

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11)

026674

(13)

B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации
и выдачи патента: **2017.05.31**

(21) Номер заявки: **201200102**

(22) Дата подачи: **2010.07.08**

(51) Int. Cl. **C07D 285/08** (2006.01)
C07D 417/10 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
A61K 31/433 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЯ, ПРИМЕНИМЫЕ В КАЧЕСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

(31) **61/213,735**

(32) **2009.07.08**

(33) **US**

(43) **2012.08.30**

(86) **PCT/GB2010/001315**

(87) **WO 2011/004162 2011.01.13**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БАЛТИК БИО АБ (SE)

(72) Изобретатель:
**Вестман Якоб (SE), Халлет Аллан (GB),
Вагберг Ян (SE)**

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(56) MANNA, PARESH ET AL.: "1,2,4-Thiadiazolidine derivative inhibits nuclear transcription factor- κ B and its dependent genes activation but induces apoptosis", INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, CODEN: IJCNW; ISSN: 0020-7136, vol. 113, no. 4, 2005, pages 549-560, XP002611423, the whole document; in particular, page 550, figure 1, and page 559, second column, third paragraph

L'ABBE, GERRIT ET AL.: "1,3-Dipolar cycloadditions of alkylazides with picrylisothiocyanate: isolation of stable monoadducts", JOURNAL OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY, CODEN: JHTCAD; ISSN: 0022-152X, vol. 27, no. 4, 1990, pages 1059-1062, XP002611424, page 1060, column 1; compound 7

DATABASE CA [Online]. CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; 2000, SHABAN, M.E. ET AL.: "Conversion of thiobiurets to thiadiazolones and triazinones by oxidative cyclization", XP002611425, retrieved from STN. Database accession no. 2000:904380 the abstract and the compounds with the Registry-Numbers [335240-44-3]-[335240-49-8] & SHABAN, M.E. ET AL.: "Conversion of thiobiurets to thiadiazolones and triazinones by oxidative cyclization", EGYPTIAN JOURNAL OF CHEMISTRY, CODEN: EGJCA3; ISSN: 0449-2285, vol. 43, no. 2, 2000, pages 147-163

DATABASE CA [Online]. CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; 2000, BHAGAT, S.K. ET AL.: "Oxidative debenzoylation and cyclization reaction of certain 1-aryl-5-phenyl-2-S-benzyl-2-isothiobiurets: direct synthesis of 5-arylimino-2-phenyl-3-oxo-1,2,4-thiadiazolidines", XP002611426, retrieved from STN. Database accession no. 2000:299972 the

abstract and the compounds with the Registry-Numbers [82845-03-2] and [284688-12-6] & BHAGAT, S.K. ET AL.: "Oxidative debenzoylation and cyclization reaction of certain 1-aryl-5-phenyl-2-S-benzyl-2-isothiobiurets: direct synthesis of 5-arylimino-2-phenyl-3-oxo-1,2,4-thiadiazolidines", INDIAN JOURNAL OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY, CODEN: IJCHEI; ISSN: 0971-1627, vol. 9, no. 3, 2000, pages 237-238

DATABASE CA [Online]. CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; 1996, SHI, DA-QING ET AL.: "Synthesis of 5-arylamino-2-phenyl-2H-1,2,4-thiadiazol-3-ones", XP002611427, retrieved from STN. Database accession no. 1996:64398 the abstract and the compounds with the Registry-Numbers [174681-42-6]-[174681-45-9], [174681-48-2], and [174681-49-3] & SHI, DA-QING ET AL.: "Synthesis of 5-arylamino-2-phenyl-2H-1,2,4-thiadiazol-3-ones", YOUJI HUAXUE, CODEN: YCHDX; ISSN: 0253-2786, vol. 15, no. 6, 1995, pages 615-618

FOULI, F.A. ET AL.: "Addition of arylureas to aroyl isothiocyanates and the synthesis of 1-aryol-5-aryl-2-thiobiurets and 2-aryl-5-(arylamino)-2,3-dihydro-1,2,4-thiadiazol-3-ones", JOURNAL FUER PRAKTISCHE CHEMIE (LEIPZIG), CODEN: JPCEAO; ISSN: 0021-8383, vol. 329, no. 2, 1987, pages 203-208, XP002611428, page 207; compounds 7a-7c

DATABASE CA [Online]. CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; 1982, PANDEY, A.K. ET AL.: "Oxidative deallylation and cyclization of 2-S-allyl-1-aryl-5-phenylisobiurets as an alternative route to the synthesis of 5-arylimino-3-oxo-2-phenyl-1,2,4-thiadiazolidines", XP002611429, retrieved from STN. Database accession no. 1982:509932 the abstract and the compounds with the Registry-Numbers [82845-03-2]-[82845-06-5] & PANDEY, A.K. ET AL.: "Oxidative deallylation and cyclization of 2-S-allyl-1-aryl-5-phenylisobiurets as an alternative route to the synthesis of 5-arylimino-3-oxo-2-phenyl-1,2,4-thiadiazolidines", INDIAN JOURNAL OF CHEMISTRY, SECTION B: ORGANIC CHEMISTRY INCLUDING MEDICINAL CHEMISTRY, CODEN: IJSBDB; ISSN: 0376-4699, vol. 21B, no. 2, 1982, pages 150-152

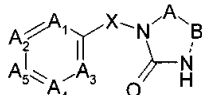
DATABASE REGISTRY [Online]. CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; 1 June 2008 (2008-06-01), XP002611430. Database accession no. 1024140-19-9, the compound with the Registry-Number [1024140-19-9]

WO-A1-0185685

WO-A1-2006045581

WO-A1-2008090356

(57) Согласно настоящему изобретению предоставляется соединение формулы I,



где X, W, A₁-A₅ и D являются такими, как указано в раскрытии изобретения, где данные соединения являются пригодными для лечения рака.

026674

B1

B1

026674

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение касается фармацевтически применимых соединений. Настоящее изобретение также касается применения таких соединений для лечения рака.

Предшествующий уровень техники

АМР-активируемая протеинкиназа (АМРК) представляет собой новую мишень для лечения ряда заболеваний, включая рак.

Избыточное ожирение в разной степени связано с повышенным риском развития разных видов рака, таких как колоректальная аденома, рак молочной железы (после менопаузы), рак эндометрия, рак почек, аденокарцинома пищевода, рак яичников, рак простаты, рак поджелудочной железы, рак желчного пузыря, рак печени и рак шейки матки (Calle and Kaaks (2004), *Nature Reviews Cancer*, 4, 579-591).

В исследованиях было показано, что раковые клетки нуждаются в высоких скоростях синтеза жирных кислот и белков для обеспечения их активного роста и выживания. Исследования показали, что ингибирование пролиферации раковых клеток возможно при применении активаторов АМРК. Данные эффекты связаны со снижением активности mTOR и eEF2. Активаторы АМРК подавляют также синтез липидов в опухолевых клетках. Также было показано, что существует связь между АМРК и другими противораковыми мишенями, такими как активация LKB1 и каспазы-3.

Раковые клетки используют глюкозу с более высокой скоростью по сравнению с нормальными клетками (Warburg O., 1956). Вместо окислительного фосфорилирования в митохондриях для синтеза АТФ раковые клетки метаболизируют глюкозу в процессе гидролиза.

Недавние исследования позволяют предполагать, что гиперинсулинемия среди других факторов коррелирует с заболеваемостью раком толстого кишечника и летальным раком молочной железы и простаты.

Повышенный уровень свободных жирных кислот (FFAs) в плазме крови стимулирует β -клетки поджелудочной железы и является одной из причин гиперинсулинемии.

Было показано, что в случае рака простаты гиперинсулинемия является предполагаемым фактором риска смерти, и эти данные подтверждают, что уровень инсулина может использоваться в качестве маркера для прогноза рака простаты (Hammarsten and Hogstedt (2005) *European Journal of Cancer*, 41, 2887).

Несколько механизмов могут обеспечивать связь гиперинсулинемии с возникновением и исходом рака молочной железы. Во-первых, хроническая гиперинсулинемия приводит к повышенной выработке тестостерона и эстрогена яичниками и ингибированию выработки печенью глобулина, связывающего половые гормоны, то есть к профилю половых гормонов, который ассоциирован с раком молочной железы. Во-вторых, гиперинсулинемия подавляет выработку печенью белка-1, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-1), и вследствие этого увеличивает уровни циркулирующего [в крови] IGF-1, который обладает мощным митогенным действием на ткань молочной железы. В-третьих, инсулин сам по себе обладает прямым митогенным действием на клетки рака молочной железы.

Исследование Hardy et al. ((2005), *J. Biol. Chem.* 280, 13285) показывает, что свободные жирные кислоты прямо стимулируют рост клеток рака молочной железы GPR-40-зависимым способом. Более того, исследования экспрессии, проведенные на изолированной опухолевой ткани из 120 пациентов с раком молочной железы, показывают частую экспрессию GPR40, что подтверждает клиническую значимость данных, полученных Hardy (см., например, Ma et al., *Cancer Cell* (2004) 6, 445).

Другое исследование экспрессии на клиническом материале из пациентов с раком толстой кишки позволяет предполагать, что подобные механизмы могут быть значимыми также и при этих злокачественных заболеваниях (см. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/geo/gds/gds_browser.cgi?gds=1263).

Раковые клетки в целом демонстрируют aberrантный метаболизм по сравнению с нетрансформированными клетками. Опухолевые клетки синтезируют липиды в значительно большей степени, чем их нормальные прототипы, и по другому метаболизируют глюкозу. Предполагается, что этот aberrантный метаболизм может являться терапевтической мишенью. Раковые клетки могут оказаться более чувствительными, чем нетрансформированные клетки, к повреждающему воздействию на один или предпочтительно на несколько путей, контролирующих клеточный метаболизм, что создает определенные терапевтические возможности. Примеры метаболических путей/мишеней включают агенты, нарушающие гликолиз, путь синтеза липидов, агенты, активирующие АМРК, и агенты, нарушающие функцию митохондрий.

АМР-активируемая протеинкиназа (АМРК) представляет собой фермент протеинкиназу, которая состоит из трех белковых субъединиц и активируется гормонами, цитокинами, тренировками и стрессами, которые снижают энергетический статус клетки (например, глюкозное голодание). Активация АМРК усиливает процессы, которые генерируют аденозин-5'-трифосфат (АТФ) (например, окисление жирных кислот), и тормозит другие процессы, такие как синтез жирных кислот, глицеролипидов и белка, которые потребляют АТФ, но не являются остро необходимыми для выживания. В противоположность этому, когда клетки получают постоянный избыток глюкозы, активность АМРК снижается и усиливается синтез жирных кислот, глицеролипидов и белка. Таким образом, АМРК представляет собой фермент протеинкиназу, которая играет важную роль в гомеостазе клеточной энергии. Следовательно, активация АМРК сопряжена с эффектами снижения уровня глюкозы и запускает несколько других биологических

процессов, включая ингибирование синтеза холестерина, липогенеза, синтеза триглицеридов и снижение гиперинсулинемии.

Учитывая сказанное выше, АМРК представляет собой предпочтительную мишень для лечения метаболического синдрома и особенно диабета 2-го типа. АМРК также вовлечена в ряд путей, которые являются важными для многих разных заболеваний (например, АМРК также вовлечена в ряд путей, которые являются важными при заболеваниях ЦНС, фиброзе, остеопорозе, сердечной недостаточности и половой дисфункции).

АМРК также вовлечена в ряд путей, которые являются важными при раке. Некоторые супрессоры опухолей являются частью пути АМР. АМРК действует как отрицательный регулятор TOR млекопитающих (mTOR) и пути EF2, которые представляют собой ключевые регуляторы клеточного роста и пролиферации. Таким образом, нарушение регулирования может быть связано с заболеваниями, такими как рак (а также диабет). Следовательно, активаторы АМРК могут применяться в качестве противораковых лекарств.

Известно, что имеющиеся противодиабетические лекарства (например, метформин, глитазоны) не являются достаточно сильными активаторами АМРК, и активируют АМРК не прямо и с низкой эффективностью. Однако вследствие биологических эффектов, связанных с активацией АМРК на клеточном уровне, соединения, которые являются активаторами АМРК, и предпочтительно прямыми активаторами АМРК, могут найти применение в качестве противораковых лекарств, а также в качестве лекарств для лечения многих других заболеваний.

Упоминание или обсуждение явно опубликованного ранее документа в настоящем описании не должно обязательно рассматриваться как подтверждение того, что данный документ является частью уровня техники или обычным общеизвестным фактом.

Повсюду в раскрытии настоящего изобретения различные публикации, патенты и опубликованные заявки на патенты указаны посредством ссылок, позволяющих их идентифицировать. Таким образом, раскрытие этих публикаций, патентов и опубликованных заявок на патенты включается в настоящее изобретение путем отсылки с целью более полного описания уровня техники, к которой относится настоящее изобретение.

Keilen et al., *Ada Chem. Scand.* 1988, B42, 362-366 описывают получение 1,2,4-тиадиазол активированных пиримидинонов. Также раскрываются конкретные 1,2,4-тиадиазол-3-оны. Однако данный документ не раскрывает никаких биологических эффектов, связанных с раскрываемыми соединениями, и не раскрывает 1,2,4-тиадиазол-3-оны, замещенные по 5-му положению производным амида или амина, несущим по меньшей мере одно замещенное ароматическое кольцо.

Kaugars et al., *J. Org. Chem.* 1979, 44(22), 3840-3843 описывают замещенные производными 5-фенил- и 5-метилфенилмочевины производные 1,2,4-тиадиазол-3-она, которые замещены по 2-му положению метильной группой. Однако нет никаких упоминаний о каких-либо биологических эффектах, связанных с раскрываемыми соединениями.

Cho et al. *J. Heterocyclic Chem.* 1991, 28, 1645-1649 раскрывают различные 1,2,4-тиадиазол-3-оны. Однако не раскрываются такие 1,2,4-тиадиазол-3-оны, которые содержат по 2-му и по 5-му положению заместители, несущие ароматическое кольцо.

Патент США 4093624 описывает соединения 1,2,4-тиадиазолидин-3-она, раскрываемые как обладающие противомикробной активностью, которые являются замещенными -NH₂ или -NHAc по 5-му положению и Н или рибофуранозилами по 2-му положению. Однако нет раскрытия 1,2,4-тиадиазол-3-онов, в которых 2-е положение и 5-е положение содержат заместители, несущие ароматическое кольцо.

Castro et al., *Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 495-510 описывают производные тиадиазолидинона в качестве ингибиторов GSK-3 β , которые являются потенциально пригодными для лечения болезни Альцгеймера. Однако нет упоминания о том, что такие соединения могут быть применимы в качестве активаторов АМРК. Кроме того, нет упоминания о 1,2,4-тиадиазол-3-онах, замещенных по 5-му положению производным амида или амина, несущим по меньшей мере одно замещенное ароматическое кольцо.

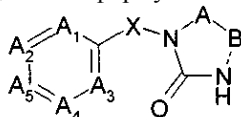
Martinez et al. *Bioorg. Med. Chem.* 1997, 7, 1275-1283 описывают производные арилимино-1,2,4-тиадиазолидинона в качестве агентов, открывающих калиевые каналы, которые являются потенциально применимыми для лечения заболеваний, в которые вовлечено сокращение гладких мышц (например, гипертензии). Однако нет раскрытия таких тиадиазолидинонов, замещенных по 2-му положению ароматической группой.

Заявка на патент США с номером публикации 2003/0195238 описывает производные тиадиазолидина в качестве ингибиторов GSK-3 β , которые являются потенциально пригодными для лечения болезни Альцгеймера. Однако этот документ, главным образом, касается тиадиазолидинов, замещенных двумя карбонильными/тиокарбонильными группами (таким образом, образующих, например, 3,5-диоксо-тиадиазолидин или 3-тиоксо-5-оксо-тиадиазолидин). Кроме того, этот документ, главным образом, касается соединений, в которых оба атома азота тиадиазолидина являются замещенными. Данный документ не касается тиадиазолидинов, замещенных по 2-му положению группой, несущей ароматическую группу, и по 5-му положению производным амина или амида, несущим ароматическую группу.

Международные заявки на патент WO 2007/010273 и WO 2007/010281 обе раскрывают, например, соединения тиазолидин-4-он и 1,1-диоксо-1,5-дигидро-[1,4,2]дитиазол, которые могут выступать в качестве антагонистов стимулирующего эффекта FFAs на клеточную пролиферацию при испытании в опытах с использованием клеточной линии рака молочной железы человека (MDA-MB-231). Таким образом, такие соединения рассматриваются для лечения рака и/или в качестве модуляторов действия FFAs. Однако эти документы не раскрывают или не рассматривают тиадизолидинонов.

Сущность изобретения

Изобретение касается соединений формулы I



где

A представляет собой C(=N-W-D) или S;

B представляет собой S или C(-NH-W-D);

когда

A представляет собой C(=N-W-D) и B представляет собой S, тогда связь между B и атомом NH представляет собой одинарную связь; или

A представляет собой S и B представляет собой C(-NH-W-D), тогда связь между B и атомом NH представляет собой двойную связь;

X представляет собой -Q-[CR^xR^y]_n-;

W представляет собой -[CR^xR^y]_m- или -C(O)-[CR^xR^y]_p-;

Q представляет собой связь, -N(R^a)-, -S- или -O-;

A₁-A₅ соответственно представляют собой C(R¹), C(R²), C(R³), C(R⁴) и C(R⁵);

D представляет собой фенил, пиридил или пиримидил, необязательно замещенный одной или более R⁶ группами;

R^x и R^y, в каждом случае, когда здесь используются, независимо друг от друга выбираются из H, фтора, C₁₋₆ алкила (необязательно замещенного одним или более атомами фтора), арила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена) или R^x и R^y связаны вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием неароматического 3-8-членного кольца, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из: фтора или C₁₋₆ алкила;

R¹-R⁵ независимо друг от друга представляют собой -CN, -N(R^{7a})R^{7b}, -N(R⁷)₃⁺, -SR⁷, H, галоген, -R⁷, -CF₃, -C(O)-N(R^{7a})R^{7b}, -OR⁷ или гетероарил (где гетероарильная группа является необязательно замещенной одной или более группами, выбираемыми из галогена и R¹⁶);

R⁶ независимо представляет собой, в каждом случае, когда здесь используется, -NO₂, -NR⁹R¹⁰, -SR¹¹, циано, галоген, -R¹⁶ или -OR⁸;

R⁷, в каждом случае, когда здесь используется, выбирается из H или C₁₋₆ алкила, необязательно замещенного одним или более атомами фтора;

R^{7a} и R^{7b} независимо друг от друга выбираются из H и C₁₋₆ алкила, необязательно замещенного одним или более атомами фтора, или R^{7a} и R^{7b} необязательно связаны вместе с атомом азота, к которому они присоединены с образованием ароматического или неароматического 3-6-членного кольца, необязательно содержащего от 1 до 3 гетероатомов, выбираемых из O, S и N, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из фтора, -R⁷ и =O;

R^a, R⁸, R⁹, R¹⁰ и R¹¹ в каждом случае, когда здесь используются, независимо друг от друга представляют собой H или R¹⁶;

R¹⁶ представляет собой в каждом случае, когда здесь используются, C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный одним или более атомами фтора;

где каждая арильная группа представляет собой независимо моноциклическую, бициклическую или трициклическую арильную группу, содержащую от 6 до 14 атомов углерода и в которой по меньшей мере одно кольцо является ароматическим; и где каждая гетероарильная группа представляет собой независимо 5-14-членную моноциклическую, бициклическую или трициклическую группу, включающую от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из N, S и O, и в которой по меньшей мере одно кольцо является ароматическим;

n равно 1 или 2; m равно 0, 1 или 2;

p равно 0, 1 или 2;

или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или его эфирное производное,

при условии, что:

(A) когда D представляет собой фенил, тогда по меньшей мере один из A₁-A₅ не представляет собой (C-H) и/или D является замещенным одной или более -R⁶ группами, и

(B) соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль или сольват не представляет собой 4-бензил-5-пикрилимино-1,2,4-тиадизолидин-3-он.

Фармацевтически приемлемые соли, которые могут упоминаться, включают кислотно-аддитивные

соли и основно-аддитивные соли. Такие соли могут быть получены обычными способами, например, путем реакции соединения формулы I в форме свободной кислоты или свободного основания с одним или более эквивалентами подходящей кислоты или основания, не обязательно в растворителе, или в среде, в которой соль является нерастворимой, с последующим удалением указанного растворителя или указанной среды с помощью стандартных методов (например, *in vacuo*, лиофилизацией или фильтрацией). Соли также могут быть приготовлены путем замены противоиона соединения формулы I в форме соли на другой противоион, например, с применением подходящей ионообменной смолы.

Примеры фармацевтически приемлемых кислотно-аддитивных солей включают таковые, получаемые с применением минеральных кислот, таких как соляная, бромистоводородная, фосфорная, метафосфорная, азотная и серная кислоты; с применением органических кислот, таких как винная, уксусная, лимонная, яблочная, молочная, фумаровая, бензойная, гликолевая, глюконовая, янтарная, арилсульфоновая кислоты; или с применением металлов, таких как натрий, магний, или предпочтительно калий и кальций.

"Фармацевтически функциональные производные" соединений формулы I в используемом здесь значении включают эфирные производные и/или производные, которые обладают или обеспечивают такую же биологическую функцию и/или активность, как любое соответствующее соединение. Таким образом, для целей настоящего изобретения данный термин также включает пролекарства соединений формулы I.

Термин "пролекарство" соответствующего соединения формулы I включает любое соединение, которое после перорального или парентерального введения метаболизируется *in vivo* с образованием данного соединения в экспериментально определяемом количестве и в течение определенного времени (например, в течение интервала введения между 6 и 24 ч (то есть от одного до четырех раз в день)). Во избежание разночтений термин "парентеральное" введение включает все формы введения, отличающиеся от перорального введения.

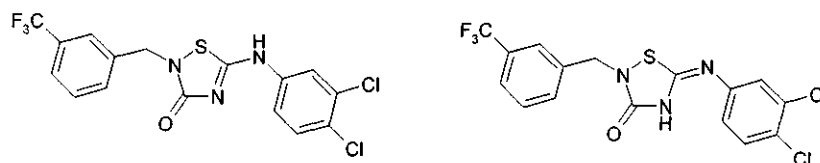
Пролекарства соединений формулы I могут быть получены путем модификации функциональных групп, имеющихся в соединении, таким способом, чтобы модификации расщеплялись *in vivo*, когда такое пролекарство вводится субъекту, являющемуся млекопитающим. Модификации обычно достигаются путем синтеза родительского соединения с заместителем для получения пролекарства. Пролекарства включают соединения формулы I, в которых гидроксильные, amino, сульфгидрильные, карбоксильные или карбонильные группы в соединении формулы I связаны с любой группой, которая может быть отщеплена *in vivo* с регенерацией свободной гидроксильной, amino, сульфгидрильной, карбоксильной или карбонильной группы соответственно.

Примеры пролекарств включают, но ими не ограничиваются, эфиры и карбаматы гидроксильных функциональных групп, эфирные группы карбоксильных функциональных групп, N-ацильные производные и N-основания Манниха. Общую информацию о пролекарствах можно найти, например, в Bundgaard, H. "Design of Prodrugs", p. 1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985).

Соединения формулы I, а также фармацевтически приемлемые соли, сольваты и фармацевтически функциональные производные таких соединений в целях краткости далее в тексте все вместе обозначаются как "соединения формулы I".

Соединения формулы I могут содержать двойные связи и, следовательно, могут существовать в виде E (entgegen) и Z (zusammen) геометрических изомеров относительно каждой индивидуальной двойной связи. Все такие изомеры и их смеси являются включенными в рамки настоящего изобретения.

Соединения формулы I могут существовать как региоизомеры и могут также проявлять таутмерию. Все таутомерные формы и их смеси являются включенными в рамки настоящего изобретения. Например, следующие таутомеры являются включенными в рамки настоящего изобретения:



Соединения формулы I содержат один или более асимметрических атомов углерода и могут, таким образом, проявлять оптическую и/или диастереоизомерию.

Диастереоизомеры могут быть разделены с помощью обычных методов, например, хроматографии или фракционной кристаллизации. Различные стереоизомеры могут быть выделены путем разделения рацематной или другой смеси соединений с использованием стандартных методов, например, фракционной кристаллизации или ВЭЖХ. Альтернативно этому желаемые оптические изомеры могут быть получены в реакции подходящих оптически активных исходных материалов в условиях, которые не будут вызывать рацемизацию или эпимеризацию (то есть методом "хирального пула"), в реакции подходящего исходного материала с "хиральным вспомогательным соединением", которое может быть впоследствии удалено на подходящей стадии, путем дериватизации (то есть разделения, включая динамическое разде-

ление), например, с гомохиральной кислотой с последующим разделением диастереомерных производных обычными методами, такими как хроматография, или в реакции с подходящим хиральным реагентом или хиральным катализатором в условиях, известных специалисту в данной области техники. Все стереоизомеры и их смеси являются включенными в рамки настоящего изобретения.

Если не указано по другому, термин "алкил" обозначает неразветвленный или разветвленный, циклический, насыщенный или ненасыщенный (образующий, например, алкенил или алкинил) нециклический углеводородный радикал, который может быть замещенным или незамещенным (например, одним или более атомами галогена). Где термин "алкил" обозначает ациклическую группу, он предпочтительно представляет собой C_{1-10} алкил и более предпочтительно C_{1-6} алкил (такой как этил, пропил, (например, н-пропил или изопропил), бутил (например, разветвленный или неразветвленный бутил), пентил или более предпочтительно метил). Где термин "алкил" представляет собой циклическую группу (которая может представлять собой группу, обозначенную как "циклоалкил"), он представляет собой предпочтительно C_{3-12} циклоалкил и более предпочтительно C_{5-10} (например, C_{5-7}) циклоалкил.

В используемом здесь значении "алкилен" обозначает C_{1-10} (например, C_{1-6}) алкилен и предпочтительно C_{1-3} алкилен, такой как пентилен, бутилен (разветвленный или неразветвленный), предпочтительно пропилен (н-пропилен или изопропилен), этилен или более предпочтительно метилен (то есть $-CH_2-$).

Термин "галоген" в используемом здесь значении включает фтор, хлор, бром и йод.

Термин "арил" в используемом здесь значении включает C_{6-14} (такую как C_{6-13} (например, C_{6-10})) арильные группы. Такие группы могут быть моноциклическими, бициклическими или трициклическими и иметь между 6 и 14 атомов углерода в кольцах, среди которых по меньшей мере одно кольцо является ароматическим. Точкой присоединения арильных групп может быть любой атом кольцевой системы. Однако в случае, когда арильные группы являются бициклическими или трициклическими, они связаны с остальной частью молекулы через ароматическое кольцо. C_{6-14} арильные группы включают фенил, нафтил и тому подобные группы, такие как 1,2,3,4-тетрагидронафтил, инданил, инденил и флуоренил. Наиболее предпочтительные арильные группы включают фенил.

Термин "гетероарил" в используемом здесь значении обозначает ароматическую группу, содержащую один или более гетероатом(ов) (например, от одного до четырех гетероатомов), предпочтительно выбираемых из N, O и S (образуя, например, моно-, би- или трициклическую гетероароматическую группу). Гетероарильные группы включают таковые, которые имеют между 5 и 14 (например, 10) членов и могут быть моноциклическими, бициклическими или трициклическими, при условии, что по меньшей мере одно из колец является ароматическим. Однако в случае, когда гетероарильные группы являются бициклическими или трициклическими, они связаны с остальной частью молекулы через ароматическое кольцо. Гетероциклические группы, которые могут быть упомянуты, включают бензотиадиазолил (включая 2,1,3-бензотиадиазолил), изотиохроманил и более предпочтительно акридинил, бензимидазолил, бензодиоксанил, бензодиоксепинил, бензодиоксилил (включая 1,3-бензодиоксилил), бензофуранил, бензофуразанил, бензотиазолил, бензоксадиазолил (включая 2,1,3-бензоксадиазолил), бензоксазинил (включая 3,4-дигидро-2Н-1,4-бензоксазинил), бензоксазолил, бензоморфолинил, бензоселендиазолил (включая 2,1,3-бензоселендиазолил), бензотиенил, карбазолил, хроманил, циннолинил, фуранил, имидазолил, имидазо[1,2-а]пиридил, индазолил, индолинил, индолил, изобензофуранил, изохроманил, изоиндолинил, изоиндолил, изохинолинил, изотиазолил, изоксазолил, нафтиридинил (включая 1,6-нафтиридинил или предпочтительно 1,5-нафтиридинил и 1,8-нафтиридинил), оксадиазолил (включая 1,2,3-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил и 1,3,4-оксадиазолил), оксазолил, феназинил, фенотиазинил, фталазинил, птеридинил, пуринил, пиранил, пиразинил, пиразолил, пиридазинил, пиридил, пиримидинил, пирролил, хиназолинил, хинолинил, хинолизинил, хиноксалинил, тетрагидроизохинолинил (включая 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинил и 5,6,7,8-тетрагидроизохинолинил), тетрагидрохинолинил (включая 1,2,3,4-тетрагидрохинолинил и 5,6,7,8-тетрагидрохинолинил), тетразолил, тиадиазолил (включая 1,2,3-тиадиазолил, 1,2,4-тиадиазолил и 1,3,4-тиадиазолил), тиазолил, тиохроманил, тиофенетил, тиенил, триазолил (включая 1,2,3-триазолил, 1,2,4-триазолил и 1,3,4-триазолил) и тому подобное.

Заместители в гетероарильных группах могут быть локализованы (где это применимо) при любом атоме в кольцевой системе, включая гетероатом. Точкой присоединения гетероарильных групп может быть любой атом в кольцевой системе, включая (где это применимо) гетероатом (такой как атом азота), или атом любого слитого карбоциклического кольца, который может быть представлять собой часть кольцевой системы. Гетероарильные группы могут также находиться в N- или S-окисленной форме. Особенно предпочтительные гетероарильные группы включают пиридил, пирролил, хинолинил, фуранил, тиенил, оксадиазолил, тиадиазолил, тиазолил, оксазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, изоксазолил, изотиазолил, имидазолил, пиримидинил, индолил, пиразинил, индазолил, пиримидинил, тиофенетил, тиофенил, пиранил, карбазолил, акридинил, хинолинил, бензоимидазолил, бензтиазолил, пуринил, циннолинил и птеридинил. Особенно предпочтительные гетероарильные группы включают моноциклические гетероарильные группы.

Во избежание разночтений в случаях, в которых идентичность двух или более заместителей в соединении формулы I может быть одинаковой, действительные идентичности соответствующих заместителей не являются в любом виде взаимозависимыми. Например, в случае, когда D может быть обяза-

тельно замещенным одной или более R^6 группами, тогда эти R^6 группы могут быть одинаковыми или разными. Подобно этому, в случае, когда R^6 и R^7 группы обе представляют собой арильные группы, замещенные одной или более C_{1-6} алкильными группами, данные алкильные группы могут быть одинаковыми или разными. Кроме того, в случае, когда R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15a} , R^{15b} , R^{15c} и R^{15} независимо представляют собой R^{16} , тогда эти R^{16} группы могут быть одинаковыми или разными.

Во избежание разночтений, когда здесь применяется термин, такой как " A_1 - A_5 ", специалисту в данной области должно быть понятно, что это означает любое (то есть некоторые или все, если это подходит) из A_1 , A_2 , A_3 , A_4 и A_5 включительно.

Все индивидуальные свойства (например, предпочтительные свойства), упоминаемые здесь, могут рассматриваться по отдельности или в комбинации с любыми другими свойствами (включая предпочтительное свойство), упоминаемыми здесь (следовательно, предпочтительные свойства могут рассматриваться в комбинации с другими предпочтительными свойствами или независимо от них).

Специалист в данной области техники должен понимать, что в определенных предпочтительных воплощениях соединений настоящего изобретения некоторые или все из условий от (a) до (c), указанных выше, будут являться избыточными (например, там, где указано, что по меньшей мере одно (или оба) из A_1 - A_5 -содержащее кольцо и/или кольцо D несет заместитель, отличающийся от водорода, тогда все из условий от (a) до (c), указанных выше, являются избыточными).

В одном воплощении настоящего изобретения предоставляется соединение формулы I, где A представляет собой $C(=N-W-D)$ и W представляет собой $-C(O)-[CR^xR^y]_p$.

В дополнительном воплощении настоящего изобретения предоставляется соединение формулы I, где A представляет собой $C(=N-W-D)$ и W представляет собой $-[CR^xR^y]_m$.

В еще одном дополнительном воплощении настоящего изобретения предоставляется соединение формулы I, где B представляет собой $C(-NH-W-D)$ и W представляет собой $-C(O)-[CR^xR^y]_p$.

В еще одном дополнительном воплощении настоящего изобретения предоставляется соединение формулы I, где B представляет собой $C(-NH-W-D)$ и W представляет собой $-[CR^xR^y]_m$.

Предпочтительные соединения формулы I включают таковые, в которых по меньшей мере один из A_1 - A_5 не представляет собой (C-H) и D является замещенным одной или более $-R^6$ групп. Предпочтительно, когда либо A_1 - A_5 -содержащее кольцо, либо кольцо D является замещенным заместителем, не являющимся H.

Когда здесь говорится, что по меньшей мере один из A_1 - A_5 не представляет собой (C-H) или что кольцо D является замещенным заместителем, не являющимся H, мы имеем в виду, что либо один из A_1 - A_5 представляет собой $C(R^1)$, $C(R^2)$, $C(R^3)$, $C(R^4)$ или $C(R^5)$ (что является подходящим), в которых по меньшей мере один из R^1 , R^2 , R^3 , R^4 или R^5 представляет собой заместитель, не являющийся H (то есть по меньшей мере, имеется один из заместителей от R^1 до R^5 , который представляет собой галоген, $-R^7$, $-CF_3$, $-CN$, $-NO_2$, $-C(O)R^7$, $-C(O)OR^7$, $-C(O)-N(R^{7a})R^{7b}$, $-N(R^{7a})R^{7b}$, $-N(R^7)_3^+$, $-SR^7$, $-OR^7$, $-NH(O)R^7$, $-SO_3R^7$, арил или гетероарил (где арильная и гетероарильная группы сами являются необязательно замещенными одной или более группами, независимо выбираемыми из галогена и R^{16}), или любые два из R^1 - R^5 , которые расположены рядом друг с другом, связаны, как здесь определено); либо кольцо D представляет собой пиридил или пиримидинил или предпочтительно кольцо D является замещенным одной или более R^6 группами.

Более предпочтительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых один из от A_1 до A_5 представляет собой $C(R^1)$, $C(R^2)$, $C(R^3)$, $C(R^4)$ или $C(R^5)$ (что является подходящим), в которых по меньшей мере один из R^1 , R^2 , R^3 , R^4 или R^5 представляет собой заместитель, не являющийся H (например, заместитель, как здесь определено); и кольцо D представляет собой пиридил или пиримидинил или предпочтительно кольцо D представляет собой фенил, замещенный одной или более R^6 группами.

Предпочтительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых A представляет собой S.

Более предпочтительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых B представляет собой S.

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых каждое $-[CR^xR^y]$ -звено может независимо выбираться из:

(a) звена, где R^x и R^y независимо выбираются из H, галогена, C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена); и

(b) звена, где R^x и R^y связаны вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием неароматического 3-8-членного кольца, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из галогена или C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена),

при условии, что не более чем одно звено выбирается из (b); (например, каждое $-[CR^xR^y]$ -звено может независимо выбираться из:

(a) звена, где R^x и R^y независимо выбираются из H, галогена, C_{1-3} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена) (например, по меньшей мере один из R^x и R^y представляет собой

H);

(b) звена, где R^x и R^y связаны вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием неароматического кольца, выбираемого из циклобутила, цикlopентила, циклогексили или более предпочтительно циклопропила, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из галогена или C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена), при условии, что не более чем одно звено выбирается из (b)).

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых R^x и R^y связаны вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием неароматического 3-8-членного кольца, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из галогена и/или C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена).

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых R^x и R^y связаны вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием циклобутильного, цикlopентильного, циклогексильного или более предпочтительно циклопропильного кольца, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из галогена и/или C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена, или более предпочтительно незамещенного).

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых одно $-[CR^xR^y]-$ звено образует неароматическое 3-8-членное кольцо, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из галогена или C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена) и, если присутствуют другие $-[CR^xR^y]-$ звенья, тогда дополнительные R^x и R^y группы независимо выбираются из H, галогена, C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена) или арила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена).

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых одно $-[CR^xR^y]-$ звено связано с образованием циклобутильного, цикlopентильного, циклогексильного или более предпочтительно циклопропильного кольца, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из галогена или C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена, или более предпочтительно незамещенного) и, если присутствуют другие $-[CR^xR^y]-$ звенья, тогда дополнительные R^x и R^y группы независимо выбираются из фенила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена) или более предпочтительно H, галогена, C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена).

Указанные выше предпочтения для $-[CR^xR^y]-$ звена применяются, в особенности, к таковым соединениям, в которых данное звено является частью заместителя X

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых: R^x и R^y независимо выбираются из фенила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена) или более предпочтительно H, галогена, C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена).

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых Q представляет собой $-S-$, предпочтительно $-N[(CH_3)-]$, $-O-$ или более предпочтительно связь.

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых когда X представляет собой $-Q-[CR^xR^y]_n-$, тогда остаток $-[CR^xR^y]_n-$ предпочтительно представляет собой $-CR^xR^y-$ (например, $-CH_2-$, $-C(-CH_2CH_2)-$, то есть $-C(\text{циклопропил})-$, или $-C(H)(\text{арил})-$, или $-[CR^xR^y]_2-$ (например, $-CH_2CH_2-$);

когда n равно 1, тогда R^x и R^y независимо представляют собой C_{1-6} (например, C_{1-3}) алкил или предпочтительно водород или арил (например, фенил; необязательно замещенный одним или более атомами галогена, например, хлора, таким образом, образуя, например, хлорфенильную группу);

оба R^x и R^y , когда присоединены к одному и тому же атому углерода, предпочтительно не представляют собой необязательно замещенный арил;

когда n равно 2, тогда R^x и R^y независимо представляют собой C_{1-6} (например, C_{1-3}) алкил или предпочтительно водород; например, когда Q представляет собой связь, n равно 1 или 2.

Наиболее предпочтительные группы, в которых может присутствовать X, включают $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-O-CH_2CH_2-$, $-N(CH_3)-CH_2CH_2-$, $-S-CH_2CH_2-$, 1,1-циклопропил и $-C(H)(4\text{-хлорфенил})-$ (то есть предпочтительно, чтобы X не представлял собой непосредственную связь, но представлял собой группу, содержащую по меньшей мере один связывающий атом).

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых m и p независимо равны 0 или 1;

когда W представляет собой $-[CR^xR^y]_m-$ или $-[CR^xR^y]_p$, тогда R^x и R^y независимо представляют собой C_{1-6} алкил или предпочтительно водород;

W представляет собой непосредственную связь (то есть m равно 0), $-CH_2-$, $-C(O)-$ (то есть p равно 0) или $-C(O)CH_2-$.

A_1-A_5 -содержащее кольцо может представлять собой пиридил (например, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-

пиридил, 5-пиридил или 6-пиридил), но предпочтительно представляет собой фенил. Кольцо D предпочтительно представляет собой пиридил (например, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 5-пиридил или 6-пиридил) или более предпочтительно фенил. Каждое кольцо может быть незамещенным или замещенным одним или двумя заместителями, определенными здесь (от R^1 до R^6 , где это подходит). Как здесь указано, в предпочтительном воплощении настоящего изобретения одно из этих колец является замещенным по меньшей мере одним заместителем, не являющимся H, как здесь определено (от R^1 до R^6 , где это подходит).

Наиболее предпочтительные соединения формулы I включают соединения, в которых

A_1 - A_5 соответственно представляют собой $C(R^1)$, $C(R^2)$, $C(R^3)$, $C(R^4)$ и $C(R^5)$; D представляет собой фенил, пиридил или пиримидинил, необязательно замещенный одной или более R^6 группами;

R^x и R^y , в каждом случае, когда здесь используются, независимо выбираются из фтора, предпочтительно H, C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами фтора), арила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена, например, хлора), или R^x и R^y соединены вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием неароматического 3-8-членного кольца (например, 3-6-членного кольца), где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из фтора и/или C_{1-6} (например, C_{1-3} , такого как C_{1-2}) алкила (необязательно замещенного одним или более атомами фтора), но где 3-8- (например, 3-6-) членное кольцо является предпочтительно незамещенным (например, незамещенный циклопропил);

R^1 - R^5 независимо представляют собой $-CN$, $-N(R^{7a})R^{7b}$, $-N(R^7)_3^+$, $-SR^7$ или предпочтительно H, галоген (например, хлор или фтор), $-R^7$, $-CF_3$, $-C(O)-N(R^{7a})R^{7b}$, $-OR^7$ или гетероарил (например, 5- или 6-членную гетероарильную группу, предпочтительно содержащую от одного до трех гетероатомов (предпочтительно гетероатомов азота), и где гетероарильная группа является необязательно замещенной одной или более группами, выбираемыми из R^{16} и, предпочтительно галогена, например, хлора);

R^6 независимо представляет собой, в каждом случае, когда здесь используется, $-NO_2$, $-NR^{10}$, $-SR^{11}$, или предпочтительно циано, галоген, $-R^8$ или $-OR^8$;

R^7 , в каждом случае, когда здесь используется, выбирается из H и C_{1-6} (например, C_{1-3}) алкила (например, метила), необязательно замещенного одним или более атомами фтора (таким образом, например, формируя группу $-CHF_2$ или предпочтительно $-CF_3$); R^{7a} и R^{7b} независимо выбираются из H и C_{1-6} (например, C_{1-3}) алкила (например, метила), необязательно замещенного одним или более атомами фтора (таким образом, формируя, например, группу $-CHF_2$ или предпочтительно $-CF_3$); или R^{7a} и R^{7b} являются необязательно соединенными с образованием, вместе с атомом азота, к которому они присоединены, ароматического или неароматического 3-6-членного кольца (предпочтительно ароматического 5- или 6-членного кольца), необязательно содержащего от 1 до 3 гетероатомов, выбираемых из O, S и N (предпочтительно гетероатомов N), где

кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из фтора, $-R^7$ и $=O$;

R^a , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15a} , R^{15b} , R^{15c} и R^{15d} , в каждом случае, когда здесь используются, независимо представляют собой H или R^{16} (но R^a и R^8 более предпочтительно представляют собой R^{16});

R^{16} представляет собой, в каждом случае, когда здесь используется, C_{1-6} (C_{1-3}) алкил, необязательно замещенный одним или более атомами фтора (таким образом, формируя, например, группу $-CHF_2$ или предпочтительно $-CF_3$).

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых по меньшей мере один из R^1 - R^5 , когда присутствуют, представляют собой галоген, $-R^7$, $-CF_3$, $-CN$, $-C(O)R^7$, $-C(O)OR^7$, $-C(O)-N(R^{7a})R^{7b}$, $-N(R^7)_3^+$, $-SR^7$, $-OR^7$ или $-NH(O)R^7$, или любые два из R^1 - R^5 , которые расположены рядом друг с другом, необязательно связаны вместе с двумя атомами по существу бензольного кольца в соединении формулы I, с образованием ароматического или неароматического 3-8-членного кольца, необязательно содержащего от 1 до 3 гетероатомов, выбираемых из O, S и N, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из галогена, $-R^7$, $-OR^7$ и $=O$.

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых по меньшей мере один из R^1 - R^5 , когда присутствует, представляет собой гетероарил, $-OR^7$, галоген, $-CF_3$, $-CN$, $-C(O)R^7$, $-C(O)-N(R^{7a})R^{7b}$, $-C(O)OR^7$, $-N(R^7)_3^+$ или $-NH(O)R^7$, или любые два из R^1 - R^5 , которые расположены рядом друг с другом, необязательно связаны вместе с двумя атомами по существу бензольного кольца в соединении формулы I, с образованием ароматического или неароматического 3-8-членного кольца, выбираемого из 2,3-дигидробензо[1,4]диоксина или тетрагидрохинолина, который может быть необязательно замещенным одним или более атомами галогена.

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых по меньшей мере один из R^1 - R^5 , когда присутствует, представляет собой гетероарил, $-OR^7$, галоген, $-CF_3$, $-CN$, $-C(O)R^7$, $-C(O)OR^7$, $-C(O)-N(R^{7a})R^{7b}$, $-N(R^7)_3^+$ или $-NH(O)R^7$.

Еще дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых

по меньшей мере один из R^1 - R^5 , когда присутствует, представляет собой 4H-[1,2,4]-триазилил, $-OR^7$

(например, $-\text{OCH}_3$ или более предпочтительно $-\text{OCHF}_2$ или $-\text{OCF}_3$) или более предпочтительно $-\text{Cl}$, $-\text{F}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$ или $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^{7a})\text{R}^{7b}$.

Еще дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых

по меньшей мере один из R^1-R^5 , когда присутствует, представляет собой $-\text{OR}^7$ или более предпочтительно $-\text{Cl}$, $-\text{F}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$ или $-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^{7a})\text{R}^{7b}$.

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых: R^6 независимо представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{15a}\text{R}^{15b}$ или более предпочтительно циано, $-\text{NO}_2$, $-\text{Br}$, $-\text{Cl}$, $-\text{F}$, $-\text{R}^8$, $-\text{OR}^8$, $-\text{NR}^9\text{R}^{10}$, $-\text{SR}^{11}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{13}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{14}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{15c}\text{R}^{15d}$, арил или гетероарил (где арильная и гетероарильная группы сами являются необязательно замещенными одной или более группами, независимо выбираемыми из галогена и R^{16}), или любые две R^6 группы, которые расположены рядом друг с другом, необязательно связаны вместе с двумя атомами, по существу, бензольного кольца в соединении формулы I, с образованием хинолина, тетрагидрохинолина, изохинолина или тетрагидроизохинолина, где дополнительная кольцевая система остатка хинолина, тетрагидрохинолина, изохинолина или тетрагидроизохинолина является сама необязательно замещенной одним или более заместителями, выбираемыми из галогена, $-\text{R}^7$, $-\text{OR}^7$ и $=\text{O}$.

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых R^6 независимо представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{15a}\text{R}^{15b}$ или более предпочтительно $-\text{R}^8$ или еще более предпочтительно циано, $-\text{NO}_2$, $-\text{Br}$, $-\text{Cl}$, $-\text{F}$, $-\text{OR}^8$, $-\text{NR}^9\text{R}^{10}$, $-\text{SR}^{11}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{13}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{14}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{15c}\text{R}^{15d}$, арил или гетероарил (где арильная и гетероарильная группы сами являются необязательно и независимо замещенными одной или более группами, выбираемыми из галогена и R^{16}).

Еще дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых

R^6 независимо представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{15a}\text{R}^{15b}$, $-\text{R}^8$ или более предпочтительно $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{Br}$, $-\text{Cl}$, $-\text{F}$, $-\text{OR}^8$, $-\text{NR}^9\text{R}^{10}$, $-\text{SR}^{11}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{13}$ или $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{14}$.

Еще дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых

R^6 независимо представляет собой $-\text{R}^8$ или более предпочтительно $-\text{CN}$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{NO}_2$, $-\text{Br}$, $-\text{Cl}$, $-\text{F}$, $-\text{OR}^8$, $-\text{NR}^9\text{R}^{10}$ или $-\text{SR}^{11}$.

Еще дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых R^6 независимо представляет собой $-\text{CN}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{F}$ или наиболее предпочтительно $-\text{Cl}$.

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых n равно 2 или более предпочтительно 1.

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых m равно 1 или более предпочтительно 0; p равно 1 или более предпочтительно 0.

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых A_5 представляет собой предпочтительно $\text{C}(\text{Cl})$ или $\text{C}(\text{H})$.

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых A_1 и A_3 независимо представляют собой предпочтительно $\text{C}(\text{H})$.

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых A_2 представляет собой $\text{C}(\text{R}^2)$; A_1 и A_3-A_5 независимо представляют собой $\text{C}(\text{H})$.

Еще дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых A_2 представляет собой $\text{C}(\text{R}^2)$; R^2 представляет собой $-\text{CF}_3$; A_1 и A_3-A_5 независимо представляют собой $\text{C}(\text{H})$.

Дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых A_5 представляет собой $\text{C}(\text{R}^5)$; A_1-A_4 независимо представляют собой $\text{C}(\text{H})$.

Еще дополнительные соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых A_5 представляет собой $\text{C}(\text{R}^5)$; R^5 представляет собой $-\text{Cl}$; A_1-A_4 независимо представляют собой $\text{C}(\text{H})$.

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых D представляет собой (орто-, пара-)дихлорфенил.

Соединения формулы I, которые можно упомянуть, включают таковые, в которых D представляет собой параклорфенил.

Более предпочтительные соединения формулы I включают таковые, которые представлены в примерах, описанных ниже.

Предпочтительные соединения формулы I включают

- i) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- iv) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[(3,4-дифторфенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- vi) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[(фенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- lxx) N-[3-оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xix) 4-фтор-N-[3-оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xx) 2-(4-фторфенил)-N-[3-оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]ацетамид;
- xxi) 4-хлор-N-[2-[(3,4-дифторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxii) 4-хлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxiii) 4-хлор-N-[2-[(4-хлорфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxiv) 4-хлор-N-[2-[(феноксизтил)-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxviii) 3,4-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxix) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-4-метокси-бензамид;
- xxx) 2,6-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxi) 2,4-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxii) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-4-(трифторметокси)-бензамид;
- xxxiii) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-3,5-бис(трифторметил)-бензамид;
- xxxiv) 3,4-дифтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxv) 2-хлор-6-фтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxvi) 3,5-дифтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxvii) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-(2-феноксизтил)-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- xxxviii) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(2-феноксизтил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xxxix) 4-бензгидрил-5-(3,4-дихлорфенил)имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- xl) 4-хлор-N-[4-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]бензамид;
- xli) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(4-метоксибензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xlvi) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(4-хлорбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xlvi) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(4-хлорбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xlvi) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(3,4-дифторбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xlvi) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(3-фторбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- li) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-фенетил-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- lvi) 2-[(3,4-дифторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lvii) 2-[(3,4-дифторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметокси)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lxi) 2-[(4-метоксифенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lxii) 2-[(4-хлорфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lxiii) 2-[(3-фторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lxiv) 2-[(фенилэтил)-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он.

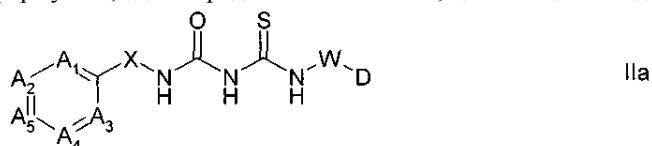
Названия соединений были созданы с использованием коммерчески доступного программного пакета Autonom (марка программы для номенклатуры, предоставляемой в качестве дополнения для применения с программным пакетом Symux Draw 2.1 (TM) office suite, распространяемым на рынке фирмой MDL Information Systems).

Всюду в тексте данного описания структуры могут сопровождаться или могут не сопровождаться химическими названиями. Если возникают любые вопросы в отношении номенклатуры, структура является главной. В тех случаях, когда соединение может существовать в виде таутомера, показанная структура представляет собой одну из возможных таутомерных форм, тогда как действительная наблюдаемая таутомерная форма(ы) может варьировать в зависимости от факторов окружающей среды, таких как растворитель, температура или pH.

Соединения формулы I могут быть получены в соответствии с методами, которые хорошо известны специалисту в данной области техники, например, так, как описано ниже.

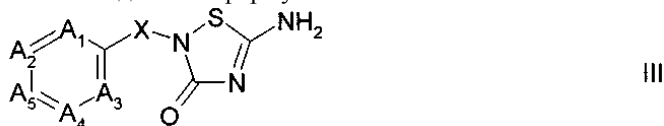
Согласно дополнительному воплощению настоящего изобретения предоставляется способ получения соединения формулы I, который включает:

(i) для соединений формулы I, где A представляет собой S, циклизацию соединения формулы IIa



где A₁-A₅, X, W и D являются такими, как определено выше, в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, в присутствии подходящего источника брома (например, N-бромсукцинимид или брома) в подходящем растворителе (например, метаноле, этаноле, этилацетате) и при подходящей температуре (например, от -10 до 80°C) как описано в Castro et al. (Bioorganic. Med. Chem. 2008, 16, 495-510) или Kaugars et al. (J. Org. Chem. 1979, 44(22), 3840-3843), или в присутствии подходящего основания (например, гидроксида натрия) в подходящем растворителе (например, в воде, содержащей перекись водорода (например, в 30% растворе H₂O₂ в воде)) и при подходящей температуре (например, от -10 до 100°C) как описано в Castro et al. (ibid), Cho et al. (J. Heterocyclic Chem. 1991, 28, 1645-1649) и Encinas et al. (Em. J. Org. Chem. 2007, 5603-5608);

(ii) для соединений формулы I, где A представляет собой S, W представляет собой -[CR^xR^y]_m- и m равно 1 или 2, взаимодействие соединения формулы III



где A₁-A₅ и X являются такими, как определено выше, с соединением формулы IV



где L₂ представляет собой подходящую удаляемую группу, такую как галоген (например, хлор), W¹ представляет собой -[CR^xR^y]_m-, в которой m равно 1, и D является таким, как определено выше, в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, в присутствии подходящего основания (например, NaNH, NaOH, триэтиламина, пиридина, другого подходящего основания, упоминаемого на стадии процесса, или их смеси) и растворителя (например, пиридина (который может выступать в роли основания и растворителя), ДМФА или дихлорметана (например, далее в присутствии воды и необязательно катализатора фазового переноса)) например, при комнатной температуре, как описано, например, в Hurst, D.T.; Stacey, A.D., Nethercleft, M., Rahim, A., Harnden, M. R. Aust. J. Chem. 1998, 41, 1221;

(iii) для соединений формулы I, где A представляет собой S, W представляет собой -[CR^xR^y]_m- и m равно 0, взаимодействие соединения формулы III, как определено выше, с соединением формулы V



где L₃ представляет собой подходящую удаляемую группу (например, галоген) и D является таким, как определено выше, в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, в присутствии подходящего основания (например, (трибутилолово)амина или циклогексиламина и бис(триметилсилил)амида лития), подходящего катализатора (например, PdCl₂(P(o-толуила)₃)₂), подходящего растворителя (например, толуола) и при подходящей температуре (например, от комнатной температуры до 105°C), например, как описано в Harwig et al. J. Am. Chem. Soc. (1994), 116, 5969-5970, Buchwald et al. J. Am. Chem. Soc. (1994), 116, 7901-7902 и Buchwald et al. Org. Process Res. Dev. (2006) 10(4), 762-769;

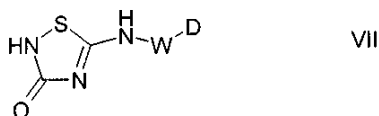
(iv) для соединений формулы I, где A представляет собой S, W представляет собой -C(O)-[CR^xR^y]_p-, взаимодействие соединения формулы III, как определено выше, с соединением формулы VI



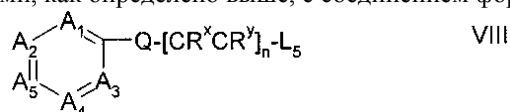
где L₄ представляет собой подходящую удаляемую группу (например, галоген) или -OH, W² представляет собой -C(O)-[CR^xR^y]_p-, и D является таким, как определено выше, когда L₄ представляет собой подходящую удаляемую группу, в реакционных условиях известных специалистам в данной области техники, например, в подходящем растворителе (например, толуоле, ксилолах, DCM, хлороформе), необязательно в присутствии основания (например, пиридина, основания Хунига, триэтиламина) и при температурах от пониженных до повышенных (например, от 0 до 140°C), или когда L₄ представляет собой OH, в стандартных условиях для реакций сочетания, например, в присутствии подходящего агента сочетания (например, 1,1'-карбонилдиимидозола, N,N'-дициклогексилкарбодиимида, 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (или его гидрохлорида), N,N'-дисукуцинимидилкарбоната, бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)-фосфоний гексафторфосфата, 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуроний гексафторфосфата, бензотриазол-1-илокситрис-пирролидинофосфоний гексафторфосфата, бром-трис-пирролидинофосфоний гексафторфосфата, 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметил-

уроний тетрафторкарбоната) или 1-циклогексилкарбодиимид-3-пропилоксиметил полистирола, необязательно в присутствии подходящего основания (например, гидрида натрия, бикарбоната натрия, карбоната калия, пирролидинопиридина, пиридина, триэтиламина, трибутиламина, триметиламина, диметиламинопиридина, диизопропиламина, 1,8-диазабицикло[5.4.0]андец-7-ена, гидроксида натрия, N-этилдиизопропиламина, N-(метилполистирол)-4-(метиламино)пиридина, бис(триметилсилил)-амида калия, бис(триметилсилил)амида натрия, трет-бутоксид калия, диизопропиламида лития, 2,2,6,6-тетраметилпиперидина лития или их смесей) и в подходящем растворителе (например, тетрагидрофуране, пиридине, толуоле, дихлорметане, хлороформе, ацетонитриле или диметилформамиде) и при температурах от пониженных до повышенных (например, от 0 до 140°C);

(v) для соединений формулы I, где A представляет собой S, Q представляет собой связь и n равно 0, 1 или 2, или Q представляет собой -O- или -S- и n равно 1 или 2, взаимодействие соединения формулы VII

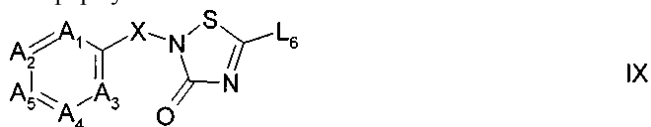


где W и D являются такими, как определено выше, с соединением формулы VIII

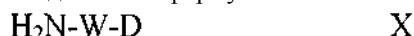


где A₁-A₅, R^x и R^y являются такими, как определено выше, L₅ представляет собой подходящую удаляемую группу (например, бром, хлор, йод) и либо Q представляет собой связь и n равно 0, 1 или 2, либо Q представляет собой -O- или -S- и n равно 1 или 2, в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, в присутствии подходящего основания (например, NaNH₂, NaOH, триэтиламина, пиридина) и растворителя (например, пиридина (который может выступать в качестве основания и растворителя), ДМФА или дихлорметана (например, дополнительно в присутствии воды и, необязательно, катализатора фазового переноса)), например, при комнатной температуре, как описано, например, в Hurst, D.T.; Stacey, A.D., Nethercleft, M., Rahim, A., Harnden, M.R. Aust. J. Chem. 1998, 41, 1221;

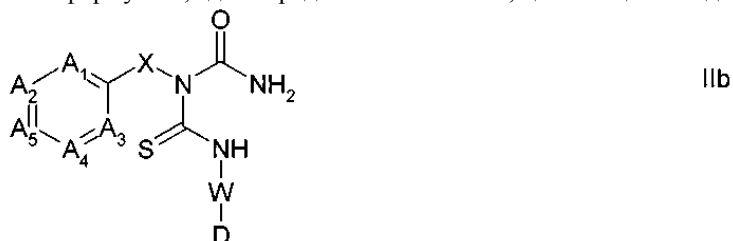
(vi) для соединений формулы I, где A представляет собой S и W представляет собой -[CR^xCR^y]_m, взаимодействие соединения формулы IX



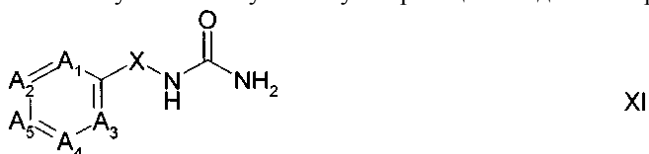
где L₆ представляет собой подходящую удаляемую группу (например, галоген) и A₁-A₅ и X являются такими, как определено выше, с соединением формулы X



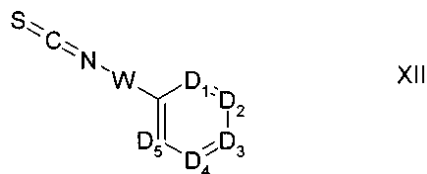
где W и от D₁ до D₅ являются такими, как определено выше, в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, в таких, как описано в работе Keilen et al. (Acta Chemica Scandinavica 1988, B 42, 363-366), например, в подходящем растворителе (например, хлороформе, метиленхлориде), в присутствии подходящего основания (например, основания Хунига, триэтиламина) и при подходящей температуре (например, от комнатной температуры до 150°C, такой как <100°C); и (vii) для соединений формулы I, где B представляет собой S, циклизацию соединения формулы IIb



Соединения формулы IIb могут быть получены путем реакции соединения формулы XI



где A₁-A₅ и X являются такими, как определено выше, с соединением формулы XII



где W и от D₁ до D₅ являются такими, как определено выше, в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, в подходящем растворителе (например, ацетоне, диметилформамиде или 20% диметилформамиде в ацетонитриле) при подходящей температуре (например, от -10 до 50°C) и в отсутствие основания, например, как описано в Castro et al. (Bioorganic. Med. Chem. 2008, 16, 495-510) или Kaugars et al. (J. Org. Chem. 1979, 44(22), 3840-3843). Альтернативно этому, соединение формулы I может быть напрямую получено путем непосредственной обработки любого полученного продукта в реакционных условиях, таких как условия, описанные ранее (например, стадия процесса (i) выше).

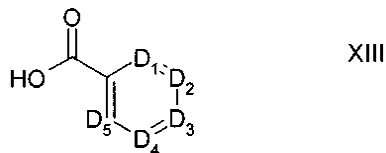
Соединения формулы IIb могут быть получены взаимодействием соединения формулы XI, как описано ранее, с соединением формулы XII в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, в подходящем растворителе (например, ацетоне, диметилформамиде) при подходящей температуре (например, от -10 до 50°C) и в присутствии подходящего основания (например, н-бутиллития), например, как описано в Castro et al. (Bioorganic. Med. Chem. 2008, 16, 495-510) или Kaugars et al. (J. Org. Chem. 1979, 44(22), 3840-3843). Альтернативно этому, соединение формулы I может быть напрямую получено путем непосредственной обработки любого полученного продукта в реакционных условиях, таких как условия, описанные ранее (например, стадия процесса (vii) выше).

Альтернативно этому, соединения формулы IIb могут быть получены путем избирательного N-килирования производных N-(3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден)амида, как описано Castro et al. (Bioorganic. Med. Chem. 2008, 16, 495-510).

Соединения формулы IX могут быть получены в реакции соединения формулы III с NaNO₂ и подходящего источника галогена (например, соляной кислоты), в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, таких, как описано в Foroumadi et al. (1999) *Arzneim. Forsch.* 49, 1035-1038 или Foroumadi et al. (2005) *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 338, 112-116, например, в присутствии подходящего металла (например, порошка меди).

Соединения формулы XI могут быть получены по аналогии с методами, описанными в работе Xu et al. (Tempahedron Lett. 1998, 39, 1107-1110) и Katritsky et al. (ARKIVOC (Archive for Organic Chemistry) 2003 (viii) 8-14).

Для соединений формулы XII, в которых W представляет собой -C(O)-, взаимодействием соединения формулы XIII



или соответствующего ацилгалогенида (например, ацилхлорида). или их производных, где D₁-D₅ являются такими, как определено выше, с тиоцианатом (например, тиоцианатом щелочного металла, таким как тиоцианат калия), в реакционных условиях, известных специалистам в данной области техники, например, в присутствии подходящего растворителя (такого как ацетон), как описано в Cho et al., *J. Heterocyclic Chem.* 1991, 28, 1645-1649).

Соединения формул III, IV, V, VI, VII, VIII, X и XIII являются либо коммерчески доступными, как известно из литературы, либо могут быть получены по аналогии со способами, описанными здесь (или способами, описанными в приведенных здесь ссылках), либо с помощью стандартных методов синтеза в соответствии со стандартными способами из доступных исходных материалов с использованием подходящих реагентов и реакционных условий.

Заместители, такие как R², R³ и R⁴ в конечных соединениях формулы I (или их предшественниках и других важных интермедиатах) могут модифицироваться один или более раз после или во время описанных выше процессов с помощью методов, которые хорошо известны специалистам в данной области техники. Примеры таких методов включают замещение, восстановление (например, восстановление карбонильной связи в присутствии подходящих и, если необходимо, хемоселективных восстанавливающих агентов, таких как LiBH₄ или NaBH₄), окисление, алкилирование, ацилирование, гидролиз, образований простых и сложных эфиров. Группы предшественников могут быть заменены на другую такую группу или на группы, показанные в формуле I, в любой момент во время последовательности реакций.

Соединения формулы I могут быть выделены из их реакционных смесей с использованием обычных методов.

Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что в способах, описанных выше и далее, функциональные группы промежуточных соединений могут нуждаться в защите с помощью за-

щитных групп.

Защита и снятие защиты функциональных групп могут быть сделаны до или после реакции в приведенных выше реакционных схемах.

Защитные группы могут быть удалены в соответствии со способами, которые хорошо известны специалистам в данной области техники, и так, как описано далее. Например, защищенные соединения/интермедиаты, описанные здесь, могут быть превращены в химически незащищенные соединения с использованием стандартных способов снятия защиты.

Тип применяемых химических реакций будет определять необходимость и тип защитных групп, а также последовательность их применения для завершения процесса синтеза.

Применение защитных групп подробно описано в "Protective Groups in Organic Chemistry", под редакцией J W F McOmie, Plenum Press (1973), и "Protective Groups in Organic Synthesis", 3^е издание, T.W. Greene & P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1999).

В используемом здесь значении термин "функциональные группы" обозначает, в случае незащищенных функциональных групп, гидрокси-, тио-, аминогруппу, карбоновую кислоту и, в случае защищенных функциональных групп, низшие алкокси-, N-, O-, S-ацетил, сложные эфиры карбоновых кислот. Медицинские и фармацевтические применения

Соединения формулы I заявляются в качестве фармацевтических средств. Согласно дополнительному воплощению настоящего изобретения предоставляется соединение формулы I, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или его фармацевтически функциональное производное для применения в качестве фармацевтического средства.

Преимущественно соединения формулы I могут быть агонистами AMPK, то есть они могут активировать AMPK. Под "активацией AMPK" мы подразумеваем, что стационарный уровень фосфорилирования остатка Thr-172 α -субъединицы AMPK является повышенным по сравнению со стационарным уровнем фосфорилирования в отсутствие агониста. Альтернативно этому, или в дополнение мы подразумеваем, что наблюдается более высокий уровень фосфорилирования любых других белков, находящихся ниже в сигнальном пути AMPK, таких как ацетил-КоА-карбоксилаза (ACC).

Поскольку соединения формулы I могут быть активаторами AMPK, значит, они могут быть пригодными для лечения заболеваний, таких как описанные здесь, в особенности рака.

Соединения формулы I могут уменьшать скорость пролиферации клеток при тестировании в опытах с использованием клеточной линии рака молочной железы человека (например, MDA-MB-231). Таким образом, данные соединения могут оказывать полезный ингибиторный эффект на способность опухолей такого типа, и в целом, разных видов рака, к выживанию. Соединения формулы I могут также снижать скорость пролиферации клеток при тестировании на других раковых клеточных линиях (например, любой мутантной по p53 или нулевой по p53 клеточной линии), таких как, но ими не ограничиваясь, MCF-7, PC-3, Jurkat, SK-OV-3, HL60, MV4-11, HT-29, K562, MDA-MB-231, HCT116wt, A-549, DU-145, LOVO, HCT-116 и PANC-1, независимо от статуса по p53.

Таким образом, соединения формулы I предназначены для ингибирования клеточной пролиферации. Таким образом, соединения формулы I предназначены для применения при лечении рака.

Согласно другому воплощению настоящего изобретения предоставляется применение соединения формулы I, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его фармацевтически функционального производного для получения лекарственного средства для лечения рака.

Соединения формулы I могут быть пригодными для лечения как первичного, так и метастазирующего видов рака.

Термин "рак" должен пониматься специалистами в данной области техники как включающий одно или более заболеваний в классе заболеваний, которые характеризуются неконтролируемым делением клеток и способностью таких клеток поражать другие ткани, либо путем прямого прорастания в окружающую ткань посредством инвазии, пролиферации, либо путем имплантации в удаленные участки путем метастазирования.

В предпочтительном воплощении соединения формулы I являются способными ингибировать пролиферацию раковых клеток. В термин "пролиферация" мы включаем увеличение числа и/или размера раковых клеток.

Альтернативно этому, или предпочтительно в дополнение к этому, соединения формулы I являются способными ингибировать метастазирование раковых клеток.

Под термином "метастазирование" мы понимаем движение или миграцию (например, инвазионную способность) раковых клеток из участка первичной опухоли в теле субъекта в одну или более других зон в теле субъекта (где данные клетки могут образовывать вторичные опухоли). Таким образом, в одном воплощении настоящего изобретения предоставляются соединения и способы для ингибирования, целиком или частично, образования вторичных опухолей у субъекта, болеющего раком. Специалистам в данной области техники будет понятно, что эффект соединения формулы I на "метастазирование" является отличным от любого эффекта, которое соединение может оказывать или может не оказывать на пролиферацию раковых клеток.

Преимущественно соединения формулы I могут быть способны избирательно ингибировать проли-

ферацию и/или метастазирование раковых клеток.

Под термином "избирательно" мы понимаем, что комбинированный продукт ингибирует пролиферацию и/или метастазирование раковых клеток в большей степени, чем он модулирует функцию (например, пролиферацию) нераковых клеток. Предпочтительно соединение ингибирует пролиферацию и/или метастазирование только раковых клеток.

Соединения формулы I могут быть пригодными для лечения любого типа рака, включая все опухоли (не твердые и предпочтительно твердые опухоли, такие как карцинома, аденома, аденокарцинома, рак крови, безотносительно к органу). Например, раковые клетки могут выбираться из группы, состоящей из раковых клеток молочной железы, желчных путей, мозга, толстого кишечника, желудка, органов размножения, щитовидной железы, гематопозитической системы, легких и дыхательных путей, кожи, желчного пузыря, печени, носоглотки, нервных клеток, почек, простаты, лимфатических узлов и желудочно-кишечного тракта. Предпочтительно рак выбирается из группы рака толстого кишечника (включая колоректальные аденомы), молочной железы (например, рак молочной железы в период постменопаузы), рак эндометрия, раки гематопозитической системы (например, лейкомия, лимфома и т.д.), рак щитовидной железы, рак почки, аденокарцинома пищевода, рак яичников, рак простаты, рак поджелудочной железы, рак желчного пузыря, рак печени и рак шейки матки. Более предпочтительно рак выбирается из группы рака толстого кишечника, простаты и, в особенности, молочной железы. Когда рак представляет собой не солидную опухоль, он предпочтительно представляет собой гематопозитическую опухоль, такую как лейкомия (например, острый миелобластный лейкоз (AML), хронический миелобластный лейкоз (CML), острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL)).

Предпочтительно раковые клетки представляют собой клетки рака молочной железы.

Согласно дополнительному воплощению настоящего изобретения предоставляется способ лечения рака, который включает введение эффективного количества соединения формулы I, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его фармацевтически функционального производного пациенту, который нуждается в таком лечении.

Соединения формулы I могут также применяться для лечения заболевания или состояния, которое улучшается путем активации АМРК.

Соединения формулы I могут быть пригодными для лечения побочных эффектов, вызываемых раком (например, кахексии).

Согласно дополнительному воплощению настоящего изобретения предоставляется применение соединения формулы I, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его фармацевтически функционального производного для получения лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, которое улучшается при активации АМРК.

Термин "заболевание или состояние, которое улучшается при активации АМРК", как должно быть понятно специалисту в данной области техники, включает в дополнение к раку диабет, гиперинсулинемию и связанные состояния, состояние/заболевание, при котором наблюдается фиброз, половое расстройство, остеопороз и нейродегенеративные заболевания.

Таким образом, соединения формулы I могут быть показаны к применению для лечения заболевания или состояния, которое вызвано, связано, или в которое вносит вклад гиперинсулинемия.

Термин "заболевание или состояние, которое вызвано, связано, или в которое вносит вклад гиперинсулинемия" или "лечение гиперинсулинемии или ассоциированного состояния", как должно быть понятно специалисту в данной области техники, включает гиперинсулинемию и ассоциированные состояния, такие как диабет 2 типа, непереносимость глюкозы, устойчивость к инсулину, метаболический синдром, дислипидемию, гиперинсулинизм в детском возрасте, гиперхолестеринемию, высокое давление крови, ожирение, состояния жирового перерождения печени, диабетическую нефропатию, диабетическую нейропатию, диабетическую ретинопатию, сердечно-сосудистое заболевание, атеросклероз, состояния, связанные с мозговым кровообращением, такие как инсульт, системную красную волчанку, нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, и синдром поликистоза яичников. Другие болезненные состояния включают прогрессирующее заболевание почек, такое как хроническая почечная недостаточность. Предпочтительные заболевания включают гиперинсулинемию и, в особенности, диабет 2 типа.

Определенные соединения формулы I могут также иметь дополнительное преимущество, поскольку они проявляют активность частичного агониста и, таким образом, могут быть применимы при состояниях, таких как поздний диабет 2 типа, при которых требуется стимуляция продукции инсулина. В понятие «активность агониста» мы включаем агонисты как прямого, так и непрямого действия.

Согласно дополнительному воплощению настоящего изобретения предоставляется способ лечения заболевания или состояния, которое улучшается при активации АМРК, который включает введение эффективного количества соединения формулы I, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его фармацевтически функционального производного пациенту, который нуждается в таком лечении. Эффективное количество может быть определено врачом и будет зависеть для конкретного пациента от оценки клинических параметров данного пациента, включая, но ими не ограничиваясь, стадию заболевания, возраст, пол и гистологические данные.

Соединения формулы I могут, таким образом, также применяться для лечения состояния/заболевания, при котором наблюдается фиброз. Соединения формулы I могут также быть применимыми для лечения полового расстройства (например, для лечения эректильной дисфункции).

Состояние/заболевание, при котором наблюдается фиброз, включает (но ими не ограничивается) заживление ран, келоиды, склеродермию, фиброз легкие (включая идиопатический фиброз легких), нефрогенный системный фиброз и сердечно-сосудистый фиброз (включая эндомиокардиальный фиброз), системный склероз, цирроз печени, дегенерацию желтого пятна глаза, ретинопатию сетчатки и витреоретинопатию, болезнь Крона/воспалительное заболевание кишечника, образование ткани в ране после операций, фиброз, вызванный облучением и применением химиотерапевтических препаратов и сердечно-сосудистый фиброз.

Соединения формулы I могут, таким образом, также применяться для лечения остеопороза.

Соединения формулы I могут, таким образом, также применяться для лечения воспаления.

Соединения формулы I могут, таким образом, также применяться для лечения полового расстройства.

Соединения формулы I могут, таким образом, также применяться для лечения сердечной недостаточности.

Соединения формулы I могут, таким образом, также применяться для лечения нейродегенеративных заболеваний (например, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона и болезни Хантингтона, бокового амиотрофического склероза, полиглутаминовых заболеваний, таких как спинальная и бульбарная мышечная атрофия (spinal and bulbar muscular atrophy, SBMA), денаторубральная и паллидолуизанская атрофия (clentatorubral and pallidolusian atrophy, DRPLA), и разнообразные спинально-церебеллярные атаксии (spinocerebellar ataxias, SCA)).

Во избежание сомнений в контексте настоящего изобретения термины "лечение", "терапия" и "способ терапии" включают терапевтическое или паллиативное лечение пациентов, которые в этом нуждаются, а также профилактическое лечение и/или диагностику пациентов, которые являются восприимчивыми к данным заболеваниям.

Термин "пациенты" включает пациентов-млекопитающих (включая людей).

Термин "эффективное количество" обозначает количество соединения, которое обеспечивает терапевтический эффект у получающего лечение пациента (например, достаточное для вылечивания или предотвращения заболевания). Эффект может быть объективным (то есть измеряемым в каком-либо тесте или по какому-либо маркеру) или субъективным (то есть субъект проявляет признаки или чувствует эффект).

Согласно настоящему изобретению соединения формулы I могут вводиться сами по себе, но предпочтительно вводятся перорально, внутривенно, внутримышечно, кожно, подкожно, через слизистые оболочки (например, подязычно или буккально) ректально, трансдермально, назально, через легкие (например, трахеально или бронхально), топически, любым другим парентеральным путем в форме фармацевтического препарата, включающего соединения в фармацевтически приемлемой лекарственной форме. Предпочтительные пути введения включают пероральное, внутривенное, кожное или подкожное, назальное, внутримышечное или внутрибрюшинное введение.

Соединения формулы I, как правило, будут вводиться в виде фармацевтической композиции в смеси с фармацевтически приемлемым адьювантом, растворителем или носителем, которые могут быть выбраны в соответствии с выбранным способом введения и стандартной фармацевтической практикой. Такие фармацевтически приемлемые носители могут быть химически инертными по отношению к активным соединениям и могут не иметь нежелательных побочных эффектов или токсичности в условиях применения. Подходящие фармацевтические композиции можно найти, например, в Remington The Science и Practice of Pharmacy, 19th ed., Mack Printing Company, Easton, Pennsylvania (1995). Для парентерального введения могут применяться парентерально приемлемый водный раствор, который является свободным от пирогенов и имеет требуемые pH, изотоничность и стабильность. Подходящие растворы хорошо известны специалисту в данной области техники, вместе с разнообразными способами, описанными в литературе. Краткий обзор способов введения лекарств можно также найти, например, в Langer, Science 249, 1527 (1990).

В ином случае приготовление подходящих композиций может быть выполнено вне рамок настоящего изобретения специалистом в данной области техники с помощью обычных методов и/или в соответствии со стандартной и/или принятой фармацевтической практикой.

Другой аспект настоящего изобретения включает фармацевтическую композицию, включающую терапевтически эффективное количество соединения формулы I, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его фармацевтически функционального производного в комбинации с фармацевтически приемлемым эксципиентом, таким как адьювант, растворитель или носитель.

Количество соединения формулы I в композиции будет зависеть от тяжести состояния и от пациента, который нуждается в лечении, а также от соединения(ий), которое(ые) применяется(ются), но может быть определено вне рамок настоящего изобретения специалистом в данной области техники.

В зависимости от заболевания и от пациента, который нуждается в лечении, а также от способа вве-

дения, соединения формулы I могут вводиться в разных терапевтически эффективных дозах пациенту, который в них нуждается.

Однако доза, вводимая млекопитающему, в частности, человеку, в контексте настоящего изобретения должна быть достаточной для обеспечения терапевтического ответа у млекопитающего в течение разумного периода времени. Специалист в данной области техники будет понимать, что выбор точной дозы и композиции и наиболее подходящего режима введения будет также зависеть, среди прочего, от фармакологических свойств композиции, природы и тяжести состояния, которое требует лечения, и физического состояния и ясности ума реципиента, а также от эффективности конкретного соединения, возраста, состояния, массы тела, пола и чувствительности пациента, который нуждается в лечении, и от стадии/тяжести заболевания.

Введение может быть непрерывным или прерывистым (например, путем болюсной инъекции). Дозировка может также определяться временным режимом и частотой введения. В случае перорального или парентерального введения дозировка может варьировать от примерно 0,01 мг до примерно 1000 мг в день соединения формулы I (или, если это применимо, соответствующего количества его фармацевтически приемлемой соли или пролекарства).

В любом случае, практикующий врач или другой специалист в данной области техники будет способен в плановом порядке определить необходимую дозу, которая будет наиболее подходящей для индивидуального пациента. Указанные выше дозы являются примерными для среднего случая; они, конечно, могут быть индивидуальными в случаях, когда требуются более высокие или более низкие диапазоны дозировок, и такие дозировки находятся в рамках настоящего изобретения.

Далее будут приведены предпочтительные не ограничивающие примеры, которые отражают определенные аспекты настоящего изобретения, со ссылками на следующие фигуры.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 показывает эффект соединения из примера 1 или соединения из примера 2с на фосфорилирование АМРК. После голодания клеток РС3 в бессывороточной среде в течение 24 ч, было добавлено 0,3, 0,6, 1,2 и 2,5 мкМ соединения из примера 1 или соединения из примера 2с и проведена инкубация в течение дополнительных 4 ч. Данная фигура показывает репрезентативные иммуноблоты фосфорилирования АМРК при действии соединения из примера 1 или соединения из примера 2с. Соединение из примера 1 и соединение из примера 2с стимулируют фосфорилирование АМРК в клетках РС3.

Фиг. 2 показывает эффект некоторых соединений из примеров на фосфорилирование АМРК в сравнении с общими уровнями АМРК и на фосфорилирование ацетилкофермент А- (ацетил-КоА)-карбоксилазы (субстрат АМРК). После голодания клеток РС3 в бессывороточной среде в течение 16 ч, было добавлено 1 и 5 мкМ некоторых соединений и проведена инкубация в течение дополнительных 4 ч. Данная фигура показывает репрезентативные иммуноблоты общего уровня АМРК (Pan-АМРК) и уровень фосфорилирования АМРК и ацетил-кофермент А-карбоксилазы при действии некоторых соединений из примеров. Некоторые соединения из примеров стимулируют фосфорилирование АМРК в клетках РС3 и индуцируют фосфорилирование ацетил-КоА-карбоксилазы.

Фиг. 3 показывает, что соединение из примера 1 и 2с может снижать опосредуемое PP2C- α 1 дефосфорилирование АМРК. Соединения тестировались в опыте в концентрациях 2,5, 5 и 10 мкМ (как указано на фигуре).

Осуществление изобретения

Примеры

Настоящее изобретение иллюстрируется с помощью следующих примеров, в которых могут применяться следующие сокращения:

BrdU 5-бром-2-дезоксинуридин
nBuLi N-бутиллитий
DCM дихлорметан
DMF диметилформамид (ДМФА)
DMSO диметилсульфоксид (ДМСО)
ES электрораспыление
Et₂O диэтиловый эфир
EtOAc этилацетат
EtOH этанол
LC жидкостная хроматография
MeOH метанол
MS масс-спектрометрия
MTBE метил-трет-бутиловый эфир
NMR ядерный магнитный резонанс (ЯМР)
THF тетрагидрофуран

Где не указаны препаративные методы, соответствующий интермедиат является коммерчески доступным (например, от Chemical Diversity, San Diego, CA, USA или других доступных коммерческих источников).

Общие методы

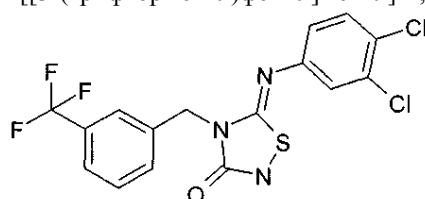
LC-MS проводилась на Sciex API 150 LC/ES-MS, снабженной колонкой ACE 3 C8 (30 × 3,0 мм) при скорости тока 1 мл/мин. Для элюции использовались две градиентные системы ацетонитрила в воде (с добавлением 0,1% TFA): А) 5-100% в течение 10 мин, затем 2 мин 100% изократно или В) 90-100% в течение 2 мин, затем 2 мин 100% изократно. ES-MS с прямым введением также проводили на приборе Bruker Esquire LC/ES-MS. ^1H ядерный магнитный резонанс проводили на спектрометре Bruker Avance DRX 400 при частоте 400,01 МГц с использованием остаточного растворителя в качестве внутреннего стандарта.

Общий способ для синтеза бензоилизотиоцианатов из бензоилхлоридов

К смеси бензоилхлорида (5 ммоль) и трибутиламинбромид (0,15 ммоль) в толуоле (10 мл) добавляли изотиоцианат калия (13 ммоль) в воде (10 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Фазы разделяли, и водную фазу экстрагировали толуолом (2 × 20 мл). Объединенные органические фазы высушивали над MgSO_4 , фильтровали через слой силикагеля и упаривали для получения бензоилизотиоцианата с высокой чистотой согласно данным ^1H ЯМР. Полученный материал использовался на следующей стадии без дополнительной очистки.

Пример 1

5-(3,4-Дихлорфенил)имино-4-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



(i) 1-[(3,4-Дихлорфенил)карбамотиоил]-1-[[3-(трифторметил)фенил]метил]мочевина

К раствору 3-трифторметилбензилмочевины (218 мг, 1 ммоль) в сухом THF (2 мл) в атмосфере азота по каплям был добавлен $n\text{-BuLi}$ (2,5 М в гексане, 0,4 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин и затем по каплям добавляли 3,4-дихлорфенилизотиоцианат (204 мг, 1 ммоль) в сухом THF (2 мл). Анализ с помощью ВЭЖХ через 5 мин показал завершение реакции с получением ожидаемого продукта. Были добавлены насыщенный NaHCO_3 (5 мл) и Et_2O (15 мл) и фазы были разделены. Водную фазу экстрагировали Et_2O (2 × 15 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором (5 мл) и высушивали над MgSO_4 . Концентрирование в вакууме дало 412 мг масла желтого цвета. Очистка флэш-хроматографией (силикагель, 20-30% EtOAc в $n\text{-гексане}$) дала 193 мг (46%) чистого продукта согласно ^1H ЯМР. MS: m/z : 422 (M+H); Чистота (ВЭЖХ): 95,2%; ^1H ЯМР (500 МГц, Хлороформ- d) δ ppm 13,34 (s, 1H) 7,81 (s, 1H) 7,54-7,65 (m, 4H) 7,47 (s, 2H) 5,82 (s, 2H) 5,02 (br. s., 2H).

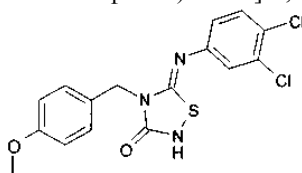
(ii) 5-(3,4-Дихлорфенил)имино-4-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он

Бром (16 мг в 0,5 мл EtOH) был добавлен по каплям к раствору 1-[(3,4-дихлорфенил)карбамотиоил]-1-[[3-(трифторметил)фенил]метил]мочевины (42 мг, 0,1 ммоль) в 0,5 мл EtOH при 0°C. Анализ с помощью ВЭЖХ-MS показал почти полное превращение в продукт через 30 мин перемешивания. Реакция была остановлена через 1,5 ч. Была добавлена вода (3 мл) и полученная водная фаза была проэкстрагирована Et_2O (3 × 15 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме с получением 43,5 мг неочищенного материала (чистота примерно 90%). Материал был очищен с помощью препаративной ВЭЖХ (стандартные условия) на колонке XTerra Prep MS C18 5 мм (мкм), 19 × 50 мм, скорость тока 25 мл/мин, 50 mM pH 10 $\text{NH}_4\text{HCO}_3/\text{ACN}$, 5-97% ACN за 6 мин, фракции собирались согласно УФ-поглощению (254 нм) с получением 21,7 мг (52%) продукта. Чистота (ВЭЖХ): 98,5%, MS: m/z : 420 (M+H), ^1H ЯМР (500 МГц, Хлороформ- d) δ ppm 7,81 (s, 1H) 7,70 (d, $J=7,81$ Hz, 1H) 7,60 (d, $J=7,81$ Hz, 1H) 7,49 (t, $J=7,69$ Hz, 1H) 7,40 (d, $J=8,55$ Hz, 1H) 7,06 (d, $J=2,44$ Hz, 1H) 6,79 (dd, $J=8,55, 2,44$ Hz, 1H) 5,04 (s, 2H).

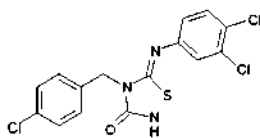
Пример 2

Следующие соединения были (соединения (с) и (е)), или могут быть получены с использованием способов, описанных выше в заявке

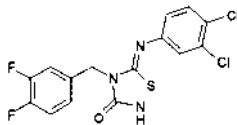
а) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[(4-метоксифенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



б) 4-[(4-хлорфенил)метил]-5-(3,4-дихлорфенил)имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он

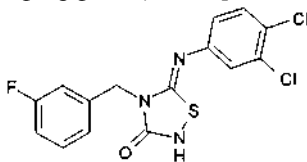


с) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[(3,4-дифторфенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он

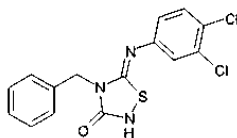


^1H ЯМР (500 МГц, Метанол- d_4) δ ppm 7,48 (d, $J=8,55$ Hz, 1 H) 7,39 (ddd, $J=11,35, 7,81, 1,83$ Hz, 1H) 7,22-7,31 (m, 2H) 7,15 (d, $J=2,44$ Hz, 1H) 6,92 (dd, $J=8,55, 2,69$ Hz, 1H) 4,97 (s, 2H). ESI MS $m/z=388$ $[\text{M}+\text{H}]^+$;

d) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[(3-фторфенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он

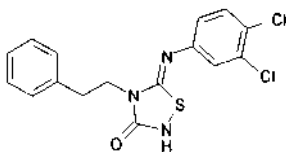


е) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[(фенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он

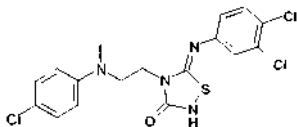


^1H ЯМР (500 МГц, Метанол- d_4) δ ppm 7,47 (d, $J=8,55$ Hz, 1 H) 7,45 (d, $J=7,32$ Hz, 2H) 7,35 (t, $J=7,32$ Hz, 2H) 7,28-7,33 (m, 1H) 7,14 (d, $J=2,44$ Hz, 1H) 6,92 (dd, $J=8,55, 2,44$ Hz, 1H) 5,01 (s, 2H), ESI MS $m/z=352$ $[\text{M}+\text{H}]^+$;

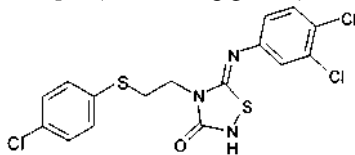
f) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-фенетил-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



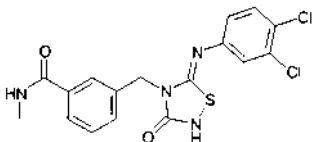
g) 4-[2-[(4-хлорфенил)-метиламино]этил]-5-(3,4-дихлорфенил)имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



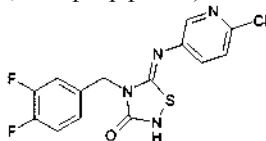
h) 4-[2-(4-хлорфенил)сульфанилэтил]-5-(3,4-дихлорфенил)имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



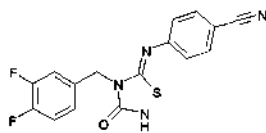
i) 3-[[5-(3,4-дихлорфенил)имино-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-4-ил]метил]-N-метилбензамид



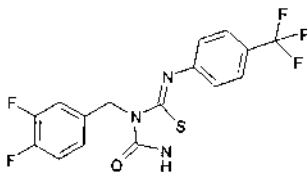
j) 5-[(6-хлор-3-пиридил)имино]-4-[(3,4-дифторфенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



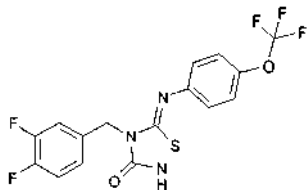
k) 4-[[4-[(3,4-дифторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]амино]бензонитрил



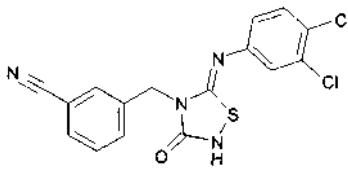
l) 4-[(3,4-дифторфенил)метил]-5-[4-(трифторметил)фенил]имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



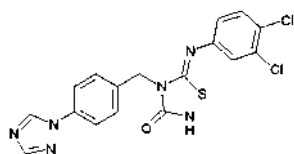
m) 4-[(3,4-дифторфенил)метил]-5-[4-(трифторметокси)фенил]имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



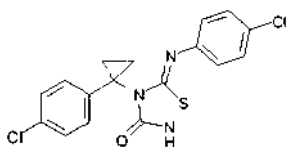
n) 3-[5-(3,4-дихлорфенил)имино-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-4-ил]метил]бензонитрил



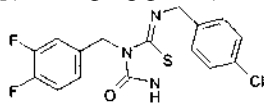
o) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[[4-(1,2,4-триазол-1-ил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он



p) 4-[1-(4-хлорфенил)циклопропил]-5-(4-хлорфенил)имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он

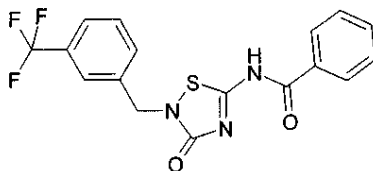


q) 5-(4-хлорфенил)метиимино]-4-[(3,4-дифторфенил)метил]-1,2,4-тиадиазол-дин-3-он



Пример 3

N-[3-Оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



(i) N-[3-(3-Трифторметилбензил)уреидокарботиоил]бензамид

(3-Трифторметилбензил)мочевина (218 мг; 1,0 ммоль) и 163 мг (1,0 ммоль) бензоилизотиоцианата были растворены в ацетоне и смесь нагревалась с обратным холодильником. Через 18 ч нагревания ВЭЖХ-МС выявила почти полное превращение в ожидаемый продукт в очень чистой реакции. Раствор упаривали, и остаток растворяли в EtOAc (40 мл). Промывали 2 М HCl (5 мл), водой (2×5 мл) и соевым раствором (5 мл), и органическую фазу высушивали над MgSO₄ и концентрировали в вакууме с получением 347 мг твердого вещества светло-желтого цвета. ВЭЖХ-МС показывает чистоту примерно 90%.

Часть неочищенного материала была использована на следующей стадии без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (500 МГц, Метанол-d₄) δ ppm 7,95 (dd, J=8,30, 1,22 Hz, 2H) 7,68 (d, J=0,98 Hz, 1H) 7,65 (dd,

$J=8,79, 7,57\text{Hz}, 2\text{H}) 7,59\text{ (d, } J=7,08\text{ Hz, 1H)} 7,51\text{--}7,57\text{ (m, 3H)} 4,63\text{ (s, 2H)}$.

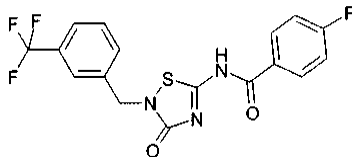
(ii) N-[3-Оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид

Бром (17 мг в 0,5 мл EtOH, 0,1 ммоль) по каплям добавляли к раствору 40 мг (0,1 ммоль) N-[3-(3-трифторметилбензил)-уреидокарботиоил]-бензамида (из стадии (i) выше) в 3,5 мл EtOH при комнатной температуре. ВЭЖХ-MS показало завершение реакции через 15 мин. Растворитель удаляли в вакууме с получением 51 мг твердого вещества оранжевого цвета. Твердое вещество растирали в порошок с EtOAc с выходом 25 мг (63%) чистого продукта в виде твердого вещества грязно-белого цвета после высушивания. 30 MS: $[M+H]^+$: 380,0, Чистота согласно ВЭЖХ: 99%. ^1H ЯМР (500 МГц, Метанол- d_4) δ 8,11 (dd, $J=8,42, 1,10\text{ Hz}, 2\text{H}) 7,70\text{ (s, 1H)} 7,63\text{--}7,69\text{ (m, 3H)} 7,57\text{--}7,62\text{ (m, 1H)} 7,55\text{ (t, } J=7,69\text{ Hz, 2H)} 4,97\text{ (s, 2H)}$.

Пример 4

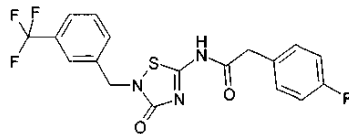
Следующие соединения были (соединения (a)-(f) и (j)-(r)), или могут быть получены с использованием способов, описанных выше в заявке

a) 4-фтор-N-[3-оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



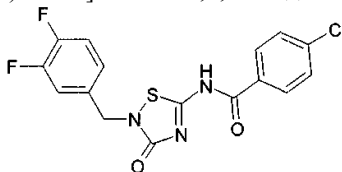
MS: $[M+H]^+$: 398,0, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%, ^1H ЯМР (500 МГц, Метанол- d_4) δ ppm: 8,19 (dd, $J=8,79, 5,37\text{ Hz}, 2\text{H}) 7,69\text{ (s, 1H)} 7,62\text{--}7,67\text{ (m, 2H)} 7,56\text{--}7,62\text{ (m, 1H)} 7,26\text{ (t, } J=8,79\text{ Hz, 2H)} 4,94\text{ (s, 2H)}$;

b) 2-(4-фторфенил)-N-[3-оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]ацетамид



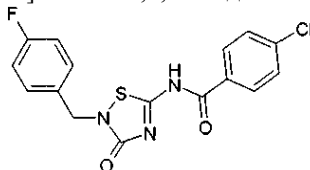
MS: $[M+H]^+$: 412, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%, ^1H ЯМР (500 МГц, Метанол- d_4) δ ppm 7,64 (s, 1H) 7,60-7,63 (m, 1H) 7,57-7,60 (m, 1H) 7,53-7,57 (m, 1H) 7,31 (dd, $J=8,55, 5,37\text{ Hz}, 2\text{H}) 7,06\text{ (t, } J=8,79\text{ Hz, 2H)} 4,95\text{ (s, 2H)} 3,86\text{ (s, 2H)}$;

c) 4-хлор-N-[2-[(3,4-дифторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



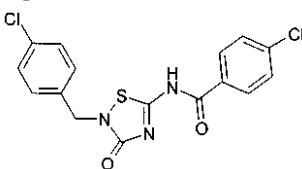
MS: $[M+H]^+$: 382,0, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%, ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 8,10 (d, $J=8,79\text{ Hz, 2H}) 7,62\text{ (d, } J=8,30\text{ Hz, 2H)} 7,38\text{--}7,49\text{ (m, 2H)} 7,21\text{ (ddd, } J=6,23, 4,15, 2,08\text{ Hz, 1H)} 4,78\text{ (s, 2H)}$;

d) 4-хлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



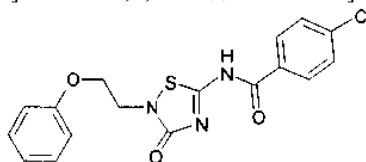
MS: $[M+H]^+$: 364,0, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%, ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 8,10 (d, $J=8,55\text{ Hz, 2H}) 7,62\text{ (d, } J=8,79\text{ Hz, 2H)} 7,41\text{ (dd, } J=8,67, 5,49\text{ Hz, 2H)} 7,21\text{ (t, } J=8,91\text{ Hz, 2H)} 4,78\text{ (s, 2H)}$;

e) 4-хлор-N-[2-[(4-хлорфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



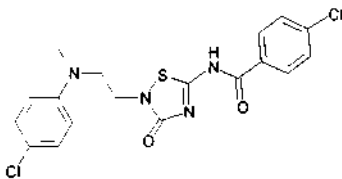
MS: $[M+H]^+$: 380,0, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%, ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 8,10 (d, $J=8,55\text{ Hz, 2H}) 7,63\text{ (d, } J=8,55\text{ Hz, 2H)} 7,44\text{ (d, } J=8,55\text{ Hz, 2H)} 7,38\text{ (d, } J=8,55\text{ Hz, 2H)} 4,79\text{ (s, 2H)}$;

f) 4-хлор-N-[2-[2-(фенокси)этил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид

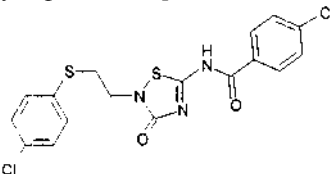


MS: [M+H]: 377,0, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%, ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 8,12 (d, $J=8,55$ Hz, 2H) 7,63 (d, $J=8,79$ Hz, 2H) 7,30 (dd, $J=8,55$, 7,32 Hz, 2H) 6,93-6,99 (m, 3H) 4,20 (t, $J=5,00$ Hz, 2H) 3,97 (t, $J=5,01$ Hz, 2H);

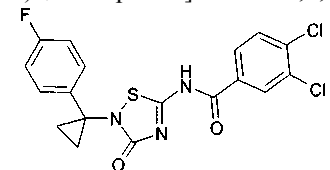
g) 4-хлор-N-[2-[2-[(4-хлорфенил)-метиламино]этил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



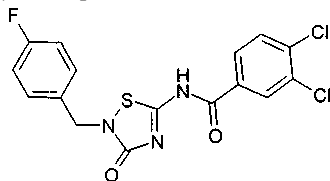
h) 4-хлор-N-[2-[2-(4-хлорфенил)сульфанилэтил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



i) 3,4-дихлор-N-[2-[1-(4-фторфенил)циклопропил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид

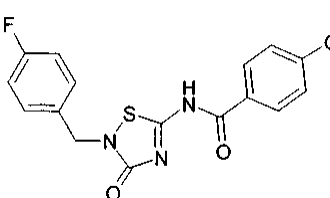


j) 3,4-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



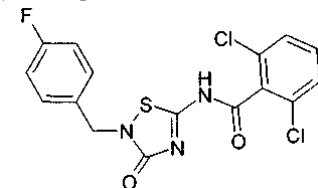
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 4,78 (s, 2H) 7,18-7,24 (m, 2H) 7,38-7,43 (m, 2H) 7,83 (d, $J=8,30$ Hz, 1H) 8,02 (dd, $J=8,55$, 1,95 Hz, 1H) 8,24 (d, $J=1,95$ Hz, 1H);

k) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-4-метоксибензамид



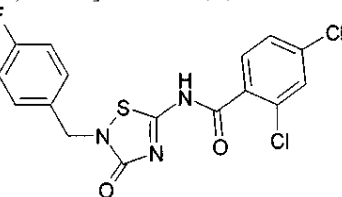
MS: [M+H]: 360, Чистота согласно ВЭЖХ: 95%;

l) 2,6-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



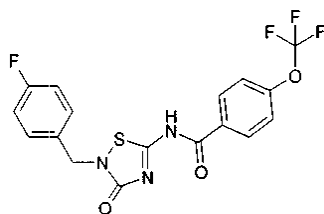
MS: [M+H]: 398, Чистота согласно ВЭЖХ: 95%;

m) 2,4-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



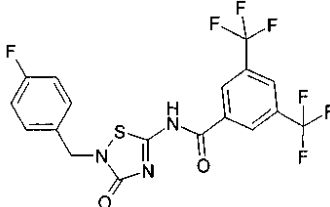
MS: [M+H]: 398, Чистота согласно ВЭЖХ: 98%. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 4,80 (s, 2H) 7,19-7,24 (m, 2H) 7,39-7,44 (m, 2H) 7,60 (dd, $J=8,42$, 2,08 Hz, 1H) 7,79 (d, $J=1,71$ Hz, 1H) 7,91 (br, s, 1H) 13,71 (br, s, 1H);

n) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-4-(трифторметокси)бензамид



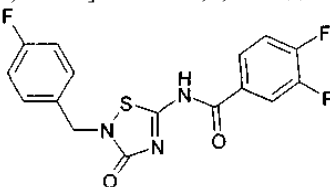
MS:[M+H]: 414, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%;

о) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-3,5-бис(трифторметил)бензамид



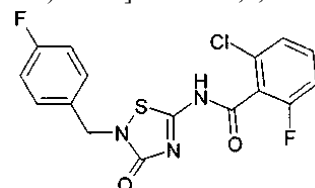
MS:[M+H]: 466, Чистота согласно ВЭЖХ: 95%;

р) 3,4-дифтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



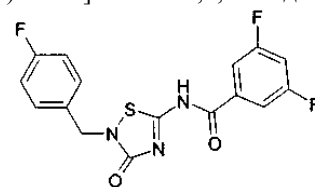
MS:[M+H]: 366, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%;

q) 2-хлор-6-фтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



MS:[M+H]: 382, Чистота согласно ВЭЖХ: 100%; и

г) 3,5-дифтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид



MS:[M+H]: 366, Чистота согласно ВЭЖХ: 95%.

Соединения 4j-4г были синтезированы из соединения формулы III путем реагирования с соединениями формулы IV, где L₂ представляет собой хлор и W¹ представляет собой -C(O)- (замещенный бензоилхлорид).

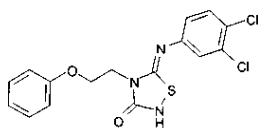
Соединения 4j-4г были синтезированы в качестве небольшой библиотеки соединений следующим способом.

5-Амино-2-(4-фторбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он и пиридин были смешаны в 400 мкл ацетонитрила. Был добавлен хлорангидрид в 100 мкл ацетонитрила. Реакционная смесь перемешивалась в течение ночи. Было добавлено 50 мкл 2 М КОН для гидролиза двузамещенного побочного продукта. Через 1 день реакционную смесь закисляли 100 мкл TFA, разводили до 2 мл смесью DMSO/метанол/вода и очищали обращено-фазовой хроматографией (ACE C8, 5 мкм, 21 × 50 мм, скорость тока 25 мл/мин, градиент: вода + 0,1% TFA/ацетонитрил в течение 6 мин).

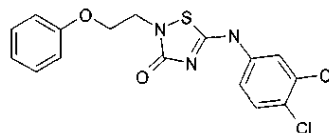
Пример 5

а) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-(2-феноксиэтил)-1,2,4-тиадиазолидин-3-он и

б) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(2-феноксиэтил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он



5a



5b

(i) (2-Феноксиптил)мочевина

2-Феноксиптиламин (137 мг, 1 ммоль) и мочевина (300 мг, 5 ммоль) были помещены в 2 мл пробирку для микроволновой печи. Были добавлены концентрированная HCl (200 мкл) и вода (500 мкл) и смесь нагревалась до 150°C в течение 30 мин в микроволновой печи. После охлаждения пробирка была заполнена белым осадком. Твердое вещество собирали фильтрацией и промывали несколькими порциями воды. После высушивания в вакуумном эксикаторе было получено 167 мг (93%) продукта в виде кристаллического материала белого цвета. ВЭЖХ-MS показала, что продукт состоял из смеси 67% продукта и 33% диалкилированного продукта. Очистка флэш-хроматографией (силикагель, 4-5% MeOH в CH₂Cl₂) дала 79 мг (44%) чистого продукта в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (500 МГц, Метанол-d₄) δ ppm 7,28 (dd, J=8,91, 7,20 Hz, 2H) 6,90-6,99 (m, 3H) 4,02 (t, J=5,37 Hz, 2H) 3,51 (t, J=5,37 Hz, 2H).

(ii) (a) 1-[(3,4-Дихлорфенил)карбамотиоил]-1-(2-феноксиптил)мочевина

(b) 1-[(3,4-Дихлорфенил)карбамотиоил]-1-(2-феноксиптил)мочевина

К раствору (2-феноксиптил)мочевины (79 мг, 0,44 ммоль, из стадии (i) выше) в сухом THF (2 мл) по каплям добавляли n-BuLi. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин, после чего по каплям добавляли 3,4-дихлорфенилизотиоцианат (89 мг, 0,44 ммоль) в сухом THF (2 мл). Через 1,5 ч ВЭЖХ показала почти полное исчезновение исходного материала. Были добавлены насыщенный NaHCO₃ (5 мл) и EtOAc (20 мл) и фазы были разделены. Водную фазу экстрагировали дополнительно 20 мл EtOAc. Объединенные органические фазы промывали водой (5 мл), солевым раствором (5 мл) и высушивали над MgSO₄. Концентрирование в вакууме дало 158 мг масла желтого цвета. ВЭЖХ-MS выявила два продукта с ожидаемым молекулярным весом, m/z=384.

Очистка флэш-хроматографией (силикагель, 30% EtOAc в n-гексане) дала продукты

a: 29 мг Tr=2,875 мин (ACE, 10-97% CH₃CN за 3 мин, 1 мл/мин): Чистота 73%, m/z=384

b: 34 мг (Fr 11-16) Tr=2,908 мин (ACE, 10-97% CH₃CN за 3 мин, 1 мл/мин): Чистота 97%, m/z=384

Данные два продукта дополнительно не характеризовались. Они были циклизированы в двух отдельных экспериментах.

iii) (a) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-(2-феноксиптил)-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;

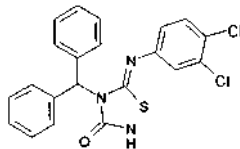
(b) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(2-феноксиптил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он

Циклизация соединений со стадии (ii)(a) и (ii)(b) с получением продуктов была проведена согласно способу, описанному в примере 1, стадия (ii). Очистка с помощью RP-ВЭЖХ дала желаемые соединения.

5(a): MS: [M+H]⁺: 385,0, Чистота ВЭЖХ: 97%, ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 7,42 (d, J=8,67 Hz, 1H) 7,24-7,31 (m, 2H) 7,05 (d, J=2,44 Hz, 1H) 6,99-7,03 (m, 2H) 6,92 (tt, J=7,32, 1,04 Hz, 1H) 6,87 (dd, J=8,67, 2,52 Hz, 1H) 4,10-4,16 (m, 2H) 3,95-4,02 (m, 2H) 5(b)b: MS: [M+H]⁺: 385,0, Чистота ВЭЖХ: 100%; ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 11,01 (s, 1H) 8,05 (d, J=2,20 Hz, 1H) 7,62 (d, J=8,79 Hz, 1H) 7,44 (dd, J=8,79, 2,44 Hz, 1H) 7,27-7,34 (m, 2H) 6,93-6,99 (m, 3H) 4,17 (t, J=4,88 Hz, 2H) 4,00 (t, J=4,88 Hz, 2H).

Пример 6

4-Бензгидрил-5-(3,4-дихлорфенил)имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он

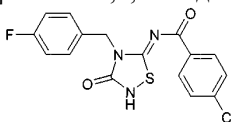


Следующее соединение было получено с помощью тех же методов, которые описаны в примерах 1 и 5 с использованием подходящих исходных материалов, за исключением того, что для последней стадии циклизации вместо EtOH в качестве растворителя был использован EtOAc.

MS: m/z=428 [M+H]⁺, Чистота ВЭЖХ: 98% (ACE), 96% (XTerra); ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 10,95 (br. s., 1H) 8,02 (br. s., 1H) 7,61 (d, J=8,79 Hz, 1H) 7,38-7,45 (m, 5H) 7,33-7,38 (m, 2H) 7,22 (d, J=7,32 Hz, 4H) 6,62 (s, 1H).

Пример 7

a) 4-Хлор-N-[4-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]бензамид



(i) N-(Карбамоилкарбамотиоил)-4-хлорбензамид

4-Хлорбензоилизотиоцианат (395 мг) и 600 мг мочевины (5 эквивалентов) были смешаны в 30 мл ацетона и перемешивались с обратным холодильником в течение 1 дня. Реакционная смесь была сконцентрирована и осадок суспендирован в диэтиловом эфире. Осадок собирали фильтрацией и промывали диэтиловым эфиром. Твердое вещество белого цвета растворяли в этилацетате (10 мл) и полученный раствор промывали водой (10 мл) и соевым раствором (10 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали с получением твердого вещества белого цвета (0,35 г, 1,4 ммоль, выход 70%).

(ii) 4-Хлор-N-(3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил)бензамид

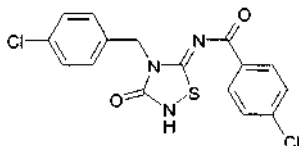
N-(Карбамоилкарбамотиоил)-4-хлор-бензамид (350 мг) из стадии (i) выше был смешан с 50 мл этилацетата. Был добавлен бром (224 мг) в 5 мл этилацетата. Через 30 мин было добавлено 10 мл воды и 10 мл метанола. Смесь концентрировали и осадок растирали со смесью вода/метанол и высушивали под вакуумом с получением продукта в виде твердого вещества белого цвета, 0,25 г, 0,98 ммоль, выход 70%.

(iii) 4-хлор-N-[4-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]бензамид

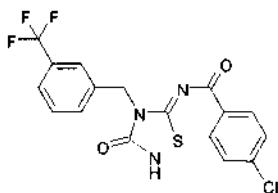
4-Хлор-N-(3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил)бензамид (50 мг, 0,20 ммоль, 1 эквивалент) и 55 мг (0,40 ммоль, 2 эквивалента) карбоната калия смешивали в 5 мл DMF. По каплям добавляли 38 мг 4-фторбензилбромида (0,20 ммоль, 1 эквивалент) в 2 мл DMF. Смесь перемешивали в течение 15 мин, после чего реакционную смесь развели 100 мл этилацетата и 100 мл воды. Органическую фазу промывали 2×100 мл воды и 50 мл солевого раствора, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали. Осадок очищали флэш-хроматографией (силикагель, 40% EtOAc в гексане) с получением продукта в виде твердого вещества белого цвета, 8 мг, 22 мкмоль, 11%. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 5,17 (s, 2H) 7,16-7,22 (m, 2H) 7,50-7,56 (m, 2H) 7,61-7,65 (m, 2H) 8,19-8,23 (m, 2H) 10,46 (br. s., 1H), MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$, Чистота ВЭЖХ: 93%.

Следующие соединения были получены согласно методам, описанным в примере 7(a):

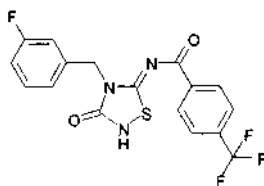
b) 4-хлор-N-[4-[(4-хлорфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]бензамид



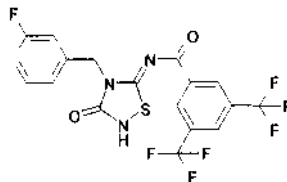
c) 4-хлор-N-[3-оксо-4-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]бензамид



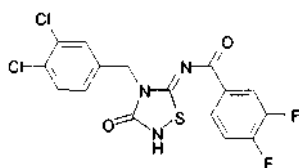
d) N-[4-[(3-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]-4-(трифторметил)бензамид



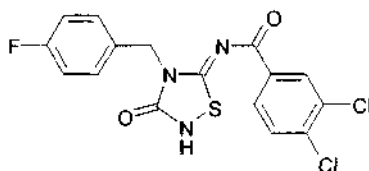
e) N-[4-[(3-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]-3,5-бис(трифторметил)бензамид



f) N-[4-[(3,4-дихлорфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]-3,4-дифторбензамид



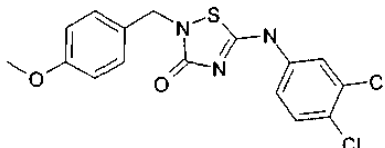
g) 3,4-дихлор-N-[4-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]бензамид



Пример 8

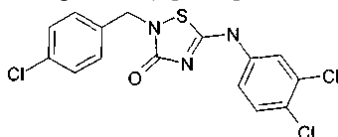
Следующие соединения были (a-d, f, k, l, o-г и w) или могут быть получены с использованием методов, описанных в примере 1, за исключением того, что на стадии (i): (i) на первой стадии не используется основание для обеспечения связывания производного изотиоцианата с первичным азотом в производном мочевины; (ii) в качестве растворителя используется 20% DMF в ацетонитриле; и (iii) реакционная смесь перемешивалась в течение 48 ч при 80°C.

a) 5-(3,4-Дихлорфениламино)-2-(4-метоксибензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он



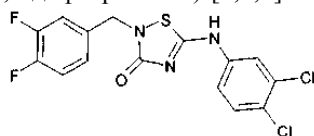
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,74 (s, 3H) 4,72 (s, 2H) 6,92 (q, $J=5,13$ Hz, 2H) 7,24 (q, $J=5,13$ Hz, 2H) 7,45 (dd, $J=8,79$, 2,44 Hz, 1H) 7,62 (d, $J=8,79$ Hz, 1H) 8,04 (d, $J=2,44$ Hz, 1H), ESI MS $m/z=382$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. Чистота ВЭЖХ: 100%;

b) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(4-хлорбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он



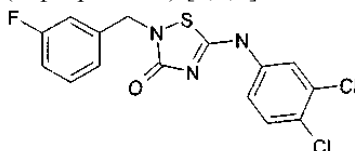
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 4,81 (s, 2H) 7,32 (d, $J=8,55$ Hz, 2H) 7,42-7,47 (m, 3H) 7,63 (d, $J=8,79$ Hz, 1H) 8,05 (d, $J=2,44$ Hz, 1H), MS: ESI MS $m/z=386$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; Чистота ВЭЖХ: 95%;

c) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(3,4-дифторбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он



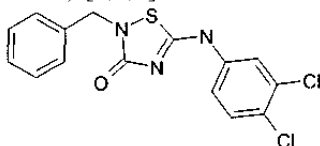
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 4,80 (s, 3H) 7,14-7,17 (m, 1H) 7,36-7,47 (m, 3H) 7,63 (d, $J=8,79$ Hz, 1H) 8,05 (d, $J=2,44$ Hz, 1H), ESI MS $m/z=388$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; Чистота ВЭЖХ: 100%;

d) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(3-фторбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он

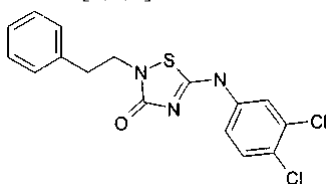


^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 4,83 (s, 2H) 7,09-7,18 (m, 3H) 7,38-7,48 (m, 2H) 7,63 (d, $J=8,79$ Hz, 1H) 8,05 (d, $J=1,22$ Hz, 1H), MS: 371 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Чистота ВЭЖХ: 97%;

e) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(бензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он

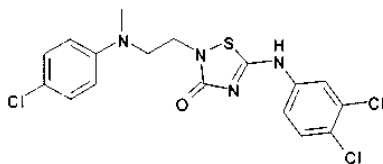


f) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-фенетил-[1,2,4]тиадиазол-3-он

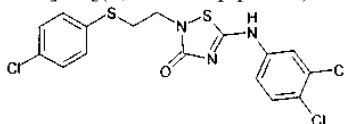


^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 2,89 (t, $J=7,08$ Hz, 2H) 3,87 (t, $J=7,08$ Hz, 2H) 7,19-7,34 (m, 5 H) 7,42 (dd, $J=8,79$, 2,44 Hz, 1H) 7,62 (d, $J=8,79$ Hz, 1H) 8,02 (d, $J=1,71$ Hz, 1H), MS: 367 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Чистота ВЭЖХ: 97%;

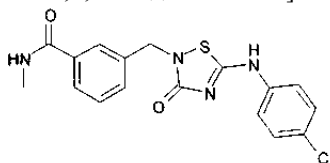
g) 2-[2-[(4-хлорфенил)-метиламино]этил]-5-[(3,4-дихлорфенил)амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



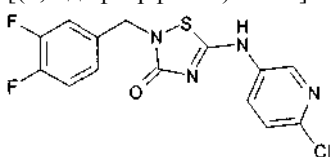
h) 2-[(4-хлорфенил)сульфанилэтил]-5-[(3,4-дихлорфенил)амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



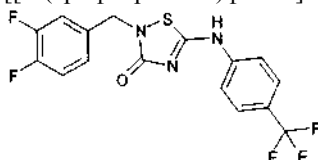
i) 3-[[5-[(4-хлорфенил)амино]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-2-ил]метил]-N-метил-бензамид



j) 5-[(6-хлор-3-пиридил)амино]-2-[(3,4-дифторфенил)метил]-1,2,4-тиадиазол-3-он

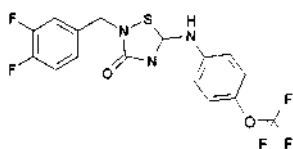


к) 2-[(3,4-дифторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



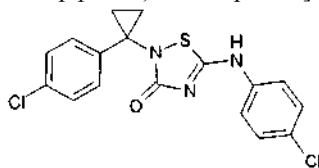
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 4,82 (s, 2H) 7,13-7,21 (m, 1H) 7,36-7,48 (m, 2H) 7,72-7,77 (m, 2H) 7,78-7,84 (m, 2H), MS: 388 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Чистота ВЭЖХ: 95%;

l) 2-[(3,4-дифторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметокси)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он

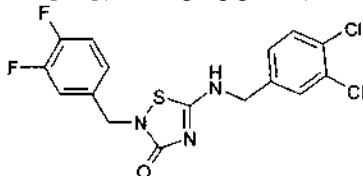


^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 4,79 (s, 2H) 7,12-7,20 (m, 1H) 7,33-7,49 (m, 4H) 7,70 (d, $J=9,03$ Hz, 2H), MS: 404 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Чистота ВЭЖХ: 100%;

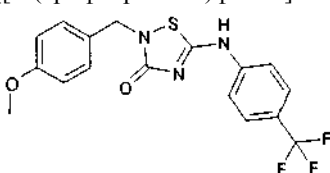
м) 5-[(4-хлорфенил)амино]-2-[1-(4-хлорфенил)циклопропил]-1,2,4-тиадиазол-3-он



н) 5-[(3,4-дихлорфенил)метиламино]-2-[(3,4-дифторфенил)метил]-1,2,4-тиадиазол-3-он



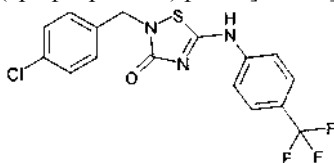
о) 2-[(4-метоксифенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 3,74 (s, 3H) 4,74 (s, 2H) 6,89-6,97 (m, 2H) 7,22-7,29 (m, 2H) 7,71-

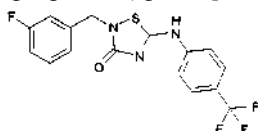
7,76 (m, 2H) 7,76-7,82 (m, 2H), MS: 382 [M+H]⁺, Чистота ВЭЖХ: 100%;

p) 2-[(4-хлорфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



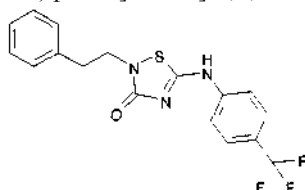
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 4,82 (s, 2H) 7,29-7,36 (m, 2H) 7,41-7,47 (m, 2H) 7,73-7,77 (m, 2H) 7,77-7,83 (m, 2H), MS: 387 [M+H]⁺, Чистота ВЭЖХ: 100%;

q) 2-[(3-фторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



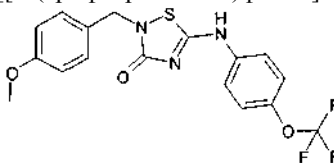
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 4,84 (s, 2H) 7,10-7,20 (m, 3H) 7,37-7,46 (m, 1H) 7,72-7,78 (m, 2H) 7,77-7,84 (m, 2H), MS: 370 [M+H]⁺, Чистота ВЭЖХ: 100%;

r) 2-[фенилэтил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он

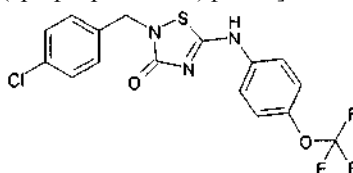


¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2,90 (t, J=7,08 Hz, 2H) 3,88 (t, J=7,08 Hz, 2H) 7,19-7,34 (m, 5H) 7,71-7,76 (m, 2H) 7,76-7,82 (m, 2H), MS: 360 [M+H]⁺, Чистота ВЭЖХ: 95%;

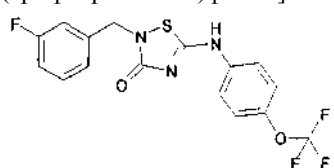
s) 2-[(4-метоксифенил)метил]-5-[[4-(трифторметокси)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



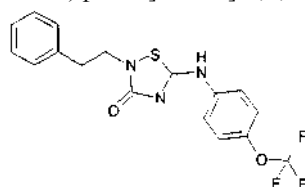
t) 2-[(4-хлорфенил)метил]-5-[[4-(трифторметокси)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



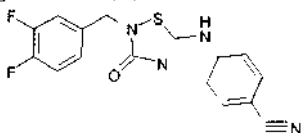
u) 2-[(3-фторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметокси)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



v) 2-[фенилэтил]-5-[[4-(трифторметокси)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он



w) 4-[[2-[(3,4-дифторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]амино]бензонитрил



¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 4,82 (s, 2H) 7,13-7,20 (m, 1H) 7,36-7,48 (m, 2H) 7,75-7,82 (m, 2H) 7,82-7,88 (m, 2H), MS: 345 [M+H]⁺, Чистота ВЭЖХ: 95%.

Биологические испытания

Описания раковых клеточных линий, включая источник, тип и морфологию опухоли, могут быть получены из коллекции American Type Culture Collection (ATCC) или ее веб-сайта (www.atcc.org). Клеточные линии были получены как из первичных опухолей, так и из участков метастазирования (например, MCF-7, MDA-MB231, HT-29, SKOV-3 и PC-3 среди других протестированных линий).

Тест А

Исследование пролиферации клеток

Реагенты

Среда: игла в модификации Дульбекко (D-MEM) +1000 мг/л Глюкоза +GlutaMAX™1 + Пируват (Gibco #21885-025)

V/V Фетальная сыворотка телянка (Gibco 10500-064)

5-бром-2-дезоксифуридин (BrdU)

30 Диметилсульфоксид (DMSO)

Раковые клеточные линии PC-3 размножались в среде D-MEM (Gibco 21885), обогащенной 10% Фетальной сыворотки телянка. В 96-луночные планшеты засевали по 15000 клеток на лунку и инкубировали в течение ночи. Культуральную среду заменяли на бессывороточную среду D-MEM на 24 ч. После этого культуральную среду заменяли на бессывороточную среду D-MEM, содержащую либо 0,2% DMSO в качестве контроля на носитель, либо 0,3, 0,6, 1,2 или 2,5 мкМ (или 1,25, 2,5, 5, 10 мкМ (как указано в таблице ниже) некоторых соединений из примеров от 1 до 8 в 0,2% DMSO в четырех повторах. Через 18 ч инкубации был добавлен BrdU в соответствии с рекомендациями производителя. Через 6 ч инкубации в присутствии BrdU культуральную среду удаляли и измеряли включение BrdU с использованием набора "Cell Proliferation ELISA, BrdU colorimetric" Roche (11647229001) в соответствии с рекомендациями производителя. Результаты

Скорость пролиферации клеток PC-3 снижается в присутствии исследуемых концентраций тестируемых соединений, как было измерено по включению BrdU. Например, в проведенных выше исследованиях, некоторые соединения из примеров 1-8 по сравнению с контролем на носитель (который показывает включение BrdU величиной 1 единица) показали следующие (примерные) значения включения BrdU в единицах в тех концентрациях, которые показаны в таблице ниже.

Примеры (№)	Единицы включения BrdU	Концентрация (мкМ)
1	0,39	0,6
2c	0,34	0,6
2e	0,17	5
2g	0,14	10
3	0,70	10
4a	0,309	10
4b	0,72	10
4c	0,393	10
4d	0,612	10
4e	0,355	10
4i	0,10	5
4l	0,20	10
4m	0,23	10
4n	0,17	2,5
4o	0,28	10
4p	0,26	10
5a	0,37	10
5b	0,14	10
6	0,42	1,25
8a	0,04	2,5
8b	0,18	2,5
8c	0,07	1,25
8f	0,08	5
8k	0,04	5
8l	0,10	5
8p	0,07	5
8q	0,15	5
8r	0,58	5
8w	0,28	5

Тест В

Мышиная модель in vivo. Тест 1

Бестимусные мыши линии BALB/cA возрастом 5 недель были доставлены из Taconic (Дания) и содержались в условиях карантина в течение 1 недели для акклиматизации. На 6 неделе 17 мышам вводили подкожно в бок 1,8 × 10 клеток MDA-MB-231 рака молочной железы человека (LGC Promochem-ATCC) в 50/50 (по объему) растворе фосфатного буфера (PBS) (Gibco 10010-015, Invitrogen) Matrigel HC (BD Biosciences).

Через 11 дней у 16 мышей наблюдались пальпируемые опухоли. Две мыши были умерщвлены и опухоли были вырезаны и исследованы. Две группы по 7 мышей каждая получали один раз в день путем внутривенной инъекции 1-10 мг/кг массы тела тестируемое соединение в 79% PBS/20% Solutol HS

15(BASF)/1% DMSO или контроль-носитель соответственно в течение 5-30 дней. Мыши были умерщвлены смещением шейных позвонков, и опухоли были извлечены.

Гистология

Опухолевую ткань фиксировали в течение ночи в PBS (содержащем 4% (вес./об.) параформальдегида (Scharlau PA0095, Scharlau Chemie SA, Испания)) при +4°C. Опухолевую ткань криоконсервировали путем 24-часовой инкубации в PBS, содержащем 30% (вес./об.) сахарозы (BDH #102745C (www.vwr.com)), при +4°C и заливали в среду Tissue-Tek embedding media (Sakura Finetek Europa BV, Нидерланды). Готовили криосрезы по 10 мкм и прокрашивали их Mayers Hematoxylin (Dako) в течение 5 мин, избыток краски удаляли погружением в воду 3 × 10 мин. Срезы укрепляли на подложке с помощью среды Dako faramount aqueous mounting medium и исследовали с использованием микроскопа Nikon Eclipse TS 100, снабженного камерой Nikon coolpix 4500 для документирования изображений.

Опухоли из мышей, получавших тестируемое соединение и носитель, анализировали в отношении их морфологии с помощью микроскопического анализа окрашенных гематоксилином криосрезов.

Мышиная модель in vivo

Тест 2

Была проведена описанная выше процедура, но только 16 (а не 17) мышам были сделаны подкожные инъекции.

Через 6 дней у 16 мышей можно было наблюдать пальпируемые опухоли. Две группы по 8 мышей каждая получали один раз в день путем внутривентральных инъекций 7,5 мг/кг массы тела тестируемое соединение в 79% PBS/20% Solutol HS 15(BASF)/1% DMSO или носитель-контроль соответственно в течение 27 дней. Размер опухоли измеряли каждый третий день с помощью штангенциркуля.

Результаты измерения размеров опухоли в первой группе мышей (получавших тестируемое соединение) сравнивали с результатами во второй ("необработанной") группе мышей через определенное количество дней.

Как можно видеть, тест В в описанном выше варианте, предоставляет одну из многих потенциальных in vivo моделей ксенографтов. В тест В, представленный выше, могут быть внесены модификации (например, путем изменения некоторого или всего из: композиции тестируемых соединений; клеточной линии; и типа используемых мышей).

Тест С

Активация AMPK и S-79 ACC

Тестируемое соединение

Были получены некоторые соединения из примеров 1,4-6 и 8. Растворением соединения в 100% DMSO был приготовлен сток-раствор с концентрацией 10 мкМ.

Клеточная линия и клеточная культура

Клетки PC3 человека были приобретены в LGC Promochem-ATCC (ATCC № по каталогу CRL-1435). Клетки PC3 поддерживали в среде Игла в модификации Дульбекко (Gibco 21885), содержащей 5% фетальной сыворотки теленка (Gibco 10500-064), 25 мкг/мл Гентамицина (Gibco 20 15750) и 1 × неосновных аминокислот (Gibco 11140). Клетки инкубировали во влажной атмосфере 5% CO₂ при 37°C и пассировали каждые три дня с помощью трипсинизации. Для экспериментов клетки PC3 культивировали в полной среде с 10% фетальной сыворотки теленка в чашках диаметром 60 мм, выращивали до 70-80% конfluence и культивировали в бессывороточной среде Игла в модификации Дульбекко в течение 5 ч. После этого клетки обрабатывали 10 мкМ соединения из примера 1 в течение 24 ч. Конечная концентрация DMSO не превышала 0,1%, что не влияло на фосфорилирование AMPK или eEF2 (0,1% DMSO использовался в качестве контроля).

Вестерн-блот анализ

Клетки PC3 лизировали в буфере (100 мМ ТРИС pH 6,8, 2% вес./об. додецилсульфат натрия (SDS), 10 мМ NaF, 10 мМ Р-глицерофосфат, 1 мМ Na-Ванадат). Обломки клеток удаляли центрифугированием при 14,000 × g в течение 15 мин при 4°C, и полученный супернатант использовали для Вестерн-блоттинга. Концентрацию белка в лизатах измеряли с использованием набора BCA protein assay kit (Pierce #23225). Для Вестерн-блоттинга с целью выявления AMPK или S-79 ACC вносили по 15 мкг белка в каждую лунку геля 4-12% бис/трис (Criterion precast gel Bio-Rad #345-0117), электрофорез проводили в соответствии с рекомендациями производителя. Белки из гелей переносили на нитроцеллюлозные фильтры (Hybond-C extra Amersham #RPN203E). Фильтры блокировали в 20 мМ ТРИС pH 7,5, 137 мМ NaCl, 25 об.% Tween 20 и 5% (вес./об.) обезжиренного сухого молока в течение 30 мин. Фильтры инкубировали в течение ночи в блокирующем растворе с антителами против фосфо-AMPK (Thr172) или фосфо-ацетил-КоА-карбоксилазы (Cell signalling #2531 и #3661) или с антителом против pan-AMPK (Cell signalling #2532).

Фильтры промывали в 20 мМ ТРИС pH 7,5, 137 мМ NaCl, 25 об.% Tween 20 3 раза в течение 5 мин. Фильтры инкубировали в блокирующем растворе со вторичными антителами, конъюгированным с пероксидазой антикротичьим IgG козы (Jackson immunoResearch #111-035-003) при комнатной температуре в течение 1 ч. Фильтры промывали, как указано выше, 3 раза по 10 мин. Сигнал получали с помощью

набора SuperSignal West Dura ECL kit (Pierce #1859024) экспонированием на пленке Hyperfilm ECL (Amersham #28906837).

Результаты

Результаты Вестерн-блоттинга показали, что некоторые соединения из примеров 1, 4-6 и 8 стимулировали фосфорилирование Thr-172 в s-субъединице АМРК (по сравнению с контролем) и увеличивали продукцию фосфорилированной ацетил-КоА-[карбоксилазы] (субстрата АМРК), как показано на фиг. 1 и 2.

Тест D

Данные по цитотоксичности *in vitro*, полученные с некоторыми клеточными линиями в 96-луночном планшете

Исследование цитотоксичности с SRB

Клетки высевали и выращивали в присутствии разных концентраций тестируемого(ых) соединения(ий) в течение 3 дней (72 ч). После этого клетки фиксировали в лунках планшета и экспонировали с красителем Сульфородамином В (SRB). По различным значениям ингибирования пролиферации строили стандартную кривую, по которой определяли значение IC_{50} .

Секция А: Высевание клеток в планшеты

В этом исследовании засеваются 96-луночные планшеты, и плотность посева соответственно определяется для каждой клеточной линии.

Прикрепленные клетки:

1. Собрать и сосчитать клетки. Все процедуры, связанные со сбором и получением клеточных суспензий должны проводиться в вытяжном шкафу класса II.
2. В опыте используются стерильные 96-луночные планшеты для клеточных культур (плоскодонные планшеты Microtest flat bottom tissue culture plate, Falcon 3072).
3. Развести клетки до подходящей плотности для посева.
4. Добавить по 100 мкл клеточной суспензии в лунки от B1 до G12.
5. Добавить по 100 мкл среды во все пустые ячейки (от A1 до A12, от H1 до H12).
6. Инкубировать планшет(ы) в течение ночи при 37°C в 5% CO₂-инкубаторе.

Клетки в суспензии:

1. Собрать и сосчитать клетки. Все процедуры, связанные со сбором и получением клеточных суспензий должны проводиться в вытяжном шкафу класса II
2. В опыте используются стерильные 96-луночные планшеты для клеточных культур (плоскодонные планшеты Microtest flat bottom tissue culture plate, Falcon 3072).
3. Развести клетки до подходящей плотности для посева.
4. Добавить по 100 мкл клеточной суспензии в лунки от B1 до G12.
5. Добавить по 100 мкл среды во все пустые ячейки (от A1 до A12, от H1 до H12).
6. Добавить лекарства к клеткам сразу после их внесения в планшет.

Секция В: Добавление тестируемого(ых) соединения(ий) к клеткам

7. Приготовить планшет с соединением для тестируемого(ых) соединения(ий) и перенести разведенное соединение в планшет для опыта, приготовленный в секции А.
8. В планшет с соединением добавить по 100 мкл культуральной клеточной среды в лунки от B3-G3 до B10-G10

9. Развести тестируемые образцы до 250 мкМ в культуральной клеточной среде в отдельной пробирке, что позволит сделать исходную концентрацию 50 мкМ. Концентрация сток-раствора тестируемого(ых) соединения(ий) составляет 10 мМ, таким образом, развести 1:40, чтобы получить концентрацию 250 мкМ.

10. Внести по 200 мкл разведенного раствора лекарства в пустые лунки от B2 до G2 и перемешать с помощью пипетки, набирая и выливая 3 раза.

11. Перенести по 100 мкл из каждой из этих лунок (используя многоканальную пипетку) в лунки B2-G2 и т.д. и продолжать разводить 1:2 по всему планшету до колонки (столбца) 10. Удалить лишние 100 мкл из каждого ряда в колонке 10. Колонка 11 содержит DMSO в качестве контроля. Ряд 12 содержит 100 мкл чистой среды.

12. Контроль DMSO готовится так же, как и лекарство: развести 100% DMSO 140 в среде. Внести пипеткой по 100 мкл в пустой ряд 11 в планшете с соединением. Из этих лунок по 25 мкл будет внесено в планшет для опыта, содержащий клетки, что даст конечную концентрацию 0,5%.

Пустой контроль: Внести пипеткой по 100 мкл чистой среды в ряд 1 и 12, по 25 мкл из этих лунок будет добавлено в планшет для опыта, содержащий клетки.

13. Используя новый набор наконечников перенести разведения лекарства из планшета с соединением в планшет для опыта, содержащий клетки (по 25 мкл разведенного лекарства переносится к 100 мкл клеток в планшете для опыта. Конечный объем составляет 125 мкл). Начинать с самой низкой концентрации лекарства.

14. Инкубировать планшет для опыта при 37°C в 5% CO₂-инкубаторе в течение 3 дней.

Секция С: Фиксирование и окрашивание клеток

В конце периода инкубации клетки будет необходимо зафиксировать и провести анализ с прокрашиванием SRB, как описано ниже.

1. Перенести планшет из инкубатора в культуральный бокс с температурой 4°C, оставить клетки на 1 ч.

2. Прикрепленные клеточные линии: Зафиксировать клетки в лунках, осторожно добавив 30 мкл холодной 50 об.% трихлоруксусной кислоты (TCA BDH 102863H) к клеточной культуральной среде, уже находящейся в лунках, так что конечная концентрация ТХУ составит 10 об.%.

Суспендированные клеточные линии: Зафиксировать клетки в лунках, осторожно добавив 30 мкл холодной 80 об.% трихлоруксусной кислоты (TCA BDH 102863H) к клеточной культуральной среде, уже находящейся в лунках, так что конечная концентрация ТХУ составит 16 об.%.

1. Инкубировать при 4°C в течение 1 ч.

2. Погрузить планшет в пластиковый контейнер, содержащий дистиллированную воду, так чтобы каждая лунка заполнилась водой. Оставить замачиваться на 1 мин. Вытряхнуть промывочный раствор в раковину и повторить эту процедуру промывки еще четыре раза. В конце вытряхнуть промывочный раствор и оставить высыхать на воздухе.

3. Когда лунки полностью высохнут, добавить по 100 мкл 0,4% (вес./об.) раствора Сульфородамина В (SRB Sigma S1402) в 1 об.% уксусной кислоте в каждую лунку и инкубировать при комнатной температуре в течение 30 мин.

4. Вытряхнуть раствор SRB и промыть четыре раза, погружая планшет на 1 мин в 1 об.% уксусную кислоту. Вытряхнуть промывочный раствор и оставить высыхать на воздухе.

5. Когда лунки полностью высохнут, добавить по 100 мкл 10 мМ Трис-основания pH 10,5 (pH доводится до 10,5 с использованием раствора гидроокиси натрия). Поместить в шейкер для планшетов и перемешивать 5 мин. Зарегистрировать значения поглощения в лунках планшета при 564 нм с помощью спектрофотометра SPECTRAmax microplate spectrophotometer.

Тест Е

Результаты определения клоногенности

Секция А. Засевания планшетов для опытов

В этом опыте 24-луночные планшеты (Falcon Cat no: 353047) засеваются при плотности посева, определяемой соответственно для каждой клеточной линии.

Агар основы

1. Расплавить 1,6% агара (Invitrogen Select Agar) в микроволновой печи и охладить до 40-42°C в водяной бане.

2. Нагреть культуральную среду + 20% FBS + 2X любых других необходимых добавок для клеточной культуры до 40-42°C в водяной бане. Выдержать, по меньшей мере, 30 мин для выравнивания температуры.

3. Смешать равные объемы двух растворов для получения 0,8% агара + среда + 10% FBS + 1X культуральных добавок.

4. Внести по 0,2 мл/лунку, оставить застывать. Планшеты могут храниться при 4°C до 1 недели.

Верхний агар

1. Расплавить 0,8% агара (Invitrogen Select Agar) в микроволновой печи и охладить до 40°C в водяной бане.

2. Нагреть культуральную среду + 20% FBS + 2X любых других необходимых добавок для клеточной культуры до той же температуры.

3. Собрать и сосчитать клетки. Все процедуры, связанные со сбором и получением клеточных суспензий должны проводиться в вытяжном шкафу класса II.

4. Развести клетки в среде до подходящей плотности высевания.

5. Пометить 24-луночные планшеты с агаром для основы соответствующим образом (если планшеты хранятся при 4°C, вынуть их из холодильника примерно за 30 мин до высева, чтобы они согрелись до комнатной температуры).

6. Для высева смешать равные объемы среды + 20% FBS + 2X добавок к клеточной культуре + клеток и раствора 0,8% мягкого агара в 15 мл центрифужной пробирке с крышкой, аккуратно перемешать и добавить по 0,2 мл в каждый повтор в лунки (обычно высеваются четыре повтора).

7. Инкубировать планшет(ы) при 37°C в 5% CO₂-инкубаторе в течение ночи.

Секция В: Добавление тестируемого соединения к клеткам.

1. Приготовить планшет для тестируемого(ых) соединения(ий) и затем перенести разведенное соединение в приготовленный планшет для опыта из секции А.

2. Развести тестируемое(ые) соединение(ия) до 120 мкМ в клеточной культуральной среде в отдельной пробирке, что обеспечит получение стартовой концентрации 40 мкМ.

Концентрация сток-раствора тестируемого(ых) соединения(ий) составляет 10 мМ, таким образом, разводить 1:83,3, чтобы получить концентрацию 120 мкМ.

3. Сделать разведения раствора тестируемого лекарства 1:2 3 раза из стартовой концентрации 120 мкМ для приготовления концентраций тестируемого лекарства 20, 10 и 5 мкМ.

4. Перенести по 200 мкл из каждой тестируемой концентрации в каждую лунку в четырех повторах. Колонка 6 содержит 40 мкМ тестируемого(ых) соединения(ий), колонка 5 содержит 20 мкМ тестируемого(ых) соединения(ий), колонка 4 содержит 10 мкМ тестируемого(ых) соединения(ий), и колонка 3 содержит 5 мкМ тестируемого(ых) соединения(ий).

5. Контроли с DMSO готовятся так же, как лекарства: развести 100% DMSO 1:83,3 в среде. Перенести пипеткой по 200 мкл в колонку 2 планшета с соединением в четырех повторах, что даст конечную концентрацию 0,4%.

6. Пустой контроль: Внести пипеткой по 200 мкл чистой среды в каждую лунку колонки 1 в четырех повторах.

7. Инкубировать планшет для опыта при 37°C в 5% CO₂-инкубаторе в течение 2-3 недель.

Секция С: Окрашивание и подсчет клеточных колоний

В конце инкубационного периода необходимо прокрасить и подсчитать клеточные колонии, как описано ниже.

1. Пометить дно каждой лунки, разделив каждую лунку по меньшей мере на четыре сектора.

2. Прокрасить планшеты 0,2 мл 0,005% Кристаллического Фиолетового в течение 1 ч при 37°C и 5% CO₂ во влажном инкубаторе.

3. Подсчитать число колоний в каждой лунке для каждой тестируемой группы с помощью микроскопа (препаровальной лупы).

4. Колонией считать группу клеток, в которой должно содержаться, по меньшей мере, 50 клеток.

5. Рассчитать среднее число колоний в каждой лунке в группе и рассчитать % ингибирования образования клеточных колоний тестируемым соединением, используя формулу %T/C, в которой Т представляет собой тестируемую группу и С представляет собой контроля.

Тест F

Анализ дефосфорилирования PP2C

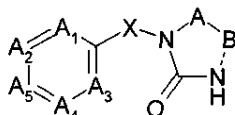
Гиперфосфорилированный тример AMPK в количестве 10 нг ($\alpha 1/\beta 1/\gamma 1$) от Invitrogen (PV4672) инкубировался в буфере, содержащем: 40 мМ Hepes, pH 7,45, 2 мМ MnCl₂, 0,5 мМ DTT и 0,125 нг рекомбинантного PP2C- $\alpha 1$ (Abeam Ab51205) в присутствии или в отсутствие потенциальных ингибиторов взаимодействия/ферментативной реакции в общем объеме 10 мкл в течение 20 мин при 30°C. Реакцию останавливали добавлением 40 мкл стоп-раствора, содержащего 1% Бычьего сывороточного Альбумина (ESA), 10 мМ ЭДТА и антитело против фосфо-AMPK α (Thr172) (cell signaling #2531) в разведении 1/1000. Образцы были перенесены в покрытый глутатионом 96-луночный планшет (Pierce #15140) и инкубировались в течение ночи при +4°C. Планшет промывали 3 раза 200 мкл раствора PBS/0,05% Тритон X-100. Планшет инкубировали в растворе PBS/1%BSA с конъюгированным с пероксидазой хрена антикроличьим антителом козы (Jackson immunoresearch Laboratories Inc. #111-035-003) в разведении 1/10000 в течение 2 ч при комнатной температуре. Планшет промывали 3 раза 200 мкл раствора PBS/0,05% Тритон X-100. Измерение проводили после добавления 100 мкл Liquid Substrate System для ELISA (Sigma, T0440) в течение 5-30 мин. Развитие реакции останавливали добавлением 25 мкл 1М в каждую лунку. Поглощение, которое коррелирует с количеством фосфо-T172 AMPK, измеряли при 450 нм.

Результаты

Как показано на фиг. 3, соединения из примера 1 и 2 с обладают способностью снижать опосредуемое PP2C- $\alpha 1$ дефосфорилирование AMPK.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I



I

где А представляет собой C(=N-W-D) или S;

В представляет собой S или C(-NH-W-D); когда

А представляет собой C(=N-W-D) и В представляет собой S, тогда связь между В и атомом NH представляет собой одинарную связь; или

А представляет собой S и В представляет собой C(-NH-W-D), тогда связь между В и атомом NH представляет собой двойную связь;

Х представляет собой -Q-[CR^xR^y]_n-;

W представляет собой -[CR^xR^y]_m- или -C(O)-[CR^xR^y]_p-;

Q представляет собой связь, -N(R^a)-, -S- или -O-;

A₁-A₅ соответственно представляют собой C(R¹), C(R²), C(R³), C(R⁴) и C(R⁵);

D представляет собой фенил, пиридил или пиримидил, необязательно замещенный одной или более R^6 группами;

R^x и R^y , в каждом случае, когда здесь используются, независимо друг от друга выбираются из H, фтора, C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами фтора), арила (необязательно замещенного одним или более атомами галогена) или R^x и R^y связаны вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, с образованием неароматического 3-8-членного кольца, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из фтора или C_{1-6} алкила;

R^1 - R^5 независимо друг от друга представляют собой $-CN$, $-N(R^{7a})R^{7b}$, $-N(R^7)_3^+$, $-SR^7$, H, галоген, $-R^7$, $-CF_3$, $-C(O)-N(R^{7a})R^{7b}$, $-OR^7$ или гетероарил (где гетероарильная группа является необязательно замещенной одной или более группами, выбираемыми из галогена и R^{16});

R^6 независимо представляет собой, в каждом случае, когда здесь используется, $-NO_2$, $-NR^9R^{10}$, $-SR^{11}$, циано, галоген, $-R^{16}$ или $-OR^8$;

R^7 , в каждом случае, когда здесь используется, выбирается из H или C_1 - C_6 алкила, необязательно замещенного одним или более атомами фтора;

R^{7a} и R^{7b} независимо друг от друга выбираются из H и C_1 - C_6 алкила, необязательно замещенного одним или более атомами фтора, или R^{7a} и R^{7b} необязательно связаны вместе с атомом азота, к которому они присоединены с образованием ароматического или неароматического 3-6-членного кольца, необязательно содержащего от 1 до 3 гетероатомов, выбираемых из O, S и N, где кольцо само является необязательно замещенным одним или более заместителями, выбираемыми из фтора, $-R^7$ и $=O$;

R^a , R^8 , R^9 , R^{10} и R^{11} в каждом случае, когда здесь используются, независимо друг от друга представляют собой H или R^{16} ;

R^{16} представляет собой в каждом случае, когда здесь используются, C_{1-6} алкил, необязательно замещенный одним или более атомами фтора;

где каждая арильная группа представляет собой независимо моноциклическую, бициклическую или трициклическую арильную группу, содержащую от 6 до 14 атомов углерода и в которой по меньшей мере одно кольцо является ароматическим; и

где каждая гетероарильная группа представляет собой независимо 5-14-членную моноциклическую, бициклическую или трициклическую группу, включающую от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из N, S и O, и в которой по меньшей мере одно кольцо является ароматическим;

n равно 1 или 2;

m равно 0, 1 или 2;

p равно 0, 1 или 2;

или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или его эфирное производное,

при условии, что:

(A) когда D представляет собой фенил, тогда по меньшей мере один из A_1 - A_5 не представляет собой (C-H) и/или D является замещенным одной или более $-R^6$ группами, и

(B) соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль или сольват не представляет собой 4-бензил-5-пикриллимино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он.

2. Соединение по п.1, где каждая группа R^6 независимо представляет собой $-CN$, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-F$ или $-Cl$.

3. Соединение по п.1 или 2, где по меньшей мере один из A_1 - A_5 не представляет собой (C-H) и/или D является замещенным одной или более $-R^6$ группами.

4. Соединение формулы I по любому из пп.1-3, где B представляет собой S.

5. Соединение формулы I по любому из пп.1-4, где R^x и R^y независимо друг от друга выбираются из H, C_{1-6} алкила (необязательно замещенного одним или более атомами фтора), арила (необязательно замещенного одним или более атомами галогеном) или R^x и R^y связаны вместе с атомом углерода, к которому они присоединены с образованием неароматического 3-6-членного незамещенного кольца.

6. Соединение формулы I по любому из пп.1-5, где X представляет собой $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-O-CH_2CH_2-$, $-N(CH_3)-CH_2CH_2-$, $-S-CH_2CH_2-$, 1,1-циклопропил или $-C(H)(4\text{-хлорфенил})-$.

7. Соединение формулы I по любому из пп.1-6, где по меньшей мере один из R^1 - R^5 представляет собой галоген, $-R^7$, $-CF_3$, $-CN$, $-C(O)-N(R^{7a})R^{7b}$, $-N(R^7)_3^+$, $-SR^7$, $-OR^7$.

8. Соединение формулы I по любому из пп.1-6, где по меньшей мере один из R^1 - R^5 представляет собой 4H-[1,2,4]-триазолил, $-OR^7$, $-Cl$, $-F$, $-CF_3$, $-CN$ или $-C(O)-N(R^{7a})R^{7b}$.

9. Соединение формулы I по любому из предшествующих пунктов, где R^6 независимо представляет собой циано, $-NO_2$, $-Br$, $-Cl$, $-F$, $-R^{16}$, $-OR^8$, $-NR^9R^{10}$, $-SR^{11}$.

10. Соединение формулы I по п.9, где R^6 независимо представляет собой $-R^{16}$, $-CN$, $-OCF_3$, $-NO_2$, $-Br$, $-Cl$, $-F$, $-OR^8$, $-NR^9R^{10}$ или $-SR^{11}$.

11. Соединение формулы I по любому из предшествующих пунктов, где n равно 1 или 2; m равно 0 или 1; и/или p равно 0 или 1.

12. Соединение формулы I по любому из предшествующих пунктов, где:

(i) W представляет собой $-[CR^xR^y]_m$ и m=0 или

(ii) W представляет собой $-CH_2-$, $-C(O)-$ или $-C(O)CH_2-$.

13. Соединение по п.11, где W представляет собой -C(O)- или -C(O)CH₂-.

14. Соединение по п.1, которое выбирается из группы:

- i) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- iv) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[(3,4-дифторфенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- vi) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-[(фенил)метил]-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- lxx) N-[3-оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xix) 4-фтор-N-[3-оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xx) 2-(4-фторфенил)-N-[3-оксо-2-[[3-(трифторметил)фенил]метил]-1,2,4-тиадиазол-5-ил]ацетамид;
- xxi) 4-хлор-N-[2-[(3,4-дифторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxii) 4-хлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxiii) 4-хлор-N-[2-[(4-хлорфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxiv) 4-хлор-N-[2-[2-(фенокси)этил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxviii) 3,4-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxx) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-4-метоксибензамид;
- xxx) 2,6-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxi) 2,4-дихлор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxii) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-4-(трифторметокси)бензамид;
- xxxiii) N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]-3,5-бис(трифторметил)бензамид;
- xxxiv) 3,4-дифтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxv) 2-хлор-6-фтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxvi) 3,5-дифтор-N-[2-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазол-5-ил]бензамид;
- xxxvii) 5-(3,4-дихлорфенил)имино-4-(2-феноксиэтил)-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- xxxviii) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(2-феноксиэтил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xxxix) 4-бензгидрил-5-(3,4-дихлорфенил)имино-1,2,4-тиадиазолидин-3-он;
- xl) 4-хлор-N-[4-[(4-фторфенил)метил]-3-оксо-1,2,4-тиадиазолидин-5-илиден]бензамид;
- xlvi) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(4-метоксибензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xlvi) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(4-хлорбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xlvi) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(3,4-дифторбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- xlvi) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-(3-фторбензил)-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- li) 5-(3,4-дихлорфениламино)-2-фенетил-[1,2,4]тиадиазол-3-он;
- lvi) 2-[(3,4-дифторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lvii) 2-[(3,4-дифторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметокси)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lxi) 2-[(4-метоксифенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lxii) 2-[(4-хлорфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lxiii) 2-[(3-фторфенил)метил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он;
- lxiv) 2-[фенилэтил]-5-[[4-(трифторметил)фенил]амино]-1,2,4-тиадиазол-3-он.

15. Соединение, охарактеризованное в любом из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или его эфирное производное, для применения в качестве фармацевтического средства для лечения заболеваний активацией AMPK.

16. Фармацевтическая композиция для лечения заболеваний активацией AMPK, включающая соединение по любому из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или его эфирное производное, но без дополнительного условия (B), в смеси с фармацевтически приемлемым адьювантом, растворителем или носителем.

17. Применение соединения формулы I по любому из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его эфирного производного, но без дополнительного условия (B), для получения лекарственного средства для лечения рака.

18. Соединение, охарактеризованное в любом из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или его эфирное производное, для применения при лечении рака.

19. Способ ингибирования пролиферации клеток, который включает введение эффективного количества соединения формулы I по любому из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его эфирного производного, но без дополнительного условия (B), пациенту, который нуждается в таком лечении.

20. Способ лечения рака, который включает введение эффективного количества соединения формулы I по любому из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его эфирного производного, но без дополнительного условия (B), пациенту, который нуждается в таком лечении.

21. Соединение по п.18, где рак представляет собой солидную опухоль или гематопозитическую опухоль.

22. Соединение по п.21, где рак представляет собой солидную опухоль толстого кишечника, молочной железы или простаты.

23. Соединение по п.21, где рак представляет собой рак молочной железы.

24. Соединение по п.21, где рак представляет собой гематопозитическую опухоль, которая представляет собой лейкомию.

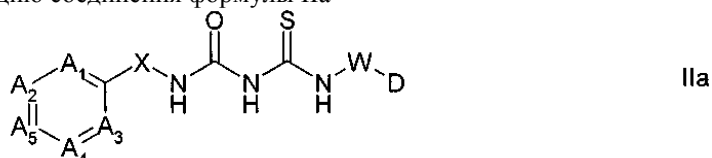
25. Применение соединения формулы I по любому из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его эфирного производного, но без дополнительного условия (B), для получения лекарственного средства для лечения диабета.

26. Соединение, охарактеризованное в любом из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или его эфирное производное, для применения при лечении диабета.

27. Способ лечения диабета, который включает введение эффективного количества соединения формулы I по любому из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его эфирного производного, но без дополнительного условия (B), пациенту, который нуждается в таком лечении.

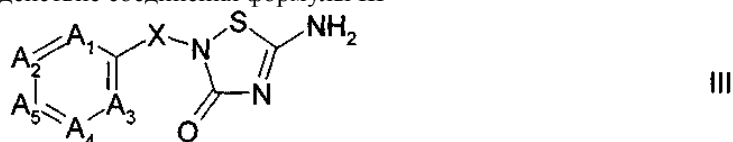
28. Соединение по п.26, где диабет представляет собой диабет 2 типа.

29. Способ получения соединения формулы I по любому из пп.1-14, где A представляет собой S, включающий циклизацию соединения формулы IIa



где A₁-A₅, X, W и D являются такими, как определено в п.1.

30. Способ получения соединения формулы I по любому из пп.1-14, где A представляет собой S, включающий взаимодействие соединения формулы III



где A₁-A₅ и X являются такими, как определено в п.1, с соединением формулы IV



где L₂ представляет собой подходящую удаляемую группу, W¹ представляет собой -[CR^xR^y]_m-, где m равно 1 и D является таким, как определено в п.1;

или

с соединением формулы V



где L₃ представляет собой подходящую удаляемую группу и D является таким, как определено в п.1;

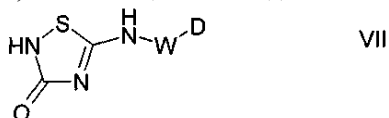
или

с соединением формулы VI

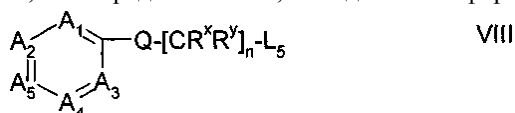


где L₄ представляет собой подходящую удаляемую группу или -OH, W представляет собой -C(O)-[CR^xR^y]_p- и D является таким, как определено в п.1.

31. Способ получения соединения формулы I по любому из пп.1-14, где A представляет собой S и Q представляет собой связь, -O- или -S-, включающий взаимодействие соединения формулы VII



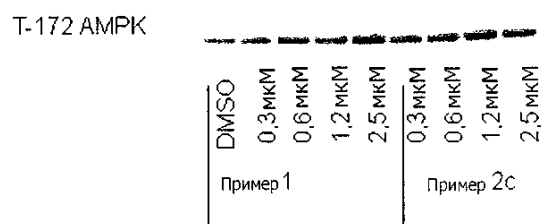
где W и D являются такими, как определено в п.1, с соединением формулы VIII



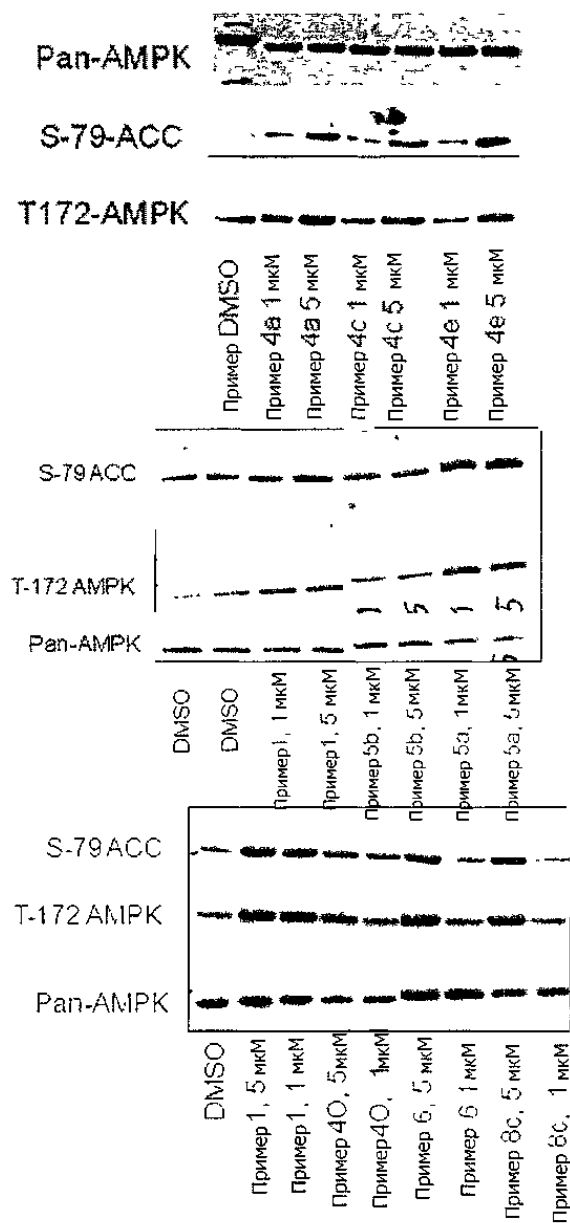
где A₁-A₅, n, R^x и R^y являются такими, как определено в п.1, L₅ представляет собой подходящую удаляемую группу и Q представляет собой связь, -O- или -S-.

32. Способ получения фармацевтической композиции, как определено в п.16, который включает приведение в ассоциацию соединения формулы I по любому из пп.1-14, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, или его эфирного производного, но без дополнительного условия (B), с фармацевтически приемлемым адъювантом, растворителем или носителем.

Клетки PC-3, голодание 24 часа, обработка 4 часа

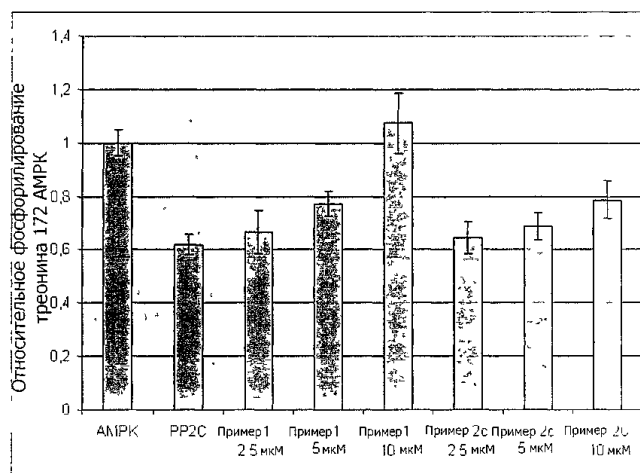


Фиг. 1



Фиг. 2

Исследование дефосфорилирования Пример 1 против Примера 2с



n=4

Фиг. 3

