



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК
C07D 285/08 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
A61K 31/433 (2006.01)
A61K 31/4427 (2006.01)
A61K 31/4523 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2002133222/04, 11.05.2001

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
11.05.2001

(30) Конвенционный приоритет:
11.05.2000 ES 200001185
12.12.2000 GB 0030284.4

(45) Опубликовано: 10.03.2007 Бюл. № 7

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 00/21927 A1, 20.04.2000. WO 95/17182 A, 29.06.1995. EP 0711773 A, 15.05.1996. SU 240566 A, 23.01.1970. E.EGHTESSAD et al. Under die Reaktion von Benzylisothiocyanat mit Glyoxal - di(tret-butylinitron). Archiv der Pharmazie. 1980, vol.313, no.4, p.357-361. DE 2109755 A, 07.09.1972. US 2863803 A, 09.12.1958. US 3900485 A, 19.08.1975. WO 00/38675 A, 06.07.2000. WO 01/09106 A, 08.02.2001.

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу:
11.12.2002

(86) Заявка РСТ:
GB 01/02100 (11.05.2001)

(87) Публикация РСТ:
WO 01/85685 (15.11.2001)

Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной, рег. № 517

(72) Автор(ы):

МАРТИНЕС ХИЛЬ Ана (ES),
КАСТРО МОРЕРА Ана (ES),
ПЕРЕС МАТИН Мария Консепсион (ES),
КАСКОН Мерседес Алонсо (ES),
ДИАС Исабель Дорронсоро (ES),
МОРЕНО МУНЬОС Франсиско Хосе (ES),
ВАНДОСЕЛЛЬ ХУРАДО Франсиско (ES)

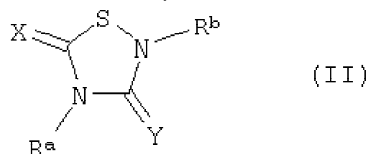
(73) Патентообладатель(и):

КОНСЕХО СУПЕРИОР ИНВЕСТИГАСИОНЕС
СЪЕНТИФИКАС (ES)

(54) ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЕ ИНГИБИТОРЫ ГЛИКОГЕН-СИНТАЗЫ КИНАЗЫ GSK-3

(57) Реферат:

Изобретение относится к применению соединений, представленных общей формулой (II):



где: R^a и R^b независимо выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила,

галогена и алкокси), (Z)_n-арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, галогена и алкокси), -(Z)_n-C(O)OR³, Z независимо выбирают из -C(R³)(R⁴)-, R³ и R⁴ независимо выбирают из водорода, алкила, арила и 6-членного цикла с атомом азота в качестве гетероатома; n имеет значения ноль, один или два; X и Y независимо выбирают из =O, =S, =N(R³); в качестве активного ингредиента для получения фармацевтической композиции, предназначенной для лечения заболеваний, в которые вовлечена гликоген-синтаза киназа 3-бета (GSK-3).

Изобретение относится к соединениям, представленным общей формулой II, где R^a выбирают из CH₂Ph, CH₂CO₂Et, 4-OMePh, 4-MePh, 4-BrPh; R^b выбирают из Me и CH₂CO₂Et, X и Y представляют собой =O. Также изобретение относится к фармацевтической композиции,

обладающей GSK-3 ингибирующей активностью, содержащей в качестве активного ингредиента соединение общей формулы (II). Технический результат - гетероциклические ингибиторы гликоген-синтазы киназы 3β, GSK-3. 3 н. и 14 з.п. ф-лы, 5 табл.

RU 2 2 9 4 9 3 1 C 2

RU 2 2 9 4 9 3 1 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

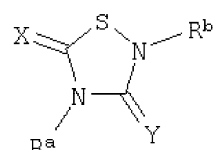
(51) Int. Cl.

C07D 285/08 (2006.01)*C07D 417/12* (2006.01)*A61K 31/433* (2006.01)*A61K 31/4427* (2006.01)*A61K 31/4523* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2002133222/04, 11.05.2001**(24) Effective date for property rights: **11.05.2001**(30) Priority:
11.05.2000 ES 200001185
12.12.2000 GB 0030284.4(45) Date of publication: **10.03.2007 Bull. 7**(85) Commencement of national phase: **11.12.2002**(86) PCT application:
GB 01/02100 (11.05.2001)(87) PCT publication:
WO 01/85685 (15.11.2001)Mail address:
129010, Moskva, ul. B.Spasskaja, 25, str.3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i
Partnery", pat.pov. E.E.Nazinoj, reg. № 517(72) Inventor(s):
MARTINES KhIL' Ana (ES),
KASTRO MORERA Ana (ES),
PERES MARTIN Marija Konsepsion (ES),
KASKON Mercedes Alonso (ES),
DIAS Isabel' Dorronsoro (ES),
MORENO MUN'OS Fransisko Khose (ES),
VANDOSELL' KhURADO Fransisko (ES)(73) Proprietor(s):
KONSEKHO SUPERIOR INVESTIGACIONES
S'ENTIFIKAS (ES)(54) **HETEROCYCLIC INHIBITORS OF GLYCOGEN SYNTHASE-KINASE GSK-3**

(57) Abstract:

FIELD: organic chemistry, biochemistry.

SUBSTANCE: invention relates to using compounds represented by the general formula (II):



(II)

and R^b are chosen independently from hydrogen atom, alkyl, cycloalkyl, aryl (optionally substituted with a group chosen from alkyl, halogen atom and alkoxy-group), $-(Z)_n$ -aryl (optionally substituted with a group chosen from alkyl, halogen atom and alkoxy-group), $-(Z)_nC(O)OR^3$; Z is chosen independently from $-C(R^3)(R^4)-$; R^3 and R^4 are chosen independently from hydrogen atom, alkyl and 6-membered cycle with nitrogen atom as a heteroatom;

n has values 0, 1 or 2; X and Y are chosen independently from =O, =S and =N(R^3). These compounds are active component in preparing a pharmaceutical composition designated in treatment of diseases wherein glycogen synthase-kinase 3-beta (GSK-3) is involved. Also, invention relates to compounds represented by the general formula (II) wherein R^a is chosen from $-CH_2Ph$, $-CH_2CO_2Et$, 4-OMePh, 4-MePh and 4-BrPh; R^b is chosen from Me and $-CH_2CO_2Et$; X and Y represent =O. Also, invention relates to a pharmaceutical composition possessing GSK-3-inhibitory activity and containing compound of the general formula (II) as an active component. Invention provides using heterocyclic inhibitors of glycogen synthase-kinase-3 β .

EFFECT: valuable biochemical and medicinal properties of inhibitors.

17 cl, 5 tbl, 5 ex

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к ингибиторам ферментов и, более конкретно, к гетероциклическим ингибиторам гликоген-синтазы киназы 3β , GSK-3.

Основания изобретения

5 Болезнь Альцгеймера (AD) представляет собой нейродегенеративный процесс, характеризующийся расстройствами сознания, связанными с прогрессирующим ухудшением холинергической функции и neuropathological поражениями, такими как старческие бляшки, образованные фибриллярным β -амилоидом, и нейрофибриллярные сплетения, пучки спаренных спиральных волокон.

10 Вообще говоря, AD ограничена группой старше 60 лет или более и является наиболее распространенной причиной слабоумия у старшей группы населения. Сегодня AD поражено 23 миллиона человек во всем мире. Поскольку долголетие возрастает, существует оценка, что к 2050 году число случаев AD может возрасти более чем втрое [Amaduci, L.; Fratiglioni, L., "Epidemiology of AD: Impact on the treatment", in
15 Alzheimer Disease: Therapeutic Strategies, E.Giacobini and R.Becker, Eds., Birkhäuser, EEUU, 1994, p.8].

В мозгу больных AD наблюдаются два основных гистологических нарушения, связанных с потерей нейронов: нейрофибриллярные сплетения и старческие бляшки на
внутриклеточном и внеклеточном уровнях, соответственно ["Alzheimer Disease: From
20 molecular biology to therapy", E.Giacobini and R.Becker, Eds., Birkhäuser, EEUU, 1996].

Нейрофибриллярные сплетения представляют собой структуры, образованные спаренными спиральными волокнами (PHFs). Они состоят, главным образом, из протеина, ассоциированного с микротрубочками (MAP) тау в аномальном гиперфосфорилированном состоянии [Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K.; Tung, Y.C.; Quinlan, M.; Wisniewski, H.M.;
25 Binder, L.I., "Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau in Alzheimer cytoskeletal pathology", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, 83, 4913-4917; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K.; Quinlan, M.; Tung, Y.C.; Zaidi, M.S.; Wisniewski, H.M., "Microtubule-associated protein tau. A component of the Alzheimer paired helical
30 filaments", J. Biol. Chem., 1986, 261, 6084-6089; Greenberg, S.G.; Davies, P.; Schein, J.D.; Binder, L.L., "Hydrofluoric acid-treated tau PHF proteins display the same biochemical properties as normal tau", J. Biol. Chem., 1992, 267, 564-569].

Такое отклоняющееся от нормы фосфорилирование тау, определяемое действиями различных протеинкиназ и фосфатаз, по-видимому, согласуется с его способностью связывать и стабилизировать микротрубочки, и это может вносить вклад в патологию AD
35 [Moreno, F.J.; Medina, M.; Perez, M.; Montejo de Garcini, E.; Avila, J., "Glycogen sintase kinase 3 phosphorylation of different residues in the presence of different factors: Analysis of tau protein", FEBS Lett., 1995, 372, 65-68]. Таким образом, блокада такой стадии гиперфосфорилирования может быть основной мишенью, в которой можно прервать патогенный каскад. Селективные ингибиторы тау киназ могут оказаться
40 новыми эффективными лекарствами для лечения AD.

Поиск ингибиторов тау киназ является очень интересной областью. Тау может быть фосфорилировано несколькими пролиннаправленными протеинкиназами (PDKs) и не-
PDKs. Однако при AD точная роль каждой из этих киназ в аномальном гиперфосфорилировании тау еще не понята, и на сегодня не найден способ регулирования
45 активности этих киназ. Нет сомнения в том, что гликогенсинтаза киназа (GSK-3 β) является *in vivo* тау-киназой в мозге [Lovestone, S.; Hartley, C.L.; Pearce, J.; Anderton, B.H., "Phosphorylation of tau by glycogen syntase-3 in intact mammalian cells: the effect on the organization and stability of microtubules", Neuroscience, 1996, 73, 1145-1157; Wagner, U.; Utton, M.; Gallo, J.M.; Miller, C.C., "Cellular
50 phosphorylation of tau by GSK-3 β influences tau binding to microtubules and microtubule organisation", J. Cell. Sci., 1996, 109, 1537-1543; Ledesma, M.; Moreno, F.J.; Perez, M.M.; Avila, J., "Binding of apolipoprotein E3 to tau protein: effects on tau glycation, tau phosphorylation and tau-microtubule binding, *in vitro*", Alzheimer

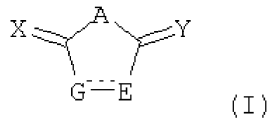
Res., 1996, 2, 85-88]. Эти заключения открыли возможность для использования ингибиторов GSK-3 β в качестве терапевтических агентов при лечении AD. На данный момент известно только несколько соединений с таким свойством ингибирования ферментов. Литий ведет себя как специфичный ингибитор семейства GSK-3 β in vitro и в интактных клетках [Muñoz-Montaño, J.R.; Moreno, F.J.; Avila, J.; Diaz-Nido, J., "Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau protein phosphorylation in neurons", FEBS Lett., 1997, 411, 183-188].

Наконец, обнаружено, что инсулин инактивирует GSK-3 β , и показано, что при активации данного фермента развивается инсулинонезависимый сахарный диабет. Таким образом, ингибиторы GSK-3 β должны стать новым лекарством для инсулинонезависимого сахарного диабета.

Заявители обнаружили новое семейство малых синтетических гетероциклических молекул с GSK-3 β ингибирующими свойствами при микромолярных концентрациях.

Описание изобретения

Изобретение направлено на соединения, представленные общей формулой I:



где:

A представляет -C(R¹)₂-, -O-, или -NR¹-;

E представляет -NR¹- или -CR¹R²-, и заместитель R² отсутствует, если является второй связью между E и G;

G представляет -S-, -NR¹- или -CR¹R²-, и заместитель R² отсутствует, если является второй связью между E и G;

..... может являться второй связью между E и G, если природа E и G допускает это, причем тогда E и G необязательно образуют конденсированную арильную группу;

R¹ и R² независимо выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, галогеноалкила, арила, (Z)_n-арила, гетероарила, -OR³, -C(O)R³, -C(O)OR³, -(Z)_n-C(O)OR³ и -S(O)_t, или, как указано, R² может быть таким, что затем E и G образуют конденсированную арильную группу;

Z независимо выбирают из -C(R³)(R⁴)-, -C(O)-, -O-, -C(=NR³)-, -S(O)_t-, -N(R³)-;

n имеет значения ноль, один или два;

t имеет значения ноль, один или два;

R³ и R⁴ независимо выбирают из водорода, алкила, арила и гетероцикла; и

X и Y независимо выбирают из =O, =S, =N(R³) и =C(R¹)(R²).

Подробное описание изобретения

Следующие термины, которые использованы в данном описании и прилагаемой формуле изобретения, имеют, если не указано иное, указанные значения:

"Алкил" относится к углеводородным радикалам с прямой или разветвленной цепью, состоящим из атомов углерода и водорода, не содержащим ненасыщенности, имеющим от одного до восьми атомов углерода, которые присоединены к остальной молекуле одинарной связью, например, к метилу, этилу, н-пропилу, изопропилу, н-бутилу, трет-бутилу, н-пентилу, и т.д. Алкильные радикалы могут быть, необязательно, замещены одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидрокси, алкокси, карбокси, циано, карбонила, ацила, алкоксикарбонила, амина, нитро, меркапто и алкилтио.

"Алкокси" относится к радикалу формулы -OR_a, где R_a представляет алкильный радикал, как он определен выше, например к метокси, этокси, пропокси и т.д.

"Алкоксикарбонил" относится к радикалу формулы -C(O)OR_a, где R_a представляет алкильный радикал, как он определен выше, например к метоксикарбонилу, этоксикарбонилу, пропоксикарбонилу и т.д.

"Алкилтио" относится к радикалу формулы $-SR_a$, где R_a представляет алкильный радикал, как он определен выше, например к метилтио, этилтио, пропилтио и т.д.

"Амино" относится к радикалу формулы $-NH_2$.

"Арил" относится к фенильному или нафтильному радикалу, предпочтительно к фенильному радикалу. Арильный радикал может быть, необязательно, замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из гидроксигруппы, меркапто-, галогено-, алкил-, фенил-, алкокси-, галогеноалкил-, нитро-, циано-, диалкиламино-, аминоалкил-, ацил- и алкоксикарбонил-, как они определены здесь.

"Аралкил" относится к арильной группе, присоединенной к алкильной группе.

Предпочтительные примеры включают бензил и фенетил.

"Ацил" относится к радикалу формул $-C(O)-R_c$ и $-C(O)-R_d$, где R_c представляет алкильный радикал, как он определен выше, а R_d представляет арильный радикал, как он определен выше, например к ацетилу, пропионилу, бензоилу и т.п.

"Ароилалкил" относится к алкильной группе, замещенной $-C(O)-R_d$. Предпочтительные примеры включают бензоилметил.

"Карбокси" относится к радикалу формулы $-C(O)OH$.

"Циано" относится к радикалу формулы $-CN$.

"Циклоалкил" относится к стабильному 3-10-членному моноциклическому или бициклическому радикалу, который является насыщенным или частично насыщенным и который состоит только из атомов углерода и водорода. Если иное не указано особо в описании, подразумевается, что термин "циклоалкил", включает циклоалкильные радикалы, которые, необязательно, замещены одним или несколькими заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из алкил-, галогено-, гидроксигруппы, амина-, циано-, нитро-, алкокси-, карбокси- и алкоксикарбонил-.

"Конденсированный арил" относится к арильной группе, в особенности, к фенильной или герероарильной группе, конденсированной с пятичленным кольцом.

"Галогено" относится к бром-, хлор-, йодо- или фтор-.

"Галогеноалкил" относится к алкильному радикалу, как он определен выше, который замещен одним или несколькими группами галогена, как они определены выше, например к трифторметилу, трихлорметилу, 2,2,2-трифторэтил-, 1-фторметил-2-фторэтил- и т.п.

"Гетероцикл" относится к гетероциклическому радикалу. Гетероцикл относится к стабильному 3-15-членному кольцу, которое состоит из атомов углерода и из 1-5 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода и серы, предпочтительно, к 4-8-членному кольцу с одним или несколькими гетероатомами, более предпочтительно, к 5-6-членному кольцу с одним или несколькими гетероатомами. Для целей данного изобретения гетероцикл может быть моноциклической, бициклической или трициклической кольцевой системой, которая может включать конденсированные кольцевые системы; атом азота, углерода или серы в гетероциклическом радикале может быть, необязательно, окисленным, атом азота может быть, необязательно, кватернизированным; гетероциклический радикал может быть частично или полностью насыщенным или ароматическим. Примеры таких гетероциклов включают, но не ограничиваются этим, азепины, бензимидазол, бензотиазол, фуран, изотиазол, имидазол, индол, пиперидин, пиперазин, пурин, хинолоин, тиадиазол, тетрагидрофуран. Гетероцикл может быть, необязательно, замещен R^3 или R^4 , как они определены выше в кратком описании изобретения.

"Гетероарил" относится к ароматическому гетероциклу.

"Меркапто" относится к радикалу формулы $-SH$.

"Нитро" относится к радикалу формулы $-NO_2$.

Изобретение, в частности, направлено на ферментативную активность соединений общей формулы I в отношении киназ.

А предпочтительно выбирают из $-C(R^1)_2$ - и $-NR^1$ -.

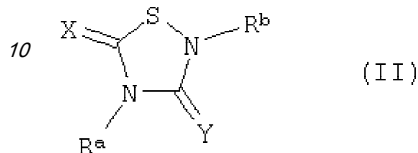
Предпочтительно R^1 выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, галогена и

алкокси), $-C(R^3)(R^4)$ -арила (причем арильная часть необязательно замещена группой, выбранной из алкила, галогена и алкокси), $-OR^3$, $-C(O)OR^3$ и $-C(R^3)(R^4)-C(O)OR^3$, и R^3 и R^4 независимо выбирают из водорода и алкила.

Число групп n предпочтительно равно нулю или единице, и n может быть выбрано в соответствии с известной химией возможных группировок.

X и Y предпочтительно представляют кислород или серу, по меньшей мере один из X и Y представляет кислород.

Особо предпочтительным классом соединений являются соединения формулы (II):



15 где R^a и R^b независимо выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, галогеноалкила, арила, $(Z)_n$ -арила, гетероарила, $-OR^3$, $-C(O)R^3$, $-C(O)OR^3$, $-(Z)_n-C(O)OR^3$, и $-S(O)_t$, и Z , n , t , R^3 , R^4 , X и Y таковы, как они определены выше.

20 В формуле (II) X и Y предпочтительно выбирают из кислорода, серы и $-NR^3$ -, где R^3 представляет гетероцикл, в частности, 6-членный гетероцикл, имеющий один гетероатом, который представляет собой азот, являющийся, необязательно, ароматическим и, необязательно, окисленным или квартернизированным. Более предпочтительно X и Y представляют собой кислород.

25 Предпочтительно R^a и R^b независимо выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, галогена и алкокси), $-C(R^3)(R^4)$ -арила (причем арильная часть необязательно замещена группой, выбранной из алкила, галогена и алкокси), $-OR^3$, $-C(O)OR^3$ и $-C(R^3)(R^4)-C(O)OR^3$, и R^3 и R^4 независимо выбирают из водорода, алкила и гетероциклов.

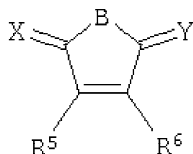
30 Более предпочтительно R^a и R^b независимо выбирают из алкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, галогена и алкокси), $-CH_2$ -арила (причем арильная часть необязательно замещена группой, выбранной из алкила, галогена и алкокси) и $-CH_2-C(O)OR^3$, и R^3 представляет водород или алкил.

Еще более предпочтительно R^a и R^b независимо выбирают из метила, этила, пропила, бензила, фенила (необязательно замещенного группой, выбранной из метила, фторо, хлоро, бромо и метокси) и $-CH_2-C(O)-O$ -этила.

35 Наиболее предпочтительные соединения формулы (II) перечислены ниже в таблице 1.

Таблица 1			
R^a	R^b	X	Y
CH_2Ph	Me	O	O
Et	Me	O	O
Ph	Me	O	O
CH_2CO_2Et	Me	O	O
4-OMePh	Me	O	O
4-MePh	Me	O	O
4-BrPh	Me	O	O
4-FPh	Me	O	O
4-ClPh	Me	O	O
CH_2Ph	CH_2Ph	O	S
Ph	Ph	O	S

Другим предпочтительным классом соединений по изобретению являются соединения формулы (III):



(III)

5

в которой:

В представляет $-NR^7-$ или $C(R^7)(R^8)-$ (где R^7 и R^8 независимо выбирают из водорода, алкила, арила, $-CH_2-W$ -арила и $-W-CO_2H$, и W представляет простую связь, CH_2 или CO); R^5 и R^6 независимо выбирают из водорода, алкила, арила и $-CH_2$ -арила; и

10

X и Y независимо выбирают из =O и =S.

В формуле (III) В предпочтительно представляет $-NR^7-$, где R^7 выбирают из водорода, алкила и $-CH_2$ -арила, в особенности из водорода, метила или бензила.

R^5 и R^6 предпочтительно представляют водород.

X и Y предпочтительно представляют кислород.

15

Наиболее предпочтительные соединения формулы (III) перечислены ниже в таблице 2.

В	X	Y	R^5	R^6
NH	O	O	H	H
N-CH ₂ Ph	O	O	H	H
NMe	O	O	H	H
CH ₂	O	O	H	H

20

Примеры дополнительных классов соединений формулы I включают те соединения, в которых:

25

a) A представляет $-CH_2-$; E представляет $-CR^1R^2-$, предпочтительно $-CH_2-$; G представляет $-CR^1R^2-$, предпочтительно $-CH_2-$;

b) A представляет $-CH_2-$; E представляет $-CR^1-$, предпочтительно $-CH-$; G представляет $-CR^1-$, предпочтительно $-CH-$; и $---$ представляет вторую связь между G и E;

30

c) A представляет $-O-$; E представляет $-CR^1-$, предпочтительно $-CH-$; G представляет $-CR^1-$, предпочтительно $-CH-$; и $--$ представляет вторую связь между G и E;

d) A представляет $-NR^1-$, где R^1 , предпочтительно, представляет водород, алкил или аралкил; E представляет $-CR^1-$, предпочтительно $-CH-$; G представляет $-CR^1-$, предпочтительно $-CH-$; и $---$ представляет вторую связь между G и E;

35

e) A представляет $-NR^1-$, где R^1 , предпочтительно, представляет водород или аралкил; E представляет $-CR^1R^2-$, предпочтительно $-CH_2-$; G представляет $-CR^1R^2-$, предпочтительно $-CH_2-$;

40

f) A представляет $-NR^1-$, где R^1 , предпочтительно, представляет водород или аралкил; E представляет $-CR^1-$; G представляет $-CR^1-$; $---$ представляет вторую связь между E и G, и E вместе с G образуют конденсированную арильную группу, предпочтительно, фенильную группу;

g) A представляет $-NR^1-$, где R^1 , предпочтительно, представляет водород, алкил, карбоксиалкил, ароилалкил или аралкил; E представляет $-S-$; G представляет $C(R^1)_2-$, предпочтительно, $-CH_2-$;

45

h) A представляет $-NR^1-$, где R^1 , предпочтительно, представляет арил; E представляет $-NR^1-$, где R^1 , предпочтительно, представляет водород или алкил; G представляет $-NR^1-$, где R^1 , предпочтительно, представляет водород или алкил.

50

В данных классах соединений X и Y, предпочтительно, оба представляют O, хотя для класса g) X может представлять O, а Y может быть S. Когда E вместе с G образуют конденсированную фенильную группу, получающиеся соединения являются производными фталимида.

Синтез соединений по изобретению

Соединения по изобретению могут быть синтезированы по доступным методикам.

Для предпочтительных соединений формулы (II) общая методика описана в [Martinez, A.; Castro, A.; Cardelus, I.; Llenas, J.; Palacios, J.M., Bioorg. Med. Chem., 1997, 5, 1275-1283].

Конкретно, соединения общей формулы (II), собранные в таблице 1, готовили, следуя процедуре синтеза, представленной на схеме 1, и используя способность N-алкил-S-[N'-хлоркарбамоил)амино]изотиокарбамоилхлоридов реагировать с различными алкилизоцианатами. Хлорирование изотиоцианатов осуществляли добавлением эквимольного количества хлора к гексановому раствору упомянутого изотиоцианата при -15°C. Реакция образовавшегося иминохлоралкилсульфенилхлорида с алкил- или арилизоцианатом в атмосфере инертного газа и последующий гидролиз дают тиадиазалидиндионы, описанные в таблице 1.

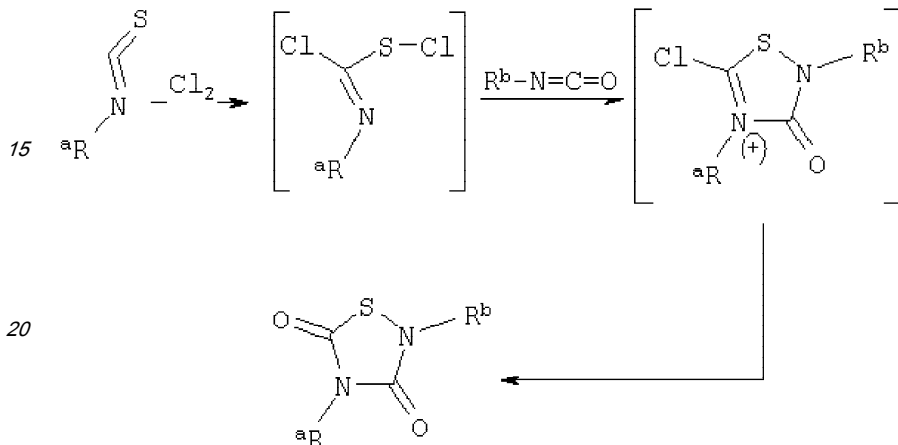


Схема 1

Типичные соединения по настоящему изобретению селективно ингибируют GSK-3 β , не ингибируя другие протеинкиназы, такие как PKA, PKC, CK-2 и Cdk2, что позволяет избежать широко распространенные побочные эффекты. GSK-3 β участвует в этиопатогенезе AD и является ответственной за аномальное гиперфосфорилирование тау протеина. Раскрытые здесь селективные ингибиторы могут быть полезными терапевтическими агентами при лечении нейродегенеративных заболеваний, связанных с патологией тау протеина, в особенности при AD, что составляет часть данного изобретения. Ингибирующее действие этих соединений против GSK-3 β ведет к разработке лекарств, способных остановить образование нейрофибриллярных сплетений, один из характерных признаков, присутствующих в данном нейродегенеративном процессе.

Данные соединения могут быть полезными при лечении других патологий, в которые вовлечена GSK-3 β , таких как инсулиннезависимый сахарный диабет.

Дополнительно, данные соединения могут быть использованы при лечении гиперпролиферативных заболеваний, таких как дисплазии и метаплазии различных тканей, псориаз, атеросклероз, рестеноз и рак, благодаря ингибированию клеточного цикла, которое составляет часть данного изобретения.

Соответственно, настоящее изобретение далее предлагает фармацевтические композиции, включающие соединения по данному изобретению вместе с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем. Подходящие дозировочные формы и мощности доз могут быть разработаны и подобраны в соответствии с обычной практикой.

Примеры

Пример 1. Ингибирование ферментов соединениями по изобретению

Ингибирование GSK-3 β : Активность GSK-3 β определяли, инкубируя смесь фермента GSK-3 β (Sigma), источника фосфата и субстрата GSK-3 β в присутствии и в отсутствие соответствующего испытуемого соединения и определяя GSK-3 β активность такой смеси.

Конкретно, активность GSK-3 β определяли инкубацией фермента при 37°C в течение 20 минут в конечном объеме 12 мкл буфера (50 mM трис, pH = 7,5, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM DTT, 10 mM MgCl₂), дополненного 15 мкМ (конечная концентрация) синтетического

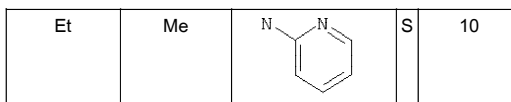
пептида GS 1 [Woodget, J.R. "Use of peptides for affinity purification of protein-serine kinases", Anal. Biochem., 1989, 180, 237-241] в качестве субстрата, 15 мкМ АТФ, 0,2 мкCi [γ - 32 P]АТФ и различными концентрациями испытуемого соединения. Реакцию гасили введением аликвоты реакционной смеси на фосфоцеллюлозные р81 листы. Эти листы трижды промывают 1% фосфорной кислотой и определяют радиоактивность, связанную с GS1 пептидом в жидкостном сцинтилляционном счетчике.

Соединения, показанные в таблице 1, являются представленными соединениями по изобретению, обладающими GSK-3 ингибирующей активностью. Данные ИК₅₀ (концентрация при которой достигают 50% подавления фермента) сведены в таблице 3 ниже.

Таблица 3

(II)

R ^a	R ^b	X	Y	ИК ₅₀ (мкМ)
CH ₂ Ph	Me	O	O	1
Et	Me	O	O	5
Et	NPr	O	O	10
Et	циклогексил	O	O	10
Ph	Me	O	O	2
CH ₂ CO ₂ Et	Me	O	O	5
4-OMePh	Me	O	O	5
CH ₂ Ph	Et	O	O	7
Et	iPr	O	O	35
CH ₂ Ph	Et	O	S	6
CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	O	S	10
Ph	Ph	O	S	20
Et	Et	O	S	20
Циклогексил	Me	O	O	>100
4-MePh	Me	O	O	5
4-BrPh	Me	O	O	3
4-FPh	Me	O	O	4
4-ClPh	Me	O	O	4
Et	Me		O	>100
Et	Et		O	>100
Et	H		O	>100
Me	Me		O	>100
Et	Me		O	>100
Et	Me		O	>100
Et	Me		O	>100



Ингибирование GSK-3: Эксперименты по ингибированию были проведены также при различных концентрациях АТФ (до 50 мкМ), и во всех случаях были получены такие же значения ИК₅₀. Следовательно, можно предполагать, что триадиазолиндионы не конкурируют с АТФ в связывании с GSK-3.

Первые четыре соединения были испытаны на ингибирование других ферментов.

Ингибирование протеинкиназы А (РКА): Потенциальное ингибирование данного фермента оценивали путем определения фосфорилирования эстатмина протеинкиназой А (РКА). Эстатмин очищали, следуя методике, описанной Belmont and Mitchinson (Belmont, L.D.; Mitchinson, T.J., "Identification of a protein that interact with tubulin dimers and increase the catastrophe rate of microtubule", Cell, 1996, 84, 623-631).

Конкретно, использовали очищенную РКА (Sigma, каталитическая субъединица из бычьего сердца (р. 2645)) и 10-15 мкг субстрата (эстатмин) в 25 мкл общего объема буферного раствора, содержащего 20 мкМ (γ -³²р) АТФ. Протеин сАМР киназы (100 нг/реакцию) готовили в 50 мкл 25 мМ НЕРЕС, рН 7,4, 20 мМ MgCl₂, 2 мМ EGTA, 2 мМ дитиотреитола, 0,5 мМ Na₃VO₄. После того как происходила реакция, добавляли гасящий буфер, реакционную смесь кипятили при 100°C в течение 5 минут, и фосфорилированный протеин характеризовали гель-электрофорезом, определяли количественно автордиографией.

В этих условиях ни одно из испытанных соединений не проявило какого-либо ингибирования РКА.

Ингибирование протеинкиназы С (РКС): Потенциальное ингибирование данного фермента оценивали путем определения фосфорилирования пептида PANKTPPKSPGEPAK (Woodgett, J.R., "Use of peptides for affinity purification of protein-serine kinases", Anal. Biochem., 1989, 180, 237-241) протеинкиназой С (РКС), используя фосфатидилсерин в качестве стимулирующего агента. Использованная методика была такой же, как описанная выше для GSK-3.

Конкретно, использовали очищенную РКС из мозга крыс, следуя методике, описанной Walsh (Walsh, M.P.; Valentine, K.A.; Nagi, P.K.; Corruthers, C.A.; Hollenberg, M.D., Biochem. J., 1984, 224, 117-127) и 1-10 мМ субстрата в общем объеме 25 мкл адекватного буферного раствора, содержащего 10 мкМ (γ -³²р) АТФ.

В этих условиях ни одно из испытанных соединений не проявило какого-либо ингибирования РКС.

Ингибирование казеинкиназы 2 (СК-2): Фосфорилирующую активность данного фермента против эстатмина измеряли, используя очищенную СК-2 из бычьего мозга, следуя методике, описанной Alcazar (Alcazar, A.; Marin, E.; Lopez-Fando, J.; Salina, M., "An improved purification procedure and properties of casein kinase II from brain", Neurochem. Res., 1988, 13, 829-836), с 3,6 мкМ субстрата в общем объеме 25 мкл адекватного буферного раствора, содержащего 20 мкМ (γ -³²р) АТФ. Опыты с СК-2 проводили, используя в качестве субстрата эстатмин (см. определение РКА) в 50 мкл НЕРЕС, рН 7,4, 20 мМ MgCl₂, 2 мМ EGTA, 2 мМ дитиотреитола, 0,5 мМ Na₃VO₄. После того как происходила реакция, следовали той же методике, описанной для РКА.

В этих условиях ни одно из испытанных соединений не проявило какого-либо ингибирования СК-2.

Ингибирование циклинзависимой протеинкиназы 2 (Cdc2): Фосфорилирующую активность данного фермента против гистона Н1 измеряли, используя Cdc2 (Calbiochem), следуя методике, описанной Kobayashi (Kobayashi, H.; Stewart, E.; Poon, R.Y.; Hunt, T., "Cyclin A and cyclin B dissociate from p34cdc2 with half-times of 4 and 15 h, respectively, regardless of the phase of cell cycle", J. Biol. Chem., 1994, 269, 29153-29160), с 1 мкг/мкл субстрата в общем объеме 25 мкл адекватного буферного

раствора, содержащего 20 мкМ (γ -³²P) АТФ. Опыты с Cdc2 проводили с гистонем Н1 в качестве субстрата (см. определение РКА) в 50 мкл буфера рН 7,5, 50 мМ трис-НСl, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ DTT, 1 мМ EGTA, 100 мкМ АТФ, 0,01% BRIJ-35. После того как происходила реакция, следовали той же методике, описанной для РКА.

5 В этих условиях ни одно из испытанных соединений не проявило какого-либо ингибирования Cdc2.

Пример 2. Анализ роста аксонов после обработки лекарственным соединением

Клетки выдерживали в среде Дульбеко (DEMEM) с 10% фетальной бычьей сыворотки, глутамином (2 мМ) и антибиотиками. Для анализа потенциального ингибирования GSK-3 in vivo использовали культуры нейробластомы мыши N₂A (Garcia-Perez, J.; Avila, J.; Diaz-Nido, J., "Lithium induces morphological differentiation of mouse neuroblastoma", J. Neurol. Res., 1999, 57, 261-270). К этим культурам клеток добавляли испытуемые соединения. Данная клеточная линия имеет особенность экспрессировать определенный вид нейронного фенотипа (удлиненные нейриты) после добавления хлорида лития (10 мМ), известного ингибитора GSK-3. После 2-3 суток культивирования проверяли влияние испытуемых соединений, перечисленных в таблице 1. Были обнаружены удлиненные нейриты в такой же степени, как и при добавлении лития. Данный факт подтверждает ингибирование GSK-3 in vivo соединениями по изобретению.

Пример 3. Блокада клеточного цикла



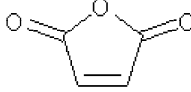
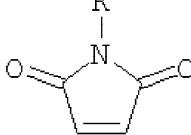
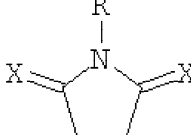
20 Параллельно исследовали потенциальное взаимодействие данных соединений с клеточным циклом на клетках N₂A. Культуру клеток выдерживали в среде Дульбеко (DEMEM) с 10% фетальной бычьей сыворотки, глутамином (2 мМ) и антибиотиками.

Первые четыре соединения общей формулы I, приведенные в таблице 3, были испытаны в описанных условиях и показали способность ингибировать клеточный цикл при концентрации в интервале от 100 нМ до 1 мкМ. Клеточная блокада начинала проявляться при концентрации между 100 и 200 нМ и была полностью эффективной при 1 мкМ.

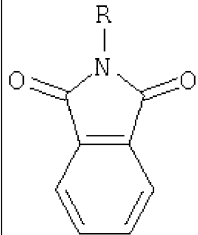
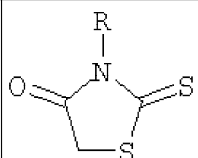
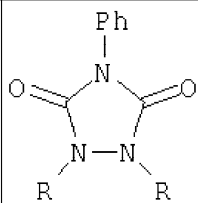
Испытанные соединения нетоксичны в стационарной культуре фибробластов MRC-5 после 10 суток непрерывного воздействия ингибиторов.

Пример 4. Ингибирование GSK-3 дополнительными соединениями

30 Данные по ингибированию GSK-3

Таблица 4			
Семейство			ИК ₅₀ (мкМ)
a			>100
b			12
c			
d		R-H R=CH ₂ Ph R=Me	6 1 5
e		R=H; X, Y=O R=CH ₂ Ph; X, Y=O R=CH ₂ Ph; X=O; Y=H	>100 >100 >100

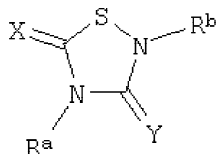
5
10
15

f		R=H R=CH ₂ Ph	>100 >100
g		R=H R=Me R=CH ₂ CO ₂ H R=CH ₂ Ph P=CH ₂ CH ₂ Ph R=CH ₂ COPh	>100 >100 >100 25 35 50
h		R=H R=Me	>100 >100

20 Ингибиторы GSK-3: Для соединений, принадлежащих к семейству D, были проведены также эксперименты по ингибированию GSK-3 при различных концентрациях АТФ (до 50 мкМ), и во всех случаях были получены такие же значения ИК₅₀. Следовательно, можно предполагать, что эти соединения не конкурируют с АТФ за связывание с GSK-3.

Пример 5. Блокада клеточного цикла

25 ИК₅₀ для некоторых соединений, определенные на культурах клеток N₂A, собраны в таблице 5 ниже.



(II)

30
35
40

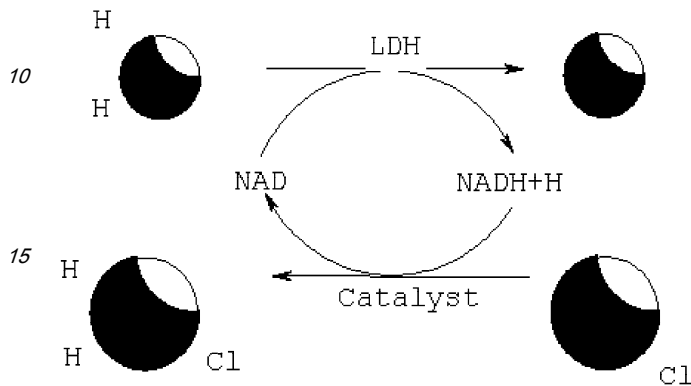
R ^a	R ^b	X	Y	ИК ₅₀ (мкМ)
CH ₂ Ph	Me	O	O	4-8
Et	Me	O	O	40-100
Et	nPr	O	O	5-10
Et	циклогексил	O	O	6-9
Ph	Me	O	O	4-7
CH ₂ CO ₂ Et	Me	O	O	1-2
4-OMePh	Me	O	O	1-2
CH ₂ Ph	Et	O	O	4-7
CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	O	O	2-3
Et	Et	O	O	30-80
CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	O	S	1-2
Ph	Ph	O	S	4-8

45 "ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ЛДГ (LDH)"

Целью эксперимента было определение наличия цитотоксических эффектов в клетках человеческой нейробластомы SH-SY5Y экстракта из морских водорослей или синтетических соединений формулы (II), в частности, путем количественной оценки активности лактатдегидрогеназы ЛДГ (LDH).

50 Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) является стабильным цитоплазматическим ферментом, присутствующим во всех клетках. При разрушении клеточной мембраны он быстро высвобождается в супернатант культуральной среды. Активность ЛДГ определяют ферментативным тестом: на первом этапе NAD* восстанавливается до NADH/H⁴⁺ путем

ЛДГ катализируемой конверсии лактата в пируват. На втором этапе катализатор (диафораза) переносит H/H^+ от $NADH/H^+$ на тетразолиевую соль INT, которая восстанавливается до формазана. Таким образом, количество образующегося красителя в ходе эксперимента пропорционально числу лизированных клеток. Соль формазана является водорастворимой и имеет широкую полосу абсорбции с максимумом примерно около 500 нм, тогда как тетразолиевая соль INT не демонстрирует существенной абсорбции при данной длине волны.



Реагенты:

минимальная эссенциальная среда Игла (MEM), ref: 31095-029 (Gibco)

питательная смесь HAM'S F12, ref: 21765-029 (Gibco)

несущественные аминокислоты, ref: 11140-035 (Gibco)

Пенициллин-стрептомицин, ref: 15140-122 (Gibco)

L-глутамин, ref: 2S030-024 (Gibco)

фетальная телячья сыворотка (FBS), ref: DE14-801F (INNOGENETICS Bio/Whittaker Europe)

Тритон X-100, ref:1086031000 (WWR International)

Набор для определения цитотоксичности, ref: 1644793 (Roche)

Капельный мультидиспенсер 384 (Thermo Lab Systems)

Цифровой сканирующий планшет-ридер ELISA (ASYS HITECH GmbH)

Исходные растворы:

- Раствор синтетических соединений сохраняют при 4°C или -20°C.

- Набор реагентов Kit 1 (смесь диафораза/ NAD^*) хранится при -20°C. После

восстановления до 1 мл дистиллированной водой хранится при 4°C и сохраняет стабильность в течение нескольких недель.

- Набор реагентов Kit 2 (иодотетразолий хлорид, INT, и лактат натрия) хранят при -20°C.

После размораживания хранится при 4°C и сохраняет стабильность в течение нескольких недель.

- Культуральная среда (Hams F12):MEM (1:1), 10% FBS, несущественные аминокислоты Ix, L-глутамин Ix и Пенициллин-стрептомицин Ix) хранят при 4°C.

- Тритон X-100 1% в Krebs-Hepes хранят при комнатной температуре.

МЕТОДИКА:

За два или три дня до начала эксперимента, клетки человеческой нейробластомы SH-

SY5Y засевают в 96-луночный микропланшет для культивирования по 10^4 клеток/лунку.

Среду удаляют и клетки инкубируют с различными испытуемыми образцами соединений при различных концентрациях в течение 24 ч. Синтезированные соединения испытывают при конечной концентрации 10^{-5} , 10^{-6} и 5×10^{-8} М, в зависимости от активности, в свежей культуральной среде.

После 24 часов среду удаляют и лизируют клетки, прикрепившиеся ко дну лунки добавлением 50 мкл Krebs-Hepes, Тритон X-100 1%, в течение 5 минут при комнатной температуре. Для количественной оценки активности лактатдегидрогеназы ЛДГ (LDH) лизат инкубируют в течение 30 минут с 50 мкл реакционной смеси (1:45) набора для

определения цитотоксичности, при 15-25°C в защищенном от света месте. ЛДГ (LDH) измеряют по абсорбции 492 нм при стандартной длине волны 620 нм (стандартные длины волн должны превышать 600 нм).

Результаты цитотоксичности, полученные для ряда соединений формулы (II), показали их высокую эффективность.

СВЕДЕНИЯ, КАСАЮЩИЕСЯ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ:

БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА:

Одним из признаков данного заболевания является конкретный тип дегенерации нейронов, в котором тау белок, ассоциированный с микротрубочками аномально гиперфосфорилируется, вызывая разрыв сети микротрубочек.

Широко известным является тот факт, что GSK-3 бета является одним из ферментов непосредственно вовлеченных в аномальное гиперфосфорилирование тау. Смотри, например, следующие материалы:

- "Tau is phosphorylated by GSK-3 at several sites found in Alzheimer disease and its biological activity markedly inhibited only after it is prephosphorylated by A-kinase" Febs Lett. 1998, 436, 28-34.

См. реферат.

- "Inhibition of tau phosphorylation: a new therapeutic strategy for the treatment of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders".

Exp. Opin. Ther. Patents.

2000 10(10).

См. стр.2, правая колонка.

- "Inhibition of cyclin-dependent kinases, GSK-3 β and CK1 by hymenialdisine, a marine sponge constituent".

Chem. Biol. 2000751-63.

См. "Введение".

- "Decreased nuclear B-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3 β conditional transgenic mice".

EMBO 2001 20(1-2)27-39.

См. реферат.

- "Alzheimer's disease - like phosphorylation of the microtubule-associated protein tau by glycogen synthase kinase-3 in transfected mammalian cells".

Curr. Biol. 19944(12) 1077-1086.

См. "Обоснование".

- "Expression, purification and crystallization of human tail-protein kinase I/glycogen synthase kinase-3 beta".

Acta Crystallogr D 2000 56 1464-1465.

См. "Введение".

40 ДИАБЕТ

При диабете наблюдаются повышенные уровни GSK-3 бета, и таким образом утверждается, что использование ингибиторов GSK-3 является разумным подходом к лечению диабета. Так, например, в "Potential Role of Glycogen Synthase Kinase-3 in Skeletal Muscle Insulin Resistance of Type 2 Diabetes", Diabetes 2000 49 263-271,

указывается, что диабет ассоциирован с повышенной активностью GSK-3 (см. реферат и стр.795, последний параграф - 796, начало левого столбца). Действительно, при описании полезности ингибиторов GSK-3 утверждается, что "такие соединения могут применяться при заболеваниях, связанных с повышенной активностью GSK-3, таких как диабет и неродегенеративные заболевания" (стр.798, правый столбец, второй параграф "Обсуждение").

Согласно "Purification of GSK-3 by Affinity Chromatography on Immobilized Axin", Protein Expr. Purif. 2000 20(3) 394-404, GSK-3 непосредственно вовлечена в механизм таких заболеваний, как диабет. На стр.402, левый столбец, указано что "вовлечение GSK-

3 в механизмы различных заболеваний, таких как рак, болезнь Альцгеймера, ВИЧ индуцированная нейротоксичность или диабет свидетельствует о настоятельной необходимости активного поиска и отбора ингибиторов GSK-3". В "Selective small molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 modulate glycogen metabolism and gene transcription", Chem. Biol. 2000 7(10) 793-803, указано, что разработка ингибиторов GSK-3 "может быть полезна при использовании в терапии состояний, связанных с повышенной активностью GSK-3, таких как инсулиннезависимый диабет" (см. стр.793, "Выводы"; стр.794, последние строки; стр.798, второй параграф "обсуждения"; стр. 800, последние строки).

ГИПЕРПРОФИЛЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: РАК, ДИСПЛАЗИИ И МЕТАПЛАЗИИ ТКАНЕЙ, ПСОРИАЗ, АРТЕРИОСКЛЕРОЗ, РЕСТЕНОЗ:

Известно, что GSK-3 вовлечена в механизм множества физиологических процессов, включая регуляцию клеточного цикла; так, известно, что GSK-3 вовлечена в общий механизм гиперпролиферативных заболеваний, хотя наиболее изученным, наиболее распространенным и тяжелым является рак. Тем не менее, взаимосвязь между гиперпролиферацией и GSK-3 до сих пор до конца не ясна.

Так, например в "Indirubins Inhibit Glycogen Synthase Kinase-3 beta and CDK5/P25, Two Protein Kinases Involved in Abnormal Tau Phosphorylation in Alzheimer's Disease", J. Biol. Chem. 2001 276(1) 251-260, постулируется взаимосвязь между ингибиторами GSK-3 и противоопухолевыми свойствами, хотя механизм и их роль до конца не ясна. Индирубин известен своими противоопухолевыми свойствами, и является сильным ингибитором GSK-3 (см. стр.251, левая колонка). Такая же корреляция наблюдается в отношении других противоопухолевых соединений (см. стр.257, правая колонка). Это может быть связано с тем, что GSK-3 "вовлечена в механизм множества физиологических процессов, включая регуляцию клеточного цикла" (см. стр.252, левая колонка). В "Purification of GSK-3 by Affinity Chromatography on Immobilized Axin", Protein Expr. Purif. 2000 20(3) 394-404, подтверждается, что GSK-3 вовлечена в механизм рака (см. Реферат); действительно, указывается, что "вовлечение GSK-3 в механизм различных заболеваний, таких как рак, [...] свидетельствует о настоятельной необходимости активного поиска и отбора ингибиторов GSK-3" (стр.402, левая колонка).

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

Настоящее изобретение касается также фармкомпозиций, включающих соединение по данному изобретению, вместе с фармацевтически приемлемым носителем, наполнителем или разбавителем для введения пациенту.

Примеры фармкомпозиций включают любые твердые (таблетки, пилюли, капсулы, гранулы и проч.) или жидкие формы (растворы, суспензии или эмульсии) составы для перорального, местного или парентерального введения.

Предпочтительна форма для орального введения. Подходящими формами для орального применения являются таблетки и капсулы, содержащие обычные носители, такие как связывающие агенты, например сироп, камедь акации, желатин, сорбит, трагакант или поливинилпирролидон; наполнители, например лактоза, сахар, кукурузный крахмал, фосфат кальция, сорбит или глицин; смазывающие агенты для таблетирования, например стеарат магния; дезинтегрирующие средства, например крахмал, поливинилпирролидон, крахмал натрийгликолят или микрокристаллическая целлюлоза; или фармацевтически приемлемые смачивающие агенты, такие как натрий лаурилсульфат.

Твердые формы для орального введения могут быть получены обычными способами смешения, заполнения или таблетирования. Процедуры повторного смешения могут быть использованы для распределения активного ингредиента по всему объему композиции при использовании больших количеств наполнителей. Методики являются обычными в данной области. Так, например таблетки могут быть получены влажным или сухим гранулированием и необязательно покрыты, в частности, энтеросолюбильным покрытием.

Фармкомпозиции могут предназначаться для парентерального введения, например, в виде стерильных растворов, суспензий или лиофилизированных продуктов в виде

соответствующей стандартной дозы. Могут использоваться подходящие наполнители, буферизирующие агенты или ПАВ.

Введение соединений и составов по изобретению может осуществляться любым приемлемым для данной формы способом, таким как внутривенное вливание, оральное, интраперитонеальное и внутривенное введение. Оральное введение наиболее предпочтительно, поскольку наиболее удобно для пациента ввиду хронического характера заболеваний, при которых показано их введение.

Обычно, эффективное количество вводимого соединения зависит от его относительной эффективности, тяжести и характера заболевания, которое лечат, а также от веса пациента. Однако обычно соединения вводят однократно или до 4 раз в день в стандартной дозе от 0.1 до 1000 мг/кг/день.

Соединения и составы по изобретению могут использоваться с другими лекарствами в комплексной терапии. Другое лекарство может быть введено в ту же или иную композицию, или вводиться отдельно, как одновременно, так и в разное время.

Общая схема синтеза 1,2,4-тиадиазолидин-3,5-дионов:

Хлор медленно барботируют через раствор арил или алкил изотиоцианата в сухом гексане (25 мл), в атмосфере азота, при от -15°C до -10°C . Хлор получали добавлением 35% HCl к KMnO_4 . Температуру реакции тщательно контролировали в ходе добавления. На этом этапе образуется N-арил или N-алкил-S-хлороизотиокарбамоилхлорид. Затем, добавляют алкил изотиоцианат. Смесь перемешивают при комнатной температуре от 8 до 10 ч, после чего полученный продукт очищают фильтрацией с отсасыванием и перекристаллизацией либо колоночной хроматографией на силикагеле с использованием подходящего элюента. В ряде случаев возможно получение 5-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-3-тиона в качестве побочного продукта.

Синтез и физико-химические данные конкретных соединений изобретения:

4-Бензил-2-метил-1,2,4-тиадиазолидин-3,5-дион.

Реагенты: Бензил изотиоцианат (0,86 мл, 6,5 ммоль), 35% HCl (3,1 мл), KMnO_4 (0,5 г), метилизоцианат (0,38 мл, 6,5 ммоль). Условия: комн. темп., 8 ч. Выделение (1): фильтрование реакционной смеси. Очистка: перекристаллизация из гексана. Выход: 0,75 г (35%) в виде белого твердого вещества; темп. пл. $60-61^{\circ}\text{C}$. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 3,2 (s, 3H, CH_3); 4,8 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$); 7,31-7,45 (m, 5H, arom.). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 31,4 (CH_3); 46,0 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$); 128,2; 128,6; 128,8; 135,1 (C arom.); 155,2 (3-C=O); 165,6 (5-C=O). Анализ. ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{SO}_2$) C, H, N, S.

4-(Этоксикарбонилметил)-2-метил-1,2,4-тиадиазолидин-3,5-дион

Реагенты: Этил изотиоцианатоацетат (0,8 мл, 6,5 ммоль), 35% HCl (3,1 мл), KMnO_4 (0,5 г), метилизоцианат (0,38 мл, 6,5 ммоль). Условия: комн. темп., 8 ч. Выделение: фильтрование реакционной смеси. Очистка: перекристаллизация из гексана. Выход 0,28 г (20%) в виде белого твердого вещества; темп. пл. $67-69^{\circ}\text{C}$. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,3 (t, 3H $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J=7,1$ Гц); 3,2 (s, 3H, CH_3); 4,2 (c, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J=7,1$ Гц); 4,4 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 14,0 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 31,5 (CH_3); 42,7 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 62,1 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 152,6 (3-C=O); 166,4 (5-C=O); 166,4 (CO_2). Анализ. ($\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{SO}_3$) C, H, N, S.

(4-метоксифенил)-2-метил-1,2,4-тиадиазолидин-3,5-дион.

Реагенты: 4-Метоксифенилизотиоцианат (0,89 мл, 6,5 ммоль), 35% HCl (3,1 мл), KMnO_4 (0,5 г), метилизоцианат (0,38 мл, 6,5 ммоль). Условия: комн. темп., 8 ч. Выделение: фильтрование реакционной смеси. Очистка: перекристаллизация из CH_2Cl_2 /гексана. Выход: 0,44 г (30%) в виде белого твердого вещества; темп. пл. $140-144^{\circ}\text{C}$. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 3,31 (s, 3H, CH_3); 3,80 (s, 3H, p- $\text{CH}_3\text{O-Ph}$); 7,02-7,32 (m, 4H, arom.). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 31,7 (CH_3); 55,5 (p- $\text{CH}_3\text{O-Ph}$); 114,7; 125,3; 128,5; 159,9 (C arom.); 152,9 (3-C=O); 165,5 (5-C=O). Анализ. ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{SO}_3$) C, H, N, S.

4-(4-метилфенил)-2-метил-1,2,4-тиадиазолидин-3,5-дион.

Реагенты: 4-метилфенилизотиоцианат (0,88 мл, 6,5 ммоль), 35% HCl (3,1 мл), KMnO_4

(0,5 г), метилизоцианат (0,38 мл, 6,5 ммоль). Условия: комн. темп., 6 ч. Выделение: фильтрование реакционной смеси. Очистка: перекристаллизация из CH_2Cl_2 /гексана. Выход: 0,29 г (21%) в виде белого твердого вещества; темп. пл. 182-184°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 2,4 (s, 3H, p- CH_3 -Ph); 3,25 (s, 3H, CH_3); 7,20-7,34 (m, 4H, arom.). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 21,1 (p- CH_3 -Ph); 31,7 (CH_3); 126,7; 130,0; 130,3; 139,3 (C arom.); 152,9 (3-C=O); 165,3 (5-C=O). Анализ. ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{SO}_2$) C, H, N, S.

4-(Этоксикарбонилметил)-2-(этоксикарбонилметил)-1,2,4-тиадиазолидин-3,5-дион.

Реагенты: Этилизотиоцианатоацетат (0,8 мл, 6,5 ммоль), 35% HCl (3,1 мл), KMnO_4 (0,5 г), этилизотиоцианатоацетат (0,73 мл, 6,5 ммоль). Условия: комн. темп., 9 ч. Выделение: выпаривание растворителя. Очистка: колоночной хроматографией на силикагеле с использованием элюента AcOEt/гексана (1:3). Выход: 0,90 г (48%) в виде белого

твердого вещества; темп. пл. 72-74°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,25 (t, 3H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J=7,1$ Гц); 1,26 (t, 3H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J=7,1$ Гц); 4,18 (с, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J=7,1$ Гц); 4,20 (с, 2H, ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J=7,1$); 4,3 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4,4 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 14,0 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 14,0 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 42,7 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 45,6 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 62,1 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 62,1 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 153,0 (3-C=O); 165,7 (5-C=O); 166,1 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 166,8 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). Анализ. ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{SO}_6$) C, H, N, S.

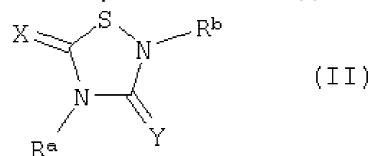
4-(4-Бромфенил)-2-метил-1,2,4-тиадиазолидин-3,5-дион.

Реагенты: 4-Бромфенилизотиоцианат (1,4 г, 6,5 ммоль), 35% HCl (3,1 мл), KMnO_4 (0,5 г), метилизоцианат (0,38 мл, 6,5 ммоль). Условия: комн. темп., 9 ч. Выделение:

фильтрование реакционной смеси. Очистка: перекристаллизация из гексана/ CH_2Cl_2 ; выход 0,32 г (20%) в виде белого твердого вещества; темп. пл. 182-184°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 3,25 (s, 3H, CH_3); 7,25-7,61 (2d, 4H, arom., $J=8,6$ Гц). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 31,6 (CH_3); 123,0; 128,6; 131,6; 132,5 (C arom.); 153,4 (3-C=O); 165,7 (5-C=O). Анализ. ($\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_2\text{SO}_2\text{Br}$) C, H, N, S.

Формула изобретения

1. Применение соединений, представленных общей формулой (II):



35 где R^a и R^b независимо выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, галогена и алкокси), (Z)_n-арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, галогена и алкокси), $-(Z)_n\text{-C(O)OR}^3$,

Z независимо выбирают из $-\text{C(R}^3\text{)(R}^4\text{)-}$;

40 R^3 и R^4 независимо выбирают из водорода, алкила, арила и 6-членного цикла с атомом азота в качестве гетероатома;

n имеет значения ноль, один или два;

X и Y независимо выбирают из $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{N(R}^3\text{)}$,

45 в качестве активного ингредиента для получения фармацевтической композиции, предназначенной для лечения заболеваний, в которые вовлечена гликоген-синтаза киназа 3-бета (GSK-3), при условии что соединение формулы II отлично от следующих:

R^a	R^b	X	Y
CH_2Ph	Me	O	O
$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$	$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$	O	O
$\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$	Me	O	O
4-OMePh	Me	O	O
4-MePh	Me	O	O
4-BrPh	Me	O	O

2. Применение по п.1, в котором указанное заболевание является болезнью Альцгеймера.

3. Применение по п.1, в котором указанное заболевание является инсулиннезависимым сахарным диабетом.

5 4. Применение по п.1, в котором указанное заболевание выбрано из гиперпролиферативных заболеваний, таких как рак, дисплазия или метаплазия тканей, псориаз, атеросклероз или рестеноз.

10 5. Применение по любому из пп.1-4, где в соединении II R^a и R^b независимо выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, фтора, хлора, брома и алкокси), -C(R³)(R⁴)-арила (причем арильная часть необязательно замещена группой, выбранной из алкила, фтора, хлора, брома и алкокси), и -C(R³)(R⁴)-C(O)OR³, и R³ и R⁴ независимо выбирают из водорода, алкила и 6-членного цикла с атомом азота в качестве гетероатома.

15 6. Применение по п.5, где в соединении II, R^a и R^b независимо выбирают из алкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, фтора, хлора, брома и алкокси), -CH₂-арила (причем арильная часть необязательно замещена группой, выбранной из алкила, фтора, хлора, брома и алкокси), и -CH₂-C(O)OR³, и R³ представляет водород или алкил.

20 7. Применение по п.6, где в соединении II R^a и R^b независимо выбирают из метила, этила, пропила, бензила, фенила (необязательно замещенного группой, выбранной из метила, фтора, хлора, брома и метокси), и -CH₂-C(O)-O-этила.

25 8. Применение по пп.1-3 или 4, в котором в соединении II, X и Y независимо выбирают из =O, =S и =NR³ (где R³ является 6-членным циклом с атомом азота в качестве гетероатома).

9. Применение по п.8, где в соединении II X представляет =O.

10. Применение по п.9, где в соединении II X представляет =O и Y представляет =O.

11. Применение по любому из пп.1-4, где в соединении II

30 R^a и R^b независимо выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, фтора, хлора, брома и алкокси), -C(R³)(R⁴)-арила (причем арильная часть необязательно замещена группой, выбранной из алкила, фтора, хлора, брома и алкокси), -C(R³)(R⁴)-C(O)OR³,

R³ и R⁴ независимо выбирают из водорода, алкила и 6-членного цикла с атомом азота в качестве гетероатома, и

35 X и Y независимо выбирают из =O, =S и =NR³.

12. Применение по п.11, где в соединении II

40 R^a и R^b независимо выбирают из водорода, алкила, циклоалкила, арила (необязательно замещенного группой, выбранной из алкила, фтора, хлора, брома и алкокси), -C(R³)(R⁴)-арила (причем арильная часть необязательно замещена группой, выбранной из фтора, хлора, брома и алкокси), C(R³)(R⁴)-C(O)OR³, R³ и R⁴ независимо выбирают из водорода и алкила, и X представляет =O.

13. Применение по п.12, где в соединении II:

45 R^a и R^b независимо выбирают из метила, этила, пропила, бензила, фенила (необязательно замещенного группой, выбранной из метила, фтора, хлора, брома и метокси), и -CH₂-C(O)-O-этила;

X представляет =O;

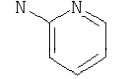
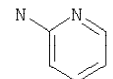
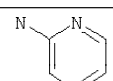
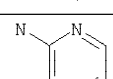
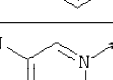
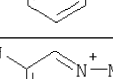
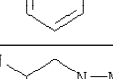
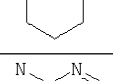
Y представляет =O.

14. Применение по пп.1-4, где соединение II соответствует следующему:

50

R ^a	R ^b	X	Y
Et	Me	O	O
Et	nPr	O	O
Et	циклогексил	O	O
Ph	Me	O	O

5

CH ₂ Ph	Et	O	O
Et	iPr	O	O
CH ₂ Ph	Et	O	S
CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	O	O
Et	Et	O	S
циклогексил	Me	O	O
Et	Me		O
Et	Et		O
Et	H		O
Me	Me		O
Et	Me		O
Et	Me		O
Et	Me		O
Et	Me		S

10

15

20

25

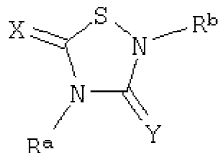
15. Применение по п.14, где соединение II соответствует следующему:

30

R ^a	R ^b	X	Y
Et	Me	O	O
Ph	Me	O	O

16. Соединения, представленные общей формулой (II):

35



(II)

где

40

R ^a	R ^b	X	Y
CH ₂ Ph	Me	O	O
CH ₂ CO ₂ Et	CH ₂ CO ₂ Et	O	O
CH ₂ CO ₂ Et	Me	O	O
4-OMePh	Me	O	O
4-MePh	Me	O	O
4-BrPh	Me	O	O

45

17. Фармацевтическая композиция, обладающая GSK-3 ингибирующей активностью, содержащая в качестве активного ингредиента соединение, определенное в любом из пп.1-16.

50

Приоритеты по пунктам и признакам:

12.12.2000 - соединения формулы (II), в которых R^a и R^b выбраны из -(Z')_n-C(O)OR³; R³ и R⁴ выбраны из "гетероцикла"; 11.05.2000 - остальные варианты.