 3,5 Stunden lang erhitzt. Die Mischung wurde auf 20°C gekühlt und filtriert, um einen Feststoff zu ergeben, welcher aus denaturiertem Spiritus umkristallisiert wurde, um 2-(4-Nitrobenzyliden)indan-1-on zu ergeben.
- b) Das Produkt von a) (28,0 g) wurde mit Dichlormethan (100 ml) und Methanol (100 ml) bei 20°C gerührt, und dann wurde 2 M Natriumhydroxidlösung (50 ml) hinzugegeben, gefolgt von Wasserstoffperoxid (20 ml, 100 Volumen). Die Mischung wurde bei 20°C 24 Stunden lang gerührt. Weiteres Wasserstoffperoxid (10,0 ml, 100 Volumen) wurde hinzugegeben und die Mischung wurde weitere 24 Stunden gerührt. Weiteres Wasserstoffperoxid (10 ml, 100 Volumen) wurde hinzugegeben und die Mischung wurde 64 Stunden lang gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Eisessig neutralisiert und der Feststoff, der sich bildete, wurde durch Filtration gesammelt und getrocknet, um 3'-(4-Nitrophenyl)-1-oxospiro[indan-2,2'-oxiran] zu ergeben.
- c) Das Produkt von b) (10,0 g) wurde in Ethanol (180 ml) gelöst und Hydrazinhydrat (1,78 g) wurde zu der erhaltenen Lösung hinzugegeben, gefolgt von Eisessig (30 Tropfen). Die Mischung wurde unter Rückfluss 5 Stunden lang gekocht, und dann auf 20°C gekühlt und bei dieser Temperatur 18 Stunden lang stehen gelassen. Der Feststoff wurde durch Filtration gesammelt und aus Aceton umkristallisiert, um 3-(4-Nitrophenyl)-1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol zu ergeben, Schmelzpunkt 267–270°C.
- d) Das Produkt von c) (3,0 g) wurde in denaturiertem Spiritus (200 ml) suspendiert und 5% Palladium auf Holzkohle (250 mg) wurde hinzugegeben, gefolgt von Ammoniumformiat (2,05 g). Die Mischung wurde gerührt und bei 70°C 3 Stunden lang erhitzt, und dann auf Raumtemperatur gekühlt und dann filtriert. Das Filtrat wurde unter reduziertem Druck eingeengt und mit Dichlormethan zerrieben, um 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)anilin zu ergeben, Schmelzpunkt 253–254°C.
- e) Das Produkt von d) (1,0 g) wurde in Dichlormethan (30 ml) gelöst und Triethylamin (0,62 ml) wurde hin-

zugegeben. Die Mischung wurde auf 0°C gekühlt und Benzensulfonylchlorid (0,79 g) wurde unter Rühren hinzugegeben. Die Mischung wurde auf 20°C erwärmt und bei dieser Temperatur 2 Stunden lang erhitzt. Weiteres Triethylamin (0,62 ml) und Benzensulfonylchlorid (0,79 g) wurden hinzugegeben, und die Mischung wurde bei Raumtemperatur 4 Stunden lang gerührt und dann bei Raumtemperatur 16 Stunden stehen gelassen. Ether (80 ml) wurde hinzugegeben, gefolgt von Wasser (40 ml). Der Feststoff, der ausfiel, wurde durch Filtration gesammelt, mit Natriumbicarbonatlösung und Ether gewaschen und dann unter Vakuum bei 60°C getrocknet. Das Material wurde aus Aceton umkristallisiert, um einen Feststoff zu ergeben, der durch Flash-Säulenchromatographie auf Silicagel gereinigt wurde unter Verwendung von Dichlormethan, um einen Feststoff zu ergeben, der als 4'-(1-Phenylsulfonyl(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-phenylsulfonylanilin identifiziert wurde.

f) Das Produkt von e) (0,56 g) wurde in Methanol (40 ml) suspendiert und 2 M Natriumhydroxidlösung (5,3 ml) wurde hinzugegeben. Eine klare Lösung wurde erhalten und diese wurde bei 20°C 20 Minuten lang gerührt. Die Mischung wurde in 2 M Salzsäure (75 ml) geschüttet und der erhaltene Feststoff wurde durch Filtration gesammelt, um einen Feststoff zu ergeben, welcher mit gesättigtem Natriumbicarbonat (25 ml) und Ethylacetat (25 ml) 30 Minuten lang gerührt und dann filtriert wurde, um N-[4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)phenyl]benzoesulphonamid zu ergeben, Schmelzpunkt 286–288°C.

Beispiel 3

[0202] Eine Mischung des Säurechlorids von Beispiel 1 d) (100 mg), Dichlormethan (5 ml), 2-Methoxyethanol (26 µl) und Triethylamin (84 µl) wurde bei Raumtemperatur 20 Stunden lang gerührt. Die Mischung wurde mit Natriumbicarbonatlösung (5 ml gesättigt) gerührt und filtriert. Das Filtrat wurde eingedampft, um einen Feststoff zu ergeben, der durch Flash-Säulenchromatographie unter Verwendung von Dichlormethan/denaturiertem Spiritus (25 : 2) als die mobile Phase gereinigt wurde, um 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-methoxyethyl)benzamid als einen farblosen Feststoff zu erhalten.

Beispiel 4

[0203] Eine Mischung des Säurechlorids von Beispiel 1 d) (100 mg), Dichlormethan (5 ml), 4-Nitroanilin (41 mg) und Triethylamin (64 µl) wurde bei Raumtemperatur 20 Stunden lang gerührt. Die Mischung wurde mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung (5 ml) 10 Minuten lang gerührt und dann filtriert. Der Feststoff wurde mit Dichlormethan, dann mit Alkohol gewaschen und getrocknet, um 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(4-nitrophenyl)benzamid als einen farblosen Feststoff zu ergeben.

Beispiel 5

a) Das Anilin von Beispiel 2 d) (6 g) wurde in Dichlormethan (200 ml) gelöst und dann wurde Triethylamin (7,4 ml) hinzugegeben. Die Mischung wurde auf 0°C gekühlt, und dann wurde Chloracetylchlorid (4,2 ml) unter Rühren hinzugegeben und die Mischung wurde auf 20°C erwärmt. Die Mischung wurde filtriert und der erhaltene Feststoff wurde mit Wasser und dann Ether gewaschen und getrocknet, um ein Zwischenprodukt zu ergeben, welches an dem 1-Nitrogen des Pyrazols und an der NH₂-Gruppe des Ausgangsanilins chloracetyliert worden war.

b) Das Produkt von a) (1,4 g), Imidazol (0,95 g) und Tetrahydrofuran (40 ml) wurden unter Rückfluss bei 90°C unter Stickstoff 6 Stunden lang gekocht. Die Mischung wurde filtriert und das Filtrat wurde eingedampft unter reduziertem Druck, um einen Rückstand zu ergeben, der zwischen Ethylacetat und 2 M Salzsäure verteilt wurde. Der erhaltene Feststoff wurde durch Filtration gesammelt und getrocknet, um 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)imidazol-1-ylacetaniliddihydrochlorid zu ergeben, Schmelzpunkt 264–266°C.

Beispiel 6

[0204] Das Produkt von Beispiel 5 (0,27 g) wurde in Tetrahydrofuran (30 ml) unter Stickstoff unter Rühren suspendiert und Lithiumaluminiumhydrid (87 mg) wurde hinzugegeben. Die Mischung wurde bei 20°C 18 Stunden lang gerührt. Die Mischung wurde mit einer gesättigten Lösung von Natriumsulfat (40 ml) gequench und dann mit Ethylacetat (2 x 30 ml) extrahiert, um einen Feststoff zu ergeben, der in Ethanol (3 ml) gelöst wurde, zu dem konzentrierte Salzsäure (10 Tropfen) hinzugegeben wurde. Das Ethanol wurde entfernt, um einen gelben Feststoff zu ergeben, der mit Ether zerrieben wurde, um 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-[2-imidazol-1-yl)ethyl]anilindihydrochlorid zu ergeben, Schmelzpunkt 205–209°C.

Beispiel 7

- a) Eine Mischung von 4-Cyanobenzensulfonylchlorid (5,15 g) in Aceton (70 ml) wurde bei Raumtemperatur gerührt, und dann wurde eine Lösung von 2-Morpholinoethylamin (6,7 ml) in Aceton (15 ml) tropfenweise unter Rühren hinzugegeben. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur 2 Stunden lang gerührt, und dann wurde das Aceton durch Verdampfung entfernt und der Rückstand wurde durch ein Silicagelkissen eluiert unter Verwendung von Ethylacetat, um 4-Cyano-N-2-morpholinoethylbenzensuslphonamid zu ergeben.
- b) Das Produkt von a) (0,65 g) und trockenes Toluol (30 ml) wurden bei 0–5°C gerührt und Diisobutylaluminiumhydrid (4,4 ml einer 1,0-M-Lösung in Cyclohexan) wurde bei 0–5°C hinzugegeben. Nach der Zugabe wurde die Lösung 30 Minuten lang auf Raumtemperatur erwärmt, und dann unter Rückfluss über 30 Minuten bis zum Kochen erhitzt und 3 Stunden lang gekocht. Die Mischung wurde gekühlt und zu 5 M Salzsäure (10 ml) bei 10–15°C hinzugegeben. Die Mischung wurde dann auf 90°C 10 Minuten lang erwärmt und dann gekühlt, und die Toluolschicht wurde abgetrennt. Die wässrige Schicht wurde mit Ethylacetat gewaschen und dann auf pH 7–8 neutralisiert unter Verwendung von 5 M Natriumhydroxidlösung. Diese Mischung wurde mit Ethylacetat extrahiert, getrocknet, filtriert und eingedampft, um einen Gummi zu ergeben, welcher unter Vakuum bei 40°C getrocknet wurde, um einen Feststoff zu ergeben, der als 4-Formyl-N-(2-morpholinoethyl)benzensuslphonamid identifiziert wurde, Schmelzpunkt 114–116°C.
- c) Das Produkt von b) (200 mg), 2-Bromindanon (142 mg) und trockenes Methanol (3 ml) wurden bei 0°C gerührt, und zu dieser Mischung wurde eine Lösung von Natriummethoxid (44 mg) in Methanol (0,5 ml) hinzugegeben. Die Mischung wurde bei 0°C 2 Stunden lang gerührt, um einen Feststoff zu ergeben, der durch Filtration gesammelt, mit Methanol gewaschen und unter Vakuum getrocknet wurde, um das Epoxid zu ergeben.
- d) Das Produkt von c) (3,7 g), Hydrazinhydrat (1 ml), Eisessig (10 Tropfen) und Ethanol (100 ml) wurden unter Rückfluss 26 Stunden lang gekocht und das Ethanol über Molekularsieben in einem Soxhlet-Extraktionsapparat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand wurde durch Flash-Säulenchromatographie gereinigt, um 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinoethyl)benzensuslphonamid zu ergeben, Schmelzpunkt 218–220°C.

Beispiel 8

[0205] Dieses Beispiel wurde auf eine ähnliche Art und Weise wie Beispiel 7 hergestellt, außer dass 2-Methoxyethylamin anstelle von 2-Morpholinoethylamin verwendet wurde, und das erhaltene Produkt war 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-methoxyethyl)benzensuslphonamid.

Beispiel 9

- a) Eine Mischung von Indan-1-on (3,3 g), Methyl-4-formylbenzoat (5,0 g), Piperidin (0,6 ml) und Eisessig (0,5 ml) wurde auf einem Dampfbad 3 Stunden lang erhitzt. Die erhaltene feste Masse wurde in denaturiertem Spiritus (200 ml) aufgekocht und dann heiß filtriert. Der erhaltene feste Rückstand wurde mit denaturiertem Spiritus gewaschen und getrocknet, um Methyl-4-(1-oxoindan-2-ylidenmethyl)benzoat zu ergeben, Schmelzpunkt 194–198°C.
- b) Das Produkt von a) (1,5 g) wurde in Methanol (10 ml) und Dichlormethan (15 ml) suspendiert und bei 0–5°C gerührt, während 2 M Natriumhydroxidlösung (2,7 ml) hinzugegeben wurde, gefolgt von 30%igem Wasserstoffperoxid (100 Vol. 1,1 ml). Die Mischung wurde bei 0–5°C 5 Minuten lang, dann bei Raumtemperatur 24 Stunden lang gerührt. Dichlormethan (100 ml) wurde zu der Mischung hinzugegeben, welche dann mit Salzlösung (2 × 50 ml) gewaschen, getrocknet, filtriert und eingedampft wurde, um Methyl-4-(1-oxospiro[indan-2,2'-oxiran]-3'-yl)benzoat zu ergeben, Schmelzpunkt 160–163°C. Die wässrige Phase wurde mit 5 M Salzsäure angesäuert und mit Dichlormethan extrahiert, um 4-(1-Oxospiro[indan-2,2'-oxiran]-3'-yl)benzoesäure zu ergeben, Schmelzpunkt 220°C mit Zersetzung.
- c) Eine Mischung von Methyl-4-(1-Oxospiro[indan-2,2'-oxiran]-3'-yl)benzoat (750 mg), Methanol (30 ml) und Hydrazinhydrat (0,16 ml) wurde bei Raumtemperatur gerührt, während Eisessig (6 Tropfen) hinzugegeben wurde. Die Mischung wurde unter Rückfluss 24 Stunden lang erhitzt und dann bei Raumtemperatur 24 Stunden stehen gelassen, dann auf 0°C gekühlt und filtriert, um Methyl-4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzoat zu ergeben, Schmelzpunkt 224–226°C.
- d) Der Ester von c) (2,20 g) und N,N-Diethylethylendiamin (7 ml) wurden unter Rückfluss 4,5 Stunden lang gekocht. Die Mischung wurde auf Raumtemperatur gekühlt und dann wurde Petroleumether, Siedepunkt 40–60°C (50 ml) hinzugegeben. Die Mischung wurde filtriert, um das Amid zu ergeben.
- e) Das Amid (2,75 g) wurde in Tetrahydrofuran (80 ml) suspendiert und bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt, wenn Lithiumaluminiumhydrid (1,14 g) hinzugegeben wurde. Die Mischung wurde 3,5 Stunden lang gerührt, und dann wurden weiteres Lithiumaluminiumhydrid (1,14 g) und Tetrahydrofuran (40 ml) hin-

zugegeben. Eine dritte Portion Lithiumaluminiumhydrid wurde nach 22,5 Stunden hinzugegeben, und diese Mischung wurde dann 24 Stunden lang gerührt. Die Mischung wurde unter Rückfluss 2,5 Stunden lang gekocht, dann über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Mischung wurde unter Stickstoff mit Kühlen in einem Eisbad gerührt, während Ethylacetat (100 ml) hinzugegeben wurde, gefolgt von Wasser (100 ml). Die organische Schicht wurde abgetrennt, gewaschen, getrocknet und eingedampft, um ein Öl zu ergeben, welches durch Flash-Säulenchromatographie auf Silicagel gereinigt wurde unter Verwendung von Ethylacetat/Ethanol/Triethylamin (7 : 2 : 1). Geeignete Fraktionen wurden vereinigt und eingedampft, um einen Gummi (0,85 g) zu ergeben, der in Ethanol (5 ml) unter Erwärmen gelöst wurde, und zu der Lösung wurde konzentrierte Salzsäure (0,6 ml) hinzugegeben. Die Mischung wurde dann unter reduziertem Druck eingedampft, und der übriggebliebene gummiartige Feststoff wurde mit Ethanol (10 ml) gekocht, dann in Eis gekühlt und filtriert, um N-[2-(N,N-Diethylamino)ethyl]-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzylamintrihydrochlorid zu ergeben, Schmelzpunkt 225°C.

Beispiel 10

[0206] Dieses Beispiel wurde auf eine ähnliche Art und Weise wie Beispiel 7 hergestellt, außer dass N,N-Diethylaminoethylamin anstelle von 2-Morpholinoethylamin verwendet wurde. Das erhaltene Produkt war N-[2-(N,N-Diethylamino)ethyl]-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzylamintrihydrochlorid, Schmelzpunkt 192–196°C.

Beispiel 11

[0207] Dieses Beispiel wurde auf eine ähnliche Art und Weise wie Beispiel 9 hergestellt, außer dass 2-Morpholinoethylamin anstelle von N,N-Diethylaminoethylamin verwendet wurde. Das erhaltene Produkt war 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinoethyl)benzylamintrihydrochlorid, Schmelzpunkt 266–269°C (mit Zersetzung).

Beispiel 12

[0208] Dieses Beispiel wurde auf eine ähnliche Art und Weise wie Beispiel 1 hergestellt, außer dass 4-Ethoxyanilin anstelle von 2-Methoxyethylamin verwendet wurde. Das erhaltene Produkt war N-(4-Ethoxyphenyl)-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzylamin, Schmelzpunkt 180°C (mit Zersetzung).

Beispiel 13

[0209] Dieses Beispiel wurde auf eine ähnliche Art und Weise wie Beispiel 9 d) hergestellt, außer dass (S-(+)-2-(Aminomethyl)pyrrolidin anstelle von N,N-Diethylethylenamin verwendet wurde. Das erhaltene Produkt war (S)-4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(pyrrolidin-2-ylmethyl)benzylamintrihydrochlorid, Schmelzpunkt 222–226°C.

Beispiel 14

a) Methylthiosalicylat (9,89 ml) wurde zu einer Lösung von Natriummethoxid (11,6 g) in Ethanol (100 ml) unter Rühren hinzugegeben. Nach 15 Minuten wurde eine Lösung von 4'-Bromphenacylbromid (20,0 g) in Ethanol (100 ml) hinzugegeben und die Mischung wurde gerührt und unter Rückfluss 18 Stunden gekocht. Die Mischung wurde gekühlt und mit 10%iger Salzsäure (150 ml) angesäuert. Der Feststoff wurde gesammelt und direkt in dem nächsten Experiment verwendet.

b) Das Produkt von a) (18,0 g) wurde gerührt und in Ethanol (150 ml) in einem Kolben unter Rückfluss gekocht, der mit einer Soxhlet-Extraktionshülse ausgestattet war, die 4-A-Molekularsiebe enthielt. 1 Tropfen Eisessig wurde hinzugegeben, gefolgt von Hydrazinhydrat (3,9 ml), und die Mischung wurde gekocht und unter Rückfluss 64 Stunden lang gerührt. Die Mischung wurde gekühlt und der Niederschlag wurde gesammelt und direkt in dem nächsten Experiment verwendet.

c) Das Produkt von b) (4,0 g) wurde in Tetrahydrofuran (200 ml) gelöst und tropfenweise unter Rühren bei 0°C unter Stickstoff zu einer gerührten Suspension von Kaliumhydrid (1,53 g) in Tetrahydrofuran (100 ml) hinzugegeben. Nach der Zugabe wurde die Mischung 15 Minuten lang gerührt und dann auf –78°C gekühlt. Tert-Butyllithium (17,0 ml einer 1,5-M-Lösung in Pentan) wurde tropfenweise hinzugegeben, und nach Rühren 45 Minuten lang bei dieser Temperatur wurde Dimethylformamid (4,7 ml) hinzugegeben. Die Temperatur wurde bei –78°C 1 Stunde lang gehalten, und dann wurde das Reaktionsgemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmen gelassen. Die Mischung wurde durch die vorsichtige Zugabe von 1 M Salzsäure (200 ml) gequenchet. Die organische Schicht wurde getrennt, mit Wasser, gesättigtem Bicarbonat, Salzlösung ge-

waschen und dann getrocknet, filtriert und eingedampft, um einen wachsartigen roten Feststoff zu ergeben, der durch Flash-Säulenchromatographie auf Silicagel unter Verwendung von 20% Ethylacetat in Petroleumether, Siedepunkt 260–280°C, als mobile Phase gereinigt wurde, um 3-(4-Formylphenyl)-1H-[1]benzothien[3,2-c]pyrazol zu ergeben, Schmelzpunkt 261–263°C.

d) Eine Lösung des Produktes von c) (100 mg), 3-(1-Imidazolyl)propylamin (58 mg) in 1,2-Dichlorethan, das Eisessig (0,03 ml) enthielt, wurde bei Raumtemperatur 1 Stunden lang gerührt. Natriumtriacetoxyborohydrid (84 mg) wurde hinzugegeben und die Mischung wurde bei Raumtemperatur 16 Stunden lang gerührt. Zusätzliches Natriumtriacetoxyborohydrid (90 mg) wurde hinzugegeben und die Mischung wurde bei Raumtemperatur 24 Stunden lang gerührt. Die Mischung wurde in eine gerührte Lösung von gesättigtem wässrigen Natriumbicarbonat (ungefähr 20 ml) geschüttet. Die organische Schicht wurde getrennt und die wässrige Schicht wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigte organische Schicht und die Extrakte wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft, um einen Feststoff zu ergeben, der in Ethanol (15 ml) gelöst wurde, und 2 Tropfen konzentrierte Salzsäure wurden hinzugegeben. Die Lösung wurde unter reduziertem Druck eingeengt, um einen Feststoff zu ergeben, der mit Diethylether zerrieben, filtriert und getrocknet wurde, um 4-(1H-[1]Benzothieno[3,2-c]pyrazol-3-yl)-N-[3-(imidazol-1yl)propyl]benzylamintrihydrochlorid zu ergeben, Schmelzpunkt 206–208°C (mit Zersetzung).

Beispiel 15

[0210] Dieses Beispiel wurde auf eine ähnliche Art und Weise wie Beispiel 14 hergestellt, indem 3-(4-Formylphenyl)-1H-[1]benzothieno[3,2-c]pyrazol mit 2-Morpholinoethylamin umgesetzt wurde, um 4-(1H-[1]Benzothieno[3,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinoethyl)benzylamintrihydrochlorid zu ergeben, Schmelzpunkt 270–272°C.

Beispiel A

[0211] Die Verwendung von Verbindungen der vorliegenden Erfindung bei der Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen wird durch die folgende Beschreibung veranschaulicht. In dieser Beschreibung bezeichnet der Ausdruck "aktive Verbindung" jede beliebige Verbindung der Erfindung, aber insbesondere jede Verbindung, die das Endprodukt eines der vorausgehenden Beispiele ist.

a) Kapseln

[0212] Bei der Herstellung von Kapseln werden 10 Gewichtsteile aktive Verbindung und 240 Gewichtsteile Laktose desaggregiert und vermischt. Die Mischung wird in harte Gelatinekapseln gefüllt, wobei jede Kapsel eine Einheitsdosis, oder einen Teil einer Einheitsdosis an aktiver Verbindung enthält.

b) Tabletten

[0213] Tabletten werden aus den folgenden Bestandteilen hergestellt:

	Gewichtsteile
aktive Verbindung	10
Laktose	190
Maisstärke	22
Polyvinylpyrrolidon	10
Magnesiumstearat	3

[0214] Die aktive Verbindung, die Laktose und etwas von der Stärke werden desaggregiert, vermischt, und die resultierende Mischung wird granuliert mit einer Lösung von Polyvinylpyrrolidon in Ethanol. Das trockene Granulat wird mit dem Magnesiumstearat und dem Rest der Stärke vermischt. Die Mischung wird dann in einer Tablettiermaschine komprimiert, um Tabletten zu ergeben, die jeweils eine Einheitsdosis oder einen Teil einer Einheitsdosis an aktiver Verbindung enthalten.

c) Tabletten mit magensaftresistentem Überzug

[0215] Tabletten werden hergestellt durch das Verfahren, das in (b) oben beschrieben ist. Die Tabletten werden auf eine herkömmliche Art und Weise unter Verwendung einer Lösung von 20% Celluloseacetatphthalat und 3% Diethylphthalat in Ethanol : Dichlormethan (1 : 1) mit einem enterischen Überzug versehen.

d) Zäpfchen

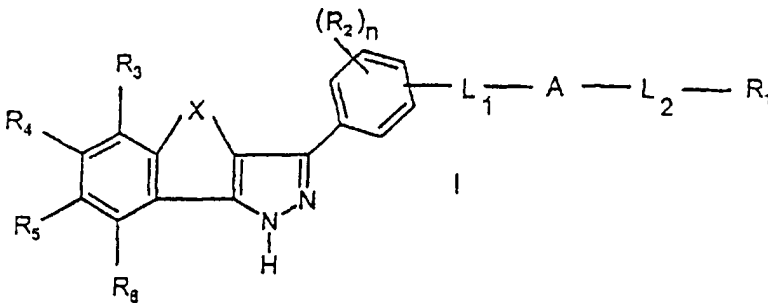
[0216] Bei der Herstellung von Zäpfchen werden 100 Gewichtsteile aktive Verbindung in 1300 Gewichtsteilen Triglyzeridzäpfchenbasis eingelagert und die Mischung zu Zäpfchen geformt, die jeweils eine therapeutisch wirksame Menge an wirksamen Bestandteil enthalten.

ÄQUIVALENTE

[0217] Während diese Erfindung besonders mit Bezugnahmen auf bevorzugte Ausführungsformen davon gezeigt und beschrieben worden ist, wird es für den Fachmann verständlich sein, dass verschiedene Änderungen in Form und Einzelheiten darin vorgenommen werden können, ohne von dem Schutzzumfang der Erfindung abzuweichen, wie er in den angehängten Ansprüchen definiert ist. Der Fachmann wird bei Verwendung von nicht mehr als routinemäßigem Experimentieren viele Äquivalente zu den speziellen Ausführungsformen der Erfindung, die hierin besonders beschrieben sind, erkennen oder in der Lage sein, diese in Erfahrung zu bringen. Es ist beabsichtigt, dass solche Äquivalente im Schutzzumfang der Ansprüche eingeschlossen sind.

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel I



und pharmazeutisch verträgliche Salze davon, in denen

L_1 eine Gruppe der Formel $(E)_s (CH_2)_q$ darstellt, in der E NR₂₄, 0 oder S darstellt, s ist 0 oder 1 und q ist eine ganze Zahl von 0 bis 6, vorausgesetzt daß, wenn s 1 ist, q mindestens 1 ist, in der die Alkylkette wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁-C₆-Alkylgruppe, wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; eine C₁-C₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; Hydroxy; Halo; oder wahlweise substituiertes Amino;

A stellt CONH, NHCO, SO₂NH, NHSO₂ oder NR₂₅ dar;

L_2 stellt eine Gruppe der Formel $(CH_2)_r$ dar, in der r eine ganze Zahl von 0 bis 6 ist, in der die Alkylkette wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁-C₆-Alkylgruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; einer C₁-C₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; Hydroxy; Halo; oder wahlweise substituiertes Amino;

R_2 stellt eine C₁-C₆-Alkylgruppe dar, wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Halo, Hydroxy, C₁-C₆-Alkoxy oder wahlweise substituiertes Amino, eine C₁-C₆ Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Halo, Hydroxy, C₁-C₆-Alkoxy oder wahlweise substituiertes Amino; oder R_2 ist Halo, Hydroxy, Cyano, Nitro, Carbamoyl, eine C₁-C₆-Alkanoylgruppe, eine (C₁-C₆-Alkoxy)carbonylgruppe oder wahlweise substituiertes Amino;

n stellt 0, 1, 2 oder 3 dar,

X stellt folgendes dar: a) substituiertes Methylen, b) Carbonyl, c) Sauerstoff, d) eine Gruppe der Formel -C=NOR₇, in der R₇ H oder eine C₁-C₄-Alkylgruppe darstellt, e) eine Gruppe der Formel NR₈ in der R₈ H darstellt, eine wahlweise substituierte C₁-C₄-Alkylgruppe oder wahlweise substituiertes Phenyl, f) eine Gruppe der Formel $(CH_2)_n$ in der n 1, 2 oder 3 ist, oder g) eine Gruppe der Formel S(O)_p, in der p 0, 1 oder 2 ist;

R_3 , R_4 , R_5 und R_6 stellen unabhängig folgendes dar: a) H, b) Halo, c) eine C₁-C₆-Alkylgruppe, wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy, eine C₁-C₆-Alkoxygruppe, Halo oder eine wahlweise substituierte Aminogruppe, d) eine C₁-C₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy; eine C₁-C₆-Alkoxygruppe; Halo; oder eine wahlweise substituierte Aminogruppe, vorausgesetzt, daß diese Gruppen nicht an den Kohlenstoff gebunden sind, der an den Sauerstoff der Alkoxygruppe gebunden ist; e) wahlweise substituiertes Phenoxy, f) Hydroxy, g) eine Gruppe der Formel COR_a, in der R_a Hydroxy, eine C₁-C₆-Alkoxygruppe darstellt, oder R_a stellt eine wahlweise substituierte Aminogruppe dar, h)

eine wahlweise substituierte Aminogruppe, i) eine C₁-C₆-Alkanoylgruppe, j) Nitro, k) wahlweise substituiertes Phenyl C₁-C₆-Alkyl, l) wahlweise substituiertes Phenyl C₁-C₆-Alkoxy, m) Cyano; oder o) eine C₂-C₄-Alkenylgruppe oder eine C₂-C₄-Alkynylgruppe, die jeweils wahlweise substituiert ist durch Phenyl, das wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁-C₆-Alkylgruppe, eine C₁-C₆-Alkoxygruppe oder Halo; und 1) wenn A SO₂NH oder NHSO₂ ist

dann stellt R₁ folgendes dar: a) wahlweise substituiertes Phenyl, b) wahlweise substituiertes Heteroaryl, c) einen fünf-, sechs- oder sieben-gliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring enthaltend ein Stickstoffatom, das wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und wahlweise substituiert ist durch eine C₁-C₆-Alkylgruppe, worin der gesättigte Ring gebunden sein kann durch Kohlenstoff oder ein Heteroatom, d) eine wahlweise substituierte Aminogruppe oder e) eine C₁-C₆-Alkoxygruppe;

2) wenn A CONH oder NHCO darstellt,

R₁ stellt folgendes dar: a) Phenyl substituiert durch Nitro oder ein oder mehrere C₁-C₆-Alkoxygruppen wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Halo, Hydroxy, C₁-C₆-Alkoxy oder wahlweise substituiertes Amino, b) wahlweise substituiertes Heteroaryl oder c) einen fünf-, sechs- oder sieben-gliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring, enthaltend ein Stickstoffatom, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N und wahlweise substituiert ist durch eine C₁-C₆-Alkylgruppe, worin der gesättigte Ring durch ein Kohlenstoffatom gebunden ist oder d) eine C₁-C₆-Alkoxygruppe;

3) wenn A eine Gruppe NR₂₅ darstellt und q mindestens 1 ist, dann stellt R₁ a) wahlweise substituiertes Phenyl, b) wahlweise substituiertes Heteroaryl oder c) eine wahlweise substituierte Aminogruppe dar; und

4) wenn A eine Gruppe NR₂₅ darstellt und q 0 ist und s 0 ist, dann stellt R₁ ein wahlweise substituiertes Heteroaryl dar;

R₂₄ und R₂₅ stellt unabhängig H dar; eine C₁-C₆-Alkylgruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: Hydroxy, eine C₁-C₆-Alkoxygruppe, Halo oder eine wahlweise substituierte Aminogruppe; eine C₁-C₆-Alkanoylgruppe oder eine C₁-C₆-Alkylsulphonylgruppe; vorausgesetzt, daß keine zwei Heteroatome an das gleiche sp³ hybridisierte Kohlenstoffatom gebunden sind,

worin substituiertes Methylen Methylen bedeutet, substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy oder eine C₁-C₄-Alkylgruppe, worin die Alkylgruppe weiter wahlweise substituiert ist durch eine Gruppe der Formel NR_rR_s, worin R_r und R_s unabhängig H oder eine C₁-C₆-Alkylgruppe darstellen;

worin eine wahlweise substituierte Aminogruppe eine Gruppe der Formel NR_kR₁ bedeutet, in der R_k und R₁ unabhängig Wasserstoff, eine C₁-C₁₂-Alkylgruppe, eine C₁-C₁₂-Alkoxygruppe, eine C₃-C₁₂-Cycloalkylgruppe, eine Phenylgruppe, eine Phenyl C₁-C₆-Alkylgruppe, eine Heteroarylgruppe oder eine Heteroaryl C₁-C₆-Alkylgruppe darstellt, worin jede der Gruppen wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁-C₆-Alkylgruppe, eine C₁-C₆-Alkoxygruppe, Hydroxy, Halo; oder R_k und R₁ zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, stellen einen fünf-, sechs- oder sieben-gliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring dar, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N und ist wahlweise substituiert durch eine C₁-C₆-Alkylgruppe;

worin Heteroaryl einen wahlweise substituierten mono- oder bityklischen aromatischen Heterozyklus bedeutet, in dem der Heterozyklus 1, 2, 3 oder 4 Heteroatome enthält, gewählt aus Stickstoff, Schwefel oder Sauerstoff;

worin wahlweise substituiertes Phenyl und Heteroaryl Phenyl und Heteroaryl bedeuten, substituiert durch ein oder mehrere von a) Halo, b) einer C₁-C₆-Alkylgruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo, einer wahlweise substituierten Aminogruppe oder einem fünf-, sechs- oder sieben-gliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring, enthaltend ein Stickstoffatom, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und der wahlweise substituiert ist durch eine C₁-C₆-Alkylgruppe, worin der gesättigte Ring durch ein Kohlenstoffatom gebunden ist, c) eine C₁-C₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy; eine C₁-C₆-Alkoxygruppe; Halo; oder eine wahlweise substituierte Aminogruppe, vorausgesetzt, daß diese Gruppen nicht an den Kohlenstoff gebunden sind, der an den Sauerstoff der Alkoxygruppe gebunden ist, oder ein fünf-, sechs- oder siebengliedriger gesättigter heterozyklischer Ring ist, enthaltend ein Stickstoffatom, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und wahlweise substituiert ist durch eine C₁-C₆-Alkylgruppe, worin der gesättigte Ring durch ein Kohlenstoffatom gebunden ist, d) wahlweise substituiertes Phenoxy, e) Hydroxy, f) eine Gruppe der Formel COR_a, in der R_a Hydroxy, eine C₁-C₆-Alkoxygruppe darstellt oder R_a stellt eine Gruppe der Formel NR_bR_c dar, in der R_b und R_c unabhängig Wasserstoff, eine C₁-C₁₂-Alkylgruppe, eine C₃-C₁₂-Cycloalkylgruppe oder Phenyl darstellen, worin die Alkylgruppe, die Cycloalkylgruppe und Phenyl wahlweise substituiert sind durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo, einer C₃-C₁₂-Cycloalkylgruppe oder eine Aminogruppe der Formel NR_hR_j, worin R_h und R_j unabhängig Wasserstoff oder eine C₁-C₆-Alkylgruppe darstellen, oder worin R_h und R_j zusammen mit dem Stickstoffatom, an welches sie gebunden sind einen fünf-, sechs- oder sieben-gliedrigen gesättigten heterozyklischen Ring darstellen, der wahlweise ein zusätzliches Heteroatom enthält, gewählt aus O, S oder N, und wahlweise substituiert ist durch eine C₁-C₆-Alkylgruppe, g) eine Gruppe der Formel NR_dR_e, in der R_d und R_e unabhängig gewählt sind aus Wasserstoff, einer C₁-C₁₂-Alkylgruppe, einer C₃-C₁₂-Cycloalkylgruppe oder Phenyl oder eine

Gruppe der Formel COR_f, worin R_f Wasserstoff, eine C₁-C₁₂-Alkylgruppe, eine C₃-C₁₂-Cycloalkylgruppe, eine Phenyl C₁-C₆-Alkylgruppe oder Phenyl darstellen, worin in jedem Fall die Alkylgruppe, die Cycloalkylgruppe und das Phenyl wahlweise substituiert sind durch ein oder mehrere von: Halo, Hydroxy, Nitro oder einer Aminogruppe der Formel NR_hR_j, worin R_h und R_j wie oben definiert sind, h) eine Gruppe der Formel O(CH₂)_mR_g, in der m 2, 3, 4 oder 5 ist, und R_g stellt Hydroxy oder eine Gruppe der Formel NR_dR_c dar, in der R_d und R_c wie oben definiert sind; oder R_g stellt eine Gruppe der Formel COR_a dar, worin R_a wie oben definiert ist und m ist 1, 2, 3, 4 oder 5, i) Nitro, j) wahlweise substituiertes Phenyl C₁-C₆-Alkyl, k) wahlweise substituiertes Phenyl C₁-C₆-Alkoxy, l) Cyano, m) eine C₃-C₆-Alkenyloxygruppe, n) eine Pyridyloxy- oder Pyridylthiogruppe, in der der Pyridinring wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: Trifluormethyl oder Nitro, o) Hydroxyamidino, p) Aminomethyl, q) Formamidomethyl, r) eine C₁-C₆-Alkylthiogruppe, s) Phenyl oder t) eine C₂-C₄-Alkenylgruppe oder eine C₂-C₄-Alkylgruppe, wobei jede wahlweise substituiert ist durch Phenyl, das wahlweise substituiert ist durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁-C₆-Alkylgruppe, eine C₁-C₆-Alkoxygruppe oder Halo.

2. Verbindungen gemäß Anspruch 1, in denen X CH₂ oder S ist.
3. Verbindungen gemäß Anspruch 1, in denen X CH₂ ist und A ist NR₂₅.
4. Verbindungen gemäß Anspruch 1, in denen X S ist und A ist NR₂₅.
5. Verbindungen gemäß Anspruch 1, in denen X CH₂ ist und A ist HNSO₂.
6. Verbindungen gemäß Anspruch 1, in denen X CH₂ ist und A ist SO₂NH.
7. Verbindungen gemäß Anspruch 1, in denen X CH₂ ist und A ist CONH.
8. Verbindungen gemäß Anspruch 1, in denen X CH₂ ist und A ist HNCO.

9. Verbindungen gemäß Anspruch 1, in denen X CH₂ ist, A ist NR₂₅, L₁ ist (CH₂)_q, worin q eine ganze Zahl von 1 bis 6 ist und die Alkylkette ist wahlweise substituiert durch ein oder mehrere der folgenden: eine C₁-C₆-Alkylgruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertes Amino; eine C₁-C₆-Alkoxygruppe wahlweise substituiert durch ein oder mehrere von Hydroxy, Halo oder wahlweise substituiertem Amino; Hydroxy; Halo; oder wahlweise substituiertes Amino; L₂ ist eine Bindung und R₁ ist wahlweise substituiertes Pyridyl.

10. Eine Verbindung gewählt aus:

4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol)-N-(4-pyridyl)benzylamin
 N-[4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)phenyl]benzylsulfonamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-methoxyethyl)benzamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(4-nitrophenyl)benzamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)imidazol-1-ylacetanilid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-[2-(imidazol-1-yl)ethyl]anilin
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinethyl)benzylsulfonamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-methoxyethyl)benzylsulfonamid
 N-[2-(N,N-Diethylamino)ethyl]-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzylamin
 N-[2-(N,N-Diethylamino)ethyl]-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzylsulfonamid
 4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinethyl)benzylamin
 N-(4-Ethoxyphenyl)-4-(1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)benzylamin
 (S)-4-(1,4-Dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(pyrrolidin-2-ylmethyl)benzamid
 4-(1H-[1]Benzothieno[3,2-c]pyrazol-3-yl)-N-[3-(imidazol-1-yl)propyl]benzylamin
 4-(1H-[1]Benzothieno[3,2-c]pyrazol-3-yl)-N-(2-morpholinoethyl)benzylamin
 und pharmazeutisch verträgliche Salze davon einschließlich einzelner Enantiomere und einer Mischung von Enantiomeren.

11. Eine pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine Verbindung der Formel I, wie in Anspruch 1 definiert, in Verbindung mit einem pharmazeutisch verträglichen Verdünnungsmittel oder Träger.

12. Eine Verbindung gemäß Formel I, wie in Anspruch 1 definiert, für die Verwendung als ein Medikament.

13. Eine Verbindung gemäß Formel I, wie in Anspruch 1 definiert, für die Verwendung als ein Medikament

zum Hemmen der Proteinkinaseaktivität.

14. Die Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, wie in Anspruch 1 definiert, in der Herstellung eines Medikaments zum Hemmen der Proteinkinaseaktivität.

15. Die Verwendung gemäß Anspruch 14, worin die Proteinkinase eine Tyrosinkinase ist.

16. Die Verwendung gemäß Anspruch 15, worin die Tyrosinkinase entweder eine Rezeptortyrosinkinase oder eine Nicht-Rezeptortyrosinkinase ist.

17. Die Verwendung gemäß Anspruch 16, worin die Tyrosinkinase gewählt ist aus der Gruppe bestehend aus KDR, flt-1, TIE-2, Lck, Src, fyn und yes.

18. Die Verwendung gemäß Anspruch 14, worin die Aktivität der Tyrosinkinase die Angiogenese beeinflusst.

19. Die Verwendung gemäß Anspruch 18, worin das Hemmen der Tyrosinkinase anti-angiogen ist.

20. Die Verwendung gemäß Anspruch 19, worin das Hemmen der Tyrosinkinase die Progression eines Krankheitsstatus hemmt, gewählt aus der Gruppe bestehend aus Krebs, Arthritis, Atherosklerose, Schuppenflechte (Psoriasis), Hämangiom, myokardiale Angiogenese, koronare und zerebrale kollaterale Vaskularisation, ischämische Gliederangiogenese, korneale Erkrankung, Hautrötung, neovaskuläres Glaukom, Makuladegeneration, Wundheilung, peptischer Ulkus, Helicobacter bezogene Krankheiten, Frakturen, diabetische Retinopathie und Katzenkratzkrankheit.

21. Die Verwendung gemäß Anspruch 15, worin die Aktivität der Tyrosinkinase die vaskuläre Hyperpermeabilität oder die Produktion von Ödemen beeinflusst.

22. Die Verwendung gemäß Anspruch 21, worin das Hemmen der Tyrosinkinase antiödematos ist.

23. Die Verwendung gemäß Anspruch 22, worin das Hemmen der Tyrosinkinase die Progression eines Krankheitsstatus hemmt, gewählt aus der Gruppe bestehend aus Verbrennungen, chronischer Lungenkrankheit, Anfall, Polypen, Schuppenflechte, (Psoriasis), allergischer Entzündung, Makuladegeneration, diabetischer Retinopathie, ovarialem Hyperstimulationssyndrom und Gehirntumor-assoziiertem zerebralen Ödem.

24. Die Verwendung gemäß Anspruch 15, worin das Hemmen der Tyrosinkinase einen anti-Tumor-Effekt hat.

25. Die Verwendung gemäß Anspruch 15, worin das Hemmen der Tyrosinaktivität assoziiert ist mit anti-Fruchtbarkeits- oder Abtreibungsmittelleffekten.

26. Die Verwendung gemäß Anspruch 14, worin die Proteinkinase eine Serinkinase ist.

27. Die Verwendung gemäß Anspruch 14, worin die Proteinkinase eine Threoninkinase ist.

28. Die Verwendung gemäß Anspruch 15, worin die Tyrosinkinase KDR ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen