

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **021997**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2015.10.30

(21) Номер заявки
201100794

(22) Дата подачи заявки
2009.11.24

(51) Int. Cl. *C07D 239/47* (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 405/12 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)

**(54) ЗАМЕЩЕННЫЕ ПИРИМИДИНЫ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ЗАБОЛЕВАНИЙ, ТАКИХ КАК РАК**

(31) 08169807.8; 09169654.2

(32) 2008.11.24; 2009.09.07

(33) EP

(43) 2012.01.30

(86) PCT/EP2009/065768

(87) WO 2010/058032 2010.05.27

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:
**Штадтмюллер Хайнц, Сапоунтзис
Иоаннис (DE)**

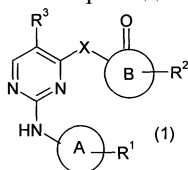
(74) Представитель:
**Веселицкая И.А., Пивницкая Н.Н.,
Кузенкова Н.В., Веселицкий М.Б.,
Каксис Р.А., Комарова О.М., Белоусов
Ю.В. (RU)**

(56) US-A1-2008255172
WO-A-0164655
WO-A-2006021457

(57) В изобретении приведено описание замещенных пиримидинов, выбранных из соединений, перечисленных в п.1 формулы изобретения, которые применимы для лечения заболеваний, характеризующихся чрезмерной или аномальной пролиферацией клеток, и их применение для приготовления лекарственного средства, обладающего указанными выше характеристиками.

B1**021997****021997****B1**

Настоящее изобретение относится к новым пиримидинам общей формулы (1)



в которой конкретные значения группы A, B, X, R¹-R³ указаны в формуле изобретения и в описании, к их фармакологически приемлемым солям присоединения с кислотой и к их применению в качестве лекарственных средств.

Уровень техники

Для опухолевых клеток, которые приобретают способность к инвазии и метастазированию, необходимы определенные сигналы жизнеспособности. Эти сигналы позволяют им преодолеть определенные механизмы апоптоза (аноикис), которые, в частности, приводят к утрате адгезии клеток. В этом процессе киназа фокальной адгезии (FAK/PTK2) является одной из необходимых сигнальных молекул, которая, с одной стороны, регулирует взаимодействия клетка - матрица с помощью так называемой "фокальной адгезии" и, с другой стороны, придает устойчивость к аноикису. Нарушение этих механизмов с помощью ингибирования PTK2 может привести к апоптотической гибели опухолевых клеток и ограничить инвазивный и метастазирующий рост опухолей. Кроме того, киназа фокальной адгезии оказывает значительное влияние на рост, миграцию и жизнеспособность связанных с опухолью эндотелиальных клеток. Поэтому антиангиогенную активность также можно обеспечить с помощью ингибирования PTK2.

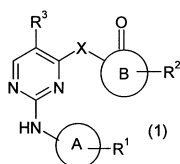
Общеизвестно, что пиримидины являются ингибиторами киназ. Так, например, в заявке на международный патент WO 2008/038011 пиримидины описаны как ингибиторы киназы Auroга, эти пиримидины содержат в качестве заместителей оксиметилпиперидиновую группу в положении 4 и фтор в положении 5.

Задачей настоящего изобретения является выявление новых активных веществ, которые можно использовать для предупреждения и/или лечения заболеваний, характеризующихся чрезмерной или аномальной пролиферацией клеток.

Подробное описание изобретения

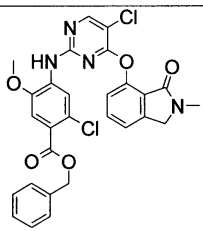
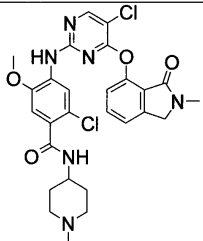
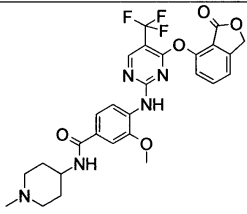
Согласно изобретению неожиданно было установлено, что соединения общей формулы (1), в которой конкретные значения группы A, B, X, R¹-R³ имеют приведенные ниже значения, действуют в качестве ингибиторов специфических тирозинкиназ. Таким образом, соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно использовать, например, для лечения заболеваний, связанных с активностью специфических тирозинкиназ и характеризующихся чрезмерной или аномальной пролиферацией клеток.

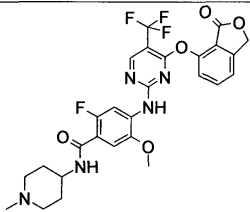
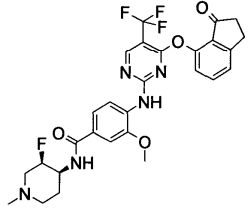
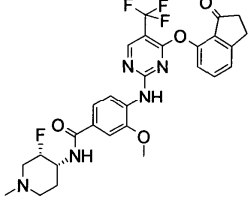
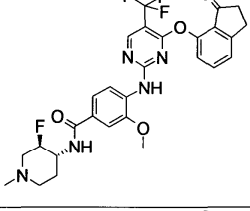
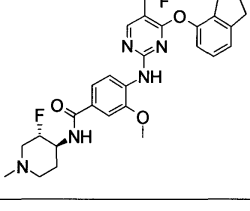
Настоящее изобретение относится к соединениям общей формулы (1)



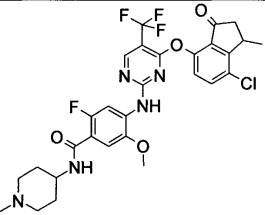
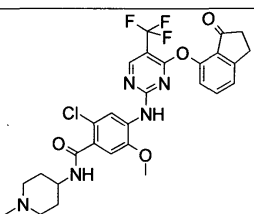
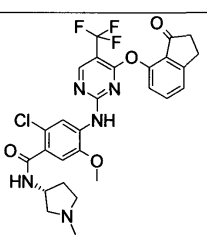
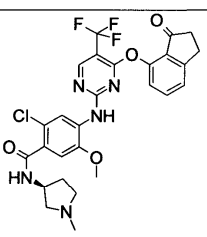
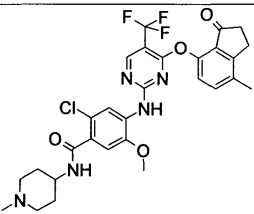
а именно, конкретно к соединениям или их фармакологически приемлемым солям присоединения с кислотой, выбранным из группы, включающей следующее.

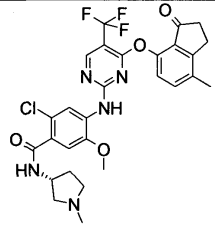
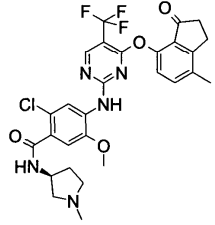
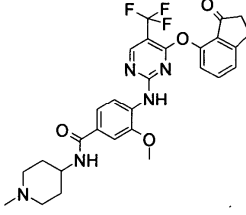
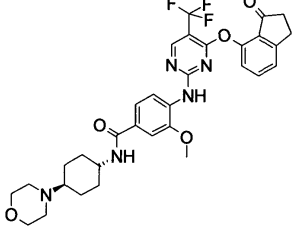
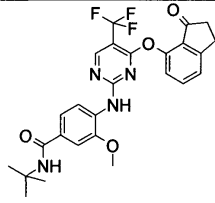
Таблица 1

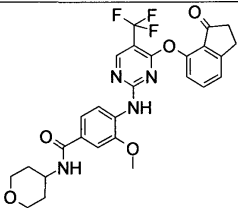
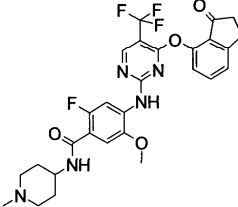
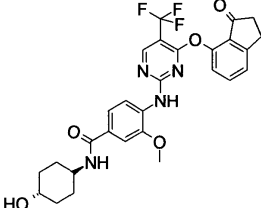
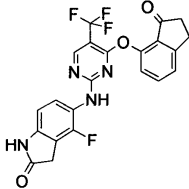
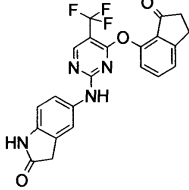
1	
2	
3	

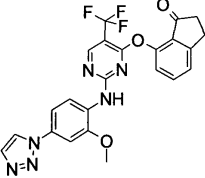
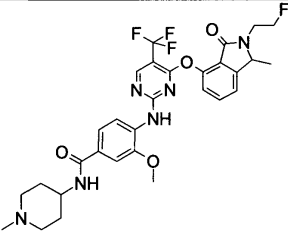
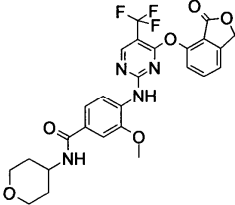
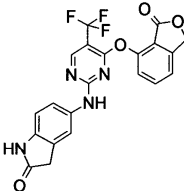
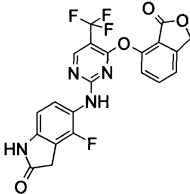
4	
5	
6	
7	
8	

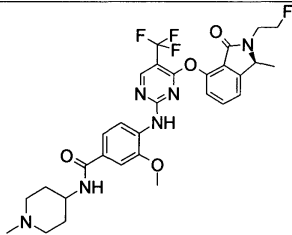
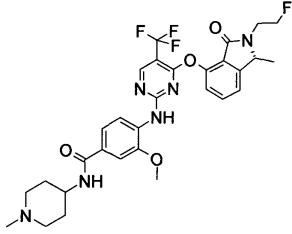
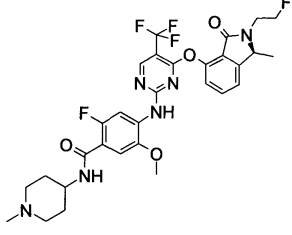
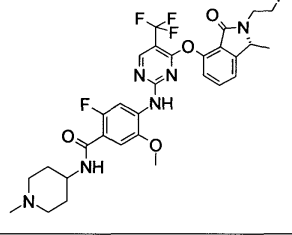
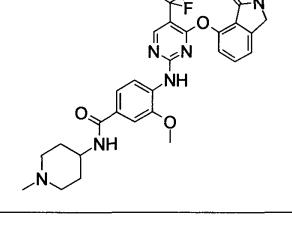
9	
10	
11	
12	
13	

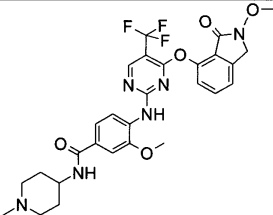
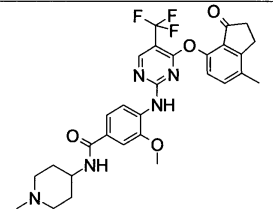
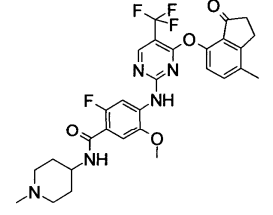
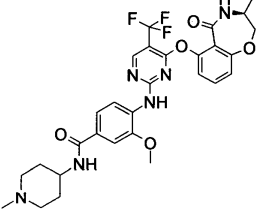
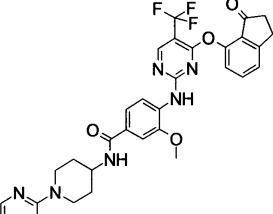
14	
15	
16	
17	
18	

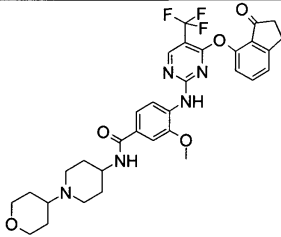
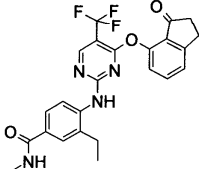
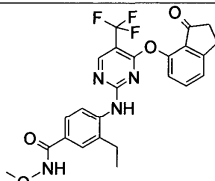
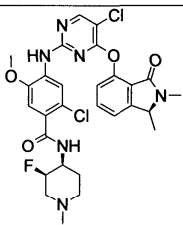
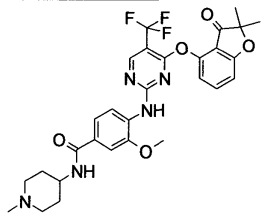
19	
20	
21	
22	
23	

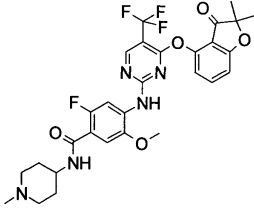
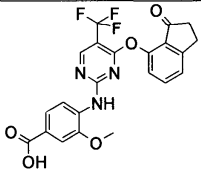
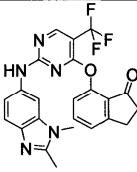
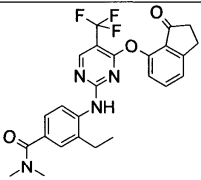
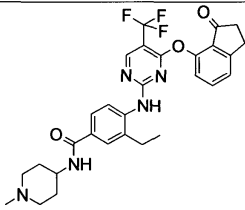
24	
25	
26	
27	
28	

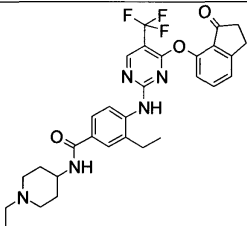
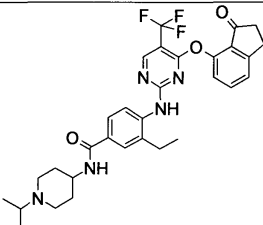
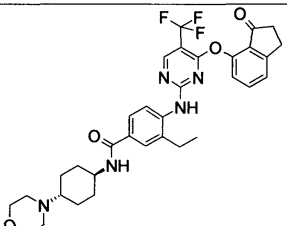
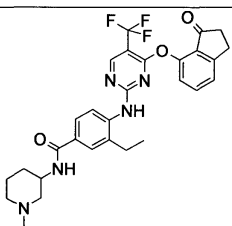
29	
30	
31	
32	
33	

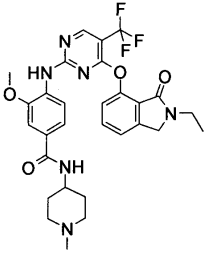
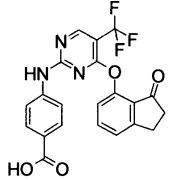
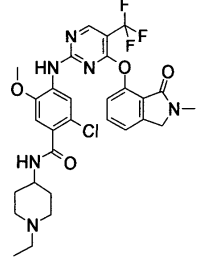
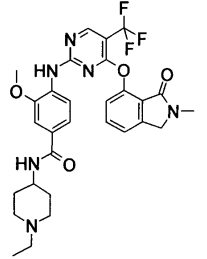
34	
35	
36	
37	
38	

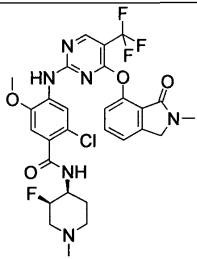
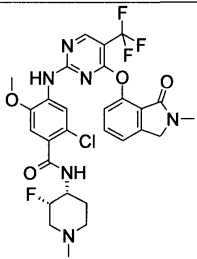
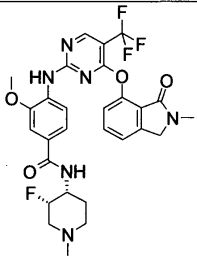
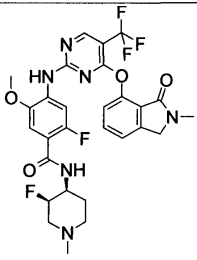
39	
40	
41	
42	
43	

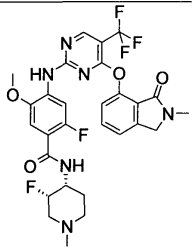
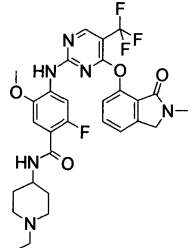
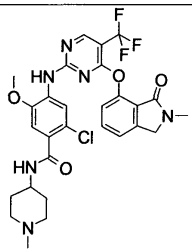
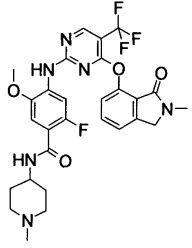
44	
45	
46	
47	
48	

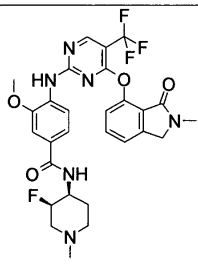
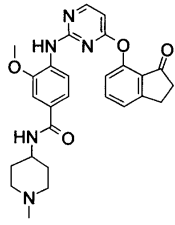
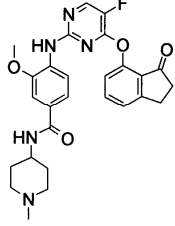
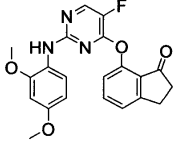
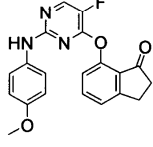
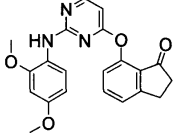
49	
50	
51	
52	
53	

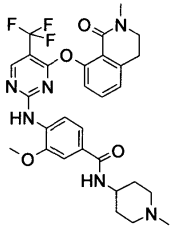
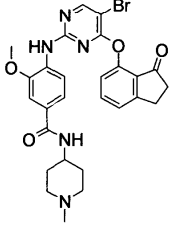
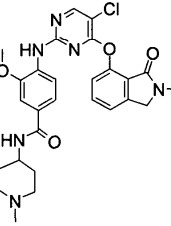
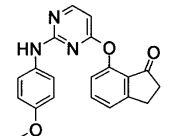
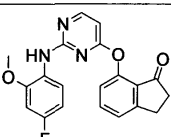
54	
55	
56	
57	

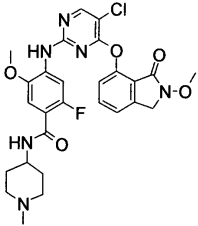
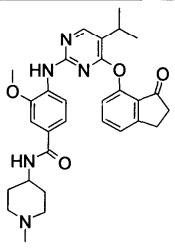
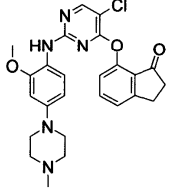
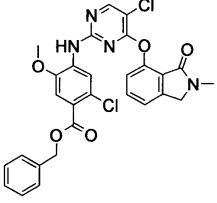
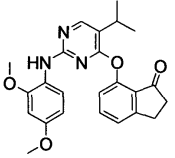
58	
59	
60	
61	

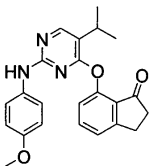
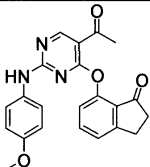
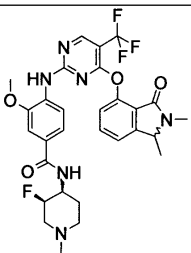
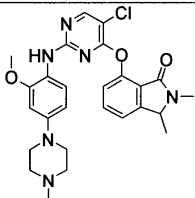
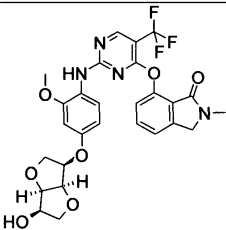
62	
63	
64	
65	

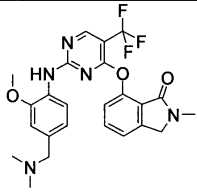
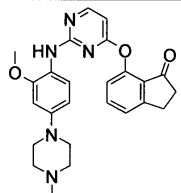
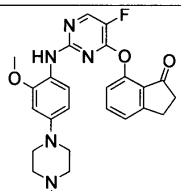
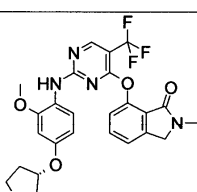
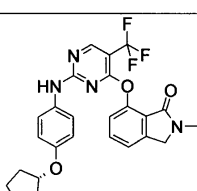
66	
67	
68	
69	

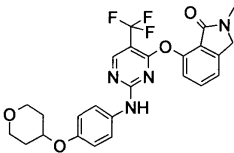
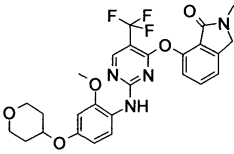
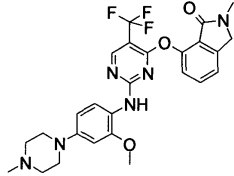
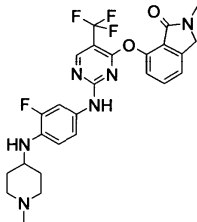
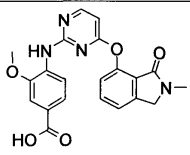
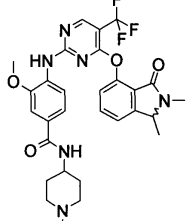
70	
71	
72	
73	
74	
75	

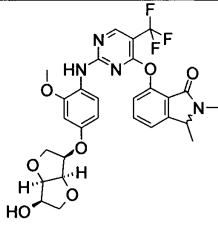
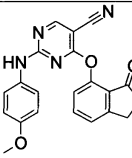
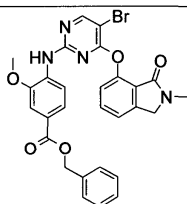
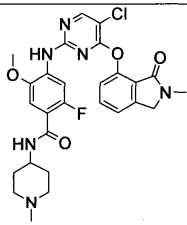
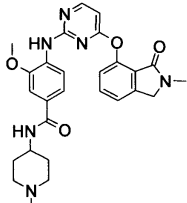
76	
77	
78	
79	
80	

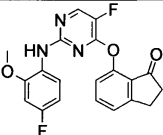
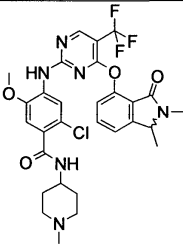
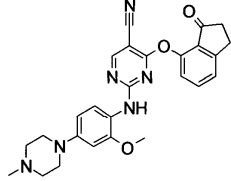
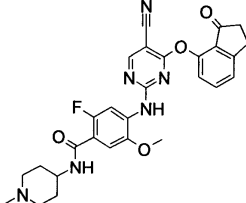
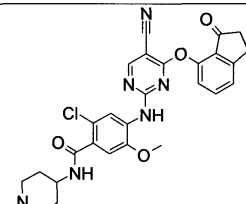
81	
82	
83	
84	
85	

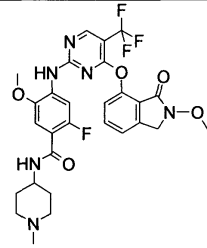
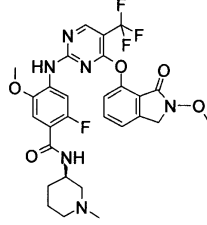
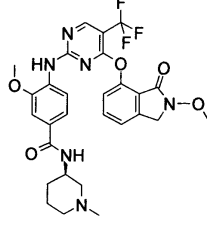
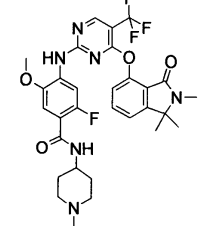
86	
87	
88	
89	
91	

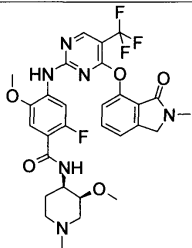
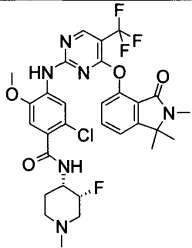
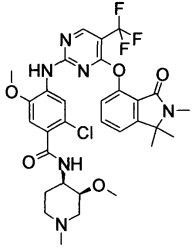
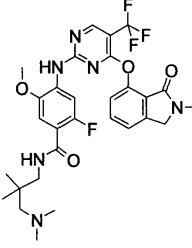
93	
94	
95	
96	
97	
98	

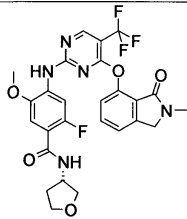
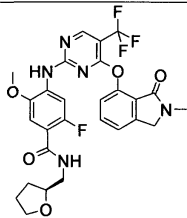
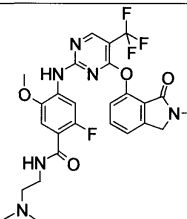
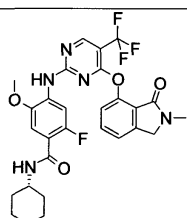
99	
100	
101	
102	
103	
104	

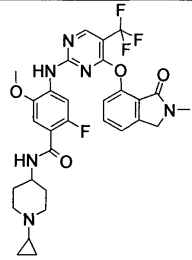
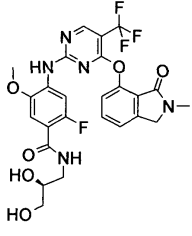
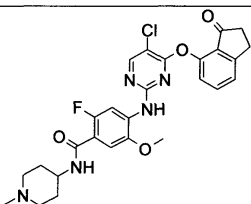
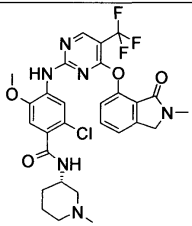
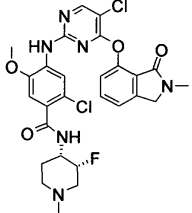
105	
106	
107	
108	
109	

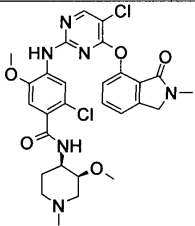
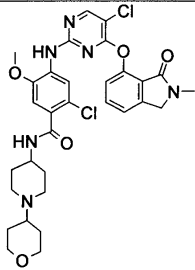
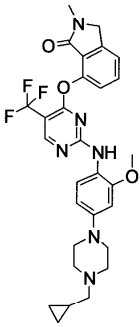
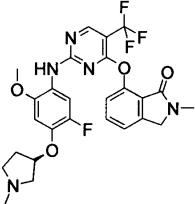
110	
111	
112	
113	
114	

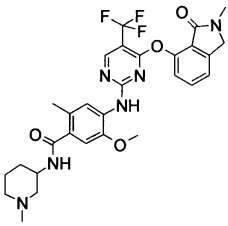
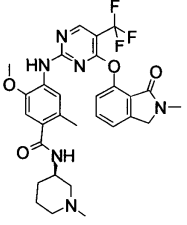
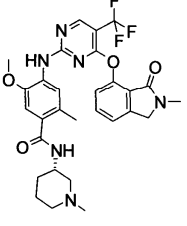
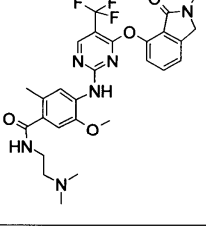
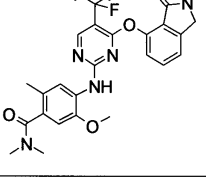
115	
116	
117	
118	

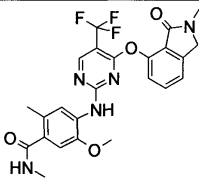
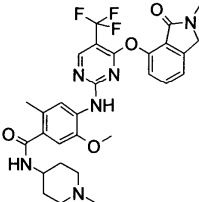
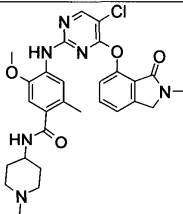
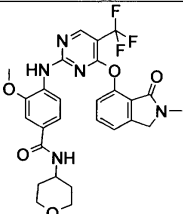
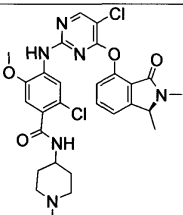
119	
120	
121	
122	

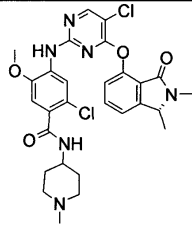
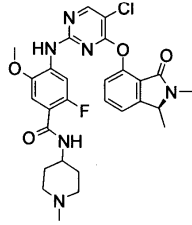
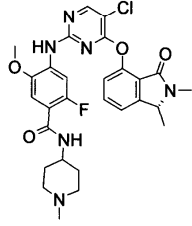
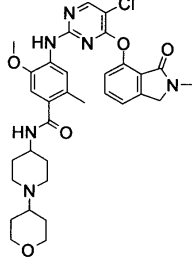
123	
124	
125	
126	

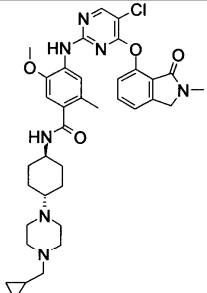
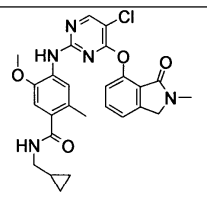
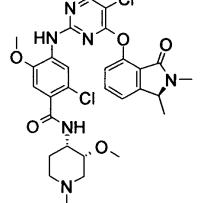
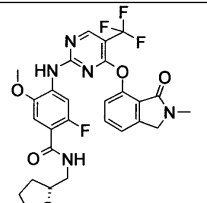
127	
128	
129	
130	
131	

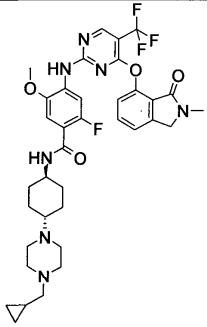
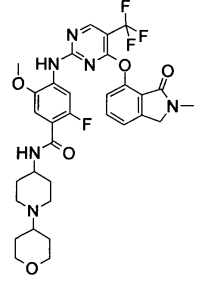
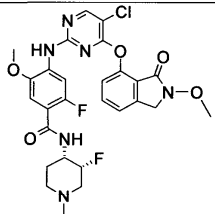
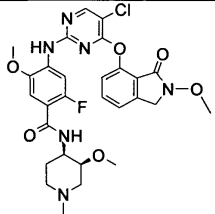
132	
133	
134	
135	

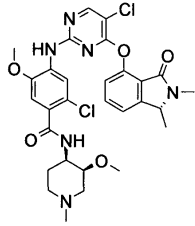
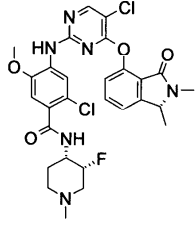
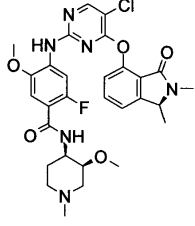
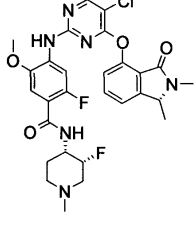
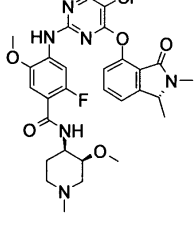
136	
137	
138	
139	
140	

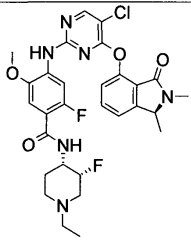
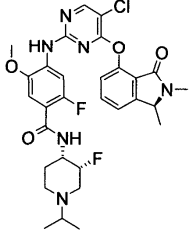
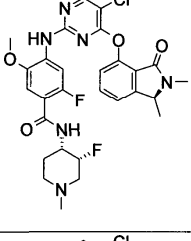
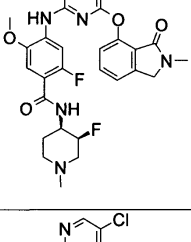
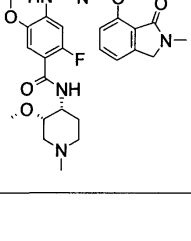
141	
142	
143	
144	
145	

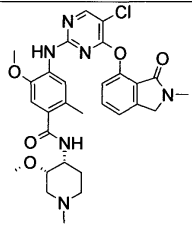
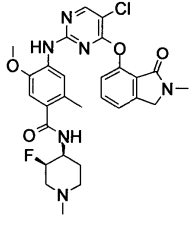
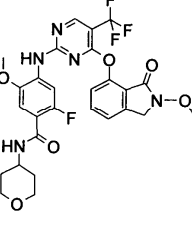
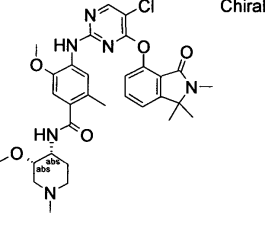
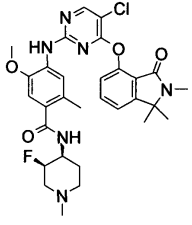
146	
147	
148	
149	

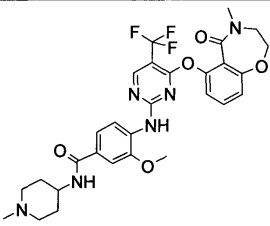
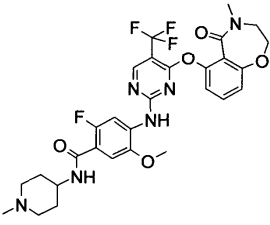
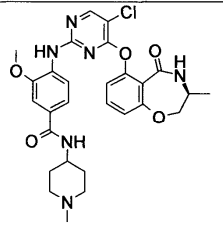
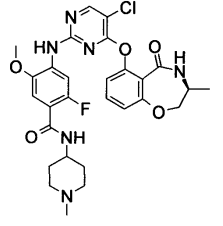
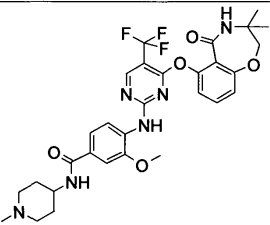
150	
151	
152	
153	

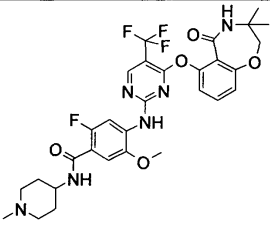
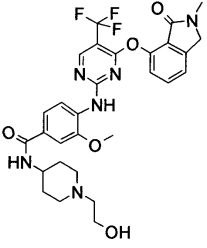
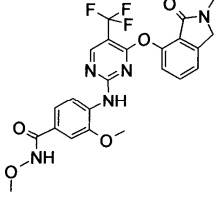
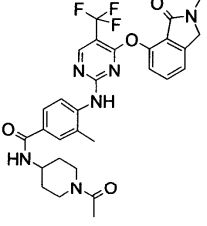
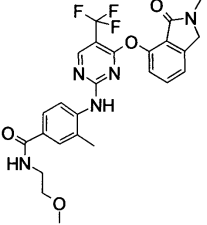
154	
155	
157	
158	

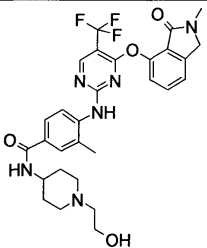
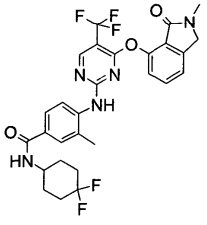
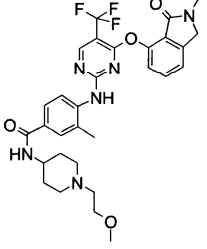
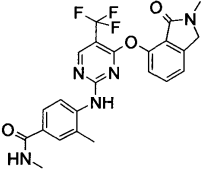
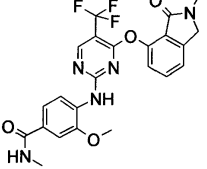
159	
160	
161	
162	
163	

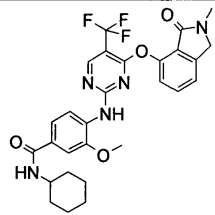
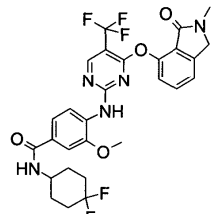
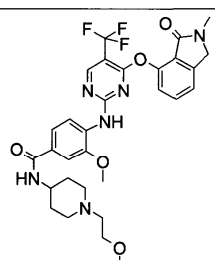
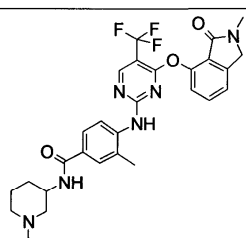
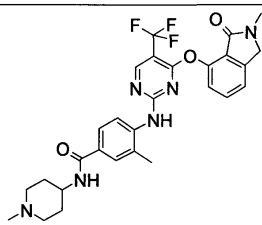
164	
165	
166	
167	
168	

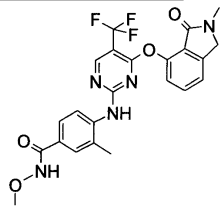
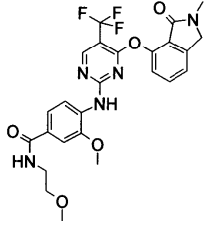
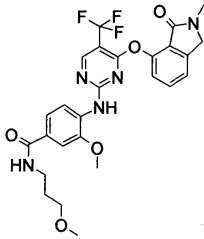
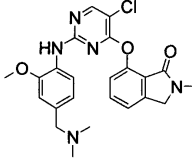
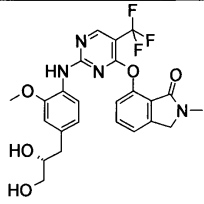
169	
170	
171	
172	
173	

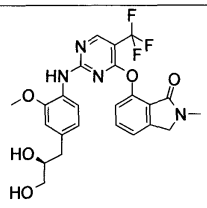
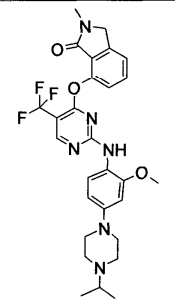
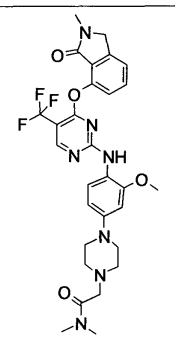
174	
175	
176	
177	
178	

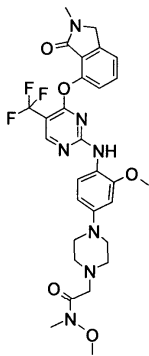
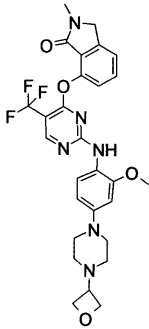
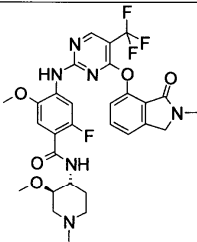
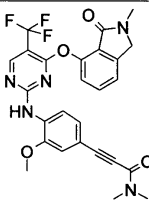
179	
180	
181	
182	
183	

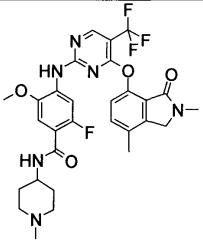
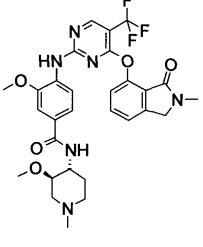
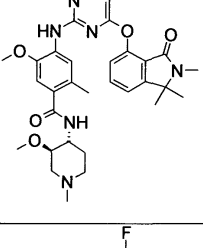
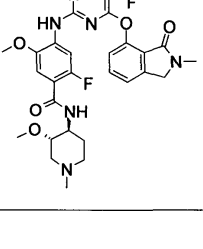
184	 <chem>CN1CCN(CC1)C(=O)c2ccc(N)cc2C(=O)Nc3nc(C(F)(F)F)c(Oc4cnc(C)cc4)c3</chem>
185	 <chem>CN1CCN(CC1)C(=O)c2ccc(N)cc2C(=O)Nc3nc(C(F)(F)F)c(Oc4cnc(C)cc4)c3</chem>
186	 <chem>CN1CCN(CC1)C(=O)c2ccc(N)cc2C(=O)Nc3nc(C(F)(F)F)c(Oc4cnc(C)cc4)c3</chem>
187	 <chem>CN1CCN(CC1)C(=O)c2ccc(N)cc2C(=O)Nc3nc(C(F)(F)F)c(Oc4cnc(C)cc4)c3</chem>
188	 <chem>CN1CCN(CC1)C(=O)c2ccc(N)cc2C(=O)Nc3nc(C(F)(F)F)c(Oc4cnc(C)cc4)c3</chem>

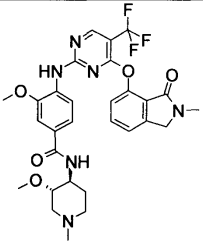
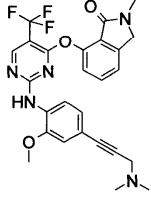
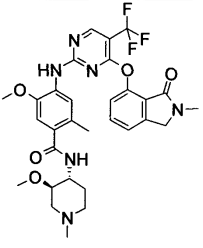
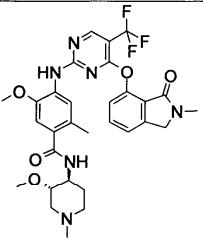
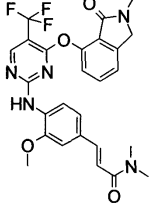
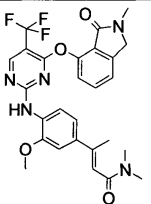
189	
190	
191	
192	
193	

194	
195	
196	
197	
198	

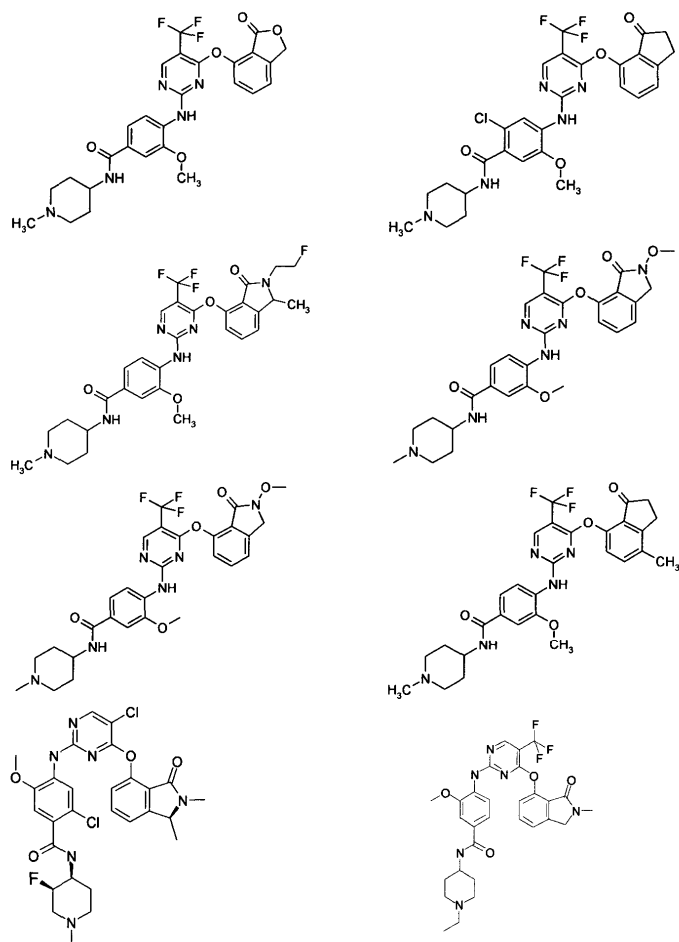
199	
200	
201	

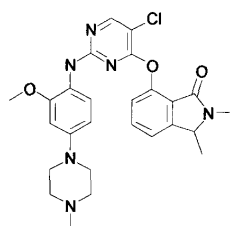
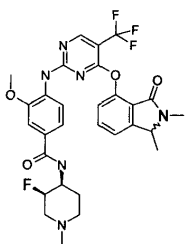
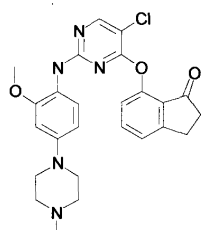
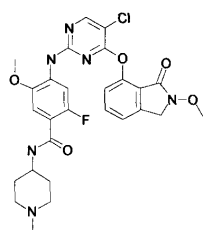
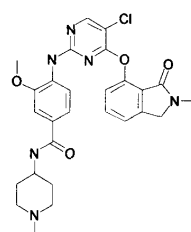
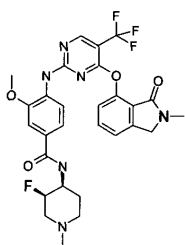
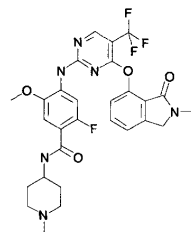
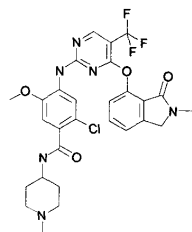
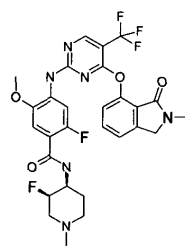
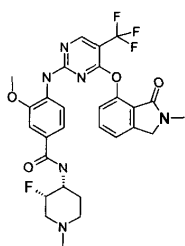
202	
203	
204	
205	

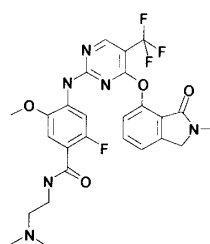
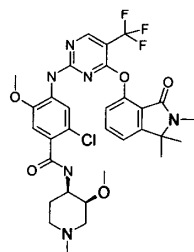
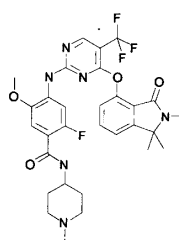
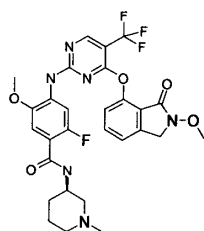
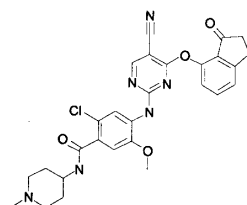
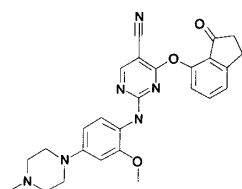
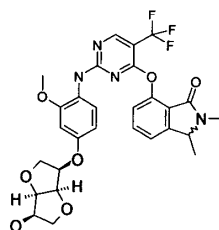
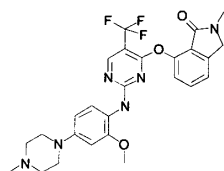
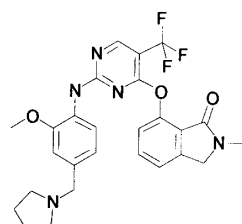
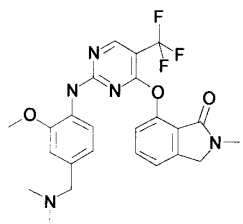
206	
207	
208	
209	

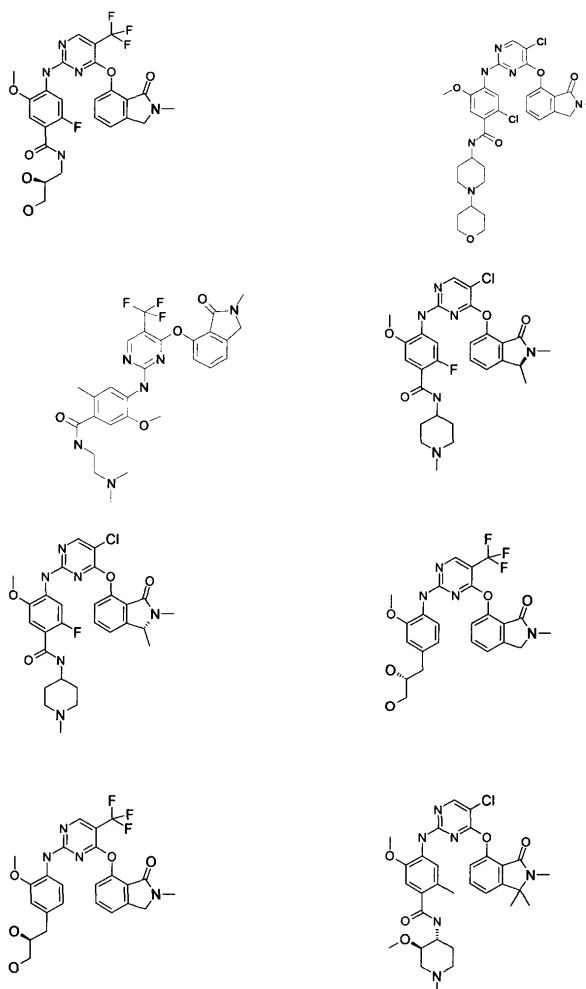
210	
211	
212	
213	
214	
215	

Другим объектом настоящего изобретения является соединение, выбранное из группы, включающей:









Другим объектом настоящего изобретения является применение указанных выше соединений или их фармацевтически эффективных солей в качестве лекарственных средств.

Другим объектом настоящего изобретения является применение указанных выше соединений или их фармацевтически эффективных солей для приготовления лекарственного средства, обладающего антипролиферативной или проапоптотической активностью.

Другим объектом настоящего изобретения является фармацевтический препарат, содержащий в качестве активного вещества одно или более из указанных выше соединений или их физиологически приемлемых солей, необязательно в комбинации с обычными инертными наполнителями и/или носителями.

Другим объектом настоящего изобретения является применение указанных выше соединений для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения и/или предупреждения рака, инфекционных, воспалительных или аутоиммунных заболеваний.

Определения.

При использовании в настоящем изобретении используются следующие определения, если не указано иное.

"Пролекарство" означает активное вещество в форме предшественника его метаболита. Можно проводить различие между частично многокомпонентными системами носитель-пролекарство и подвергающимися биологическому превращению системами. Последние содержат активное вещество в форме, для которой необходимо химическое изменение или биологический метаболизм. Специалист в данной области техники должен быть знаком с системами пролекарств этого типа (Sloan, Kenneth B.; Wasdo, Scott C. The role of prodrugs in penetration enhancement. Percutaneous Penetration Enhancers (2nd Edition) (2006), 51-64; Lloyd, Andrew W. Prodrugs. Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action (4th Edition) (2006), 211-232; Neervannan, Seshadri. Strategies to impact solubility and dissolution rate during drug lead optimization: salt selection and prodrug design approaches. American Pharmaceutical Review (2004), 7(5), 108, 110-113). Подходящее пролекарство содержит, например, соединение общих формул, которое с помощью ферментативно расщепляющегося мостика (например, карбаматной, фосфатной, N-гликозидной или дисульфидной группы) связано с веществом, улучшающим растворимость (например, тетраэтиленгликолем, сахаридом, аминокислотами). Системы носитель-пролекарство содер-

жат само активное соединение, связанное с маскирующей группой, которую можно отщепить с помощью простейшего возможного регулируемого механизма. Задачей маскирующих групп, предлагаемых в настоящем изобретении, в соединениях, предлагаемых в настоящем изобретении, является нейтрализация заряда для улучшения проникновения в клетку. Если соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, используются с маскирующей группой, они могут дополнительно влиять на другие фармакологические параметры, такие как, например, пероральная биологическая доступность, распределение в ткани, фармакокинетика и стабильность по отношению к неспецифическим фосфатазам. Задержанное высвобождение активного вещества также может включать эффект пролонгированного высвобождения. Кроме того, может происходить модифицированный метаболизм, что приводит к большей эффективности активного вещества или согласованной специфичности. В случае композиции пролекарства маскирующая группа или мостик, который связывает маскирующую группу с активным веществом, выбирают так, чтобы пролекарство было достаточно гидрофильным для растворения в сыворотке крови, обладало достаточной химической и ферментативной стабильностью, чтобы взаимодействовать с активным центром, а также достаточно гидрофобным, чтобы оно подходило для контролируемого диффузией переноса через мембрану. Кроме того, оно должно обеспечивать химически и ферментативно индуцируемое высвобождение активного вещества за разумный период времени, и высвобождающиеся вспомогательные компоненты обязательно должны быть нетоксичными. Однако в объеме настоящего изобретения соединение без маски или мостика и с маской можно рассматривать в качестве пролекарства, которое прежде всего должно быть образовано в клетке из перорально введенного соединения с помощью ферментативных и биохимических процессов.

Список аббревиатур:

Ac	ацетил
Bn	бензил
Boc	трет-бутоксикарбонил
Bu	бутил
cHex	циклогексан
TСХ	тонкослойная хроматография
ДХМ	дихлорметан
ДЭА	диэтиламин
ДИПЭА	N-этил-N,N-диизопропиламин (основание Хюнинга)
ДМФ	N,N-диметилформамид
ДМСО	диметилсульфоксид
ИЭР	ионизация электрораспылением
Et	этил
EtOH	этанол
ч	часы
НАТУ	O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N',N'-тетраметилуридийтетрафторфосфат
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
i	изо
ИК	инфракрасная спектроскопия
ЖХ	жидкостная хроматография
Me	метил
MeOH	метанол
мин	минута (минуты)
ЖХСД	жидкостная хроматография среднего давления
МС	масс-спектрометрия
NMP	N-метилпирролидон
НФ	нормальная фаза
Pd ₂ dba ₃	трис(дибензилиденацетон)дипалладий(0)
Ph	фенил
Pr	пропил
Pu	пиридин
рац	рацемический
R _f (Rf)	коэффициент удерживания

ОФ	обращенная фаза
КТ	температура окружающей среды
ТВТУ	O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурионийтетрафторборат
трет	третичный
ТФК	трифторуксусная кислота
ТГФ	тетрагидрофуран
t_{Ret}	время удерживания (ВЭЖХ)
УФ	ультрафиолетовое излучение
X-Phos	2-дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил

Особенности и преимущества настоящего изобретения будут понятны из приведенных ниже подробно описанных примеров, которые иллюстрируют основные положения настоящего изобретения в качестве примеров, не ограничивая объем настоящего изобретения.

Получение соединений, предлагаемых в настоящем изобретении.

Общие положения.

Если не указано иное, то все реакции проводят в имеющейся в продаже аппаратуре по методикам, обычно используемым в химических лабораториях.

Исходные вещества, чувствительные к воздействию воздуха и/или влаги, хранят в атмосфере защитного газа и соответствующие реакции и операции с их использованием проводят в атмосфере защитного газа (азота или аргона).

Реакции с помощью микроволнового излучения проводят в инициаторе/реакторе, выпускающемся фирмой Biotage, или в реакторе Explorer, выпускающемся фирмой CEM, в герметизированных сосудах (объемом, предпочтительно равным 2, 5 или 20 мл), предпочтительно при перемешивании.

Хроматография.

Для препаративной хроматографии среднего давления (ЖХСД, нормальная фаза) используют силикагель, выпускающийся фирмой Millipore (название: Granula Silica Si-60A 35-70 мкм) или C-18 ОФ-силикагель (ОФ фаза), выпускающийся фирмой Macherey Nagel (название: Polyoprep 100-50 C18).

Тонкослойную хроматографию проводят с использованием готовых стеклянных пластин с силикагелем 60 ТСХ (с флуоресцентным индикатором F-254), выпускающихся фирмой Merck.

Препаративную высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) проводят с использованием колонок, выпускающихся фирмами Waters (названия: XTerra Prep. MS C18, 5 мкм, 30×100 мм или XTerra Prep. MS C18, 5 мкм, 50×100 мм OBD, или Symmetrie C18, 5 мкм, 19×100 мм, или Sunfire C18 OBD, 19×100 мм, 5 мкм, или Sunfire Prep C 10 мкм OBD 50×150 мм, или X-Bridge Prep C18, 5 мкм OBD 19×50 мм), Agilent (название: Zorbax SB-C18, 5 мкм PrepHT 21,2×50 мм) и Phenomenex (названия: Gemini C18, 5 мкм AXIA 21,2×50 мм или Gemini C18, 10 мкм 50×150 мм), аналитическую ВЭЖХ (слежение за протеканием реакции) проводят с использованием колонок, выпускающихся фирмами Agilent (названия: Zorbax SB-C8, 5 мкм, 21,2×50 мм или Zorbax SB-C8, 3,5 мкм, 2,1×50 мм) и Phenomenex (название: Gemini C18, 3 мкм, 2×30 мм).

ВЭЖХ-масс-спектрометрия/УФ-спектроскопия.

Времена удерживания в МС-ИЭР⁺ для характеристики соединений, приведенных в примерах, определяют с помощью прибора ВЭЖХ-МС (аппарат для высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектором по массе), выпускающегося фирмой Agilent. Время удерживания соединений, которые элюируются при пике инъектирования, $t_{Ret}=0,00$.

Методика А.

Колонка: Waters, Xterra MS C18, 2,5 мкм, 2,1×30 мм, Part.No. 186000592

Элюент: А: H₂O с 0,1% HCOOH; В: ацетонитрил (чистота для ВЭЖХ)

Детектирование: МС: в режиме положительных или отрицательных ионов

Диапазон масс: 120 – 900 m/z

Фрагментация: 120

Усиление EMV: 1; пороговое значение: 150; размер шага: 0,25; УФ: 254
нм; полоса пропускания: 1

Инжектирование: инжектируемый объем 5 мкл

Разделение: скорость потока 1,10 мл/мин

Температура колонки: 40°C

Градиентный режим: 0,00 мин: 5% растворителя В

0,00 – 2,50 мин: 5% → 95% растворителя В

2,50 – 2,80 мин: 95% растворителя В

2,81 – 3,10 мин: 95% → 5% растворителя В

Методика В.

Колонка: Waters, Xterra MS C18, 2,5 мкм, 2,1×50 мм, Part.No. 186000594

Элюент: А: H₂O с 0,1% HCOOH; В: ацетонитрил с 0,1% HCOOH

Детектирование: МС: в режиме положительных или отрицательных ионов

Диапазон масс: 100 – 1200 m/z

Фрагментация: 70

Усиление EMV: пороговое значение: 1 милли-ат. ед.; размер шага: 2 нм; УФ: 254 нм, а также 230 нм

Инжектирование: обычно 1 мкл

Скорость потока: 0,6 мл/мин

Температура колонки: 35°C

Градиентный режим: 0,00 мин: 5% растворителя В

0,00 – 2,50 мин: 5% → 95% растворителя В

2,50 – 4,00 мин: 95% растворителя В

4,00 – 4,50 мин: 95% → 5% растворителя В

4,50 – 6,00 мин: 95% растворителя А

Методика С.

Колонка: Waters, X-Bridge C18, 3,5 мкм, 2,1×50 мм,
 Элюент: А: H₂O с 10 мМ NH₃; В: ацетонитрил с 10 нМ NH₃
 Детектирование: МС: в режиме положительных или отрицательных ионов
 Диапазон масс: 100 – 800 m/z
 Фрагментация: 70
 Усиление EMV: пороговое значение: 1 милли-ат. ед.; размер шага: 2 нм; УФ:
 220-320 нм
 Инжектирование: обычно 1 мкл
 Скорость потока: 0,8 мл/мин
 Температура колонки: 25°C
 Градиентный режим: 0,00 мин: 2% растворителя В
 0,00 – 4,00 мин: 2% → 98% растворителя В
 4,00 – 6,00 мин: 98% растворителя В

Методика D.

Колонка: Waters, X-Bridge C18, 3,5 мкм, 2,1×50 мм,
 Элюент: А: H₂O с 0,1% HCOOH; В: ацетонитрил с 0,1% HCOOH
 Детектирование: МС: в режиме положительных или отрицательных ионов
 Диапазон масс: 100 – 800 m/z
 Фрагментация: 70
 Усиление EMV: пороговое значение: 1 милли-ат. ед.; размер шага: 2 нм; УФ:
 220-320 нм
 Инжектирование: обычно 1 мкл
 Скорость потока: 0,8 мл/мин
 Температура колонки: 35°C
 Градиентный режим: 0,00 мин: 2% растворителя В
 0,00 – 4,00 мин: 2% → 98% растворителя В
 4,00 – 6,00 мин: 98% растворителя В

Методика E.

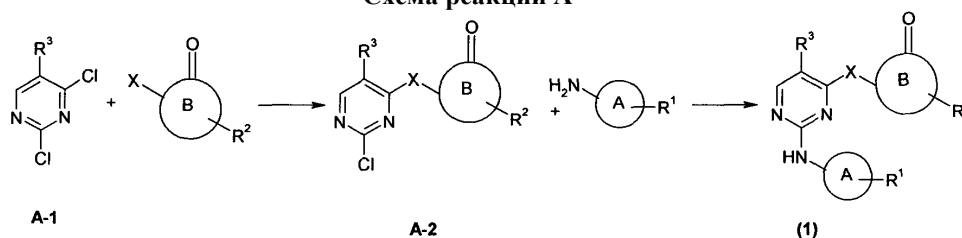
Колонка: Phenomenex Gemini C18, 3,0 мкм, 2,0×50 мм,
 Элюент: А: H₂O с 10 мМ NH₃; В: ацетонитрил с 10 нМ NH₃
 Детектирование: МС: в режиме положительных или отрицательных ионов
 Диапазон масс: 100 – 800 m/z
 Фрагментация: 70
 Усиление EMV: пороговое значение: 1 милли-ат. ед.; размер шага: 2 нм; УФ:
 220-320 нм
 Инжектирование: обычно 1 мкл
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 Температура колонки: 35°C
 Градиентный режим: 0,00 мин: 2% растворителя В
 0,00 – 3,50 мин: 2% → 98% растворителя В
 3,50 – 6,00 мин: 98% растворителя В

Методика F.

Колонка:	Phenomenex Gemini C18, 3,0 мкм, 2,0×50 мм,		
Элюент:	А: Н ₂ О с 0,1% НСООН; В: ацетонитрил с 0,1% НСООН		
Детектирование:	МС: в режиме положительных или отрицательных ионов		
Диапазон масс:	100 – 800 m/z		
Фрагментация:	70		
Усиление EMV:	пороговое значение: 1 милли-ат. ед.; размер шага: 2 нм; УФ:		
	220-320 нм		
Инжектирование:	обычно 1 мкл		
Скорость потока:	1,0 мл/мин		
Температура колонки:	35°C		
Градиентный режим:	0,00 мин:	2% растворителя В	
	0,00 – 3,50 мин:	2% → 98% растворителя В	
	3,50 – 6,00 мин:	95% растворителя В	

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, получают по описанным ниже методикам синтеза, в которых заместители в общих формулах обладают значениями, указанными выше в настоящем изобретении. Эти методики предназначены для иллюстрации настоящего изобретения без его ограничения своим содержанием или ограничения объема заявленных соединений, соединениями, приведенными в этих примерах. В случаях, когда получение исходных соединений не описано, они имеются в продаже или их можно получить аналогично известным соединениям или по методикам, описанным в настоящем изобретении. Соединения, описанные в литературе, получают по опубликованным методикам синтеза.

Схема реакций А



Искомые соединения типа (1) получают из 2,4-дихлорпиримидинов А-1 с помощью нуклеофильного ароматического замещения хлора в положении 4 пиримидина на фенол OR^2 , тиофенол SR^2 или с помощью сочетания металлобензилгалогенидов $HalMetR^2$ и с последующей заменой второго хлора на амин $A-NH_2$. Альтернативно, у 2,4-дихлорпиримидинов А-1 возможно провести замещение в положении 2 пиримидина на амины $A-NH_2$ и последующее замещение хлора в положении 4 пиримидина на фенол OR^2 , тиофенол SR^2 или с помощью сочетания металлобензилгалогенидов $HalMetR^2$. В качестве альтернативы обычному нуклеофильному замещению возможно проведение катализируемой переходным металлом реакции $A-NH_2$ с соответствующим 2-хлорпиримидином А-2. Любая группа R^1 и R^2 является подходящей для получения искоемых соединений.

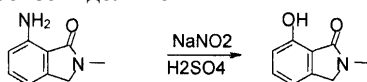
Нуклеофильное ароматическое замещение А-1, А-2 и А-3 проводят по методикам, известным из литературы (например, WO 2008/040951), в обычных растворителях, таких как, например, ТГФ, ДХМ, NMP, ДМСО, толуол или ДМФ, с использованием основания, такого как, например, ДИПЭА, пиридин, LiOH, CS_2CO_3 или KOtBu, кислоты, такой как, например, HCl или кислота Льюиса, такая как, например, $ZnCl_2$. Используемые спирты OR^2 , сульфиды SR^2 , металлоорганические соединения $HalMetR^2$ и амины $A-NH_2$ имеются в продаже или их синтезируют по методикам, известным из литературы. У 2-амино-4-оксопиримидинов, 2-амино-4-тиопиримидинов или 2-амино-4-карбапиримидинов типа (1), которые можно получить непосредственно по этим методикам, затем можно модифицировать группы R^1 и R^2 на подходящей стадии по методике, известной из литературы, или по методике, аналогичной описанной в литературе, и получить дополнительные производные типа (1). Таким образом, например, группы R^1 и R^2 непосредственно доступных 2-амино-4-оксопиримидинов, 2-амино-4-тиопиримидинов или 2-амино-4-карбапиримидинов типа (1), состоящих из карбоновой кислоты, сульфоновой кислоты, галоген- или аминзамещенного арила или гетероарила, можно модифицировать по реакциям замещения (по самому гетероарилу), алкилирования, ацилирования, аминирования или присоединения.

Исходные вещества.

В случаях, когда получение исходных веществ не описано, они имеются в продаже, известны из литературы или их может легко получить специалист в данной области техники

по общим методикам, например 4-амино-2-хлор-5-метоксибензойная кислота, 4-амино-2-фтор-5-метоксибензойная кислота, (WO 2008/040951), 4-(4-хлор-5-трифторметилпиримидин-2-иламино)бензойная кислота (WO 2007/003596), 4-(4-хлор-5-трифторметилпиримидин-2-иламино)-3-метоксибензойная кислота, 4-(4-хлор-5-трифторметилпиримидин-2-иламино)-2-хлор-5-метоксибензойная кислота, 4-(4-хлор-5-трифторметилпиримидин-2-иламино)-2-фтор-5-метоксибензойная кислота (по методике, аналогичной описанной в WO 2007/003596), 7-амино-2-метил-2,3-дигидроизоиндол-1-он (WO 2005/016894), трет-бутил-4-бензиламино-3-фторпиперидин-1-карбоксилат, (J. Med. Chem. (1999), 42(12), 2087-2104), 8-амино-2-метил-3,4-дигидроизохинолин-1-он (WO 2005/016894), бензил-(3S,4S)-4-трет-бутоксикарбониламино-3-гидроксипиперидин-1-карбоксилат и бензил-(3R,4R)-4-трет-бутоксикарбониламино-3-гидроксипиперидин-1-карбоксилат (WO 2004/058144).

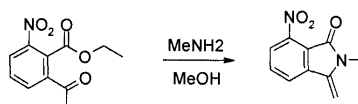
7-Гидрокси-2-метил-2,3-дигидроизоиндол-1-он



7-Амино-2-метил-2,3-дигидроизоиндол-1-он (5 г) суспендируют в смеси льда (12,6 г) и концентрированной H_2SO_4 (8,62 г). По каплям добавляют водный раствор нитрита натрия (2,5 М, 16 мл) так, чтобы температура не поднималась выше 0°C , и раствор перемешивают при этой же температуре в течение 15 мин. Затем добавляют H_2O (60 мл) и раствор нагревают при 80°C в течение 30 мин. Для обработки его объединяют с 10% раствором NaCl (100 мл) и дважды экстрагируют с помощью 100 мл CH_2Cl_2 . Объединенные органические фазы сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Конечную очистку проводят с помощью препаративной ВЭЖХ.

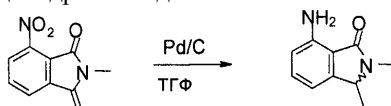
(R)-7-Гидрокси-2,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он и (S)-7-гидрокси-2,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он.

а) 2-Метил-3-метилен-7-нитро-2,3-дигидроизоиндол-1-он



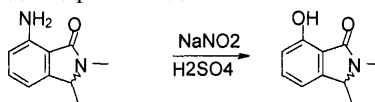
Этил-2-ацетил-6-нитробензоат (11,12 г) суспендируют в смеси MeOH (70 мл) и MgSO_4 . По каплям добавляют метиламин (2 М раствор в ТГФ, 28,13 мл) и раствор перемешивают при этой же температуре в течение 15 мин. Затем его повторно нагревают при 70°C в течение 18 ч. Растворитель удаляют в вакууме, остаток переносят в дихлорметан (100 мл), промывают раствором хлорида натрия (10%), сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Для очистки остаток перекристаллизовывают из толуола (250 мл).

б) 7-Амино-2,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он



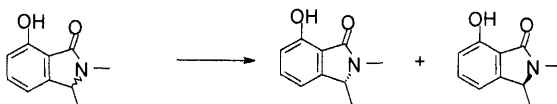
2-Метил-3-метилен-7-нитро-2,3-дигидроизоиндол-1-он (13,96 г) суспендируют в ТГФ и смешивают с добавленным на кончике шпателя Pd/C (5%) и гидрируют в атмосфере H_2 (давление: 3 бар). Для обработки катализатор отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме.

с) 7-Гидрокси-2,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он



7-Амино-2,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он (11,45 г) суспендируют в смеси льда (27 г) и концентрированной H_2SO_4 (9,70 мл) и охлаждают до -10°C . По каплям добавляют водный раствор нитрита натрия (2,5 М, 31,18 мл) так, чтобы температура не поднималась выше 0°C , и раствор перемешивают при этой же температуре в течение 15 мин. Затем добавляют H_2O (135 мл) и раствор нагревают при 80°C в течение 15 мин. Для обработки его объединяют с 10% раствором NaCl (100 мл) и дважды экстрагируют с помощью 100 мл CH_2Cl_2 . Органическую фазу экстрагируют раствором NaOH (0,2 М), затем водную фазу подкисляют (водный раствор концентрированной HCl) и повторно экстрагируют с помощью CH_2Cl_2 . Органическую фазу сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме.

д) (R)-7-Гидрокси-2,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он и (S)-7-гидрокси-2,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он



Эти два энантиомера разделяют с помощью хроматографии рацемата на хирально модифицированной колонке (CHIRALCEL® OD-I, н-гептан/CH₂Cl₂ 50/50).

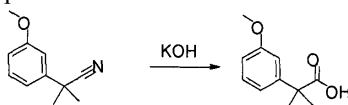
7-Гидрокси-2,3,3-триметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он.

а) 2-(3-Метоксифенил)-2-метилпропионитрил



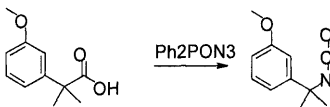
NaN (14,13 г, 60%) суспендируют в ТГФ (400 мл) и охлаждают до 0°C. (3-Метоксифенил)ацетонитрил (20 г) растворяют в ТГФ (20 мл) и по каплям добавляют к смеси. Через 30 мин при этой же температуре добавляют метилиодид (19,46 мл) в ТГФ (20 мл). Через 16 ч при 0°C реакционную смесь объединяют с H₂O и 3 раза экстрагируют с помощью CH₂Cl₂. Объединенные органические фазы сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Остаток используют на следующей стадии реакции без какой-либо дополнительной очистки.

б) 2-(3-Метоксифенил)-2-метилпропионовая кислота



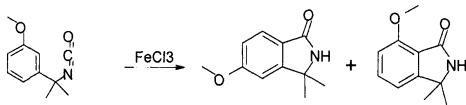
2-(3-Метоксифенил)-2-метилпропионитрил (28,55 г, 80%) растворяют в этиленгликоле, объединяют с KOH (14,48 г) и нагревают при 150°C. Через 18 ч реакционную смесь переносят в водный раствор NaCl (10%) и 3 раза экстрагируют с помощью CH₂Cl₂ и EtOAc. Затем водную фазу подкисляют с помощью HCl (1 М водный раствор) и экстрагируют с помощью EtOAc. Полученную органическую фазу еще 3 раза экстрагируют с помощью HCl (1 М водный раствор), сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Остаток используют на следующей стадии реакции без какой-либо дополнительной очистки.

с) 1-(1-Изоцианато-1-метилэтил)-3-метоксибензол



2-(3-Метоксифенил)-2-метилпропионовую кислоту (24,40 г) растворяют в толуоле (120 мл) и охлаждают до 0°C. Добавляют триэтиламин (16,61 мл) и дифенилфосфорилазид (24,37 г). Через 0,5 ч смесь нагревают при 110°C. Через 3 ч реакционную смесь разбавляют с помощью EtOAc, охлаждают до 0°C, экстрагируют раствором NaHCO₃ и раствором NaCl (H₂O, 10%), сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Остаток используют на следующей стадии реакции без какой-либо дополнительной очистки.

д) 7-Метокси-3,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он и 7-метокси-3,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он



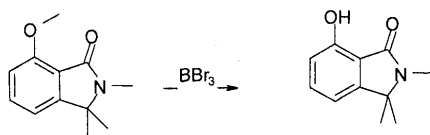
FeCl₃ (40,00 г) суспендируют в дихлорэтано (10 мл) и охлаждают до 0°C. По каплям добавляют 1-(1-изоцианато-1-метилэтил)-3-метоксибензол (21,40 г, растворенный в 10 мл дихлорэтана). Через 1,5 ч добавляют H₂O и смесь перемешивают в течение 15 мин. После добавления CH₂Cl₂ водную фазу отделяют и отбрасывают. Органическую фазу экстрагируют водным раствором винной кислоты, сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Два региоизомера разделяют с использованием колонки с силикагелем (сHex/EtOAc от 20:80 до 0:100).

е) 7-Метокси-2,3,3-триметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он



7-Метокси-3,3-диметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он (3,16 г) растворяют в ТГФ (50 мл) и порциями добавляют NaN (7,88 г). Через 5 мин добавляют метилиодид (7,18 мл). Через 18 ч при 0°C реакционную смесь объединяют со смесью H₂O/AcCN, а также с Isolute и очищают с помощью ОФ ВЭЖХ.

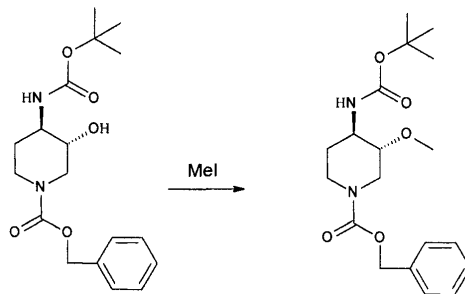
ф) 7-Гидрокси-2,3,3-триметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он



7-Метокси-2,3,3-триметил-2,3-дигидроизоиндол-1-он (0,18 г) растворяют в CH_2Cl_2 (4,5 мл) и охлаждают до -78°C . После добавления BBr_3 (1 М раствор CH_2Cl_2 , 2,92 мл) реакционной смеси в течение 3 ч дают нагреться до -10°C . Для обработки ее разбавляют с помощью CH_2Cl_2 и экстрагируют раствором NaCl (H_2O , 10%). Органическую фазу сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Остаток используют на следующей стадии реакции без какой-либо дополнительной очистки.

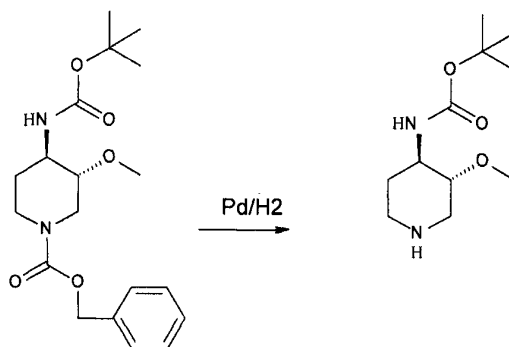
(3R,4R)-3-Метокси-1-метилпиперидин-4-иламин.

а) Бензил-(3R,4R)-4-трет-бутоксикарбониламино-3-метоксипиперидин-1-карбоксилат



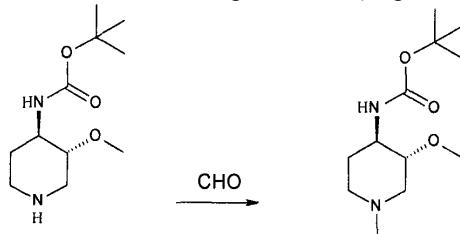
Бензил-(3S,4S)-4-трет-бутоксикарбониламино-3-гидроксипиперидин-1-карбоксилат (5,00 г) растворяют в ТГФ (6 мл) и объединяют с 30 мл разбавленного вдвое концентрированного водного раствора NaOH , бензилтриэтилхлоридом аммония и диметилсульфатом (2,26 мл). Через 22 ч добавляют H_2O (200 мл) и смесь экстрагируют с помощью EtOAc (150 мл). Органическую фазу сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Очистку проводят с использованием колонки с силикагелем (cHex/EtOAc 65/35).

б) трет-Бутил-((3R,4R)-3-метоксипиперидин-4-ил)карбамат



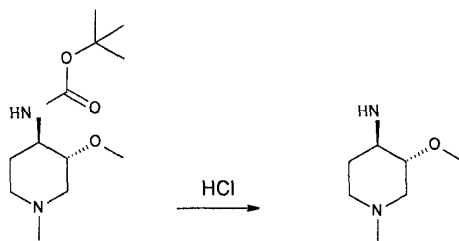
Бензил-(3R,4R)-4-трет-бутоксикарбониламино-3-метоксипиперидин-1-карбоксилат (2,88 г) растворяют в этаноле и объединяют с добавленным на кончике шпателя Pd/C и гидрируют в атмосфере H_2 (давление: 4 бар). Через 18 ч катализатор отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Остаток используют на следующей стадии реакции без какой-либо дополнительной очистки.

с) трет-Бутил-((3R,4R)-3-метокси-1-метилпиперидин-4-ил)карбамат



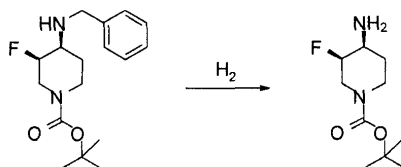
трет-Бутил-((3R,4R)-3-метоксипиперидин-4-ил)карбамат (2,88 г) растворяют в формальдегиде (1,79 мл, 37% раствор в H_2O) и уксусной кислоте (100 мкл) в ДМФ. Затем добавляют $\text{Na(OAc)}_3\text{BH}$ (12,59 г). Через 20 ч реакционную смесь объединяют с водным раствором NaHCO_3 (насыщенный с помощью NaCl) и 5 раз экстрагируют с помощью EtOAc . Объединенную органическую фазу сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме. Остаток используют на следующей стадии реакции без какой-либо дополнительной очистки.

д) (3R,4R)-3-Метокси-1-метилпиперидин-4-иламин



трет-Бутил-((3R,4R)-3-метокси-1-метилпиперидин-4-ил)карбамат (3,01 г) объединяют с HCl (4 М раствор в диоксане, 25 мл). Через 1 ч из реакционной смеси растворитель удаляют в вакууме и ее используют на следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

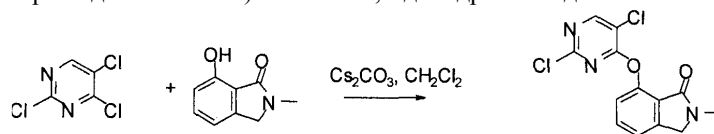
трет-Бутил-(3R,4S)-4-амино-3-фторпиперидин-1-карбоксилат



трет-Бутил-(3R,4S)-4-бензиламино-3-фторпиперидин-1-карбоксилат (2,13 г) суспендируют в ТГФ и смешивают с добавленным на кончике шпателя Pd(OH)₂ и гидрируют в атмосфере H₂ (давление: 7 бар). Для обработки катализатор отфильтровывают, растворитель удаляют в вакууме и остаток используют на следующей стадии без какой-либо дополнительной очистки.

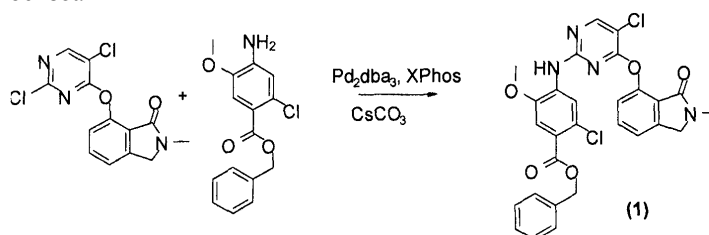
Пример 1. Бензил-2-хлор-4-[5-хлор-4-(2-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-4-илокси)пиримидин-2-иламино]-5-метоксибензоат.

а) 7-(2,5-Дихлорпиримидин-4-илокси)-2-метил-2,3-дигидроизоиндол-1-он



2,4,5-Трихлорпиримидин (0,20 г) и 7-гидрокси-2-метил-2,3-дигидроизоиндол-1-он растворяют в ДХМ (10 мл), охлаждают до 0°C и объединяют с карбонатом цезия (0,75 г). Охлаждающую баню удаляют и смесь перемешивают в течение 16 ч. Для обработки смесь объединяют с 10% раствором NaCl (100 мл) и трижды экстрагируют с помощью 75 мл этилацетата. Объединенные органические фазы сушат над сульфатом магния, осушитель отфильтровывают и растворитель удаляют в вакууме.

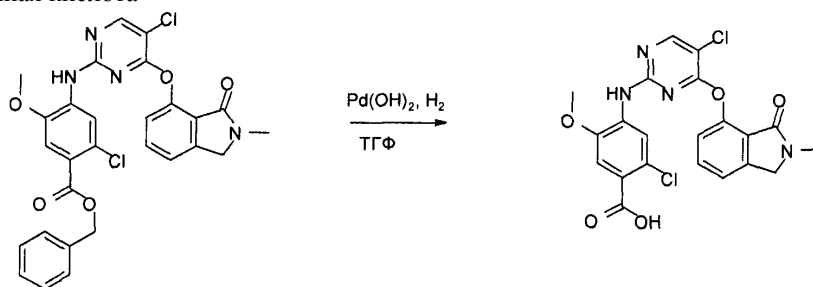
б) Бензил-2-хлор-4-[5-хлор-4-(2-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-4-илокси)пиримидин-2-иламино]-5-метоксибензоат



7-(2,5-Дихлорпиримидин-4-илокси)-2-метил-2,3-дигидроизоиндол-1-он (0,10 г), бензил-4-амино-2-хлор-5-метоксибензоат (0,28 г), Pd₂dba₃ (18 мг), X-Phos (37 мг) и Cs₂CO₃ помещают в сосуд для микроволновой печи и сосуд продувают аргонem. Затем добавляют толуол (1 мл) и NMP (50 мкл), сосуд повторно продувают аргонem и смесь перемешивают в микроволновой печи при 150°C в течение 5 мин. Для обработки смесь разбавляют с помощью АЦН (ацетонитрил) (20 мл) и объединяют с Isolute (Separtis GmbH). Растворитель удаляют в вакууме и затем остаток очищают с помощью препаративной ВЭЖХ. (IC₅₀ = 53 нМ).

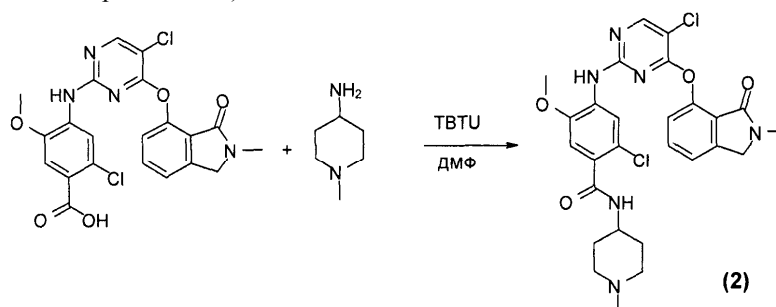
Пример 2. 2-Хлор-4-[5-хлор-4-(2-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-4-илокси)пиримидин-2-иламино]-5-метокси-N-(1-метилпиперидин-4-ил)бензамид.

а) 2-Хлор-4-[5-хлор-4-(2-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-4-илокси)пиримидин-2-иламино]-5-метоксибензойная кислота



Бензил-2-хлор-4-[5-хлор-4-(2-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-4-илокси)пиримидин-2-иламино]-5-метоксибензоат (75 мг) растворяют в ТГФ (150 мл), добавляют Pd(OH)₂ (0,01 г) и смесь перемешивают в атмосфере Н₂ в течение 2 ч. Для обработки смесь разбавляют с помощью АЦН (20 мл) и добавляют Isolute. Катализатор отфильтровывают из раствора и растворитель удаляют в вакууме.

б) 2-Хлор-4-[5-хлор-4-(2-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-4-илокси)пиримидин-2-иламино]-5-метокси-N-(1-метилпиперидин-4-ил)бензамид



2-Хлор-4-[5-хлор-4-(2-метил-3-оксо-2,3-дигидро-1Н-изоиндол-4-илокси)пиримидин-2-иламино]-5-метоксибензойная кислота (65 мг), TBTU (60 мг) и ДИПЭА (0,1 мл) суспендируют в ДМФ (0,50 мл) и

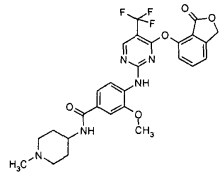
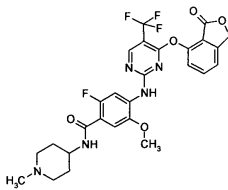
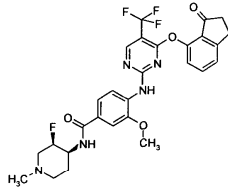
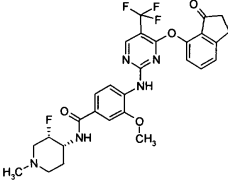
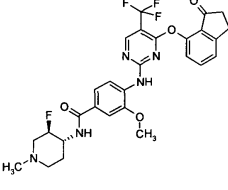
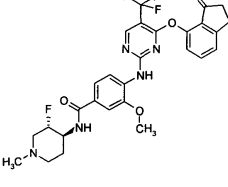
перемешивают в течение 5 мин. Добавляют 1-метилпиперидин-4-амин (18 мг) и реакционную смесь перемешивают в течение еще 20 мин. Без проведения обработки реакционную смесь очищают с помощью ВЭЖХ.

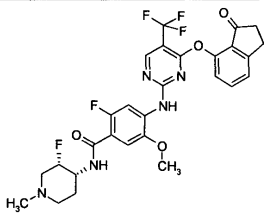
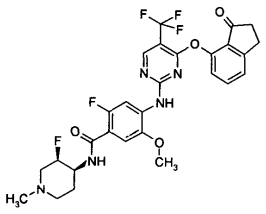
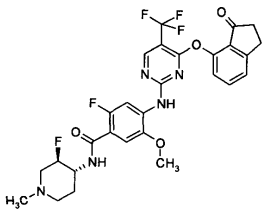
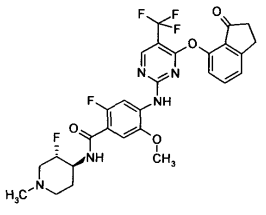
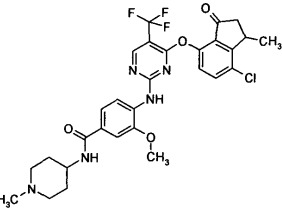
(IC₅₀ = 1 нМ).

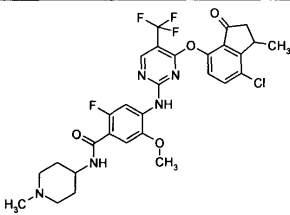
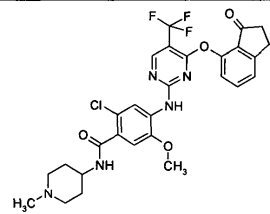
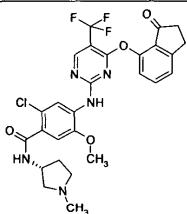
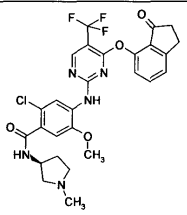
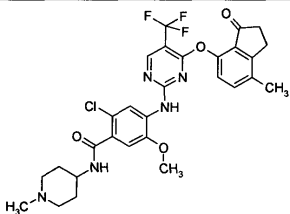
Приведенные ниже соединения 3-215 синтезируют аналогичным образом с использованием в качестве эдуктов соответствующих 2-хлорпиримидинов.

Таблица 2

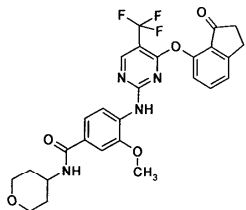
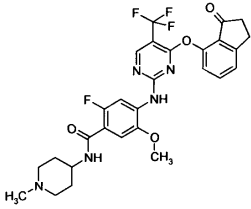
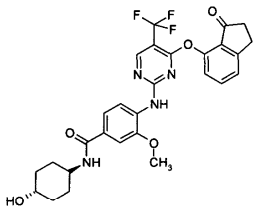
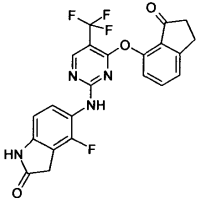
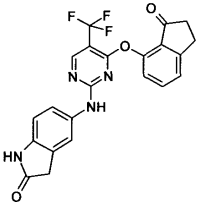
Примеры 3-215

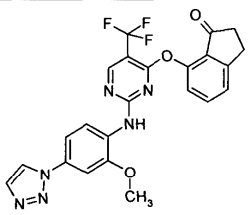
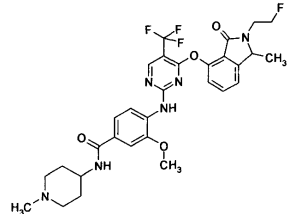
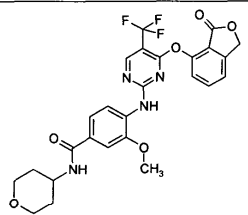
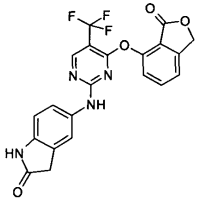
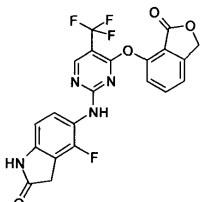
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
3		1,90	558	3
4		1,96	576	4
5		1,94	574	2
6		1,94	574	3
7		1,97	574	5
8		1,96	574	3

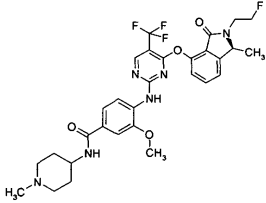
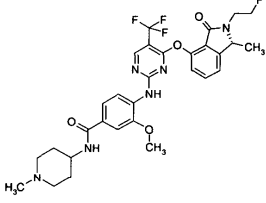
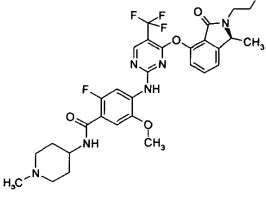
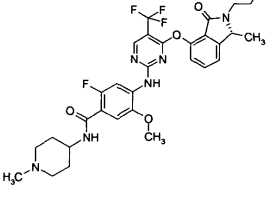
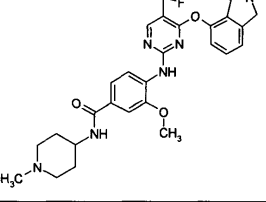
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
9		2,03	592	4
10		2,03	592	5
11		2,04	592	7
12		2,04	592	9
13		2,12	604	10

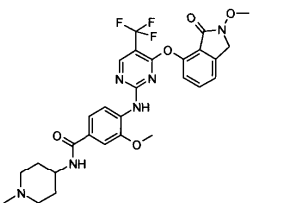
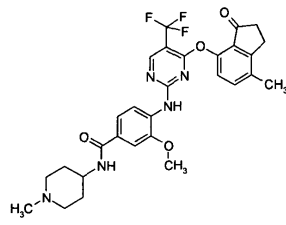
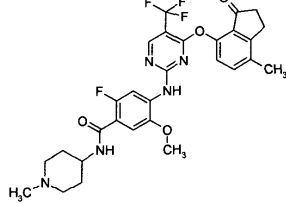
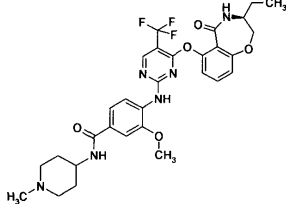
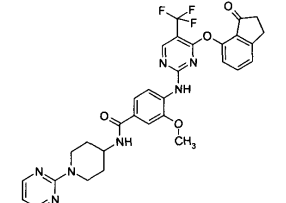
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
14		2,20	622	16
15		1,99	590	3
16		2,08	576	4
17		2,02	576	5
18		2,04	604	5

№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
19		2,07	590	6
20		2,05	590	15
21		1,79	556	2
22		2,02	626	5
23		2,19	515	10

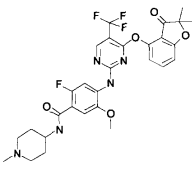
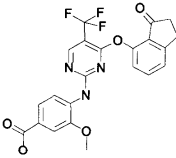
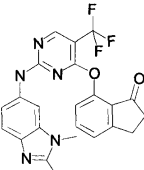
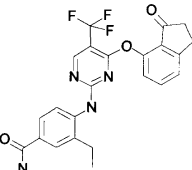
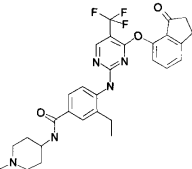
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
24		1,96	543	7
25		2,04	574	4
26		1,90	555	5
27		1,75	459	9
28		1,73	441	11

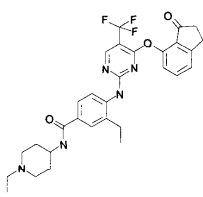
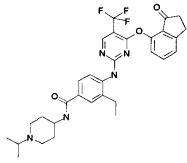
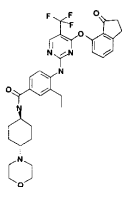
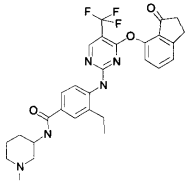
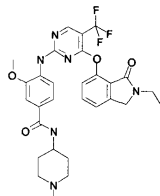
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
29		2,00	483	12
30		1,88	617	3
31		1,85	545	3
32		1,67	443	4
33		1,63	461	10

№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
34		1,96	617	2
35		1,95	617	2
36		2,02	635	4
37		2,06	635	4
38		1,89	571	1

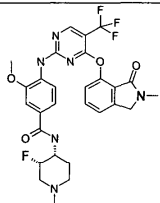
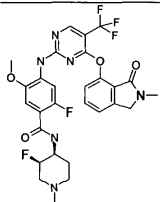
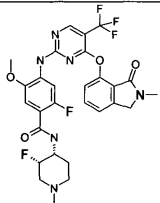
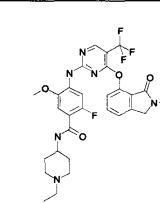
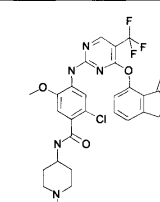
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
39		1,83	587	2
40		2,09	570	2
41		2,17	588	3
42		1,91	615	309
43		2,06	620	12

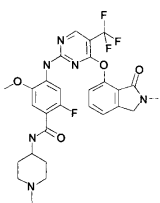
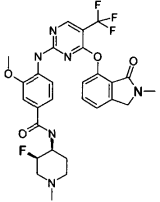
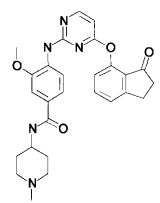
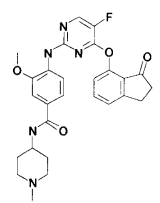
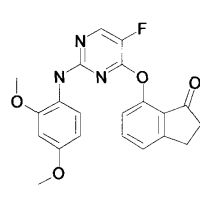
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
44		1,94	626	4
45		1,83	471	9
46		1,65	487	11
47		1,79	603	1
48		2,05	586	5

№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
49		2,11	604	7
50		1,18	460	5
51		1,73	454	11
52		1,90	485	51
53		1,90	554	9

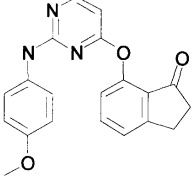
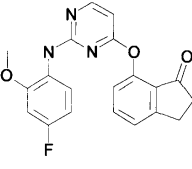
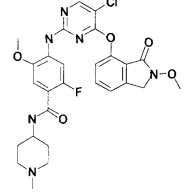
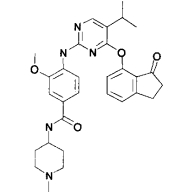
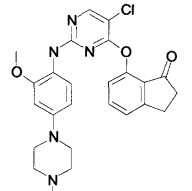
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
54		1,98	568	10
55		2,08	582	8
56		1,93	624	17
57		1,96	554	9
58		1,79	585	5

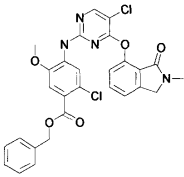
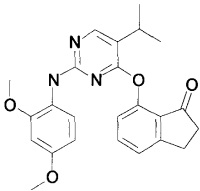
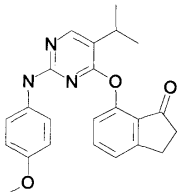
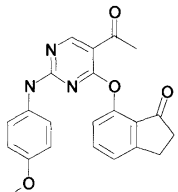
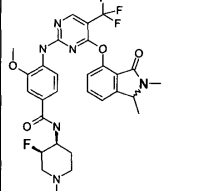
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
59		1,10	430	26
60		1,90	619	2
61		1,86	623	2
62		1,81	623	2
63		1,81	623	4

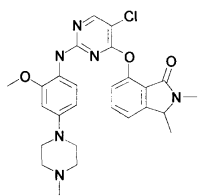
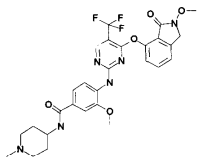
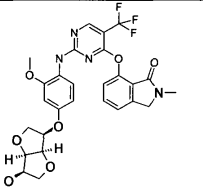
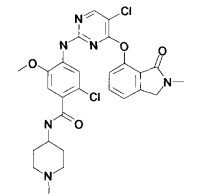
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
64		1,75	589	1
65		1,84	607	1
66		1,84	607	2
67		1,67	385	2
68		1,84	605	1

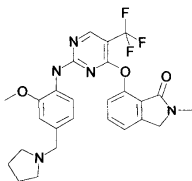
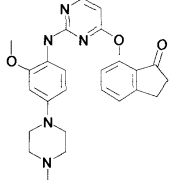
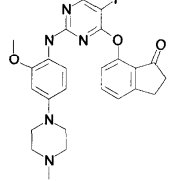
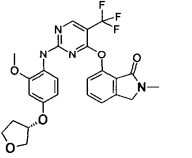
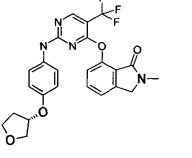
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
69		1,87	589	1
70		1,76	589	1
71		0,26	488	75
72		1,73	506	26
73		1,99	396	60

№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
74		1,81	366	196
75		1,79	378	400
76		1,82	585	2
77		1,84	566	2
78		1,73	537	1

№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
79		1,71	348	400
80		1,88	366	400
81		1,77	571	1
82		1,97	530	3
83		1,89	480	2

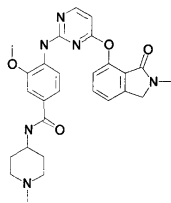
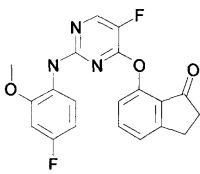
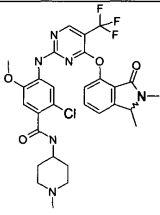
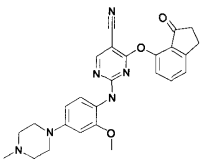
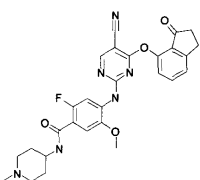
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
84		2,28	565	53
85		2,15	420	29
86		2,06	390	34
87		1,75	390	227
88		1,73	569	1

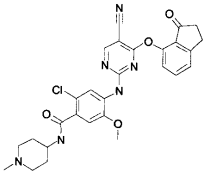
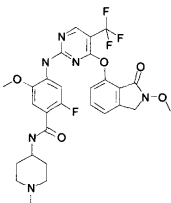
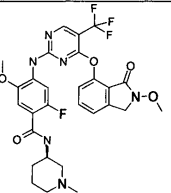
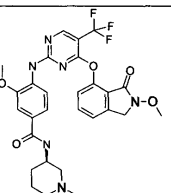
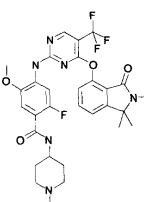
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
89		1,89	509	1
90		1,84	587	2
91		1,65	545	3
92		1,82	571	1
93		2,05	443	1

№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
94		2,12	514	1
95		1,73	446	400
96		1,80	464	29
97		2,01	517	4
98		1,85	487	14

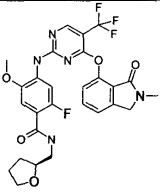
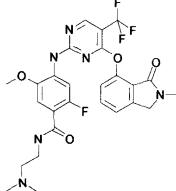
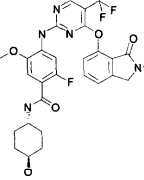
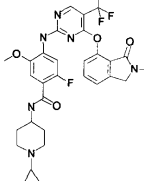
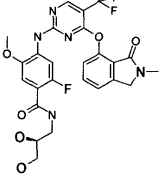
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
99		1,87	501	36
100		1,94	531	11
101		1,87	529	1
102		1,88	531	2
103		1,00	407	400

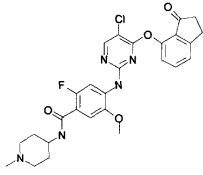
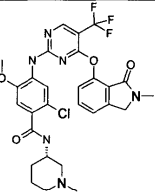
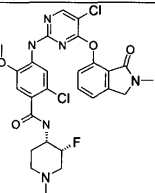
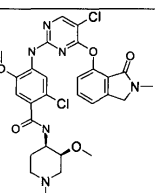
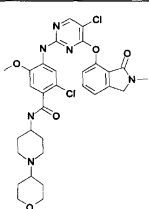
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
104		1,87	585	1
105		1,76	589	1
106		1,75	373	35
107		2,23	575	400
108		1,78	555	2

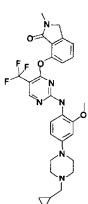
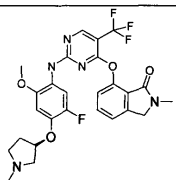
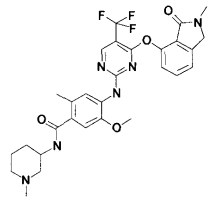
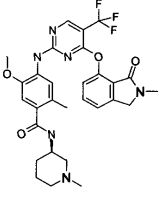
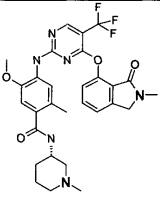
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
109		1,51	503	16
110		1,97	384	72
111		1,84	589	1
112		1,75	471	1
113		1,85	531	2

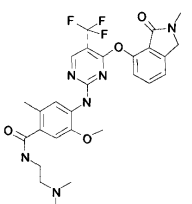
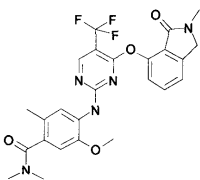
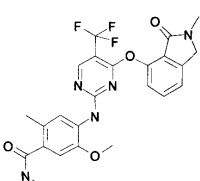
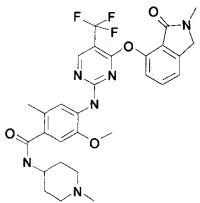
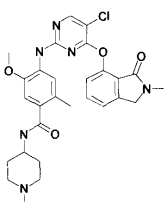
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
114		1,80	547	1
115		1,97	605	1
116		1,97	605	1
117		1,87	587	1
118		2,03	617	1

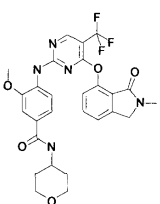
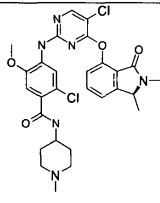
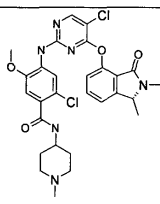
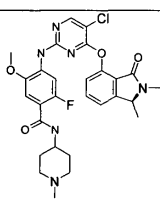
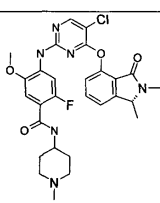
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
119		1,86	619	1
120		1,83	617	1
121		1,86	629	1
122		2,19	605	2
123		1,80	562	3

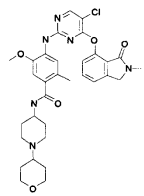
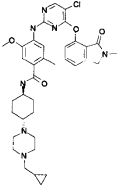
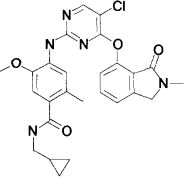
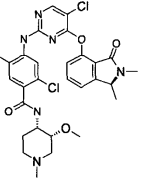
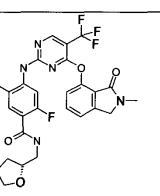
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
124		1,90	576	6
125		1,84	563	1
126		1,78	590	2
127		2,00	615	2
128		1,61	566	1

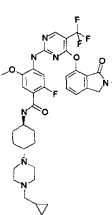
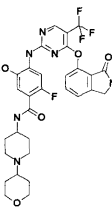
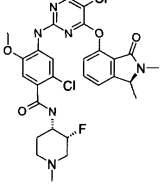
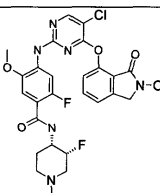
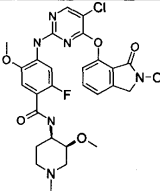
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
129		1,99	540	2
130		1,88	571	1
131		1,73	589	1
132		1,74	601	1
133		1,73	641	1

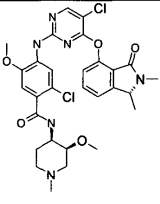
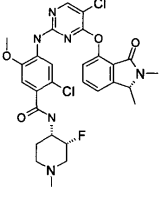
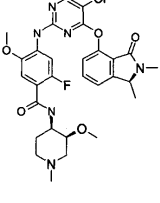
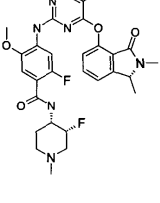
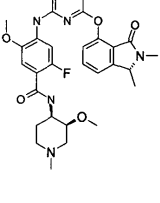
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
134		2,04	569	2
135		1,98	548	28
136		1,86	585	1
137		1,86	585	1
138		1,86	585	1

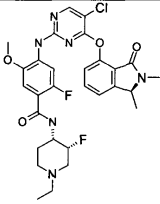
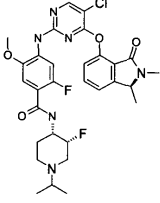
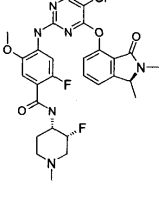
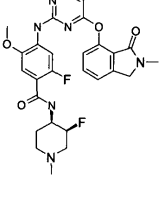
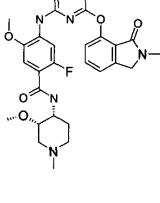
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
139		1,79	559	1
140		1,80	516	3
141		1,72	502	1
142		1,77	585	1
143		1,68	551	1

№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
144		1,79	558	3
145		1,78	585	1
146		1,79	585	1
147		1,81	569	1
148		1,81	569	1

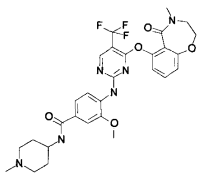
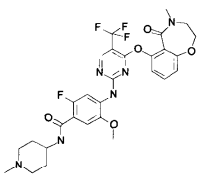
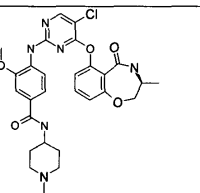
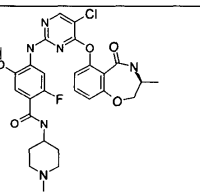
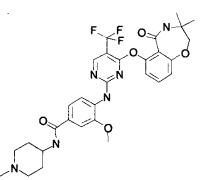
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
149		1,71	621	1
150		1,89	674	2
151		1,82	508	2
152		1,82	615	1
153		1,90	576	5

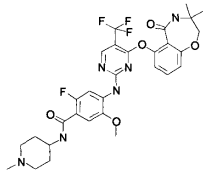
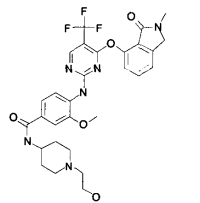
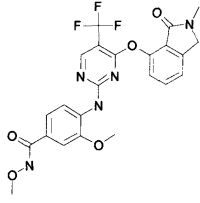
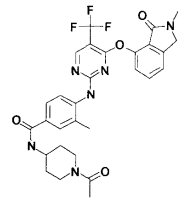
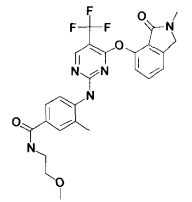
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
154		2,02	712	3
155		1,85	659	2
156		1,79	603	1
157		1,75	589	1
158		1,78	601	1

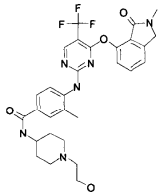
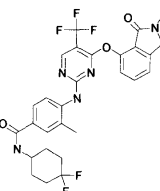
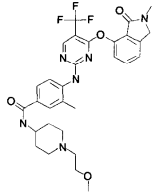
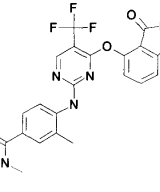
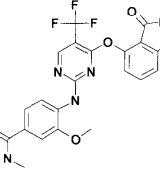
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
159		1,82	615	1
160		1,79	603	1
161		1,84	599	1
162		1,82	587	1
163		1,84	599	1

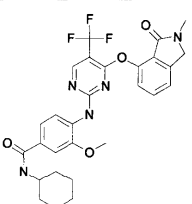
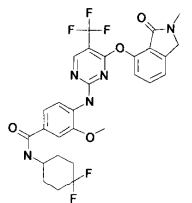
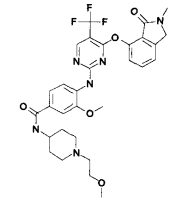
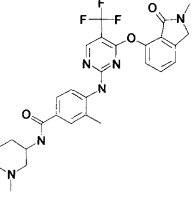
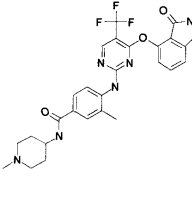
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
164		1,91	601	1
165		2,07	615	2
166		1,81	587	1
167		1,74	573	2
168		1,77	585	1

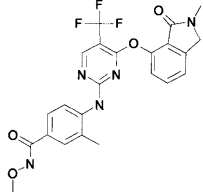
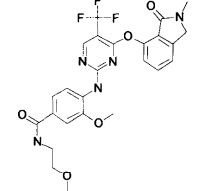
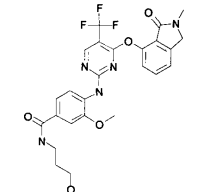
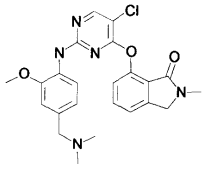
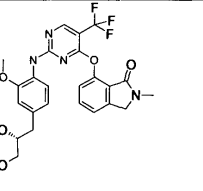
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
169		1,70	581	1
170		1,67	569	1
171		1,81	592	4
172	 хиральный	1,77	609	1
173		1,74	597	1

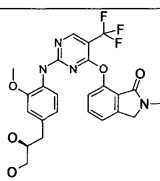
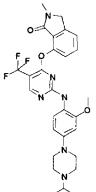
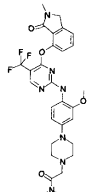
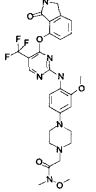
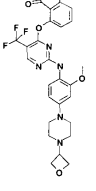
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
174		1,76	601	9
175		1,87	619	10
176		1,74	601	102
177		1,82	619	92
178		2,08	615	400

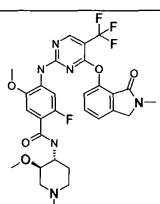
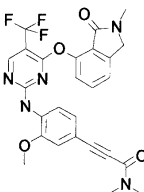
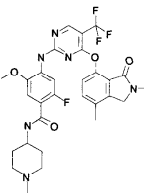
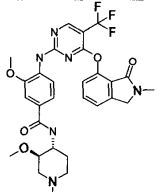
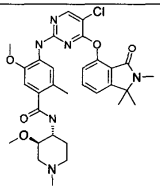
№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
179		2,16	633	400
180		1,64	601	1
181		1,40	504	1
182		1,67	583	3
183		1,68	516	2

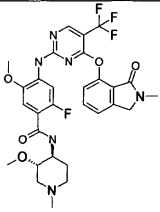
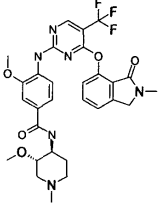
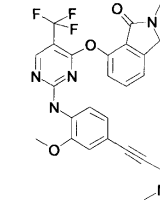
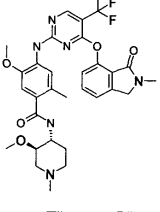
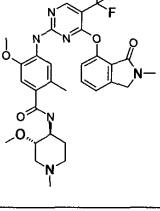
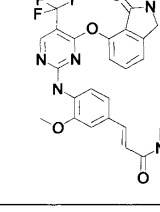
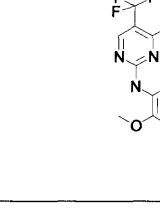
№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (M+H) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
184		1,62	585	1
185		1,94	576	6
186		1,75	599	1
187		1,64	472	2
188		1,03	475	2

№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
189		2,04	556	11
190		1,96	592	8
191		1,77	615	1
192		1,80	555	1
193		1,72	555	1

№	Структура	t_{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
194		585	1,82	3
195		1,70	532	1
196		1,75	546	3
197		1,81	454	2
198		1,54	491	1

№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
199		1,55	491	1
200		2,02	357	1
201		1,77	600	1
202		1,82	616	2
203		1,76	571	2

№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
204		1,95	619	2
205		1,91	526	4
206		1,88	603	2
207		1,70	601	1
208		1,75	609	1

№	Структура	t _{Ret} (ВЭЖХ) [мин]	МС (М+Н) ⁺	РТК2 IC ₅₀ [нМ]
209		1,76	619	1
210		1,68	601	1
211		1,98	512	1
212		1,72	615	1
213		1,74	615	1
214		1,82	528	4
215		1,86	542	3

В приведенных ниже примерах описана биологическая активность соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, но настоящее изобретение не ограничивается этими примерами.

Исследование фермента РТК2.

В этом исследовании в качестве субстрата киназы используют активный фермент РТК2 (Invitrogen Code PV3832) и поли-Glu-Tyr (4:1, Sigma P-0275). Активность киназы определяют с помощью фосфорилирования субстрата в исследовании DELFIA™. Фосфорилированный субстрат исследуют с помощью меченных европием антител РY20 к фосфотирозину (Perkin Elmer, No.: AD0038).

Для получения зависимостей активности ингибиторов РТК2 от концентрации соединения серийно разводят в смеси 10% ДМСО/Н₂О и 10 мкл каждого раствора помещают в лунки 96-луночного микропланшета для титрования (прозрачный планшет с дном U-образной формы, Greiner No. 650101) (ингибиторы исследуют дважды) и смешивают с киназой РТК2 по 10 мкл/лунка (0,01 мкг/лунка). Киназу РТК2 заранее соответствующим образом разводят буфером для разведения киназы (20 мМ TRIS (трис-(гидроксиметиламинометан))/HCl pH 7,5, 0,1 мМ ЭДТК (этилендиаминтетрауксусная кислота), 0,1 мМ ЭГТУ (этиленгликольтетрауксусная кислота), 0,286 мМ ортованадата натрия, 10% глицерина с добавлением свежеприготовленного БСА (бычий сывороточный альбумин) (фракция V, 1 мг/мл) и ДТТ (дитиотреитол) (1 мМ). Исследуемое соединение и киназу РТК2 предварительно инкубируют при КТ в течение 1 ч и встряхивают при 500 об/мин. Затем добавляют 20 мкл смеси АТФ (аденозинтрифосфат) (30 мМ TRIS/HCl pH 7,5, 0,02% Brij, 0,2 мМ ортованадата натрия, 10 мМ ацетата магния, 0,1 мМ ЭГТУ, 1× смесь ингибитора фосфатазы 1 (Sigma, No.: P2850), 50 мМ АТФ (Sigma, No.: A3377; 15 мМ исходного раствора)). Реакцию инициируют путем добавления субстрата поли(Glu, Tyr) по 10 мкл/лунка, (поли(Glu, Tyr) по 25 мкг/лунка, биотинилированный поли(Glu, Tyr) по 0,05 мкг/лунка, растворенный в 250 мМ TRIS/HCl pH 7,5, 9 мМ ДТТ) - конечная концентрация ДМСО равна 2%. После проведения реакции киназы в течение 1 ч (планшеты встряхивают при 500 об/мин) реакцию останавливают путем добавления 100 мМ ЭДТК, pH 8 по 12 мкл/лунка и планшеты встряхивают при КТ в течение еще 5 мин (500 об/мин).

Реакционную смесь (55 мкл) переносят в планшет с покрытием из стрептавидина (Strepta Well High Bind (прозрачный, 96-луночный) выпускающийся фирмой Roche, No.: 11989685001) и инкубируют при КТ в течение 1 ч (встряхивают при 500 об/мин). Затем микропланшет для титрования трижды промывают с помощью ЗФФД (забуференный фосфатом физиологический раствор Дульбекко) (Invitrogen, No.: 14190) по 200 мкл/лунка. Затем добавляют 100 мкл разведенных в соотношении 1:2000 в DELFIA Eu-N1 антител PY20 к фосфотирозину (Perkin Elmer, No.: AD0038, разведенные в соотношении 1:2000 в буфере для исследования DELFIA (Perkin Elmer, No.: 1244-111)) и инкубируют при КТ в течение 1 ч (встряхивают при 500 об/мин). Затем планшет трижды промывают промывочным буфером DELFIA (Perkin Elmer, No.: 1244-114) по 200 мкл/лунка, добавляют стабилизирующий раствор (Perkin Elmer, No.: 1244-105) по 200 мкл/лунка и все вместе инкубируют при КТ в течение 10 мин (встряхивают при 300 об/мин).

Затем флуоресценцию европия с задержкой по времени исследуют с помощью устройства для считывания микропланшетов для титрования (Victor, Perkin Elmer). В качестве положительного контроля используют лунки, которые содержат растворитель (2% ДМСО в буфере для исследования) и характеризуют неингибированную активность киназы. Лунки, содержащие вместо фермента буфер для исследования, используют в качестве контроля фоновой активности киназы.

Значения IC₅₀ определяют по данным анализа зависимости активности от концентрации с помощью расчетов по итеративной схеме с использованием алгоритма анализа сигмоидальной кривой (FIFTY, на основе GraphPAD Prism Version 3.03) с переменным наклоном Хилла.

Исследование на мягком агаре.

Это клеточное исследование используют для определения влияния ингибиторов РТК2 на рост клеток карциномы предстательной железы PC-3 на мягком агаре ("безъякорный рост"). После инкубирования в течение 2 недель жизнеспособность клеток определяют путем окрашивания с помощью Alamar Blue (резазурин).

Клетки PC-3 (ATCC CRL-1435) выращивают в матрацах для клеточных культур (175 см²) со средой F12 Kaighn (Gibco, No.: 21127), в которую добавлена 10% фетальная телячья сыворотка (ФТС) (Invitrogen, No.: 16000-044). Культуры инкубируют в инкубаторе при 37°C и в присутствии 5% CO₂ и исследуют дважды в неделю. Исследование I проводят в микропланшетах для титрования (Greiner, No.: 655, 185), и оно включает нижний слой, приготовленный из 90 мкл среды с 1,2% агарозы (Invitrogen, 4% агарозный гель 1× жидкость 40 мл, No.: 18300-012), на который наносят слой клеток в 60 мкл среды и 0,3% агарозы, и в заключение верхний слой, состоящий из 30 мкл среды, которая содержит исследуемые соединения (без добавления агарозы). Для приготовления нижнего слоя 4% агарозы настаивают с 10× ЗФФД (Gibco, No.: 14200) и Н₂О и таким образом предварительно разводят до 3% агарозы в 1× ЗФФД. Последний разводят средой для выращивания (F12 Kaighn/10% ФТС) и ФТС до конечного разведения, составляющего 1,2% агарозы в среде F12 Kaighn с 10% ФТС. В каждую лунку микропланшета для титрования помещают 90 мкл суспензии для нижнего слоя и охлаждают до КТ в течение 1 ч. Для приготовления слоя клеток клетки PC-3 отделяют с помощью трипсина (Gibco, 0,05%; No.: 25300), подсчитывают и высевают в 60 мкл F12 Kaighn (10% ФТС) с добавлением 0,3% агарозы (37°C). После охлаждения до КТ в течение 1 ч добавляют исследуемые соединения (30 мкл серийно разведенных соединений) для четырехкратных измерений. Концентрация исследуемых соединений обычно находится в диапазоне, включающем концентрации от 10 мкМ до 0,3 нМ. Соединения (исходный раствор: 10 мМ в 100% ДМСО) предварительно разводят в среде F12 Kaighn + 6% ДМСО и получают конечную концентрацию, равную 1% ДМСО. Клетки инкубируют при 37°C и в присутствии 5% CO₂ в насыщенной паром атмосфере в течение 14 дней. Затем метаболическую активность жизнеспособных клеток регистрируют с помощью

красителя Alamar Blue (AbD Serotec, No.: BUF012B). Для этого добавляют суспензию Alamar Blue по 18 мкл/лунка и все вместе инкубируют в инкубаторе при 37°C в течение примерно 8 ч. Положительный контроль включает пустые лунки, наполненные смесью 18 мкл Alamar Blue, восстановленного с помощью выдерживания в автоклаве, и 180 мкл среды F12 Kaighn (10% ФТС). Интенсивность флуоресценции определяют с помощью флуоресцентного спектрометра (SpectraMAX GeminiXS, Molecular Devices). Длина волны возбуждения равна 530 нм, длина волны испускания равна 590 нм.

Значения EC_{50} определяют по данным анализа зависимости активности от концентрации с помощью расчетов по итеративной схеме с использованием алгоритма анализа сигмоидальной кривой (FIFTY, на основе GraphPAD Prism Version 3.03) с переменным наклоном Хилла.

Исследование фосфо-PTK2 (pY397).

Это клеточное исследование используют для определения влияния ингибиторов PTK2 на фосфорилирование PTK2 на тирозине 397 (pY397).

Клетки PC-3 (карциномы предстательной железы, ATCC CRL-1435) выращивают в матрасах для клеточных культур (175 см²) со средой F12 Kaighn (Gibco, No.: 21127), в которую добавлена 10% фетальная телячья сыворотка (ФТС) (Invitrogen, No.: 16000-044). Культуры инкубируют в инкубаторе при 37°C и в присутствии 5% CO₂ и исследуют дважды в неделю.

Для проведения исследования в 96-луночный микропланшет для титрования (Costar, No.: 3598) помещают 2×10^4 клеток в лунку/90 мкл среды и инкубируют в инкубаторе при 37°C и в присутствии 5% CO₂ в течение ночи. На следующий день добавляют исследуемые соединения (10 мкл серийно разведенных соединений). Концентрация исследуемых соединений обычно находится в диапазоне, включающем концентрации от 50 мкМ до 0,8 нМ. Исследуемые соединения (исходный раствор: 10 мМ в 100% ДМСО) разводят в смеси среда/среда с 10% ДМСО так, чтобы конечная концентрация составляла 1% ДМСО. Затем клетки инкубируют в инкубаторе при 37°C и в присутствии 5% CO₂ в течение 2 ч. Затем надосадочную жидкость культуры клеток удаляют и клетки фиксируют с помощью 150 мкл 4% формальдегида в ЗФФД при КТ в течение 20 мин. Слой клеток 5 раз по 5 мин промывают с помощью 200 мкл 0,1% раствора Triton X-100 в ЗФФД и затем инкубируют в течение 90 мин с блокирующим буфером (5% сухого обезжиренного молока (Maresi Fixmilch) в TBST (25 мМ Tris/HCl, pH 8,0, 150 мМ NaCl, 0,05% Tween 20). Блокирующий буфер заменяют на 50 мкл первичных кроличьих моноклональных антител к фосфо-PTK2 [pY397] (Invitrogen/Biosource, No.: 44-625G), которые разводят в соотношении 1:200 в блокирующем буфере. Альтернативно, для контроля используют антитела к PTK2 [полные] (клон 4,47 моноклональные мышиные антитела, Upstate, No.: 05-537), разведенные в соотношении 1:400 в блокирующем буфере. Это инкубирование проводят при 4°C в течение ночи. Затем слой клеток 5 раз по 5 мин промывают с помощью 100 мкл 0,1% раствора Tween в ЗФФД и добавляют вторичные антитела по 50 мкл/лунка. Для регистрации связывания антител фосфо-PTK2 [pY397] используют козы антикроличьи антитела, которые связаны с пероксидазой хрена (Dako, No.: P0448; разведение в соотношении 1:500 в блокирующем буфере). Для регистрации связанных антител к PTK2 [полных] используют кроличьи антимышиные антитела, которые также связаны с пероксидазой хрена (Dako, No.: P0161; разведение в соотношении 1:1000 в блокирующем буфере). Инкубирование проводят при КТ в течение 1 ч при осторожном встряхивании. Затем слой клеток повторно промывают 5 раз по 5 мин с помощью 100 мкл 0,1% раствора Tween в ЗФФД. Окрашивание пероксидазы проводят путем добавления 100 мкл окрашивающего раствора (смесь состава 1:1 TMB пероксидазный субстрат (KPL, No.: 50-76-02) и раствора пероксидазы В (H₂O₂) (KPL, No.: 50-65-02). Развитие окраски происходит в темноте в течение 10-30 мин. Реакцию останавливают путем добавления 1 М раствора фосфорной кислоты по 100 мкл/лунка.

Поглощение определяют фотометрически при 450 нм с помощью устройства для измерения поглощения (VICTOR³ PerkinElmer). Для определения значений EC_{50} используют ингибирование иммунного окрашивания антителами к фосфо-PTK2 [pY397]. Окрашивание с помощью антител к PTK2 [полных] проводят для контроля, и оно должно сохраняться при воздействии ингибитора. Значения EC_{50} определяют по данным анализа зависимости активности от концентрации с помощью расчетов по итеративной схеме с использованием алгоритма анализа сигмоидальной кривой (FIFTY, на основе GraphPAD Prism Version 3.03) с переменным наклоном Хилла.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, являются ингибиторами PTK2-киназы. Вследствие своих биологических характеристик указанные соединения и физиологически приемлемые соли применимы для лечения заболеваний, характеризующихся чрезмерной или аномальной пролиферацией клеток.

Такие заболевания включают, например, вирусные инфекции (например, ВИЧ (вирус иммунодефицита человека) и саркома Капоши); воспалительные и аутоиммунные заболевания (например, колит, артрит, болезнь Альцгеймера, гломерулонефрит и поражения во время заживления ран); бактериальные, грибковые и/или паразитарные инфекции; лейкозы, лимфомы и солидные опухоли (например, карциномы и саркомы), заболевания кожи (например, псориаз); заболевания, основанные на гиперплазии, которые характеризуются увеличением количества клеток (например, фибробластов, гепатоцитов, костных клеток и клеток костного мозга, хрящевых или гладкомышечных клеток или эпителиальных клеток (например, гиперплазия эндометрия)); заболевания костей и сердечно-сосудистые заболевания (например,

рестеноз и гипертрофия).

Например, соединениями, предлагаемыми в настоящем изобретении, можно лечить следующие типы рака, но не ограничиваться только ими: опухоли головного мозга, такие как, например неврилеммома слухового нерва, астроцитомы, такие как фибриллярная, протоплазматическая, гемистоцитарная, анапластическая, пилоидная астроцитомы, глиобластома, глиосаркома, плеоморфная ксантоастроцитома, субэпендимальная крупноклеточная гигантоклеточная астроцитома и десмопластическая младенческая астроцитома; лимфомы головного мозга, метастазы в головной мозг, гипофизарная опухоль, такая как пролактинома, гипофизарная инциденталома, продуцирующая HGH (гормон роста человека) аденома и кортикотропная аденома, краниофарингиомы, медуллобластома, менингиома и олигодендроглиома; опухоли нервов, такие как, например, опухоли вегетативной нервной системы, такие как нейробластома, ганглионеврома, параганглиома (феохромоцитома, хромоафинома) и гломусно-каротидная опухоль, опухоли периферической нервной системы, такие как ампутиционная неврома, нейрофиброма, невринома (неврилеммома, шваннома) и злокачественная шваннома, а также опухоли центральной нервной системы, такие как опухоли головного и костного мозга; рак кишечника, такой как, например, карцинома прямой кишки, толстой кишки, ануса и двенадцатиперстной кишки; опухоли век (базалиома или аденокарцинома аппарата века); ретинобластома; карцинома поджелудочной железы; карцинома мочевого пузыря; опухоли легких (бронхиальная карцинома - мелкоклеточный рак легких (SCLC), немелкоклеточный рак легких (NSCLC), такой как, например, веретенноклеточные карциномы плоского эпителия, аденокарциномы (ацинозная, папиллярная, бронхиально-альвеолярная) и крупноклеточная бронхиальная карцинома (гигантоклеточная карцинома, светлоклеточная карцинома); рак молочной железы, такой как протоковая, лобулярная, мукоидная или тубулярная карцинома, карцинома Педжета; неходжкинские лимфомы (NHL) (В- или Т-лимфатическая NHL), такие как волосато-клеточный лейкоз, лимфома Беркитта или грибовидный микоз; болезнь Ходжкина; рак матки (карцинома тела или карцинома эндометрия); синдром CUP (рак неизвестной первичной локализации); рак яичников (карцинома яичников - слизееобразующая или серозная циста, опухоли эндометрия, крупноклеточная опухоль, опухоль Бреннера); рак желчного пузыря; рак желчных протоков, такой как, например, опухоль Клатскина; тестикулярный рак (опухоли половых или неполовых клеток); рак гортани, такой как, например, супраглоттальные, глоттальные и субглоттальные опухоли голосовых связок; рак кости, такой как, например, остеохондрома, хондрома, хондробластома, хондромиксоидная фиброма, хондросаркома, остеома, остеоид-остеома, остеобластома, остеосаркома, неосифицированная фиброма кости, остеофиброма, десмопластическая фиброма кости, фибросаркома кости, злокачественная фиброзная гистиоцитома, остеокластома или гигантоклеточная опухоль, саркома Юинга, и плазмоцитома, опухоли головы и шеи (HNO), такие как, например, опухоли губ и полости рта (карцинома губ, языка, полости рта), носоглоточная карцинома (опухоли носа, лимфоэпителиома), глоточная карцинома, ротоглоточные карциномы, карциномы миндалин (малигнома миндалин) и (корня) языка, гипоглоточная карцинома, ларингеальная карцинома (рак гортани), опухоли околоносовых синусов и полости носа, опухоли слюнных желез и ушей; карцинома клеток печени (гепатоцеллюлярная карцинома (HCC)); лейкозы, такие как, например, острые лейкозы, такие как острый лимфатический/лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелолейкоз (AML); хронический лимфолейкоз (CLL), хронический миелолейкоз (CML); рак желудка (папиллярная, тубулярная или слизееобразующая аденокарцинома, аденосквамозная, сквамозная или недифференцированная карцинома; злокачественные меланомы, такие как, например поверхностная (SSM), нодулярная (NMM), пятнисто-злокачественная (LMM), акрально-пятнистая (ALM) или амеланотическая меланома (AMM); рак почки, такой как, например, карцинома клеток почки (гипернефрома или опухоль Гравитца); рак пищевода; рак пениса; рак предстательной железы; рак влагалища или карцинома влагалища; карциномы щитовидной железы, такие как, например, папиллярная, фолликулярная, медулярная или анапластическая карцинома щитовидной железы; карцинома вилочковой железы (тимомы); рак мочеиспускательного канала (карцинома мочеиспускательного канала, уротелиальная карцинома) и рак вульвы.

Новые соединения можно использовать для предупреждения, кратковременного или длительного лечения указанных выше заболеваний, также необязательно в комбинации с лучевой терапией или другими новейшими соединениями, такими как, например, цитостатические или цитотоксические вещества, ингибиторы пролиферации клеток, антиангиогенные вещества, стероиды или антитела.

Указанные соединения можно использовать по отдельности или в комбинации с другими активными веществами, предлагаемыми в настоящем изобретении, также необязательно в комбинации с другими фармакологически активными веществами.

Химиотерапевтические средства, которые можно применять в комбинации с соединениями, предлагаемыми в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются только ими, гормоны, аналоги гормонов и антигормоны (например, тамоксифен, торемифен, ралоксифен, фулвестрант, мегэстролацетат, флутамид, нилутамид, бикалутамид, аминоглютетимид, ципротерон ацетат, финастерид, бусерелинацетат, флуорокортизон, флуоксиместрон, медроксипрогестерон, октреотид), ингибиторы ароматазы (например, анастрозол, летрозол, лиарозол, ворозол, экземестан, атаместан), агонисты и антагонисты LHRH (рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона, например госерелинацетат, лупролид), ингибиторы факторов роста (факторов роста, таких как, например, "тромбоцитарный фактор роста" и "гепатоцитарный

фактор роста", ингибиторами являются, например, антитела к "фактору роста", антитела к "рецептору фактора роста" и ингибиторы тирозинкиназы, такие как, например, gefitinib, lapatinib и trastuzumab); ингибиторы передачи сигналов (например, imatinib и sorafenib); антиметаболиты (например, антифолаты, такие как метотрексат, претротрексед и ралтитротрексед, аналоги пириимидина, такие как 5-фторурацил, капецитабин и гемцитабин, аналоги пурина и аденозина, такие как меркаптопурин, тioguanin, кладрибин и пентостатин, цитарабин, флударабин); противоопухолевые антибиотики (например, антрациклины, такие как доксорубин, даунорубин, эпирубин и идарубин, митомицин-С, блеомицин, дактиномицин, пликтамицин, стрептозоцин); производные платины (например, цисплатин, оксалиплатин, карбоплатин); алкилирующие средства (например, эстрамустин, меклоретамин, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфид, дакарбазин, циклофосфамид, ифосфамид, темозоломид, нитрозомочевина, такие как, например, кармустин и ломустин, тиотепид); антимитотические средства (например, алкалоиды барвинка, такие как, например, винбластин, винорелбин и винкристин; и таксаны, такие как паклитаксел, доцетаксел); ингибиторы топоизомеразы (например, эписодифоллотоксины, такие как, например, этопозид и этопозид, тенипозид, амсакрин, топотекан, иринотекан, митоксантрон) и различные химиотерапевтические средства, такие как амифостин, анагрелид, клонидин, филграстин, интерферон-альфа, лейковорин, ритуксимаб, прокарбазин, левамизол, месна, митотан, памидронат и порфирин.

Подходящие препараты включают, например, таблетки, капсулы, суппозитории, растворы - предпочтительно растворы для инъекции (подкожной, внутривенной, внутримышечной) и вливания - эликсиры, эмульсии или диспергирующиеся порошки. Содержание фармацевтически активного соединения (соединений) должно находиться в диапазоне от 0,1 до 90 мас.%, предпочтительно от 0,5 до 50 мас.% от массы композиции в целом, т.е. должно являться количеством, достаточным для обеспечения указанного ниже диапазона доз. Указанные дозы при необходимости можно вводить несколько раз в сутки.

Подходящие таблетки можно изготовить, например, путем смешивания активного вещества (веществ) с известными инертными наполнителями, например инертными разбавителями, такими как карбонат кальция, фосфат кальция или лактоза, разрыхлителями, такими как кукурузный крахмал или альгиновая кислота, связующими, такими как крахмал или желатин, смазывающими веществами, такими как стеарат магния или тальк, и/или агентами для замедления высвобождения, такими как карбоксиметилцеллюлоза, ацетат-фталат целлюлозы или поливинилацетат. Таблетки также могут содержать несколько слоев.

Таблетки с покрытием можно изготовить путем нанесения на ядра, полученные аналогично таблеткам, покрытия из вещества, обычно используемого для нанесения на таблетки, например коллоидона или шеллака, гуммиарабика, талька, диоксида титана или сахара. Для обеспечения замедленного высвобождения и предупреждения несовместимости ядро также может состоять из нескольких слоев. Аналогичным образом, покрытие таблетки может состоять из ряда слоев, обеспечивающих замедленное высвобождение, возможно, с включением инертных наполнителей, указанных выше для таблеток.

Сиропа и эликсиры, содержащие активные вещества или их комбинации, предлагаемые в настоящем изобретении, могут дополнительно содержать подсластитель, такой как сахарин, цикламат, глицерин или сахар, и усилитель вкуса, например ароматизатор, такой как ванилин или апельсиновый экстракт. Они также могут содержать суспендирующие вспомогательные вещества или загустители, такие как натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, смазывающие агенты, такие как, например, продукты конденсации жирных спиртов с этиленоксидом, или консерванты, такие как п-гидроксibenзоаты.

Растворы для инъекции и вливания готовят обычным образом, например путем добавления изотонических агентов, консервантов, таких как п-гидроксibenзоаты, или стабилизаторов, таких как соли щелочных металлов этилендиаминтетрауксусной кислоты, необязательно с использованием эмульгаторов и/или диспергирующих агентов, хотя если в качестве разбавителя используют воду, то в качестве сольватирующих или растворяющих средств необязательно можно использовать органические растворители и помещать во флаконы или ампулы для инъекции или бутылки для вливания.

Капсулы, содержащие одно или более активных веществ или комбинации активных веществ, например, можно изготовить путем смешивания активных веществ с инертными носителями, такими как лактоза или сорбит, и их помещения в капсулы из желатина.

Подходящие суппозитории, например, можно изготовить путем смешивания с носителями, предназначенными для этой цели, такими как нейтральные жиры или полиэтиленгликоль или его производные.

Инертные наполнители, которые можно использовать, включают, например, воду, фармацевтически приемлемые органические растворители, такие как парафины (например, фракции нефти), растительные масла (например, арахисовое или кунжутное масло), одно- или многоатомные спирты (например, этанол или глицерин), носители, такие как, например, порошкообразные природные минералы (например, каолины, глины, тальк, мел), порошкообразные синтетические минералы (например, высокодисперсная кремниевая кислота и силикаты), сахара (например, тростниковый сахар, лактоза и глюкоза), эмульгаторы (например, лигнин, отработанные сульфитные щелоки, метилцеллюлоза, крахмал и поливинилпирролидон) и смазывающие вещества (например, стеарат магния, тальк, стеариновая кислота и лаурилсульфат натрия).

Препараты можно вводить обычным путем, предпочтительно пероральным или чрескожным, наиболее предпочтительно пероральным путем. Разумеется, в случае перорального введения наряду с указанными выше носителями таблетки могут содержать добавки, такие как цитрат натрия, карбонат кальция и дикальцийфосфат совместно с различными добавками, такими как крахмал, предпочтительно картофельный крахмал, желатин и т.п. Кроме того, при таблетировании одновременно можно использовать смазывающие вещества, такие как стеарат магния, лаурилсульфат натрия и тальк. В случае водных суспензий в дополнение к указанным выше инертным наполнителям активные вещества можно объединять с различными усилителями вкуса и красителями.

Для парентерального введения можно использовать растворы активных веществ в подходящих жидких носителях.

Доза для внутривенного введения составляет 1-1000 мг/ч, предпочтительно 5-500 мг/ч.

Однако иногда в зависимости от массы тела, пути введения, индивидуальной реакции на лекарственное средство, характера композиции и времени введения или промежутка между введениями лекарственного средства может потребоваться отклонение от указанных количеств. Таким образом, в некоторых случаях может быть достаточным введение дозы, меньшей, чем указанная выше минимальная, тогда как в других случаях может потребоваться превышение верхнего предельного количества. При введении больших количеств можно рекомендовать их разделение на несколько меньших доз, вводимых в течение суток.

Приведенные ниже примеры препаратов иллюстрируют настоящее изобретение, не ограничивая его объем.

Примеры фармацевтических составов.

А) Таблетки	На 1 таблетку
активное, указанное выше вещество	100 мг
лактоза	140 мг
кукурузный крахмал	240 мг
поливинилпирролидон	15 мг
стеарат магния	5 мг
	500 мг

Смешивают тонкоизмельченное активное вещество, лактозу и часть кукурузного крахмала. Смесь просеивают, затем увлажняют водным раствором поливинилпирролидона, замешивают, подвергают мокрой грануляции и сушат. Гранулы, оставшийся кукурузный крахмал и стеарат магния просеивают и перемешивают. Смесь прессуют с получением таблеток подходящей формы и размера.

В) Таблетки	На 1 таблетку
активное, указанное выше вещество	80 мг
лактоза	55 мг
кукурузный крахмал	190 мг
микrokристаллическая целлюлоза	35 мг
поливинилпирролидон	15 мг
натриевая соль	
карбоксиметилкрахмала	23 мг
стеарат магния	2 мг
	400 мг

Смешивают тонкоизмельченное активное вещество, часть кукурузного крахмала, лактозу, микрокристаллическую целлюлозу и поливинилпирролидон, смесь просеивают и обрабатывают оставшимся кукурузным крахмалом и водой и получают гранулят, который сушат и просеивают. Добавляют натриевую соль карбоксиметилкрахмала и стеарат магния и перемешивают и смесь прессуют с получением таблеток подходящего размера.

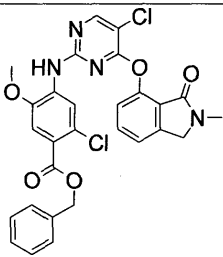
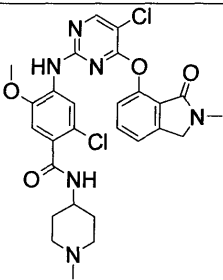
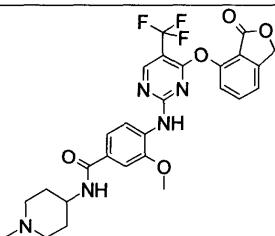
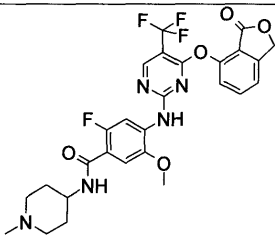
С) Раствор для ампул:

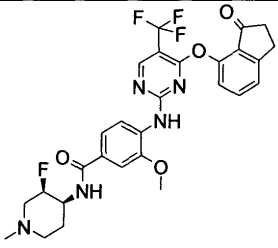
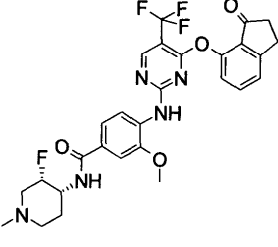
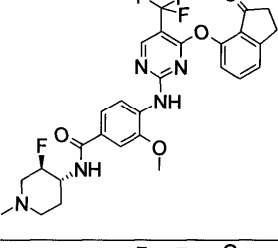
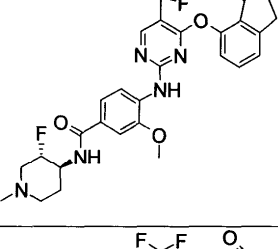
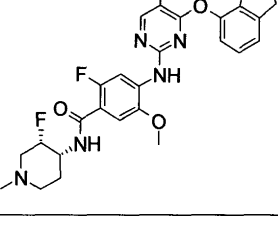
активное, указанное выше вещество	50 мг
хлорид натрия	50 мг
вода для инъекции	5 мл

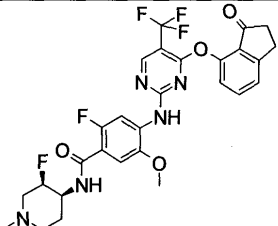
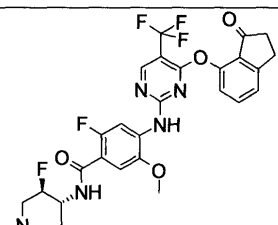
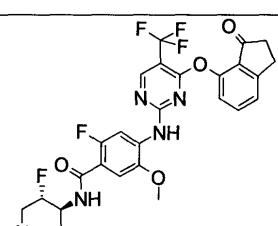
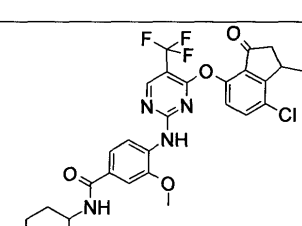
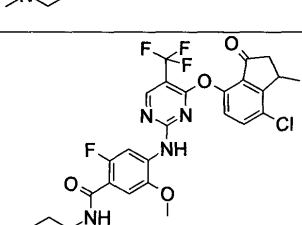
Активное вещество растворяют в воде при ее собственном значении pH или необязательно при pH от 5,5 до 6,5 и для получения изотонического раствора добавляют хлорид натрия. Из полученного раствора отфильтровывают пиролены и фильтрат в асептических условиях расфасовывают в ампулы, которые затем стерилизуют и герметично запаивают. Ампулы содержат 5, 25 и 50 мг активного вещества.

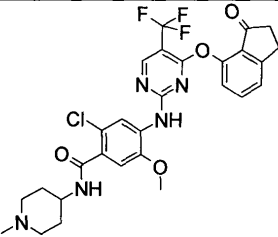
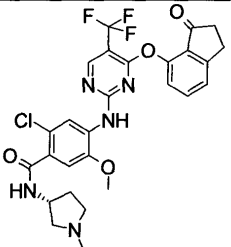
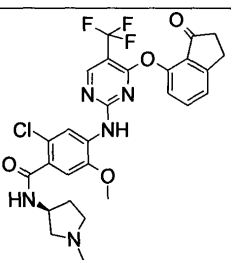
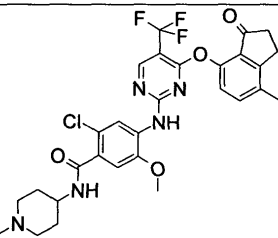
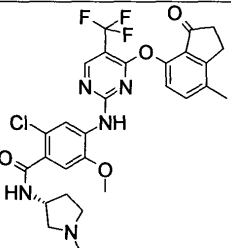
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

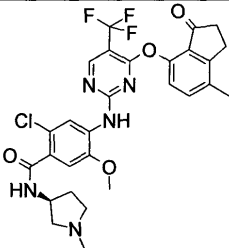
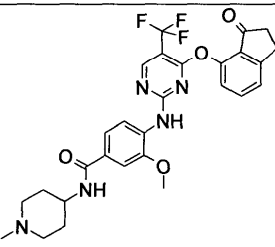
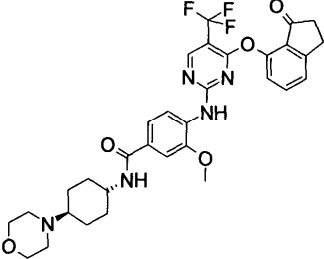
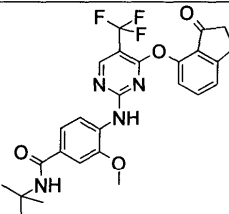
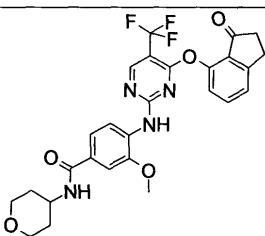
1. Соединение или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой, выбранное из группы, включающей:

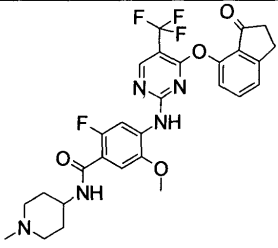
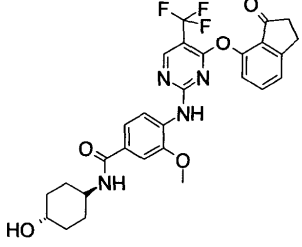
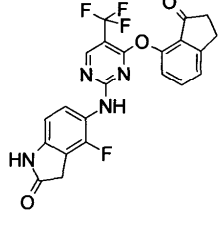
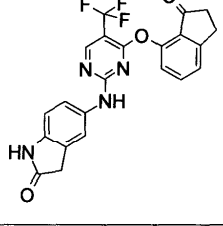
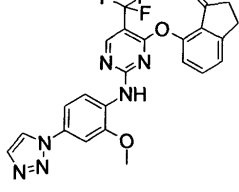
1	
2	
3	
4	

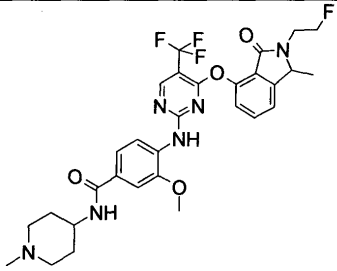
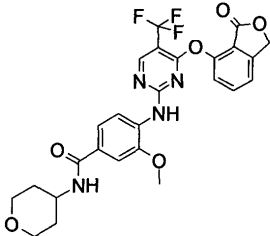
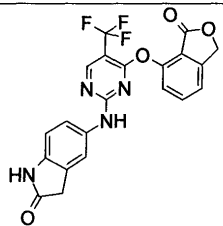
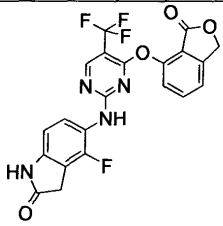
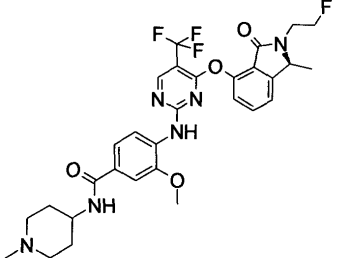
5	
6	
7	
8	
9	

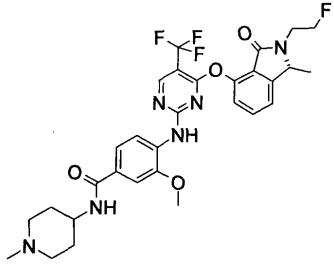
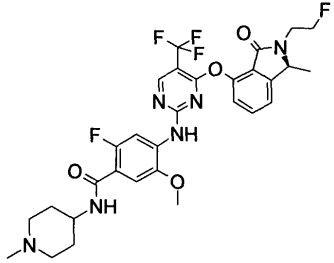
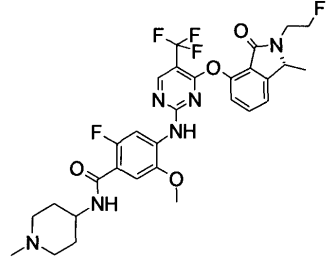
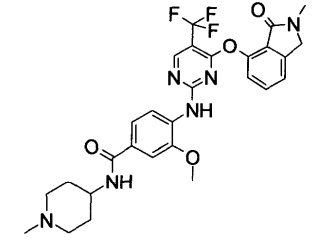
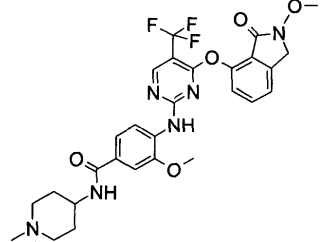
10	
11	
12	
13	
14	

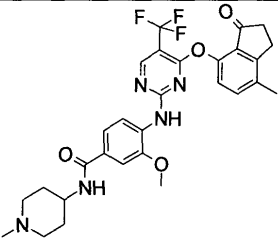
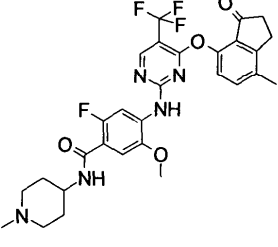
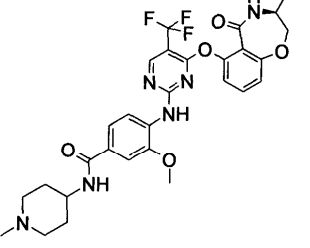
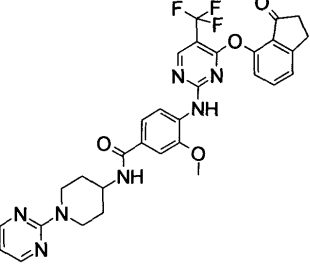
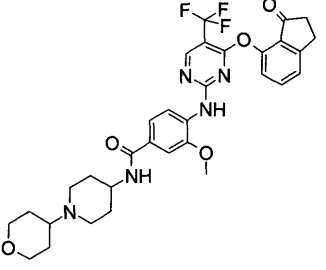
15	
16	
17	
18	
19	

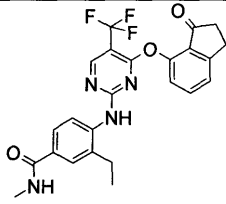
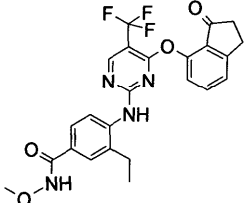
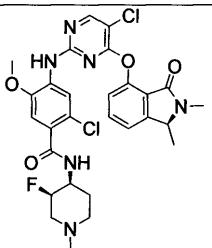
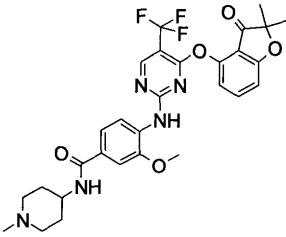
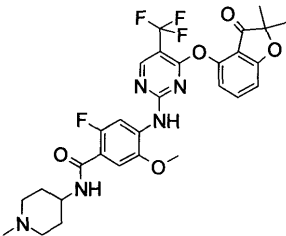
20	
21	
22	
23	
24	

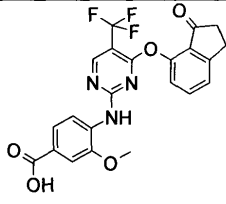
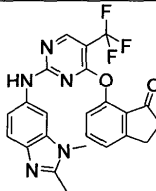
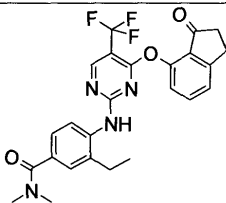
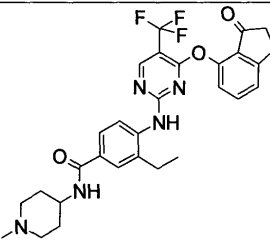
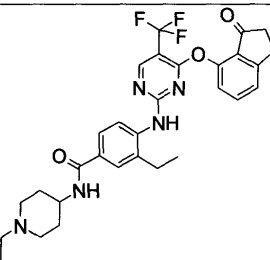
25	 <chem>COc1cc(F)cc(NC(=O)N2CCNCC2)c1-c1nn(C2C(=O)c3ccccc3O2)c1C(F)(F)F</chem>
26	 <chem>COc1cc(F)cc(NC(=O)N2CC[C@H](O)CC2)c1-c1nn(C2C(=O)c3ccccc3O2)c1C(F)(F)F</chem>
27	 <chem>COc1cc(F)cc(NC(=O)N2CC[C@H](O)CC2)c1-c1nn(C2C(=O)c3ccccc3O2)c1C(F)(F)F</chem>
28	 <chem>COc1cc(F)cc(NC(=O)N2CC[C@H](O)CC2)c1-c1nn(C2C(=O)c3ccccc3O2)c1C(F)(F)F</chem>
29	 <chem>COc1cc(F)cc(NC(=O)N2CC[C@H](O)CC2)c1-c1nn(C2C(=O)c3ccccc3O2)c1C(F)(F)F</chem>

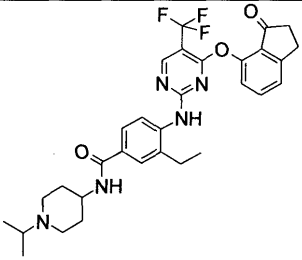
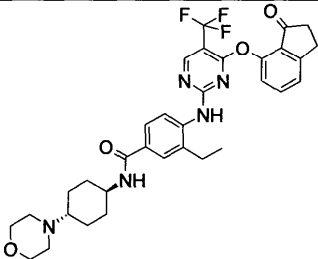
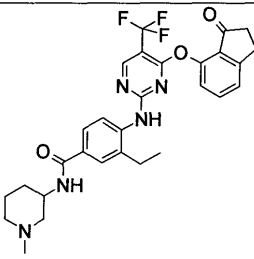
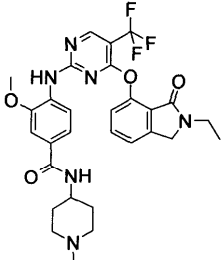
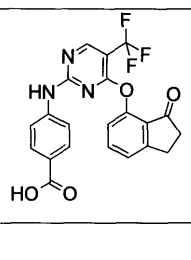
30	
31	
32	
33	
34	

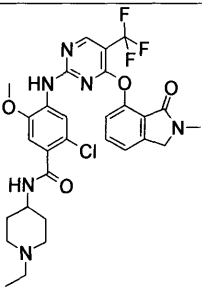
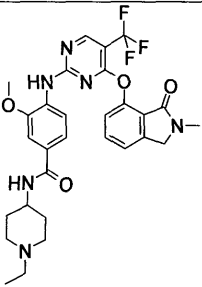
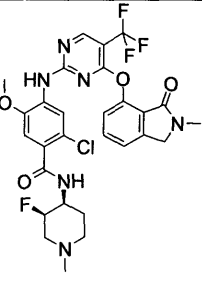
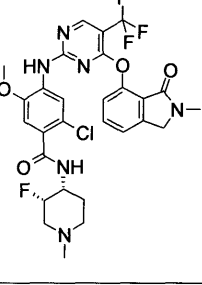
35	
36	
37	
38	
39	

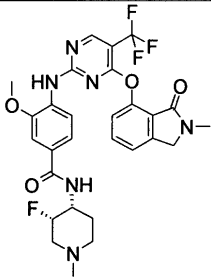
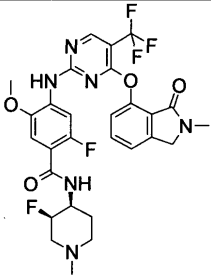
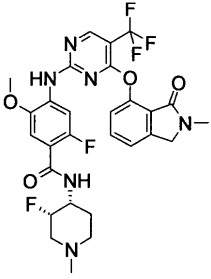
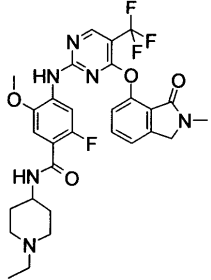
40	
41	
42	
43	
44	

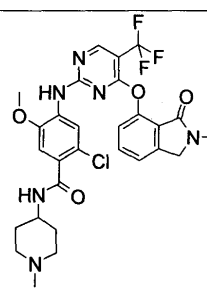
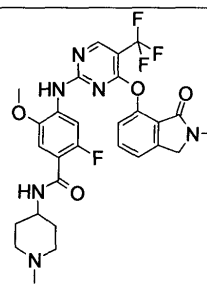
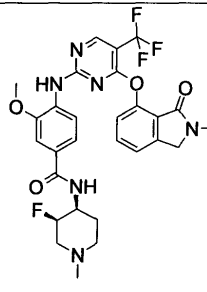
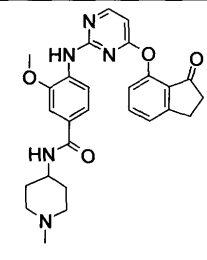
45	 <chem>CCc1ccc(NC(=O)N)cc1Nc2nc3c(ncn3C(F)(F)F)Oc4c5ccccc4C5=O</chem>
46	 <chem>CCc1ccc(NC(=O)NOC)cc1Nc2nc3c(ncn3C(F)(F)F)Oc4c5ccccc4C5=O</chem>
47	 <chem>CN1CCN(C)CC1FNC(=O)c2cc(Cl)c(NC3=NC=C(Cl)N3Oc4c5ccccc4C5=O)c(OC)c2</chem>
48	 <chem>CC1CCNCC1NC(=O)c2cc(OC)c(Nc3nc4c(ncn3C(F)(F)F)Oc5c6ccccc5C6=O)cc2</chem>
49	 <chem>CC1CCNCC1NC(=O)c2cc(OC)c(Nc3nc4c(ncn3C(F)(F)F)Oc5c6ccccc5C6=O)c(F)c2</chem>

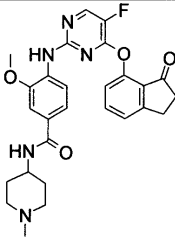
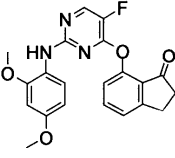
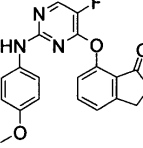
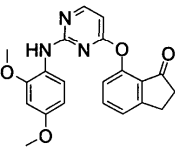
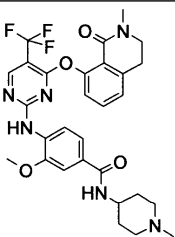
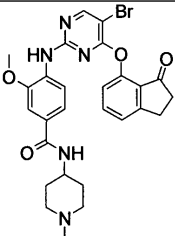
50	 <chem>COc1cc(cc(c1C(=O)O)Nc2nc3cc(ccc3n2)C(F)(F)c4cc5c(cc4)oc6ccccc65=O)</chem>
51	 <chem>COc1cc(cc(c1C(=O)O)Nc2nc3cc(ccc3n2)C(F)(F)c4cc5c(cc4)oc6ccccc65=O)N7C8C9C(C8)N(C9)C10C(C7)N(C10)C(F)(F)c11cc12c(cc11)oc13ccccc1312=O</chem>
52	 <chem>CCc1cc(cc(c1Nc2nc3cc(ccc3n2)C(F)(F)c4cc5c(cc4)oc6ccccc65=O)NC(C)C)C</chem>
53	 <chem>CCc1cc(cc(c1Nc2nc3cc(ccc3n2)C(F)(F)c4cc5c(cc4)oc6ccccc65=O)C(=O)Nc7cc8c(cc7)oc9ccccc98=O)N(C)CC</chem>
54	 <chem>CCc1cc(cc(c1Nc2nc3cc(ccc3n2)C(F)(F)c4cc5c(cc4)oc6ccccc65=O)C(=O)Nc7cc8c(cc7)oc9ccccc98=O)NCC</chem>

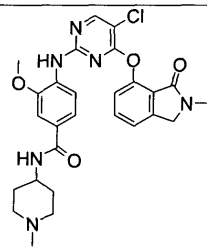
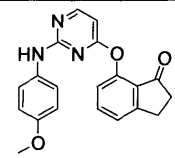
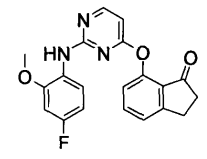
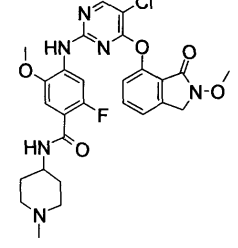
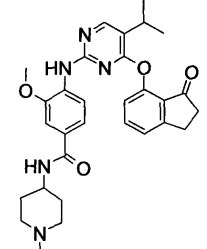
55	
56	
57	
58	
59	

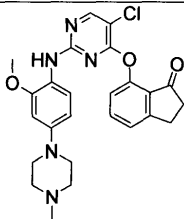
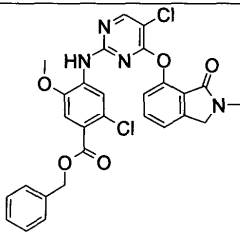
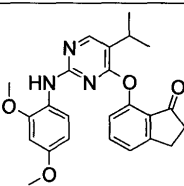
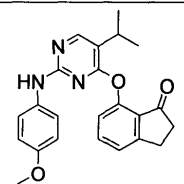
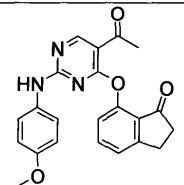
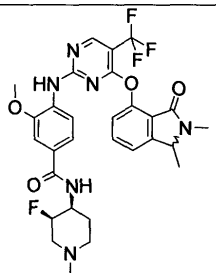
60	
61	
62	
63	

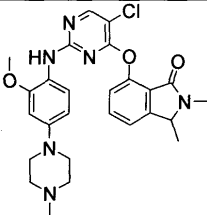
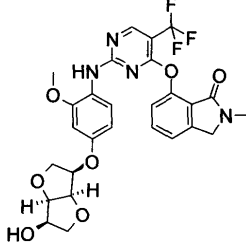
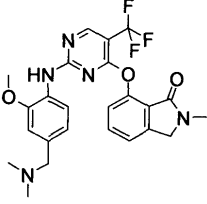
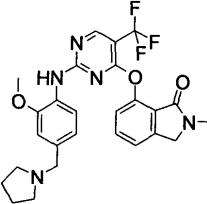
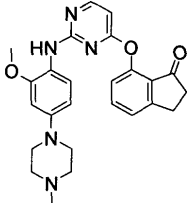
64	
65	
66	
67	

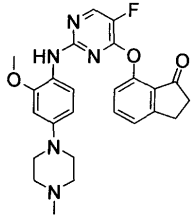
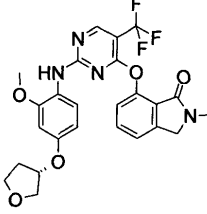
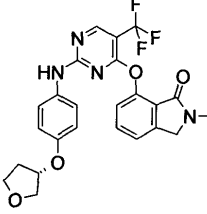
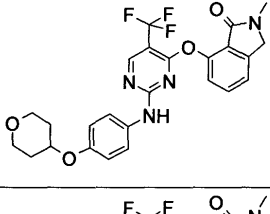
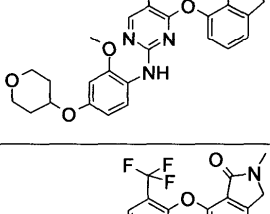
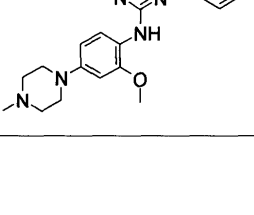
68	
69	
70	
71	

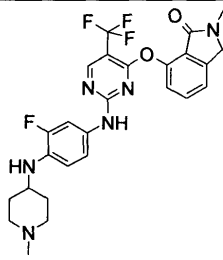
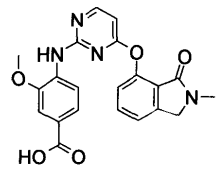
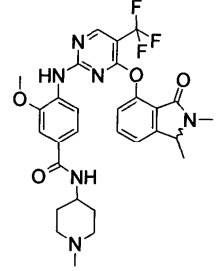
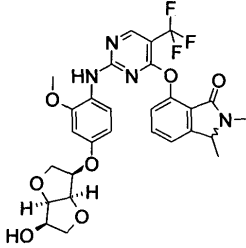
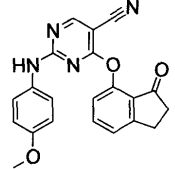
72	
73	
74	
75	
76	
77	

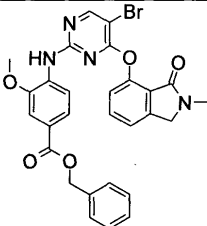
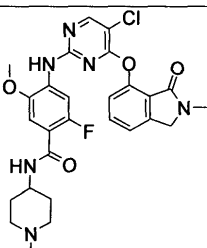
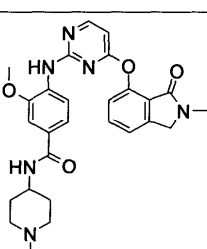
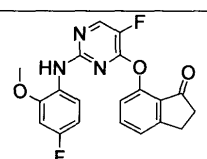
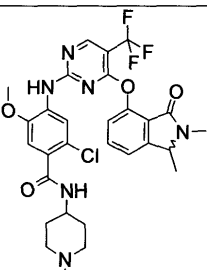
78	
79	
80	
81	
82	

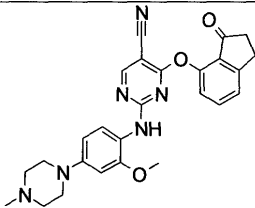
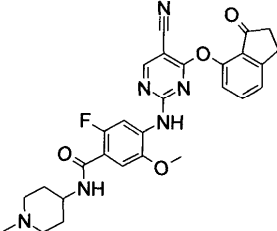
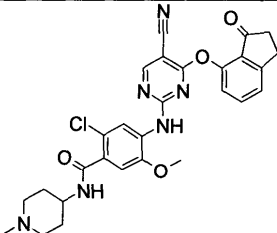
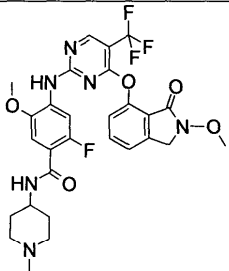
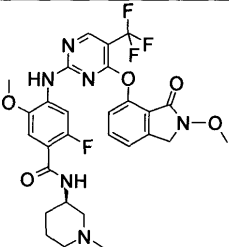
83	
84	
85	
86	
87	
88	

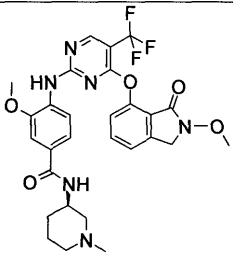
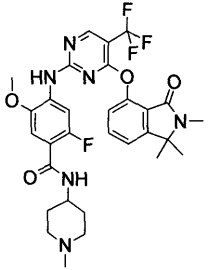
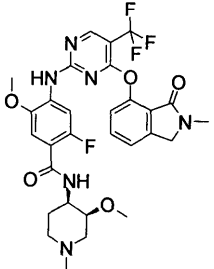
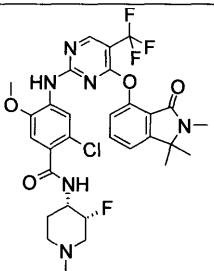
89	
91	
93	
94	
95	

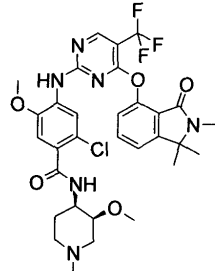
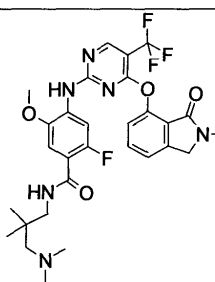
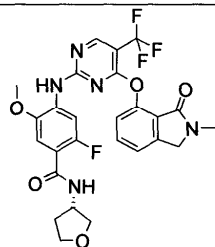
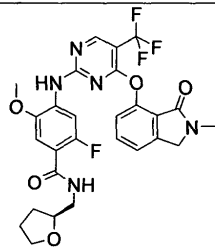
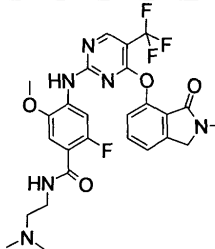
96	
97	
98	
99	
100	
101	

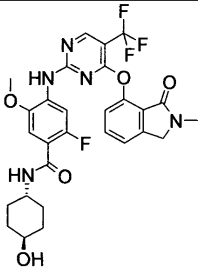
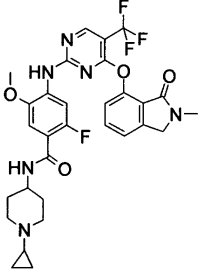
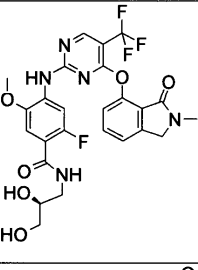
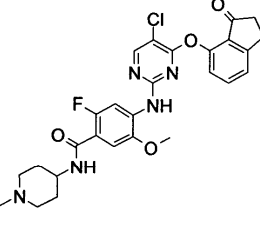
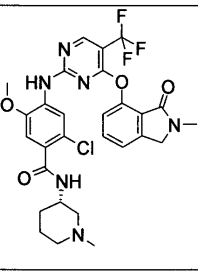
102	
103	
104	
105	
106	

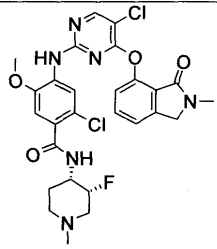
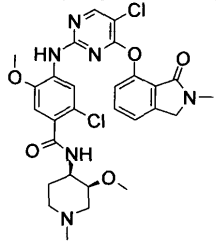
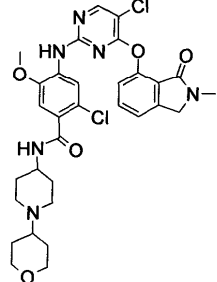
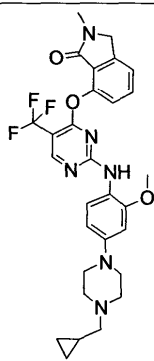
107	
108	
109	
110	
111	

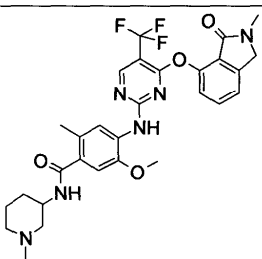
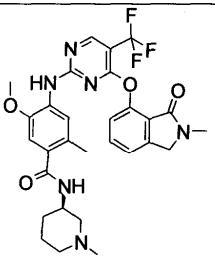
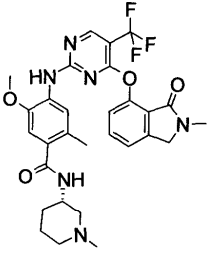
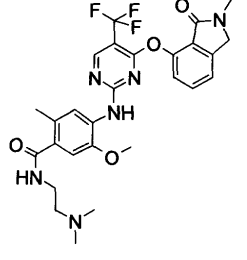
112	
113	
114	
115	
116	

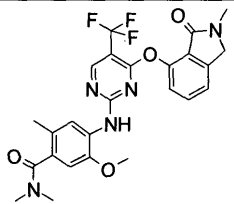
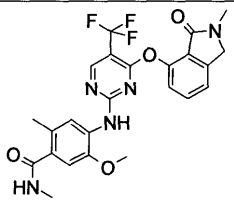
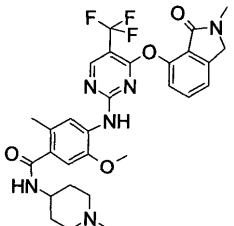
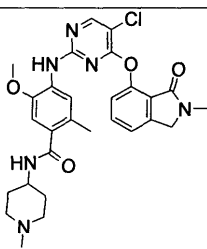
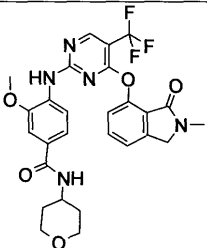
117	
118	
119	
120	

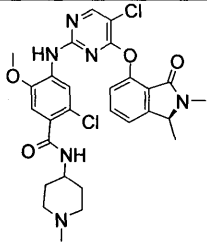
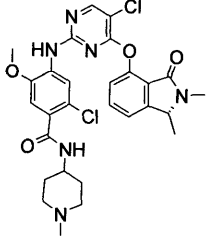
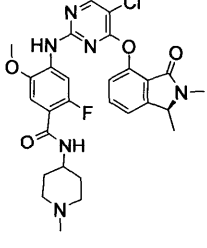
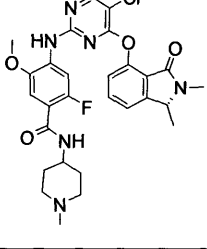
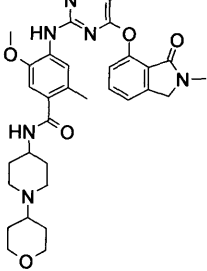
121	
122	
123	
124	
125	

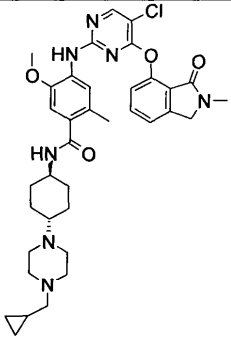
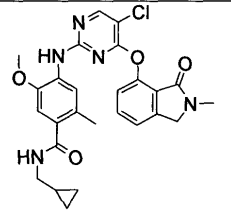
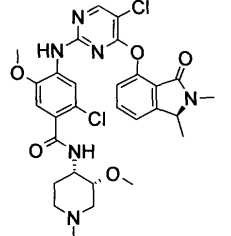
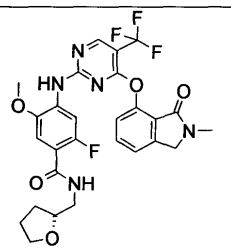
126	
127	
128	
129	
130	

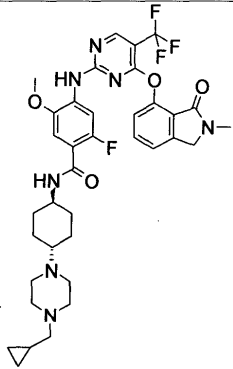
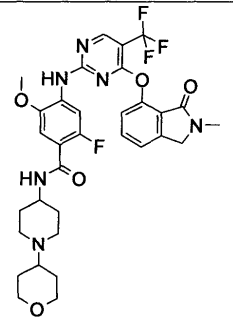
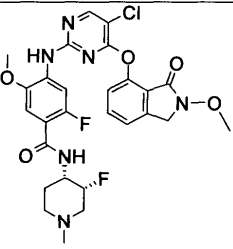
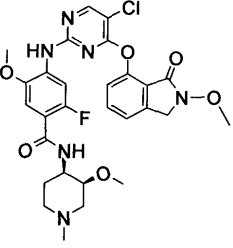
131	
132	
133	
134	

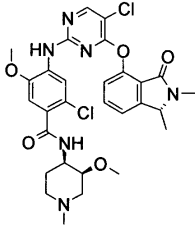
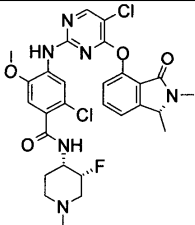
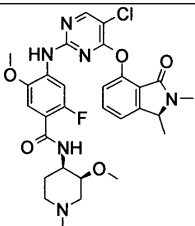
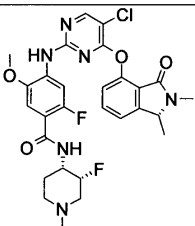
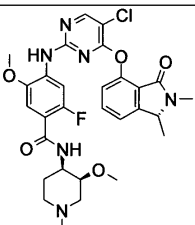
135	
136	
137	
138	
139	

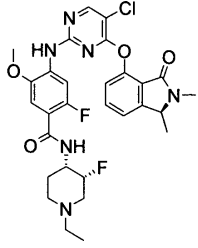
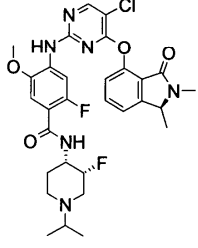
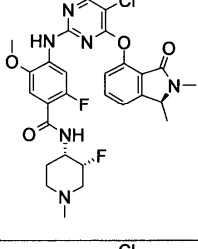
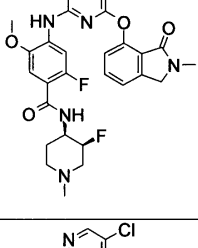
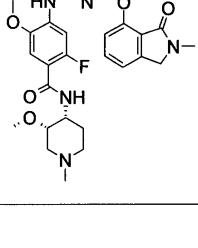
140	
141	
142	
143	
144	

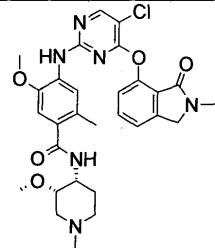
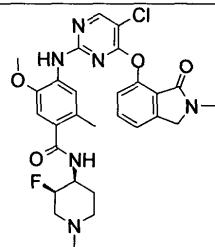
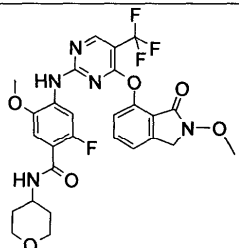
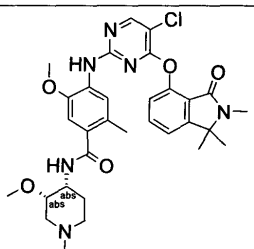
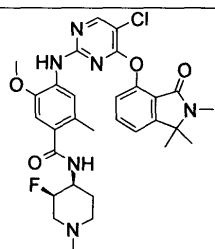
145	
146	
147	
148	
149	

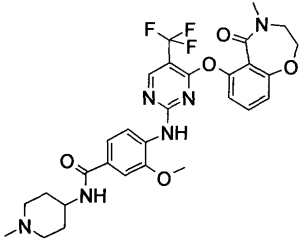
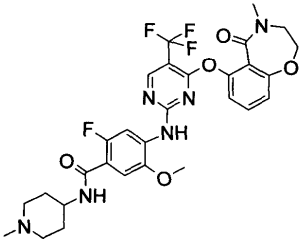
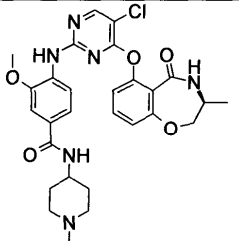
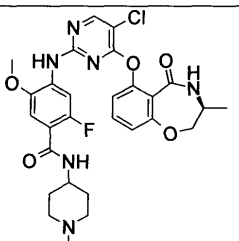
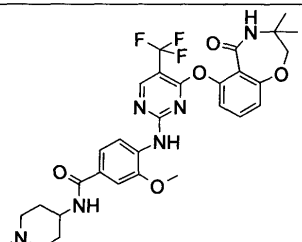
150	
151	
152	
153	

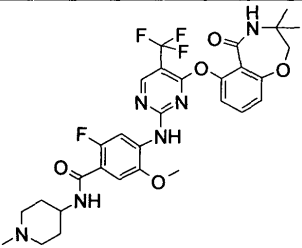
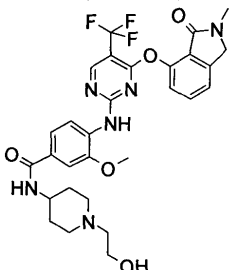
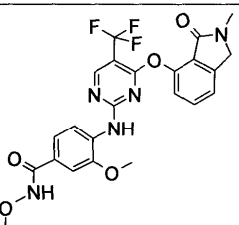
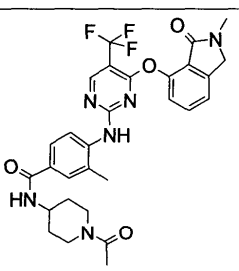
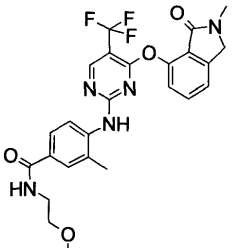
154	
155	
157	
158	

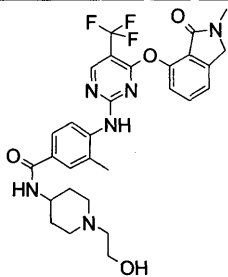
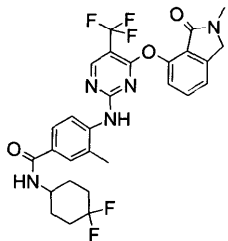
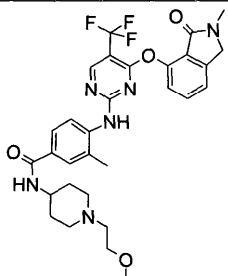
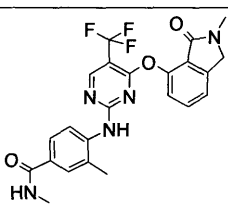
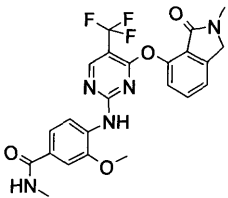
159	
160	
161	
162	
163	

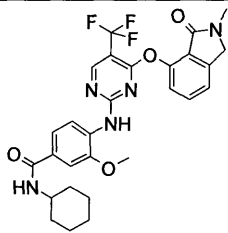
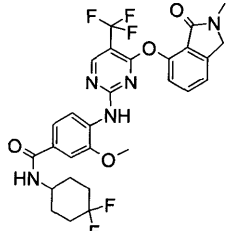
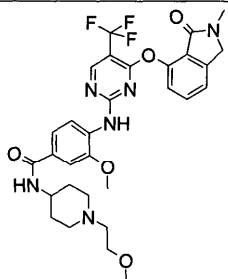
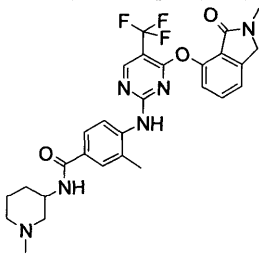
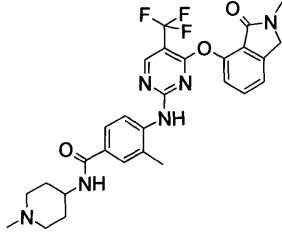
164	
165	
166	
167	
168	

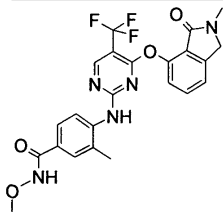
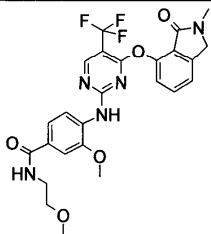
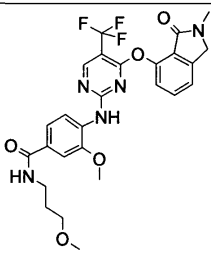
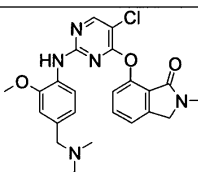
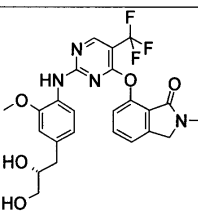
169	
170	
171	
172	
173	

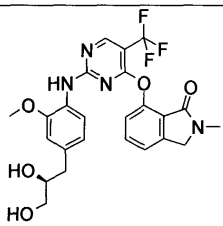
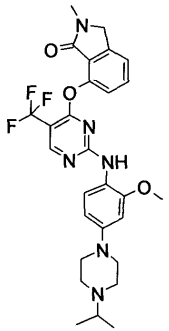
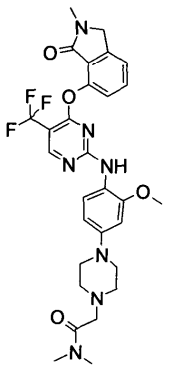
174	
175	
176	
177	
178	

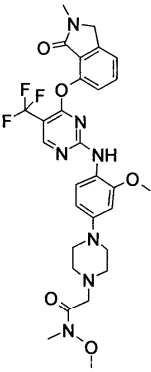
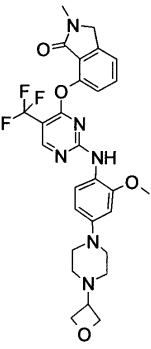
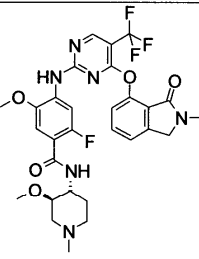
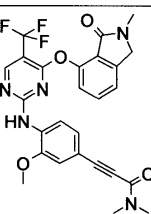
179	
180	
181	
182	
183	

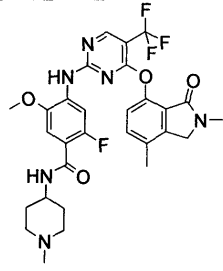
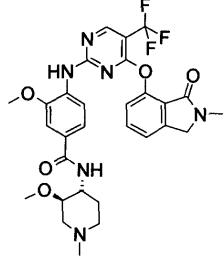
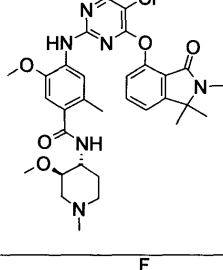
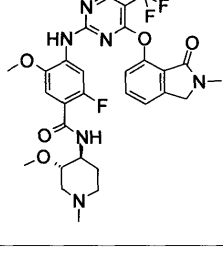
184	
185	
186	
187	
188	

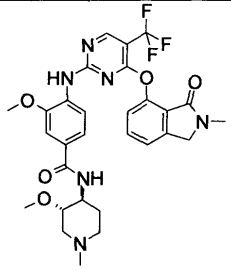
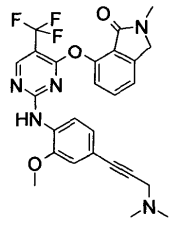
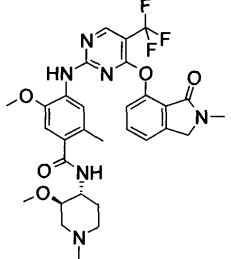
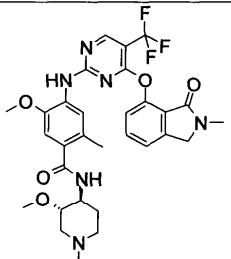
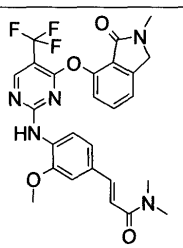
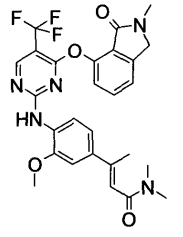
189	
190	
191	
192	
193	

194	
195	
196	
197	
198	

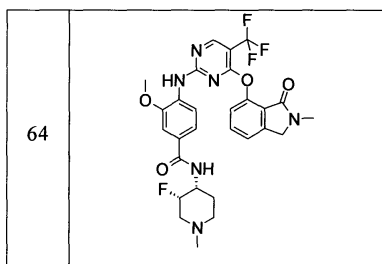
199	
200	
201	

202	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)C(=O)N2c3ccccc3Oc4c(F)c(F)c(Nc5ccc(N6CCN(CC6)CC(=O)N(C)OC)cc5OC)c4</chem>
203	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)C(=O)N2c3ccccc3Oc4c(F)c(F)c(Nc5ccc(N6CCN(CC6)CC(=O)N(C)C)cc5OC)c4</chem>
204	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)C(=O)N2c3ccccc3Oc4c(F)c(F)c(Nc5ccc(N6CCN(CC6)CC(=O)N(C)OC)cc5OC)c4</chem>
205	 <chem>CN1C=NC2=C(N1)C(=O)N2c3ccccc3Oc4c(F)c(F)c(Nc5ccc(N6CCN(CC6)CC(=O)N(C)OC)cc5OC)c4</chem>

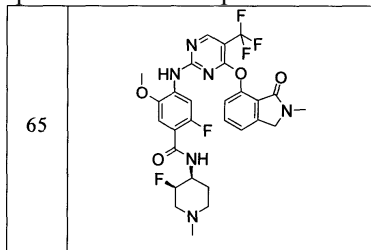
206	
207	
208	
209	

210	
211	
212	
213	
214	
215	

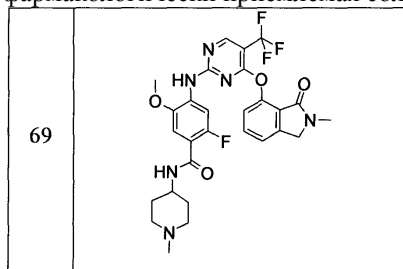
2. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



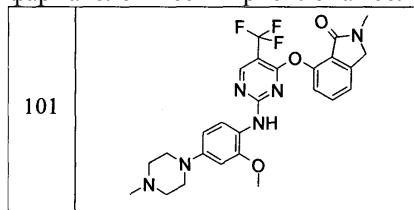
3. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



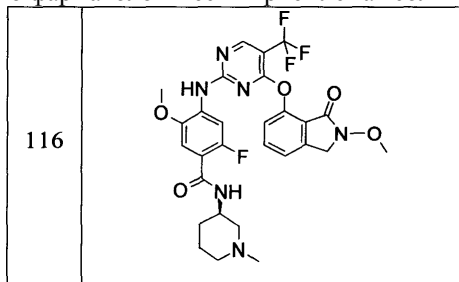
4. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



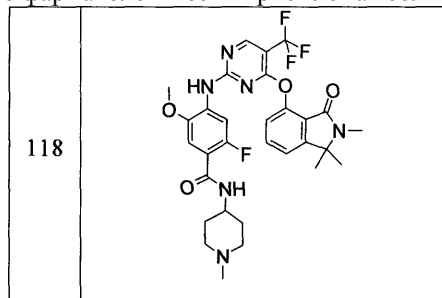
5. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



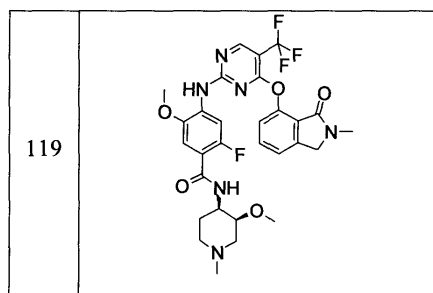
6. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



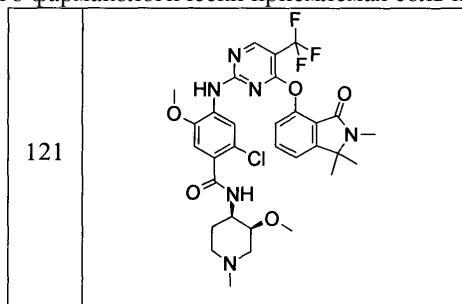
7. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



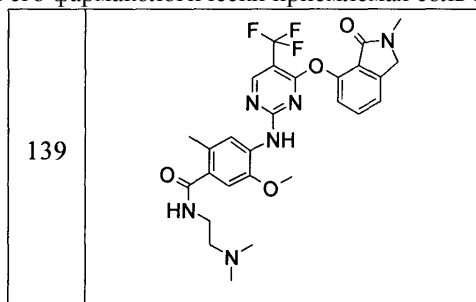
8. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



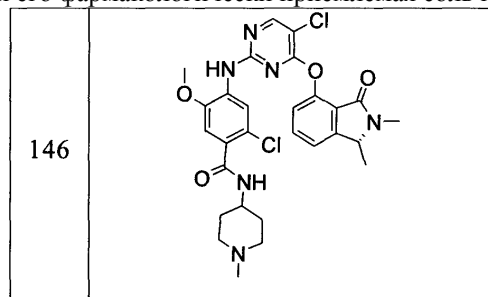
9. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



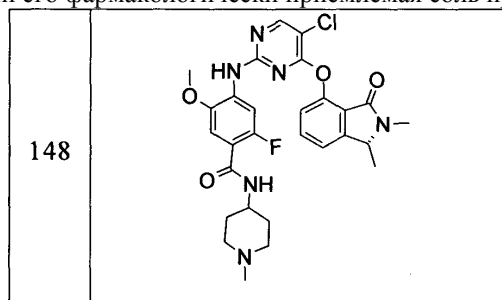
10. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



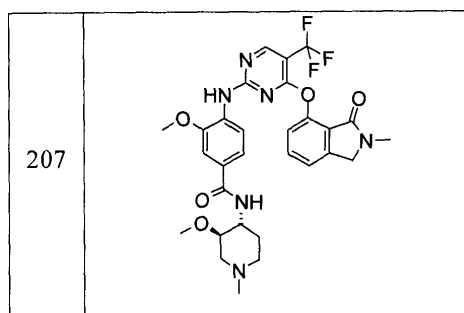
11. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



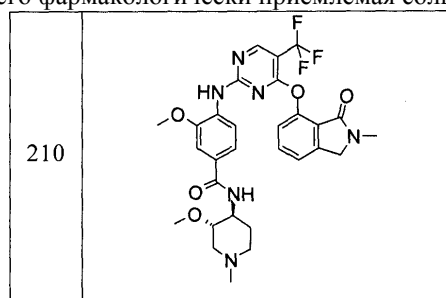
12. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



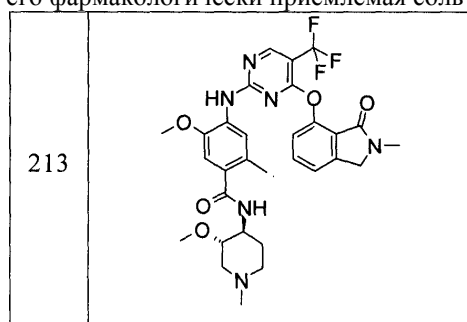
13. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



14. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



15. Соединение по п.1 или его фармакологически приемлемая соль присоединения с кислотой:



16. Применение соединения или его фармакологически приемлемой соли по одному из пп.1-15 в качестве лекарственного средства.

17. Применение соединения или его фармакологически приемлемой соли по одному из пп.1-15 для приготовления лекарственного средства, обладающего антипролиферативной и/или проапоптотической активностью.

18. Фармацевтический препарат, содержащий в качестве активного вещества одно или более соединений по одному из пп.1-15 или их фармакологически приемлемые соли в комбинации с обычными инертными наполнителями и/или носителями.

19. Применение соединения по одному из пп.1-15 для приготовления фармацевтической композиции, предназначенной для лечения и/или предупреждения рака, инфекционных, воспалительных и аутоиммунных заболеваний.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2