

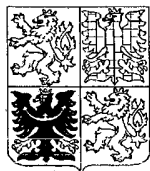
PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 3106

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



(22) Přihlášeno: **18.02.1999**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **26.02.1998**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/032381**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.12.2000**
(Věstník č. 12/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/US99/03451**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/43676**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 473/16

A 61 K 31/52

A 61 P 25/18

ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(71) Přihlašovatel:

AVENTIS PHARMACEUTICALS INC., Bridgewater,
NJ, US;

(72) Původce:

Dumont Jennifer A., Flemington, NJ, US;
Bitonti Alan J., Ringoes, NJ, US;
Borcherding David R., Bangor, PA, US;
Peet Norton P., Neshanic Station, NJ, US;
Munson Randall H., Annadale, NJ, US;
Shum Patrick W. K., Flemington, NJ, US;

(74) Zástupce:

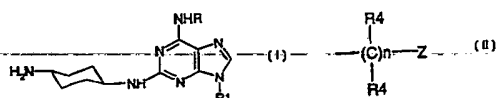
Všetečka Miloš JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

6,9-Disubstituované 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)-amino]puriny a jejich použití

(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém substituenty mají specifické významy a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin. Způsob inhibování progresu buněčného cyklu, konkrétně inhibování cyklin dependentních kináz, zejména cdk-2. Prostředek obsahující zjištěné množství sloučeniny obecného vzorce I ve směsi nebo v jiném spojení s inertním nosičovým materiálem. Vynález se rovněž týká farmaceutického prostředku obsahujícího účinné inhibiční množství sloučeniny obecného vzorce I ve směsi nebo v jiném spojení s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosičovými materiály nebo excipienty.



CZ 2000 - 3106 A3

6,9-Disubstituované 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-
puriny, farmaceutické prostředky obsahující tyto sloučeniny
a použití

Oblast vynálezu

Vynález se týká 6,9-disubstituovaných 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]purinů a použití těchto látek pro antineoplastická činidla nebo pro léčení neuronálního poškození a degenerace.

Dosavadní stav techniky

Buněčné dělení, jak v normálních tak v neoplastických buňkách, je přísně řízený jev, který probíhá v definovaných stadiích. Klidové buňky, které se aktivně nedělí, jsou ve fázi G_0 , jako jsou buňky konečně diferencované nebo buňky ve stavu dočasně zastaveného dělení. První fáze je G_1 fáze (označení symbolem G je odvozeno od anglického slova gap = mezera), během které se buňka připravuje na syntézu DNA. V pozdní G_1 fázi, v bodě, který je nazýván restriční bod nebo R bod, buňka přechází do S fáze, ve které nastává syntéza DNA. Po dokončení S fáze buňka přejde do G_2 fáze, během níž se buňka připravuje na dělení a po ní následuje mitóza neboli M fáze.

Počáteční pokusy týkající se regulace buněčného cyklu odhalily existenci proteinu nazývaného faktor podporující zrání ("Maturation Promoting Factor", MPF), což je heterodimer s kinázovou aktivitou. Později srovnávání dále identifikovaných proteinů a jejich příslušných genů objevilo rodinu kvasinkových genů známých

jako geny řídící buněčné dělení (geny cdc - "cell division control"). Další pokusy prokázaly, že některé geny cdc kódují kinázy a byly později nazvány kinázy závislé na cyklinu = cyklin-dependentní kinázy (cdk "cyclin-dependent kinase"). V důsledku této další klasifikace mají některé proteiny buněčného cyklu dvojí označení, jako cdk1, který je také znám jako cdc2. Kinázová složka MPF se nyní označuje jako p34^{cdc2} a regulační podjednotka MPF se nyní nazývá cyklin B. Cykliny byly nejdříve identifikovány jako proteiny, jejichž hladiny oscilují během buněčného cyklu a jsou specificky degradovány v mitóze. Doposud byly identifikovány zvířecí cykliny A-I a cdk 1-8. Dále byly určeny subtypy cyklinů a cdk, jako jsou cykliny B1 a B2, což názvosloví ještě více komplikuje.

Další výzkum buněčné regulace prokázal, že stadia buněčného dělení jsou dosažena částečně modulací cyklinů a cyklin-dependentních kináz (cdk). Cykliny postupně regulují cdk a je pro ně charakteristická homologní oblast o 100 aminokyselinách, nazývaná "cyklinový box", který je zapojen do vazby proteinového partnera kinázy. Cdk jsou blízkce příbuzné, co se týče sekvence a velikosti (35-40 kD), a jsou definovány jako proteinové kinázy aktivované prostřednictvím vazby regulačních podjednotek cyklinu. Cdk obsahuje konzervativní oblast aktivního místa o přibližné velikosti 300 aminokyselin, které je charakteristické pro všechny eukaryotické proteinkinázy. Zdá se tedy, že jak cykliny, tak cdk jsou vysoce konzervativní proteinové rodiny.

Izolace jednotlivých cyklinů a cdk umožnila další identifikaci úlohy a interakce každé složky v přechodech mezi fázemi buněčného cyklu. Nadměrné hladiny cdk

přetrvávají v průběhu celého buněčného cyklu. Aktivace cdk nastává při syntéze cyklinu a vazbě na katalytickou podjednotku cdk, výsledkem toho je stimulace aktivity cdk/serin/threoninkinázy. Kompletní aktivace cdk vyžaduje fosforylaci konzervovaného threoninového zbytku lokalizovaného v T smyčce prostřednictvím kinázy aktivující cyklin-dependentní kinázu (CAK), která sama je tvořena komplexem cdk/cyklin složeným z cyklinu H a cdk7 a třetího proteinu o velikosti přibližně 32 kD.

Inaktivace komplexu cdk-cyklin může být důsledkem fosforylace threoninového a/nebo tyrosinového zbytku ve vazebném místě pro ATP v cdk nebo vazby jednoho z celé řady endogenních inhibičních proteinů.

Ve fázi G_1 se cykliny typu D vážou na několik odlišných cdk, včetně cdk2, cdk4, cdk5 a cdk6, ale nejčastěji se spojují s cdk4 a cdk6. Má se za to, že cykliny typu D působí jako senzory pro růstové hormony, které propojují progresi buněčného cyklu s vnějšími podněty. Komplexy cyklin E-cdk2 se objevují v buněčném cyklu savčích buněk po komplexech typu cyklin D-cdk. Syntéza cyklinu E je přísně regulována a nastává v pozdní G_1 a časně S fázi. Komplex cyklin E-cdk2 je nezbytný pro to, aby buňka začala replikaci DNA.

Cykliny G_1 , cyklin D a cyklin E jsou přechodně tvořené proteiny, s biologickým poločasem přibližně 20 minut. Má se za to, že krátký poločas je důsledkem sekvence PEST v C-koncové oblasti těchto proteinů, jejichž degradace se zdá být zprostředkována metabolickou dráhou ubiquitinu.

Cykliny G_2 , cyklin A a cyklin B jsou stabilní

v průběhu interfáze a jsou specificky zničeny v mitóze prostřednictvím metabolické dráhy ubikvitinu. Zdá se, že jak cyklin A tak cyklin B2 jsou degradovány pouze tehdy, když jsou v komplexu se svým cdk partnerem [cyklin A-cdk2 a cyklin A/B-cdk1(cdc2)]. Ale destrukce cyklinu B1 je spojena s integritou mitotického aparátu na konci metafáze. Jestliže je vřeténko sestaveno nesprávně nebo jestli jsou chromozomy nesprávně seřazeny, pak je destrukci B1 zabráněno.

Retinoblastomový protein (Rb), jaderný fosfoprotein velikosti 105 kD, je substrátem pro komplexy cyklin-cdk pro cdk-2,4 a 6 v G_1 fázi a působí jako jeden z hlavních kontrolních bodů v buněčném cyklu prostřednictvím pečlivě uspořádané fosforylace a defosforylace. V G_0/G_1 existuje Rb v hypofosforylovaném stavu. Jak buňka postupuje do pozdní G_1 fáze, Rb se stává hyperfosforylovaný prostřednictvím komplexů cyklinu D, které inaktivují Rb a vedou buňku do S fáze, což má za následek progresi buněčného cyklu a buněčné dělení. Tento stav hyperfosforylace Rb zůstává během G_2 . Během pozdní M fáze je Rb defosforylován, a tak se vrací do hypofosforylovaného stavu. Fosforylace proteinu Rb mění jeho vazebné vlastnosti, v hypofosforylovaném stavu Rb váže a odděluje specifické transkripční faktory, jako E2F, jehož vazba zabráňuje úniku z G_1 fáze. Jakmile cdk hyperfosforyluje Rb, jsou transkripční faktory uvolněny, a to pak může aktivovat transkripci genů nezbytných pro progresi S fáze, například gen thymidinkinázy, *myc*, *myb*, adihydrofolátreduktázy a DNA polymerázy- α .

Lokalizace komplexů cyklin-CDK je také velmi sugestivní, co se týče úlohy, kterou má každý komplex v metabolické dráze. Jaderné cykliny A a E se vážou k p107

a p130 pravděpodobně proto, že jsou v jádru. Savčí cyklin B1 se akumuluje v cytoplazmě v G₂ fázi a translokuje se do jádra na začátku mitózy. Cyklin B asociuje s aparátem vřeténka, konkrétně s pólem vřeténka, a má se za to, že cyklin B-cdc2 kináza může být do tvorby vřeténka zapojena prostřednictvím fosforylujících složek mitotického aparátu. Navíc cyklin B1 je částí zpětnovazebního mechanismu, který zajišťuje správné sestavení mitotického aparátu v metafázi. ~~Lidský cyklin B2 je téměř výlučně asociován s membránovým~~ kompartmentem, obzvláště s Golgiho aparátem. Cyklin B2-cdc2 je zapojen do rozpojování Golgiho aparátu, když buňka vstupuje do mitózy.

Cdc2-cyklin B kináza je klíčový mitotický faktor, který se jeví jako vysoce konzervativní a má se za to, že je zapojen v přechodech buněčného cyklu ve všech eukaryotických buňkách. Histon H1 je substrát pro cdc2-cyklin B, histon H1 je selektivně fosforylovaný na specifických místech v mitóze, což je dle předpokladu důležité pro kondenzaci chromatinu. Komplex cdc2-cyklin B také fosforyluje lamin, který je zodpovědný za rozpad jaderné membrány. Jaderná membrána je tvořena z polymeru laminových podjednotek, které jsou hyperfosforylované v mitóze, a tato fosforylace je zodpovědná za jejich rozpojení. Lamin je částí rodiny proteinů intermediárních fibril a cdc2-cyklin B fosforyluje podskupinu míst fosforylovaných v mitóze na cytoplazmatických podjednotkách intermediárních fibril, vimentinu a dezminu. Tak je komplex cdc2-cyklin B zapojen do reorganizace buněčné architektury v mitóze.

Kromě toho cdc2-cyklin B je zapojen do reorganizace mikrofilament prostřednictvím fosforylace kaldezmonu (jiného než ve svalech) a proteinu o velikosti 83 kD, který se váže

k aktinu a kalmodulinu a inhibuje aktivitu aktomyozin-ATPázy. V mitóze je kaldezmón fosforylován prostřednictvím cdc2-cyklinu B, což zeslabuje jeho afinitu k aktinu a způsobuje, že disociuje od mikrofilament.

Cdc2-cyklin B zasahuje do regulace aktinomyozinových vláken prostřednictvím fosforylace myozinu v kontraktilních cirkulárních fibrilách, které rozdělí buňku na dvě (cytokineze). V metafázi je regulační lehký řetězec myozinu II (MLC) fosforylován na dvou základních místech v N-koncové části. Fosforylací myozinu se zabrání jeho interakci s aktinem. V anafázi jsou tato dvě místa defosforylována.

Cdc2-cyklin B má také úlohu v reorganizaci membránového kompartmentu v mitóze. Například cdc2-cyklin B fosforyluje rab1ap a rab4p. Když je rab4p fosforylován cdc2-cyklinem B, disociuje z membránového kompartmentu.

V mitóze je většina transkripčních forem inhibována. Cdc2-cyklin B má opět úlohu v inhibici transkripce zprostředkované pol III prostřednictvím fosforylace TFIIIB. Za předpokladu, že transkripce zprostředkovaná pol I, pol II a pol III sdílí několik společných faktorů, jako je protein vázající sekvenci TATA (TBA), je pravděpodobné, že cdc2-cyklin B je zapojen do tlumení všech transkripčních forem v mitóze.

Za předpokladu, že komplexy cyklin/cdk jsou důležité pro spouštění cyklu buněčného dělení, jsou pod přísnými regulačními mechanismy. Od výchozího objevu bylo prokázáno, že cykliny a cdk interagují s jinými transkripčními faktory a proteiny zapojenými do celé řady buněčných metabolických

drah. Cdk7 byl rozpoznán jako složka transkripčního faktoru IIH (TFIIH), která má kinázovou aktivitu C-koncové domény (CTD) RNA polymerázy II. Nedávno bylo objeveno, že také cdk8, která se spojuje s cyklinem C, fosforyluje CTD RNA polymerázy II, ale nezdá se, že má aktivitu CAK. Je tedy jasné, že kromě regulace buněčného cyklu se cdk podílí na celé řadě buněčných funkcí. CDK-inhibiční proteiny (CDI) jsou malé proteiny, které vážou a inaktivují specifické komplexy cyklin-CDK nebo monomerní CDK. Tyto inhibitory mohou být zařazeny do dvou rodin na základě podobnosti sekvencí a funkcí. Rodina INK4 zahrnuje p15^{INK4B}, p16^{INK4}, p18 a p19, které specificky vážou cdk4 a cdk6. p16^{INK4} a p15^{INK4B} obsahují čtyři ankyrinové repetice a kromě toho, že jsou významně homologní, jsou kódovány sousedními geny v lokusu 9p12.

Vysoké buněčné hladiny p16 mají za následek inaktivaci cdk4, protože p16 váže komplexy cyklin D-cdk4 a cyklin D-cdk6. Gen pro p16^{INK4} (MTS1) je považován za potenciální nádorový supresorový gen, protože je přestavován, deletován nebo mutován ve velkém počtu nádorových buněčných linií a v některých primárních nádorech. V jedné studii hereditárního melanomu měla téměř polovina rodin mutace zárodečné linie v genu p16^{INK4}. Rb je represor p16^{INK4}. Inaktivace buněčného Rb, buď mutací nebo virovými antigeny, koreluje se zvýšenými hladinami p16^{INK4}. p16^{INK4}, p15^{INK4B} a p18 inhibují vazbu cyklinu D s cdk4 a cdk6.

Druhá rodina CDI je rodina Kip/Cip, která zahrnuje p21^{Cip1}, VAF-1, p27^{Kip1} a p57^{Kip2}. p27^{Kip1} se vyskytuje v proliferujících buňkách v latentní nebo maskované formě. V průběhu stimulace je p27^{Kip1} demaskován a váže a inhibuje komplexy cyklin-CDK4/6. Proteiny rodiny Kip/Cip jsou silně

homologní v N-koncové části, oblasti, která váže komplexy cyklin-cdk. Proteiny rodiny Kip/Cip vážou a inhibují komplexy cyklin-cdk zapojené do komplexů G₁ a S fázi přednostně proti komplexům M fáze.

P21 (známý také jako WAF1, Cip1 a Sdi1) je indukován p53 a tvoří ternární komplex s jaderným antigenem proliferující buňky (PCNA) a podjednotkou DNA polymerázy δ v několika komplexech cyklin-CDK2, včetně cyklinů A, D1 a E. Exprese p21^{WAF-1} v rostoucích, klidových a stárnoucích buňkách koreluje s jeho úlohou jako negativním regulátorem vstupu do S fáze. p21^{WAF-1} mRNA se zvyšuje, když buňka stárne nebo je v klidové fázi a po sérové stimulaci klidových buněk a snižuje se, když buňka vstupuje do S fáze. p21 inaktivuje komplexy cyklin E-cdk2, cyklin A-cdk2 a cyklin D1, D2 a D3-cdk4.

Genetická analýza četných lidských nádorů odhalila neúměrný počet změněných proteinů buněčného cyklu a má se za to, že tato aberace způsobuje abnormální buněčný cyklus. Například cyklin D1 je bcl-1/PRAD1 proto-onkogen, který je buď nadměrně exprimován nebo deregulován v celé řadě lidských nádorů. Gen cyklin D1/CCND1, lokalizovaný na chromozomu 11q13, je amplifikován u velkého počtu karcinomů, hlavně karcinomu prsu a plicních karcinomů jiných než malobuněčných. To koreluje s pozorováním, že nadměrná exprese cyklinu D1 je společný rys u nádorů s tímto specifickým amplikonem (amplifikovaným fragmentem) 11q13. Gen pro p16 je přestavěn, deletován nebo mutován u velkého počtu nádorových buněčných linií a u některých primárních nádorů. Mutace v cdk4, specificky mutace Arg24Cys, byla identifikována ve dvou nepříbuzných rodinách s hereditárním melanomem. Tato mutace byla nalezena u 11/11 pacientů

s melanomem, 2/17 nepostižených a 0/5 manželů/manželek (Zuo a kol., Nature Genetics, 12, 97-99, 1996). Tato mutace má specifický účinek na doménu cdk4 vázající p16^{INK4a}, ale nemá žádný vliv na schopnost vazby k cyklinu D a tvorbu funkční kinázy. V důsledku této mutace je komplex cyklin D/cdk4 rezistentní na normální fyziologickou inhibici prostřednictvím p16^{INK4a}. Další studie ukázaly, že téměř u poloviny příbuzenstva s familiárním melanomem se prokázala vazba k oblasti chromozomu 9p21, který obsahuje gen p16^{INK4a}. Typy identifikovaných mutací p16^{INK4a} zahrnují nonsense mutaci, mutaci donora sestřihu, neidentifikovanou mutaci, která zabraňuje transkripci p16^{INK4a} a 3 missense mutanty (mutace mění smysl kodonu), které jsou neschopné vázat cdk4 nebo cdk6. Nadměrná exprese cdk4 jako důsledek amplifikace genů byla identifikována ve studii 32 gliomových buněčných linií (He, J., a kol., Cancer Res., 54, 5804-5807, 1994). Tato alterace byla pozorována u deseti případů s intaktními geny p16. Genetická analýza gliomových buněčných linií odhalila, že 24 z 32 gliomových buněčných linií mělo jednu ze dvou alternativních genetických alterací, z nichž každá ukazovala, že zvýšená aktivita cdk4 kinázy je důležitá pro vývoj gliového nádoru. cdk4 je na mapě dlouhého raménka chromozomu 12 a její nadměrná exprese byla nalezena u určitých nádorů díky její amplifikaci jako složky amplikonu, který zahrnuje další relevantní geny, jako je SAS a MDM2. Všechny z výše uvedených stavů vedou k aktivaci cdk4. Byla také publikována nadměrná exprese cyklinů B1 a E u leukemických buněčných linií a u buněčných linií solidního tumoru, jakož i změněný charakter exprese cyklinu E u karcinomu prsu.

Buněčná hyperproliferace se objevuje u velkého počtu chorobných stavů. Nejběžnější hyperproliferální nemoci jsou

novotvary, které jsou typicky pojmenovány podle původního zdroje hyperproliferální tkáně. Novotvary jsou definovány jako nový nárůstek zvířecí nebo rostlinné tkáně, který více či méně připomíná tkáň, ze které pochází, ale neslouží žádné fyziologické funkci a jejich charakter je benigní, potenciálně maligní nebo maligní. Novotvary vznikají jako důsledek ztráty normální kontroly, což vede k neregulovanému růstu. Neoplastické buňky mohou postrádat diferenciaci a získávají schopnost invadovat do místních tkání a metastazovat. Novotvary se mohou vyvinout v každém typu tkáně každého orgánu v každém věku. Výskyt novotvarů a úmrtnost obecně stoupají s věkem, přičemž určité novotvary mají vrchol výskytu mezi 60. a 80. rokem (například prostata, žaludek a tlusté střevo). Ale jiné novotvary mají vrchol výskytu od narození do 10 let věku (například akutní lymfoblastická leukémie). Dieta, expozice karcinogenům, zejména tabáku, a familiární predispozice také ovlivňují výskyt konkrétních novotvarů.

Neoplastické buňky se liší od normálních buněk v celé řadě důležitých aspektů, včetně ztráty diferenciaci, zvýšené invazivnosti a snížené citlivosti na léky. Další důležitá odlišnost je nekontrolovaný růst buněk, o kterém se předpokládá, že je následkem ztráty normálních buněčných kontrolních mechanismů těchto buněk, které jsou buď deaktivovány, obcházeny nebo na ně není brán zřetel jinak, což umožňuje neoplastickým buňkám proliferovat bez ohledu na normální kontrolní mechanismy.

Novotvar je abnormální tkáňová hmota, jejíž růst se vymyká kontrole a není koordinován s růstem normální tkáně a trvá stejně nadměrným způsobem i po skončení podnětu, který změnu vyvolal.

Novotvary se rozdělují na benigní nebo maligní. Benigní novotvary projevují pomalý, lokalizovaný růst, který je obvykle ohraničen díky jejich opouzdrění pomocí fibrózního pouzdra z pojivové tkáně. Zatímco benigní novotvary zřídka způsobí smrt organismu, u neléčených maligních novotvarů je vysoká pravděpodobnost, že organismus usmrtí. Maligní novotvary jsou obecně neopouzdrěné a obvykle rychleji rostou. Maligní novotvary často invadují do okolních tkání a cév a šíří se na vzdálená místa v těle. Maligní novotvary jsou genericky popisovány jako "karcinomy" nebo jako "tumory", druhý termín označuje zduření.

Myeloproliferační choroby je skupina nemocí charakterizovaná abnormální proliferací jedné nebo více hemopoetických buněčných linií nebo složek pojivové tkáně. Normálně se do myeloproliferačních chorob zahrnují čtyři nemoci: polycythaemia vera (primární polycytémie, Vaquezova choroba), myelofibróza (myeloidní metaplázie nejasného původu), chronická myeloidní leukémie a primární (esenciální) trombocytémie. Akutní leukémie, zejména erytroleukémie, a paroxysmální noční hemoglobinurie jsou také zařazovány jako myeloproliferační choroby. Každá z těchto chorob je identifikována podle svého převládajícího charakteristického rysu nebo podle místa proliferace. Ačkoliv jsou důsledkem proliferace různých buněk, bylo dokázáno, že každá nemoc je způsobena klonální proliferací vznikající na úrovni pluripotentní kmenové buňky, což způsobuje různý stupeň abnormální proliferace erytroidních, myeloidních a megakaryocytových prekursorů v kostní dřeni. Všechny myeloproliferační choroby mají tendenci končit jako akutní leukémie.

Leukémie jsou maligní novotvary krvetvorných tkání. S vyvoláním leukémií u lidí jsou spojovány přinejmenším dva viry. Virus Epstein-Barrové se spojuje s Burkittovým lymfomem a lidský lymfotropní virus T buňky, také nazývaný virus lidské akutní leukémie/lymfomu (HTLV-1), byl dáván do souvislosti s některými leukémiemi a lymfomy T buněk. Expozice, zejména déletrvající expozice chemickým činidlům, jako je benzen a některá protinádorová léčiva, nebo ionizujícímu záření, genetické predispozice (například Downův syndrom) a některé familiární choroby (například Fanconiho anémie) mají za následek predispozici k leukémií.

Má se za to, že rozvoj leukémie nastává prostřednictvím jednoho buněčného cyklu ve dvou nebo více krocích s následnou proliferací a klonální expanzí. Leukémie jsou v současnosti tříděny podle své buněčné zralosti, akutní leukémie jsou převážně nediferencované buněčné populace a chronické leukémie mají zralejší buněčné formy. Akutní leukémie se dále dělí na lymfoblastové (ALL, také známa jako akutní leukémie lymfatické řady) a myeloidní (AML, také známa jako akutní myelocytární, myelogenní, myeloblastová, myelomonoblastová). Mohou být dále tříděny pomocí morfologických a cytochemických znaků podle francouzsko-americko-britské (FAB) klasifikace nebo podle typu a stupně diferenciace. Chronické leukémie se klasifikují buď jako lymfatické (CLL) nebo myeloidní (CML). CLL je charakterizována výskytem zralých lymfocytů v krvi, kostní dřeni a lymfoidních orgánech. CML je charakterizována převahou granulocytů ve všech stupních diferenciace v krvi, kostní dřeni, játrech, slezině a jiných orgánech.

Myelodysplastický syndrom (MDS) je charakterizován jako klonální proliferativní choroba, u které je normální nebo

hypercelulární kostní dřeň sdružená s anémií a poruchami myelopoézy. Hemopoetické buňky, které mohou proliferovat, zahrnují erytroidní, myeloidní a megakaryocytové formy. MDS je relativně nové označení skupiny chorob známých jako preleukémie, refrakterní anémie, Ph-chromozom negativní chronická myeloidní leukémie, chronická myelomonocytová leukémie a myeloidní metaplázie nejasného původu. Systém FAB poskytuje další klasifikaci myelofibrózy.

Lymfomy jsou heterogenní skupina novotvarů vznikajících v retikuloendotelovém a lymfatickém systému. Hlavní typy lymfomů jsou Hodgkinova choroba a nehodgkinské lymfomy, a také vzácnější Burkittův lymfom a mycosis fungoides. Hodgkinova choroba je chronické onemocnění s lymforetikulární proliferací neznámé příčiny, která se může vyskytovat v lokalizované nebo diseminované formě a je dále charakterizována podle čtyř histopatologických profilů. Nehodgkinské lymfomy jsou heterogenní skupina nemocí, jež spočívá v neoplastické proliferaci lymfoidních buněk, které jsou obvykle v těle diseminovány. Dřívější termíny, lymfosarkom a retikulosarkom, byly nyní nahrazeny termíny, které odrážejí původ buněk a biologický průběh nemoci. Rappaportova klasifikace je založena na histopatologii, na stupni diferenciaci nádoru a na tom, zda je růstový model difúzní nebo nodulární. Klasifikace podle Lukese a Collinse je založena na původu buňky, specificky zda pochází z T nebo B buňky, histiocytu (nebo monocytu) nebo je původ neklasifikovatelný. International Panel Working Formulation of the National Cancer Institute třídí nehodgkinské lymfomy s použitím výše uvedených klasifikací.

Burkittův lymfom je vysoce nediferencovaný lymfom B buněk, který má tendenci postihovat místa jiná než

lymfatické uzliny a retikuloendotelový systém. Burkittův lymfom má na rozdíl od jiných lymfomů specifickou geografickou distribuci, což svědčí pro neidentifikovaný hmyzí vektor a infekční agens. Důkazy ukazují na virus herpes podobný viru Epstein-Barrové.

Mycosis fungoides je vzácný chronický lymfom T buněk postihující kůži a příležitostně vnitřní orgány.

Dyskrazie plazmatických buněk (PCD) nebo monoklonální gamapatie jsou choroby charakterizované disproporční proliferací jednoho klonu buněk normálně zapojených do syntézy imunoglobulinu (Ig) a výskytem strukturálně a elektroforeticky homogenního Ig nebo jeho polypeptidové podjednotky v séru nebo moči. Choroba může být nejdříve asymptomatická až k progresivním zjevným novotvarům (například mnohočetný myelom). Choroba je důsledkem disproporční proliferace jednoho klonu produkujícího specifický Ig: IgG, IgM, IgA, IgD nebo IgE.

Mnohočetný myelom, také známý jako myelom plazmatických buněk nebo myelomatóza, je progresivní neoplastické onemocnění, pro které jsou charakteristické tumory plazmatických buněk kostní dřeně a nadměrná produkce intaktního monoklonálního Ig (IgG, IgA, IgD nebo IgE) nebo Bence Jonesova proteinu, což jsou volné monoklonální lehké řetězce kappa nebo lambda. Difúzní osteoporóza nebo diskrétní osteolytické léze vznikají v důsledku náhrady expandujícími tumory plazmatických buněk nebo díky faktoru aktivujícím osteoklasty, který je secernován maligními plazmatickými buňkami.

Makroglobulinémie nebo primární či Waldenströмова

makroglobulinémie je dyskrázie plazmatických buněk postihující B buňky, které normálně syntetizují a secernují IgM. Makroglobulinémie se liší od myelomu a jiných PCD a připomíná lymfomatózu. Mnoho pacientů má příznaky zvýšené viskozity krve, únavu, slabost, kožní a slizniční krvácení apod.

Nemoc těžkých řetězců je neoplastická dyskrázie plazmatických buněk charakterizovaná nadměrnou produkcí homogenních těžkých řetězců Ig γ , α , μ a δ . Tyto poruchy mají za následek nekompletní monoklonální Ig. Klinický obraz se podobá více lymfomu než mnohočetnému myelomu.

Hypersplenismus je syndrom, při kterém je oběhová cytopenie spojena se splenomegalií. Léčení pacientů s hypersplenismem vyžaduje léčbu základní nemoci, ne splenektomii. Lymfoproliferační a myeloproliferační choroby jsou určitou, ale ne jedinou, příčinou hypersplenismu. Myeloproliferační choroby způsobující hypersplenismus zahrnují polycytémii vera, myelofibrózu s myeloidní metaplázií, chronickou myeloidní leukémií a esenciální trombocytémií. Chronická lymfocytová leukémie a lymfomy (včetně Hodgkinovy choroby) jsou specifické lymfoproliferační choroby, které mohou vyvolat hypersplenismus.

Plicní tkáň je místo jak benigních tak maligních primárních tumorů, a také místo metastáz karcinomů z mnoha dalších orgánů a tkání. Kouření cigaret je příčinou ohromného procenta plicních karcinomů, odhadem více než devadesáti procent případů u mužů a přibližně sedmdesáti procent případů u žen. Expozice vlivům pracovního prostředí, jako je azbest, radiace, arzén, chromany, nikl,

chlormethyletery, jedovatý plyn a emise koksovací pece, je také spojena s plicním karcinomem. Nejběžnější typy plicního karcinomu jsou epidermoidní, malobuněčný, velkobuněčný karcinom a adenokarcinom.

Přibližně devadesát pět procent rakoviny žaludku jsou karcinomy, méně běžné jsou lymfomy a leiomyosarkomy. Karcinomy žaludku jsou klasifikovány podle celkového vzezření, vyčnívající, penetrující (tumor má ostrou, dobře ohraničenou hranici a může být ulcerován) a infiltruující nebo smíšený, který má charakteristické vlastnosti dvou dalších typů.

Rakoviny pankreatu mohou být tumory exokrinní, což jsou většinou adenokarcinomy vznikající spíše z buněk kanálků než z buněk acinů, nebo tumory endokrinní, které zahrnují inzulinom. Pankreatické tumory produkující gastrin postihují buňky jiné než typu β nebo tumory ve stěně duodena mohou způsobit Zollingerův-Ellisonův syndrom, který se vyznačuje hypergastrinémií. Někdy další endokrinní abnormality, zejména příštítných tělísek nebo hypofýzy a nadledvin, vyvolají poruchu mnoha žláz známou jako mnohočetná endokrinní neoplázie (MEN). Tumory buněk jiného typu než β mohou způsobit syndrom známý jako syndrom pankreatické cholery, jehož příčinou je nádor pankreatu produkující VIP (vipom), který je charakterizován dlouhotrvajícími masivními řídkými průjmy.

Novotvary střev zahrnují tumory tenkého střeva, tumory tlustého střeva a rakovinu tračníku a rekta. Benigní tumory tenkého střeva mohou vznikat z novotvarů jejunu a ilea, včetně leiomyomů, lipomů, neurofibromů a fibromů. Maligní tumory tenkého střeva, jako jsou adenokarcinomy, jsou vzácné

a typicky vznikají v proximálním jejunu. Pacienti s Crohnovou chorobou tenkého střeva jsou k těmto adenokarcinomům náchylnější než pacienti s Crohnovou chorobou tlustého střeva. U pacientů s Crohnovou chorobou mají tumory tendenci objevovat se distálně v překlenutých nebo zanícených kličkách střeva. Karcinoidy typicky vznikají v tenkém střevě, zejména v ileu, a přibližně v polovině případů existují mnohočetné tumory. Kaposiho sarkom, který se často vyskytuje u příjemců transplantátu a u pacientů s AIDS, má gastrointestinální postižení přibližně v polovině případů. Léze se mohou objevit kdekoliv v gastrointestinálním traktu, ale jsou obvykle nalézány v žaludku, tenkém střevu nebo distálním tračníku.

Tumory tlustého střeva zahrnují polypy tračníku a rekta. Polypy jsou tvořeny masou tkáně, která vychází ze střevní stěny a vyčnívá do lumen. Polypy se třídí podle histologie, jako tubulární adenomy, tubulovilózní adenomy, vilózní adenomy, hyperplastické polypy, hamartomy, juvenilní polypy, polypoidní karcinomy, pseudopolypy, lipomy, leiomyomy a ještě vzácnější tumory.

Maligní tumory mohou také vznikat v anorektu. Jsou to epidermoidní (z dlaždicových buněk) karcinomy anorekta, ze kterých se skládají tři až pět procent rektální a anální rakoviny.

V západních zemích jsou karcinomy tračníku a rekta na druhém místě za karcinomem plic, co se týče evidence nových případů každý rok. V USA v roce 1989 zemřelo přibližně 75 000 lidí na tyto karcinomy, přibližně 70 % se vyskytlo v rektu a sigmoideu a 95 % byly adenokarcinomy.

Novotvary jater zahrnují benigní novotvary, které jsou relativně časté, ale často neodhalené, a maligní novotvary. Hepatocelulární adenom je nejdůležitější benigní novotvar jater. Asymptomatické malé hemangiomy se vyskytují u jednoho až pěti procent dospělých. Adenomy žlučových a další mezenchymální novotvary se také vyskytují, ale jsou relativně vzácné. Maligní novotvary jater jsou nejčastější formou jaterního tumoru a játra jsou častým místem metastáz přenášených krevním oběhem, obvykle z plic, prsu, tračníku, pankreatu a primárních nádorů žaludku. Výskyt hepatocelulárního karcinomu je spojen s chronickou virovou hepatitidou B v určitých částech Afriky a jihovýchodní Asie. V severní Americe, Evropě a jiných oblastech s nízkou prevalencí má většina pacientů jako základní onemocnění cirhózu jater. Fibrolamelární karcinom je jiná varianta hepatocelulárního karcinomu s charakteristickou morfologií maligních hepatocytů zachycených v lamelární fibrózní tkáni. Fibrolamelární karcinom obvykle postihuje relativně mladé dospělé a nemá žádný vztah s dříve existující cirhózou, chronickou infekcí virovou hepatitidou B nebo jinými známými rizikovými faktory. Další primární malignity jater zahrnují cholangiokarcinom (tumor vznikající z epitelu intrahepatických žlučových), hepatoblastom (který je jeden z nejčastějších karcinomů u dětí) a angiosarkom (který je spojován s průmyslovou expozicí vinylchloridu). Leukémie a příbuzné choroby mohou postihnout hepatické tkáně, má se za to, že je to důsledek infiltrace abnormálními buňkami.

Syndrom mnohočetné endokrinní neoplázie (MEN) je skupina geneticky rozdílných familiárních nemocí zahrnujících adenomatózní hyperplázii a tvorbu maligních tumorů v několika endokrinních žlázách. Byly identifikovány tři odlišné syndromy. Typ I (MEN-I) je charakterizován

tumory příštítných tělísek, pankreatických ostrůvků a hypofýzy. Typ II (MEN-II) je charakterizován medulárním karcinomem štítné žlázy, feochromocytomem a hyperparathyreózou. Typ III (MEN-III) je charakterizován mnohočetnými slizničními neuromy, medulárním karcinomem štítné žlázy a feochromocytomem.

Syndrom karcinoidu je obvykle způsobován ~~metastazujícím intestinálním karcinoidem~~, který secernuje nadměrné množství vazoaktivních látek, včetně serotoninu, bradykininu, histaminu, prostaglandinů a polypeptidových hormonů. Abnormální hladiny těchto látek způsobují celou řadu příznaků, často záchvatovité zrudnutí kůže ("flush"), cyanózu, kolikovitě bolesti v břiše, průjem a onemocnění srdečních chlopní.

Novotvary kostí a kloubů mohou být benigní nebo maligní. Benigní tumory kostí zahrnují osteochondromy (osteokartilaginózní exostózy), které jsou nejčastější benigní kostní tumory u dětí mezi 10. až 20. rokem, benigní chondromy (které jsou lokalizované uvnitř kosti), které se vyskytují nejčastěji u dětí a mladých dospělých mezi 10. až 30. rokem, chondroblastom (který vzniká v epifýze), který je vzácný, ale nejčastější u dětí mezi 10. až 20. rokem, chondromyxoidní fibromy, osteoidní osteom, obrovskobuněčné tumory a fibromatózní léze. Primární maligní nádory kostí zahrnují osteogenní sarkom (osteosarkom), který je druhý nejčastější primární kostní nádor, fibrosarkomy, maligní fibrózní histiocyty, chondrosarkomy, mezenchymální chondrosarkomy, Ewingův nádor (Ewingův sarkom), maligní lymfom kostní, mnohočetný myelom a maligní obrovskobuněčný tumor.

Primární karcinomy jiných tkání mohou metastazovat do kostní tkáně. Nejčastější jsou karcinomy vznikající v prsu, plicích, prostatě, ledvinách a štítné žláze.

Novotvary centrálního nervového systému (CNS) se obecně třídí podle orgánu. Primární intrakraniální novotvary jsou rozděleny do šesti skupin: tumory 1) lebky, 2) mening, 3) kraniálních nervů, 4) neuroglií a ependymu, 5) hypofýzy nebo epifýzy, a 6) kongenitálního původu. Novotvary lebky zahrnují osteom, hemangiom, granulom, xantom a osteitis deformans. Meningeální novotvary zahrnují meningiom, sarkom a glomatózu. Novotvary kraniálních nervů zahrnují gliom optického nervu a schwannom 8. a 5. kraniálního nervu. Novotvary neuroglií zahrnují gliomy a ependymomy. Novotvary hypofýzy nebo epifýzy zahrnují adenom hypofýzy a pinealom. Novotvary kongenitálního původu zahrnují kraniofaryngiom, chordom, germinom, teratom, dermoidní cystu, angiom a hemangioblastom.

Novotvary míchy jsou léze, které tísní míchu nebo její kořeny, vznikající z míšního parenchymu, kořenů, mening nebo obratlů. Primární novotvary míchy jsou mnohem méně běžné než intrakraniální tumory. Metastatické léze jsou běžné a mohou vznikat z karcinomů plic, prsu, prostaty, ledvin, štítné žlázy nebo lymfomů.

Novotvary močopohlavní soustavy se vyskytují v každém věku a u obou pohlaví, ale zodpovídají za přibližně 30 % karcinomů u mužů a 4 % u žen. Adenokarcinom prostaty významně přispívá k počtu malignit u mužů nad 50 let. Adenokarcinom prostaty má vztah k hormonům a jeho patologie je typicky glandulární. Karcinom ledvin, adenokarcinom, se podílí pouze přibližně jedním až dvěma procenty na

karcinomech dospělého věku, ale většina solidních tumorů ledvin je maligní. Wilmsův tumor, embryonální adenomyosarkom ledvin, se vyskytuje fetálně a často není diagnostikován po mnoho let. Novotvary pánvičky ledvinné a ureteru jsou histologicky podobné. Novotvary močového měchýře mohou být indukovány známými karcinogeny močové soustavy, jako jsou anilinová barviva, a nejběžnější je karcinom z přechodního epitelu, méně běžný je dlaždicobuněčný karcinom. Vzácnější novotvary močopohlavní soustavy zahrnují karcinom uretry a penisu. Novotvary varlat jsou zodpovědné za většinu solidních malignit u mužů pod 30 let. Většina maligních testikulárních tumorů vzniká z primordiální zárodečné buňky a třídí se podle postiženého buněčného typu.

Karcinom prsu je nejčastější karcinom u žen. V USA je kumulativní riziko pro ženy každého věku, že se u nich rozvine karcinom prsu, přibližně 10 %, ale riziko úmrtí na nemoc je pouze přibližně 3,6 %. Ale riziko stoupá s věkem, rodinnou anamnézou karcinomu prsu, expozici záření a do vyššího rizika zasahuje dokonce i dieta.

U karcinomů prsu se rutinně provádí analýza estrogenových a progesteronových receptorů. Přibližně dvě třetiny pacientek mají tumory prsu pozitivní na estrogenový receptor (ER+). Předpokládá se, že tumory, které jsou progesteron-pozitivní, mají funkční estrogenový receptor a výskyt obou receptorů poskytuje větší pravděpodobnost příznivé odpovědi na endokrinní léčbu než výskyt pouze jednoho receptoru. Endokrinní léčba, obvykle tamoxifenem, je výhodná u tumorů pozitivních na estrogenový receptor. Estrogeny a androgeny jsou také účinné, ale pro nežádoucí vedlejší účinky vyvolané vyššími hladinami těchto hormonů jsou méně oblíbené než jiné formy endokrinní léčby. Karcinom

prsu může metastazovat do téměř každého orgánu v organismu, ale nejčastější místa metastáz jsou plíce, játra, kosti, lymfatické uzliny a kůže.

Lobulární karcinom *in situ* (LCIS) nebo lobulární neoplázie se nejčastěji nachází u žen před menopauzou. Duktální karcinom *in situ* (DCIS) se vyskytuje u obou skupin, žen před menopauzou i po ní. DCIS vytváří hmatatelnou masu. LCIS a DCIS zodpovídají za přibližně 90 % všech karcinomů prsu. Vzácnější formy, medulární a tubulární léze, mají poněkud lepší prognózu.

Nejčastější gynekologické novotvary jsou endometriální karcinomy, které se řadí na čtvrté místo co do četnosti za karcinom prsu, kolorektální karcinom a plicní karcinom u žen. Endometriální karcinomy jsou charakterizovány svou klinickou klasifikací, pohybující se v rozmezí od stadia *in situ* na stupni 0 do stadia metastáz do vzdálených orgánů na stupni IVB. Endometriální karcinomy typicky produkují estrogen a současné léčebné přístupy zahrnují chirurgický výkon a progesteronovou terapii.

Karcinomy vaječníků jsou zodpovědné za přibližně 18 % všech gynekologických novotvarů. Přibližně 80 % maligních ovariálních karcinomů vzniká z ovariálního epitelu a třídí se podle své histologie. Tumory mohou také vznikat ze zárodečných buněk nebo stromatu.

Karcinom vulvy je zodpovědný za přibližně 3 až 4 % všech gynekologických novotvarů. Karcinom vulvy se obvykle vyskytuje po menopauze, a přibližně z 90 % to je spinocelulární karcinom. Přibližně 4 % tvoří bazocelulární karcinomy a zbytek zahrnuje intraepiteliální karcinomy,

adenokarcinom Bartholinské žlázy, fibrosarkom a melanom.

Vaginální karcinom zodpovídá přibližně za 1 % gynekologických malignit, s vrcholícím výskytem ve věku od 45 do 65 let. Přibližně 95 % vaginálních karcinomů jsou spinocelulární karcinomy. Primární karcinom vejcovodu je vzácný a typicky se šíří přímo nebo lymfatickými cévami.

Nemoci trofoblastu nebo novotvary trofoblastického původu mohou následovat po intrauterinním nebo extrauterinním těhotenství. Degenerativní těhotenství má za následek mola hydatidosa, která je v 80 % benigní.

Novotvary mohou vznikat ve zvukovodu a narušit sluch. Vznikají také ceruminomy, jsou typicky maligní navzdory histologicky benignímu obrazu a léčí se chirurgickým odstraněním. Bazocelulární a spinocelulární karcinomy se často vyvíjejí na zevním uchu jako důsledek pravidelné expozice slunci a jsou také typicky léčeny chirurgickým odstraněním. Střední ucho může být sídlem spinocelulárního karcinomu. Achromafinní paragangliomy mohou vznikat ve spánkové kosti.

Nejčastější maligní nádor nosu a vedlejších dutin nosních je spinocelulární karcinom, méně časté jsou adenoidní cystické a mukoepidermoidní karcinomy, maligní smíšené tumory, adenokarcinomy, lymfomy, fibrosarkomy, osteosarkomy, chondrosarkomy a melanomy.

Spinocelulární karcinom nosohltanu je nejčastěji pozorován u dětí a mladých dospělých.

Nejčastější malignity horních cest dýchacích jsou

spinocelulární karcinomy tonzil a hrtanu. Oba jsou častější u mužů a jsou spojovány s kouřením tabáku a požíváním ethanolu, přibližně 85 % pacientů s karcinomem hlavy nebo krku má anamnézu konzumace etanolu a tabáku.

Přibližně 90 % karcinomů hlavy a krku tvoří spinocelulární (epidermoidní) karcinom. Melanomy, lymfomy a sarkomy jsou relativně vzácné formy primárních karcinomů hlavy a krku. Karcinomy hlavy a krku se třídí podle velikosti a místa postižení primárním novotvarem, počtem a velikostí metastáz do krčních lymfatických uzlin a průkazem vzdálených metastáz.

Karcinomy oka mohou vznikat v kůži očních víček a mohou být benigní nebo neoplastické. Běžné benigní výrůstky jsou xantelazmata, která jsou tvořena subkutánními žlutavě bílými plochými pláty lipidových látek. Bazocelulární karcinomy jsou častější, typické léčení je chirurgické odstranění nebo radiační terapie. Další méně časté maligní tumory jsou spinocelulární karcinomy nebo karcinomy Meibomových žláz a další typy melanomů. Nejčastější primární malignita oka je maligní melanom cévnatky.

Tumory také vznikají v kožní tkáni, a zahrnují benigní tumory, jako jsou mateřská znaménka, lipomy apod., a také maligní tumory. Přibližně 40-50 % maligních melanomů vzniká z melanocytů v mateřských znaménkách. Maligní karcinomy kůže jsou buď bazocelulární nebo spinocelulární karcinomy a často vznikají v oblastech kůže vystavované slunci. Jsou to nejčastější malignity a jejich výskyt stoupá. Méně časté malignity zahrnují maligní melanom, Pagetovu chorobu bradavky nebo extramamární chorobu Patentovu, Kaposiho sarkom (KS) a kožní lymfom T buněk (mycosis fungoides).

Výskyt KS se zvyšuje jako důsledek zvýšeného výskytu AIDS. KS se vyskytuje u přibližně jedné třetiny pacientů s AIDS.

Karcinomy ústní dutiny jsou zodpovědné za přibližně 5 % karcinomů u mužů a 2 % karcinomů u žen. Nejčastější forma karcinomu ústní dutiny je spinocelulární karcinom. Výskyt stoupá s věkem a rizikovými faktory, zejména konzumací tabáku a alkoholu.

Chirurgický výkon je nejstarší účinná forma léčení novotvarů. Úspěchu je velkou měrou dosaženo, jestliže je novotvar detekován ve svých časných stadiích a nemetastazoval. Radiace je také důležitá terapie a je to výhodná léčba mnoha novotvarů, jako je Hodgkinova choroba, časná stádium nehodgkinských lymfomů a spinocelulární karcinom hlavy a krku. Radiace je prokazatelně velmi úspěšná jako doplněk chirurgického výkonu a protinádorových léků.

V léčbě novotvarů jsou také použitelné protinádorové léky, které se třídí podle mechanismu působení. Prokázalo se, že obzvláště účinnou terapií jsou četné kombinace typicky protinádorových léků s odlišným mechanismem účinku, umožňují nižší dávkování a mnohdy minimalizují negativní vedlejší účinky. Protinádorové léky často zasahují do základních biologických procesů nezbytných pro buněčnou replikaci nebo růst.

Alkylační látky, jako mechloretamin a cyklofosfamid, alkylují DNA a omezují replikaci DNA.

K antimetabolitům, které jsou cílené na rozvrácení metabolických drah nezbytných pro buněčné dělení, patří následující léky.

Antagonisté kyseliny listové se vážou na dihydrofolátreduktázu a interferují se syntézou pyrimidinu. Antagonisté kyseliny listové jsou specifické pro S fázi. Velmi často používaný antagonista kyseliny listové je metotrexát.

Purinové antagonisté blokují syntézu purinu *de novo* a jsou specifické pro S fázi. Příkladem purinového antagonisty je 6-merkaptopurin.

Antagonisté pyrimidinu interferují s thymidylát syntázou, tím snižují tvorbu thymidinu a jsou specifické pro S fázi. Často používaný antagonista pyrimidinu je 5-fluorouracil.

Cytarabin inhibuje DNA polymerázu a je specifický pro S fázi.

Rostlinné alkaloidy zahrnují vinka alkaloidy, jako je vinblastin a vinkristin, a podofylotoxiny, jako je etoposid. Rostlinné alkaloidy jsou účinné v metafázi a inhibují mitózu celou řadou mechanismů včetně změny mikrotubulárních proteinů.

Antibiotika zahrnují doxorubicin a daunomycin, které se vmezeřují do DNA vláken a inhibují rozvinutí DNA, bleomycin, který způsobuje zlomy DNA vláken a mitomycin, který inhibuje syntézu DNA tím, že působí jako bifunkční alkylační látka.

Mezi nitrozomočoviny patří karmustin a lomustin a alkylují DNA nebo karbamoylují aminokyseliny v proteinech.

Anorganické ionty, jako cisplatina, se vmezeřují do DNA vláken a mezi ně a inhibují rozvinutí DNA.

Látky ovlivňující biologickou odpověď, jako interferony, mají antiproliferační účinek, ale jejich specifická úloha není známa. Interferony zahrnují interferon α (leukocytový), interferon β (fibroblastový) a interferon γ (lymfocytový).

Enzymy, jako asparagináza, jsou také používány pro změny metabolických drah důležitých pro rakovinné buňky. Asparagináza vyčerpá asparagin, na kterém závisí leukemické buňky.

Hormony a jejich analogy, jako tamoxifen, flutamid a progesteron, mají nespecifické účinky, ale jsou použitelné pro léčbu určitých novotvarů, o kterých je známo, že jsou hormon-responzivní, zejména novotvary prsu, vaječníků a prostaty. Tamoxifen, často používaný v léčbě novotvarů prsu, nachází buňky v klidu a váže se na estrogenový receptor. Flutamid, často používaný v léčbě novotvarů prostaty, se váže na androgenový receptor.

Cytokininy jsou přirozeně se vyskytující a syntetické regulátory růstu rostlin. Přirozené cytokininy mají tendenci k nespecifické inhibici různých proteinkináz. Molekulární mechanismy, kterými cytokininy regulují buněčný růst a dělení, ještě nebyly stanoveny. Studie naznačují, že cytokininy mohou zvyšovat dostupnost DNA templátu, aktivovat RNA polymerázu, ovlivňovat polyadenylaci a sekundární strukturu mRNA a stimulovat tvorbu a aktivitu polyribosomů. Předpokládá se, že cytokininy ovlivňují buněčné dělení

prostřednictvím interakce s regulačními proteiny buněčného cyklu. Jak cytokininy, tak cyklin-dependentní kinázy (cdk) působí jako mnohočetné a podobné kontrolní body buněčného cyklu, například v přechodech G_1/S a G_1/M a S a M fázích.

Olomoucín, 6-(benzylamin)-2-[(2-hydroxyethyl)amin]-9-methylpurin, byl nejdříve vynalezen jako herbicid. Nedávno bylo objeveno, že olomoucín je syntetický cytokinin, který v mikromolárních koncentracích specificky inhibuje některé cdk, včetně $p34^{cdc2}$ /cyklin B kinázy, ale nemá žádný účinek na další důležitější proteinkinázy, jako cAMP- a cGMP-dependentní kinázy a proteinkinázu C. V současnosti bylo ukázáno, že olomoucín má dobrou selektivitu pro cdk-cyklin proteinkinázy, ale má pouze mírnou inhibiční aktivitu, s IC_{50} přibližně $7 \mu M$. (Veselý, J., a kol., Eur. J. Biochem., 224, 771-786, 1994). Krystalová struktura olomoucínu o velikosti $2,4 \text{ \AA}$ po společné krystalizaci s cdk2 vedla ke zjištění, že purinová část olomoucínu se váže v konzervativní ATP vazebné kapse, zatímco benzylaminové skupiny se šíří do oblasti aktivního místa unikátního pro cdk2 kinázy.

Roskovitin, 2-(1-ethyl-2-hydroxyethylamin)-6-benzylamin-9-isopropylpurin, je nedávno syntetizovaný purin, u kterého bylo dokázáno, že má selektivitu pro některé cyklin-dependentní kinázy a co se týče cdk2 a $cdc2$ je desetkrát aktivnější než olomoucín (Meijer, L., a kol., Eur. J. Biochem., 243, 527-536, 1997, a PCT/FR96/01905). Meijer a kol. publikovali, že většina kináz není významně inhibována roskovitinem. Ale $cdc2$ -cyklin B, cdk2-cyklin A, cdk2-cyklin E a cdk5-p35 jsou podstatně inhibovány IC_{50} o hodnotách 0,65, 0,7, 0,7 a $0,2 \mu M$, v daném pořadí. Na rozdíl od toho, roskovitin projevovat hodnoty IC_{50} větší než

100 μM pro cdk4-cyklin D1 a cdk6-cyklin D2.

Havlicek a kol. (J. Med. Chem., 40, 408-412, 1997) publikovali, že roskovitin a příbuzné analogy substituované v pozicích 2, 6 a/nebo 9 inhibují p34^{cdc2}-cyklin B kinázy. Žádný z analogů nemá vyšší hodnoty IC_{50} než (R) enantiomer roskovitinu, který má hodnotu IC_{50} 0,2 μM . (S) enantiomer má hodnotu IC_{50} 0,8 μM , racemická směs (R/S) má hodnotu IC_{50} 0,65 μM . Tito autoři uzavřeli, že N⁶-benzylový substituent roskovitinu je lepší než isopentenylový nebo cyklohexylmethylový substituent.

National Cancer Institute (NCI) je organizace řízená vládou Spojených Států zaměřená na objevování a vývoj nových terapeutických produktů pro onkologii. V roce 1985 NCI ustanovila novou strategii pro screening rakoviny týkající se lidských nádorových buněčných linií pro *in vitro* testy jako primární screening rakoviny. Celkový počet šedesáti lidských nádorových buněčných linií, pocházejících ze sedmi typů karcinomu (karcinomu plic, tračníku, melanomu, karcinomu ledvin, vaječníků, mozku a leukémie), bylo vybráno pro zahrnutí do panelu NCI (Grever, M.R., a kol., Seminars in Oncology, 19, 622-638, 1992). Také protokoly použité v těchto testech byly v literatuře publikovány. Americká sbírka mikroorganismů a tkáňových kultur (American Type Tissue Collection, ATCC) působí jako depozitář pro tyto a další nádorové buněčné linie. Použitelné lidské nádorové buněčné linie zahrnují následující:

MCF7: lidský adenokarcinom prsu, hormon-dependentní,
MDA-MB-231: lidský adenokarcinom prsu, hormon-independentní,
HT-29: lidský adenokarcinom tračníku, průměrně dobře diferenciovaný stupeň II,
HCT-15: lidský adenokarcinom tračníku,

A549: lidský nemalobuněčný karcinom plic,
DMS-114: lidský malobuněčný karcinom plic,
PC-3: lidský adenokarcinom prostaty, hormon-independentní, a
DU 145: lidský karcinom prostaty, hormon-independentní.

Skehan, P. a kol. (J. Natl. Cancer Inst., 82, 1107-1112, 1990) zavedl vhodné protokoly pro použití těchto nádorových buněčných linií pro screening protinádorových léků.

Meijer a kol. (viz. výše) publikovali, že roskovitin inhibuje proliferaci při *in vitro* screeningu orientovaného na NCI nemoci, to znamená 60 lidských nádorových buněčných linií obsahujících devět nádorových typů (leukémie, nemalobuněčný karcinom plic, karcinom tračníku, karcinom centrálního nervového systému, melanom, karcinom vaječníků, karcinom ledvin, karcinom prostaty, karcinom prsu) s průměrnou hodnotou IC_{50} 16 μ M. Výsledky jednotlivých nádorových linií nebyly publikovány.

Dva odlišné inhibitory cdk, flavopiridol a olomoucín, potlačují smrt nervových buněk PC-12 a sympatických neuronů ve dvou modelových systémech přežívání neuronů (Park a kol., J. Biol. Chem., 271, 14, 8161-8169, 1996). Koncentrace každého inhibitoru požadovaná pro podporu přežívání korelovala s množstvím nezbytným pro inhibici proliferace. Apoptóza neuronů je důležitý aspekt jak pro vývoj nervového systému, tak jako složka neuronového poranění a onemocnění.

Buněčná linie PC-12 původně pochází z medulárního feochromocytomu nadledvin laboratorního potkana. Když jsou pěstovány v médiu obsahujícím sérum, buňky PC-12 se dělí a připomínají prekurzory adrenálních chromaffinních buněk

a sympatických neuronů. Po přidání nervového růstového faktoru (NGF) získávají buňky PC-12 fenotypové vlastnosti sympatických neuronů. Po odstranění buď séra nebo séra a NGF, obojí buňky PC-12, jak nestimulované, tak neuronově diferencované, prodělají apoptózu, což je analogické s odpovědí sympatických neuronů.

Úloha regulace buněčného cyklu v apoptóze může být znázorněna odstraněním NGF nebo séra, což má za následek nekoordinovanou progresi buněčného cyklu a smrt buněk u nestimulovaných buněk PC-12. Inhibitory cdk nezabrání smrti těchto proliferálně kompetentních nestimulovaných buněk PC-12 po odstranění trofického faktoru. Existuje hypotéza, že post-mitoticky diferencované nebo sympatické neurony usilují o nenáležitý opětný vstup do buněčného cyklu po odnětí NGF, což má za následek buněčnou smrt. Ale expozice flavopiridolu nebo olomoucínu, které inhibují cdk, zabraňuje apoptóze v těchto buňkách.

Změny v aktivitě cdk a cyklínů jsou pozorovány během apoptózy mnoha odlišných buněčných typů. Apoptóza buněk HL60 indukovaná kamptotecinem nebo araC je spojena se zvýšenou aktivitou cdc2 a kinázovou aktivitou sdruženou s cyklinem E. Apoptóza indukovaná kamptotecinem buněk RKO je spojena se zvýšením exprese cyklinu D1.

Kamptotecin vyvolává apoptózu cerebrálních kortikálních neuronů u laboratorního potkana (Morris a Geller, J. Cell Biol., 134, 757-770, 1996). Kamptotecinem ošetřené neproliferující neuronově diferencované buňky PC-12 odumřely během 6 dnů po ošetření a kultivované sympatické neurony laboratorního potkana odumřely během 5 dnů po ošetření, dokonce i v přítomnosti NGF (Park a kol.,

J. Neurosci., 17(4), 1256-1270, 1997). Ale podávání buď obou dohromady, nebo jednotlivého olomoucínu či flavopiridolu, v přítomnosti nebo nepřítomnosti kamptotecínu, mělo za následek přibližně 30 % buněčnou úmrtnost v 6. den. Maximální ochrana buněk PC-12 nebo sympatických neuronů laboratorního potkana před smrtí byla pozorována u 1 μM flavopiridolu a 200 μM olomoucínu, což jsou minimální koncentrace, které zcela inhibují syntézu DNA proliferujících buněk PC-12. Podávání iso-olomoucínu, inaktivního analogu olomoucínu, buněčné smrti nervových buněk ošetřených kamptotecínem nezabránilo.

Bylo také dokázáno, že flavopiridol a olomoucín ochraňují kortikální neurony před odumřením indukovaném kamptotecínem (Park a kol., J. Neurosci., 17(4), 1256-1270, 1997). Hodnoty IC_{50} pro flavopiridol a olomoucín byly 0,1 μM a 100 μM , v příslušném pořadí. Podávání iso-olomoucínu buněčné smrti nervových buněk ošetřených kamptotecínem nezabránilo.

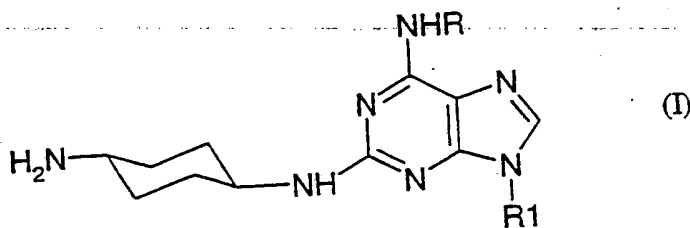
Z výše uvedených pozorování vyplývá několik důsledků. Připouští se, že pacienti léčení radiací nebo protinádorovými přípravky prodělávají nežádoucí vedlejší účinky, včetně rozvoje nových novotvarů nebo nežádoucí buněčné apoptózy. Například u některých pacientů léčených vysokými dávkami araC pro refrakterní leukémii se rozvíjí cerebelární toxický syndrom, charakterizovaný ztrátou Purkyněho neuronů (Winkelman a Hinges, Ann. Neurol., 14, 520-527, 1983, a Vogel a Horouipian, Cancer, 71, 1303-1308, 1993). Bylo publikováno že u pacientů léčených cisplatinou se rozvinuly periferní neuropatie (Vallach, a kol., J. Fla. Med. Assoc., 79, 821-822, 1992, a Mansfield a Castillo, AJNR Am. J. Neuroradiol., 15, 1178-1180, 1994). Se zřetelem na

tato pozorování společné nebo samotné podávání sloučenin podle předkládaného vynálezu pro léčbu novotvarů bude snižovat nebo znemožňovat buněčnou apoptózu, obzvláště neuronové poškození způsobené léčbou protinádorovými přípravky nebo radiací.

Cerebrovaskulární onemocnění je nejčastější příčina neurologické invalidity v západních zemích. Hlavní specifické typy cerebrovaskulárního onemocnění jsou cerebrální insuficience způsobená přechodnými poruchami průtoku krve, infarktem, krvácením a arteriovenózními malformacemi. Vaskulární příhoda mozková (mrtvice) označuje ischemické léze. U cerebrovaskulárního onemocnění se objevuje nežádoucí neuronová apoptóza. Léčení inhibitory cdk's může být cesta k tomu, jak v těchto případech zabránit neuronovému poškození a degeneraci.

Podstata vynálezu

Vynález se týká nových sloučenin obecného vzorce I:



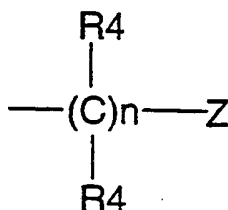
ve kterém:

R je vybrán ze skupiny zahrnující R2, R2NH- a H₂N-R3-,

ve kterých:

R2 je vybrán ze skupiny zahrnující alkylovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a skupinu obecného

vzorce



ve kterém :

Z je vybrán ze souboru zahrnujícího fenylovou skupinu, heterocyklickou skupinu a cykloalkylovou skupinu,

R4 každý jednotlivě znamená navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo 1 až 8,

příčemž každá z uvedených alkylových skupin obsahujících 1 až 8 atomů uhlíku a Z je případně substituována jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R3 představuje alkylenovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, a

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelných solí, optických isomerů a hydrátů odvozených od těchto sloučenin.

Vynález se rovněž týká způsobu inhibování progresu buněčného cyklu. Konkrétně se vynález týká způsobu inhibování cdk-2.

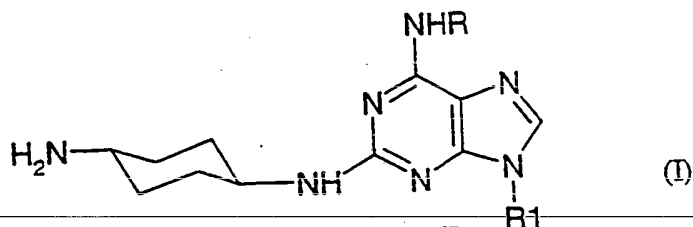
Předmětný vynález se rovněž týká způsobu prevence apoptozy v nervových buňkách. Zvláště výhodnou metodou podle předmětného vynálezu je prevence apoptozy nervových buněk vyvolaná antineoplastickými činidly nebo která je výsledkem cerebrovaskulárního onemocnění. Další výhodnou metodou podle předmětného vynálezu je metoda prevence apoptozy vyvolaná kyslíkovou deplecí. Podle ještě výhodnějšího provedení předmětný vynález poskytuje ~~metodu metodu~~ prevence apoptozy vyvolané cerebrovaskulárním onemocněním. Dalším výhodným provedením podle vynálezu je metoda prevence apoptozy vyvolané mrtvicí nebo infarktem.

Předmětný vynález se týká metody inhibování vývoje novotvarů. Předmětný vynález rovněž poskytuje metodu léčení pacienta postiženého neoplastickým onemocněním, při kterém se podává sloučenina výše uvedeného obecného vzorce. Ve výhodném provedení je podávané množství této sloučeniny terapeuticky účinným množstvím této sloučeniny. Ve výhodném provedení metoda podle předmětného vynálezu zahrnuje podávání jediné sloučeniny výše uvedeného obecného vzorce. V alternativním provedení výhodná metoda podle předmětného vynálezu zahrnuje podávání dávky sloučeniny výše uvedeného obecného vzorce ve spojení s jiným antineoplastickým činidlem.

Kromě toho se předmětný vynález týká prostředku obsahujícího stanovitelný podíl sloučeniny obecného vzorce I ve směsi nebo v jiné kombinaci s inertním nosičovým materiálem. Předmětný vynález se rovněž týká farmaceutického prostředku obsahujícího účinné inhibiční množství sloučeniny obecného vzorce I ve směsi nebo v jiné kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosičovými materiály

nebo excipienty.

Vynález se týká nových sloučenin obecného vzorce I:

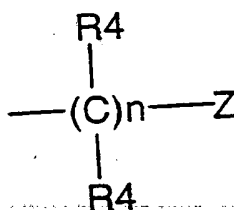


ve kterém:

R je vybrán ze skupiny zahrnující R₂, R₂NH- a H₂N-R₃-,

ve kterých:

R₂ je vybrán ze skupiny zahrnující alkylovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a skupinu obecného vzorce



ve kterém :

Z je vybrán ze souboru zahrnujícího fenylovou skupinu, heterocyklickou skupinu a cykloalkylovou skupinu,

R₄ každý jednotlivě znamená navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo 1 až 8,

příčemž každá z uvedených alkylových skupin

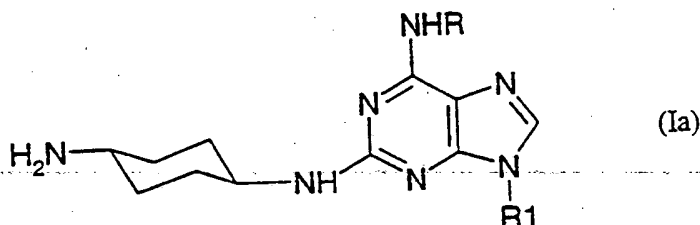
obsahujících 1 až 8 atomů uhlíku a Z je případně substituována jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R3 představuje alkylenovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, a

~~R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu,~~

a farmaceuticky přijatelných solí, optických isomerů a hydrátů odvozených od těchto sloučenin.

Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného vzorce Ia:



ve kterém:

R znamená R2,

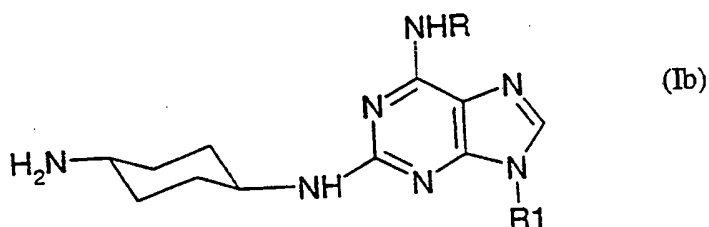
příčemž:

R2 představuje alkylovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného vzorce Ib:

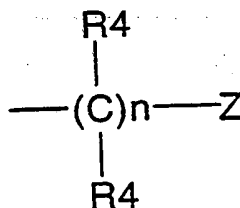


ve kterém:

R znamená R2,

příčemž:

R2 představuje skupinu obecného vzorce:



ve kterém :

Z znamená fenylovou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

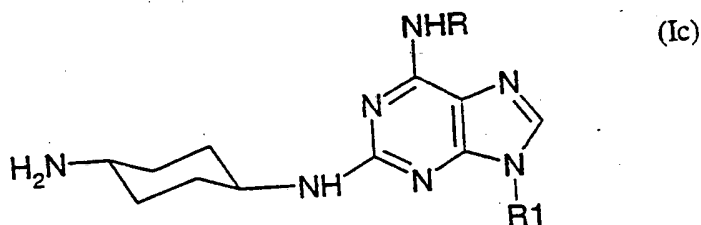
R4 každý jednotlivě navzájem na sobě nezávisle představuje atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1

až 4 atomy uhlíku, a
n je celé číslo 1 až 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného vzorce Ic:

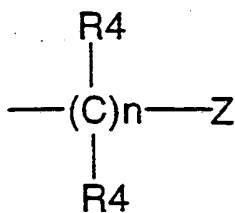


ve kterém:

R znamená R2,

příčemž:

R2 představuje skupinu obecného vzorce:



ve kterém :

Z znamená heterocyklickou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru

zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

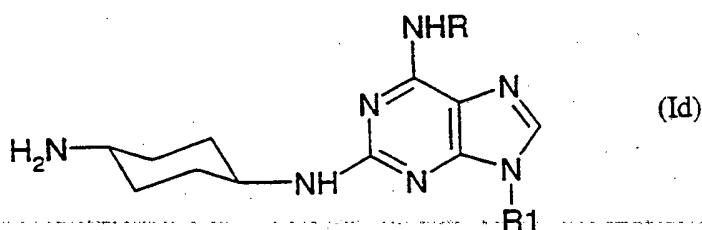
R4 každý znamená navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo 1 až 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentyllovou skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného vzorce Id:

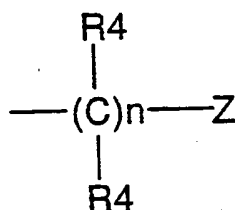


ve kterém:

R znamená R2,

příčemž:

R2 představuje skupinu obecného vzorce:



ve kterém :

Z znamená cykloalkylovou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

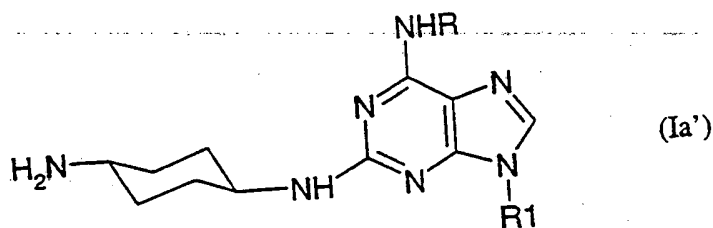
R4 každý jednotlivě navzájem na sobě nezávisle znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo 1 až 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného vzorce Ia':



ve kterém:

R znamená R2NH-,
příčemž:

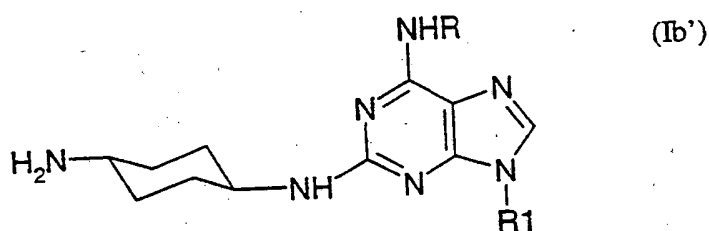
R2 představuje alkylovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které

jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentyllovou skupinu a isopropyllovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného vzorce Ib':

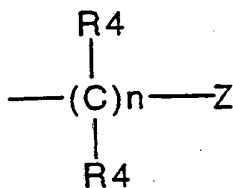


ve kterém:

R znamená R2NH-

příčemž:

R2 představuje skupinu obecného vzorce:



ve kterém :

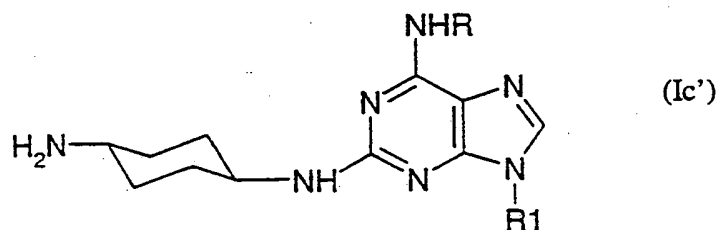
Z znamená fenylovou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal,

OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,
 R4 každý jednotlivě navzájem na sobě nezávisle
 představuje atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1
 až 4 atomy uhlíku, a
 n je celé číslo 1 až 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou
 skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty
 odvozené od těchto sloučenin.

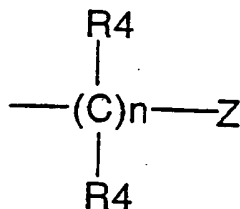
Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného
 obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného
 vzorce Ic':



ve kterém:

R znamená R2NH-,
 přičemž:

R2 představuje skupinu obecného vzorce:



ve kterém :

Z znamená heterocyklickou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

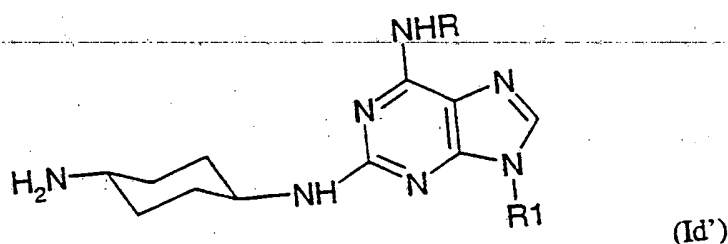
R₄ každý znamená navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo 1 až 8,

R₁ je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentyllovou skupinu a isopropyllovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného vzorce Id':

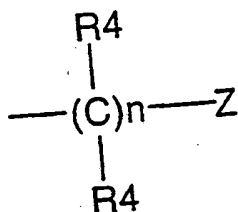


ve kterém:

R znamená R₂NH-,

příčemž:

R₂ představuje skupinu obecného vzorce:



ve kterém :

Z znamená cykloalkylovou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

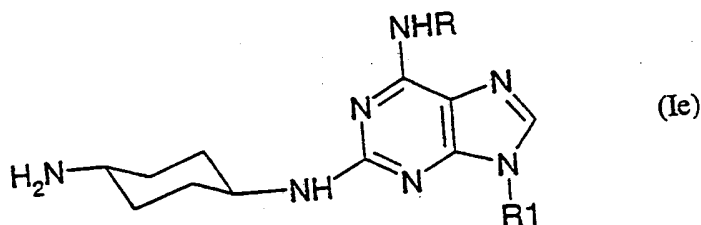
R4 každý jednotlivě navzájem na sobě nezávisle znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo 1 až 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

Do rozsahu výše uvedených sloučenin výše uvedeného obecného vzorce I patří rovněž i nové sloučeniny obecného vzorce Ie:



ve kterém:

R znamená H_2N-R_3- ,

příčemž:

R3 představuje alkylenovou skupinu, a

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

V popisu předmětného vynálezu byl použit termín "heterocyklická skupina" nebo heterocyklus, přičemž tímto termínem se míní libovolný zbytek s uzavřeným kruhem, ve kterém jeden nebo více atomů v kruhu představuje prvek jiný než atom uhlíku, přičemž mezi tyto zbytky je možno bez jakéhokoliv omezování zařadit piperidinylovou skupinu, pyridinylovou skupinu, isoxazolylovou skupinu, tetrahydrofuranylovou skupinu, pyrrolidinylovou skupinu, morfolinylovou skupinu, piperazinylovou skupinu, benzimidazolovou skupinu, thiazolylovou skupinu, thiofenylovou skupinu, furanylovou skupinu, indolylovou skupinu, 1,3-benzodioxolylovou skupinu, tetrahydropyranylovou skupinu, imidazolylovou skupinu, tetrahydrothiofenylovou skupinu, pyranylovou skupinu, dioxanylovou skupinu, pyrrolylovou skupinu, pyrimidinylovou skupinu, pyrazinylovou skupinu, triazinylovou skupinu, oxazolylovou skupinu, purinylovou skupinu, chinolinylovou skupinu a isochinolinylovou skupinu.

Termínem "alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku" se v textu předmětného vynálezu míní nasycená nebo nenasyčená uhlovodíková (hydrokarbylová) skupina s přímým nebo rozvětvený, řetězcem obsahující jeden až čtyři atomy

uhlíku, přičemž mezi tyto skupiny je možno zařadit, ovšem bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto skupiny, methylovou skupinu, ethylovou skupinu, propylovou skupinu, isopropylovou skupinu, 1-propenylovou skupinu, 2-propenylovou skupinu, n-butylovou skupinu, isobutylovou skupinu, terciární butylovou skupinu, sekundární butylovou skupinu, 1-butenylovou skupinu, 2-butenylovou skupinu, 3-butenylovou skupinu a podobné další skupiny.

Termínem "alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku" se v textu předmětného vynálezu míní nasycená nebo nenasyčená uhlovodíková (hydrokarbylová) skupina s přímým nebo rozvětveným řetězcem obsahující jeden až osm atomů uhlíku, přičemž mezi tyto skupiny je možno zařadit, ovšem bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto skupiny, methylovou skupinu, ethylovou skupinu, propylovou skupinu, isopropylovou skupinu, 1-propenylovou skupinu, 2-propenylovou skupinu, n-butylovou skupinu, isobutylovou skupinu, terciární butylovou skupinu, sekundární butylovou skupinu, 1-butenylovou skupinu, 2-butenylovou skupinu, 3-butenylovou skupinu, pentylovou skupinu, neopentylovou skupinu, hexylovou skupinu, heptylovou skupinu, oktylovou skupinu a podobné další skupiny.

Termínem "alkylenová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku" se v textu předmětného vynálezu míní nasycená nebo nenasyčená hydrokarbylenová skupina s přímým nebo rozvětveným řetězcem obsahující jeden až osm atomů uhlíku, přičemž mezi tyto skupiny je možno zařadit, ovšem bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto skupiny, methylenovou skupinu, ethylenovou skupinu, propylenovou skupinu, isopropylenovou skupinu, 1-propenylenovou skupinu, 2-propenylenovou skupinu, n-butylenovou skupinu,

isobutylenovou skupinu, terciární butylenovou skupinu, sekundární butylenovou skupinu, 1-butenylenovou skupinu, 2-butenylenovou skupinu, 3-butenylenovou skupinu, pentylenovou skupinu, neopentylenovou skupinu, hexylenovou skupinu, heptylenovou skupinu, oktylenovou skupinu a podobné další skupiny.

Termínem "cykloalkylová skupina" se v textu předmětného vynálezu míní nasycená nebo nenasycená alicyklická část obsahující tři až osm atomů uhlíku, přičemž mezi tyto skupiny je možno zařadit, ovšem bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto skupiny, cyklopropylovou skupinu, cyklobutylovou skupinu, cyklopentylovou skupinu, cyklohexylovou skupinu, cykloheptylovou skupinu, cyklooktylovou skupinu a podobné jiné skupiny.

Textu předmětného vynálezu použitým termínem "Hal" nebo halogen se míní halogenová skupina, přičemž mezi tyto skupiny je možno zařadit fluorové, chlorové, bromové a jodové části.

V textu předmětného vynálezu je použit termín "optický isomer" nebo "optické isomery", přičemž tímto termínem se míní libovolná stereo-isomerní konfigurace, která může existovat v případě dané sloučeniny obecného vzorce I.

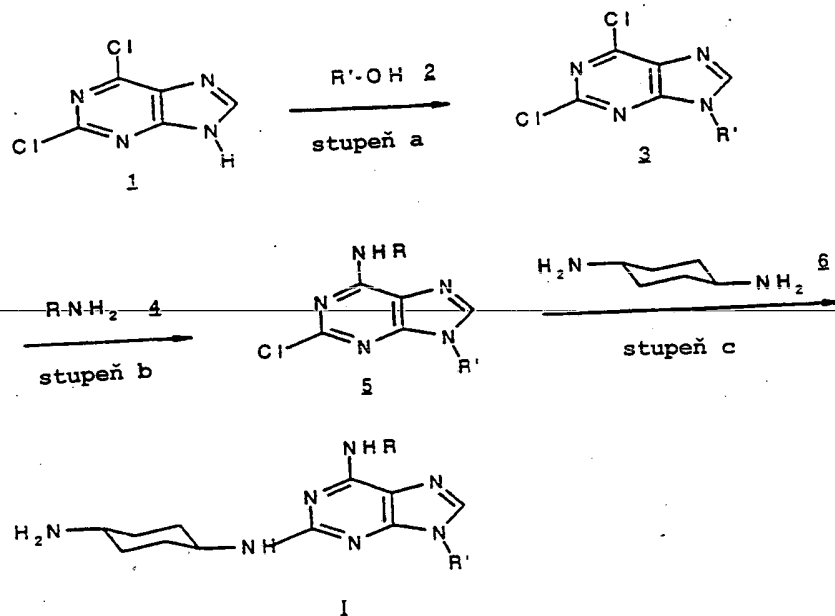
V textu předmětného vynálezu je použit termín "hydrát" nebo "hydráty", přičemž tímto termínem se míní reakční produkt jedné nebo více molekul vody se sloučeninou obecného vzorce I, ve kterém vazba H-OH není rozštěpena a mezi tyto produkty patří monohydráty a rovněž tak i multihydráty.

V textu předmětného vynálezu je použit termín

"farmaceuticky přijatelné soli", přičemž tímto termínem se míní reakční produkt jedné nebo více molekul jedné nebo více molekul libovolné netoxické kyseliny se sloučeninou obecného vzorce I. Jako ilustrativní příklad anorganických kyselin, které jsou vhodné pro přípravu vhodných solí je možno uvést kyselinu chlorovodíkovou, kyselinu bromovodíkovou, kyselinu sírovou a kyselinu fosforečnou a soli kyseliny s kovem, jako je například monohydrogenfosforečnan sodný a hydrogensíran draselný. Jako ilustrativní příklad organických kyselin, které tvoří vhodné soli se sloučeninami podle předmětného vynálezu, je možno uvést mono-, di- a trikarboxylové kyseliny. Jako ilustrativní příklad těchto kyselin je možno uvést například kyselinu octovou, kyselinu glykolovou, kyselinu mléčnou, kyselinu pyrohroznovou, kyselinu malonovou, kyselinu jantarovou, kyselinu glutarovou, kyselinu fumarovou, kyselinu jablečnou, kyselinu vinnou, kyselinu citronovou, kyselinu askorbovou, kyselinu maleinovou, kyselinu hydroxymaleinovou, kyselinu bezoovou, kyselinu hydroxybenzoovou, kyselinu fenyloctovou, kyselinu skořicovou, kyselinu salicylovou, kyselinu 2-fenoxybenzoovou, a kyseliny sulfonové, jako je například kyselina methansulfonová, kyselina trifluormethansulfonová a kyselina 2-hydroxyethansulfonová.

Výše uvedené sloučeniny obecného vzorce I je možno připravit za použití metod a technických prostředků všeobecně známých pro odborníky pracující v daném oboru z dosavadního stavu techniky. Obecné schema postupu syntetické přípravy těchto sloučenin je uvedeno dále jako Schema A, přičemž v tomto schematu všechny substituenty, pokud nebude výslovně uvedeno jinak, mají stejný význam jako bylo uvedeno shora.

S c h e m a A



Podle tohoto Schematu A, ve stupni (a) se do reakce uvádí 2,6-dichlorpurin vzorce 1 se vhodným alkoholem obecného vzorce 2, přičemž se získá odpovídající 9-substituovaná-2,6-dichlorpurinová sloučenina, která má obecný vzorec 3, přičemž se použije pro odborníky v daném oboru běžných a obecně známých metod z dosavadního stavu techniky.

Například je možno uvést, že 2,6-dichlorpurin vzorce 1 je možno uvést do reakce se vhodným alkoholem obecného vzorce 2 v přítomnosti trifenylofosfinu a diethylazodikarboxylátu ve vhodném bezvodém aprotickém rozpouštědle, jako je například tetrahydrofuran. Tyto reakční složky se obvykle promíchávají společně při teplotě místnosti po dobu v rozmezí od 5 hodin do 5 dní. Takto získaný výsledný 9-substituovaný-2,6-dichlorpurin obecného

vzorci 3 je možno oddělit z reakčního prostředí extrakčními metodami, což je běžně používaný postup z dosavadního stavu techniky, nebo je možno použít obvyklejší metody a sice výsledný 9-substituovaný-2,6-dichlorpurin obecného vzorce 3 oddělit odstraněním rozpouštědla, načež potom následuje přímé převedení produktu do kolony naplněné silikagelem a eluování vhodným rozpouštědlem, jako je například methylenchlorid nebo směs rozpouštědel, jako je například směs hexanu a ethylacetátu. Surový

9-substituovaný-2,6-dichlorpurin obecného vzorce 3 je možno potom přečistit chromatografickou metodou nebo je možno jej použít pro další postup bez čištění.

Ve stupni (b) se 6-chlor-funkční skupina tohoto 9-substituovaného-2,6-dichlorpurinu obecného vzorce 3 uvede do reakce se vhodným aminem obecného vzorce 4, přičemž se získá odpovídající 9-substituovaná-6-amino-2-chlorpurinová sloučenina obecného vzorce 5.

Například je možno uvést, že 9-substituovaný-2,6-dichlorpurin obecného vzorce 3 je možno uvést do reakce se vhodným aminem obecného vzorce 4 ve vhodném bezvodém polárním rozpouštědle, jako je například methanol. Tyto reakční složky se v obvyklém provedení společně promíchávají při teplotě varu pod zpětným chladičem po dobu v rozmezí od 30 minut do 3 dní. Takto získaný výsledný 9-substituovaný-6-amino-2-chlorpurin obecného vzorce 5 se potom odstraní z reakčního prostředí extrakčními metodami, které jsou v tomto oboru z dosavadního stavu techniky běžně známy, nebo v případě, že se tento 9-substituovaný-6-amino-2-chlorpurin obecného vzorce 5 vysráží z roztoku, je možno jej oddělit filtrací.

Ve stupni (c) 2-chlor-funkční skupina tohoto 9-substituovaného-6-amino-2-chlorpurinu obecného vzorce 5 reaguje s 1,4-cyklohexandiaminem obecného vzorce 6, přičemž se získá sloučenina obecného vzorce I.

Například je možno uvést, že se vhodný 9-substituovaný-6-amino-2-chlorpurin obecného vzorce 5 může uvést do reakce s molárním přebytkem 1,4-cyklohexandiaminu obecného vzorce 6. Tyto reakční složky se obvykle umístí v tlakové trubici, která se utěsní a zahřeje na teplotu pohybující se v rozmezí od asi 80 °C do asi 150 °C po dobu v rozmezí od 30 minut do 3 dní. Takto získaná sloučenina obecného vzorce I se oddělí z reakčního prostředí extrakčními metodami, které jsou v tomto oboru z dosavadního stavu techniky známé, načež je možno získaný produkt přechistit chromatografickou metodou.

Výchozí materiály, které se používají v tomto obecném schematu A pro syntetickou přípravu sloučenin podle vynálezu, jsou pro odborníky pracující v daném oboru snadno dostupné.

Příklady provedení vynálezu

V následujících příkladech bude předmětný vynález blíže objasněn s pomocí konkrétních příkladů provedení, které jsou ovšem pouze ilustrativní a nijak neomezují rozsah tohoto vynálezu. V těchto příkladech budou sloučeniny připravovovány syntetickým postupem odpovídajícím schematu A. V těchto příkladech "g" znamená gramy, "mmol" znamená milimoly, "ml" znamená mililitry, "bp" znamená teplotu varu, "°C" znamená stupně Celsia, "mm Hg" znamená milimetry rtuťového sloupce, "μl" znamená mikrolitry, "μg" znamená

mikrogramy a "μM" znamená mikromolární.

P ř í k l a d 1

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(3-jodbenzylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (a):

2,6-dichlor-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto provedení byl rozpuštěn cyklopentanol (v množství 260 mg, 3,02 mmolu), 2,6-dichlorpurin (680 mg, 3,60 mmolu) a trifenylofosfin (950 mg, 3,60 mmol) v suchém THF (20 mililitrů) a tato reakční směs byla ochlazená na teplotu 0 °C. Potom byl přidán diethylazodikarboxylát (570 μl, 3,60 mmolu), přičemž tento přídavek byl proveden po kapkách během intervalu 15 minut pod atmosférou dusíku. Tento výsledný roztok byl promícháván po dobu 60 hodin při teplotě místnosti. Použité rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu, produkt byl přímo zaveden do kolony naplněné silikagelem, načež bylo provedeno eluování methylenchloridem, čímž byla získána požadovaná titulní sloučenina ve formě surové směsi.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(3-jodbenzyl)amino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto provedení byl rozpuštěn 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurin (použito 620 mg, v surovém stavu), hydrochlorid 3-jodbenzylaminu (použito 810 mg, 3,00 mmoly) a triethylamin (použito 835 μL, 6,00 mmolů) v suchém ethanolu (20 mililitrů). Tato reakční směs byla zahřívána při teplotě varu pod zpětným chladičem po dobu 15 hodin, načež byla ochlazená a pevný podíl byl zfiltrován, čímž byla

získána požadovaná titulní sloučenina ve formě bílé pevné látky.

Výtěžek : 680 miligramů.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{Me}_2\text{SO-d}_6 + \text{D}_2\text{O}$, δ):

8,27 (s, 1H, purin H-8), 7,74 (s, 1H), 7,61 (d, 1H),
7,39 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 4,78 (m, 1H), 4,62 (bs, 2H),
2,15 (m, 2H), 1,90 (m, 4H), 1,70 (m, 2H);

CIMS (NH_3) 454 (MH^+), 328.

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(3-jodbenzylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto provedení byl smíchán

2-chlor-6-(3-jodbenzyl)amino)-9-cyklopentylpurin (použito 130 mg, 0,287 mmolu) a 1,4-cyklohexandiamin (použity 2,00 gramy, přebytek) v tlakové trubici, která byla utěsněna a zahřívána při teplotě 140 °C po dobu 18 hodin. Tato reakční směs byla ochlazená, načež byl přidán dichlormethan CH_2Cl_2 (40 mililitrů), a potom byl získaný produkt promyt vodou (dva podíly po 20 mililitrech). Po usušení (síran hořečnatý), odpaření rozpouštědla ve vakuu a vyčištění v chromatografické koloně naplněné silikagelem (10 : 1 : kapky $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$) byla získána požadovaná titulní sloučenina.

Výtěžek : 140 miligramů (92 %).

Tato sloučenina byla převedena na hydrochloridovou sůl.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{Me}_2\text{SO-d}_6 + \text{D}_2\text{O}$, δ):

7,83 (d, 1H), 7,71 (s, 1H, purin H-8), 7,60 (s, 1H),
7,38 (d, 1H), 7,14 (t, 1H), 4,63 (m, 3H), 3,62 (m, 1H),
2,99 (m, 1H), 1,50 - 2,20 (m, 14H), 1,10 - 1,50 (m, 2H);

CIMS (NH_3) 532 (MH^+).

P ř í k l a d 2

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-indolyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-indolyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto provedení byl použit

2-chlor-6-[(3-indolyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurin, který byl připraven ze 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, tryptaminu a triethylaminu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1.

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-indolyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto provedení byl použit dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-indolyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, který byl připraven ze 2-chlor-6-[(3-indolyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1,

Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 459 (MH⁺); R_f (min) = 3,47

P ř í k l a d 3

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(butylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(butylamino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto provedení byl použit

2-chlor-6-(butylamino)-9-cyklopentylpurin, který byl připraven ze 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, n-butylaminu a triethylaminu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(butylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto provedení byl použit dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(butylamino)-9-cyklopentylpurinu, který byl připraven z 2-chlor-6-(butylamino)-9-cyklopentylpurinu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 466 (MH⁺); R_f (min) = 3,45.

P ř í k l a d 4

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(3,4-methylenedioxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[2-(3,4-methylenedioxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto provedení byl použit 2-chlor-6-[2-(3,4-methylenedioxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin, který byl připraven z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 3,4-methylenedioxyfenylethylaminu a triethylaminu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(3,4-methylenedioxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentyl-purinu.

Podle tohoto postupu byl použit dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(3,4-methylenedioxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, který byl připraven z 2-chlor-6-[2-(3,4-methylenedioxyfenyl)-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 464 (MH⁺); R_f (min) = 2,28

P ř í k l a d 5

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-aminobutyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(4-aminobutyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byl použit 2-chlor-6-[(4-aminobutyl)amino]-9-cyklopentylpurin, který byl připraven ze 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 1,4-diaminobutanu a triethylaminu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-aminobutyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto příkladu byl použit dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-aminobutyl)amino]-

9-cyklopentylpurinu, který byl připraven z 2-chlor-6-[(4-aminobutyl)amino]-9-cyklopentylpurinu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH_3) 387 (MH^+); R_f (min) = 3,10.

P ř í k l a d 6

Dihydrochlorid (S)-2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(α -methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(α -methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(α -methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, (S)- α -methylbenzylaminu a triethylaminu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno výše v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(α -methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(α -methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena z 2-chlor-6-[(α -methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH_3) 420 (MH^+); R_f (min) = 0,42.

P ř í k l a d 7

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
2-chlor-6-[(3-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurin,
připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
3-(ethylamino)pyridinu a triethylaminu v podstatě stejným
způsobem jako je uvedeno výše v příkladu 1, Schema A, stupeň
(b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena
z 2-chlor-6-[(3-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu v
podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1,
Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 421 (MH⁺); R_f (min) = 3,13.

P ř í k l a d 8

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-pyridyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(4-pyridyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,

2-chlor-6-[(4-pyridyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin,
připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
4-aminomethylpyridinu a triethylaminu v podstatě stejným
způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-pyridyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-pyridyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena
z 2-chlor-6-[(4-pyridyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu v
podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1,
Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 407 (MH⁺); R_f (min) = 3,13.

P ř í k l a d 9

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[3-(4-morfolinyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[3-(4-morfolinyl)propylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
2-chlor-6-[3-(4-morfolinyl)propylamino]-9-cyklopentylpurin,
připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
3-aminopropylmorfolinu a triethylaminu v podstatě stejným
způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[3-(4-morfolinyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[3-(4-morfolinyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu,
připravena z 2-chlor-6-[3-(4-morfolinyl)propylamino]-9-
-cyklopentylpurinu v podstatě stejným způsobem jako
v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 443 (MH⁺); R_f (min) = 3,11

P ř í k l a d 10

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina,
2-chlor-6-[(3,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin,
připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
3,4-dichlorbenzylaminu a triethylaminu v podstatě stejným
způsobem jako je uvedeno v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena
z 2-chlor-6-[(3,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1,
Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 474 (MH⁺); R_f (min) = 2,34.

P ř í k l a d 11

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina,
2-chlor-6-[(3-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin,
připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
3-methylbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo
v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A,
stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena
z 2-chlor-6-[(3-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu
v podstatě stejným způsobem jako je uvedeno v příkladu 1,
Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 420 (MH⁺); R_f (min) = 2,29

P ř í k l a d 12

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[2-(2-pyridyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[2-(2-pyridyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, 2-chlor-6-[2-(2-pyridyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-(ethylamino)pyridinu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(2-pyridyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(2-pyridyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena z 2-chlor-6-[2-(2-pyridyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 421 (MH⁺); R_f (min) = 3,13.

P ř í k l a d 13

Trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(4-morfolinyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[2-(4-morfolinyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, 2-chlor-6-[2-(4-morfolinyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-aminoethylmorfolinu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(4-morfolinyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(4-morfolinyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena z 2-chlor-6-[2-(4-morfolinyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c). CIMS (NH₃) 429 (MH⁺); R_f (min) = 3,08.

P ř í k l a d 14

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-hydroxyethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[2-hydroxyethylhydrazino]-9-cyklopentylpurin

Podle tohoto provedení byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[2-hydroxyethylhydrazino]-9-cyklopentylpurin, připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-hydroxyethylhydrazinu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-hydroxyethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[2-hydroxyethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu, připravena z 2-chlor-6-[2-hydroxyethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 375 (MH⁺); R_f (min) = 3,15

P ř í k l a d 15

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-chlor)benzylamino]-9-(2-propyl)purinu.

Schéma A, stupeň (a):

2,6-dichlor-9-(2-propyl)purin

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2,6-dichlor-9-(2-propyl)purin, připravena z 2,6-dichlorpurinu a isopropanolu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (a), s tím rozdílem, že cyklopentanol byl nahrazen isopropanolem.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-chlor)benzylamino]-9-(2-propyl)purin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(3-chlor)benzylamino]-9-(2-propyl)purin, připravena z 2,6-dichlor-9-(2-propyl)purinu, 3-chlorbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-chlor)benzylamino]-9-(2-propyl)purinu.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-chlor)benzylamino]-9-(2-propyl)purinu, připravena z 2-chlor-6-[(3-chlor)benzylamino]-9-(2-propyl)purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 414 (MH⁺); R_f = (min) 3,44.

P ř í k l a d 16

Dihydrochlorid (R)-2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(α-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(α-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, 2-chlor-6-[(α-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, (R)-α-methylbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid (R)-2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(α-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, dihydrochlorid (R)-2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(α-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena z 2-chlor-6-[(α-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 420 (MH⁺); R_f (min) = 2,27

P ř í k l a d 17

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(2-thiofenmethylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(2-thiofenmethylamino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
2-chlor-6-(2-thiofenmethylamino)-9-cyklopentylpurin,
připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
2-thiofenmethylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo
v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A,
stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(2-thiofenmethylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto provedení byla uvedená sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(2-thiofenmethylamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena
z 2-chlor-6-(2-thiofenmethylamino)-9-cyklopentylpurinu,
přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako
v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 412 (MH⁺); R_f = (min) 3,43.

P ř í k l a d 18

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(2-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(2-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(2-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-chlorbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena z 2-chlor-6-[(2-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 440 (MH⁺); R_f (min) = 2,28.

P ř í k l a d 19

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-benzimidazolyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(2-benzimidazolyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(2-benzimidazolyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-(methylamino)benzimidazolu a triethylaminu, přičemž se

postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(2-benzimidazolyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(2-benzimidazolyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu,
připravena z 2-chlor-6-[(2-benzimidazolyl)methylamino]-
-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě
stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 372 (MH⁺); R_f (min) = 3,4.

P ř í k l a d 20

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(oktylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(oktylamino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto provedení byla uvedená sloučenina,
2-chlor-6-(oktylamino)-9-cyklopentylpurin, připravena
z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, n-oktylaminu
a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným
způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(oktylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto provedení byla uvedená sloučenina,

dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(oktylamino)-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2-chlor-6-(oktylamino)-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 428 (MH⁺); R_f (min) = 4,23.

P ř í k l a d 21

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(4-fenylbutylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):
2-chlor-6-(4-fenylbutylamino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina, 2-chlor-6-(4-fenylbutylamino)-9-cyklopentylpurin, připravena z 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 4-fenylbutylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(4-fenylbutylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(4-fenylbutylamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-(4-fenylbutylamino)-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 448 (MH⁺); R_f (min) = 4,09.

P ř í k l a d 22

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(cyklohexyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(cyklohexyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina,
2-chlor-6-[(cyklohexyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin,
připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
aminomethylcyklohexanu a triethylaminu, přičemž se
postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1,
Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(cyklohexyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(cyklohexyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena
za použití 2-chlor-6-[(cyklohexyl)methylamino]-9-
-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě
stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 412 (MH⁺); R_f (min) = 2,33

P ř í k l a d 23

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-
-(3-methyl-4-hydroxy)butyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-(3-methyl-4-hydroxy)butyl)amino]-9-cyklo-
-pentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, 2-chlor-6-[(3-(3-methyl-4-hydroxy)butyl)amino]-9-cyklo-pentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9--cyklopentylpurinu, 2-(2-hydroxymethyl)butylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-(3-methyl-4-hydroxy)butyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-(3-methyl-4-hydroxy)butyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(3-(3-methyl-4-hydroxy)-butyl)amino]-9-cyklopentylpurin, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 404 (MH⁺); R_f (min) = 3,15.

P ř í k l a d 24

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[-(3-(fenyl)propylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[3-(fenyl)propylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, 2-chlor-6-[3-(fenyl)propylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 3-aminopropylbenzenu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[3-(fenyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[3-(fenyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za
použití 2-chlor-6-[3-(fenyl)propylamino]-9-cyklopentyl-
-purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem
jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 434 (MH⁺); R_f (min) = 0,49.

P ř í k l a d 25

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[5-(hydroxy)pentylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[5-(hydroxy)pentylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina,
2-chlor-6-[5-(hydroxy)pentylamino]-9-cyklopentylpurin,
připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
5-hydroxypentylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo
v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A,
stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[5-(hydroxy)pentylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[5-(hydroxy)pentylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[5-(hydroxy)pentylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 402 (MH⁺); R_f (min) = 3,25.

P ř í k l a d 26

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(pentylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(pentylamino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina, 2-chlor-6-(pentylamino)-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, pentylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(pentylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto provedení byla výše uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(pentylamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-(pentylamino)-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 386 (MH⁺); R_f (min) = 3,52.

P ř í k l a d 27

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[(4-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(4-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(4-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 4-chlorbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(4-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 440 (MH⁺); R_f (min) = 2,29.

P ř í k l a d 28

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(methylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(methylamino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina, 2-chlor-6-(methylamino)-9-cyklopentylpurin, připravena za

použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, hydrochloridu methylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(methylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto provedení byla výše uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(methylamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-(methylamino)-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 330 (MH⁺); R_f (min) = 3,15.

P ř í k l a d 29

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[(3-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 3-chlorbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[(3-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(3-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH_3) 440 (MH^+); R_f (min) = 2,30.

P ř í k l a d 30

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-tetrahydropyranyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(2-tetrahydropyranyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[(2-tetrahydropyranyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-aminomethyltetrahydropyranu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-tetrahydropyranyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-tetrahydropyranyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(2-tetrahydropyranyl)-

-methylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 414 (MH⁺); R_f (min) = 3,39.

P ř í k l a d 31

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(4-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurin

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[(4-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 4-(ethylamino)pyridinu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto provedení byla výše uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(4-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 421 (MH⁺); R_f (min) = 3,13.

P ř í k l a d 32

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-(cyklopropyl)methylamino]-9-(2-propyl)purinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(cyklopropyl)methylamino]-9-(2-propyl)purin.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(cyklopropyl)methylamino]-9-(2-propyl)purin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-(2-propyl)purinu, cyklopropylmethylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(cyklopropyl)methylamino]-9-(2-propyl)purinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(cyklopropyl)methylamino]-9-(2-propyl)purinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(cyklopropyl)methylamino]-
-9-(2-propyl)purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 344 (MH⁺); R_f (min) = 3,25.

P ř í k l a d 33

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(ethylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(ethylamino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-(ethylamino)-9-cyklopentylpurin, připravena za

použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, hydrochloridu ethylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(ethylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(ethylamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-(ethylamino)-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 472 (MH⁺); R_f (min) = 3,46.

P ř í k l a d 34

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(cyklopropyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(cyklopropyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla výše uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(cyklopropyl)methylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, aminomethylcyklopropanu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[(cyklopropyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(cyklopropyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(cyklopropyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 370 (MH⁺); R_F (min) = 2,21.

P ř í k l a d 35

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-fenethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[2-fenethylhydrazino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[2-fenethylhydrazino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-fenylethylhydrazinu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-fenethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-fenethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[2-fenethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě

stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH_3) 435 (MH^+); R_f (min) = 3,54.

P ř í k l a d 36

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-methylbutyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-methylbutyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina,
2-chlor-6-[(3-methylbutyl)amino]-9-cyklopentylpurin,
připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
3-methylbutylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo
v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A,
stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-methylbutyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla tato požadovaná sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-methylbutyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za
použití 2-chlor-6-[(3-methylbutyl)amino]-9-
-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě
stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH_3) 386 (MH^+); R_f (min) = 3,53.

P ř í k l a d 37

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(butyl)amino]-9-(2-propyl)purinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(butyl)amino]-9-(2-propyl)purin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[(butyl)amino]-9-(2-propyl)purin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-(2-propyl)purinu, butylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(butyl)amino]-9-(2-propyl)purinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(butyl)amino]-9-(2-propyl)purinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(butyl)amino]-9-(2-propyl)purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 346 (MH⁺); R_f (min) = 3,33.

P ř í k l a d 38

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-furanmethyلامino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(2-furanmethyلامino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-(2-furanmethyلامino)-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, furfurylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A,

stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(2-furanmethyloamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(2-furanmethyloamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena za
použití 2-chlor-6-(2-furanmethyloamino)-9-cyklopentylpurinu,
přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako
v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 396 (MH⁺); R_f (min) = 3,38.

P ř í k l a d 39

Trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-(2-imidazolyl)propyl)amino]-9-(2-propyl)purinu

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-(2-imidazolyl)propyl)amino]-9-(2-propyl)purin

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina,
2-chlor-6-[(3-(2-imidazolyl)propyl)amino]-9-(2-propyl)purin,
připravena za použití 2,6-dichlor-9-(2-propyl)purinu,
3-(2-imidazolyl)propylaminu a triethylaminu, přičemž se
postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1,
Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-(2-imidazolyl)propyl)amino]-9-(2-propyl)purinu.

Při provádění tohoto postupu byla požadovaná

sloučenina, trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)-amino]-6-[(3-(2-imidazoyl)propyl)amino]-9-(2-propyl)-purinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(3-(2-imidazoyl)-propyl)amino]-9-(2-propyl)purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH_3) 398 (MH^+); R_f (min) = 3,01.

P ř í k l a d 40

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-chlor-2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(4-chlor-2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentyl-purin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[(4-chlor-2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentyl-purin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 4-chlor-2-fluorbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-chlor-2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Při provádění tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)-amino]-6-[(4-chlor-2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentyl-purinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(4-chlor-2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1,

Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH_3) 458 (MH^+); R_f (min) = 2,31.

P ř í k l a d 41

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(hexylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(hexylamino)-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-(hexylamino)-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, n-hexylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(hexylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(hexylamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-(hexylamino)-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH_3) 400 (MH^+); R_f (min) = 4,03.

P ř í k l a d 42

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Při provádění tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-fluorbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu

Při provádění tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 424 (MH⁺); R_f (min) = 2,22.

P ř í k l a d 43

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-(fenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[2-(fenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla tato sloučenina, 2-chlor-6-[2-(fenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2-aminoethylbenzenu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A,

stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[2-(fenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Při provádění tohoto postupu byla uvedena sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[2-(fenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za
použití 2-chlor-6-[2-(fenyl)ethylamino]-9-cyklopentyl-
-purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem
jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 420 (MH⁺); R_f (min) = 0,43.

P ř í k l a d 44

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(propylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(propylamino)-9-cyklopentylpurin.

Při provádění tohoto postupu byla uvedena sloučenina,
2-chlor-6-(propylamino)-9-cyklopentylpurin, připravena za
použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, n-propylaminu
a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným
způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(propylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-(propylamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-(propylamino)-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH_3) 358 (MH^+); R_f (min) = 3,31.

P ř í k l a d 45

Trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(benzylamino)-9-(2-propyl)purinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-(benzylamino)-9-(2-propyl)purin.

Při tomto postupu byla uvedena sloučenina, 2-chlor-6-(benzylamino)-9-(2-propyl)purin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-(2-propyl)purinu, benzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(benzylamino)-9-(2-propyl)purinu.

Podle tohoto postupu byla uvedena sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(benzylamino)-9-(2-propyl)purinu, připravena za použití 2-chlor-6-(benzylamino)-9-(2-propyl)purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH_3) 380 (MH^+); R_f (min) = 3,34.

P ř í k l a d 46

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[3-(1-imidazolyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[3-(1-imidazolyl)propylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[3-(1-imidazolyl)propylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 1-(3-aminopropyl)imidazolu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[3-(1-imidazolyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu

Při tomto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[3-(1-imidazolyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[3-(1-imidazolyl)-propylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 424 (MH⁺); R_f (min) = 3,13.

P ř í k l a d 47

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[benzylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[benzylamino]-9-cyklopentylpurin.

Při provádění tohoto postupu byla uvedena sloučenina,

2-chlor-6-[benzylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, benzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[benzylamino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[benzylamino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[benzylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 406 (MH⁺); R_f (min) = 2,23.

P ř í k l a d 48

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(2,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[(2,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 2,4-dichlorbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[(2,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu

Při provádění tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(2,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 474 (MH⁺); R_f (min) = 2,34.

P ř í k l a d 49

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2,2,2-trifluorethylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[2,2,2-trifluorethylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[2,2,2-trifluorethylamino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, hydrochloridu 2,2,2-trifluorethylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2,2,2-trifluorethylamino)-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2,2,2-trifluorethylamino)-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[2,2,2-trifluorethylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě

stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 398 (MH⁺); R_f (min) = 3,33.

P ř í k l a d 50

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(4-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina,
2-chlor-6-[(4-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurin,
připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
4-fluorbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo
v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A,
stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Při provádění tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za
použití 2-chlor-6-[(4-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentyl-
-purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem
jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).
CIMS (NH₃) 424 (MH⁺); R_f (min) = 2,24.

P ř í k l a d 51

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-jodbenzyl)amino]-9-(2-propyl)purinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-jodbenzyl)amino]-9-(2-propyl)purin.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[(3-jodbenzyl)amino]-9-(2-propyl)purin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 3-jodbenzylaminu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-jodbenzyl)amino]-9-(2-propyl)purinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-jodbenzyl)amino]-9-(2-propyl)purinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(3-jodbenzyl)amino]-9-(2-propyl)purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 506 (MH⁺); R_f (min) = 3,53.

P ř í k l a d 52

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2,2,2-trifluorethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[2,2,2-trifluorethylhydrazino]-9-cyklopentylpurin.

Při provádění tohoto postupu byla uvedena sloučenina, 2-chlor-6-[2,2,2-trifluorethylhydrazino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-

cyklopentylpurinu, 2,2,2-trifluorethylhydrazinu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2,2,2-trifluorethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2,2,2-trifluorethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[2,2,2-trifluorethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 413 (MH⁺); R_f (min) = 3,28.

P ř í k l a d 53

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-hydroxypropyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(3-hydroxypropyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(3-hydroxypropyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 3-amino-1-propanolu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[(3-hydroxypropyl)amino]-9-cyklopentylpurinu

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-hydroxypropyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(3-hydroxypropyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 374 (MH⁺); R_f (min) = 3,17.

P ř í k l a d 54

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(5-hydroxy-1,5-dimethylhexyl)amino]-9-cyklopentyl-purinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(5-hydroxy-1,5-dimethylhexyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Při provádění postupu podle tohoto provedení, byla požadovaná sloučenina, 2-chlor-6-[(5-hydroxy-1,5-dimethylhexyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, hydrochloridu 6-amino-2-methyl-2-heptanolu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(5-hydroxy-1,5-dimethylhexyl)amino]-9-cyklopentyl-purinu.

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina,

dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(5-hydroxy-1,5-dimethylhexyl)amino]-9-cyklopentyl-
-purinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(5-hydroxy-
-1,5-dimethylhexyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se
postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1,
Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH₃) 444 (MH⁺); R_f (min) = 3,37.

P ř í k l a d 55

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-hydroxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(4-hydroxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina,
2-chlor-6-[(4-hydroxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurin,
připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu,
hydrochloridu tyraminu a triethylaminu, přičemž se
postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1,
Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-hydroxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu

Podle tohoto postupu byla požadovaná sloučenina,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(4-hydroxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu,
připravena za použití 2-chlor-6-[(4-hydroxyfenyl)-
-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu, přičemž se postupovalo
v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A,
stupeň (c).

CIMS (NH_3) 436 (MH^+); R_f (min) = 3,38.

P ř í k l a d 56

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(8-aminooktyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Schéma A, stupeň (b):

2-chlor-6-[(8-aminooktyl)amino]-9-cyklopentylpurin.

Podle tohoto postupu byla uvedená sloučenina, 2-chlor-6-[(8-aminooktyl)amino]-9-cyklopentylpurin, připravena za použití 2,6-dichlor-9-cyklopentylpurinu, 1,8-diaminooktanu a triethylaminu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (b).

Schéma A, stupeň (c):

Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(8-aminooktyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

Při provádění tohoto postupu byla tato sloučenina, dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(8-aminooktyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, připravena za použití 2-chlor-6-[(8-aminooktyl)amino]-9-cyklopentyl-
-purinu, přičemž se postupovalo v podstatě stejným způsobem jako v příkladu 1, Schema A, stupeň (c).

CIMS (NH_3) 443 (MH^+); R_f (min) = 3,30.

Termín "neoplastické onemocnění", použitý v popisu předmětného vynálezu, se vztahuje k abnormálnímu stavu nebo nemoci charakterizované nekontrolovanou proliferací. Neoplastická onemocnění zahrnují leukémie, karcinomy a adenokarcinomy, sarkomy, melanomy a smíšené typy

novotvarů.

Termín leukémie zahrnuje akutní lymfoblastovou, chronickou lymfocytovou, akutní myeloblastovou a chronickou myelocytovou leukémií, bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto stavy.

Termín karcinomy a adenokarcinomy zahrnuje novotvary čípku, prsu, prostaty, jícnu, žaludku, tenkého střeva, tračníku, vaječníků a plic, bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto stavy.

Termín sarkomy zahrnuje esteromy, osteosarkom, lipom, liposarkom, hemangiom a hemangiosarkom, bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto stavy.

Termín melanom zahrnuje amelanotický a melanotický melanom, bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto stavy.

Termín smíšené typy novotvarů zahrnuje karcinosarkom, typu lymfoidní tkáně, sarkom buněk folikulárního retikula a Hodgkinovu chorobu, bez jakéhokoliv omezování pouze na tyto stavy.

Termín "terapeuticky účinné množství" sloučeniny podle vzorce (I) se týká množství, které je účinné při podání jedné nebo několikanásobné dávky pacientovi, kontrolovat růst novotvaru nebo metastáz novotvarů nebo zabránit apoptóze. Terapeuticky účinné množství sloučeniny podle vynálezu výše uvedeného obecného vzorce bude kolísat podle věku, hmotnosti, typu léčeného novotvaru, kombinace jiných protinádorových léků a dalších kritérií každému odborníkovi pracujícímu v daném oboru běžně známých, při použití

standardních klinických a laboratorních testů a postupů. Terapeuticky účinné množství sloučeniny podle vynálezu výše uvedeného obecného vzorce bude kolísat podle typu buněk náchylných k apoptóze, lokalizace infarktu, a také věku, hmotnosti a dalších kritérií každému odborníkovi pracujícím v daném oboru běžně známých.

Termín "kontrola růstu" novotvaru se vztahuje ke zpomalení, přerušení, pozastavení nebo zastavení růstu novotvaru nebo metastáz novotvaru. Termín "kontrola růstu" novotvaru se také vztahuje ke zničení novotvaru nebo metastáz novotvaru.

Účinné množství sloučeniny podle vynálezu výše uvedeného obecného vzorce je to množství, které je účinné při podání jedné nebo několikanásobné dávky pacientovi zajistit protinádorové působení nebo zabránit apoptóze. Termín "protinádorový účinek" se vztahuje ke zpomalení, přerušení, zabránění nebo zničení dalšího růstu neoplastických buněk.

Účinné protinádorové množství sloučeniny podle vynálezu výše uvedeného obecného vzorce může být snadno určeno ošetřujícím lékařem, jako odborníkem pracujícím v daném oboru, při použití známých technik a pozorováním výsledků dosažených za analogických okolností. Při určování účinného množství bere ošetřující lékař do úvahy velký počet faktorů, včetně, ale bez jakéhokoliv omezení pouze na tyto faktory, druhu savce, jeho velikosti, věku a povšechného zdravotního stavu, specifické nemoci, které se léčba týká, stupně nebo komplikace nebo závažnosti nemoci, reakce jednotlivého pacienta, konkrétní podávané sloučeniny podle vynálezu výše uvedeného obecného vzorce, způsobu podávání,

charakteristické biologické dostupnosti podávaného přípravku, vybraného dávkového režimu, použití doprovodné medikace a dalších relevantních okolností.

Další provedení podle předkládaného vynálezu zahrnuje způsob profylaktického ošetření pacienta v riziku vývoje neoplastického onemocnění, přičemž tento způsob zahrnuje podávání profylakticky účinného protinádorového množství sloučeniny podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce. Termín "pacient v riziku vývoje neoplastického onemocnění" se vztahuje k pacientovi, který díky rozpoznané genetické predispozice ke tvorbě novotvarů měl nebo v současnosti má novotvar, je v expozici karcinogenním činidlům, má rizikovou dietu, věk nebo má další rizikové faktory spojené s vývojem neoplastického onemocnění. Upřednostňovaní pacienti v riziku vývoje neoplastického onemocnění jsou pacienti, kteří mají pozitivní vyšetření na onkogenní virus, jsou v remisi po dřívější léčbě novotvaru(ů), konzumují tabákové výrobky nebo byli dříve exponováni karcinogenům jako je azbest nebo mají pozitivní vyšetření na různé neoplastické genetické markery.

Onkogenní viry jsou ty viry, které jsou ve spojení s karcinomy. Například virus Rousova sarkomu kuřat, virus Shopeova papilomu králíků a myší leukemické viry jsou zvířecí viry, o kterých se bylo potvrzeno, že hrají důležitou roli ve vývoji různých druhů karcinomů. Lidský papilomavirus je spojen s karcinomem pohlavních orgánů. Virus vyvolávající nemoc molluscum contagiosum je sdružován s tumory molluscum contagiosum. Virus JC, lidský papovirus, je spojován s poruchami retikuloendotelového systému, jako je leukémie a lymfom. Lidské retroviry, jako lidské lymfotropní viry T buňky (HTLV) typu 1 a 2 jsou spojovány s některými

lidskými leukémiemi a lymfomy. Viry lidské imunodeficiency (HIV) typu 1 a 2 jsou příčinou AIDS. Virus Epstein-Barrové je spojován s různými malignitami, včetně nazofaryngálního karcinomu, afrického Burkittova lymfomu a lymfomů u příjemců orgánových transplantátů, kterým je podávána imunosuprese.

Genetickými markery jsou mutace, přesmyky a podobně, jako například BRCA 1, bcl-1/PRAD1, cyklin D1/CCND1, p16, cdk4, zejména mutace Arg24Cys, p16^{INK4a}. Genetické markery jsou spojovány s predispozicí k různým novotvarům. Například alterace v genu BRCA 1 jsou sdružovány s vyšším rizikem karcinomu prsu a vaječníků. Další genetické markery zahrnují alterace v genu MMSC1, který interaguje s genem MMCA1 karcinomu mozku a prostaty, v genu CtIP, který je sdružován s genem BRCA1 při karcinomu prsu a vaječníků, váže se na gen BRCA1 a je spojován s metabolickou drahou onkogenu E1A, a v genu MKK3, který je kontrolní gen buněčného cyklu, který působí jako nádorový supresor při karcinomu plic prostřednictvím aktivace apoptózy. Pacienti v riziku vývoje neoplastického onemocnění také zahrnují pacienty, kteří nadměrně exprimují různé proteiny buněčného cyklu, včetně cdk4, cyklinů B1 a E. Pacienti v riziku vývoje neoplastického onemocnění jsou pacienti, kteří mají zvýšené hladiny nádorových markerů. Známé nádorové markery zahrnují prostatický specifický antigen (PSA) a plazmatický růstový faktor 1 podobný inzulinu (IGF-1), což jsou markery karcinomu prostaty. Proteiny jaderné matrix (NMP) jsou spojovány s výskytem karcinomu, zejména močového měchýře a tračníku.

Předpokládá se, že účinné množství sloučeniny podle předmětného vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce kolísá od přibližně 25 ng na kg tělesné hmotnosti za den

(ng/kg/den) do přibližně 500 mg/kg/den. Výhodné účinné množství sloučeniny podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce se pohybuje od přibližně 1 µg/kg/den do přibližně 500 µg/kg/den. Výhodnější množství sloučeniny podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce se pohybuje od přibližně 1 µg/kg/den do přibližně 50 µg/kg/den.

Sloučenina výše specifikovaného obecného vzorce podle vynálezu může být podávána v libovolné formě nebo libovolným způsobem, který učiní sloučeninu biologicky dostupnou v účinném množství. Sloučeniny podle vynálezu mohou být podávány perorálním nebo parenterálním způsobem. Sloučeniny podle vynálezu mohou být podávány perorálně, subkutánně, intramuskulárně, intravenózně, transdermálně, intranazálně, rektálně, okulárně a podobně. Výhodné je perorální podávání. Odborník, který připravuje farmaceutické prostředky, může snadno určit příslušné formy sloučeniny podle vynálezu podle zjištěných konkrétních vlastností sloučeniny, léčené nemoci, stupně nemoci, reakce jiných pacientů a dalších relevantních okolností.

Sloučenina podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce může být kombinována s nosičovými materiály, excipienty nebo dalšími sloučeninami za účelem přípravy prostředků obsahujících tuto sloučeninu podle vynálezu. Prostředek obsahující sloučeninu podle vynálezu obsahuje sloučeninu podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce v kombinaci nebo v jiném spojení s jedním nebo více inertními nosiči. Prostředky obsahující sloučeninu podle vynálezu jsou použitelné například jako vhodné prostředky pro velkoobjemové dodávky nebo pro skladování sloučeniny podle vynálezu. Inertní nosič je látka, která se nerozkládá nebo nijak kovalentně nereaguje se sloučeninou podle

vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce. Inertní nosič může být tuhá, polotuhá nebo tekutá látka. Výhodnými nosičovými látkami jsou voda, vodné pufry, organická rozpouštědla a farmaceuticky přijatelné nosiče nebo excipienty. Výhodné vodné pufry zajišťují pufrovací rozmezí, ve kterém se sloučenina podle vzorce nerozkládá. Výhodná pufrovací rozmezí je rozmezí od přibližně pH 4 až do přibližně pH 9. Výhodnými organickými rozpouštědly jsou acetonitril, ethylacetát a hexan.

Farmaceutický prostředek obsahující sloučeninu podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce obsahuje tuto sloučeninu podle vynálezu v kombinaci nebo v jiném spojení spojení s jedním nebo více farmaceuticky přijatelným nosičem nebo excipientem. Farmaceuticky přijatelným nosičem nebo excipientem může být tuhá, polotuhá nebo tekutá látka, která může sloužit jako vehikulum nebo médium pro sloučeninu podle vynálezu. Vhodné farmaceuticky přijatelné nosičové materiály nebo excipienty jsou každému odborníkovi pracujícímu v daném oboru dobře známy.

Farmaceutický prostředek obsahující sloučeninu podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce může být upraven pro různý způsob podávání. Je-li způsob podávání perorální, parenterální nebo lokální, je výhodný farmaceutický prostředek obsahující tuto sloučeninu podle vynálezu ve formě tablety, pastilky, tobolky, tinktury, sirupu, oplatky, žvýkací gumy, čípku, roztoku nebo suspenze.

Výhodný perorální farmaceutický prostředek obsahující sloučeninu podle vynálezu obsahuje sloučeninu výše specifikovaného obecného vzorce podle vynálezu v kombinaci s inertním ředidlem nebo s požitelným nosičem. Výhodné

formy perorálních farmaceutických prostředků obsahujících sloučeninu podle vynálezu jsou tablety, pastilky, tobolky, tinktury, sirupy, oplatky, žvýkací gumy, roztoky nebo suspenze.

Výhodné farmaceutické prostředky obsahující sloučeninu podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce obsahují od přibližně 4 % do přibližně 80 % této sloučeniny. Výhodné farmaceutické prostředky obsahují množství sloučeniny podle vynálezu od přibližně 50 ng do přibližně 500 µg, výhodnější farmaceutický přípravek obsahuje množství sloučeniny podle vzorce od přibližně 1 µg do přibližně 200 µg.

Sloučenina podle vynálezu výše specifikovaného obecného vzorce může být podávána samotná nebo ve formě farmaceutického přípravku v kombinaci s farmaceuticky přijatelným nosičem nebo excipientem.

V popisu předmětného vynálezu jsou používány následující zkratky: mg, miligram, µg, mikrogram, ng, nanogram, TEA, triethylamin, mmol, milimol, ml, mililitr, C, Celsius, h, hodina, TLC, chromatografie na tenké vrstvě, CH₂Cl₂, metylenchlorid, MeOH, methanol, EtOH, ethanol, N, normální, HCl, kyselina chlorovodíková, TFA, kyselina trifluoroctová, DIEA, diisopropylethylamin, RT PCR, polymerázová řetězová reakce navazující na reverzní transkripci, HEPES, 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazin-ethansulfonová kyselina, MgCl₂, chlorid hořečnatý, EGTA, ethylenglykol-bis(β-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraoctová kyselina, EDTA, ethylendiamintetraoctová kyselina, DTT, dithiotreitol, MOI, násobek infekce, NaF, fluorid sodný, BSA, bovinní sérový albumin, p.o., perorální nebo perorálně, i.v., intravenózní nebo intravenózně, s.c., subkutánní nebo

subkutánně.

P ř í k l a d 57

Test cyklin-dependentní kinázy 4.

Hodnoty IC_{50} pro inhibici cdk4 byly získány prostřednictvím následující metody:

Substrát:

Fúzní protein glutathion-S-transferáza-retinoblastomový protein (GST-Rb) (Kaelin, V.G., Jr., a kol., Cell, 64, 521-532, 1991) byl získán od Dr. Williama Kaelina. GST-Rb byl připraven pomocí transformace *E. coli* plazmidem pGEX-Rb (379-928). Transformované bakterie byly pěstovány přes noc do saturace, pak byly naředěny médiem YT a inkubovány 2 hodiny ve 37 °C. Protein byl indukován inkubací s 0,1 mM isopropylthioglykosidem po dobu 3 hodin. Po sedimentaci prostřednictvím centrifugace byly buňky lyzovány sonikací v pufru STE (0,1 mM NaCl, 10 mM Tris, pH 8,0, 1 mM EDTA) obsahujícím 10 % sarkosyl. Částicový materiál byl odstraněn centrifugací a lyzát byl inkubován s glutathion-Sepharose při teplotě 4 °C. Perličky byly promyty kinázovým pufrem, a pak se prováděla kvantifikace proteinů separovaných prostřednictvím SDS-PAGE a obarvených Coomassie modří při použití proteinového standardu o známé koncentraci.

Exprese CDK4/cyklinu D1 ve hmyzích buňkách:

Lidská cyklin-dependentní kináza 4 (cdk4) byla klonována pomocí RT PCR s použitím degenerovaných primerů na bázi publikované aminokyselinové sekvenci (Matsushime, H., a kol., Cell, 71, 323-334, 1992). cDNA pro lidský cyklin D1

byla klonována pomocí RT PCR s použitím genomové DNA z buněk MCF-7. Sekvence byla shodná s publikovanou sekvencí (Xiong, Y., a kol., Cell, 65, 691-699, 1991). Obě cDNA pro cdk4 a cyklin D1 byly klonovány do pFastBac (Life Technologies) a rekombinantní Bacmid DNA obsahující cDNA byl tvořen místně specifickou transpozicí s použitím Bac-to-Bac bakulovirového expresního systému zakoupeného od Life Technologies (katalogové č. 10359-016). Bacmid DNA byl použit ke transfekci hmyzích buněk Sf9 pro produkci rekombinantního viru. Po plakové purifikaci viru byly virové preparáty amplifikovány dokud nebylo dosaženo vyšších titrů virových kmenů. Byla určena optimální společná exprese (koexprese) rekombinantních proteinů dosažená při MOI 0,1 jak pro cdk4 tak pro cyklin D1 v době 72 hodin po infekci.

Byly připraveny lyzáty buněk Sf9 společně infikovaných s cdk4 a cyklinem D1 v 50mM HEPES, pH 7,5, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM DTT, 0,1 mM fenylmethylsulfonylfluoridu, 5 $\mu g/ml$ aprotininu, a 5 $\mu g/ml$ leupeptinu s použitím talkové láhve PARR při tlaku dusíku 3447,3 kPa (500 psi) po dobu 5 minut při teplotě 4 °C. Nerozpustná látka byla sedimentována při 10 000 x g po dobu 20 minut při teplotě 4 °C. K supernatantu byl přidán glycerol do koncentrace 10 % a supernatant byl uchováván při teplotě -80 °C v poměrných částech.

Kinázový test:

96-jamkové filtrační destičky Millipore Multiscreen (0,65 μm filtry Durapore) byly předem navlhčeny 200 μl kinázového pufru (50 mM HEPES, pH 7,5, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA). Do každé jamky bylo přidáno 50 μl GST-Rb (0,5 μg) navázaného na perličky glutathion-Sepharose a roztok byl

odstraněn aplikací vakua. Testovaný vzorek obsahuje 50 mM HEPES, pH 7,5, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 1 mM EGTA, 10 mM β -glycerofosfátu, 0,1 mM ortovanadičnanu sodného, 0,1 mM NaF, 0,25 % BSA, 10 μ M ATP a 0,25 μ Ci [γ ³³P]-ATP. Pro zahájení testu bylo přidáno 0,1 μ g cdk4/cyklinu D1 (lyzát hmyzích buněk) a probíhala inkubace po dobu 30 minut při teplotě 37 °C. Reakce byla ukončena filtrací na zařízení Millipore Vacuum Manifold. Destičky byly čtyřikrát promyty TNEN (20 mM Tris, pH 8,0, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,5 % Nonidet P-40). Po usušení destiček při teplotě místnosti byly filtrační destičky umístěny v destičkových adaptérech (Packard) a do každé jamky bylo přidáno 40 μ l scintilační tekutiny Microscint-O^R (Packard). Fólie Top Seal A byla použita pro přikrytí destiček před měřením na scintilačním počítači Top Count Scintillation Counter.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

P ř í k l a d 58

Inhibiční studie s cdk2

Hodnoty IC₅₀ pro inhibici CDK2 byly určovány pomocí následující metody:

Test cyklin-dependentní kinázy 2:

Substrát:

GST-Rb, jak je popsán výše pro cdk4/cyklin D1
Exprese CDK2/cyklinu E ve hmyzích buňkách:

Rekombinantní bakuloviry pro lidskou cdk2 a cyklin E byly získány od Dr. Davida Morgana z UC, Berkeley (Desai, D. a kol., Molec. Biol. Cell, 3, 571-582, 1992). Optimální

společná exprese ve hmyzích buňkách byly získána při MOI 0,1 a 1,0 pro cdk2 a cyklin E, v příslušném pořadí, 72 hodin po infekci.

Kinázoový test:

Podmínky testu pro cdk2/cyklin E byly totožné s podmínkami pro cdk4/cyklin D1 včetně substrátu.

Koncentrace rekombinantního cdk2/cyklinu E v testu byla 0,1 µg na 100 µl testovacího vzorku. Inkubace byla prováděna po dobu 30 minut při teplotě 30 °C.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

P ř í k l a d 59

Protokol testu cdk7/cyklin H

Substrát:

Peptidový substrát $H_2N-RRR(YSPTSPS)_4-COOH$ na bázi sekvence CTD RNA polymerázy II.

Expresce CDK7/cyklinu H ve hmyzích buňkách:

Lidská cdk7 byla klonována pomocí RT PCR. Sekvence byla shodná s publikovanou sekvencí (Tassan, J.P., a kol., J. Cell. Biol., 127, 467-478, 1994, a Darbon, J.M., a kol., Oncogene, 9, 3127-3138, 1994). cDNA pro cyklin H byla také klonována pomocí RT PCR, přičemž sekvence byla shodná s publikovanou sekvencí (Fisher a Morgan, Cell, 78, 713-724, 1994). Rekombinantní Bacmid DNA a virové kmeny byly připraveny tak, jak je popsáno výše pro cdk4 a cyklin D1. Optimální koexpresce bylo dosaženo v MOI 1 a 2 pro cdk7

a cyklin H, v příslušném pořadí, 48 hodin po infekci.

Kinázoový test:

Test měřil fosforylaci peptidového substrátu (založeném na C-koncové doméně RNA polymerázy II) prostřednictvím cyklin-dependentní kinázy 7, která je aktivována cyklinem H. [γ ³³P]-fosfát byl přenesen z [γ ³³P]-ATP na peptidový substrát pomocí enzymu. Test se prováděl na 96-jamkových destičkách se dnem ve tvaru V, pak po ukončení reakce byl proveden přenos na 96-jamkové fosfocelulózové filtrační destičky Millipore Multiscreen. Peptid je zachycen na fosfocelulózové membráně po promytí roztokem kyseliny fosforečné.

Metoda:

Enzymový test se prováděl na 96-jamkových destičkách se dnem ve tvaru V v celkovém objemu 100 μ l. Testovaný vzorek obsahoval 15 μ M ATP, 0,5 μ Ci [γ ³³P]-ATP, 50 mM HEPES, pH 7,5, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 10 mM β -glycerofosfát, 0,1 mM ortovanadičnan sodný, 0,1 mM NaF, 10 μ M peptidový substrát. Pro zahájení testu bylo přidáno 0,125 ng cdk7 a cyklinu H (lyzát hmyzích buněk). Inkubace byla prováděna po dobu 5 minut při teplotě 24 °C. Reakce byla ukončena přidáním 40 μ l chladné 300 mM kyseliny fosforečné ke každému vzorku. Obsah jamek se dnem ve tvaru V byl pak přenesen na 96-jamkové fosfocelulózové filtrační destičky Millipore. Po ponechání 15 minut při teplotě místnosti byly filtrační destičky odsáty ve vakuu a jamky byly promyty 4 x se 100 μ l chladné 75 mM kyseliny fosforečné. Po odstranění odsávací sestavy byly filtry úplně usušeny, umístěny do adaptérů na mikrodestičky přístroje

Multiscreen a do každé jamky bylo přidáno 40 μ l scintilační tekutiny Microscint-O. Destičky byly přikryty fólií Top Seal A a měřeny 1,5 minuty na scintilačním počítači Packard Top Count Scintillation Counter.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

P ř í k l a d 60

Protokol testu CDK1/cyklin B [^{33} P] SPA

Substrát:

Test používá biotinylovaný substrátový peptid (biotin-PKTPKKAKKL) pocházející z *in vitro* p34^{cdc2} fosforylačního místa histonu H1.

Exprese CDK1/cyklinu B1 ve hmyzích buňkách:

Lidská cdk1 byla klonována pomocí RT PCR. Sekvence byla shodná s publikovanou sekvencí (Lee, M.G. a Nurse, P., Nature, 327, 31-33, 1987). cDNA pro cyklin B byla také klonována pomocí RT PCR a sekvence byla shodná s publikovanou sekvencí (Pines, J., a Hunter, T., Cell, 58, 833-846, 1989). Rekombinantní Bacmid DNA a virové kmeny byly připraveny tak, jak je popsáno výše pro cdk4 a cyklin D1. Optimální koexprese bylo dosaženo v MOI 0,1 pro cdk1 a cyklin B1 48 hodin po infekci.

Kinázový test:

Enzymová testovací souprava pro p34^{cdc2} SPA [^{33} P] kinázu byla zakoupena od firmy Amersham Life Science (katalog. č. RPNQ0170) a protokol byl prováděn

v 96-jamkovém formátu, jak doporučuje výrobce. Každý testovací vzorek obsahoval 50 mM Tris HCl, pH 8,0, 10 mM MgCl₂, 0,1 mM Na₃VO₄ (ortovanadičnan sodný), 0,5 μM ATP, 0,2 μCi ³³P-ATP, 2 μM DTT a 0,75 μM biotinylovaný peptid a 3 μg cdk1/cyklinu B v lyzátu hmyzích buněk při celkovém objemu testovacího vzorku 100 μl. Inkubace byla prováděna po dobu 30 minut při teplotě 30 °C. Reakce byla ukončena přidáním 200 μl stop pufru (50 μM ATP, 5 mM EDTA, 0,1 % (objem/objem) Triton X-100 ve fyziologickém roztoku pufrovaném fosfáty)/s perličkami SPA potaženými streptavidinem (2,5 mg/ml). Destička byla ponechána přes noc při teplotě místnosti, a poté přikryta fólií Packard TopSeal a měřena na scintilačním počítači Packard TopCount. Hodnota IC₅₀ byla určována vnesením dat do esovité křivky s použitím software GraphPad Prism.

P ř í k l a d 61

Inhibice tumoru *in vitro*

In vitro proliferací test:

Proliferace nádorových buněk byla měřena s použitím testu se sulforhodaminem B, jak je popsán (Skehan, P., a kol., J. Natl. Cancer Inst., 82, 1107-1112, 1990). Nádorové buňky byly odebírány do roztoku trypsin-EDTA, přičemž buňky, které se nebarvily trypanovou modří, byly spočítány, přidány na 96-jamkové destičky a inkubovány přes noc při teplotě 37 °C. Do jamek bylo přidáno léčivo po naředění kultivačním médiem. Tři dny později bylo médium odstraněno a opět doplněno médiem obsahujícím čerstvý lék a inkubace probíhala další 4 dny. Buňky pak byly fixovány 0,1 ml 10 % trichloroctové kyseliny po dobu 60 minut při teplotě 4 °C. Destičky byly pětkrát opláchnuty vodou

z vodovodu, usušeny na vzduchu a barveny 30 minut 0,4 % sulforhodaminem B v 1 % kyselině octové a usušeny na vzduchu. Navázaná barva byla solubilizována s 0,1 ml 10 mM Tris (pH 10,5) po dobu 5 minut, přičemž se měřila absorbance při 490 nm pomocí čtecího zařízení Titertek Multiscan MCC/340.

Pro kvantifikaci buněčné proliferace byl jako alternativa použit test proliferace buněk CyQUANT.

Test proliferace buněk CyQUANT.

Pro kvantifikaci proliferace nádorových buněk byl jako alternativa použit test proliferace buněk CyQUANT. Nádorové buňky byly odebírány do roztoku trypsin-EDTA, přičemž buňky, které se nebarvily trypanovou modří byly spočítány, přidány na 96-jamkové destičky a inkubovány přes noc při teplotě 37 °C. Do jamek bylo přidáno léčivo po naředění kultivačním médiem. Tři dny později bylo médium odstraněno a destičky byly zmrazeny při teplotě -80 °C po dobu alespoň 30 minut. Po rozmražení destiček bylo do každé jamky přidáno 200 µl CyQUANT-GR v buněčném lyzačním pufru (molekulární sondy č. C-7026) a destičky byly inkubovány 3 až 5 minut při teplotě místnosti. Fluorescence CyQUANT-GR byla měřena na fluorescenčním destičkovém čtecím zařízení Molecular Devices Fmax (excitace 485 nm, emise 530 nm).

Buněčné linie:

MCF7 je lidský adenokarcinom prsu, hormon-dependentní (HTB 22),

MDA-MB-231 je lidský adenokarcinom prsu, hormon-independentní (HTB 26),

HT-29 je lidský adenokarcinom tračníku, průměrně dobře

diferenciovaný stupeň II (HTB 38),
HCT-15 je lidský adenokarcinom tračníku (CCL 225),
A549 je lidský nemalobuněčný karcinom plic (CCL 185),
PC-3 je lidský adenokarcinom prostaty, hormon-independentní
(CRL 1435), a
DU 145 je lidský karcinom prostaty, hormon-independentní
(HTB 81).

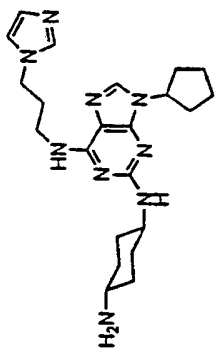
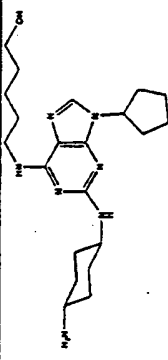
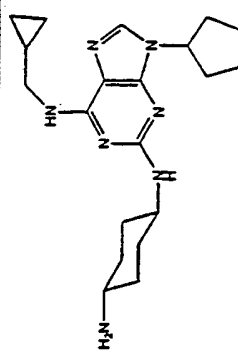
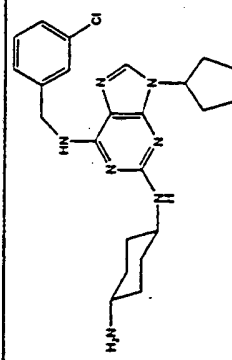
Všechny buněčné linie byly získány z American Type
Tissue Collection, přičemž ukládací čísla ATCC jsou uvedena
v závorkách.

Buňky MCF7, MDA-MB-435 a MDA-MB-231 byly pěstovány ve
vylepšeném, minimálním esenciálním médiu (Biofluids) bez
fenolové červeně doplněném 5 % fetálním bovinním sérem,
0,01 mg/ml gentamycinem a 3mM L-glutaminem. Všechny další
buněčné linie byly pěstovány v médiu RPMI 1640 (Life
Technologies) doplněném 5 % fetálním bovinním sérem,
0,01 mg/ml gentamycinem a 3mM L-glutaminem.

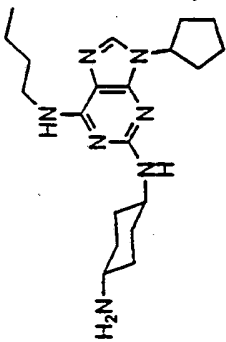
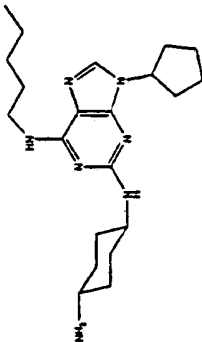
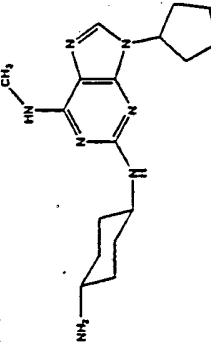
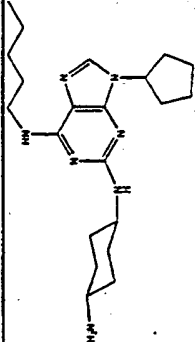
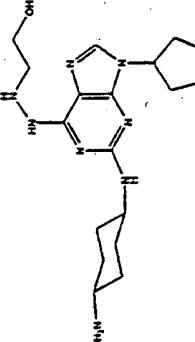
Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Proliferace nádorových buněk in vitro (IC ₅₀ , μM)														
MDL číslo	Struktura	Inhibice CDK-2 IC ₅₀ (μM)	Inhibice CDK4 IC ₅₀ (μM)	prsa				tlusté střevo			plíce		prostata	
				MCF -7	MDA- MB- 231	MDA -MB- 435	HT- 29	HCT- 15	Colo- 205	A549	DMS- 114	PC-3	DU145	
příklad 33		0,014 0,026 0,006	0,18		1,5* 3,3*		2,1* 2,1*		1,2* 1,8*	0,7* 0,9*	0,9* 1,0*	0,8*		
příklad 44		0,009 0,011	0,25		0,8* 0,6*	0,85* 0,85*	0,69* 0,65*		0,58* 0,4*	0,63* 0,47*	0,44* 0,53*	0,52* 0,47*	0,5* 0,6*	
příklad 38		0,019 (n = 1)	1/4		16* 3,5*		2,1* 3,6*		2,4* 2,8*	1,7* 1,1*	1,2* 1,2*	1,4* 1,7*	3,8* 1,6*	
příklad 53		0,013 0,026	0,29 0,094		6,7* 8,5*	12* 11*	5,1* 14*		5,1* 5,0*	12* 9,3*	16* 17*	3,4* 5,9*	7,5* 11*	

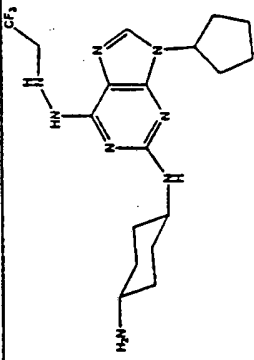
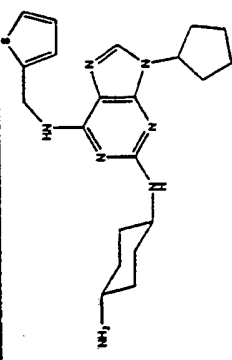
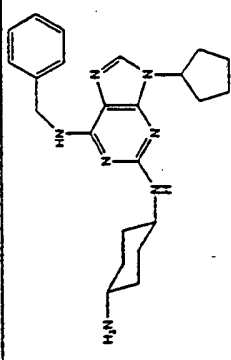
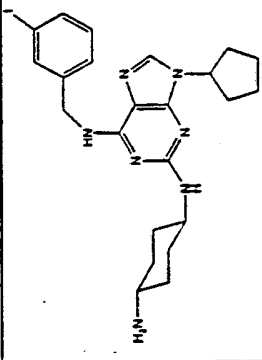
00.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMS114	PC3	DUI45
příklad 46 	0,020 0,017 0,021	0,45	3,5 4,9	5,2 7,0		6,2 9,7	18 16		6,0 6,7	5,4 7,4	2,0 3,0	5,1 6,0
příklad 25 	.021	0,11		3,4* 5,4*	6,0* 6,0*	5,6* 6,2*		2,4* 2,3*	6,1* 5,5*	6,6* 4,5*	1,8* 2,3*	3,9* 4,6*
příklad 34 	0,024	0,93 0,64	0,84 1,8	1,2 2,2		1,3 2,6	3,3 3,4		1,9 1,2	1,5 1,4	0,25 0,86	0,97 1,7
příklad 29 	0,032	0,53	0,71 1,7	1,1 1,6		2,4 1,5	3,8 2,9		0,92 1,3	0,52 0,63	1,7 0,80	0,80 0,92

10:10:00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMS114	PC3	DUI45
příklad 3	 0,033 0,017	0,39 0,66	0,59 0,81	0,95 1,2		0,92 1,5	3,9 3,6		0,60 0,63	0,49 0,73	0,37 0,37	0,54 0,60
příklad 26	 0,08 0,036 (n = 1)	>100		1,2* 1,4*	2,2* 2,3*	1,4* 1,6*		1,3* 1,5*	0,68* 1,4*	1,8* 1,0*	1,0* 1,4*	0,73* 0,95*
příklad 28	 0,038 (n = 1)	>100		1,3* 1,6*	3,2* 4,5*	1,8* 1,8*		1,9* 2,1*	0,25* 1,1*	1,4*	3,2* 1,1*	0,86 1,7*
příklad 5	 0,042	>100		2,9* 3,2*	5,7* 4,4*	1,2* 7,2*		2,4* 1,6*	1,6* 1,1*	3,1* 2,8*	5,7* 7,2*	2,4* 2,8*
příklad 14	 0,046	17		19* 22*	44* 27*	34* 29*		17* 16*	24* 15*	22* 20*	13* 14*	17* 21*

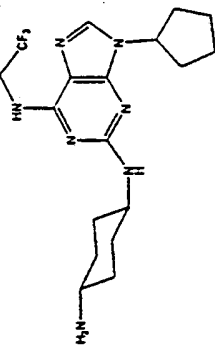
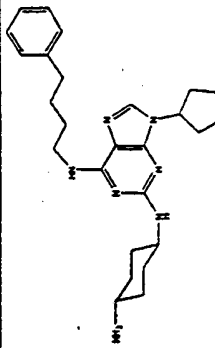
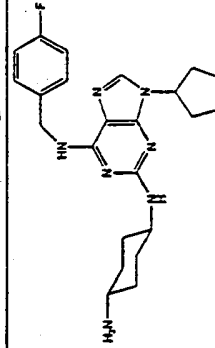
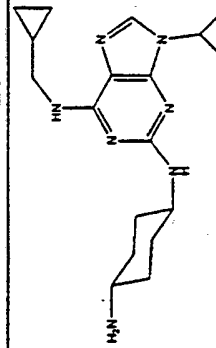
10.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	AS49	DMS114	PC3	DUI45
příklad 52	 0,091 0,044 0,044 (n = 1)	1,8		2,7* 3,1*	5,6* 5,1*	3,6* 3,6*		3,1* 3,2*		1,7*	4,6* 2,2*	2,3* 2,8*
příklad 17	 0,069 0,046 (n = 1)	0,3 0,5		2,4* 3,0*	3,2* 3,7*	2,4* 2,6*		2,2* 3,0*	1,8* 1,6*	1,9* 1,7*	1,7* 1,7*	1,6* 1,6*
příklad 47	 0,048	1,1		2,0 3,0		2,2 2,7	5,5 6,1		1,7 2,5	1,2 1,3	0,93 1,3	1,0 1,8
příklad 1	 0,050 0,070 0,085 0,037 0,055 0,065	2,0 (n = 2)		1,1 0,8		0,9 1,0 1,6	2,2 1,9 2,2		1,1 1,0	1,2 0,9	1,9 1,1 1,2	2,0 1,6 1,2

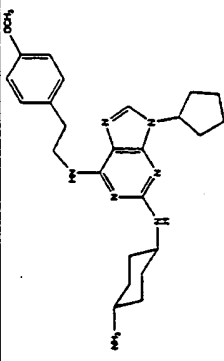
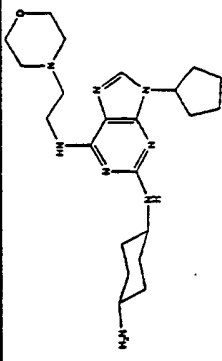
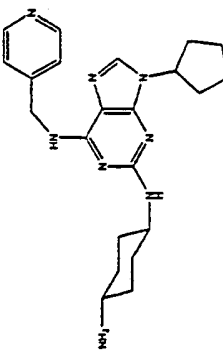
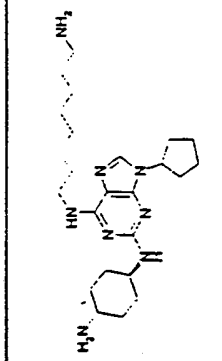
10.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMS114	PC3	DUI45
příklad 7	0,060 (n = 1)	0,3 0,3		7,9* 7,0*	11* 13*	13* 13*		6,3* 7,8*	15* 15*	16* 24*	8,0* 4,6*	10* 9*
příklad 31	0,080 0,060	>100		7,4* 8,6*	13* 10*	10* 7,3*		5,6* 6,6*	10*	5,6* 5,6*	3,3* 10*	6,7* 4,4*
příklad 54	0,085			1,0* 1,0*	1,6* 1,6*	1,0* 1,0*		0,63* 0,58*	0,68* 0,63*	0,78* 0,61*	0,83* 0,80*	1,4* 1,4*
příklad 55	0,089			5,2* 5,6*	6,7* 7,2*	7,0* 6,1*		4,3* 4,2*	7,3* 6,4*	7,0* 4,8*	4,2* 4,0*	6,7* 7,2*

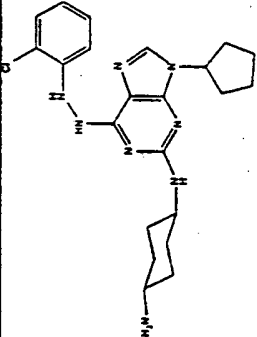
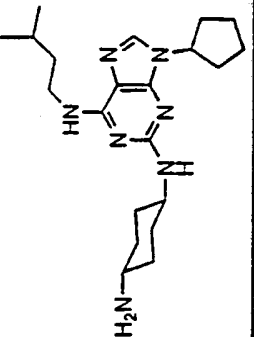
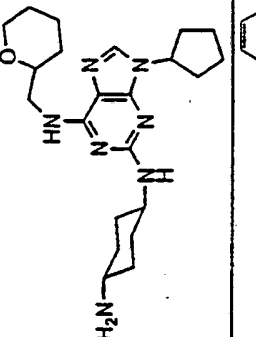
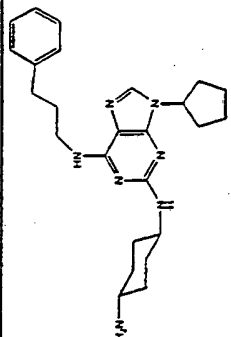
10.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMS114	PC3	DUI45
příklad 49	 0,090 (n = 1)	2/2		8,6* 6,0*	10* 12*	7,3* 6,0*		6,6* 5,5*	2,2*	5,6*	10* 3*	4,4* 4,9*
příklad 21	 0,039 0,091 (n = 1)	1/0		0,8* 0,9*	1,3* 1,2*	0,7* 0,8*		0,51* 0,78*	0,5* 0,5*	0,7* 0,6*	0,6* 0,8*	0,4* 0,7*
příklad 50	 0,094											1,9 3,3
příklad 32	 0,21 0,096 (n=1)	1/8		1,9 3,3		4,0 4,8	7,4 7,7			3,7 2,4	2,0 2,3	17 10

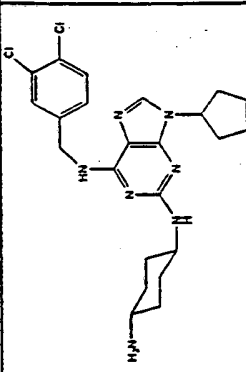
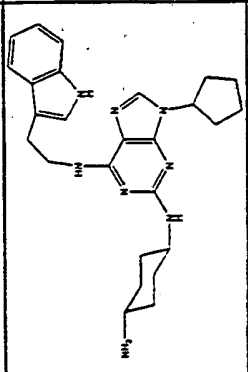
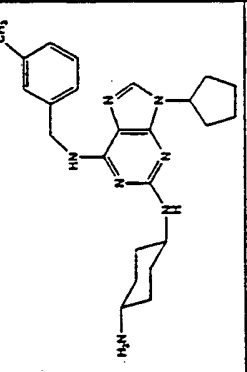
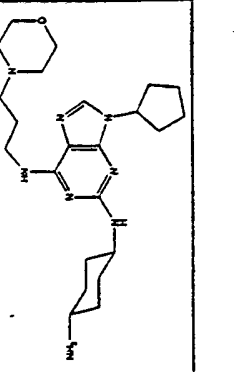
10.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMS114	PC3	DUI45	
příklad 15		0,100 (n = 1)	1,5		3,0*		2,7*		2,4*	1,4*	1,3*	2,3*	2,8*
příklad 13		0,11			4,8* 9,4*	14* 13*	11* 11*		5,3* 5,2*	7,9* 6,9*	8,8* 6,2*	7,2* 6,4*	6,7* 7,5*
příklad 8		0,110 (n = 1)	0,7 0,8		5,3* 8,1*	10* 10*	7,6* 11*		4,6* 4,1*	7,7* 5,9*	9,9* 7,4*	4,6* 5,4*	5,8* 6,5*
příklad 56		0,115	64		2,2* 3,5*	3,8* 3,1*	2,5* 3,4*		3,5* 6,3*	2,8* 2,5*	1,9* 4,1*	2,7* 4,4*	4,9* 3,6*

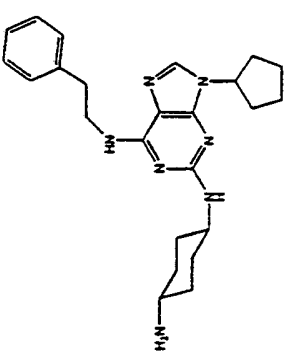
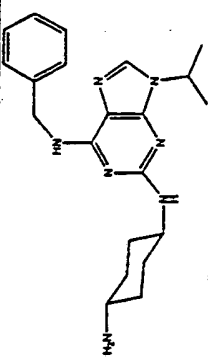
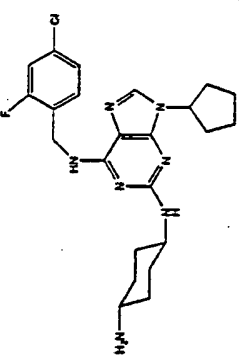
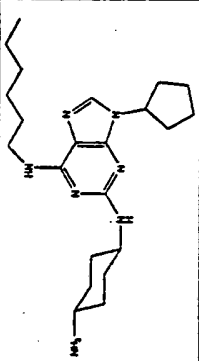
10.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMSI14	PC3	DUI45
příklad 18 	0,12 0,10	1,3		2,3* 2,5* 3,5* 5,5*	8,0* 8,2*	2,4* 2,5* 2,4* 4,1*		2,2* 3,2* 4,6* 3,0*	1,7* 2,2* 1,8*	1,2* 1,4* 3,6* 3,0*	4,4* 2,5* 1,8* 2,2*	1,3* 1,5* 2,3* 2,8*
příklad 36 	0,120 (n = 1)	1,1 0,6	1,1 1,3	1,4 2,0		1,5 1,9	3,1 3,3		0,80 0,94	0,88 0,91	0,68 0,68	0,89 1,1
příklad 30 	0,126 (n = 1)	0,6	2,5 3,1	6,4 8,6		5,3 7,9	21 22		2,5 3,1	2,9 3,7	1,9 2,3	3,3 4,0
příklad 24 	0,130	0,57 0,90	0,34 0,47 0,47 0,42*	0,11 0,04 0,17 0,24*		0,16 0,17 0,28 0,19*	1,4 1,0 1,0 0,99*		0,15 0,15 0,11*	0,14 0,13 0,07*	0,13 0,13 0,23 0,20*	0,39 0,38 0,51 0,54*

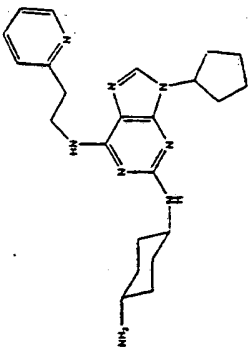
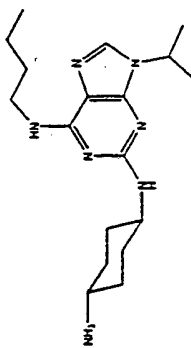
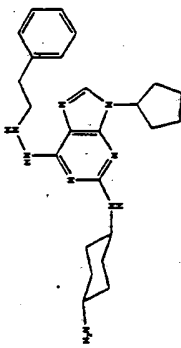
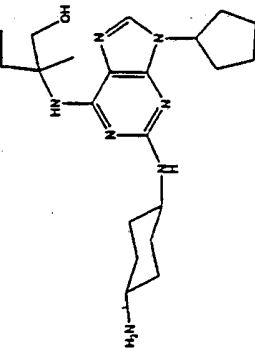
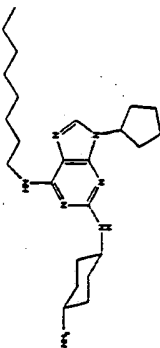
10.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMS114	PC3	DUI45
příklad 10		0,19	1,1 1,8	1,2 1,7		1,6 1,6	1,9 1,9		1,7 0,98	1,5	0,97 0,79	0,97 1,8
příklad 2		0,6 0,9 0,140 (n = 1)		6,5* 6,6*	14* 11*	10* 10*		11* 8,6*	11* 11*	8,7* 10*	11* 5,1*	12* 6,7*
příklad 11		11	3,6 7,5	7,4 13		8,2 11	11 13		1,0 7,4	4,5 7,1	5,8 4,2	4,8 8,0
příklad 9		0,3 0,4 0,09 0,150		2,7* 2,6*	5,2* 6,0*	5,6* 5,1*		1,2* 3,3*	1,2* 3,9*	3,7* 2,8*	4,6* 3,1*	4,4* 3,2*

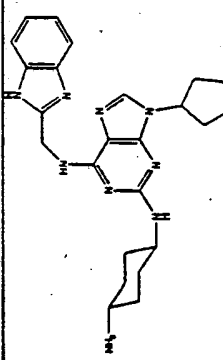
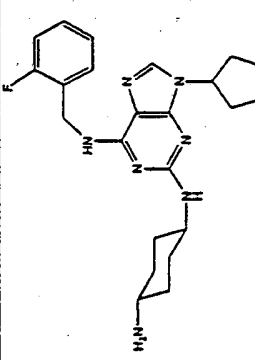
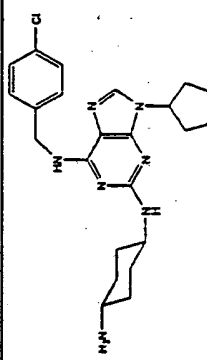
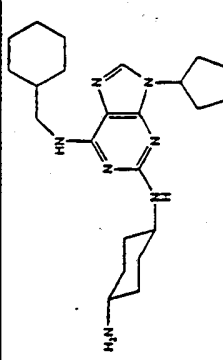
30.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMS114	PC3	DUI45
příklad 43		0,160	0,25	1,2 1,6	2,1 2,5	2,2 2,8	3,4 3,2		1,1 1,0	0,92 1,2	0,89 0,92	1,2 1,4
příklad 45		0,18 (n = 1)	12	1,6 1,7	4,0 3,0	4,8 3,5	16 17		2,0 1,8	2,1 1,6	2,4 1,4	2,5 1,9
příklad 40		0,190	1,9	1,7 3,3	3,1 3,5	1,6 3,2	4,2 3,6		2,0 3,6	2,3 2,0	1,8 1,9	2,0 3,5
příklad 41		0,200 (n = 1)			1,7*	1,6*		1,7*	1,1*	0,9*	1,5*	1,1*

10.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMSI14	PC3	DUI45
příklad 12	 0,220 (n = 1)	0,3 0,2		6,0* 6,0*	8,7* 9,4*	11* 12*		6,4* 6,2*	13* 13*	15* 11*	7,9* 6,1*	10* 10*
příklad 37	 0,240 (n = 1)	7		24* 14*	19* 16*	19* 14*		18* 11*	13* 8,3*	9,7* 8,0*	11* 13*	>20* 10*
příklad 35	 0,253	87		4,2* 5,6*	9,5* 8,0*	5,6* 5,4*		3,4* 3,2*	2,7* 2,5*	3,0* 2,7*	3,0* 4,4*	3,7* 3,2*
příklad 23	 0,270	4										
příklad 20	 0,33 0,310 0,460	2,4		2,7* 1,9*	2,3* 1,8*	1,9* 1,7*		1,9* 1,4*	1,7* 1,0*	1,1* 0,95*	1,7* 1,8*	2,4* 1,9*

10.10.00

	cdk2	cdk4	MCF-7	231	435	HT-29	HCT-15	Colo205	A549	DMS114	PC3	DUI45
příklad 19	 0,350 (n = 1)	0,05 0,1		1,9* 1,7*	2,7* 2,3*	2,7* 2,0*		1,3* 1,4*	9,9* 2,6*	2,7* 2,9*	1,2* 1,5*	6,4* 6,1*
příklad 42	 0,420	29		16 17		15 14	18 18		7,1 14	10 5,1	8,8 7,1	7,3 14
příklad 27	 0,440	17	6,2 13	7,0 13		16 13	18 15		8,4 11	9,5 6,8	8,7	7,2 11
příklad22	 0,520	24	14	8,6 14		16 12	17 15		8,0 14	9,0 9,0	12 5,9	7,5 11

[illegible]

	DUI45	PC3	DMSI14	A549	Colo205	HCT-15	HT-29	435	MCF-7	cdk4	cdk2		
příklad 6 											2,60		
příklad 4 										>100	5,10		

P ř í k l a d 62

Testy *in vivo*

Test užívající implantát pod ledvinné pouzdro

Nahé myši byly umístěny v mikroizolátorech s přetlakem vzduchu. Chirurgické výkony a podávání dávek léků se provádělo v boxu s laminárním prouděním vzduchu.

Test používající implantát pod ledvinné pouzdro se prováděl se provedl stejným způsobem jako je uvedeno v práci autorů Bogden, A.E., Kelton, D.E., Cobb, W.R. a Esber, H.J.

(A rapid screening method for testing chemotherapeutic agents against human tumor xenografts; v Houchens, D.P. a Ovejera, A.A. (vydavatelé) Proceedings of the Symposium on the Use of Athymic (Nude) Mice in Cancer Research, s. 231-250. New York: Gustav Fischer New York, Inc., 1978).

V krátkosti shrnuto, nádory o velikosti 400 až 500 mm³ odebrané z myší, na kterých byly udržovány, byly nařezány na segmenty o velikosti 1 mm³, přičemž velikost byla kontrolována pomocí okulárového mikrometru operačního mikroskopu. Poté, co byla ledvina vyjmuta z dutiny břišní, byly segmenty nádoru implantovány pod ledvinné pouzdro samců nahých myší (starých 6 až 8 týdnů) pomocí trokaru 13 Ga. Po implantaci se změřily největší a nejmenší průměr segmentu nádoru pomocí okulárového mikrometru operačního mikroskopu. Ledvina byla vrácena zpět do tělesné dutiny a incize v břišní stěně byla uzavřena hedvábnými šitím a kožní řez byl uzavřen svorkami na rány. Podávání léků začalo v den následující po implantaci a pokračovalo 12 dnů, kdy byly ledviny opět vyjmuty z dutiny břišní a měřila se velikost nádorů stejným způsobem, jak je popsán výše. Objem nádoru se vypočítával ze vzorce $V = \text{délka} \times \text{šířka}^2 / 2$, jak je popsáno v práci autorů Houchens, D.P., Ovejera, A.A. a Barker, A.D.

(The therapy of human tumors in athymic (nude) mice;
v Houchens, D.P. a Ovejera, A.A. (vydavatelé) Proceedings of
the Symposium on the Use of Athymic (Nude) Mice in Cancer
Research, s. 267-280. New York: Gustav Fischer New York,
Inc., 1978). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.

T A B U L K A 2

Inhibice růstu nádoru lidské prostaty PC-3 na nahých myších
(pokus č. 1, test používající implantát pod ledvinné
pouzdro).

Pokus č. 1		V/V_0 , mm ³ (průměr ± střední odchylka)	%T/C ^b
Bez léčby		4,4 ± 0,8 ^a	100
Příklad 1	1 mg/kg i.p. denně	4,8 ± 3,1 ^a	109
	3 mg/kg i.p. denně	2,0 ± 1,0 ^a	44

^a V/V_0 = objem v 0. den/objem ve 12. den,

^b % T/C = (průměrný objem u léčených zvířat ve 12. den/
průměrný objem u kontrolních zvířat ve 12. den) x 100

Dr Miloš Všecký

Za správnost

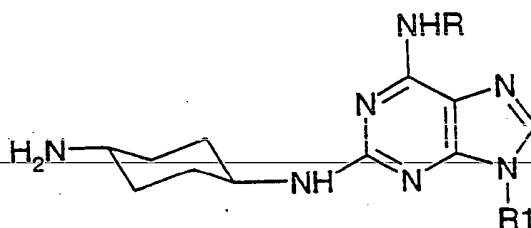


JUDr. MILOŠ VŠETEČKA
advokát
120 00 PRAHA 2, Májkova 2.

1000-3106

PATENTOVÉ NÁROKY

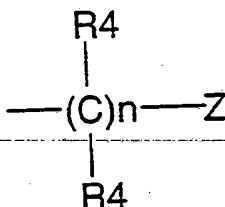
1. Sloučenina obecného vzorce



ve kterém:

R je vybrán ze skupiny zahrnující R2, R2NH- a H2N-R3-,
ve kterých:

R2 je vybrán ze skupiny zahrnující alkylovou
skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a skupinu obecného
vzorce



ve kterém :

Z je vybrán ze souboru zahrnujícího fenylovou skupinu,
heterocyklickou skupinu a cykloalkylovou skupinu,

R4 každý jednotlivě znamená navzájem na sobě nezávisle
atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy
uhlíku, a

n je celé číslo 1 až 8,

příčemž každá z uvedených alkylových skupin

obsahujících 1 až 8 atomů uhlíku a Z je případně substituována jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R3 představuje alkylenovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, a

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu,

a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

2. Sloučenina podle nároku 1, ve které

R znamená R2, přičemž

R2 znamená alkylovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku;

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

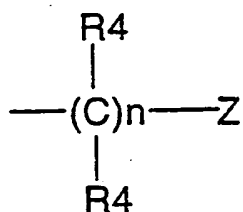
3. Sloučenina podle nároku 2, kterou je
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(butylamino)-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(oktylamino)-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-

- (3-methyl-4-hydroxy)butyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(5-
 -hydroxy-1,5-dimethylhexyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[5-
 -(hydroxy)pentylamino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-
 -hydroxypropyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -(pentylamino)-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-(trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -(methylamino)-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -(ethylamino)-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(3-methylbutyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(butyl)amino]-9-(2-propyl)purinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -(hexylamino)-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -(propylamino)-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[2,2,2-trifluorethylamino]-9-cyklopentylpurinu.

4. Sloučenina podle nároku 1, ve které:

R znamená R₂, přičemž

R₂ znamená skupinu



ve které:

Z znamená fenylovou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R₄ každý představuje navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo od 1 do 8,

R₁ je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

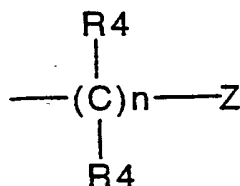
5. Sloučenina podle nároku 4, kterou je
dihydrochlorid (S)-2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-
-6-[(α -methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(3-jodbenzylamino)-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-chlor)benzylamino]-9-(2-propyl)purinu,
dihydrochlorid (R)-2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-
6-[(α -methylbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(2-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(4-fenylbutylamino)-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-

-[3-(fenyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(4-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(3-chlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(4-chlor-2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(2-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[2-(fenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu;
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(4-hydroxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu,
 sloučenina podle nároku 3, kterou je:
 trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -(benzylamino)-9-(2-propyl)purinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[benzylamino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(2,4-dichlorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(4-fluorbenzyl)amino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
 -[(3-jodbenzyl)amino]-9-(2-propyl)purinu.

6. Sloučenina podle nároku 1, ve které:

R je R2, přičemž

R2 znamená skupinu



ve které:

Z znamená heterocyklickou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R4 každý představuje navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo od 1 do 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

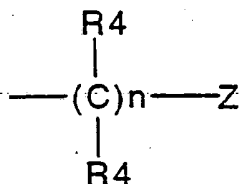
7. Sloučenina podle nároku 6, kterou je
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(3-indolyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-
-(3,4-methylenedioxyfenyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-
-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-
-pyridyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu,
trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[3-
-(4-morfolinyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-
-(2-pyridyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu,
trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-
-(4-morfolinyl)ethylamino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(2-
-thiofenmethylamino)-9-cyklopentylpurinu,

dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-benzimidazolyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(2-tetrahydropyranyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-pyridyl)-2-ethylamino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-(2-furanmethylamino)-9-cyklopentylpurinu,
 trihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(3-(2-imidazolyl)propyl)amino]-9-(2-propyl)purinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[3-(1-imidazolyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu,
 dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[3-(2-imidazolyl)propylamino]-9-cyklopentylpurinu.

8. Sloučenina podle nároku 1, ve které:

R je R₂, přičemž

R₂ znamená skupinu



ve které:

Z znamená cykloalkylovou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R₄ každý představuje navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo od 1 do 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

9. Sloučenina podle nároku 8, kterou je
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(cyklohexyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(cyklopropyl)methylamino]-9-(2-propyl)purinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[(cyklopropyl)methylamino]-9-cyklopentylpurinu.

10. Sloučenina podle nároku 1, ve které:

R znamená skupinu R₂NH-, přičemž

R₂ znamená alkylovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

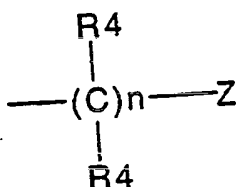
R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

11. Sloučenina podle nároku 10, kterou je
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-[2,2,2-trifluorethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu,
dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-
-(2-hydroxyethylhydrazino)-9-cyklopentylpurinu.

12. Sloučenina podle nároku 1, ve které:

R znamená skupinu R₂NH-, přičemž

R₂ znamená skupinu obecného vzorce:



ve kterém:

Z znamená fenylovou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R₄ každý představuje navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo od 1 do 8,

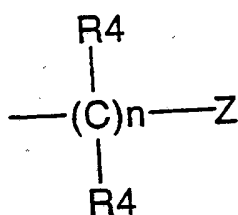
R₁ je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

13. Sloučenina podle nároku 12, kterou je Dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[2-fenethylhydrazino]-9-cyklopentylpurinu.

14. Sloučenina podle nároku 1, ve které:

R znamená skupinu R₂NH-, přičemž

R₂ znamená skupinu obecného vzorce:



ve kterém:

Z znamená heterocyklickou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být stejné nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R4 každý představuje navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

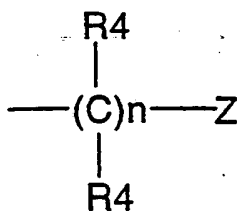
n je celé číslo od 1 do 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

15. Sloučenina podle nároku 1, ve které:

R znamená skupinu R₂NH-, přičemž

R₂ znamená skupinu obecného vzorce:



ve kterém:

Z znamená cykloalkylovou skupinu případně substituovanou jedním až třemi substituenty, které mohou být

stejně nebo rozdílné a které jsou vybrány ze souboru zahrnujícího Hal, OH a alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

R4 každý představuje navzájem na sobě nezávisle atom vodíku nebo alkylovou skupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo od 1 do 8,

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

16. Sloučenina podle nároku 15, ve které:

R znamená skupinu H_2N-R3- , ve které

R3 znamená alkylenovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, a

R1 je vybrán ze souboru zahrnujícího cyklopentylovou skupinu a isopropylovou skupinu, a farmaceuticky přijatelné soli, optické isomery a hydráty odvozené od těchto sloučenin.

17. Sloučenina podle nároku 16, kterou je dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(4-aminobutyl)amino]-9-cyklopentylpurinu, nebo dihydrochlorid 2-[trans-(4-aminocyklohexyl)amino]-6-[(8-aminooktyl)amino]-9-cyklopentylpurinu.

18. Způsob léčení hyperproliferativní poruchy u pacienta, vyznačující se tím, že se tomuto pacientovi podává sloučenina podle nároku 1.

19. Způsob podle nároku 18, vyznačující se tím, že

touto hyperproliferativní poruchou je stav neoplastického onemocnění.

20. Způsob podle nároku 18, vyznačující se tím, že tento stav neoplastického onemocnění je vybrán ze souboru zahrnujícího leukémii, karcinom, adenokarcinom, sarkom, melanom nebo smíšený typ novotvaru.

21. Způsob podle nároku 19, vyznačující se tím, že leukémie je vybrána ze souboru zahrnujícího akutní lymfolastickou leukémii, chronickou leukémii, akutní myeloblastovou leukémii a chronickou myelocytovou leukémii.

22. Způsob podle nároku 19, vyznačující se tím, že karcinom je vybrán ze souboru zahrnujícího karcinom čípku, prsou, prostaty, jícnu, žaludku, tenkého střeva, tlustého střeva, vaječníků a plic.

23. Způsob podle nároku 19, vyznačující se tím, že adenokarcinom je vybrán ze souboru zahrnujícího adenokarcinom čípku, prsou, prostaty, jícnu, žaludku, tenkého střeva, tlustého střeva, vaječníků a plic.

24. Způsob podle nároku 19, vyznačující se tím, že sarkom je vybrán ze souboru zahrnujícího esterom, osteosarkom, lipom, lipsarkom, hemangiom a hemangiosarkom.

25. Způsob podle nároku 19, vyznačující se tím, že melanom je vybrán ze souboru zahrnujícího amelanotický melanom a melanotický melanom.

26. Způsob podle nároku 19, vyznačující se tím, že smíšený typ novotvaru je vybrán ze souboru zahrnujícího

karcinosarkom, lymfoidní tkáňový typ, folikulární retikulum, buněčný sarkom a Hodgkinsova nemoc.

27. Způsob podle nároku 17, vyznačující se tím, že hyperproliferativní poruchou je stav neoplastického onemocnění.

28. Způsob prevence apoptozy v neuronálních buňkách u pacienta, vyznačující se tím, že se tomuto pacientovi podává sloučenina podle nároku 1.

29. Způsob podle nároku 27, vyznačující se tím, že apoptoza je vyvolána antineoplastickými činidly.

30. Způsob podle nároku 27, vyznačující se tím, že apoptoza je vyvolána cerebrovaskuálním onemocněním

31. Způsob podle nároku 27, vyznačující se tím, že apoptoza je vyvolána mrtvicí nebo infarktem.

32. Způsob ochrany neuronových buněk před apoptozou, vyznačující se tím, že se tomuto pacientovi podává sloučenina podle nároku 1.

33. Způsob ochrany neuronových buněk před poškozením vyvolaným antineoplastickými činidly vyznačující se tím, že se tomuto pacientovi podává sloučenina podle nároku 1.

34. Prostředek, vyznačující se tím, že obsahuje zjiitelné množství sloučeniny podle nároku 1 ve směsi nebo v jiném spojení s inertním nosičovým materiálem.

35. Farmaceutický prostředek, vyznačující se tím, že

obsahuje účinné cdk-2 inhibiční množství sloučeniny podle
nároku 1 ve směsi nebo v jiném spojení s jedním nebo více
farmaceuticky přijatelnými nosičovými materiály nebo
excipienty.

Zastupuje :

Dr. Miloš Všeťčka

Za správnost:

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Všeťčka', written over the printed name.