Данное изобретение относится к соединениям, ингибирующим ферментную активность гистон-деацетилазы (HDAC). Кроме того, изобретение относится к способу получения этих соединений, к содержащим их композициям, а также к их in vitro и in vivo использованию для ингибирования HDAC и к лекарственному средству, например к лекарственному средству для ингибирования пролиферативных состояний, таких как рак и псориаз.

Во всех эукариотических клетках геномная ДНК в хроматине связана с гистонами с образованием нуклеосом. Каждая нуклеосома состоит из белкового октамера, полученного из двух копий каждого гистона H2A, H2B, H3 и H4. ДНК наматывается вокруг такого белкового ядра путем взаимодействия основных аминокислот гистонов и отрицательно заряженных фосфатных групп ДНК. Наиболее частой посттрансляционной модификацией этих ядерных гистонов является обратимое ацетилирование ε-аминогрупп консервативных, основных N-концевых лизиновых остатков. Устойчивое состояние ацетилирования гистонов определяется динамическим равновесием между конкурирующими гистон-ацетилтрансферазой(ами) и гистон-деацетилазой(ами), здесь называемой «HDAC». Ацетилирование и деацетилирование гистонов долгое время связывали с транскрипционным контролем. Недавнее клонирование генов, кодирующих различные типы гистон-ацетилтрансферазы и гистон-деацетилазы, дало вероятное объяснение взаимосвязи между ацетилированием гистонов и транскрипционным контролем. Обратимое ацетилирование гистонов может быть результатом перестройки хроматина и, по существу, является контролирующим механизмом генной транскрипции. Вообще, гиперацетилирование гистонов способствует генной экспрессии, тогда как деацетилирование гистонов связано с подавлением транскрипции. Было показано, что гистон-ацетилтрансферазы взаимодействуют как транскрипционные коактиваторы, тогда как гистон-деацетилазы связаны с путями, подавляющими транскрипцию.

Динамическое равновесие между ацетилированием и деацетилированием является основой нормального клеточного роста. Ингибирование гистон-деацетилазы приводит к остановке клеточного цикла, клеточной дифференциации, апоптозу и реверсии трансформированного фенотипа. В связи с этим ингибиторы HDAC могут иметь большой терапевтический эффект в лечении заболеваний или состояний, связанных с клеточной пролиферацией (Marks et al., Nature Reviews: Cancer 1: 194-202, 2001).

Изучение ингибиторов гистон-деацетилазы (HDAC) показало, что эти ферменты действительно играют важную роль в клеточной пролиферации и дифференциации. Ингибитор трихостатин A (TSA) блокирует клеточный цикл как на G1, так и на G2 фазе, вызывая реверсию трасформированного фенотипа различных клеточных линий и индуцируя дифференциацию клеток лейкемии Френда и других клеток. Сообщалось, что TSA (и субероиланилид-гидроксаминовая кислота SAHA) ингибирует рост клеток, вызывая окончательную дифференциацию и предотвращая образование опухолей у мыши (Finnin et al., Nature, 401: 188-193, 1999).

Также сообщалось, что трихостатин A эффективен при лечении фиброзов, например фиброза печени и цирроза печени. (Geerts et al., европейская патентная заявка EP 0827742, опубликована 11 марта, 1998).

В патентной заявке WO01/38322, опубликованной 31 мая 2001, кроме прочих, описаны ингибиторы гистон-деацетилазы общей формулы Cy-L^1-Ar-Y^1-C(O)-NH-Z, композиции и способы лечения заболеваний и состояний, связанных с клеточной пролиферацией.

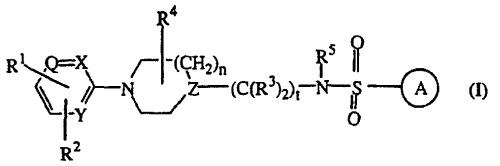
В патентной заявке WO01/70675, опубликованной 27 сентября 2001, описаны ингибиторы гистон-деацетилазы формулы Cy-$S(O)_2$-NH-Y^3-W, и также описаны композиции и способы лечения заболеваний и состояний, связанных с клеточной пролиферацией.

Задачей, требующей решения, является создание ингибиторов гистон-деацетилазы с высокой ферментативной активностью, а также обладающих полезными свойствами, такими как клеточная активность и повышенная биоактивность, предпочтительно пероральная биоактивность, и не имеющих или имеющих незначительные побочные эффекты.

Новые соединения по настоящему изобретению удовлетворяют вышеуказанным требованиям. Соединения отличаются от соединений предшествующего уровня техники структурой.

Соединения по настоящему изобретению имеют высокую ингибирующую активность в отношении фермента гистон-деацетилазы in vitro. Соединения по настоящему изобретению обладают полезными свойствами относительно клеточной активности и избирательные свойства в отношении ингибирования клеточного цикла как G1, так и G2 контрольных точек (способность индуцировать p21). Соединения по настоящему изобретению демонстрируют хорошую метаболическую стабильность и высокую биодоступность и, более конкретно, они обладают биодоступностью при пероральном применении. Кроме того, соединения по настоящему изобретению имеют низкую аффинность в отношении ферментов P450, что снижает риск неблагоприятных лекарственных взаимодействий, также обеспечивая значительную безопасность препарату.

Данное изобретение относится к соединениям формулы (I)



(I)

к их N-оксидным формами, к их фармацевтически приемлемым солям добавления кислот и к их стереохимическим изомерным формам,

где

n равно 0, 1, 2 или 3, и если n равно 0, то имеется в виду прямая связь;

t равно 0, 1, 2, 3 или 4 и, если t равно 0, то имеется в виду прямая связь;

каждый Q представляет собой азот или ;

каждый X представляет собой азот или ;

каждый Y представляет собой азот или ;

каждый Z представляет собой азот или ;

R^1 представляет собой $-C(O)NR^8P^9$, $-N(H)C(O)R^{10}$, $-C(O)-C_{1-6}$алкандиилSR^{10}, $-NR^{11}C(O)N(OH)R^{10}$, $-NR^{11}C(O)C_{1-6}$алкандиилSR^{10}, $NR^{11}C(O)C=N(OH)R^{10}$ или другую Zn-хелатообразующую группу,

где R^8 и R^9, каждый независимо, выбран из водорода, гидрокси, C_{1-6}алкила, гидроксиC_{1-6}алкила, аминоC_{1-6}алкила или аминоарила;

R^{10} независимо выбран из водорода, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилкарбонила, арилC_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилпиразинила, пиридинона, пирролидинона или метилимидазолила;

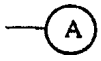
R^{11} независимо выбран из водорода или C_{1-6}алкила;

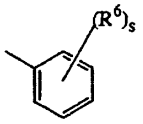
R^2 представляет собой водород, галоген, гидрокси, амино, нитро, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, трифторметил, ди(C_{1-6}алкил)амино, гидроксиамино или нафталинилсульфонилпиразинил;

каждый R^3 независимо представляет собой атом водорода, и один атом водорода может быть замещен заместителем, выбранным из арила;

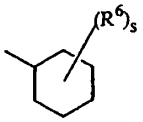
R^4 представляет собой водород, гидрокси, амино, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, арилC_{1-6}алкил, аминокарбонил, гидроксикарбонил, аминоC_{1-6}алкил, аминокарбонилC_{1-6}алкил, гидроксикарбонилC_{1-6}алкил, гидроксиаминокарбонил, C_{1-6}алкилоксикарбонил, C_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкил или ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил;

R^5 представляет собой водород, C_{1-6}алкил, C_{3-10}циклоалкил, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил, ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил или арил;

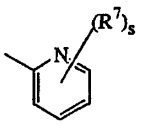
 представляет собой радикал, выбранный из



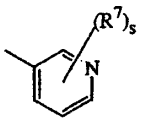
(a-1)



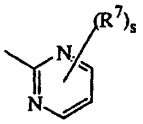
(a-2)



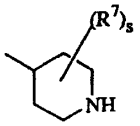
(a-3)



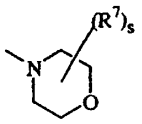
(a-4)



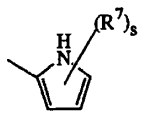
(a-5)



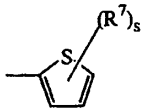
(a-6)



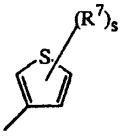
(a-7)



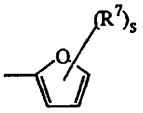
(a-8)



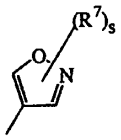
(a-9)



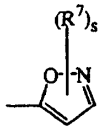
(a-10)



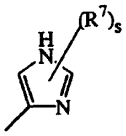
(a-11)



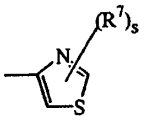
(a-12)



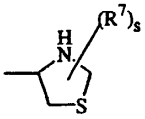
(a-13)



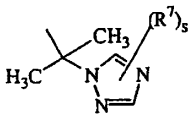
(a-14)



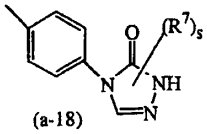
(a-15)



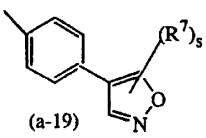
(a-16)



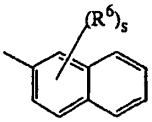
(a-17)



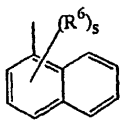
(a-18)



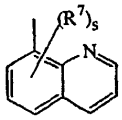
(a-19)



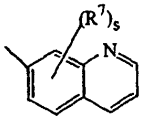
(a-20)



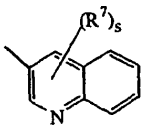
(a-21)



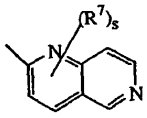
(a-22)



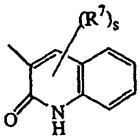
(a-23)



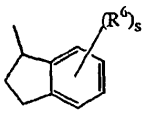
(a-24)



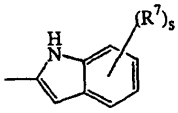
(a-25)



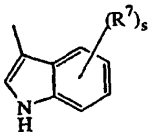
(a-26)



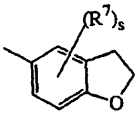
(a-27)



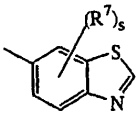
(a-28)



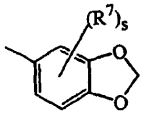
(a-29)



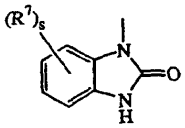
(a-30)



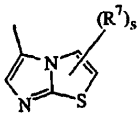
(a-31)



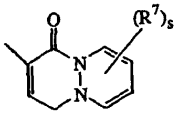
(a-32)



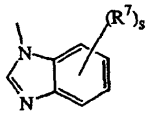
(a-33)



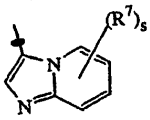
(a-34)



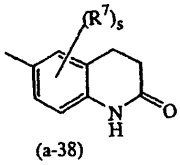
(a-35)



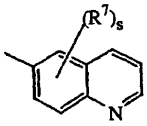
(a-36)



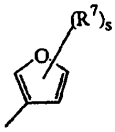
(a-37)



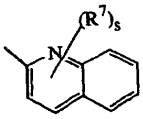
(a-38)



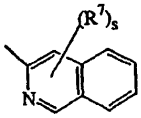
(a-39)



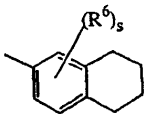
(a-40)



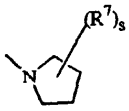
(a-41)



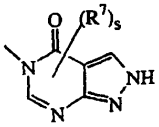
(a-42)



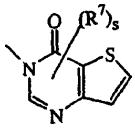
(a-43)



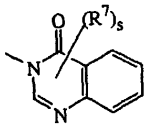
(a-44)



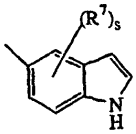
(a-45)



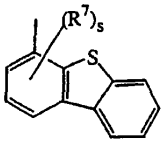
(a-46)



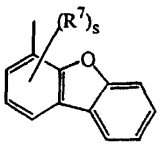
(a-47)



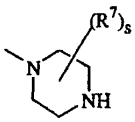
(a-48)



(a-49)



(a-50)



(a-51)

где каждый s независимо представляет собой 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

каждый R^6 и R^7 независимо выбраны из водорода; галогена; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкила; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкила; C_{1-6}алкила, замещенного арилом и C_{3-10}циклоалкилом; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6} алкилоксиC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонила; C_{1-6}алкилоксикарбонила; C_{1-6}алкилсульфонила; цианоC_{1-6} алкила; гидроксиC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилокси; гидроксиC_{1-6}алкиламино; аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминокарбонила; ди(гидроксиC_{1-6}алкил)амино; (арил)(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; арилсульфонила; арилсульфониламино; арилокси; арилоксиC_{1-6}алкила; арилC_{2-6}алкендиила; ди(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)амино(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)амино(C_{1-6} алкил)аминоC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}

алкил)аминоC_{1-6}алкила; аминосульфониламино(C_{1-6}алкил)амино; аминосульфониламино(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфониламино(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфониламино(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; циано; тиофенила; тиофенила, замещенного ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом, ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом, C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом, гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом, гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом, ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкилом, C_{1-6}алкилоксипиперидинилом, C_{1-6}алкилоксипиперидинилC_{1-6}алкилом, морфолинилC_{1-6}алкилом, гидроксиC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом или ди(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом; фуранила; фуранила, замещенного гидроксиC_{1-6}алкилом; бензофуранила; имиадазолила; оксазолила; оксазолила, замещенного арилом и C_{1-6}алкилом; C_{1-6}алкилтриазолила; тетразолила; пирролидинила; пирролила; пиперидинилC_{1-6}алкилокси; морфолинила; C_{1-6}алкилморфолинила; морфолинилC_{1-6}алкилокси; морфолинилC_{1-6}алкила; морфолинилC_{1-6}алкиламино; морфолинилC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; пиперазинила; C_{1-6}алкилпиперазинила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; пиперазинилC_{1-6}алкила; нафталинилсульфонилпиперазинила; нафталинилсульфонилпиперидинила; нафталинилсульфонила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкиламино; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилпиперазинилсульфонила; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; аминосульфонилпиперазинил; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилоксипиперидинила; C_{1-6}алкилоксипиперидинилC_{1-6}алкила; пиперидиниламиноC_{1-6}алкиламино; пиперидиниламиноC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; (C_{1-6}алкилпиперидинил)(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламино; (C_{1-6}алкилпиперидинил)(гидроксиC_{1-6}алил)аминоC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)амино; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; ди(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; пирролидинилC_{1-6}алкила; пирролидинилC_{1-6}алкилокси; пиразолила; тиопиразолила; пиразолила, замещенного двумя заместителями, выбранными из C_{1-6}алкила или тригалогенC_{1-6}алкила; пиридинила; пиридинила, замещенного C_{1-6}алкилокси, арилокси или арилом; пиримидинила; тетрагидропиримидинилпиперазинила; тетрагидропиримидинилпиперазинилC_{1-6}алкила; хинолинила; индола; фенила; фенила, замещенного одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из галогена, амино, нитро, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила, трифторметила, трифторметилокси, гидроксиC_{1-4}алкилокси, C_{1-4}алкилсульфонила, C_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилокси, C_{1-4}алкилоксикарбонила, аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминокарбонила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкиламиноC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)амино(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)амино(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкил(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкил(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, аминосульфониламино(C_{1-4}алкил)амино, аминосульфониламино(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфониламино(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфониламино(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-6}алкила, циано, пиперидинилC_{1-4}алкилокси, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, аминосульфонилпиперазинила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилоксипиперидинила, C_{1-4}алкилоксипиперидинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)амино, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(гидроксиC_{1-4}алкил)амино, ди(гидроксиC_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, фуранила, фуранила, замещенного -CH=CH-CH=CH-, пирролидинилC_{1-4}алкила, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, морфолинила, морфолинилC_{1-4}алкилокси, морфолинилC_{1-4}алкила, морфолинилC_{1-4}алкиламино, морфолинилC_{1-4}алкиламиноC_{1-4}алкила, пиперазинила, C_{1-4}алкилпиперазинила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкилокси, пиперазинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкиламино, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкиламиноC_{1-6}алкила, тетрагидропиримидинилпиперазинила, тетрагидропиримидинилпиперазинилC_{1-4}алкила, пиперидиниламиноC_{1-4}алкиламино, пиперидиниламино$_{1-4}$алкиламиноC_{1-4}алкила, (C_{1-4}алкилпиперидинил)(гидроксиC_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкиламино, (C_{1-4}алкилпиперидинил)(гидроксиC_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкиламиноC_{1-4}алкила, пиридинилC_{1-4}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкиламино, гидроксиC_{1-4}алкиламиноC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкиламино, аминотиадиазолила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкилокси или тиофенилC_{1-6}алкиламино;

каждый R^6 и R^7 могут быть помещены на азот при замене водорода;

арил в вышеуказанном представляет собой фенил или фенил, замещенный одним или несколькими заместителями, каждый независимо выбран из галогена, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, трифторметила, циано или гидроксикарбонила.

Термин «ингибитор гистон-деацетилазы» определяет соединение, которое способно взаимодействовать с гистон-деацетилазой и ингибировать ее активность, более конкретно, его ферментивную активность. Ингибирование ферментативной активности гистон-деацетилазы обозначает снижение способности гистон-деацетилазы удалять ацетильную группу с гистона. Предпочтительно, такое ингибирование является специфичным, то есть ингибитор гистон-деацетилазы снижает способность гистон-деацетилазы удалять ацетильную группу с гистона при концентрации, которая ниже концентрации ингибитора, требуемого для возникновения некоего другого, несвязанного с ним биологического эффекта.

Как используется в вышеуказанных определениях и ниже, галоген обычно относится к фтору, хлору, брому и йоду; C_{1-4}алкил определен как прямая и разветвленная цепь насыщенных углеводородных радикалов, содержащая от 1 до 4 атомов углерода, таких как, например, метил, этил, пропил, бутил, 1-метилэтил, 2-метилпропил и тому подобное; C_{1-6}алкил включает в себя C_{1-4}алкил и высшие его гомологи, содержащие от 5 до 6 углеродных атомов, таких как, например, пентил, 2-метилбутил, гексил, 2-метилпентил и тому подобное; C_{1-6}алкандиил определен как бивалентная прямая и разветвленная цепь насыщенных углеводородных радикалов, содержащая от 1 до 6 углеродных атомов, таких как, например, метилен, 1,2-этандиил, 1,3-пропандиил, 1,4-бутандиил, 1,5-пентандиил, 1,6-гександиил, и его разветвленные изомеры, такие как 2-метилпентандиил, 3-метилпентандиил, 2,2-диметилбутандиил, 2,3-диметилбутандиил и тому подобное; тригалогенC_{1-6}алкил определен как C_{1-6}алкил, содержащий три одинаковых или различных галоген заместителей, например трифторметил; C_{2-6}алкендиил определен как бивалентная прямая и разветвленная цепь углеводородных радикалов, содержащая одну двойную связь и содержащая от 2 до 6 углеродных атомов, таких как, например, этендиил, 2-пропендиил, 3-бутендиил, 2-пентендиил, 3-пентендиил, 3-метил-2-бутендиил и тому подобное; аминоарил определен как арил, замещенный амино; и C_{3-10}циклоалкил включает в себя циклические углеводородные группы, содержащие от 3 до 10 углеродов, такие как циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогексенил, циклогептил, циклооктил и тому подобное.

Термин «еще одна Zn-хелатирующая группа» относится к группе, которая способна взаимодействовать с Zn-ионом, который может присутствовать в сайте связывания фермента.

Фармацевтически приемлемые соли добавления включают в себя фармацевтически приемлемые соли добавления кислот и фармацевтически приемлемые соли добавления оснований. Под фармацевтически приемлемыми солями добавления кислот, как указано ранее, понимают терапевтически активные нетоксические соли добавления кислот, которые способны образовывать соединения формулы (I). Соединения формулы (I), которые имеют основные свойства, могут быть преобразованы в их фармацевтически приемлемые соли добавления кислот путем обработки указанной основной формы соответствующей кислотой. Соответствующие кислоты включают в себя, например, неорганические кислоты, такие как галогенводородные кислоты, например хлористо-водородная или бромисто-водородная кислота; серная; азотная; фосфорная и тому подобные кислоты; или органические кислоты, такие как, например, уксусная, трифторуксусная, пропановая, гидроксиуксусная, молочная, пировиноградная, щавелевая, малоновая, янтарная (то есть, бутандиовая кислота), малеиновая, фумаровая, маликовая, винная, лимонная, метансульфоновая, этансульфоновая, бензолсульфоновая, п-толуолсульфоновая, цикламовая, салициловая, п-аминосалициловая, памовая и тому подобные кислоты.

Соединения формулы (I), которые обладают кислотными свойствами, могут быть преобразованы в их фармцевтически приемлемые соли добавления оснований обработкой указанной кислотной формы подходящим органическим или неорганическим основанием. Подходящие основные соли включают в себя, например, соли аммония, соли щелочных или щелочно-земельных металлов, например соли лития, натрия, калия, магния, кальция и тому подобное, соли органических оснований, например бензатин, N-метил-D-глюкамин, соль гидрабамина, и соли аминокислот, таких как, например, аргинин, лизин и тому подобное.

Термин «соли добавления кислот или оснований» включают в себя гидраты и формы добавления растворителей, которые способны образовывать соединения формулы (I). Примерами таких форм являются, например, гидраты, алкоголяты и тому подобное.

Термин «стереохимические изомерные формы соединений формулы (I)», как используется здесь, относится ко всем возможным соединениям, состоящим из тех же атомов, соединенных в той же последовательности связывания, но имеющим отличные трехмерные структуры, являющиеся неравноценными, которые могут иметь соединения формулы (I). Если не указано или обозначено иное, химическое название соединения охватывает смесь всех возможных стереохимических изомерных форм, которые могут иметь указанное соединение. Указанная смесь может содержать все диастереомеры и/или энантиомеры основной молекулярной структуры указанного соединения. Все стереохимические изомерные формы соединений формулы (I), как в чистой форме, так и в смеси друг с другом входят в состав настоящего изобретения.

Под N-оксидными формами соединений формулы (I) подразумевают те соединения формулы (I), где один или несколько атомов азота окислены до так называемого N-оксида, особенно те N-оксиды, где N-окислены один или несколько азотов пиперидина, пиперазина или пиридазинила.

Некоторые соединения формулы (I) могут также находиться в своих таутомерных формах. Такие формы, хотя и не показаны на вышепредставленной формуле, входят в состав настоящего изобретения.

Всякий раз, используя термин «соединения формулы (I)», понимают, что он включает в себя также фармацевтически приемлемые соли добавления и все стереоизомерные формы.

Как используется здесь, термины «гистон-деацетилаза» и «HDAC» относятся к любому из ферментов семейства, удаляемых ацетильные группы с ε-аминогрупп лизиновых остатков на N-конце гистона. Если в контексте неуказанно иначе, под термином «гистон» понимают любой гистоновый белок, включая H1, H2A, H2B, H3, H4, и H5, любого вида. Белки HDAC человека или продукты генов включают, но

ими не ограничиваются, HDAC-1, HDAC-2, HDAC-3, HDAC-4, HDAC-5, HDAC-6, HDAC-7, HDAC-8, HDAC-9 и HDAC-10. Гистон-деацетилаза также может быть получена из протозойного или грибкового источника.

Первая группа интересующих соединений состоит из соединений формулы (I), где используется одно или несколько нижеприведенных ограничений:

a) n равно 0, 1 или 2;

b) t равно 0, 1, 2 или 3;

c) каждый Q представляет собой ;

d) R^1 представляет собой -C(O)NH(OH) или -NR^{11}C(O)C=N(OH)R^{10}, где R^{10} представляет собой арилC_{1-6}алкил, и R^{11} представляет собой водород;

e) R^2 представляет собой водород, C_{1-6}алкил или нафталинилсульфонилпиразинил;

f) каждый R^3 независимо представляет собой атом водорода;

g) R^4 представляет собой водород, гидрокси, гидроксиC_{1-6}алкил или C_{1-6}алкилокси;

h) R^5 представляет собой водород, C_{1-6}алкил, гидроксиC_{1-6}алкил или C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил;

i) представляет собой радикал, выбранный из (a-1), (a-7) или (a-20);

j) каждый s независимо представляет собой 0 или 1;

k) каждый R^6 независимо выбран из водорода; тиофенила; фуранила; бензофуранила; фенила; или фенила, замещенного одним заместителем, независимо выбранным из C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилсульфонила или ди(C_{1-4}алкил)амино;

1) каждый R^7 независимо выбран из водорода.

Вторая группа интересующих соединений состоит из соединений формулы (I), где используется одно или несколько нижеследующих ограничений:

a) n равно 1 или 2;

b) t равно 0, 1, 2 или 3;

c) каждый Q представляет собой ;

d) R^1 представляет собой -C(O)NH(OH);

e) R^2 представляет собой водород или C_{1-6}алкил;

f) каждый R^3 независимо представляет собой атом водорода;

g) R^4 представляет собой водород;

h) R^5 представляет собой водород или C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил;

i) представляет собой радикал, выбранный из (a-1) или (a-20);

j) каждый s независимо представляет собой 0 или 1;

k) каждый R^6 независимо выбран из водорода; тиофенила; фуранила; бензофуранила; фенила; или фенила, замещенного одним заместителем, независимо выбранным из C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила или ди(C_{1-4}алкил)амино.

Третья группа интересующих соединений состоит из соединений формулы (I), где R^2 представляет собой водород.

Четвертая группа интересующих соединений состоит из соединений формулы (I), где R^1 представляет собой -C(O)NH(OH).

Пятая группа интересующих соединений состоит из соединений формулы (I), где R^1 представляет собой -C(O)NH(OH), и R^2 представляет собой водород.

Шестая группа интересующих соединений состоит из соединений формулы (I), где используется одно или несколько нижеследующих ограничений:

a) t равно 0;

b) R^1 представляет собой -C(O)NR^8R^9, -C(O)-C_{1-6}алкандиилSR^{10}, -NR^{11}C(O)N(OH)R^{10}, -NR^{11}C(O)C_{1-6}алкандиилSR^{10}, -NR^{11}C(O)C=N(OH)R^{10} или другую Zn-хелатирующую группу,

где R^8 и R^9, каждый независимо, выбран из водорода, гидрокси, гидроксиC_{1-6}алкила или аминоC_{1-6}ал-кила;

c) R^2 представляет собой водород, галоген, гидрокси, амино, нитро, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, трифторметил или ди(C_{1-6}алкил)амино;

d) R^4 представляет собой водород, гидрокси, амино, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, арилC_{1-6}алкил, аминокарбонил, аминоC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкил или ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил;

e) R^5 представляет собой водород;

f) представляет собой радикал, выбранный из (a-1), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42), (a-44), (a-45), (a-46), (a-47), (a-48) или (a-51);

g) каждый s независимо представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4;

h) R^6 представляет собой водород; галоген; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкил; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкил; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}влкилкарбонил; C_{1-6}алкилоксикарбонил; C_{1-6}алкилсульфонил; гидроксиC_{1-6}алкил; арилокси; ди(C_{1-6}алкил)амино; циано; тиофенил; фуранил; фуранил, замещенный гидроксиC_{1-6}алкилом; бензофуранил; имидазолил; оксазолил; оксазолил, замещенный арилом и C_{1-6}алкилом; C_{1-6}алкилтриазолил; тетразолил; пирролидинил; пирролил; морфолинил; C_{1-6}алкилморфолинил; пиперазинил; C_{1-6}алкилпиперазинил; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинил; C_{1-6}алкилоксипиперидинил; пиразолил; пиразолил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из C_{1-6}алкила или тригалогенC_{1-6}алкила; пиридинил; пиридинил, замещенный C_{1-6}алкилокси, арилокси или арилом; пиримидинил; хинолинил; индол; фенил; или фенил, замещенный одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси или трифторметила;

i) R^7 представляет собой водород; галоген; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкил; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкил; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонил; C_{1-6}алкилоксикарбонил; C_{1-6}алкилсульфонил; гидроксиC_{1-6}алкил; арилокси; ди(C_{1-6}алкил)амино; циано; пиридинил; фенил; или фенил, замещенный одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси или трифторметила.

Седьмая группа интересующих соединений состоит из соединений формулы (I), где используется одно или несколько нижеследующих ограничений:

a) каждый R^8 и R^9 независимо выбран из водорода, гидрокси, гидроксиC_{1-6}алкила, аминоC_{1-6}алкила или аминоарила;

b) R^5 представляет собой водород, C_{1-6}алкил, C_{3-10}циклоалкил, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил или ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил;

c) —(A) представляет собой радикал, выбранный из (a-1), (a-2), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-27), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42), (a-43) или (a-44) ;

d) каждый R^6 и R^7 независимо выбран из водорода; галогена; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкила; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}ал-килкарбонил; C_{1-6}алкилсульфонил; цианоC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилокси; гидроксиC_{1-6}алкиламино; аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил) аминокарбонила; ди(гидроксиC_{1-6}алкил)амино; арил(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламино; арилсульфонила; арилсульфониламино; арилокси; арилC_{2-6}алкендиила; ди(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; циано; тиофенила; тиофенила, замещенного ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом, ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом, C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом или ди(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом; фуранила; имидазолила; C_{1-6}алкилтриазолила; тетразолил; пирролидинила; пиперидинилC_{1-6}алкилокси; морфолинила; C_{1-6}алкилморфолинила; морфолинилC_{1-6}алкилокси; морфолинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилпиперазинила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилпиперазинилсульфонила; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; аминосульфонилпиперазинила; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилоксипиперидинила; C_{1-6}алкилоксипиперидинилC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпипераэинила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)амино; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; пирролидинилC_{1-6}алкилокси; пиразолила; тиопиразолила; пиразолила, замещенного двумя заместителями, выбранными из C_{1-6}алкила или тригалогенC_{1-6}алкила; пиридинила; пиридинила, замещенного C_{1-6}алкилокси или арилом; пиримидинила; хинолинила; индола; фенила; фенила, замещенного одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из галогена, амино, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-6}алкила, трифторметила, трифторметилокси, гидроксиC_{1-4}алкилокси, C_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилокси, аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}алкил) аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкил(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, пиперидинилC_{1-4}алкилокси, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, аминосульфонилпиперазинила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинила, ди(C_{1-4}алкил) аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилоксипиперидинила, C_{1-4}алкилоксипиперидинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)амино, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, морфолинилC_{1-4}алкилокси, морфолинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилпиперазинила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкилокси, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкиламино, ди(гидроксиC_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил) аминоC_{1-4}алкиламино, аминотиадиазолила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкилокси или тиофенилC_{1-4}ал-киламино.

Группа предпочтительных соединений состоит из соединений формулы (I), где каждый R^8 и R^9 независимо выбран из водорода, гидрокси, гидроксиC_{1-4}алкила, аминоC_{1-4}алкила или аминоарила; R^5 представляет собой водород, C_{1-6}алкил, C_{3-10}циклоалкил, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил или ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил;

—(A) представляет собой радикал, выбранный из (a-1), (a-2), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-27), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42), (a-43) или (a-44);

каждый R^6 и R^7 независимо выбран из водорода; галогена; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкила; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонила; C_{1-6}алкилсульфонила; цианоC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилокси; гидроксиC_{1-6}алкиламино; аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминокарбонила; ди(гидроксиC_{1-6}алкил)амино; арил(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламино; арилсульфонила; арилсульфониламино; арилокси; арилC_{2-6}алкендиила; ди(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; циано; тиофенила; тиофенила, замещенного ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом, ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом, C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом или ди(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом; фуранила; имидазолила; C_{1-6}алкилтриазолила; тетразолила; пирролидинила; пиперидинилC_{1-6}алкилокси; морфолинила; C_{1-6}алкилморфолинила; морфолинилC_{1-6}алкилокси; морфолинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилпиперазинила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилпиперазинилсульфонила; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; аминосульфонилпиперазинила; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилоксипиперидинила; C_{1-6}алкилоксипиперидинилC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)амино; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; пирролидинилC_{1-6}алкилокси; пиразолила; тиопиразолила; пиразолила, замещенного двумя заместителями, выбранными из C_{1-6}алкила или тригалогенC_{1-6}алкила; пиридинила; пиридинила, замещенного C_{1-6}алкилокси или арилом; пиримидинила; хинолинила; индола; фенила; фенила, замещенного одним, двумя или тремя заместителями, выбранными из галогена, амино, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила; трифторметила, трифторметилокси, гидроксиC_{1-4}алкилокси, C_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилокси, аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкил(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, пиперидинилC_{1-4}алкилокси, пирролидинилC_{1-4}алкилокси; аминосульфонилпиперазинила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилоксипиперидинила, C_{1-4}алкилоксипиперидинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)амино, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, морфолинилC_{1-4}алкилокси, морфолинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилпиперазинила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкилокси, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкиламино, ди(гидроксиC_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкиламино, аминотиадиазолила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкилокси или тиофенилC_{1-4}алкиламино.

Другая группа предпочтительных соединений состоит из соединений формулы (I), где t равно 0;

R^1 представляет собой -C(O)NR^8R^9, -C(O)-C_{1-6}алкандиилSR^{10}, -NR^{11}C(O)N(OH)R^{10}, -NR^{11}C(O)C_{1-6}алкандиилSR^{10}, -NR^{11}C(O)C=N(OH)R^{10} или другая Zn-хелатирующая группа, где каждый R^8 и R^9 независимо выбран из водорода, гидрокси, гидроксиC_{1-6}алкила или аминоC_{1-6}алкила;

R^2 представляет собой водород, галоген, гидрокси, амино, нитро, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, трифторметил или ди(C_{1-6}алкил)амино;

R^4 представляет собой водород, гидрокси, амино, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, арилC_{1-6}алкил, аминокарбонил, аминоC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкил или ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил;

R^5 представляет собой водород;

—(A) представляет собой радикал, выбранный из (a-1), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42), (a-44), (a-45), (a-46), (a-47), (a-48) или (a-51);

каждый s независимо представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4;

R^6 представляет собой водород; галоген; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкил; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкил; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонил; C_{1-6}алкилоксикарбонил; C_{1-6}алкилсульфонил; гидроксиC_{1-6}алкил; арилокси; ди(C_{1-6}алкил)амино; циано; тиофенил; фуранил; фуранил, замещенный гидроксиC_{1-6}алкилом; бензофуранил; имидазолил; оксазолил; оксазолил, замещенный арилом и C_{1-6}алкилом; C_{1-6}алкилтриазолил; тетразолил; пирролидинил; пирролил; морфолинил; C_{1-6}алкилморфолинил; пиперазинил; C_{1-6}алкилпиперазинил; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинил; C_{1-6}алкилоксипиперидинил; пиразолил; пиразолил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из C_{1-6}алкила или тригалогенC_{1-6}алкила; пиридинил; пиридинил, замещенный C_{1-6}алкилокси, арилокси или

арилом; пиримидинил; хинолинил; индол; фенил; или фенил, замещенный одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси или трифторметила; и

R^7 представляет собой водород; галоген; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкил; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкил; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонил; C_{1-6}алкилоксикарбонил; C_{1-6} алкилсульфонил; гидроксиC_{1-6}алкил; арилокси; ди(C_{1-6}алкил)амино; циано; пиридинил; фенил; или фенил, замещенный одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, C_{1-6}алкила, C_{1-6} алкилокси или трифторметила.

Группа более предпочтительных соединений состоит из соединений формулы (I), где n равно 0, 1 или 2; t равно 0, 1, 2 или 3; каждый Q представляет собой ;

R^1 представляет собой -C(O)NH(OH) или -NR^{11}C(O)C=N(OH)R^{10}, где R^{10} представляет собой арилC_{1-6}алкил, и R^{11} представляет собой водород; R^2 представляет собой водород, C_{1-6}алкил или нафталинилсульфонилпиразинил; каждый R^3 независимо представляет собой атом водорода; R^4 представляет собой водород, гидрокси, гидроксиC_{1-6}алкил или C_{1-6}алкилокси; R^5 представляет собой водород, C_{1-6}алкил, гидроксиC_{1-6}алкил или C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил;

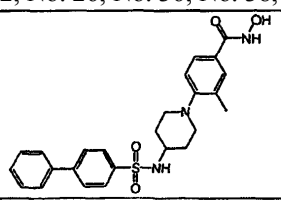
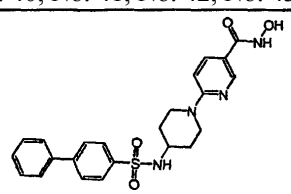
представляет собой радикал, выбранный из (a-1), (a-7) или (a-20); каждый s независимо представляет собой 0 или 1; каждый R^6 независимо выбран из водорода; тиофенила; фуранила; бензофуранила; фенила; или фенила, замещенного одним заместителем, независимо выбранным из C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила, C_{1-4}лкилсульфонила или ди(C_{1-4}алкил)амино; и каждый R^7 независимо выбран из водорода.

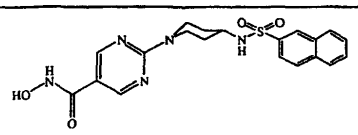
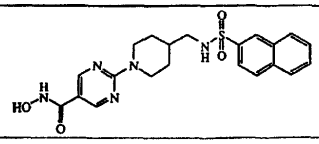
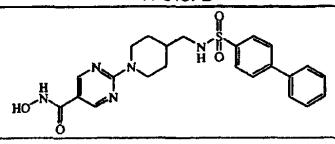
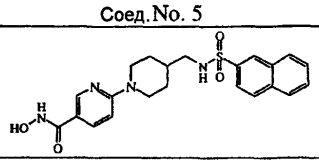
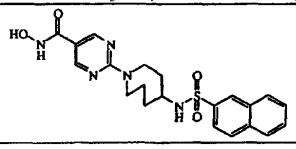
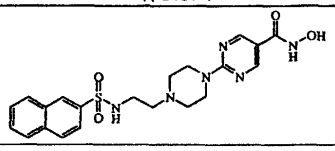
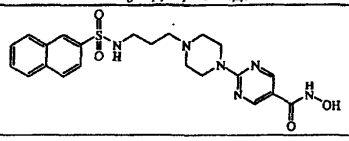
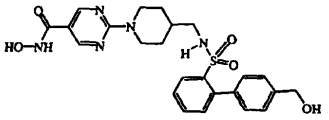
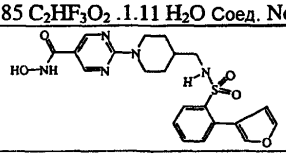
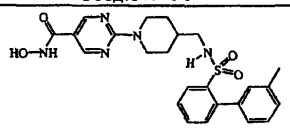
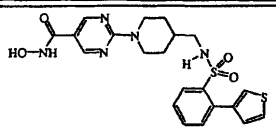
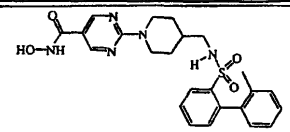
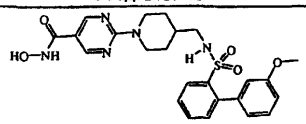
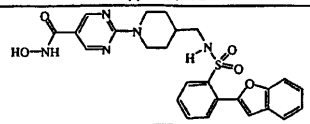
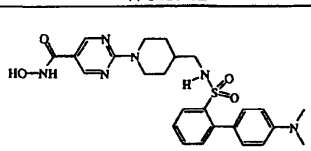
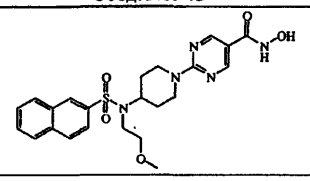
Группа еще более предпочтительных соединений состоит из соединений формулы (I), где n равно 1 или 2; t равно 0, 1, 2 или 3; каждый Q представляет собой ;

R^1 представляет собой -C(O)NH(OH); R^2 представляет собой водород или C_{1-6}алкил; каждый R^3 независимо представляет собой атом водорода; R^4 представляет собой водород; R^5 представляет собой водород или C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил;

представляет собой радикал, выбранный из (a-1) или (a-20); каждый s независимо представляет собой 0 или 1; и каждый R^6 независимо выбран из водорода; тиофенила; фуранила; бензофуранила; фенила; или фенила, замещенного одним заместителем, независимо выбранным из C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила или ди(C_{1-4}алкил)амино.

Наиболее предпочтительными соединениями являются соединения No. 13, No. 15, No. 2, No. 5, No. 21, No. 4, No. 24, No. 32, No. 26, No. 36, No. 38, No. 39, No. 40, No. 41, No. 42, No. 43, No. 44 и No. 35.

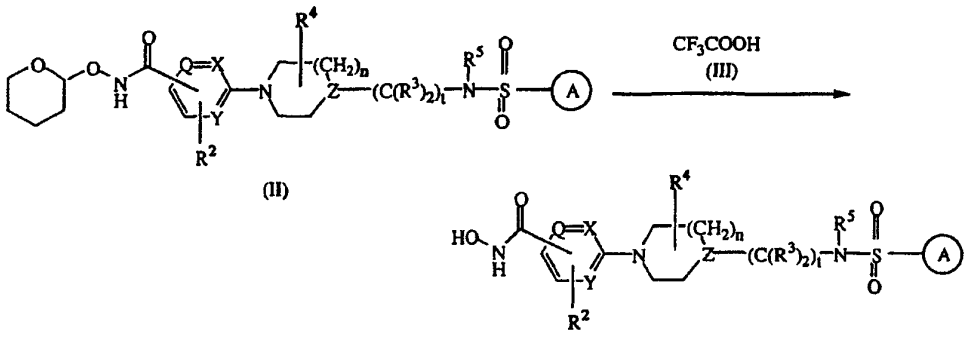
	
Соед. No. 13	Соед. No. 15

	
Соед. No. 2	Соед. No. 5
	
.0.7 CH_3OH; Соед. No. 21	Соед. No. 4
	
.0.23 $C_6H_{14}O$; Соед. No. 24	.0.82 $C_2HF_3O_2$ .0.82 H_2O; Соед. No. 32
	
.0.85 $C_2HF_3O_2$ .1.11 H_2O Соед. No. 26	Соед. No. 36
	
Соед. No. 38	Соед. No. 39
	
Соед. No. 40	Соед. No. 41
	
Соед. No. 42	Соед. No. 43
	
Соед. No. 44	Соед. No. 35

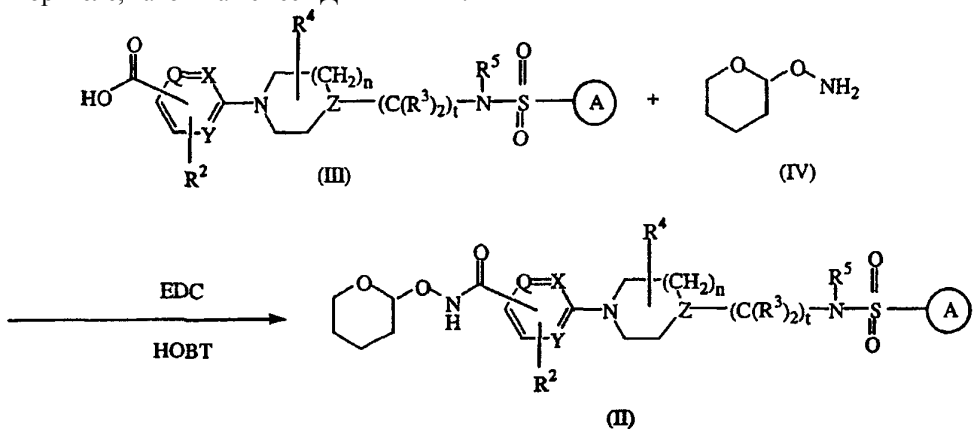
Соединения формулы (I) и их фармацевтически приемлемые соли и N-оксиды, и их стереохимические изомерные формы могут быть получены обычными способами.

Два обычных пути синтеза включают в себя, например:

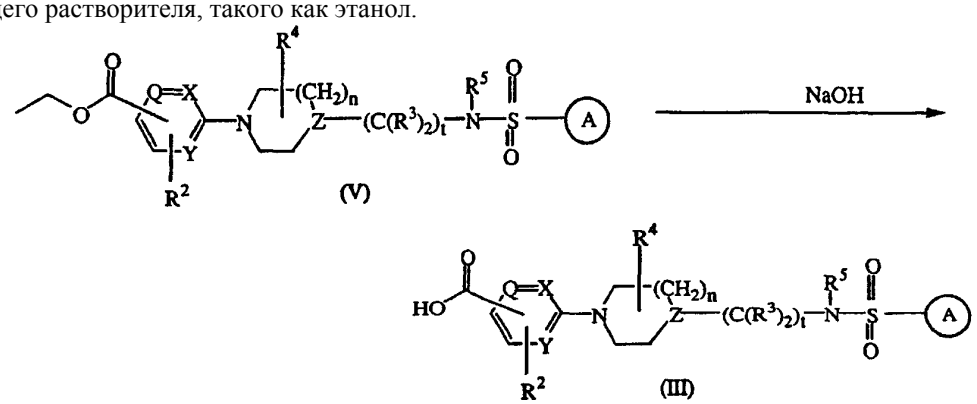
1a) гидроксамовые кислоты формулы (I), где R^1 представляет собой -C(O)NH(OH), указанные соединения были обозначены как соединения формулы (I-a), могут быть получены путем взаимодействия промежуточного соединения формулы (II) с соотвествующей кислотой, такой как например, трифторуксусная кислота. Указанное взаимодействие осуществляют в соответствующем растворителе, таком как, например, метанол.



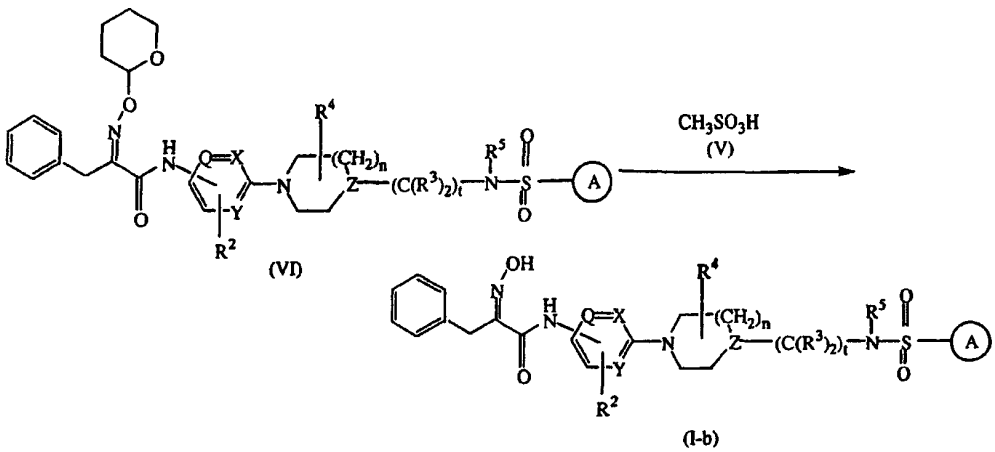
1b) промежуточные соединения формулы (II) могут быть получены путем взаимодействия промежуточного соединения формулы (III) с промежуточным соединением формулы (IV) в присутствии соответствующих агентов, таких как N'-(этилкарбонимидоил)-N,N-диметил-1,3-пропандиамин, моногидрохлорид (EDC) и 1-гидрокси-1H-бензотриазол (HOBT). Взаимодействие может осуществляться в подходящем растворителе, таком как смесь ДХМ и ТГФ.



1c) промежуточные соединения формулы (III) могут быть получены путем взаимодействия промежуточного соединения формулы (V) с соответствующим основанием, таким как NaOH в присутствии подходящего растворителя, такого как этанол.



2) Соединения формулы (I), где R^1 представляет собой -NHC(O)C=N (OH)R^{10}, где R^{10} представляет собой арилC_{1-6}алкил, указанные соединения были обозначены как соединения формулы (I-b), могут быть получены путем взаимодействия промежуточного соединения формулы (VI) с соответствующей кислотой, такой как например, метансульфоновая кислота. Указанное взаимодействие осуществляли в соответствующем растворителе, таком как, например, метанол.



Соединения формулы (I) могут также быть легко получены способами твердофазного синтеза. Как правило, способы твердофазного синтеза включают в себя взаимодействие промежуточного соединения в синтезе с полимерной основой. Это промежуточное соединение на полимерной основе затем можно проводить через некоторое число стадий синтеза. После каждой стадии, полимер фильтровали и промывали несколько раз различными растворителями для удаления примесей. На каждой стадии полимер может отделяться для взаимодействия с различными промежуточными веществами следующей стадии, таким образом, что позволяет синтезировать большое количество соединений. После последней стадии способа полимер обрабатывают агентом, или обрабатывают для отщепления полимера от образца. Более подробное описание способов, используемых в твердофазном синтезе, приведено, например, в «The Combinatorial Index» (B. Bunin, Academic Press) и Novabiochem's 1999 Catalogue & Peptide Synthesis Handbook (Novabiochem AG, Switzerland), которые приведены здесь в качестве ссылки.

Соединения формулы (I) и некоторые промежуточные соединения могут иметь по крайней мере один стерический центр в своей структуре. Этот стерический центр может быть в R или S конфигурации.

Соединения формулы (I), полученные как описано в способах выше, обычно являются рацемическими смесями энантиомеров, которые могут быть отделены друг от друга нижеследующим способом разделения, хорошо известным в данной области. Рацемические соединения формулы (I) могут быть преобразованы в соответствующие диастереомерные соли путем взаимодействия с подходящей хиральной кислотой. Указанные диастереомерные соли затем разделяли, например, путем селективной или фракционной кристаллизацией, и энантиомеры выделяли с помощью щелочи. Альтернативный способ разделения энантиомерных форм соединений формулы (I) включает в себя жидкостную хроматографию с использованием хиральной стационарной фазы. Указанные чистые стереохимические изомерные формы могут быть получены из соответствующих чистых стереохимически изомерных форм соответствующих исходных продуктов, при условии, что взаимодействие проводят стереоспецифически. Предпочтительно, когда необходимы конкретные стереоизомеры, указанное соединение должно быть синтезировано стереоспецифическими способами получения. В этих способах преимущественно используются энантиомерно чистые исходные продукты.

Соединения формулы (I), фармацевтически приемлемые соли добавления кислот и их стереоизомерные формы обладают полезными фармакологическими свойствами, так как они обладают ингибиторным эффектом в отношении гистон-деацетилазы (HDAC).

Данное изобретение относится к способу ингибирования патологического роста клеток, включая трансформированные клетки, путем введения эффективного количества соединения по данному изобретению. Патологический рост клеток относится к росту клеток, который не зависит от нормальных регуляторных механизмов (например, потеря контактного ингибирования). Способ включает в себя ингибирование опухолевого роста, как непосредственно остановку роста, окончательную дифференцировку и/или апоптоз опухолевых клеток, так и опосредованно, ингибируя неоваскуляцию опухолей.

Данное изобретение также относится к способу ингибирования опухолевого роста путем введения эффективного количества соединения по настоящему изобретению субъекту, например, млекопитающему (и, более предпочтительно, человеку) при необходимости такого лечения. В частности, данное изобретение относится к способу ингибирования роста опухолей путем введения эффективного количества соединения по настоящему изобретению. Примеры опухолей, которые могут быть ингибированы, но ими не ограничиваются, включают в себя рак легкого (например, аденокарцинома, и в том числе немелкоклеточный рак легких), различные типы рака поджелудочной железы (например, карцинома поджелудочной железы, такая как, например, экзокринная карцинома поджелудочной железы), различные типы рака прямой кишки (например, колоректальные карциномы, такие как, например, аденокарционома прямой кишки и аденома прямой кишки), рак простаты, включая рак простаты с метастазами, гематопоэтические опухоли лимфоидной линии (например, острая лимфоцитарная лейкемия, В-клеточная лимфома, лимфома Беркита), миелоидная лейкемия (например, острая миеломная лейкемия (АМЛ)), фолликулярный рак

щитовидной железы, миелодиспластический синдром (MDS), опухоли мезинхимального происхождения (например, фибросаркома и рабдомиосаркома), меланома, тератокарцинома, нейробластома, глиома, доброкачественная опухоль кожи (например, кератоакантома), карцинома молочной железы (например, рак молочной железы с метастазами), карцинома почки, карцинома яичника, карцинома мочевого пузыря и эпидермальная карцинома.

Соединение по данному изобретению может быть использовано для других терапевтических целей, например:

a) для сенсибилизации опухолей для радиотерапии путем введения соединения по данному изобретению перед, во время или после облучения опухоли при лечении опухоли;

b) для лечения артропатий и остеопатологических состояний, таких как ревматоидный артрит, остеоартрит, юношеский артрит, подагра, полиартрит, артрит при псориазе, анкилозирующий спондилит и системную красную волчанку;

c) для ингибирования пролиферации гладких мышечных клеток, включая заболевания, связанные с пролиферацией сосудов, атеросклероз и рестеноз;

d) для лечения воспалительных состояний и кожных заболеваний, таких как язвенный колит, болезнь Крона, аллергический ринит, реакция трансплантат против хозяина, конъюктивит, астма, ARDS (острый респираторный дистресс синдром), болезнь Бехчета, отторжение трансплантата, крапивница, аллергический дерматит, очаговая аллопеция, склеродермия, эксантема, экзема, дерматомиозит, угри, диабет, системная красная волчанка, болезнь Кавасаки, рассеянный склероз, эмфизема, кистозный фиброз и хронический бронхит;

e) для лечения эндометриоза, фиброза матки, дисфункции, сопровождающейся маточными кровотечениями и гиперплазии эндометрия;

f) для лечения васкуляризации тканей глаза, включая васкулопатию, затрагивающую сосуды сетчатки и сосудистой оболочки глаза;

g) для лечения сердечной дисфункции;

h) для ингибирования иммуносупрессивных состояний, таких как лечение ВИЧ инфекции;

i) для лечения почечной дисфункции;

j) для лечения эндокринных заболеваний;

k) дли ингибирования дисфункции глюконеогенеза;

l) для лечения нейропатологии, например, болезни Паркинсона или нейропатологии, которая приводит к расстройству когнитивной функции, например болезни Альцгеймера или нервных заболеваний, связанных с полиглютамином;

m) для ингибирования нейромышечной патологии, например амилотрофического латерального склероза;

n) для лечения спинальной мышечной атрофии;

o) для лечения других патологических состояний, которые поддаются лечению путем потенцирования генной экспрессии;

p) для усиления генной терапии.

Следовательно, настоящее изобретение включает в себя соединения формулы (I) для использования в качестве лекарственного препарата, а также для использования этих соединений формулы (I) для получения лекарственного препарата для лечения одного или нескольких вышеуказанных состояний.

Соединения формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли добавления кислот и стереоизомерные формы могут иметь полезные диагностические свойства, поэтому они могут использоваться для определения или идентификации HDAC в биологическом образце, содержащем обнаруживаемое или измеряемое образование комплекса между меченным соединением и HDAC.

В способах обнаружения или идентификации могут использоваться соединения, которые метят метками, такими как радиоизотопы, ферменты, флуоресцентными веществами, светящимися веществами и тому подобное. Примеры радиоизотопов включают в себя ^{125}I, ^{131}I, ^{3}H и ^{14}C. Ферменты, которые могут быть детектированы, обычно получают путем конъюгации соответствующего субстрата, который, в свою очередь, катализирует детектируемое взаимодействие. Примеры таких ферментов включают в себя, например, бета-галактозидазу, бета-глюкозидазу, щелочную фосфотазу, пероксидазу и малатдегидрогеназу, предпочтительно пероксидазу хрена. Светящиеся вещества включают в себя, например, люминол, производные люминола, луциферин, экворин и люциферазу.

Биологическими примерами, которые могут быть определены, являются ткани или жидкости организма. Примеры жидкостей организма включают в себя цереброспинальную жидкость, кровь, плазму, сыворотку крови, мочу, мокроту, слюну и тому подобное.

Ввиду эффективности их фармакологических свойств могут быть получены композиции, содержащие соединения по данному изобретению, в виде различных фармакологических форм для различных целей введения.

Для получения фармацевтических композиций по данному изобретению эффективное количество определенного соединения в форме соли добавления основания или кислоты, в виде активного ингредиента, объединяли в виде тщательно перемешиваемой смеси с фармацевтически приемлемым носителем,

где носитель может принимать большое разнообразие форм в зависимости от формы желательного препарата для введения. Эти фармацевтические композиции желательны в виде стандартной лекарственной формы, подходящей, предпочтительно, для перорального, ректального, чрескожного введения или введения парентеральной инъекцией. Например, при получении композиции в виде лекарственной формы для перорального применения может использоваться любая обычно используемая фармацевтическая среда, такая как, например, вода, гликоли, масла, спирты и тому подобное, в случае жидких препаратов для перорального применения, таких как суспензии, сиропы, эликсиры и растворы; или твердые носители, такие как различные крахмалы, сахара, каолин, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхляющие агенты и тому подобное, в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток.

Из-за простоты введения таблетки и капсулы являются наиболее эффективной лекарственной формой для перорального применения, в этом случае, понятно, используются твердые фармацевтические носители. Для парентеральных композиций, носитель обычно включает в себя стерильную воду, по крайней мере, в большинстве случаев, однако парентеральные композиции могут включать в себя другие ингредиенты, облегчающие растворение. Могут быть получены растворы для инъекционного введения инъекцией, где носитель включает в себя солевой раствор, раствор глюкозы или смесь солевого раствора и раствора глюкозы. Также могут быть получены суспензии для инъекционного введения, и в этом случае могут использоваться соответствующие жидкие носители, суспендирующие агенты и тому подобное. В композициях, подходящих для подкожного введения, носитель, необязательно, включает в себя агент, улучающий проникновение, и/или подходящий смачивающий агент, необязательно, объединенный с подходящими адъювантами любой природы в небольших пропорциях, где адъюванты не вызывают значительного вредного действия на кожу. Указанные адъюванты могут улучшать введение в кожу и/или могут быть полезными для получения желаемых композиций. Эти композиции могут вводиться различными путями, например, в виде чрескожного пластыря, непосредственно или в виде мази.

Особенно предпочтительно получение вышеуказанных фармацевтических композиций в виде лекарственной формы, которую просто вводить, и с одинаковым дозированием. Дозированная лекарственная форма, как используется в подобном описании и формуле изобретения, здесь относится к физически дискретной единичной форме, подходящей для однократного дозирования, каждая доза содержит заранее определенное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта, в смеси с необходимым фармацевтическим носителем. Примеры таких лекарственных форм включают в себя таблетки (включая рифленые или покрытые таблетки), капсулы, пилюли, порошки в пачках, облатки, растворы или суспензии для инъекций, формы для приема в количестве одной чайной ложки, одной столовой ложки и тому подобное, и их разделяемые дробные дозы.

Специалист в данной области сможет легко определить эффективное количество на основании результатов исследований, приведенных далее. Обычно полагают, что терапевтически эффективное количество составляет от 0,005 до 100 мг/кг массы тела и, в частности, от 0,005 до 10 мг/кг массы тела. Может быть уместным введение необходимой дозы в виде двух, трех, четырех или более субдоз с соответствующими интервалами в течение дня. Указанные субдозы могут быть получены в виде единичной лекарственной формы, например, содержащей от 0,5 до 500 мг и, в частности, от 10 до 500 мг активного ингредиента на лекарственную форму.

Еще одним аспектом настоящего изобретения является сочетание HDAC-ингибитора с другим противоопухолевым агентом, особенно для использования в качестве лекарственного средства, более конкретно, для лечения рака или связанных с ним заболеваний.

Для лечения вышеуказанных состояний, соединения по данному изобретению могут эффективно использоваться в сочетании с одним или несколькими другими лекарственными агентами, более конкретно, с другими противоопухолевыми агентами. Примеры противоопухолевых агентов включают в себя:

координационные соединения платины, например цисплатин, карбоплатин или оксалиплатин;

таксановые соединения, например паклитаксел или доцетаксел;

ингибиторы топоизомеразы I, такие как соединения камптотецина, например иринотекан или топотекан;

ингибиторы топоизомеразы II, такие как противоопухолевые производные подофиллотоксина, например этопосид или тенипосид;

противоопухолевые алкалоиды барвинка, например винбластин, винкристин или винорелбин;

противоопухолевые нуклеозидные производные, например 5-фторурацил, гемцитабин или капецитабин;

алкилирующие агенты, такие как азотистый иприт или нитрозомочевина, например циклофосфамид, хлорамбуцил, кармустин или ломустин;

противоопухолевые производные антрациклина, например даунорубицин, доксорубицин, идаруцини или митоксатрон;

антитела HER2, например трастузумаб;

антагонисты рецептора эстрогена или селективные модуляторы рецептора эстрогена, например тамоксифен, торемифен, дролоксифен, фаслодекс или ралоксифен;

ингибиторы ароматазы, такие как эксеместан, анастрозол, летразол и ворозол;

агенты дифференциации, такие как ретиноиды, витамин D и агенты, блокирующие метаболизм ретиновой кислоты (RAMBA), например аккутан;

инигибиторы ДНК-метилтрансферазы, например азацитидин;

ингибиторы киназы, например флавоперидол, иматиниб мезилат или гефитиниб;

ингибиторы фарнезилтрансферазы; или

другие ингибиторы HDAC.

Использующийся здесь термин «координационное соединение платины» обозначает любое координационное соединение платины, ингибирующее рост опухолевых клеток, в котором платина находится в форме иона.

Термин «таксановые соединения» обозначает класс соединений, имеющих таксановую кольцевую систему и имеющих отношение или получаемых из экстрактов определенных видов тиса (Taxus).

Использующийся здесь термин «ингибиторы топоизомеразы» обозначает ферменты, которые способны изменять топологию ДНК в эукариотических клетках. Они необходимы для важнейших функций клетки и клеточной пролиферации. У эукариотических клеток существует два класса топоизомераз, называемых тип I и тип II. Топоизомераза I представляет собой мономерный фермент с молекулярной массой, приблизительно равной 100000. Фермент присоединяется к ДНК и вносит временный разрыв на одной из нитей, разматывает двойную спираль (или дает ей возможность размататься) и перед отрывом от нити ДНК соединяет разрыв. Топоизомераза II имеет сходный механизм действия, который включает в себя образование разрывов нити ДНК или образование свободных радикалов.

Использующийся здесь термин «соединения камптотецина» обозначает соединения, которые имеют отношение или получают из маточного камптотецинового соединения, который представляет собой водорастворимый алкалоид, полученный из китайского дерева Camptothecin acuminata и индийского дерева Nothapodytes foetida.

Использующийся здесь термин «соединения подофиллотоксина» обозначают соединения, которые имеют отношение или получают из маточного подофиллотоксина, который экстрагируют из мандрагоры.

Использующийся здесь термин «противоопухолевые алкалоиды барвинка» обозначает соединения, которые имеют отношение или получают из экстрактов барвинка малого (Vinca rosea).

Термин «алкилирующие агенты» включает в себя разнообразную группу химических соединений, общим свойством которых является способность при физиологических условиях предоставлять алкильные группы для обеспечения биологической жизнеспособности макромолекул, таких как ДНК. Что касается наиболее важных агентов, таких как азотистый иприт и нитрозомочевина, то активные алкилирующие группы образуются in vivo после реакций разложения комплекса, некоторые из которых являются ферментативными. Наиболее важными фармакологическими эффектами алкилирующих агентов являются эффекты, затрагивающие главные механизмы, связанные с клеточной пролиферацией, в частности, синтезом ДНК и клеточным делением. Способность алкилирующих агентов влиять на функцию ДНК и интегрировать в быстро пролиферирующие ткани дает основание для их терапевтического применения и для использования их разнообразных токсических свойств.

Термин «противоопухолевые производные антрациклина» включают в себя антибиотики, полученные из грибов Strep. peuticus var. caesius, и их производные, характеризующиеся тем, что имеют структуру тетрациклинового кольца с редким сахаром, дауносамином, присоединенным с помощью гликозидной связи.

Было показано, что амплификации белка рецептора 2 эпидермального фактора роста (HER2) в первичной карциноме молочной железы связана с плохим клиническим прогнозом у некоторых пациентов. Трастузумаб представляет собой высокоочищенные рекомбинантные гуманизированные моноклональные каппа-антитела, производные ДНК, которые с высокой аффинностью присоединяются и взаимодействуют с внеклеточным доменом рецептора HER2.

Многие виды рака молочных желез имеют рецепторы эстрогена и рост этих опухолей может быть стимулирован эстрогенами. Использующиеся термины «антагонисты рецептора эстрогена» и «селективные модуляторы рецептора эстрогена» обозначают конкурентные ингибиторы эстрадиола, присоединяющиеся к рецептору эстрогена (ER). Селективные модуляторы рецептора эстрогена, которые присоединяются к ER, вызывают изменения трехмерной структуры рецептора, ингибируя его присоединение к эстроген ответственным элементам (ERE) на ДНК.

У женщин в постклимактерическом периоде главным источником циркулирующего эстрогена являются адренальные и овариальные андрогены (андростендион и тестостерон), которые преобразуются до эстрогенов (эстрон и эстрадиол) с помощью ароматазного фермента в периферических тканях. Производное эстрагена, ингибируя или инактивируя ароматазу, является эффективным и селективным средством для лечения у некоторых пациентов с гормоно-зависимым раком молочной железы в постклимактерическом периоде.

Использующийся здесь термин «антиэстрогенный агент» включает в себя не только антагонисты рецептора эстрогена и селективные модуляторы рецептора эстрогена, но и ингибиторы ароматазы, как описано выше.

Термин «агенты дифференциации» включают в себя соединения, которые могут различными путями ингибировать клеточную пролиферацию и индуцировать дифференциацию. Известно, что витамин D и ретиноиды играют основную роль в регуляции роста и дифференциации большого количество нормальных и малигнизированных типов клеток. Агенты, блокирующие метаболизм ретиноевой кислоты (RAMBA), увеличивают уровни эндогенной ретиноевой кислоты, ингибируя катаболизм ретиноевой кислоты, опосредованный цитохромом P450.

Изменения метилирования ДНК являются одними из наиболее частых отклонений при неоплазиях у человека. Гиперметилирование промоторов определенных генов обычно связано с инактивацией этих генов. Под термином «ингибиторы ДНК-метилтрансферазы» понимают соединения, которые взаимодействуют путем фармакологического ингибирования ДНК-метилтрансферазы и реактивируют экспрессию генов, супрессирующих опухоль.

Термин «ингибиторы киназы» включают в себя эффективные ингибиторы киназ, которые вовлечены в последовательность клеточного цикла и программируют клеточную смерть (апоптоз).

Под термином «ингибиторы фарнезилтрансферазы» понимают соединения, которые были созданы для предотвращения фарнезилирования Ras и других внутриклеточных белков. Было показано, что они влияют на пролиферацию и жизнеспособность малигнизированных клеток.

Термин «другие ингибиторы HDAC» включают в себя, но ими не ограничиваются:

жирные кислоты с короткой цепью, например бутират, 4-фенилбутират или вальпроевую кислоту;

гидроксаминовую кислоту, например субероиланилид гидроксамовую кислоту (SAHA), биарилгидроксамат A-161906, бициклические арил-N-гидроксикарбоксамиды, пироксамид, CG-1521, PXD-101, сульфонамид гидроксамовая кислота, LAQ-824, трихостатин A (TSA), оксамфлатин, скриптаид, м-карбокси коричневая кислота, бисгидроксамовая кислота или аналог трапоксин-гидроксамовой кислоты;

циклические тетрапептиды, например трапоксин, апидицин или депсипептид;

бензамиды, например MS-275 или CI-994, или

депудецин.

Для лечения злокачественных новообразований соединения по настоящему изобретению могут вводиться пациенту, как указано выше, в сочетании с облучением. Облучение подразумевает ионизирующее излучение и, в частности, гамма-излучение, особенно излучаемое линейными ускорителями или радионуклидами, которые используются в настоящее время. Облучение опухоли радионуклидами может быть наружным или внутренним.

Настоящее изобретение также относится к сочетанию в соответствии с данным изобретением противоопухолевого агента и ингибитора HDAC по данному изобретению.

Настоящее изобретение также относится к сочетанию в соответствии с данным изобретением для использования в терапии, например, для ингибирования роста опухолевых клеток.

Настоящее изобретение также относится к сочетаниям в соответствии с данным изобретением для ингибирования роста опухолевых клеток.

Настоящее изобретение также относится к способу ингибирования роста опухолевых клеток у больного человека, который включает в себя введение больному эффективного количества сочетания по данному изобретению.

Кроме того, данное изобретение относится к способу ингибирования патологического роста клеток, включая трансформированных клеток, путем введения эффективного количества сочетания по данному изобретению.

Дополнительный медицинский агент и ингибитор HDAC могут вводиться одновременно (например, раздельно или одной композицией) или раздельно в любом порядке. В последнем случае, два соединения могут вводиться в течение периода, в количестве и способом, достаточными для обеспечения достигаемого эффективного или синергетического действия. Понятно, что предпочтительный способ и порядок введения, соответствующее дозируемое количество и режим введения каждого компонента сочетания будет зависеть от конкретного вводимого дополнительного медицинского агента и ингибитора HDAC, их пути "введения, от конкретной опухоли, на которую воздействуют, и от конкретного субъекта, которому требуется лечение. Наилучший способ и последовательность введения, дозируемое количество и режим введения могут быть легко определены специалистом в данной области, используя обычные способы и принимая во внимание представленную здесь информацию.

Координационное соединение платины преимущественно вводят в дозе от 1 до 500 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, например 50-400 мг/м^2, в частности, для цисплатина в дозе около 75 мг/м^2 и для карбоплатина в дозе около 300 мг/м^2 на курс лечения.

Таксановое соединение преимущественно вводят в дозе 50-400 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, например 75-250 мг/м^2, в частности, для паклитакселя в дозе около 175-250 мг/м^2 и для доцетакселя в дозе около 75-150 мг/м^2 на курс лечения.

Соединение камптотецина преимущественно вводят в дозе 0,1-400 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, например 1-300 мг/м^2, в частности, для иринотекана в дозе около 100-350 мг/м^2 и для топотекана в дозе около 1-2 мг/м^2 на курс лечения.

Противоопухолевое производное подофиллотоксина преимущественно вводят в дозе 30-300 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, например, 50-250 мг/м^2, в частности, для этопозида в дозе около 35-100 мг/м^2 и для тенипозида в дозе около 50-250 мг/м^2 на курс лечения.

Противоопухолевые алкалоиды барвинка преимущественно вводят в дозе 2-30 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, например в дозе около 3-12 мг/м^2, в частности, для винкристина в дозе около 1-2 мг/м^2 и для винорелбина в дозе около 10-30 мг/м^2 на курс лечения.

Противоопухолевое нуклеозидное производное преимущественно вводят в дозе 200-2500 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, например, 700-1500 мг/м^2, в частности, для 5-FU в дозе около 200-500 мг/м^2 и для гемцитабина в дозе около 800-1200 мг/м^2 и для капецитабина в дозе около 1000-2500 мг/м^2 на курс лечения.

Алкилирующие агенты, такие как азотистый иприт и нитрозомочевина, преимущественно вводят в дозе 100-500 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, например, 120-200 мг/м^2, в частности, для циклофосфамида в дозе около 100-500 мг/м^2, для хлорамбуцила в дозе около 0,1-0,2 мг/кг, для кармустина в дозе около 150-200 мг/м^2 и для ломустина в дозе около 100-150 мг/м^2 на курс лечения.

Противоопухолевое производное антрациклина преимущественно вводят в дозе 10-75 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, например 15-60 мг/м^2, в частности, для доксорубицина в дозе около 40-75 мг/м^2, для даунорубицина в дозе около 25-45 мг/м^2, и для идаруцинина в дозе около 10-15 мг/м^2 на курс лечения.

Трастузумаб преимущественно вводят в дозе 1-5 мг на квадратный метр (мг/м^2) области на поверхности тела, предпочтительно 2-4 мг/м^2 на курс лечения.

Антиэстрогенный агент преимущественно вводят в дозе около 1-100 мг в день в зависимости от конкретного агента и условий лечения. Тамоксифен преимущественно вводят перорально в дозе 5-50 мг, предпочтительно, 10-20 мг дважды в день, терапию проводят в течение достаточного времени для достижения и-поддержания терапевтического эффекта. Торемифен преимущественно вводят перорально в дозе 60 мг 1 раз в день, терапию проводят в течение достаточного времени для достижения и поддержания терапевтического эффекта. Анастрозол преимущественно вводят перорально в дозе около 1 мг 1 раз в день. Дролоксифен преимущественно вводят перорально в дозе около 20-100 мг 1 раз в день. Ралоксифен преимущественно вводят перорально в дозе около 60 мг 1 раз в день. Эксеместан преимущественно вводят перорально в дозе около 25 мг 1 раз в день.

Эти дозы могут вводиться, например, одним, двумя, тремя или несколькими курсами лечения, который может повторяться, например, каждые 7, 14, 21 или 28 дней.

Ввиду их эффективных фармакологических свойств, компоненты комбинаций в соответствии с изобретением, то есть дополнительный медицинский агент и ингибитор HDAC могут быть получены в виде фармацевтических форм для целей введения. Компоненты могут входить в состав индивидуальных фармацевтических композиций или в состав одной фармацевтической композиции, содержащей оба компонента.

Следовательно, настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей дополнительный медицинский агент и ингибитор HDAC вместе с одним или несколькими терапевтическими носителями.

Настоящее изобретение также относится к сочетанию в соответствии с данным изобретением в форме фармацевтической композиции, содержащей противоопухолевый агент и ингибитор HDAC по данному изобретению вместе с одним или несколькими фармацевтическими носителями.

Кроме того, настоящее изобретение относится к использованию сочетания по данному изобретению при производстве фармацевтической композиции для ингибирования роста опухолевых клеток.

Настоящее изобретение также относится к продукту, содержащему, во-первых, активный ингредиент ингибитор HDAC по данному изобретению и, во вторых, активный ингредиент противоопухолевый агент, в виде объединенного препарата для одновременного, отдельного или последовательного использования для лечения пациентов, страдающих различными видами злокачественных опухолей.

Экспериментальная часть

Нижеследующие примеры даны в иллюстративных целях.

Далее «BINAP» обозначает 2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил, «БСА» обозначает эмбриональную бычью сыворотку, «ДХМ» обозначает дихлорметан, «ДИК» обозначает диизопропилкарбодиимид, «ДИЭА» обозначает диизопропилэтиламин, «ДИПЭ» обозначает диизопропиловый эфир, «ДМАП» обозначает диметиламинопиридин, «ДМФ» обозначает диметилфомамид, «EDC» обозначает N'-(этилкарбонимидоил)-N,N-диметил-1,3-пропандиамин, моногидрохлорид «ДМСО» обозначает диметилсульфоксид, «EtOAc» обозначает этилацетат, «Hepes» обозначает 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновую кислоту, «iPrOH» обозначает изопропил, «HOBT» обозначает 1-гидрокси-1H-бензотриазол, «MeOH» обозначает метанол, «EtOH» обозначает этанол, «NMP» обозначает N-метилпирролидинон, «ТЭА» обозначает триэтиламин, «ТФУ» обозначает трифторуксусную кислоту, «ТИС» обозначает триизопропилсилан, «ТГФ» обозначает тетрагидрофуран и «ТГП» обозначает тетрагидропиранил.

А. Получение промежуточных соединений.

Пример А1.

a) К раствору этилового эфира 4-амино-1-пиперидинкарбоновой кислоты (0,044 моль, 7,6 г) в ДХМ (110 мл) добавляли ТЭА (0,088 моль, 12,4 мл) при 10°С в потоке N_2. По каплям добавляли раствор 2-нафталинсульфонидхлорида (0,044 моль) в ДХМ (50 мл). Смесь перемешивали при 10°С в течение 1 ч и 30 мин, выливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток выливали в диэтиловый эфир, осадок фильтровали и сушили с выходом 13,8 г этилового эфира 4-[(2-нафталинилсульфонил)амино]-1-пиперидинкарбоновой кислоты, точка плавления 128°С, промежуточное соединение 1.

b) Смесь промежуточного соединения 1 (0,072 моль) в 12н. HCl (290 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 48 ч, затем охлаждали до комнатной температуры, выливали в ледяную воду и подщелачивали NH_4OH. Осадок фильтровали, промывали водой, затем диэтиловым эфиром и сушили, получая 15,78 г (76%) N-4-пиперидинил-2-нафталинсульфонамида, точка плавления 172°С, промежуточное соединение 2.

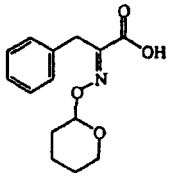
c) К раствору промежуточного соединения 2 (0,0033 моль) в NUA (10 мл) в потоке N_2 порциями добавляли 60% NaH (0,0066 моль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем охлаждали до 0°С. Быстро по каплям добавляли раствор этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0043 моль) в ТГФ (8 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, выливали в ледяную воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (1,64 г) кристаллизовали из CH_3OH/диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с выходом 0,925 г (63%) этилового эфира 2-[4-[(2-нафталинилсульфонил)амино]-1-пиперидинил]-5-пиримидинкарбоновой кислоты, промежуточное соединение 3.

d) Смесь промежуточного соединения 3 (0,0021 моль) и гидроксида калия (0,0084 моль) в этаноле (20 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение ночи, затем охлаждали до комнатной температуры, выливали в ледяную воду и подкисляли с помощью 3н. HCl. Осадок фильтровали и сушили с выходом 0,66 г (76%) 2-[4-[(2-нафталинилсульфонил)амино]-1-пиперидинил]-5-пиримидинкарбоновой кислоты, точка плавления >260°С, промежуточное соединение 4.

e) К раствору промежуточного соединения 4 (0,0014 моль) в ДХМ/ТГФ 50/50 (20 мл) добавляли ТЭА (0,0019 моль), гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (0,0019 моль), 1-гидроксибензотриазола (0,0019 моль) и О-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)гидроксиламина (0,0019 моль) при комнатной температуре в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч, выливали в ледяную воду. Добавляли ДХМ. Осадок фильтровали, промывали водой и сушили с выходом 0,261 г (34%) 2-[4-[(2-нафталинилсульфонил)амино]-1-пиперидинил]-N-[(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси]-5-пиримидинкарбоксамида, точка плавления 226°С, промежуточное соединение 5.

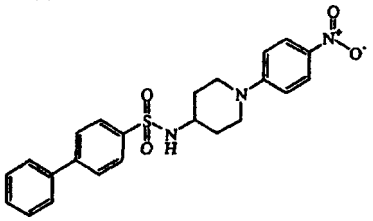
Пример А2.

a) Получение промежуточного соединения 6.



К смеси α-оксо-бензолпропановой кислоты (0,0078 моль) в пиридине (12 мл) и EtOH (23 мл) добавляли О-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)гидроксиламин (0,0085 моль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель упаривали досуха. Остаток (2,6 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: $CH_2Cl_2/CH_3OH/NH_4OH$ 85/15/1 70/30/3). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с выходом 1,7 г (83%) промежуточного соединения 6.

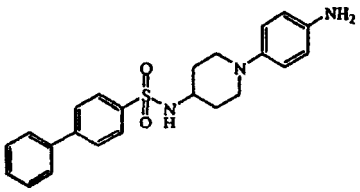
b) Получение промежуточного соединения 7.



К смеси 1-(4-нитрофенил)-4-пиперидинамина (0,0071 моль) и ТЭА (0,0085 моль) в ДХМ (15 моль) добавляли [1,1'-бифенил]-4-сульфонилхлорид (0,0085 моль) при 5°С в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч, добавляли 10% K_2CO_3. Смесь экстрагировали ДХМ. Органи-

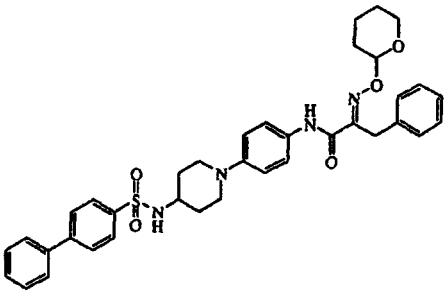
ческий слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха с выходом 4,1 г (>100%) промежуточного соединения 7.

c) Получение промежуточного соединения 8.



К смеси промежуточного соединения 7 (0,0071 моль) в ТГФ (140 мл) добавляли хлорид титана (0,0568 моль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч, выливали на лед, подщелачивали 3н. NaOH, экстрагировали ДХМ и фильтровали через целит. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха. Остаток выливали в диэтиловый эфир. Осадок фильтровали и сушили с выходом 0,9 г (31%) промежуточного соединения 8, точка плавления 200°C.

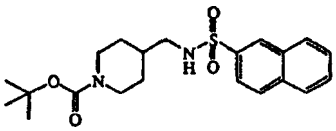
d) Получение промежуточного соединения 9.



К смеси промежуточного соединения 8 (0,0009 моль), промежуточного соединения 6 (0,0012 моль) и HOBT (0,0012 моль) добавляли EDC (0,0012 моль) в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли 10% K_2CO_3. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха. Остаток (0,94 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: $CH_2Cl_2/CH_3OH/NH_4OH$ 98,5/1,5/0,1). Чистые фракции собирали и растворитель упаривали. Остаток (0,5 г, 78%) кристаллизовали из CH_3CN/диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с выходом 0,426 г (66%) промежуточного соединения 9, точка плавления 190°C.

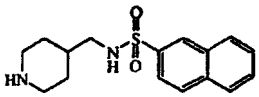
Пример A3.

a) Получение промежуточного соединения 10.



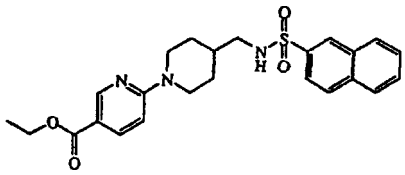
Раствор 2-нафталинсульфонилхлорида (0,015 моль) в ДХМ (30 мл) добавляли при 0°C к раствору 4-(аминометил)-1-пиперидинкарбоновой кислоты, 1,1-диметилэтилового эфира (0,014 моль) и ТЭА (0,022 моль) в ДХМ (30 мл) в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, выливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой промывали 10% K_2CO_3, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали. Остаток (6 г) кристаллизовали из диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с получением 4,8 г (84%) промежуточного соединения 10, точка плавления 148°C.

b) Получение промежуточного соединения 11.



Смесь промежуточного соединения 10 (0,0114 моль) в 3н. HCl (50 мл) и ТГФ (10 мл) перемешивали при 80°C в течение 12 ч, выливали в ледяную воду, подщелачивали NH_4OH и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали с получением 2,6 г (74%) промежуточного соединения 11, точка плавления 160°C.

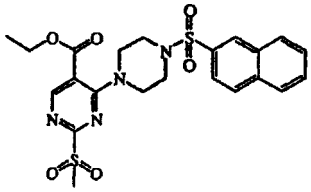
c) Получение промежуточного соединения 12.



К смеси промежуточного соединения 11 (0,0049 моль) в ДМФ (20 мл) порциями добавляли 60% гидрид натрия (0,0098 моль) при 0°C в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляли раствор этилового эфира 6-хлор-3-пиридинкарбоновой кислоты (0,0064 моль) в ДМФ (10 мл). Смесь перемешивали при 80°C в течение 12 ч, затем охлаждали, выливали в ледяную воду и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Осадок фильтровали, промывали водой, затем диэтиловым эфиром и сушили с получением 1,2 г (54%) промежуточного соединения 12, точка плавления 172°C.

Пример А4.

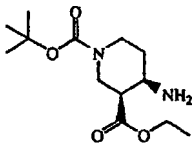
Получение промежуточного соединения 13.



К смеси 1-(2-нафталинилсульфонил)пиперазина (0,0075 моль) в ТГФ (35 мл) порциями добавляли 60% гидрид натрия (0,015 моль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и 30 мин в потоке N_2. По каплям добавляли раствор этилового эфира 4-хлор-2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0098 моль) в ТГФ (35 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч и 30 мин, выливали в ледяную воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали. Остаток (4,6 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: циклогексан/EtOAc от 80/20 до 20/80). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 0,9 г (24%) промежуточного соединения 13, точка плавления 80°C.

Пример А5.

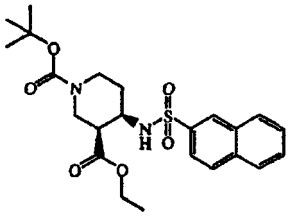
а) Получение промежуточного соединения 14.



CIS

Смесь 1-(1,1-диметилэтил) 3-этилового эфира 4-оксо-1,3-пиперидиндикарбоновой кислоты (0,02 моль), бензолметанамина (0,022 моль) и Pd/C (1 г) в EtOH (100 мл) гидрировали при 50°C в течение 48 ч под давлением 3 бар, затем фильтровали через целит. Фильтрат упаривали досуха. Остаток (5,9 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: $CH_2Cl_2/CH_3OH/NH_4OH$ 93/7/0,5). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 2,6 г (48%) промежуточного соединения 14 (CIS).

b) Получение промежуточного соединения 15.

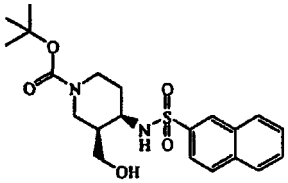


CIS

К смеси промежуточного соединения 14 (0,0095 моль) и ТЭА (0,0134 моль) в ДХМ (30 мл) добавляли раствор 2-нафталинсульфонилхлорида (0,0105 моль) в ДХМ (10 мл) при 5°C. Смесь перемешивали

при комнатной температуре в течение ночи, выливали в 10% K_2CO_3 и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха с получением 5,1 г (>100%) промежуточного соединения 15 (CIS). Данный продукт непосредственно использовали на следующей стадии реакции.

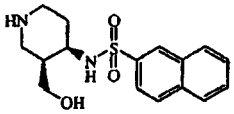
c) Получение промежуточного соединения 16.



CIS

К смеси тетрагидроалюмината(1-) лития (0,0098 моль) в ТГФ (40 мл) по каплям добавляли раствор промежуточного соединения 15 (0,0089 моль) в ТГФ (40 моль) при 5°C в потоке N_2. Смесь перемешивали в течение 2 ч. Добавляли EtOAc, затем холодную воду. Смесь экстрагировали EtOAc и фильтровали через целит. Органический слой отделяли, сушили($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха. Остаток (3,6 г) кристаллизовали из DIPE. Осадок фильтровали и сушили с получением 2,6 г (71%) промежуточного соединения 16 (CIS), точка плавления 190°C.

d) Получение промежуточного соединения 17.

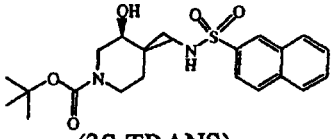


CIS

Смесь промежуточного соединения 16 (0,0061 моль) в HCl/iPrOH (50 мл) перемешивали при 50°C в течение 8 ч. Осадок фильтровали, промывали диэтиловым эфиром и сушили с получением 1,6 г (73%) промежуточного соединения 17 (CIS), точка плавления 206°C.

Пример A6.

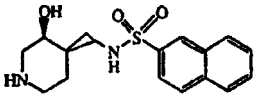
a) Получение промежуточного соединения 18.



(3S-TRANS)

К смеси α-гидроксибензолацетата 1,1-диметилэтил (3S-транс)-4-(аминометил)-3-гидрокси-1-пиперидин карбоксилата (1:1) (0,013 моль) и ТЭА (0,04 моль) в ДХМ (100 мл) по каплям добавляли раствор 2-нафталинсульфонилхлорида (0,016 моль) в ДХМ (40 мл) при 0°C в потоке N_2. Температуру смеси доводили до комнатной, смесь перемешивали в течение ночи, выливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой промывали 10% K_2CO_3, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали. Остаток (5,5 г) кристаллизовали из CH_3CN/DIPE. Осадок фильтровали и сушили. Часть (1 г) остатка (4,4 г, 80%) кристаллизовали в горячем CH_3CN. Осадок фильтровали, промывали диэтиловым эфиром и сушили с получением 0,3 г промежуточного соединения 18 (3S-TRANS), точка плавления 160°C.

b) Получение промежуточного соединения 19.

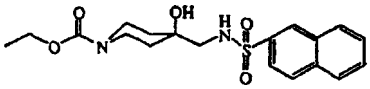


(3S-TRANS)

К смеси промежуточного соединения 18 (0,0036 моль) в iPrOH (20 мл) добавляли HCl/iPrOH (15 мл) при 0°C. Температуру смеси доводили до комнатной, смесь перемешивали и растворитель упаривали. Добавляли лед и воду. Органический слой подщелачивали NH_4OH. Осадок фильтровали, промывали диэтиловым эфиром и сушили с получением 0,9 г (78%) промежуточного соединения 19 (3S-TRANS), точка плавления 200°C.

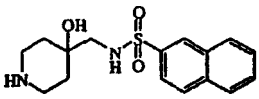
Пример А7.

a) Получение промежуточного соединения 20.



К смеси этилового эфира 4-(аминометил)-4-гидрокси-1-пиперидинкарбоновой кислоты (0,0198 моль) и ТЭА (0,036 моль) в ДХМ (100 моль) по каплям добавляли раствор 2-нафталинсульфонилхлорида (0,0238 моль) в ДХМ (40 мл) при 0°С. Температуру смеси доводили до комнатной в течение ночи, смесь выливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой промывали 10% K_2CO_3, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (7,6 г) кристаллизовали из CH_3CN/DIPE. Осадок фильтровали и сушили с получением 6,2 г (80%) промежуточного соединения 20, точка плавления 145°С.

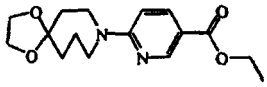
b) Получение промежуточного соединения 21.



Смесь промежуточного соединения 20 (0,0076 моль) в 6н. HCl (50 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 72 ч, затем охлаждали до комнатной температуры и растворитель упаривали. Смесь подщелачивали 3н. NaOH. Добавляли EtOAc. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Осадок фильтровали и сушили с получением 2,5 г (100%) промежуточного соединения 21.

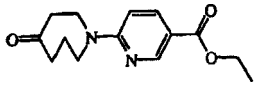
Пример А8.

a) Получение промежуточного соединения 22.



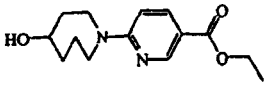
К смеси 1,4-диокса-8-азаспиро[4,6]ундекана (0,02 моль) в ДМФ (30 мл) порциями добавляли гидрид натрия 60% в масле (0,024 моль) при 5°С в потоке N_2. Температуру смеси доводили до комнатной и смесь перемешивали в течение 30 мин. Добавляли этиловый эфир 6-хлор-3-пиридинкарбоновой кислоты (0,024 моль). Смесь перемешивали при 90°С в течение 2 ч. Добавляли воду. Смесь несколько раз экстрагировали EtOAc. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали досуха с выходом 4,7 г (77%) промежуточного соединения 22.

b) Получение промежуточного соединения 23.



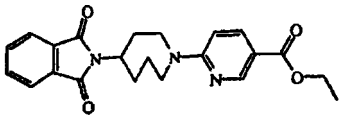
Смесь промежуточного соединения 22 (0,0153 моль) в 3н. HCl (45 мл) и MeOH (20 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 18 ч, выливали на лед, подщелачивали NH_4OH и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха. Остаток (2,3 г, 57%) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-35 мкм) (элюент: циклогексан/EtOAc 60/40). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 1,1 г (27%) промежуточного соединения 23.

c) Получение промежуточного соединения 24.



К смеси промежуточного соединения 23 (0,0041 моль) в MeOH (10 мл) добавляли боргидрид натрия (0,0046 моль) при 5°С в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли воду. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха с получением 1,2 г (100%) промежуточного соединения 24.

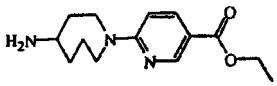
d) Получение промежуточного соединения 25.



Смесь промежуточного соединения 24 (0,041 моль), 1Н-изоиндол-1,3(2Н)-диона (0,0054 моль) и трифенилфосфина (0,0054 моль) в ТГФ (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в потоке N_2.

По каплям добавляли бис(1-метилэтиловый) эфир диазендикарбоновой кислоты (0,0054 моль). Смесь перемешивали в течение 18 ч. Добавляли 10% K_2CO_3. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха. Остаток (4,6 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент: циклогексан/EtOAc 70/30; 15-40 мкм). Две фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 0,55 г (33%) промежуточного соединения 25.

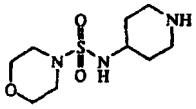
e) Получение промежуточного соединения 26.



К смеси промежуточного соединения 25 (0,0014 моль) в EtOH (6 мл) добавляли гидразин моногидрат (0,54 моль). Смесь перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 2 ч. Добавляли насыщенный раствор NaCl. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали досуха с получением 0,4 г (>100%) промежуточного соединения 26.

Пример A9.

Получение промежуточного соединения 37.

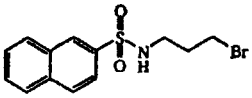


.HCl

К смеси N-[1-(фенилметил)-4-пиперидинил]-4-морфолинсульфонамида (0,0055 моль) в 1,2-дихлорэтане (20 мл) добавляли 1-хлорэтиловый эфир хлормуравьиной кислоты (0,0088 моль). Смесь перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 18 ч. Растворитель упаривали досуха. Остаток помещали в MeOH. Смесь перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение выходных. Растворитель упаривали досуха. Остаток кристаллизовали из EtOH/диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,95 г (60%) промежуточного соединения 37, точка плавления 240°C.

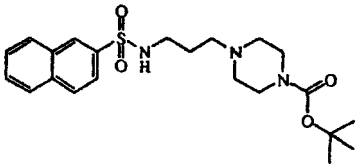
Пример A10.

a) Получение промежуточного соединения 38.



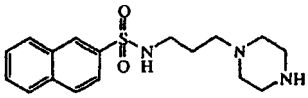
К раствору гидробромида 3-бром-1-пропанамина (0,01 моль) в ДХМ (25 мл) добавляли ТЭА (0,03 моль), затем раствор 2-нафталинсульфонилхлорида (0,01 моль) в ДХМ (20 мл) при 5°C в потоке N_2. Температуру смеси доводили до комнатной, затем смесь перемешивали в течение 2 ч и растворитель упаривали при 40°C досуха с получением 3,28 г (>100%) промежуточного соединения 38.

b) Получение промежуточного соединения 39.



Смесь промежуточного соединения 38 (0,01 моль), 1,1-диметилэтилового эфира 1-пиперазинкарбоновой кислоты (0,011 моль) и карбоната калия (0,03 моль) в ацетонитриле (40 моль) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли воду. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали досуха. Остаток (5,1 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: ДХМ/MeOH 98/2). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 3,7 г (85%) промежуточного соединения 39.

c) Получение промежуточного соединения 40.

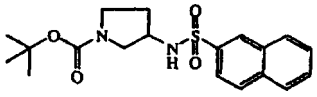


.HCl

К смеси промежуточного соединения 39 (0,0083 моль) в ТГФ (10 мл) добавляли 3н. HCl (35 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Растворитель упаривали досуха. Остаток помещали в EtOH. Растворитель упаривали досуха. Остаток выливали в диэтиловый эфир. Осадок фильтровали и сушили с получением 2,8 г (91%) промежуточного соединения 40, точка плавления 190°C.

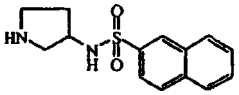
Пример A11.

a) Получение промежуточного соединения 41.



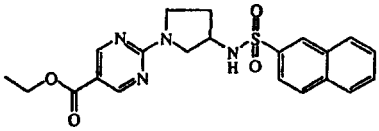
К раствору 1,1-диметилэтилового эфира 3-амино-1-пирролидинкарбоновой кислоты (0,041 моль) и ТЭА (0,0615 моль) в ДХМ (200 мл) добавляли раствор 2-нафталинсульфонилхлорида (0,043 моль) в ДХМ (50 мл) при 10°C в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч, затем выливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали. Остаток (46 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (20-45 мкм) (элюент: от ДХМ/EtOAc 90/10 до ДХМ/MeOH 95/5). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 18 г (>100%) промежуточного соединения 41.

b) Получение промежуточного соединения 42.



Смесь промежуточного соединения 41 (0,046 моль) в 3н. HCl (180 мл) и ТГФ (45 мл) перемешивали при 80°C в течение ночи, затем охлаждали до комнатной температуры, выливали в ледяную воду, подщелачивали NH_4OH и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (17 г) кристаллизовали из DIPE. Осадок фильтровали и сушили с получением 9,33 г (73%) промежуточного соединения 42, точка плавления 158°C.

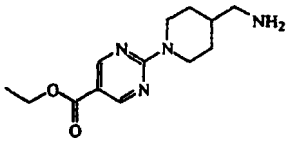
c) Получение промежуточного соединения 43.



К раствору промежуточного соединения 42 (0,015 моль) и карбонату калия (0,03 моль) в ацетонитриле (100 мл) по каплям добавляли раствор этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0195 моль) в ацетонитриле (40 мл) при 10°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и 30 мин, выливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (7,64 г) кристаллизовали из CH_3CN/диэтилового эфира. Осадок фильтровали, промывали диэтиловым эфиром и сушили с получением 2,21 г (35%) промежуточного соединения 43, точка плавления 180°C.

Пример A12.

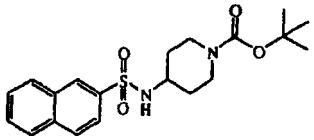
Получение промежуточного соединения 44.



К раствору 4-пиперидинметанамина (0,0868 моль) и карбоната калия (0,0434 моль) в ацетонитриле (200 мл) по каплям добавляли раствор этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0434 моль) в ацетонитриле (100 мл) при 10°C в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, выливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (14,18 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (20-45 мкм) (элюент: ДХМ/MeOH/NH_4OH от 90/10/1 до 80/20/2). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 3,7 г (32%) промежуточного соединения 44.

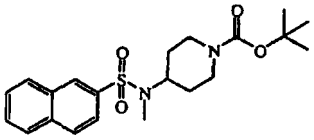
Пример A13.

a) Получение промежуточного соединения 45.



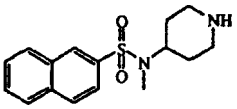
Смесь 1,1-диметилэтилового эфира 4-амино-1-пиперидинкарбоновой кислоты (0,025 моль) и ТЭА (0,035 моль) в ДХМ (30 мл) перемешивали при 5°C в потоке N_2. Добавляли раствор 2-нафталинсульфонилхлорида (0,0275 моль) в ДХМ (20 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли воду. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха. Остаток (11,6 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (20-45 мкм) (элюент: ДХМ/MeOH 98/2). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 7,5 г (77%) промежуточного соединения 45.

b) Получение промежуточного соединения 46.



К смеси промежуточного соединения 45 (0,0028 моль) в ДМФ (15 мл) порциями добавляли гидрид натрия 60% в масле (0,0033 моль) при комнатной температуре в потоке N_2. Смесь перемешивали в течение 1 ч. Добавляли йодметан (0,0033 моль). Смесь перемешивали при 80°C в течение 3 ч. Добавляли воду. Смесь экстрагировали EtOAc. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха. Остаток (1,24 г) растворяли в ацетонитриле. Смесь кристаллизовали из DIPE. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,64 г (56%) промежуточного соединения 46, точка плавления 130°C.

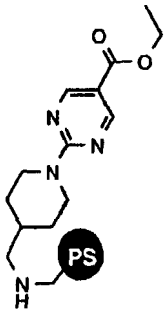
c) Получение промежуточного соединения 47.



К смеси промежуточного соединения 46 (0,0015 моль) в ДХМ (15 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (1,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч, выливали в лед и NH_4OH и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали досуха с выходом 0,474 г (100%) промежуточного соединения 47.

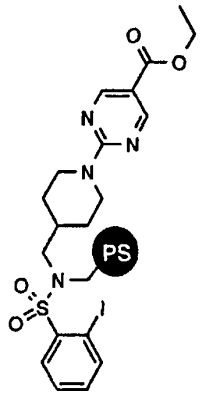
Пример A14.

a) Получение промежуточного соединения 48.



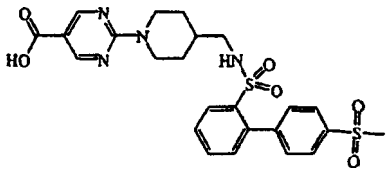
2-(3,5-Диметокси-4-формилфенокси)этоксиметил полистирол (1 ммоль, 0,66 ммоль/г, 1,515 г, NovaBiochem, Cat. Nr. 01-64-0261), промежуточное соединение 44 (1 ммоль) и изопропоксид титана (IV) (5 ммоль) растворяли в ДХМ (25 мл), и суспензию встряхивали в течение 1 ч. Затем добавляли натрий ацетокси боргидрид (5 ммоль), и полученную реакционную смесь встряхивали в течение ночи при комнатной температуре. Полимер фильтровали и дважды промывали ДХМ (10 мл) и дважды MeOH (10 мл), затем 1 раз ДХМ с 2% (об./об.) диизопропилэтиламином (10 мл) и, наконец, дважды ДХМ (10 мл). Полимер сушили в вакууме при 50°C в течение 2 ч с получением 1,825 г (количеств.) промежуточного соединения 48.

b) Получение промежуточного соединения 49.



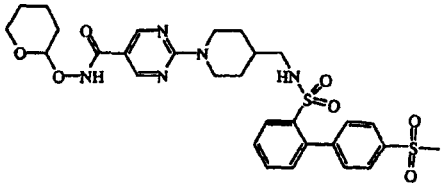
К охлажденной (0°С, ледяная баня) и перемешиваемой суспензии промежуточного соединения 48 (1 ммоль и ТЭА (1,5 ммоль) в ДХМ (25 мл) медленно добавляли раствор 2-йодбензолсульфонилхлорида (1,5 ммоль, 454 мг) в ДХМ (10 мл). Суспензии давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали еще 2 ч. Затем полимер фильтровали, дважды промывали ДХМ (10 мл) и дважды МеОН (10 мл), и затем еще 1 раз ДХМ (10 мл). Полимер сушили в вакууме при 50°С в течение 2 ч с получением 2,0675 г (количеств.) промежуточного соединения 49.

c) Получение промежуточного соединения 50.



Промежуточное соединение 49 разделяли на порции 0,1 ммоль, каждая в отдельной пробирке Bohdan Miniblock™ (поставщик: Mettler Toledo Autochem), и добавляли [4-(метилсульфонил)фенил]борную кислоту (0,8 ммоль), растворенную в 1,4-диоксане (2 мл) и водном 2М NaOH (1,6 ммоль). Смеси встряхивали в атмосфере азота в течение 30 мин. Затем добавляли $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0,02 ммоль), растворенный в NMP (0,5 мл), и смесь встряхивали в течение ночи при 80°С. Систему оставляли охлаждаться до комнатной температуры, и полимер фильтровали, промывали ДМФ (3х2 мл), водой (3х2 мл), ДМФ(3х2 мл), МеОН (3х2 мл), ДХМ (3х2 мл). Затем в каждый сосуд добавляли смесь трифторуксусной кислоты/дихлорметана/триизопропилсилана 49/49/2 (6 мл) и Bohdan Miniblock™ встряхивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Смеси фильтровали, полимер промывали ДХМ (2 мл), и фильтрат концентрировали. Продукт затем обрабатывали смесью ТГФ (1 мл) и водного NaOH (1 мл, 1н.) в течение 48 ч при комнатной температуре. Наконец, смесь нейтрализовали путем добавления водного HCl (1 мл, 1н.) и сушили при 70°С в потоке азота с получением промежуточного соединения 50.

d) Получение промежуточного соединения 51.



К промежуточному соединению 50 (0,1 ммоль) затем добавляли HOBT (0,13 ммоль), растворенный в сухом ТГФ (1 мл), EDCI (0,13 ммоль), растворенный в сухом ТГФ (1 мл) и ТЭА (0,15 ммоль). Смесь встряхивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Затем добавляли тетрагидропиран-О-защищенный гидроксиламин (0,13 ммоль), растворенный в сухом ТГФ (1 мл), и реакционную смесь встряхивали при комнатной температуре в течение ночи. Растворители упаривали, и продукт очищали, используя ВЭЖХ с нормальной фазой, получая промежуточное соединение 51.

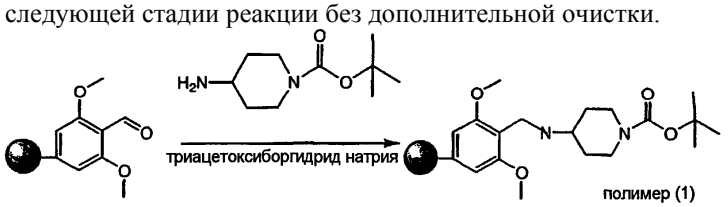
В. Получение конечных соединений.

Пример В1.

а) Получение полимера (1).

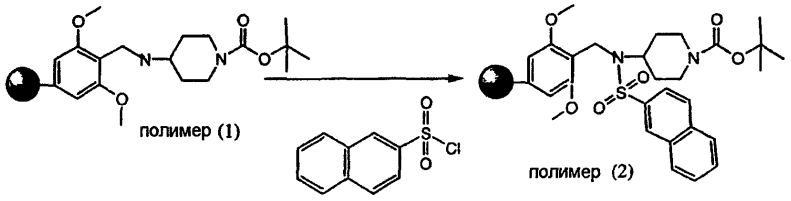
Смесь коммерчески доступного полимера Novabiochem 01-64-0261 (200 мг, загрузка: 0,94 ммоль/г), моно N-Boc-4-аминопиперидина (188 мг) и изопропоксида титана (IV) $(Ti(OiOr)_4$ (277 мкл) в ДХМ (4 мл) аккуратно встряхивали в течение 90 мин при комнатной температуре. Добавляли натрий триацетоксиборгидрид (199 мг), и реакционную смесь аккуратно встряхивали в течение ночи при комнатной температуре, затем полимер фильтровали, 1 раз промывали ДХМ, 1 раз МеОН, затем 2 раза 10% ДХМ/DIEA, 3

раза промывали сначала ДХМ, затем 3 раза метанолом, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН. Промывка давала полимер, определенный как полимер (1), который использовали на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.



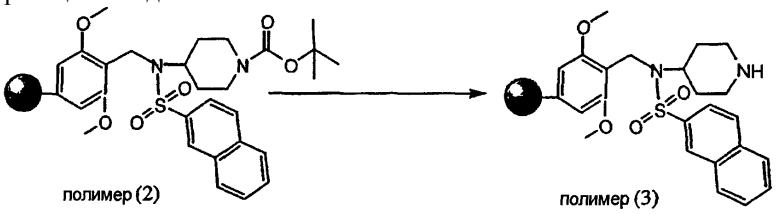
b) Получение полимера (2).

Полимер (1) промывали 3 раза ДХМ. К полимеру (1) добавляли 2-нафталинсульфонилхлорид (215 мг) в 4 мл ДХМ и DIEA (307 мкл), полимер аккуратно встряхивали в течение ночи, полимер фильтровали, промывали 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН. Все это давало полимер (2), который использовали на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.



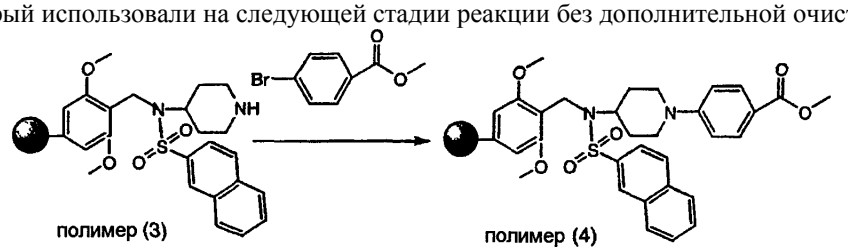
c) Получение полимера (3).

Полимер (2) 3 раза промывали ДХМ. К полимеру (2) добавляли 4 мл TMSOTf-2,6-лютидин (1M/1,5M) в ДХМ, полимер аккуратно встряхивали в течение 3 ч при комнтаной температуре, полимер фильтровали, промывали 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН. Все это давало полимер (3), который использовали на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.



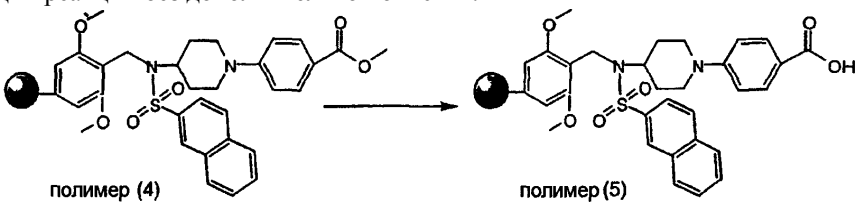
d) Получение полимера (4).

Полимер (3) 3 раза промывали толуолом. К полимеру (3) добавляли 4-бром метилбензоат (606 мг) в 3 мл толуола и BINAP (117 мг) и Cs_2CO_3 (326 мг), полимер аккуратно встряхивали в течение 45 мин при комнатной температуре в атмосфере азота. К реакционной смеси добавляли $Pd(OAc)_2$ в 1 мл толуола. Полимер аккуратно встряхивали в течение 18 ч при 110°С в атмосфере азота. Теплый полимер фильтровали, промывали 3 х ДМФ при 80°С, 3 х H_2O при 80°С, 3 х ДМФ при 80°С, промывали 3 х ДМФ при комнатной температуре, 3 х H_2O, 3 х ДМФ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ. Все это давало полимер (4), который использовали на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.



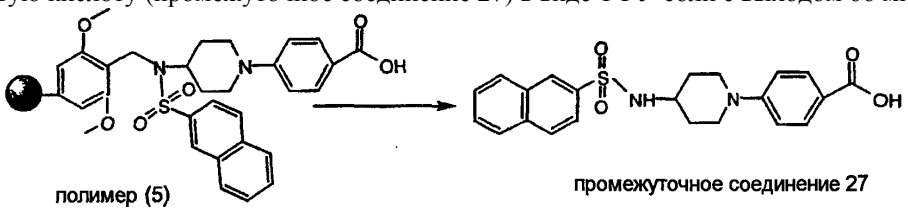
e) Получение полимера (5).

Полимер (4) 3 раза промывали NMP. К полимеру (4) добавляли триметилсиланолат калия ($KOSiMe_3$) (240 мг) в 4 мл NMP, полимер аккуратно встряхивали в течение 24 ч при 50°С, полимер фильтровали, промывали 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН, 3 х ДХМ, 3 х МеОН. Все это давало полимер (5), который использовали на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.



f) Получение промежуточного соединения 27.

Полимер (5) 3 раза промывали ДХМ. К полимеру (5) добавляли 5 мл ТФУ/TIS/ДХМ (5:2:93), полимер аккуратно встряхивали в течение 2 ч при комнатной температуре, полимер фильтровали, промывали ДХМ. Фильтрат продували в атмосфере азота при 50°С, добавляли ДХМ (2 мл) и продували в атмосфере азота при 50°С, добавляли ДХМ (2 мл) и продували в атмосфере азота при 50°С. Все это давало свободную карбоновую кислоту (промежуточное соединение 27) в виде ТФУ-соли с выходом 66 мг.

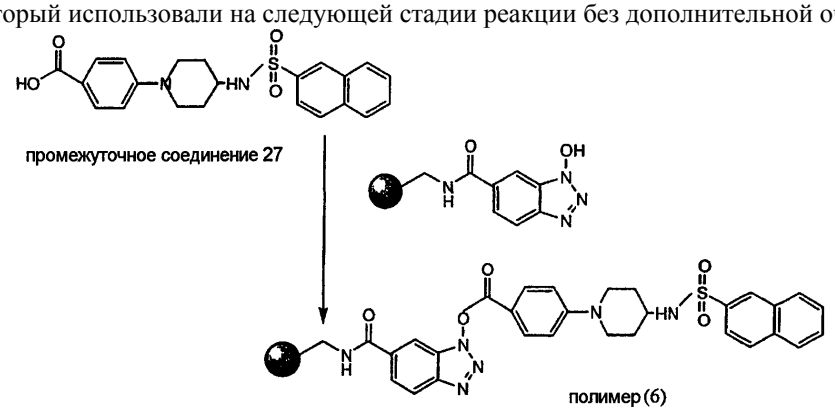


g) Получение полимера (6), способ А.

Промежуточное соединение 27 концентрировали при 50°С в атмосфере азота с тионилхлоридом ($SOCl_2$) (1 мл), добавляли ДХМ (2 мл) и продували в атмосфере азота при 50°С, добавляли ДХМ (2 мл) и продували в атмосфере азота при 50°С. Добавляли ДХМ (3 мл), и раствор добавляли к коммерчески доступному полимеру Novabiochem 01-64-0425 (300 мг, загрузка: 1,3 ммоль/г), к смеси добавляли 1 мл 2,6-лутидина и 1 мл ДХМ. Полимер аккуратно встряхивали в течение 1 ч, полимер фильтровали, промывали 3 х ДМФ, 3 х ДХМ, 3 х ДМФ. Все это давало полимер (7), который использовали на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.

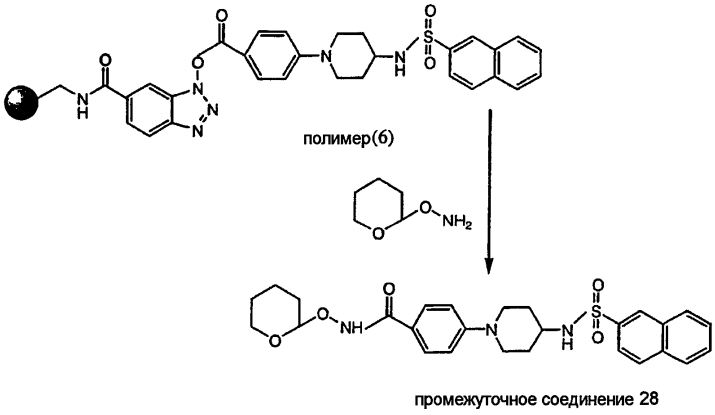
h) Получение полимера (6), способ В.

Промежуточное соединение 27 обрабатывали ДХМ, NEt_3 и H_2O, и добавляли несколько капель MeOH. Смесь сушили над 3н. Extrelute и продували в атмосфере азота при 50°С. Добавляли 3 раза ДХМ (3 мл) и продували в атмосфере азота при 50°С. Свободное основание растворяли в ДХМ/ДМФ 4мл/1мл, и раствор добавляли к коммерчески доступному полимеру Novabiochem 01-64-0425 (300 мг, загрузка: 1,3 ммоль/г), к смеси добавляли DMAP (10 мг). Полимер аккуратно встряхивали в течение 15 мин при комнатной температуре, добавляли DIPCDI (70 мкл). Полимер аккуратно встряхивали в течение 4 ч при комнатной температуре, полимер фильтровали, промывали 3 х ДМФ, 3 х ДХМ, 3 х ДМФ. Все это давало полимер (7), который использовали на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.



i) Получение промежуточного соединения 28.

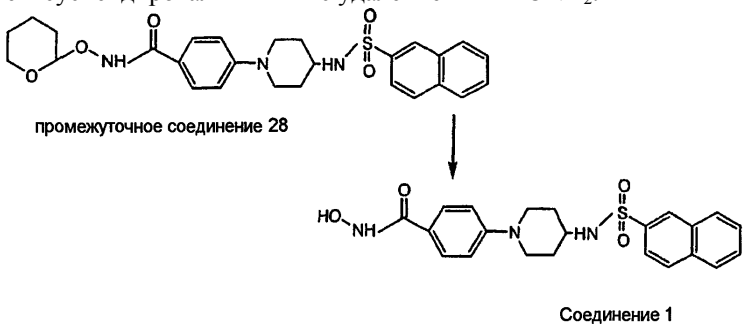
К полимеру (6) добавляли О-(тетрагидро-2Н-пиранил)гидроксиламин (60 мг) в 4 мл ДХМ, полимер аккуратно встряхивали в течение 18 ч при комнатной температуре, полимер фильтровали, промывали ДХМ (2 мл), фильтровали и продували в атмосфере азота при 50°С. Все это давало промежуточное соединение 28 с выходом 32 мг.



j) Получение соединения 1.

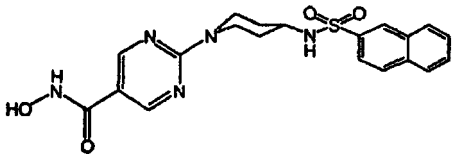
Промежуточное соединение 28 перемешивали в течение ночи в 5% ТФУ в MeOH (5 мл), реакционную смесь выливали в 4 мл H_2O и $NaHCO_3$ (300 мг), продукт 2 раза экстрагировали ДХМ (5 мл), слой ДХМ сушили над $MgSO_4$, фильтровали и продували в атмосфере азота при 50°C. Все это давало соединение 1 в количестве 10 мг.

Замечание: удаление защиты у THP-защищенного пиридина гидроксамовой кислоты проводили 2 х. Иногда соединение 1 суспендировали в DIPE с удалением THP-ONH_2.



Пример B2.

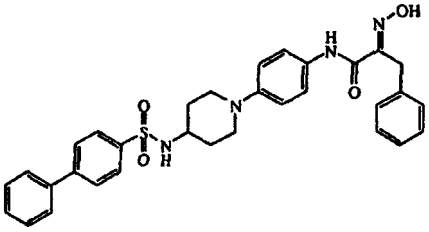
Получение соединения 2.



К раствору промежуточного соединения 5 (0,0004 моль) в MeOH (20 мл) и ДХМ (20 мл) добавляли ТФУ (4 мл) при 0°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Растворитель упаривали. Остаток кристаллизовали из диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,137 г (72%) соединения 2, точка плавления 200°C.

Пример B3.

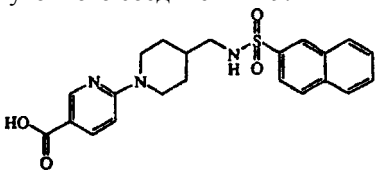
Получение соединения 3.



К смеси промежуточного соединения 9 (0,0003 моль) в MeOH (3 мл) добавляли метансульфоновую кислоту (0,25 моль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли метансульфоновую кислоту (0,25 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли лед. Смесь подщелачивали 10% K_2CO_3 и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали досуха. Остаток (0,21 г, 100%) кристаллизовали из ДХМ/MeOH. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,155 г (71%) соединения 3, точка плавления 262°C.

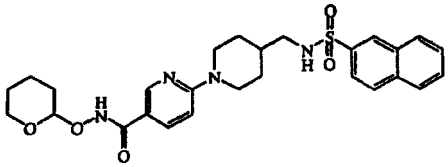
Пример B4.

Получение соли натрия промежуточного соединения 29.



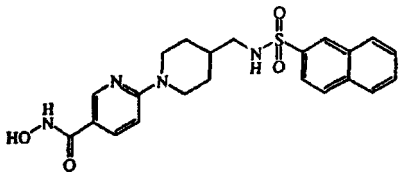
a) Смесь промежуточного соединения 12 (0,0024 моль) и NaOH (0,0048 моль) в EtOH (60 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 48 ч, затем охлаждали. Осадок фильтровали, промывали EtOH, затем диэтиловым эфиром и сушили с получением 0,95 г (89%) промежуточного соединения 29 (Na).

Получение промежуточного соединения 30.



b) К смеси промежуточного соединения 29 (0,0021 моль) в ДХМ (10 мл) и ТГФ (10 мл) добавляли О-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)гидроксиламин (0,0028 моль), затем раствор EDC (0,0028 моль) в ДХМ (20 мл), затем раствор HOBT (0,0028 моль) в ТГФ (20 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, выливали в воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (1,2 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: $CH_2Cl_2/CH_3OH/NH_4OH$ 96/4/0,1). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали. Остаток (0,38 г) кристаллизовали из диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,2 г промежуточного соединения 30, точка плавления 138°C.

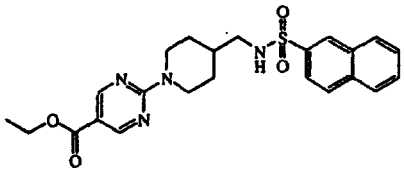
Получение соединения 4.



c) К смеси промежуточного соединения 30 (0,0009 моль) в MeOH (15 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (1 мл) при 0°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 72 ч. Растворитель упаривали. Остаток выливали в CH_3CN/диэтиловый эфир. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,29 г (69%) соединения 4, точка плавления 173°C.

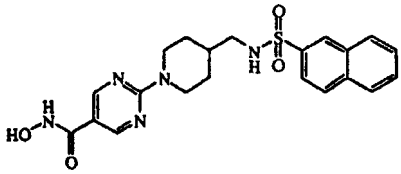
Пример B5.

Получение промежуточного соединения 31.



К раствору промежуточного соединения 11 (0,0033 моль) в ТГФ (20 мл) добавляли NaH (0,005 моль) при 0°C в потоке N_2. Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Добавляли раствор 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты, этиловый эфир (0,0043 моль) в ТГФ (10 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч, выливали в ледяную воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (1,4 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-35 мкм) (элюент: циклогексан/EtOAc 70/30). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали. Остаток (0,94 г, 63%) кристаллизовали из диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,65 г промежуточного соединения 31, точка плавления 186°C.

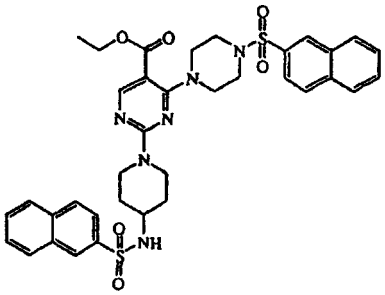
Промежуточное соединение 31 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,246 (77% на последней стадии) соединения 5, точка плавления 262°C.



соединение 5

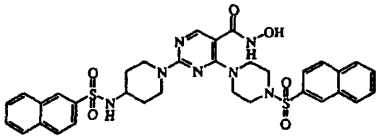
Пример B6.

Получение промежуточного соединения 32.



К раствору N-4-пиперидинилбензолсульфонамида, моногидрохлорида (0,0004 моль) в ТГФ (4 мл) в потоке N_2 порциями добавляли гидрид натрия 60% (0,0006 моль) при комнатной температуре в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и 30 мин. По каплям добавляли раствор промежуточного соединения 13 (0,0004 моль) в ТГФ (4 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, выливали в ледяную воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (0,68 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (10 мкм) (элюент: ДХМ 100). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали. Остаток (0,376 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (10 мкм) (элюент: циклогексан/EtOAc 70/30). Две фракции собирали, и растворитель упаривали. Остаток несколько раз сушили диэтиловым эфиром с получением 0,208 г (36%) промежуточного соединения 32.

Промежуточное соединение 32 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,03 г (50%) соединения 6, точка плавления 80°C.

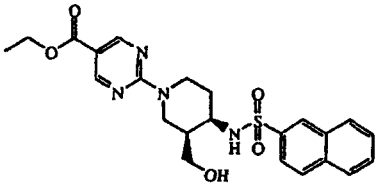


трифторацетат (1:1)

соединение 6

Пример B7.

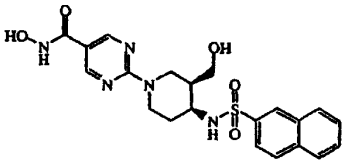
Получение промежуточного соединения 33.



CIS

Смесь промежуточного соединения 17 (0,0024 моль), этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0032 моль) и K_2CO_3 (0,0074 моль) в ацетонитриле (15 мл) перемешивали при 90°C в течение 8 ч, выливали в воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали досуха. Остаток (0,63 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: $CH_2Cl_2/CH_3OH/NH_4OH$ 98/2/0,1). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали. Остаток (0,75 г, 64%) кристаллизовали из CH_3CN/диэтилового эфира/DIPE. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,5 г (43%) промежуточного соединения 33 (CIS), точка плавления 155°C.

Промежуточное соединение 33 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,16 г (75%) соединения 7 (CIS), точка плавления 203°C.

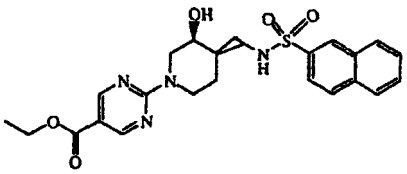


(CIS)

соединение 7

Пример B8.

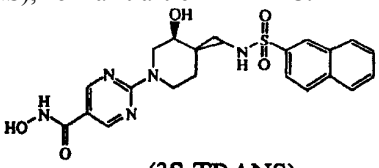
Получение промежуточного соединения 34.



(3S-TRANS)

Смесь промежуточного соединения 19 (0,0028 моль), этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0034 моль) и K_2CO_3 (0,0056 моль) в ацетонитриле (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, выливали в воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой промывали водой, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (1,3 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: $CH_2Cl_2/CH_3OH/NH_4OH$ 98/2/0,1). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали. Остаток (0,91 г, 68%) кристаллизовали из ацетонитрила. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,45 г промежуточного соединения 34 (3S-TRANS), точка плавления 130°C.

Промежуточное соединение 34 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,09 г (53%) соединения 8 (3S-TRANS), точка плавления 224°C.

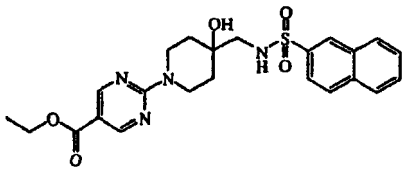


(3S-TRANS)

соединение 8

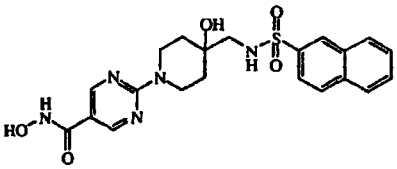
Пример B9.

Получение промежуточного соединения 35.



Смесь промежуточного соединения 21 (0,0056 моль), этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0073 моль) и K_2CO_3 (0,0112 моль) в ацетонитриле (80 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, выливали в ледяную воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой промывали водой, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток (2 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент: $CH_2Cl_2/CH_3OH/NH_4OH$ 96/4/0,1). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали. Остаток (0,4 г, 15%) кристаллизовали из диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,28 г промежуточного соединения 35, точка плавления 208°C.

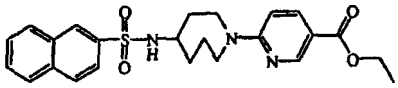
Промежуточное соединение 35 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,125 г соединения 9, точка плавления 228°C.



соединение 9

Пример B10.

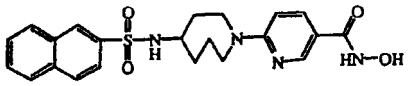
Получение промежуточного соединения 36.



К смеси промежуточного соединения 26 (0,0036 моль) и ТЭА (0,005 моль) в ДХМ (10 мл) добавляли раствор 2-нафталинсульфонилхлорида (0,0043 моль) в ДХМ (10 мл) при комнатной температуре в потоке N_2. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли воду. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали досуха. Осадок (1,69 г) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (15-40 мкм) (элюент:

$CH_2Cl_2/CH_3OH/NH_4OH$ 98/2/0,1). Чистые фракции собирали, и растворитель упаривали с получением 1 г (61%) промежуточного соединения 36.

Промежуточное соединение 36 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,7 г (93%) соединения 10, точка плавления 142°C.

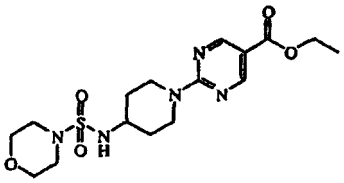


трифторацетат (1:1)

соединение 10

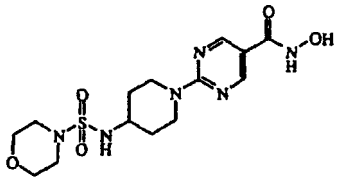
Пример B11.

Получение промежуточного соединения 52.



Смесь промежуточного соединения 37 (0,0017 моль), этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0022 моль) и карбоната калия (0,0052 моль) в ацетонитриле (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли воду. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали досуха. Остаток (0,78 г) кристаллизовали из диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,426 г (61%) промежуточного соединения 52, точка плавления 135°C.

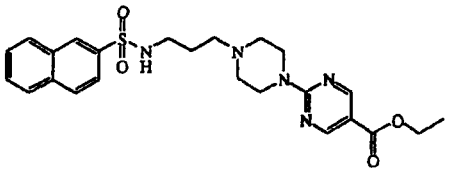
Промежуточное соединение 52 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,064 г (78%) соединения 25, точка плавления 217°C.



соединение 25

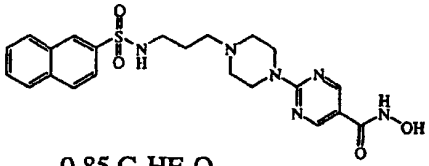
Пример B12.

Получение промежуточного соединения 53.



Смесь промежуточного соединения 40 (0,0027 моль), этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0035 моль) и карбоната калия (0,0081 моль) в ацетонитриле (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли воду. Осадок фильтровали, промывали водой, затем диэтиловым эфиром и сушили с получением 0,96 г (74%) промежуточного соединения 53, точка плавления 132°C.

Промежуточное соединение 53 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,106 г (59%) соединения 26, точка плавления 115°C.

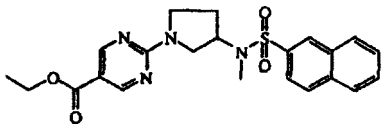


$.0.85\ C_2HF_3O_2$
$.1.11\ H_2O$

соединение 26

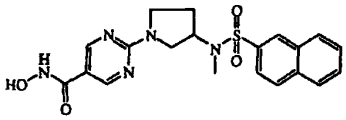
Пример B13.

Получение промежуточного соединения 54.



К раствору промежуточного соединения 43 (0,0008 моль) в ДМФ (5 мл) добавляли гидрид натрия (0,0017 моль) при комнатной температуре в потоке N_2. Смесь перемешивали в течение 30 мин. Добавляли йодметан (0,0013 моль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, выливали в ледяную воду и экстрагировали EtOAc. Органический слой промывали водой, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали с получением 0,38 г (100%) промежуточного соединения 54.

Промежуточное соединение 54 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,155 г (73%) соединения 27, точка плавления 158°C.

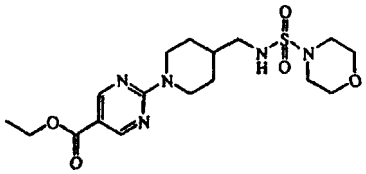


. 0.51 $C_2HF_3O_2$

соединение 27

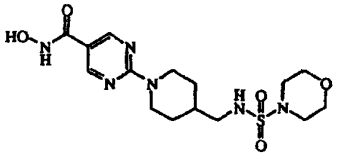
Пример B14.

Получение промежуточного соединения 55.



К раствору промежуточного соединения 44 (0,0061 моль) и ТЭА (0,0122 моль) в 1,2-дихлорэтане (7 мл) по каплям добавляли раствор 4-морфолинсульфонилхлорида (0,0061 моль) в 1,2-дихлорэтане (3 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч, выливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали, и растворитель упаривали. Остаток кристаллизовали из MeOH/диэтилового эфира. Осадок фильтровали, промывали диэтиловым эфиром и сушили с получением 1,245 г (49%) промежуточного соединения 55, точка плавления 189°C.

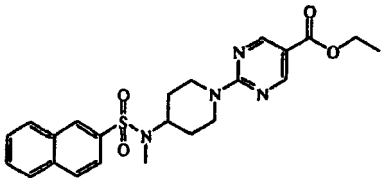
Промежуточное соединение 55 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,449 г (83%) соединения 28, точка плавления 217°C.



соединение 28

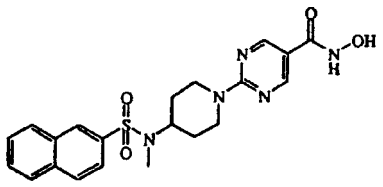
Пример B15.

Получение промежуточного соединения 56.



Смесь промежуточного соединения 47 (0,0015 моль), этилового эфира 2-(метилсульфонил)-5-пиримидинкарбоновой кислоты (0,0018 моль) и карбоната калия (0,0045 моль) в ацетонитриле (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли воду. Смесь экстрагировали ДХМ. Органический слой отделяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и растворитель упаривали досуха. Остаток (0,78 г) кристаллизовали из DIPE/диэтилового эфира. Осадок фильтровали и сушили с получением 0,42 г (61%) промежуточного соединения 56, точка плавления 143°C.

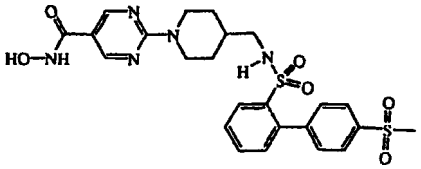
Промежуточное соединение 56 обрабатывали так же, как описано в примере [B4], с получением 0,2 г (75%) соединения 29, точка плавления >260°C.



соединение 29

Пример B16

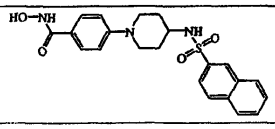
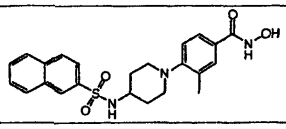
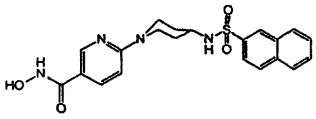
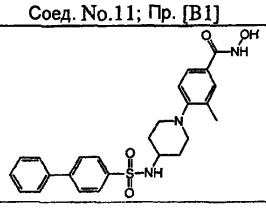
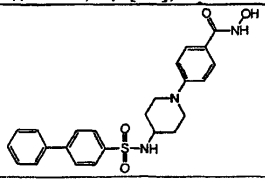
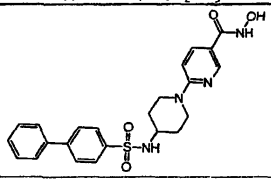
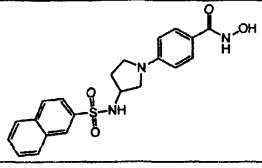
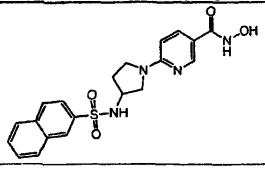
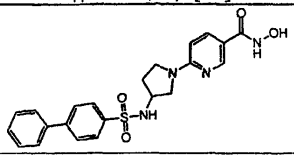
Получение соединения 30.

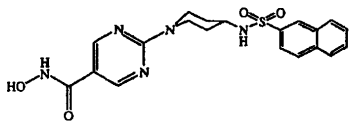
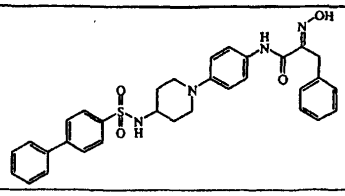
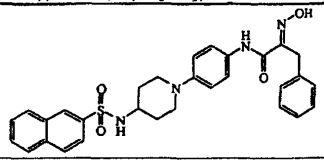
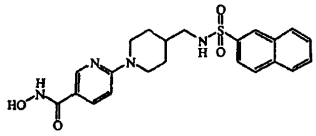
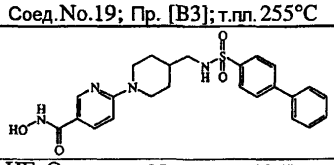
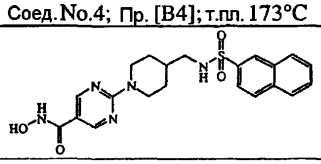
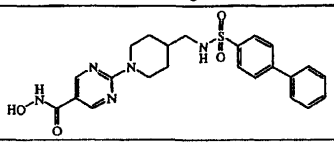
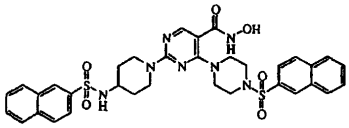
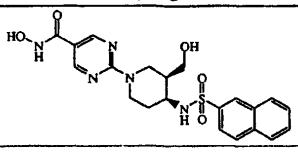
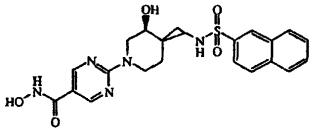
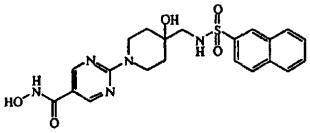
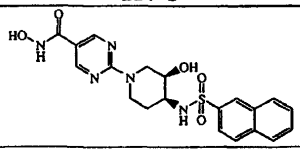


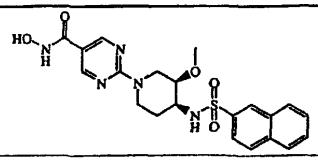
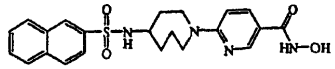
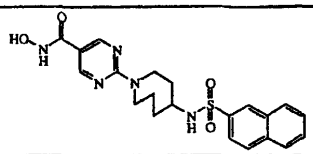
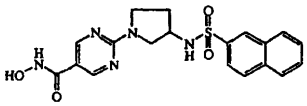
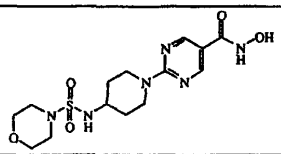
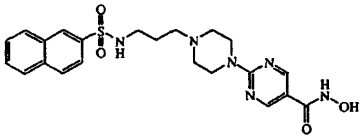
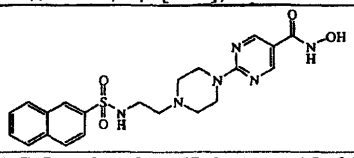
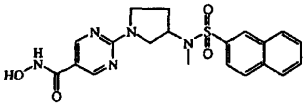
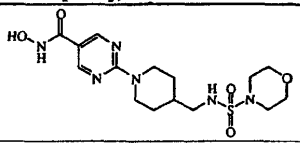
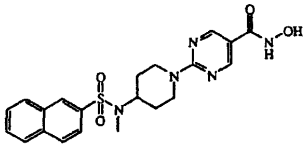
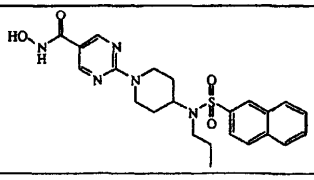
Промежуточное соединение 51 обрабатывали 5% раствором трифторуксусной кислоты в смеси ДХМ/MeOH (1/1, 2 мл) в течение 7 дней. Растворители упаривали при комнатной температуре в потоке азота, и полученные масла обрабатывали 2 раза 5% раствором трифторуксусной кислоты в смеси ДХМ/MeOH (1/1, 2 мл). Полученную реакционную смесь встряхивали еще 7 дней. Растворители затем упаривали при комнатной температуре в потоке азота, а затем добавляли 1,4-диоксан и повторяли процедуру концентрирования. Затем образцы сушили в потоке азота в течение ночи при 40°C для полного удаления защиты с получением 7 мг соединения 30.

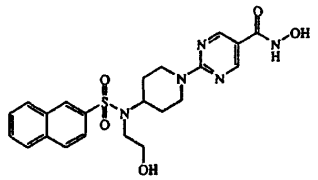
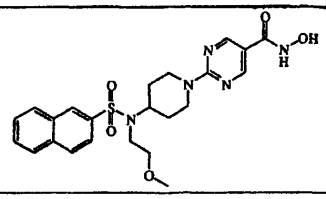
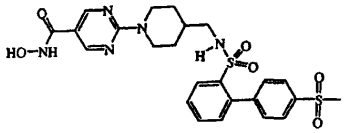
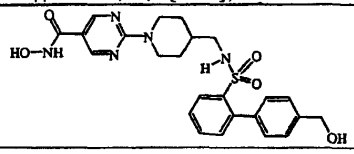
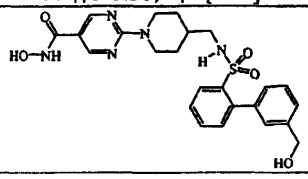
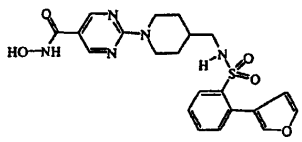
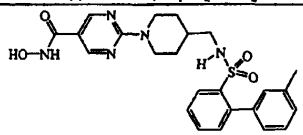
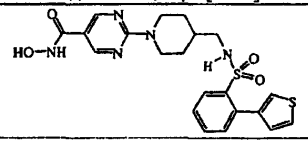
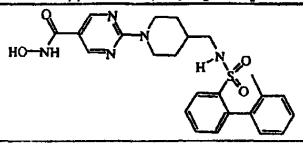
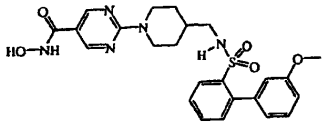
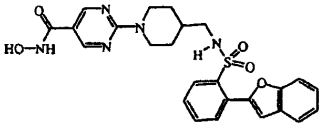
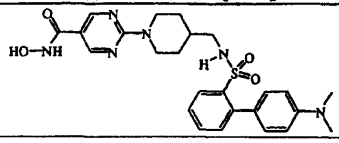
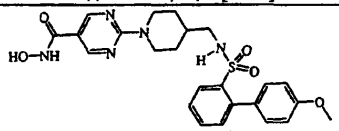
В табл. F-1 перечислены соединения, которые получали в соответствии с вышеуказанными примерами. В таблице использовали следующие аббревиатуры: .$C_2HF_3O_2$ обозначает трифторацетатную соль, Соед. No. обозначает соединение номер. Прим. [Bn°] обозначает способ, описанный в примере Bn°. Некоторые соединения были охарактеризованы посредством точки плавления (Т.пл.).

Таблица F-1

	
Соед. No.1; Пр. [B1]	Соед. No.11; Пр. [B1]
	
Соед. No.12; Пр. [B1]; т.пл. 163°C	Соед. No.13; Пр. [B1]
	
Соед. No.14; Пр. [B1]	Соед. No.15; Пр. [B1]
	
Соед. No.16; Пр. [B1]	Соед. No.17; Пр. [B1]
	
Соед. No.18; Пр. [B1]	

	
Соед. No.2; Пр. [B2], т.пл.200°C	Соед. No. 3; Пр.[B3]; т.пл.262°C
	
Соед.No.19; Пр. [B3]; т.пл. 255°C	Соед.No.4; Пр. [B4]; т.пл. 173°C
	
$C_2HF_3O_2$, Соед. No.20; Пр. [B4]; т.пл. 220°C	Соед. No. 5; Пр. [B5]; т.пл. 262°C
	
.0.7 CH_3OH; Соед. No.21; Пр. [B5]; т.пл. 284°C	$C_2HF_3O_2$; Соед.No.6; Пр. [B6]; т.пл. 80°C
	
(CIS); Соед. No.7; Пр. [B7]; т.пл 203°C	(3S-TRANS); Соед. No.8; Пр. [B8]; т.пл. 224°C
	
Соед.No.9; Пр. [B9]; т.пл. 228°C	CIS, Соед. No.22; Пр. [B9]; т.пл.245°C

	
(B-CIS); Соед.No.23; Пр. [B9]; т.пл. 210°C	$C_2HF_3O_2$; Соед.No.10; Пр. [B10]; т.пл. 142°C
	
. 0.23 $C_6H_{14}O$;Соед.No.24; Пр. [B10]; т.пл. 110°C	
	
Соед. No.31; Пр. [B5]; т.пл. 190°C	Соед. No.25; Пр. [B11]; т.пл. 217°C
	
.0.82 $C_2HF_3O_2$ .1.11 H_2O; Соед. No.26; Пр. [B12]; т.пл. 115°C	.0.82 $C_2HF_3O_2$ .0.82 H_2O; Соед. No.32; Пр. [B12]; т.пл. 145°C
	
$C_2HF_3O_2$; Соед. No.27; Пр. [B13]; т.пл. 158°C	Соед. No.28; Пр. [B14]; т.пл. 217°C
	
Соед. No.29; Пр. [B15]; т.пл. >260°C	Соед. No.33; Пр. [B15]; т.пл. 230°C

	
Соед.No.34; Пр. [B15]; т.пл.202°C	Соед.No.35; Пр. [B15]; т.пл.211°C
	
Соед.No.30; Пр. [B16]	Соед.No.36; Пр. [B16]
	
Соед.No.37; Пр. [B16]	Соед.No.38; Пр. [B16]
	
Соед.No.39; Пр. [B16]	Соед.No.40; Пр. [B16]
	
Соед.No.41; Пр. [B16]	Соед.No.42; Пр. [B16]
	
Соед.No.43; Пр. [B16]	Соед.No.44; Пр. [B16]
	
Соед.No.45; Пр. [B16]	

С. Фармакологический пример.

В исследовании in vitro ингибирования гистон-деацетилазы (смотри пример С.1) измеряли ингибирование ферментной активности HDAC в результате действия соединений формулы (I).

Клеточная активность соединений формулы (I) определяли на опухолевых клетках A2780, используя калориметрический анализ на клеточную цитотоксичность или выживание (Mosmann Tim, Journal of Immunological Methods 65: 55-63, 1983) (см. пример С.2).

Кинетические параметры растворимости в водной среде оценивали как способность соединений оставаться в водном растворе при растворении (см. пример С.3). Маточные растворы DMSO растворяли в однократном водном буферном растворе в 3 стадии. Для каждого разведения измеряли мутность с помощью нефелометра.

Проникающей способностью препарата является его способность перемещаться из одной среды в другую, более конкретно, его способность перемещаться через интерстициальную мембрану в ток крови и/или из тока крови к цели. Проникающая способность (смотри пример С.4) может быть измерена путем образования зафиксированной на фильтре искусственной мембраны, состоящей из фосфолипидного бислоя. В анализе зафиксированной на фильтре искусственной мембраны, из 96-луночной микроплашки и 96-луночной плашки с фильтром формировали «сэндвич» так, чтобы каждая составная лунка была разделена на две камеры с донорным раствором на дне и акцепторным раствором на поверхности, разделенные 125 мкм диском микрофильтра (0,45 мкм поры), покрытым 2% (мас./об.) додекановым раствором диолеоилфосфатидилхолина, при таких условиях, чтобы внутри каналов фильтра образовывались муль-

тиламмелярные бислои при контакте системы с водным буферным раствором. Проникающую способность соединений через данную искусственную мембрану измеряли в см/с. Целью является наблюдение за проникающей способностью препарата через искусственную мембрану при 2 различных pH: 4,0 и 7,4. Обнаружение соединения проводили с помощью УФ-стектрометра при оптимальной длине волны от 250 до 500 нм.

Метаболизм лекарственных препаратов обозначает что липидо-растворимые ксенобиотики или эндобиотики ферментативно трасформируются в полярные, водорастворимые и экскретируемые метаболиты. Главным органом лекарственного метаболизма является печень. Продукты метаболизма часто менее активны, чем исходный препарат, или неактивны. Однако некоторые метаболиты могут иметь повышенную активность или токсические эффекты. Такой метаболизм лекарственных препаратов может включать процессы «детоксикации» и «токсикации». Одной из основных ферментативных систем, которая определяет способность организма выводить лекарственные препараты и химические вещества, являются цитохром P450 монооксигеназы, которые представляют собой NADPH-зависимые ферменты. Метаболическая стабильность соединений может быть определена in vitro, используя субклеточную ткань человека (смотри пример C.5). Здесь метаболическая стабильность соединений выражается как процент препарата, метаболизированного через 15 мин инкубации этих соединений микросомами. Количественный анализ соединений проводили с помощью LC-MS анализа.

Опухолевый супрессор p53 транскрипционно активирует большое число генов, включая ген WAF1/CIP1 в ответ на ДНК повреждение. Продукт гена WAF1, размером 21 кДа, был найден в комплексе, включающем циклины, циклин зависимые киназы (CDK) и ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA) в нормальных клетках, но не в трансформированных клетках, и, видимо, является универсальным ингибитором активности CDK. Одним из результатов присоединения p21WAF1 к CDK и его ингибирования CDK является предотвращение CDK-зависимого фосфорилирования и последующее инактивирование белка Rb, который является основным для клеточного цикла. Индукция p21WAF1 в ответ на клеточный контакт с HDAC ингибитором является поэтому эффективным и специфическим индикатором ингибирования клеточного цикла как в G1, так и в G2 контрольные точки.

Способность соединений индуцировать p21WAF1 измеряли с помощью иммуноферментного анализа p21WAF1 (WAF1 ELISA of Oncogene). Анализ p21WAF1 представляет собой «сэндвич» фермент иммуноанализ, использующий как моноклональные мышиные антитела, так и поликлональные антитела кролика. Поликлональные антитела кролика, особенно для белка WAF1 человека, фиксировали на поверхности пластиковых лунок из набора. Любой присутствующий в образце p21WAF, который должен быть исследован, связывается с фиксированным антителом. Биотинилированные моноклональные антитела, выступающие как детектор, также распознают белок p21WAF1 человека и связываются с любым p21WAF1, удерживаемым фиксированным антителом. Детекторное антитело, в свою очередь, присоединяется с помощью конъюгата пероксидазы хрена-стрептавидина. Пероксидаза хрена катализирует преобразование хромогенного субстрата тетра-метилбензидина из бесцветного раствора в синий раствор (или желтый после добавления стоп-реагента), интенсивность которого пропорциональная количеству p21WAF1 белка, присоединенного к плашке. Продукт цветовой реакции количественно оценивают, используя спектрометр. Колечественный анализ проводят с помощью построения стандартной кривой, используя известные концентрации p21WAF1 (при лиофилизации) (смотри пример C.6).

Специфические ингибиторы HDAC не должны ингибировать другие ферменты, такие как белки CYP P450, находящиеся в большом количестве. Белки CYP P450 (экспрессирующиеся в E.coli) 3A4, 2D6 en 2C9 преобразуют свои специфические субстраты в флуоресцентные молекулы. Белок CYP3A4 преобразовывает 7-бензилокситрифторметил кумарин (BFC) в 7-гидрокситрифторметил кумарин. Белок CYP2D6 преобразует 3-[2-(N,N-диэтил-N-метиламино)этил]-7-метокси-4-метилкумарин (AMMC) в гидрохлорид 3-[2-(N,N-диэтиламино)этил]-7-гидрокси-4-метилкумарина и белок CYP2C9 преобразует 7-метокси-4-трифторметил кумарин (MFC) в 7-гидрокситрифторметил кумарин. Соединения, ингибирующие ферментную реакцию, снижают флуоресцентный сигнал (смотри пример C.7).

Пример C1. Исследование ингибирования гистон-деацетилазы in vitro.

Ядерные экстракты HeLa (поставщик: Biomol) инкубировали в количестве 60 мкг/мл с $2x10^{-8}$M радиомеченным пептидным субстратом. В качестве субстрата для измерения активности HDAC использовали синтетический пептид, то есть 14-21 аминокислоты гистона H4. Субстрат биотинилирован на NH_2-концевой части спейсером 6-аминогексановой кислотой, и защищен на COOH-концевой части аминогруппой и специфически [^{3}H]-ацетилирован на 16 лизине. В буфер, содержащий 25 мМ Hepes, 1M сахарозы, 0,1 мг/мл BSA и 0,01% Triton X-100 с pH 7,4, добавляли субстрат, биотин-(6-аминогексановая кислота)Gly-Ala-([^{3}H]-ацетил-Lys-Arg-His-Arg-Lys-Val-NH_2). Через 30 мин реакцию деацетилирования прекращали добавлением HCl и уксусной кислоты (конечная концентрация 0,035 мМ и 3,8 мМ, соответственно). После прекращения реакции свободный ^{3}H-ацетат экстрагировали этилацетатом. После перемешивания и центрифугирования, радиоактивность аликвоты верхней (органической) фазы подсчитывали β-счетчиком.

Для каждого эксперимента параллельно исследовали контроли (содержащие ядерный экстракт HeLa и DMSO без соединения), «пустой образец» (содержащий DMSO без ядерного экстракта HeLa или

соединения) и образцы (содержащие соединение, растворенное в DMSO, и ядерный экстракт HeLa). В первом образце, исследовали соединения с концентрацией 10^{-5} М. Если соединения демонстрировали активность при 10^{-5} М, строили кривую концентрация-ответ, где тестировались соединения с концентрацией от 10^{-5} до 10^{-12} М. В каждом исследовании значение «пустышки» вычитали как из значения контроля, так и из значения образца. В контрольном образце было 100% деацетилирование субстрата. Для каждого образца радиоактивность выражалась как процент среднего значения контролей. Когда необходимо, подсчитывали значения IC_{50} (концентрация препарата, необходимая для снижения клеточного роста на 50% по сравнению с контролем), используя пробит-анализ для оцененных данных. Эффекты исследуемых соединений в данном случае выражались как pIC_{50} (негативные log-значения IC_{50}-значения). Все исследованные соединения имели ферментативную активность в тестированной концентрации 10^{-5} М и 42 соединений имели $pIC_{50} \geq 5$ (см. табл. F-2).

Пример С2. Определение противопролиферативной активности в отношении A2780 клеток.

Все исследуемые соединения растворяли в DMSO и затем делали разведения в культуральной среде. В анализах клеточной пролиферации конечные концентрации DMSO не превышали 0,1% (об./об.). Контроли содержали клетки A2780 и DMSO без добавления соединения и «пустышки» содержали DMSO, но не содержали клетки. MTT растворяли в количестве 5 мг/мл в PBS. Готовили глициновый буфер, содержащий 0,1 М глицина и 0,1 М NaCl, забуференного до pH 10,5 NaOH (1н.) (все реагенты от фирмы Merck).

Клетки карциномы яичника человека A2780 (любезно предоставлены Dr. T.C. Hamilton [Fox Chase Cancer Centre, Pennsylvania, USA]) культурировали в среде RPMI 1640 с добавками 2 мМ L-глютамина, 50 мкг/мл гентамицина и 10% бычьей эмбриональной сыворотки.

Клетки хранили, как обычно, в виде монослойных культур при 37°С в атмосфере с влажностью 5% CO_2. Клетки пассировали 1 раз в неделю, используя раствор трипсина/EDTA в пропорции 1:40. Все среды и добавки были получены от Life Technologies. Клетки не имели загрязнений микоплазмой, что было определено с помощью набора Gen-Probe Mycoplasma Tissue Culture (поставщик: BioMerieux).

Клетки высевали в 96-луночные культуральные плашки NUNC™ (поставщик: Life Technologies) и оставляли клетки адгезироваться на пластик в течение ночи. Используемая плотность выращивания клеток в плашках составляла 1500 клеток на лунку с общим объемом 200 мкл среды. После того как клетки адгезировались на плашках, среду меняли и добавляли лекарственные средства и/или растворители до конечного объема 200 мкл. Через четыре дня инкубирования среду заменяли 200 мкл свежей среды и плотность клеток и их жизнеспособность оценивали, используя анализ, основанный на MTT. В каждую лунку добавляли раствор 25мкл MTT, и клетки инкубировали еще 2 ч при 37°С. Среду затем аккуратно отсасывали, и продукт голубой MTT-формазин солюбилизировали, добавляя 25 мкл глицинового буфера, а затем 100 мкл DMSO. Микроплашки для тестов встряхивали в течение 10 мин на шейкере для микроплашек и, используя 96-луночный спекрофотометр (поставщик: Sopachem), измеряли оптическую плотность при 540 нм. В рамках эксперимента, усредняли результаты 3 копирующих друг друга лунок каждого условия эксперимента. Для исходных целей скрининга, соединения исследовали в одной фиксированной концентрации 10^{-6} М. Для активных соединений повторяли эксперименты для построения кривых максимальная концентрация-ответ. Для каждого эксперимента, параллельно ставили контроли (без препарата) и «пустышку» (без клеток и препарата). Значение «пустышки» отнимали от всех значений контроля и образцов. Для каждого образца среднее значение клеточного роста (в единицах оптической плотности) выражали как процент среднего значения роста клеток в контроле. Если необходимо, подсчитывали значения IC_{50} (концентрация препарата, необходимая для снижения клеточного роста на 50% по сравнению с контролем), используя пробит-анализ для оцененных данных (Finney, D.J., Probit Analyses, 2nd Ed. Chapter 10, Graded Responses, Cambridge University Press, Cambridge 1962). Эффекты исследуемых соединений в данном случае выражались как pIC_{50} (негативные log-значения IC_{50}-значения). Большинство исследованных соединений имели ферментативную активность в тестированной концентрации 10^{-6} М и 41 соединение имело $pIC_{50} \geq 5$ (см. табл. F-2).

Пример С3. Кинетическая растворимость в водной среде.

В первой стадии растворения к 100 мкл фосфат-цитратного буфера с pH 7,4 добавляли 10 мкл концентрированного маточного раствора активного соединения, растворенного в DMSO (5 мМ), и перемешивали. Во второй стадии растворения аликвоту (20 мкл) из первой стадии разведения дополнительно растворяли в 100 мкл фосфат-цитратного буфера с pH 7,4 и перемешивали. Наконец, в третьей стадии разведения образец (20 мкл) из второй стадии разведения еще раз растворяли в 100 мкл фосфатно-цитратного буфера с 7,4 и перемешивали. Все растворения проводили в 96-луночных плашках. Сразу после последней стадии растворения нефелометром измеряли мутность трех последовательных стадий растворения. Каждое растворение соединения было выполнено в трех копиях для того, чтобы исключить случайные ошибки. Основываясь на измерениях мутности, соединения разделяли на 3 класса. Соединениям с высокой растворимостью давали оценку 3, и у этих соединений первое растворение было прозрачное. Соединениям со средней растворимостью давали оценку 2. У этих соединений первое растворение было непрозрачным, а второе растворение было прозрачным. Соединениям с низкой растворимо-

стью давали оценку 1 и эти соединения, как в первом, так и во втором растворении были непрозрачными. Измеряли растворимость 9 соединений. Из этих соединений 4 имели оценку 3, одно - оценку 2 и 4 имели оценку 1 (см. табл. F-2).

Пример С4. Параллельные анализы проникающей способности на исскуственной мембране.

Маточные образцы (аликвоты 10 мкл маточного раствора 5 мМ в 100% DMSO) растворяли в плашке с глубокими лунками или в плашке для предварительного смешивания, содержащей 2 мл водной буферной системы с pH 4 или 7,4 (PSR4 System Solution Concentrate (pION)).

Перед тем как образцы добавляли в соответствующую плашку, в лунки добавляли 150 мкл буфера и проводили УФ-измерение фона. Затем буфер удаляли и плашку использовали как указанную плашку. Все измерения проводили в УФ-устойчивых плашках (поставщик: Costar или Greiner).

После измерения фона указанной плашки в указанную плашку добавляли 150 мкл растворенных образцов, и в донорную плашку 1 добавляли 200 мкл растворенных образцов 1. Акцепторную плашку 1 с фильтром (поставщик: Millipore, тип: MAIP N45) покрывали 4 мкл раствором, образующим искусственную мембрану (1,2-диолеил-sn-глицер-3-фосфохолин в додекане, содержащем 0,1% 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол), и помещали сверху донорной плашки 1 с образованием «сэндвича». На поверхность акцепторных лунок наносили буфер (200 мкл). Сэндвич накрывали крышкой и хранили в течение 18 ч при комнатной температуре в темноте.

Фон ацепторной плашки 2 измеряли путем добавления 150 мкл буфера в лунки, а затем проводя УФ-измерение. После измерения фона ацепторной плашки 2 буфер удаляли и в акцепторную плашку 2 переносили 150 мкл акцепторного раствора из акцепторной плашки 1 с фильтром. Затем акцептоную плашку 1 с фильтром удаляли из сэндвича. После измерения фона донорной плашки 2 (см. выше) в донорную плашку 2 переносили 150 мкл донорного раствора из донорной плашки 1. УФ-спектр донорной плашки 2, акцепторной плашки 2 и лунки указанных плашек сканировали (с помощью SpectraMAX 190). Все спектры обрабатывали для подсчета проникающей способности с помощью PSR4p Command Software. Все соединения измеряли 3 раза. В каждом эксперименте в качестве стандартов использовали карбамазепин, гризеофульвин, ациклогуанизин, атенолол, фуросемид и хлортиазид. Соединения разделяли на 3 категории: имеющие низкую проникающую способсноть (средний результат < $0{,}5x10^{-6}$ см/с; оценка 1), среднюю проникающую способность ($1x10^{-6}$ см/с > средний результат > $0{,}5x10^{-6}$ см/с; оценка 2) или высокую проникающую способность (> $0{,}5x10^{-6}$ см/с; оценка 3). Два из 7 исследованных соединений показали, по меньшей мере, оценку 2 при одном pH-измерении и 5 соединений показали лишь оценку 1 при одном из pH-измерений.

Пример С5. Метаболическая стабильность.

Субклеточные тканевые препараты получали в соответствии с Gorrod et al. (Xenobiotica 5: 453-462, 1975) путем разделения центрифугированием после механической гомогенизации ткани.

Ткань печени промывали ледяным 0,1 М Tris-HCl (pH 7,4) буфером для удаления избытков крови. Ткань затем сушили с помощью промокательной бумаги, взвешивали и грубо нарезали, используя хирургические ножницы. Кусочки ткани гомогенизировали в 3 объемах ледяного 0,1М фосфатного буфера (pH 7,4), используя либо Potter-S (Braun, Italy), снабженный тефлоновым пестиком, или гомогенизатор Sorvall Omni-Mix, в течение 7x10 с. В обоих случаях в процессе гомогенизирования сосуд держали на/во льду.

Тканевые гомогенизаты центрифугировали при 9000 x g в течение 20 мин при 4°С, используя центрифугу Sorvall или ультрацентрифугу Beckman. Полученный супернанат хранили при -80°С и обозначали «S9».

Фракция S9 может быть дополнительно центрифугирована при 100000 x g в течение 60 мин (4°С), используя ультрацентрифугу Beckman. Полученный супернатант аккуратно отсасывали, разделяли на аликвоты и обозначали «цитозоль». Осадок ресуспендировали в 0,1М фосфатного буфера (pH 7,4) в окончательном объеме 1 мл на 0,5 г веса исходной ткани и обозначали «микросомы».

Все субклеточные фракции разделяли на аликвоты, немедленно замораживали в жидком азоте и до использования хранили при -80°С.

Инкубационная смесь исследуемых образцов содержала PBS (0,1 М), соединение (5 мкм), микросомы (1 мг/мл) и NADPH-генерирующую систему (0,8 мМ глюкоза-6-фосфата, 0,8 мМ хлорида магния и 0,8 единиц глюкоза-6-фосфат дегидрогеназы). Контрольные образцы содержали те же вещества, но микросомы заменяли на микросомы, инактивированные нагреванием (10 мин при 95°С). Восстановление соединений в контрольных образцах всегда составляло 100%.

Смеси проинкубировали в течение 5 мин при 37°С. Реакцию начинали в момент времени ноль (t=0), добавляя 0,8 мМ NADP и образцы инкубировали в течение 15 мин (t=15). Реакцию останавливали добавлением 2 объемов DMSO. Затем образцы центрифугировали в течение 10 мин при 900 x g и супернатанты хранили при комнатной температуре в течение не более 24 ч перед анализом. Каждое инкубирование дублировали. Анализ супернатантов осуществляли с помощью анализа LC-MS. Разведение образцов проводили на Xterra MS C18 (50 x 4,6 мм, 5 мкм, Waters, US). Использовали систему ВЭЖХ Alliance 2790 (поставщик: Waters, US). Элюировали буфером А (25 мМ аммоний ацетата (pH 5,2) в H_2O/ацетонитриле (95/5)), растворителем В (ацетонитрил) и растворителем С (метанол) со скоростью потока 2,4 мл/мин. В

используемом градиенте линейно увеличивали органическую фазу от 0 до 50% B и 50% C в течение 5 мин до 100% B в течение 1 мин, и концентрацию органической фазы поддерживали стационарно в течение дополнительных 1,5 мин. Общий объем инъекции образцов составлял 25 мкл.

В качестве детектора использовали Quattro (supplier: Micromass, Manchester, UK) тройной квадруполь, оснащенный масс-спектрометром, и источник ESI. Температуру источника и температуру растворения поддерживали при 120 и 350°C соответственно, и в качестве распыляемого вещества и высушивающего газа использовали азот. Данные получали в положительном режиме сканирования (единичная ион-реакция). Конусный вольтаж устанавливали при 10 V и время пребывания составляло 1 с.

Метаболическую стабильность выражали как % метаболизма соединения через 15 мин инкубирования в присутствии активных микросом (E (действие))

$$(\%\ \text{метаболизма} = 100\% - \left(\frac{\text{общий ионный ток (TIC) при E (действии) при t = 15}}{\text{TIC при E (действии) при t =0}}\right) \times 100)$$

Соединения, которые имели процент метаболизма менее 20%, были определены как соединения с высокой метаболической стабильностью. Соединения, которые имели процент метаболизма между 20 и 70%, были определены как соединения с промежуточной стабильностью, и соединения, которые имели процент метаболизма выше 70%, были определены как соединения с низкой метаболической стабильностью. Всякий раз при проведении скрининга на метаболическую стабильность использовали три указанных ниже соединения. Верапамил использовали как соединения с низкой метаболической стабильностью (% метаболизма = 73%). Цисаприд использовали как соединение со средней метаболической стабильностью (% метаболизма = 45%) и пропанол использовали как соединение с промежуточной до высокой метаболической стабильностью (25% метаболизма). Эти указанные соединения использовали для достоверности анализа метаболической стабильности.

Были тестированы одиннадцать соединений. Восемь соединений имели процент метаболизма менее 20%, два соединения имели процент метаболизма между 20 и 70% и одно соединение имело процент стабильности более 70%.

Пример C6. Свойство индуцировать p21.

Для определения уровня экспрессии белка p21 в клетках карциномы яичника человека A2780 использовали нижеприведенный протокол. Клетки A2780 (20000 клеток/180 мкл) высевали на 96-луночную микроплашку в среду RPMI 1640 с добавлением 2 мМ L-глютамина, 50 мкг/мл гентамицина и 10% эмбриональной бычьей сыворотки. За 24 ч до лизиса клеток добавляли соединения до конечных концентраций 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} и 10^{-8} М. Все тестируемые соединения растворяли в DMSO и дальнейшие разведения делали в культуральной среде. Через 24 ч после добавления соединения, супернатанты удаляли от клеток. Клетки промывали 200 мкл ледяной PBS. Лунки аспирировали и добавляли 30 мкл буфера для лизиса (50 мМ Tris.HCl (pH 7,6), 150 мМ NaCl, 1% Nonidet p40 и 10% глицерина). Плашки инкубировали в течение ночи при -70°C.

С соответствующего числа лунок микротитра удаляли фольгу и помещали в пустую камеру для лунок. Готовили рабочий раствор (1x) промывочного буфера (20x плашку промывали концентрартом, содрежащим 2% хлорацетамид: 100 мл 20-и кратный концентрированный PBS и поверхностно-активные вещества). Лиофилизированный стандарт p21WAF восстанавливали в дистиллированной H_2O и затем растворяли в растворителе для образцов (из набора).

Образцы получали растворением их в растворителе для образцов, 1:4. Образцы (100 мкл) и стандарты p21WAF1 (100 мкл) добавляли пипеткой в соответствующие лунки и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч. Лунки промывали 3 раза 1x промывочным буфером и затем в каждую лунку добавляли пипеткой 100 мкл реагента, определяющим антитела (раствор биотинилированных моноклональных антител p21WAF1). Лунки инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем 3 раза промывали промывочным буфером. Разводили 400x конъюгат (пероксидаза-стрептавидиновый конъюгат: 400-кратный концентрированный раствор) и в каждую лунку добавляли 100 мкл 1x раствора. Лунки инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин и затем 3 раза промывали 1x промывочным буфером и 1 раз дистиллированной H_2O. В каждую лунку добавляли раствор субстрата (хромогенный субстрат) (100 мкл), и лунки инкубировали в течение 30 мин в темноте при комнатной температуре. В каждую лунку, в той же последовательности как ранее добавляли раствор субстрата, добавляли стоп-раствор. Оптическую плотность каждой лунки 2 раза измеряли с помощью спектрометрического счетчика для плашки при длине волны 450/595 нм. Для каждого эксперимента параллельно ставили контроли (не содержащего препарат) и пустое инкубирование (не содержащего ни клеток, ни препарата). Значение фона вычитали от значений контроля и образцов. Для каждого образца значение индукции 21WAF1 (в единицах оптической плотности) выражали как процент значения p21WAF1 контроля. Процент индукции выше 130% определили как значительная индукция. В данном исследовании тестировали тринадцать соединений. Одиннадцать соединений продемонстрировали значительную индукцию.

Пример C7. Свойство индуцировать P450.

Все тестируемые соединения растворяли в DMSO (5 мМ) и дополнительно растворяли до $5\text{-}10^{-4}$ М в ацетонитриле. Дальнейшее растворение проводили в буфере для анализа (0,1M NaK фосфатный буфер pH 7,4), и конечная концентрация растворителя никогда не была выше 2%.

Анализ белка CYP3A4 включает в себя на лунку 15 пмоль P450/мг белка (в 0,01M NaK фосфатном буфере + 1,15% KCl), систему, генирирующую NADPH (3,3 мМ глюкоза-6-фосфата, 0,4 ед./мл глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы, 1,3 мМ NADP и 3,3 мМ $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ в буфере для анализа) и соединение с окончательным объемом 100 млк. Через 5 мин после преинкубирования при 37°C ферментную реакцию начинали добавлением 150 мкМ флуоресцентной пробы субстрата BFC в буфере для анализа. После инкубирования в течение 30 мин при комнатной температуре, реакцию останавливали, добавляя 2 объема ацетонитрила. Определение флуоресценции проводили при возбуждающей длине волны 405 нм и длине волны излучения 535 нм. В данном эксперименте в качестве ссылочного соединения вводили кетоконазол (IC_{50}-значение=$3x10^{-8}$ M).

Анализ белка CYP2D6 включает в себя на лунку 6 пмоль P450/мг белка (в 0,01M NaK фосфатном буфере + 1,15% KCl), систему, генирирующую NADPH (0,41 мМ глюкоза-6-фосфата, 0,4 ед./мл глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы, 0,0082 мМ NADP и 0,41 мМ $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ в буфере для анализа) и соединение с окончательным объемом 100 мкл. Через 5 мин после преинкубирования при 37°C ферментную реакцию начинали добавлением 3 мкМ флуоресцентной пробы субстрата AMMC в буфере для анализа. После инкубирования в течение 45 мин при комнатной температуре, реакцию останавливали, добавляя 2 объема ацетонитрила. Определение флуоресценции проводили при возбуждающей длине волны 405 нм и длине волны излучения 460 нм. В данном эксперименте в качестве ссылочного соединения вводили хинидин (IC_{50}-значение=$5x10^{-8}$ M).

Анализ белка CYP2C9 включает в себя на лунку 15 пмоль P450/мг белка (в 0,01M NaK фосфатном буфере + 1,15% KCl), систему, генирирующую NADPH (3,3 мМ глюкоза-6-фосфата, 0,4 ед./мл глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы, 1,3 мМ NADP и 3,3 мМ $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ в буфере для анализа) и соединение с окончательным объемом 100 мкл. Через 5 мин после преинкубирования при 37°C ферментную реакцию начинали добавлением 200 мкМ флуоресцентной пробы субстрата MFC в буфере для анализа. После инкубирования в течение 30 мин при комнатной температуре, реакцию останавливали, добавляя 2 объема ацетонитрила. Определение флуоресценции проводили при возбуждающей длине волны 405 нм и длине волны излучения 535 нм. В данном эксперименте в качестве ссылочного соединения вводили сульфафеназол (IC_{50}-значение=$6,8x10^{-7}$ M).

Для первоначальных скрининговых целей, соединения тестировали при одной заданной концентрации $1x10^{-6}$ M. Для активных соединений эксперименты повторяли для построения кривых концентрация-ответ. Для каждого эксперимента параллельно ставили контроли (не содержащего препарат) и пустое инкубирование (не содержащего ни клеток, ни препарата). Все соединения дублировали. Значение фона вычитали от значений контроля и образцов. Для каждого образца среднее значение P450 активности образца (в относительных единицах флуоресценции) выражали как процент среднего значения P450 активности контроля. Процент ингибирования выражали как 100% минус среднее значение P450 активности образца. Если было необходимо, рассчитывали IC_{50}-значения (концентрация препарата, необходимая для снижения P450 активности на 50% контроля). В данном исследовании анализировали одно соединение. С данным соединением не было зарегистрировано ингибирования различных P450 ферментов.

Таблица F-2.

В табл. F-2 перечислены результаты соединений, которые тестировали в соответствии с примерами C1, C2 и C3.

Номер соединения	Ферментативная активность pIC50	Клеточная активность pIC50	Оценка растворимости
1	6,523	5,277	
2	6,104	7,567	3
3	<5	5,744	
4	7,574	5,866	1
5	8,123	6,433	1
6	<5	5,68	
7	7,533	5,017	3
8	7,355	5,517	3
9	7,579	<5	2
10	6,893	5,673	
11	5,829	5,784	
12	7,438	5,536	
13	5,428	6,156	
14	6,116	5,68	
15	7,413	5,907	1
16	6,293	<5	
17	6,95	<5	
18	5,321	7,303	
19	<5	5,367	
20	7,294	5,556	1
21	8,199	6,441	
22	7,212	5,536	3
23	6,662	5,472	
24	7,903	5,97	
31	7,857	5,225	
25	6,449	<5	
32	7,526	6,255	
26	7,85	6,263	
27	7,49	5,781	
30	7,614	5,669	
36	7,265	5,977	
37	7,341	5,661	
38	7,154	5,937	
39	7,126	6,053	
40	7,273	6,164	
41	7,403	6,327	
42	7,584	6,342	
43	7,469	6,132	
44	7,432	6,192	
45	7,371	6,29	
28	7,074	5,109	
29	7,04	5,429	
33	6,837	5,653	
34	7,337	5,62	
35	7,046	5,935	

D. Пример композиции. Покрытые пленкой таблетки.

Получение ядра таблетки.

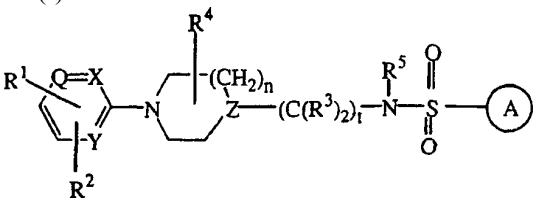
Смесь 100 г соединения формулы (I), 570 г лактозы и 200 г крахмала тщательно смешивали и затем увлажняли раствором 5 г додецилсульфата натрия и 10 г поливинилпирролидона в приблизительно 200 мл воды. Влажную порошковую смесь просеивали, сушили и опять просеивали. Затем в нее добавляли 100 г микрокристаллической целлюлозы и 15 г гидрированного растительного масла. Все тщательно смешивали и компрессировали в таблетки, с получением 10000 таблеток, каждая содержащая 10 мг соединения формулы (I).

Покрытие.

К раствору 10 г метилцеллюлозы в 75 мл денатурированного этанола добавляли раствор 5 г этилцеллюлозы в 150 мл дихлорметана. Затем добавляли 75 мл дихлорметана и расплавляли 2,5 мл 1,2,3-пропантриола 10 г полиэтиленгликоля, и растворяли в 75 мл дихлорметане. Последний раствор добавляли к полученному и затем к нему добавляли 2,5 г октадеканоата магния, 5 г поливинилпирролидинона и 30 мл концентрированной цветной суспензии и все это гомогенизировали. Ядро таблетки покрывали полученной таким образом смесью в глазировочном аппарате.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



(I)

его N-оксидные формы, его фармацевтически приемлемые соли добавления кислот и его стереохимически изомерные формы,

где

n равно 0, 1, 2 или 3 и, если n равно 0, то имеется в виду прямая связь;

t равно 0, 1, 2, 3 или 4 и, если t равно 0, то имеется в виду прямая связь;

каждый Q представляет собой азот или ;

каждый X представляет собой азот или ;

каждый Y представляет собой азот или ;

каждый Z представляет собой азот или ;

R^1 представляет собой $-C(O)NR^8R^9$, $-N(H)C(O)R^{10}$, $-C(O)-C_{1-6}$алкандиилSR^{10}, $-NR^{11}C(O)N(OH)R^{10}$, $-NR^{11}C(O)C_{1-6}$алкандиилSR^{10}, $-NR^{11}C(O)C{=}N(OH)R^{10}$ или другую Zn-хелатообразующую группу,

где R^8 и R^9, каждый независимо, выбран из водорода, гидрокси, C_{1-6}алкила, гидроксиC_{1-6}алкила, аминоC_{1-6}алкила или аминоарила;

R^{10} независимо выбран из водорода, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилкарбонила, арилC_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилпиразинила, пиридинона, пирролидинона или метилимидазолила;

R^{11} независимо выбран из водорода или C_{1-6}алкила;

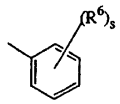
R^2 представляет собой водород, галоген, гидрокси, амино, нитро, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, трифторметил, ди(C_{1-6}алкил)амино, гидроксиамино или нафталинилсульфонилпиразинил;

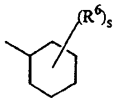
каждый R^3 независимо представляет собой атом водорода, и один атом водорода может быть замещен заместителем, выбранным из арила;

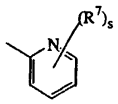
R^4 представляет собой водород, гидрокси, амино, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, арилC_{1-6}алкил, аминокарбонил, гидроксикарбонил, аминоC_{1-6}алкил, аминокарбонилC_{1-6}алкил, гидроксикарбонилC_{1-6}алкил, гидроксиаминокарбонил, C_{1-6}алкилоксикарбонил, C_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкил или ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил;

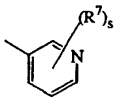
R^5 представляет собой водород, C_{1-6}алкил, C_{3-10}циклоалкил, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил, ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил или арил;

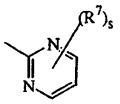
представляет собой радикал, выбранный из

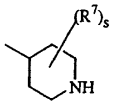

(a-1)

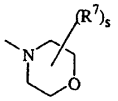

(a-2)

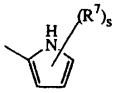

(a-3)

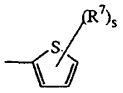

(a-4)

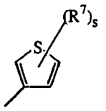

(a-5)

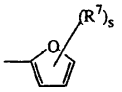

(a-6)

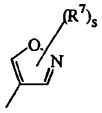

(a-7)

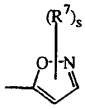

(a-8)

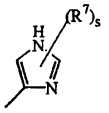

(a-9)

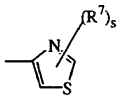

(a-10)

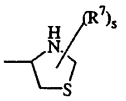

(a-11)

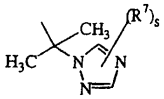

(a-12)

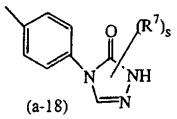

(a-13)

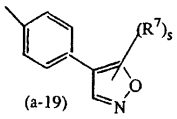

(a-14)

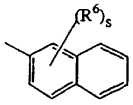

(a-15)

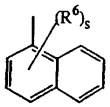

(a-16)

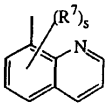

(a-17)

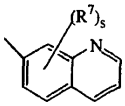

(a-18)

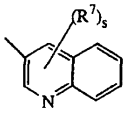

(a-19)

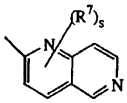

(a-20)

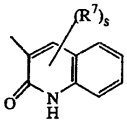

(a-21)

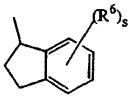

(a-22)

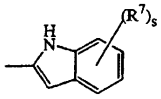

(a-23)

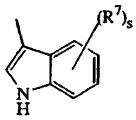

(a-24)

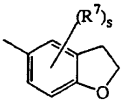

(a-25)

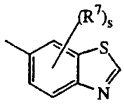

(a-26)

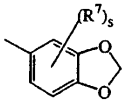

(a-27)

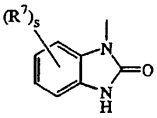

(a-28)

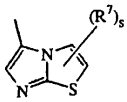

(a-29)

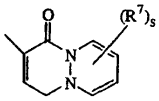

(a-30)

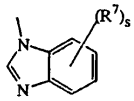

(a-31)

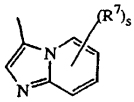

(a-32)

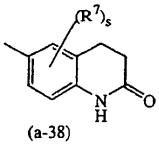

(a-33)

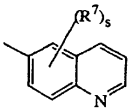

(a-34)

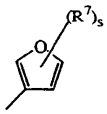

(a-35)

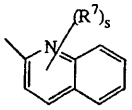

(a-36)


(a-37)

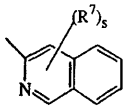

(a-38)


(a-39)

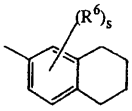

(a-40)



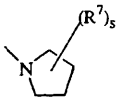
(a-41)



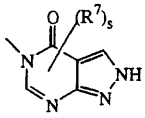
(a-42)



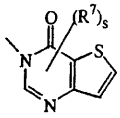
(a-43)



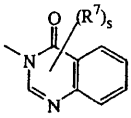
(a-44)



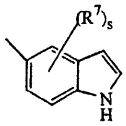
(a-45)



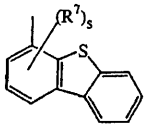
(a-46)



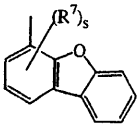
(a-47)



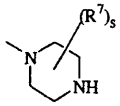
(a-48)



(a-49)



(a-50)



(a-51)

где каждый s независимо представляет собой 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

каждый R^6 и R^7 независимо выбран из водорода; галогена; гидрокси; амино; нитро; трегалогенC_{1-6}-алкила; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкила; C_{1-6}алкила, замещенного арилом и C_{3-10}циклоалкилом; C_{1-6}-алкилокси; C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонила; C_{1-6}алкилоксикарбонила; C_{1-6}алкилсульфонила; цианоC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилокси; гидроксиC_{1-6}алкиламино; аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминокарбонила; ди(гидроксиC_{1-6}алкил)амино; (арил)(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; арилсульфонила; арилсульфониламино; арилокси; арилоксиC_{1-6}алкила; арилC_{2-6}алкендиила; ди(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)амино(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)амино(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}-алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; аминосульфониламино(C_{1-6}алкил)амино; аминосульфониламино(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфониламино(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфониламино(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; циано; тиофенила; тиофенила, замещенного ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом, ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}-алкилом, C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом, гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом, гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}-алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом, ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкилом, C_{1-6}алкил-оксипиперидинилом, C_{1-6}алкилоксипиперидинилC_{1-6}алкилом, морфолинилC_{1-6}алкилом, гидроксиC_{1-6}алкил(C_{1-6}-алкил)аминоC_{1-6}алкилом или ди(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом; фуранила; фуранила, замещенного гидроксиC_{1-6}алкилом; бензофуранила; имиадазолила; оксазолила; оксазолила, замещенного арилом и C_{1-6}алкилом; C_{1-6}-алкилтриазолила; тетразолила; пирролидинила; пирролила; пиперидинилC_{1-6}алкилокси; морфолинила; C_{1-6}-алкилморфолинила; морфолинилC_{1-6}алкилокси; морфолинилC_{1-6}алкила; морфолинилC_{1-6}алкиламино; морфолинилC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; пиперазинила; C_{1-6}алкилпиперазинила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; пиперазинилC_{1-6}алкила; нафталинилсульфонилпиперазинила; нафталинилсульфонилпиперидинила; нафталинилсульфонила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкиламино; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкил-аминоC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилпиперазинилсульфонила; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; аминосульфонилпиперазинил; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}-алкила; C_{1-6}алкилоксипиперидинила; C_{1-6}алкилоксипиперидинилC_{1-6}алкила; пиперидиниламиноC_{1-6}алкиламино; пиперидиниламиноC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; (C_{1-6}алкилпиперидинил)(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламино; (C_{1-6}алкилпиперидинил)(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил-иперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)амино; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкила; ди(гидроксиC_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}-алкила; пирролидинилC_{1-6}алкила; пирролидинилC_{1-6}алкилокси; пиразолила; тиопиразолила; пиразолила, замещенного двумя заместителями, выбранными из C_{1-6}алкила или тригалогенC_{1-6}алкила; пиридинила; пиридинила, замещенного C_{1-6}алкилокси, арилокси или арилом; пиримидинила; тетрагидропиримидинилпиперазинила; тетрагидропиримидинилпиперазинилC_{1-6}алкила; хинолинила; индола; фенила; фенила, замещенного одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из галогена, амино, нитро, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила, трифторметила, трифторметилокси, гидроксиC_{1-4}алкилокси, C_{1-4}алкилсульфонила, C_{1-4}алкилоксиC_{1-4}ал-килокси, C_{1-4}алкилоксикарбонила, аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}ал-кил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминокарбонила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}ал-киламиноC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)амино(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)амино(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}-алкил)аминоC_{1-4}алкил(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкил(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, аминосульфони-ламино(C_{1-4}алкил)амино, аминосульфониламино(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминосуль-фониламино(C_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфониламино(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-6}алкила, циано, пиперидинилC_{1-4}алкилокси, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, аминосульфонилпиперазинила, аминосульфонилпиперази-

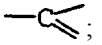
нилC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилоксипиперидинила, C_{1-4}алкилоксипиперидинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)амино, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(гидроксиC_{1-4}алкил)амино, ди(гидроксиC_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, фуранила, фуранила, замещенного -CH=CH-CH=CH-, пирролидинилC_{1-4}алкила, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, морфолинила, морфолинилC_{1-4}алкилокси, морфолинилC_{1-4}алкила, морфолинилC_{1-4}алкиламино, морфолинилC_{1-4}алкиламиноC_{1-4}алкила, пиперазинила, C_{1-4}алкилпиперазинила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкилокси, пиперазинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкиламино, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкиламиноC_{1-6}алкила, тетрагидропиримидинилпиперазинила, тетрагидропиримидинилпиперазинилC_{1-4}алкила, пиперидиниламиноC_{1-4}алкиламино, пиперидиниламиноC_{1-4}алкиламиноC_{1-4}алкила, (C_{1-4}алкилпиперидинил)(гидроксиC_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкиламино, (C_{1-4}алкилпиперидинил)(гидроксиC_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкиламиноC_{1-4}алкила, пиридинилC_{1-4}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкиламино, гидроксиC_{1-4}алкиламиноC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкиламино, аминотиадиазолила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкилокси или тиофенилC_{1-4}алкиламино;

каждый R^6 и R^7 могут быть помещены на азот при замене водорода;

арил в вышеуказанном представляет собой фенил или фенил, замещенный одним или несколькими заместителями, каждый независимо выбран из галогена, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, трифторметила, циано или гидроксикарбонила.

2. Соединение по п.1,

где n равно 0, 1 или 2; t равно 0, 1, 2 или 3;

каждый Q представляет собой  ;

R^1 представляет собой -C(O)NH(OH) или -NR^{11}C(O)C=N(OH)R^{10}, где R^{10} представляет собой арилC_{1-6}алкил и R^{11} представляет собой водород;

R^2 представляет собой водород, C_{1-6}алкил или нафталинилсульфонилпиразинил;

каждый R^3 независимо представляет собой атом водорода;

R^4 представляет собой водород, гидрокси, гидроксиC_{1-6}алкил или C_{1-6}алкилокси;

R^5 представляет собой водород, C_{1-6}алкил, гидроксиC_{1-6}алкил или C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил;

представляет собой радикал, выбранный из (a-1), (a-7) или (a-20);

каждый s независимо представляет собой 0 или 1;

каждый R^6 независимо выбран из водорода; тиофенила; фуранила; бензофуранила; фенила; или фенила, замещенного одним заместителем, независимо выбранным из C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилсульфонила или ди(C_{1-4}алкил)амино и

каждый R^7 независимо выбран из водорода.

3. Соединение по п.1,

где t равно 0,

R^1 представляет собой -C(O)NR^8R^9, -C(O)-C_{1-6}алкандиилSR^{10}, -NR^{11}C(O)N(OH)R^{10}, -NR^{11}C(O)C_{1-6}алкандиилSR^{10}, -NR^{11}C(O)C=N(OH)R^{10} или другую Zn-хелатирующую группу, где R^8 и R^9, каждый независимо, выбран из водорода, гидрокси, гидроксиC_{1-6}алкила или аминоC_{1-6}алкила;

R^2 представляет собой водород, галоген, гидрокси, амино, нитро, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, трифторметил или ди(C_{1-6}алкил)амино;

R^4 представляет собой водород, гидрокси, амино, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилокси, арилC_{1-6}алкил, аминокарбонил, аминоC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкиламиноC_{1-6}алкил или ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил;

R^5 представляет собой водород;

представляет собой радикал, выбранный из (a-1), (a-3), (a-4), (a-5), (a-6), (a-7), (a-8), (a-9), (a-10), (a-11), (a-12), (a-13), (a-14), (a-15), (a-16), (a-17), (a-18), (a-19), (a-20), (a-21), (a-22), (a-23), (a-24), (a-25), (a-26), (a-28), (a-29), (a-30), (a-31), (a-32), (a-33), (a-34), (a-35), (a-36), (a-37), (a-38), (a-39), (a-40), (a-41), (a-42), (a-44), (a-45), (a-46), (a-47), (a-48) или (a-51);

каждый s независимо представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4;

R^6 представляет собой водород; галоген; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкил; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкил; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонил; C_{1-6}алкилоксикарбонил; C_{1-6}алкилсульфонил; гидроксиC_{1-6}алкил; арилокси; ди(C_{1-6}алкил)амино; циано; тиофенил; фуранил; фуранил, замещенный гидроксиC_{1-6}алкилом; бензофуранил; имидазолил; оксазолил; оксазолил, замещенный арилом и C_{1-6}алкилом; C_{1-6}алкилтриазолил; тетразолил; пирролидинил; пирролил; морфолинил; C_{1-6}алкилморфолинил; пиперазинил; C_{1-6}алкилпиперазинил; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинил; C_{1-6}лкилоксипиперидинил; пиразолил; пиразолил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из C_{1-6}алкила или тригалогенC_{1-6}алкила; пиридинил; пиридинил, замещенный C_{1-6}алкилокси, арилокси или арилом; пиримидинил; хинолинил; индол; фенил; или фенил, замещенный одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси или трифторметила; и

R^7 представляет собой водород; галоген; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкил; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкил; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонил; C_{1-6}алкилоксикарбонил; C_{1-6}-алкилсульфонил; гидроксиC_{1-6}алкил; арилокси; ди(C_{1-6}алкил)амино; циано; пиридинил; фенил; или фенил, замещенный одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, C_{1-6}алкила, C_{1-6}-алкилокси или трифторметила.

4. Соединение по п.1, где

R^8 и R^9 независимо выбран из водорода, гидрокси, гидроксиC_{1-6}алкила, аминоC_{1-6}алкила или аминоарила;

R^5 представляет собой водород, C_{1-6}алкил, C_{3-10}циклоалкил, гидроксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}-алкил или ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил;

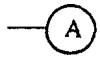
представляет собой радикал, выбранный из (а-1), (а-2), (а-3), (а-4), (а-5), (а-6), (а-7), (а-8), (а-9), (а-10), (а-11), (а-12), (а-13), (а-14), (а-15), (а-16), (а-17), (а-18), (а-19), (а-20), (а-21), (а-22), (а-23), (а-24), (а-25), (а-26), (а-27), (а-28), (а-29), (а-30), (а-31), (а-32), (а-33), (а-34), (а-35), (а-36), (а-37), (а-38), (а-39), (а-40), (а-41), (а-42) (а-43) или (а-44);

каждый R^6 и R^7 независимо выбраны из водорода; галогена; гидрокси; амино; нитро; тригалогенC_{1-6}алкила; тригалогенC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилкарбонила; C_{1-6}алкилсульфонила; цианоC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилокси; гидроксиC_{1-6}алкиламино; аминоC_{1-6}-алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминокарбонила; ди(гидроксиC_{1-6}алкил)амино; арилC_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилокси; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкиламино; арилсульфонила; арилсульфониламино; арилокси;арилC_{2-6}алкендиила; ди(C_{1-6}алкил)амино; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}-алкил)аминоC_{1-6}алкила; циано; тиофенила; тиофенила, замещенного ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкил(C_{1-6}-алкил)аминоC_{1-6}алкилом, ди(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкилом, C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилом или ди(гидроксиC_{1-6}-алкил)аминоC_{1-6}алкилом; фуранила; имидазолила; C_{1-6}алкилтриазолила; тетразолила; пирролидинила; пиперидинилC_{1-6}алкилокси; морфолинила; C_{1-6}алкилморфолинила; морфолинилC_{1-6}алкилокси; морфолинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}-алкилпиперазинила; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; C_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкил-пиперазинилсульфонила; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкилокси; аминосульфонилпиперазинила; аминосульфонилпиперазинилC_{1-6}алкила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонилпиперазинила; ди(C_{1-6}алкил)аминосульфонил-пиперазинилC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; C_{1-6}алкилокси-пиперидинила; C_{1-6}алкилоксипиперидинилC_{1-6}алкила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинила; гидроксиC_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкилпиперазинилC_{1-6}алкила; (гидроксиC_{1-6}алкил)(C_{1-6}алкил)амино; (гидроксиC_{1-6}-алкил)(C_{1-6}алкил)аминоC_{1-6}алкила; пирролидинилC_{1-6}алкилокси; пиразолила; тиопиразолила; пиразолила, замещенного двумя заместителями, выбранными из C_{1-6}алкила или тригалогенC_{1-6}алкила; пиридинила; пиридинила, замещенного C_{1-6}алкилокси или арилом; пиримидинила; хинолинила; индола; фенила; фенила, замещенного одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из галогена, амино, C_{1-6}алкила, C_{1-6}алкилокси, гидроксиC_{1-6}алкила, трифторметила, трифторметилокси, гидроксиC_{1-4}-алкилокси, C_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилокси, аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкилокси, ди(C_{1-4}-алкил)амино, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкил(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, пиперидинилC_{1-4}алкилокси, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, аминосульфонилпиперазинила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинила, ди(C_{1-4}алкил)аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}-алкила, C_{1-4}алкилоксипиперидинила, C_{1-4}алкилоксипиперидинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}-алкилпиперазинила, гидроксиC_{1-4}алкилоксиC_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}-алкил)амино, (гидроксиC_{1-4}алкил)(C_{1-4}алкил)аминоC_{1-4}алкила, пирролидинилC_{1-4}алкилокси, морфолинилC_{1-4}алкилокси, морфолинилC_{1-4}алкила, C_{1-4}алкилпиперазинила, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкилокси, C_{1-4}алкилпиперазинилC_{1-4}алкила, гидроксиC_{1-4}алкиламино, ди(гидроксиC_{1-4}алкил)амино, ди(C_{1-4}ал-кил)аминоC_{1-4}алкиламино, аминотиадиазолила, аминосульфонилпиперазинилC_{1-4}алкилокси или тиофенилC_{1-4}алкиламино.

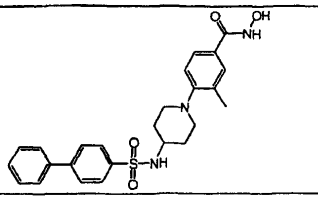
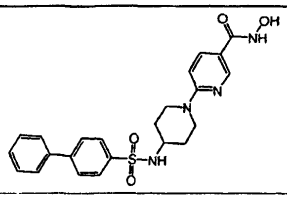
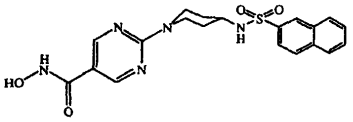
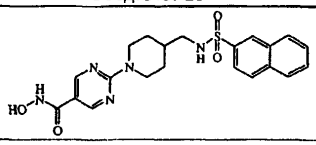
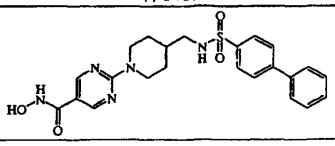
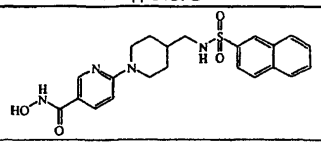
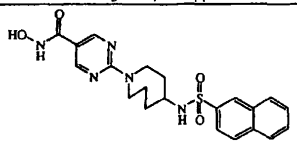
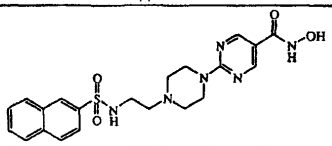
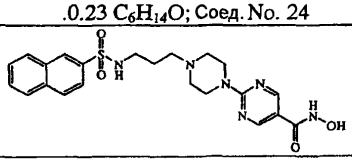
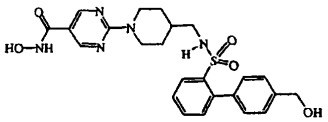
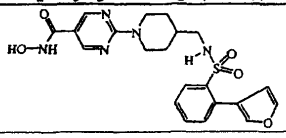
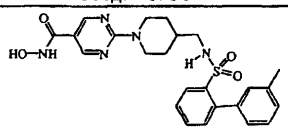
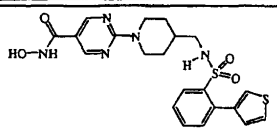
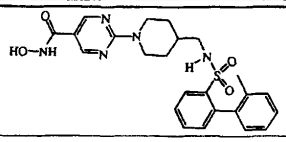
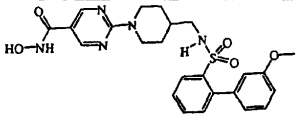
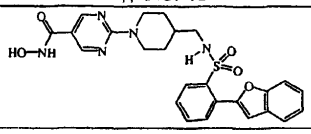
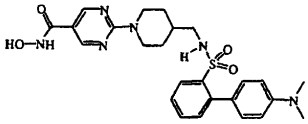
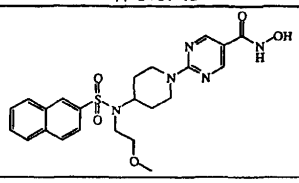
5. Соединение по пп.1 и 2, где n равно 0, 1 или 2; t равно 0, 1, 2 или 3; каждый Q представляет собой

;

R^1 представляет собой -C(O)NH(OH); R^2 представляет собой водород или C_{1-6}алкил; каждый R^3 независимо представляет собой атом водорода; R^4 представляет собой водород; R^5 представляет собой водород или C_{1-6}алкилоксиC_{1-6}алкил;


представляет собой радикал, выбранный из (а-1) или (а-20); каждый s независимо представляет собой 0 или 1; и каждый R^6 независимо выбран из водорода; тиофенила; фуранила; бензофуранила; фенила; или фенила, замещенного одним заместителем, независимо выбранным из C_{1-6}алкила, C_{1-6}-алкилокси, гидроксиC_{1-4}алкила или ди(C_{1-4}алкил)амино.

6. Соединение по пп.1, 2 и 5, выбранное из соединений No. 13, No. 15, No. 2, No. 5, No. 21, No. 4, No. 24, No. 32, No. 26, No. 36, No. 38, No. 39, No. 40, No. 41, No. 42, No. 43, No. 44 и No. 35.

	
Соед. No. 13	Соед. No. 15
	
Соед. No. 2	Соед. No. 5
	
.0.7 CH_3OH; Соед. No. 21	Соед. No. 4
	
.0.23 $C_6H_{14}O$; Соед. No. 24	.0.82 $C_2HF_3O_2$ .0.82 H_2O; Соед. No. 32
	
.0.85 $C_2HF_3O_2$ .1.11 H_2O; Соед. No. 26	Соед. No. 36
	
Соед. No. 38	Соед. No. 39
	
Соед. No. 40	Соед. No. 41
	
Соед. No. 42	Соед. No. 43
	
Соед. No. 44	Соед. No. 35

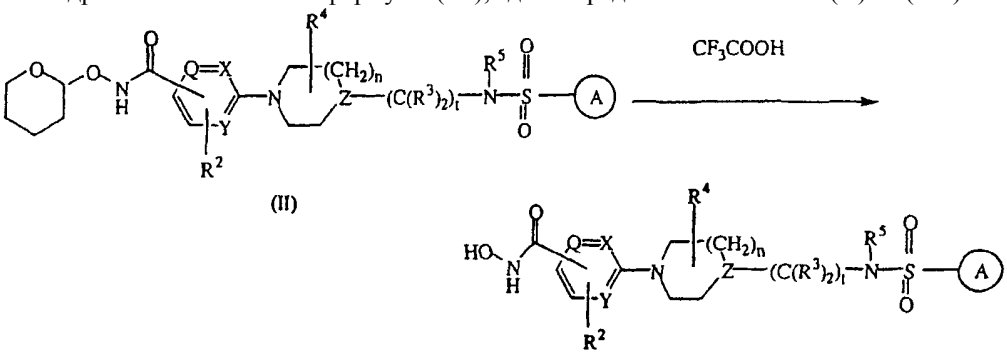
7. Фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемые носители и в качестве активного ингредиента терапевтически эффективное количество соединения по пп.1-6.

8. Способ получения фармацевтической композиции по п.1, где фармацевтически приемлемые носители и соединение по пп.1-6 тщательно смешивают.

9. Применение соединения по любому из пп.1-6 в качестве лекарственного препарата.

10. Применение соединения по любому из пп.1-6 для производства лекарственного препарата для лечения пролиферативных заболеваний.

11. Способ получения соединения по п.1, характеризующийся взаимодействием промежуточного соединения формулы (II) с соответствующей кислотой, такой как, например, трифторуксусная кислота, с получением гидроксамовой кислоты формулы (I-a), где R^1 представляет собой -C(O)NH(OH).



12. Способ определения или идентификации HDAC в биологическом образце, содержащем обнаруживаемую или измеряемую структуру комплекса между меченным соединением, определенным в п.1, и HDAC.

13. Сочетание противоопухолевых агентов и ингибитора HDAC по любому из пп.1-6.