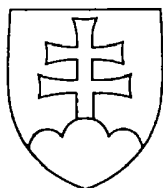


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

- (22) Dátum podania prihlášky: 21. 12. 1999
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 60/115 873
60/122 553
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: 13. 1. 1999
2. 3. 1999
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: US, US
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: 4. 2. 2003
Vestník ÚPV SR č.: 2/2003
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: PCT/US99/30483
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: WO00/42022

(11), (21) Číslo dokumentu:

983-2001

(13) Druh dokumentu: A3

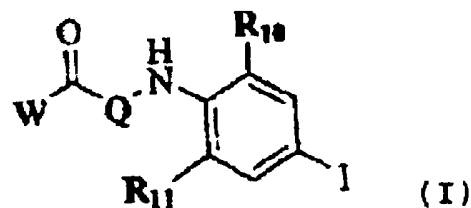
(51) Int. Cl. 7 :

C07D235/06,
C07D263/56,
C07D277/62,
C07D285/14,
C07D271/12,
C07D235/12,
C07D235/14,
C07D241/42,
C07D249/18,
A61K 31/4184,
A61K 31/423,
A61K 31/428,
A61K 31/433,
A61K 31/4245,
A61K 31/498,
A61K 31/4192,
A61P 35/00

- (71) Prihlasovateľ: WARNER-LAMBERT COMPANY, Morris Plains, NJ, US;
(72) Pôvodca: Barrett Stephen Douglas, Livonia, MI, US;
Bridges Alexander James, Saline, MI, US;
Teclé Haile, Ann Arbor, MI, US;
(74) Zástupca: Bušová Eva, JUDr., Bratislava, SK;

(54) Názov: Benzoheterocyklické zlúčeniny a ich použitie ako inhibítorov MEK

- (57) Anotácia:
Opisujú sa zlúčeniny obecného vzorca (I), kde W predstavuje hydroxyskupinu, alebo deriváty karboxylovej kyseliny, a Q predstavuje heterocyklokondenzovaný orto-fenylový zvyšok. Tieto zlúčeniny sú užitočné ako inhibítory MEK, najmä pri liečení proliferatívnych chorôb ako rakoviny.



SK 983-2001 A3

Benzoheterocyklické zlúčeniny a ich použitie ako inhibítorov

MEK

Oblasť techniky

Vynález sa týka benzoheterocyklických zlúčenín, ako benzoheteroarylových zlúčenín, ktoré vykazujú farmakologickú aktivitu.

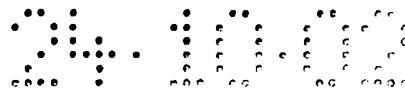
Doterajší stav techniky

MEK enzýmy sú kinázy s dvojitou špecificitou, ktoré sa napríklad podieľajú na imunomodulácii, zápalu a proliferačných chorobách, ako je rakovina a restenóza.

Proliferačné choroby sú vyvolané defektom v systéme intracelulárnej signalizácie alebo mechanizmu transdukcie signálu niektorých proteínov. Defekty zahŕňujú zmenu vnútornej aktivity alebo bunečnej koncentrácie jedného či viacej zo signalizačných proteínov v signalizačnej kaskáde. Bunka môže produkovať rastový faktor, ktorý sa viaže k jej vlastným receptorom za vzniku autokrinnej slučky, čo neustále stimuluje proliferáciu. Mutácia alebo nadexpresia intracelulárnych signalizačných proteínov môže viesť k falošným mitogénnym signálom v bunke. Niektoré z najzvyčajnejších mutácií sa vyskytujú v génoch kódujúcich proteín známy ako Ras, tzn. G-proteín, ktorý je aktivovaný väzbou na GTP a inaktivovaný väzbou na GDP. Vyššie uvedené receptory rastových faktorov a rad iných mitogénnych receptorov, ak sú aktivované, vedú k premene stavu proteínu Ras z GDP-viazaného na GTP viazaný. Tento signál je celkom nezbytný pre proliferáciu

u väčšiny typov buniek. Defekty v tomto signalizačnom systéme, najmä v deaktivácii komplexu Ras-GTP, sú u rakovín zvyčajné vedú k signalizačnej kaskáde pod chronicky aktivovaným Ras.

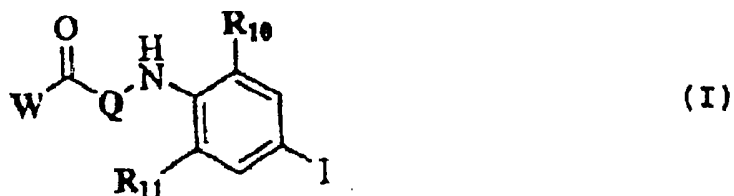
Aktivovaný Ras teda vedie k aktivácii kaskády serín/treonín kináz. Jednu zo skupín kináz, o ktorej je známe, že pre svoju vlastnú aktiváciu potrebuje aktívny Ras-GTP je skupina Raf. Tieto kinázy ďalej aktivujú MEK (napríklad MEK₁ a MEK₂), ktorá potom aktivuje MAP kinázu, ERK (ERK₁ a ERK₂). Aktivácia MAP kinázy mitogénmi sa javí ako nezbytná pre proliferáciu; konštitutívna aktivácia týchto kináz postačuje pre indukciu bunecnej transformácie. Blokáda Ras signalizácie, napríklad za použitia dominantného negatívneho proteínu Raf-1, môže celkom inhibovať mitogénu, nech je indukovaná z receptorov bunecného povrchu alebo onkogénnych mutantov Ras. Hoci Ras samotný nie je proteín kinázou, podieľa sa na aktivácii Raf a iných kináz, s vysokou pravdepodobnosťou prostredníctvom fosforylačného mechanizmu. Akonáhle sú aktivované, Raf a iné kinázy fosforylujú MEK na dvoch blízko susediacich zvyškoch serínu, v prípade MEK-1 S²¹⁸ a S²²², ktoré sú nezbytné pre aktiváciu MEK ako kinázy. MEK ďalej fosforyluje MAP kinázu ako na zvyšku tyrozínu, Y¹⁸⁵, tak na zvyšku treonínu, T¹⁸³, ktoré sú oddelené jedinou aminokyselinou. Táto dvojitá fosforylácia aktivuje MAP kinázu aspoň stonásobne. Aktivovaná MAP kináza potom môže katalyzovať fosforyláciu veľkého počtu proteínov, vrátane niekoľkých transkripčných faktorov a iných kináz. Rad týchto MAP kinázových fosforylácií je mitogénicky aktivujúci pre cieľový proteín, ako kinázu, transkripčný faktor alebo ďalší bunecný proteín. Okrem toho sa Raf-1 a MEKK, iné kinázy aktivujúci MEK aj MEK samotný javí ako kináza integrujúca signál. Zvyčajne je MEK považovaná za vysoko špecifickú pre fosforyláciu MAP kinázy. V skutočnosti však dosiaľ nebol pre MEK preukázaný žiadny iný substrát ako MAP kináza, ERK, a MEK nefosforyluje



peptidy založené na MAP kinázovej fosforylačnej sekvencii, alebo dokonca fosforyluje denaturovanou MAP kinázu. Tiež sa zdá, že MEK je s MAP kinázou silne spojená pred jej fosforyláciou, čo napovedá, že fosforylácia MAP kinázy prostredníctvom MEK môže vyžadovať predchádzajúcu silnú interakciu medzi týmito dvomi proteínmi. Táto požiadavka, a tiež nezvyčajná špecificita MEK napovedajú, že mechanizmus pôsobenia MEK na iné proteín kinázy môže byť natoľko odlišný, aby bolo možno nájsť selektívne inhibítory MEK, pravdepodobne pôsobiace prostredníctvom alosterického mechanizmu, ale nie prostredníctvom zvyčajné blokady ATP väzobného miesta.

Podstata vynálezu

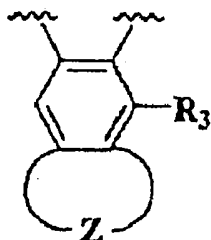
Predmetom vynálezu sú zlúčeniny obecného vzorca I



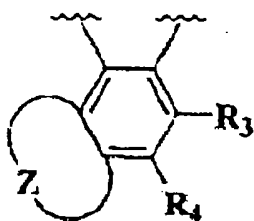
kde W predstavuje skupinu OR_1 , NR_2OR_1 , NR_AR_B , $NR_2NR_AR_B$, $O(CH_2)_{2-4}NR_AR_B$ alebo $NR_2(CH_2)_{2-4}NR_AR_B$. R_1 predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 8 atómami uhlíka, alkenylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, fenylskupinu, fenylalkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, fenylalkenylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka v alkenylovej časti, fenylalkynylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka v alkynylovej časti, cykloalkylalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka v cykloalkylovej a 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, cykloalkylalkenylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka v

cykloalkylovej a 3 až 4 atómami uhlíka v alkenylovej časti, cykloalkylalkynylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka v cykloalkylovej a 3 až 4 atómami uhlíka v alkynylovej časti, heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka, skupinu (heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkenyl s 3 až 4 atómami uhlíka v alkenylovej časti, (heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka)alkynyl s 3 až 4 atómami uhlíka v alkynylovej časti alebo $(\text{CH}_2)_{2-4} \text{NR}_C \text{R}_D$. R_2 predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, fenylskupinu, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, heterocyklický zvyšok s 3 až 6 atómami uhlíka alebo cykloalkylmetylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka v cykloalkylovej časti. R_A predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, alkenylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, fenylskupinu, skupinu (cykloalkyl s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (cykloalkyl s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkenyl s 3 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (cykloalkyl s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkynyl s 3 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka, (heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (aminosulfonyl)fenylskupinu, [(aminosulfonyl)fenyl]alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (aminosulfonyl)alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, (aminosulfonyl)cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka [(aminosulfonyl)cykloalkyl]alkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka v cykloalkylovej a 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti alebo $(\text{CH}_2)_{2-4} \text{NR}_C \text{R}_D$. R_B predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 8 atómami uhlíka, alkenylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka alebo fenylskupinu.

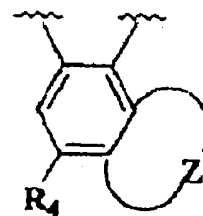
Q predstavuje jeden zo zvyškov obecného vzorca (i) až (iii)



(i)

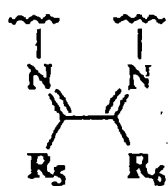


(ii)

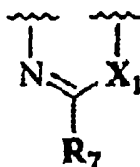


(iii)

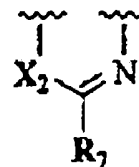
R_3 predstavuje vodík alebo fluór; R_4 predstavuje halogén, skupinu NO_2 , $\text{SO}_2\text{NR}_O(\text{CH}_2)_{2-4}$ NR_ER_F , $\text{SO}_2\text{NR}_E\text{R}_F$ alebo $(\text{CO})\text{T}$. T predstavuje alkylskupinu s 1 až 8 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, skupinu (NR_ER_F) -alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, OR_F , $-\text{NO}(\text{CH}_2)_{2-4}$ NR_ER_F alebo NR_ER_F ; Z predstavuje jeden zo zvyškov obecného vzorca (iv) až (viii)



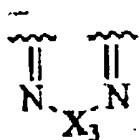
(iv)



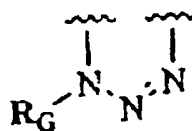
(v)



(vi)



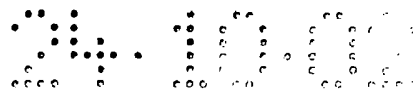
(vii)



(viii)

Jeden z R_5 a R_6 predstavuje vodík alebo metylskupinu a druhý z R_5 a R_6 predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 6

atómami uhlíku, alkenylskupinu s 2 až 6 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, fenylskupinu, benzylskupinu alebo skupinu -M-E-G. M predstavuje kyslík, skupinu CO, SO₂, NR_J, (CO)NR_H, NR_H(CO), NR_H(SO₂), (SO₂)NR_H alebo CH₂. E predstavuje (CH₂)₁₋₄ alebo (CH₂)_mO(CH₂)_p, kde 1 ≤ (každý z parametrov m a p) ≤ 3 a 2 ≤ (m + p) ≤ 4; alebo E chýba. G predstavuje skupinu R_K, OR_T alebo NR_JR_K, pričom keď p = 1, potom G predstavuje vodík. R₇ predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, alkenylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu, 4-pyridylskupinu, skupinu (CH₂)₁₋₂ Ar, kde Ar predstavuje fenyl-, 2-pyridyl-, 3-pyridyl- alebo 4-pyridylskupinu, SO₂NR_H(CH₂)₂₋₄ NR_JR_K (CO)(CH₂)₂₋₄ NR_JR_K alebo (CO)NR_H(CH₂)₂₋₄ NR_JR_K. X₁ predstavuje kyslík, síru, NR₈ alebo CHR₉; X₂ predstavuje kyslík, síru alebo CHR₉; a X₃ predstavuje kyslík alebo síru. V jednom prevedení, pokiaľ X₁ a X₂ predstavujú CHR₉, popísanou zlúčeninou môže byť tautomerizovaný indol. R₈ predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu, 4-pyridylskupinu, skupinu (CH₂)₁₋₂ Ar, kde Ar predstavuje fenyl-, 2-pyridyl-, 3-pyridyl- alebo 4-pyridylskupinu, alkenylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka alebo skupinu (alkyl s 2 až 4 atómami uhlíka)NR_LR_M, pričom R₇ a R₈ dohromady, ale keď sa neráta R_L, R_M, R_J a R_K, nemajú viac ako 14 atómov uhlíka. R₆ predstavuje alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu, 4-pyridylskupinu, alkenylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, skupinu (CO)OR_P, (alkyl s 3 až 4 atómami uhlíka)NR_LR_M, (CO)NR_N(CH₂)₂₋₄ NR_JR_M, (CO)NR_LR_M, (CO)(CH₂)₂₋₄ -NR_LR_M alebo (CH₂)₁₋₂ Ar, kde Ar predstavuje fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-



pyridylskupinu nebo 4-pyridylskupinu. R₉ predstavuje alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu, 4-pyridylskupinu, alkenylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, skupinu (CO)OR_p, (alkyl s 2 až 4 atómami uhlíka)NR_LR_M, (CO)NR_N(CH₂)₂₋₄ NR_LR_M, (CO)NR_LR_M, (CO)(CH₂)₂₋₄ -NR_LR_M alebo (CH₂)₁₋₂ Ar', kde Ar' predstavuje fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu alebo 4-pyridylskupinu. R_p predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, fenylskupinu, alkenylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka alebo skupinu (CH₂)₂₋₄ NR_LR_M; R₁₀ predstavuje vodík, metylskupinu, halogén nebo skupinu NO₂; R₁₁ predstavuje vodík, metylskupinu, halogén alebo NO₂. Každý z R_C, R_D, R_E, R_F, R_I, R_J, R_K, R_L a R_M je nezávisle zvolený z vodíka, alkylskupiny s 1 až 4 atómami uhlíka, alkenylskupiny s 3 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupiny s 3 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupiny s 3 až 6 atómami uhlíka a fenylskupiny; každá zo skupín NR_CR_D, NR_ER_F, NR_JR_K a NR_LR_M môže tiež nezávisle predstavovať morfolinyl-, piperazinyl-, pyrrolidinyl alebo piperadinylskupinu. Každý z R_H, R_N a R_O predstavuje nezávisle vodík, metylskupinu alebo etylskupinu. Každý z vyššie uvedených uhľovodíkových zvyškov alebo heterocyklických zvyškov je popřípade substituovaný 1 až 3 substituentmi nezávisle zvolenými z halogénu, alkylskupiny s 1 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupiny s 3 až 6 atómami uhlíka, alkenylskupiny s 2 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupiny s 2 až 4 atómami uhlíka, fenylskupiny, hydroxyskupiny, aminoskupiny, (amino)sulfonylskupiny a NO₂, pričom každá z alkylových, cykloalkylových, alkenylových alebo fenylových skupín v definícii vyššie uvedených substituentov je popřípade ďalej substituovaná 1 až 3 substituentmi nezávisle zvolenými z halogénu, alkylskupiny s 1 až 2 atómami uhlíka, hydroxyskupiny, aminoskupiny a skupiny NO₂. Okrem vyššie

popísaných zlúčenín sú predmetom vynálezu tiež ich farmaceuticky vhodné soli alebo estery s 1 až 7 atómami uhlíka.

Predmetom vynálezu je ďalej farmaceutická kompozícia, ktorej podstata spočíva v tom, že obsahuje (a) benzoheterocyklickú zlúčeninu, napríklad zlúčeninu obecného vzorca I a (b) farmaceuticky vhodný nosič.

Ďalej je predmetom vynálezu spôsob liečenia proliferčných chorôb, ako rakoviny, restenózy, psoriázis, autoimunitných chorôb a aterosklerózy. Predmetom vynálezu sú tiež spôsoby liečenia rakoviny súvisiace s MEK (vrátane rakovín súvisiacich s ras), solídne alebo hematopoietické.

Ako príklady rakoviny je možno uviesť rakovinu kolorekta, cervix, prsníka, vaječníkov a mozgu, leukémiu, rakovinu žalúdka, nemalobunečnú rakovinu pľúc, rakovinu podžalúdkovej žlazy a obličiek. Ďalším predmetom vynálezu sú spôsoby liečenia alebo zmierňovania symptómov pri odmietaní xenoštetu (transplantovaných buniek, kože, končatín, orgánov alebo kostnej drene), osteoartritídy, reumatoidnej artritídy, cystickej fibrózy, komplikácií diabetes (ako diabetickej retinopatie a diabetickej nefropatie), hepatomegálie, kardiomegálie, mŕtvice (ako ložiskového akútneho ischemického záchvatu a globálnej mozgovej ischemie), srdcového zlyhania, septického šoku, astma a Alzheimerovej choroby. Zlúčeniny podľa vynálezu sú tiež účinné ako protivírusová činidlá pre liečenie vírusových infekcií, ako infekcií HIV, vírusom hepatitídy (B) (HBV), ľudským papillomavírusom (HPV), cytomegalovírusom (CMV) a vírusom Epstein-Barrovej (EBV). Podstata týchto spôsobov spočíva v tom, že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje alebo trpí takou chorobou alebo stavom, podáva farmaceuticky účinné množstvo popísanej

zlúčeniny alebo farmaceutickej kompozície. Pri týchto spôsoboch liečenia je zlúčenina podľa vynálezu prednostne selektívnym inhibítorom MEK.

Ďalším predmetom vynálezu sú spôsoby kombináčnej terapie, ako spôsob liečenia rakoviny, pričom tento spôsob ďalej zahŕňa aplikácie radiačnej terapie alebo chemoterapie, napríklad za použitia inhibítorov mitózy, ako taxánov alebo vinkových alkaloidov. Ako inhibítory mitózy je možno uviesť paklitaxel, docetaxel, vinkristín, vinblastín, vinorelbín a vinflunín. Ako iné terapeutické kombinácie možno menovať kombinácie MEK inhibítora podľa vynálezu a protirakovinového činidla, ako cisplatiny, 5-fluóruracilu, 5-fluór-2-4(1H,H)-pyrimidíndiónu (5FU), flutamidu a gemcitabínu.

Chemoterapiu alebo radiačnú terapiu je podľa potreby pacienta možno aplikovať pred podávaním popísanej zlúčeniny, súčasne s jej podávaním alebo po jej podávaní.

Predmetom vynálezu sú tiež syntetické medziprodukty a spôsoby.

Ďalšie aspekty tohto vynálezu sú uvedené v nasledujúcom popise, príkladoch a patentových nárokoch.

Nasleduje podrobnejší popis vynálezu.

Predmetom vynálezu sú benzoheterocyklické zlúčeniny, farmaceutické kompozície na ich báze a spôsoby použitia týchto zlúčenín a kompozícií.

Podľa jedného aspektu sú zlúčeniny podľa vynálezu inhibítory MEK. Ako skúšky MEK inhibície je možno uviesť kaskádovú skúšku *in vitro* pre inhibítory MAP kinázovej dráhy

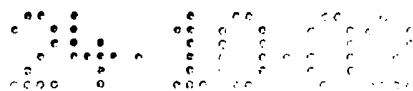
popísanou v stĺpci 6 riadku 36 až stĺpci 7 riadku 4 US patentu 5 525 625 a skúšku MEK *in vitro* popísanú v stĺpci 7 riadku 4 až 27 rovnakého patentu. Tieto patenty sú citované náhradou na prenesenie celého ich obsahu do tohto textu (viď tiež príklady 22 až 25 ďalej).

A. Pojmy

Ďalej sú definované významy niektorých pojmov a ich obsah tiež vyplýva z ich použitia v celom texte.

Do rozsahu alkylskupín spadajú alifatické (tzn. hydrokarbylové alebo uhľovodíkové radikálové štruktúry obsahujúce atómy vodíka a uhlíka) s voľnou valenciou. Pod pojmom "alkylskupina" sa rozumejú štruktúry s reťazcom priamym i rozvetveným. Ako príklady alkylskupín je možno uviesť metyl-, etyl-, propyl-, izopropyl-, butyl-, n-butyl-, izobutyl-, terc-butyl-, pentyl-, izopentyl-, 2,3-dimetylpropyl-, hexyl-, 2,3-dimetylhexyl-, 1,1-dimetylpenyl-, heptyl- a oktylskupinu. Ako cykloalkylové skupiny možno menovať cyklopropyl-, cyklobutyl-, cyklopentyl-, cyklohexyl-, cykloheptyl- a cyklooktylskupinu.

Alkylskupiny môžu byť substituované 1, 2, 3 alebo viacej substituentmi, ktoré sú nezávisle zvolené zo súboru zostávajúceho z halogénu (fluóru, chlóru, brómu a jódu), hydroxyskupiny, aminoskupiny, alkoxyskupiny, alkylamino-skupiny, dialkylamino-skupiny, cykloalkylskupiny, arylskupiny, aryloxyskupiny, arylalkyloxyskupiny, heterocyklického zvyšku a skupiny (heterocyklický zvyšok)oxy. Ako konkrétne príklady možno uviesť fluórmetyl-, hydroxyetyl-, 2,3-dihydroxyetyl-, 2- alebo 3-furyl)metyl-, cyklopropylmetyl-, benzyloxyetyl-, (3-pyridyl)metyl-, (2- alebo 3-furyl)metyl-, (2-tienyl)etyl-, hydroxypropyl-, aminocyklohexyl-, 2-dimetylaminobutyl-, metoxymetyl-, N-pyridyletyl-, dietylaminooetyl- a



cyklobutylmetylskupinu.

Alkenylové skupiny sú analógmi alkylskupiny, avšak obsahujú aspoň jednu dvojitú väzbu (dva susedné sp^2 atómy uhlíka). V závislosti od umiestnenia dvojitej väzby a substituentov (pokiaľ sú prítomné) geometria dvojitej väzby môže byť "entgegen" (E) alebo "zusammen" (Z), cis alebo trans. Podobné alkynylové skupiny obsahujú aspoň jednu trojitú väzbu (dva susedné sp atómy uhlíka). Nenasýtené alkenylové skupiny môžu obsahovať jednu či viacej dvojitých väzieb a nenasýtené alkynylové skupiny môžu obsahovať jednu či viacej trojitých väzieb. V úvahu prichádzajú aj skupiny obsahujúce kombinácie dvojitých a trojitých väzieb. Rovnako ako alkylskupiny, tieto nenasýtené skupiny môžu mať reťazec priamy alebo rozvetvený a môžu byť substituované ako spôsobom popísaným vyššie pre alkylskupiny, tak spôsobom, ktorý je v popise ilustrovaný pomocou príkladov. Ako príklady alkenylskupín, alkynylskupín a ich substituovaných foriem je možno uviesť cis-2-butenyl-, trans-2-butenyl-, 3-butynyl-, 3-fenyl-2-propynyl-, 3-(2'-fluórfenyl)-2-propynyl-, 3-metyl-(5-fenyl)-4-pentynyl-, 2-hydroxy-2-propynyl-, 2-metyl-2-propynyl-, 2-propenyl-, 4-hydroxy-3-butynyl-, 3-(3-fluórfenyl)-2-propynyl- a 2-metyl-2-propenylskupinu. Alkenylskupiny a alkynylskupiny v definícii obecného vzorca I môžu napríklad obsahovať 2 až 4 atómy uhlíka alebo 2 až 8 atómov uhlíka, prednostne 3 až 4 atómy uhlíka alebo 3 až 8 atómov uhlíka.

Ako zvyčajnejšie formy substituovaných uhľovodíkových zvyškov je možno uviesť hydroxyalkyl-, hydroxyalkenyl-, hydroxyalkynyl-, hydroxycykloalkyl- a hydroxyarylskupinu a formy odpovedajúce prefixom amino-, halogén- (napríklad fluór-, chlór- alebo bróm-), nitro-, alkyl-, fenyl-, cykloalkyl- atď. alebo kombinácia substituentov. Na základe obecného vzorca I je teda ako substituované alkylskupiny možno

uviesť hydroxyalkyl-, aminoalkyl-, nitroalkyl-, halogénalkyl-, alkylalkyl- (rozvetvené alkylskupiny, ako metylpentylskupinu), (cykloalkyl)alkyl-, fenylalkyl-, alkoxy-, alkylaminoalkyl-, dialkylaminoalkyl-, arylalkyl-, aryloxyalkyl- a arylalkyloxyalkylskupinu a skupinu (heterocyklický zvyšok)alkyl- a (heterocyklický zvyšok)oxyalkyl. R_1 teda zahŕňa hydroxyalkyl-, hydroxyalkenyl-, hydroxyalkynyl-, hydroxycykloalkyl-, hydroxyaryl-, aminoalkyl-, aminoalkenyl-, aminoalkynyl-, aminocykloalkyl-, aminoaryl-, alkylalkenyl-, (alkylaryl)alkyl-, (halogénaryl)alkyl-, (hydroxyaryl)alkynylskupinu apod. Podobne R_A zahŕňa hydroxyalkylskupinu a aminoarylskupinu, a R_B zahŕňa hydroxyalkylskupinu, aminoalkylskupinu a skupinu hydroxyalkyl(heterocyklický zvyšok)alkyl.

Ako heterocyklické zvyšky, ktorých neobmedzujúcim príkladom sú heteroaryly, je možno uviesť furyl-, oxazolyl-, izoxazolyl-, tiofenyl-, tiazolyl-, pyrrolyl-, imidazolyl-, 1,3,4-triazolyl-, tetrazolyl-, pyridyl-, pyrimidinyl-, pyridazinyl- a indolylskupinu a ich nearomatické náprotivky. Ako ďalšie príklady heterocyklických zvyškov možno menovať piperidyl-, chinolyl-, izotiazolyl-, piperidinyl-, morfolinyl-, piperazinyl-, tetrahydrofuryl-, tetrahydropyrrolyl-, pyrrolidinyl-, oktahydroindolyl-, oktahydrobenzotiofuryl- a oktahydrobenzofurylskupinu.

Selektívne inhibítory MEK 1 alebo MEK 2 sú zlúčeniny, ktoré inhibujú enzýmy MEK 1 alebo MEK 2, ani by podstatne inhibovali iné enzýmy, ako MKK3, PKC, Cdk2A, fosforyláza kinázu, EGF a PDGF receptorové kinázy a C-src. Selektívne inhibítory MEK 1 alebo MEK 2 vykazujú hodnotu IC_{50} pre MEK 1 alebo MEK 2, ktorá predstavuje aspoň jednu päťdesiatinu ($1/50$) ich hodnoty IC_{50} pre jeden z vyššie uvedených iných enzýmov. V prednostnom prevedení selektívny inhibítory vykazuje hodnotu

IC₅₀, ktorá predstavuje aspoň 1/100, výhodnejšie 1/500, a ešte výhodnejšie 1/1000, 1/5000 alebo menej hodnoty jeho IC₅₀ pre jeden či viacej z vyššie uvedených enzýmov.

B. Zlúčeniny

Jedným aspektom tohto vynálezu sú popísané zlúčeniny obecného vzorca I znázorneného vyššie.

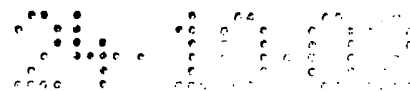
Ako prevedenie zlúčenín podľa vynálezu je možno uviesť zlúčeniny, kde: (a) Q predstavuje skupinu obecného vzorca (i); (b) R₃ predstavuje vodík alebo fluór; (c) R₄ predstavuje fluór, chlór alebo bróm; (d) R₁₀ predstavuje vodík, metylskupinu, fluór alebo chlór; (e) R₁₁ predstavuje metylskupinu, chlór, fluór, nitroskupinu alebo vodík; (f) R₁₁ predstavuje vodík; (g) R₁₁ predstavuje fluór; (h) každý z R₁₀ a R₁₁ predstavuje fluór; (i) R₁ predstavuje vodík, metyl-, etyl-, propyl-, izopropyl-, izobutyl-, benzyl-, fenetyl-, allylskupinu, alkenylskupinu s 3 až 5 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, skupinu (cykloalkyl s 3 až 5 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka, (heterocyklický zvyšok s 3 až 5 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka alebo (CH₂)₂₋₄ NR_CR_D; (j) R₁ predstavuje vodík alebo skupinu (cykloalkyl s 3 až 4 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka; (k) R₂ predstavuje vodík alebo metylskupinu; (l) R_A obsahuje aspoň jeden hydroxylový substituent; (m) R_A predstavuje vodík, metyl-, etyl-, izobutyl, hydroxyetyl-, fenyl-, 2-piperidín-1-yletyl-, 2,3-dihydroxypropyl-, 3-[4-(2-hydroxyetyl)piperazín-1-yl]propyl-, 2-pyrrolidín-1-yletyl- alebo 2-dietylaminoetylskupinu; a R_B predstavuje vodík; alebo kde R_B predstavuje metylskupinu a R_A predstavuje fenylskupinu; (n) W predstavuje skupinu NR_AR_B alebo NR₂NR_AR_B; (o) W predstavuje skupinu NR₂(CH₂)₂₋₄ NR_AR_B alebo O(CH₂)₂₋₃ NR_AR_B; (p) W predstavuje skupinu NR₂OR₁; (q) W predstavuje skupinu OR₁; (r) Z predstavuje skupinu vzorca (v);

alebo (s) X_1 predstavuje skupinu NR_8 a R_7 predstavuje vodík; alebo (t) ich kombinácie. V obecnom vzorci I sú hodnoty Z vzhľadom k fenylovému kruhu znázornené v lavo-pravej projekcii, či v orientácii oproti smeru hodinových ručičiek.

Podľa jedného aspektu tohto vynálezu majú zlúčeniny obecného vzorca I štruktúru, kde Q predstavuje zvyšok obecného vzorca (i) alebo (ii); R_3 predstavuje vodík alebo fluór; R_4 predstavuje fluór, chlór alebo bróm; R_{10} predstavuje vodík, metylskupinu alebo chlór; R_{11} predstavuje chlór, fluór alebo vodík; R_1 predstavuje vodík, metyl-, etyl-, propyl-, izopropyl-, izobutyl-, benzyl-, fenetyl-, allylskupinu, alkenylskupinu s 3 až 5 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, skupinu (cykloalkyl s 3 až 5 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka, (heterocyklický zvyšok s 3 až 5 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka alebo $(CH_2)_{2-4} NR_C R_D$; R_1 predstavuje vodík alebo skupinu (cykloalkyl s 3 až 4 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka; R_2 predstavuje vodík alebo metylskupinu a Z predstavuje skupinu vzorca (v) alebo (vi). V jednom prevedení tohto aspektu X_1 predstavuje skupinu NR_8 . Príkladom môže byť cyklopropylmetoxyamid 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1-[(2'-morfolinyl)etyl]-2-(fenyl)benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny.

Prevedenia tohto vynálezu tiež zahrnujú zlúčeniny, kde R_{10} predstavuje vodík; R_{10} predstavuje metylskupinu alebo chlór; a kde R_{10} predstavuje chlór. V niektorých prevedeniach R_7 a R_8 dohromady, nerátane R_L , R_M , R_J a R_K , neobsahujú viac ako 14 atómov uhlíka. Ako príklady je možno uviesť zlúčeniny, kde R_7 a R_8 dohromady obsahujú: najvyššie 13 atómov uhlíka; najvyššie 7, 8 alebo 10 atómov uhlíka; 4 až 8 atómov uhlíka; 1 až 10 atómov uhlíka; 1 až 8 atómov uhlíka; a najvyššie 6 atómov uhlíka.

V prednostnom prevedení, keď aspoň jeden z R_1 , R_2 , R_A , R_B ,



$R_C, R_D, R_E, R_F, R_I, R_J, R_K, R_L, R_M, R_G, R_H, R_N, R_O$ a R_P predstavuje alkenylskupinu alebo alkynylskupinu, potom dvojitá alebo trojitá väzba, ktorú obsahujú, nesusedia s miestom pripojenia. Napríklad v prípade, že W predstavuje skupinu NR_2OR_1 , potom R_2 prednostne predstavuje prop-2-ynyl alebo but-2- alebo -3-enylskupinu, a menej výhodnejšie prop-1-ynyl- alebo but-1-enylskupinu.

Ďalej je uvedený zoznam niektorých z prednostných štruktúr, ktoré je možno syntetizovať za použitia spôsobov znázornených v schémach 1, 2, 10 a 11. Voľné kyseliny, voľné hydroxámové kyseliny a cyklopropylmetylhydroxamáty sú zoskupené spoločne. Napríklad zlúčeniny 1, 11 a 21 sa líšia iba významom w (ako je definovaný v nárokoch) a podobný vzťah je medzi 2, 12 a 22. Medzi prednostné zlúčeniny tiež patria 2-chlóranalógy (obsahujúce 2-chlór namiesto 2-metyl) uvedených zlúčenín.

Ako príklady zlúčenín je možno uviesť zlúčeniny zvolené zo súboru zostávajúceho z

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny (APK $IC_{50} = 47 \pm 17$ nM);

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-

karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-2-(2-hydroxyetyl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-2-(2-dimetylaminoetyl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1-acetylbenzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluor-6-(4-jód-2-methylfenylamino)benzo[1,2,5]-oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-2-(2-hydroxyetyl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-2-(2-dimetylaminoetyl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1-acetylbenzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny;

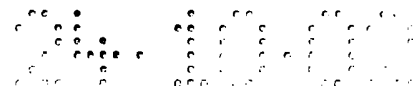
cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-2-(2-hydroxyetyl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-2-(2-dimetylaminoetyl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;



cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1-acetylbenzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)-chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny a

cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny.

Ďalej je uvedený zoznam príkladov, ktoré reprezentujú schémy 3 až 9. Rovnako ako v predchádzajúcom prípade sú voľné kyseliny, voľné hydroxámové kyseliny a cyklopropylmetylhydroxamáty uvedené v spoločných skupinách. Napríklad zlúčeniny 31, 45 a 59 sa líšia iba významom W (ako je definované v nárokoch), a medzi zlúčeninami 32, 46 a 60 je podobný vzťah. Medzi prednostné zlúčeniny tiež patria 2-chlóranalógy (obsahujúce 2-chlór namiesto 2-metyl) zlúčenín z tohto zoznamu.

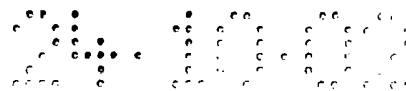
Ako príklady zlúčenín zo schém 3 až 9 je možno uviesť zlúčeniny zvolené zo súboru zostávajúceho z

4-fluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-6-karboxylovej kyseliny;

4-fluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-6-karboxylovej kyseliny;

5-(2-chlór-4-jódfenylamino)-6,7-difluór-3H-benzimidazol-4-karboxylovej kyseliny;

6,7-difluór-2-(2-hydroxyetyl)-5-(4-jód-2-metylfenylamino)-3H-benzimidazol-4-karboxylovej kyseliny;



6,7-difluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-4-karboxylovej kyseliny;

6,7-difluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-4-karboxylovej kyseliny;

7,8-difluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-5-karboxylovej kyseliny;

6-(4-jód-2-metylfenylamino)-8-nitrochinoxalín-5-karboxylovej kyseliny;

5-(4-jód-2-metylfenylamino)-8-nitrochinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;

8-chlór-5-(4-jód-2-metylfenylaminochinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;

4-dimetylamidu 3-cyklopropyl-7-(4-jód-2-metylfenylamino)-3H-benzoimidazol-4,6-dikarboxylovej kyseliny;

7-bróm-4-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-(2-chlór-4-jódfenylamino)-4-fluórbenzotiazol-6-karboxylovej kyseliny;

7-(4-jód-2-metylfenylamino)-4-nitrobenzooxazol-6-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 4-fluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-6-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 4-fluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-6-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 5-(2-chlór-4-jódfenylamino)-6,7-difluór-3H-benzimidazol-4-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 6,7-difluór-2-(2-hydroxyetyl)-5-(4-jód-2-metylfenylamino)-3H-benzoimidazol-4-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 6,7-difluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-4-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 6,7-difluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-4-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7,8-difluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 6-(4-jód-2-metylfenylamino)-8-nitrochinoxalín-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 5-(4-jód-2-metylfenylamino)-8-nitrochinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 8-chlór-5-(4-jód-2-metylfenylaminochinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 4-dimetylamidu 3-cyklopropyl-7-(4-jód-2-metylfenylamino)-3H-benzoimidazol-4,6-dikarboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-bróm-4-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-(2-chlór-4-jódfenylamino)-4-fluórbenzotiazol-6-

karboxylovej kyseliny;

hydroxyamidu 7-(4-jód-2-metylfenylamino)-4-nitrobenzooxazol-6-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 4-fluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)-benzotiazol-6-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 4-fluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-6-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 4-(2-chlór-4-jódfenylamino)-6,7-difluór-3H-benzoimidazol-4-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 6,7-difluór-2-(2-hydroxyetyl)-5-(4-jód-2-metylfenylamino)-3H-benzoimidazol-4-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 6,7-difluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-4-karboxylovej kyseliny;

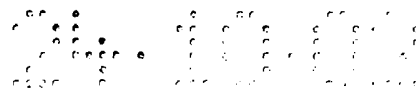
cyklopropylmetoxyamidu 6,7-difluór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-4-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7,8-difluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 6-(4-jód-2-metylfenylamino)-8-nitrochinoxalín-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 5-(4-jód-2-metylfenylamino)-8-nitrochinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 8-chlór-5-(4-jód-2-metylfenylamino)-



chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 4-dimetylamidu 3-cyklopropyl-7-(4-jód-2-metylfenylamino)-3H-benzoimidazol-4,6-dikarboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7-bróm-4-(4-jód-2-metylfenylamino)-benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny;

cyklopropylmetoxyamidu 7-(2-chlór-4-jódfenylamino)-4-fluór-benzotiazol-6-karboxylovej kyseliny a

cyklopropylmetoxyamidu 7-(4-jód-2-metylfenylamino)-4-nitrobenzooxazol-6-karboxylovej kyseliny.

C. Syntéza

Popísané zlúčeniny je možno syntetizovať spôsobmi znázornenými v schémach 1 až 22 alebo podobnými spôsobmi. Stratégia pri syntéze je ilustrovaná v príkladoch prevedenia 1 až 11.

Schéma 1

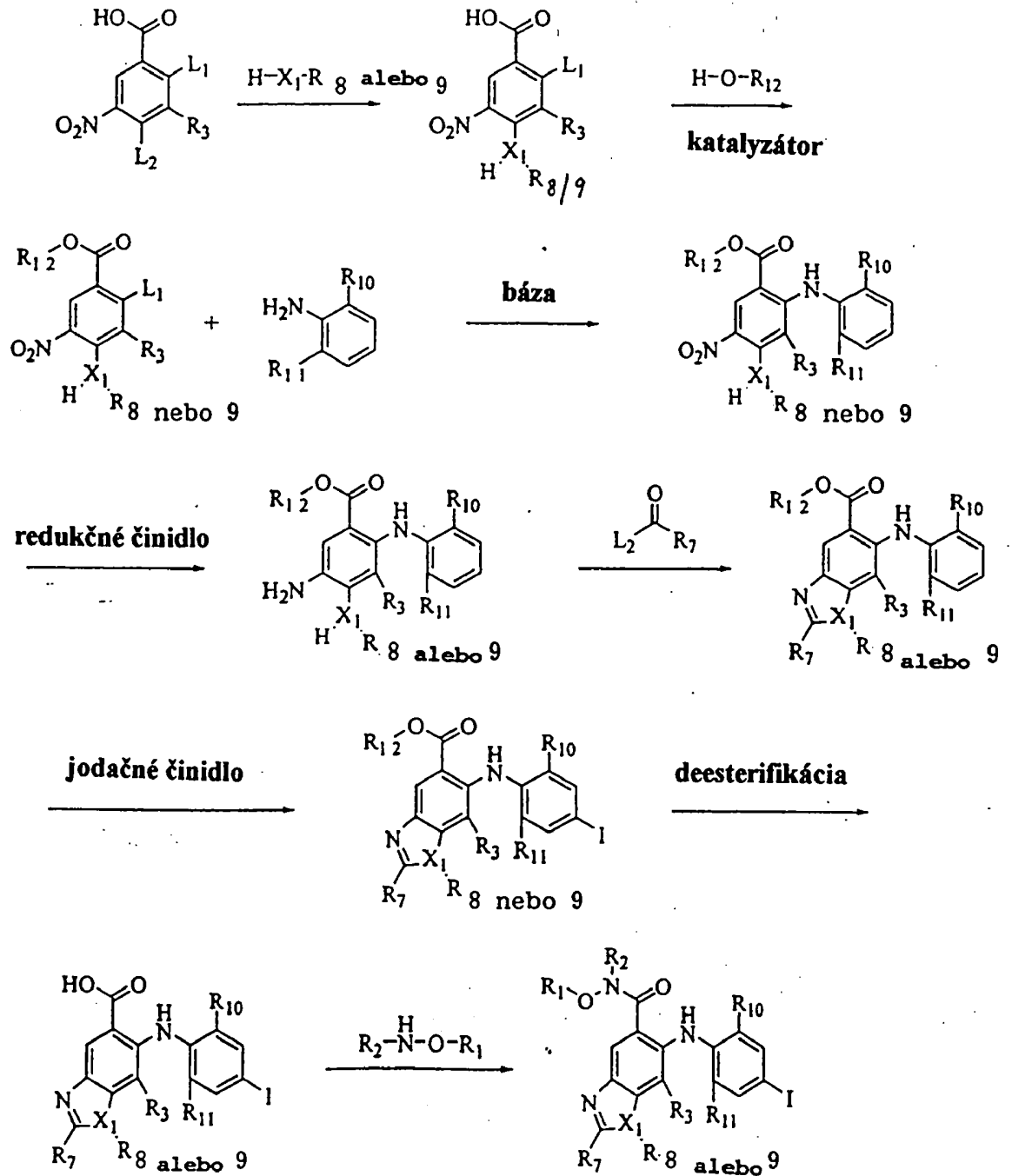


Schéma 2

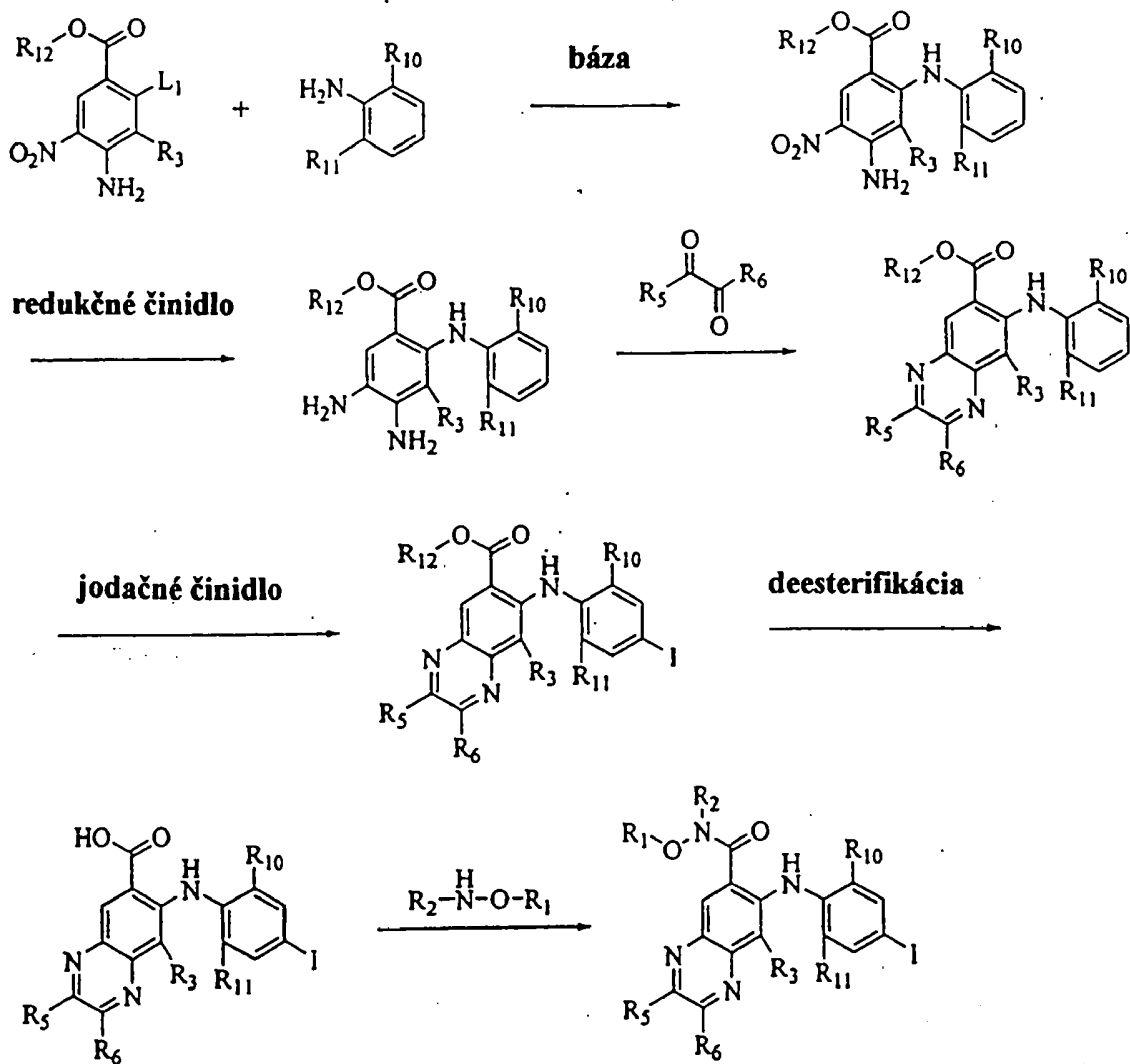


Schéma 3

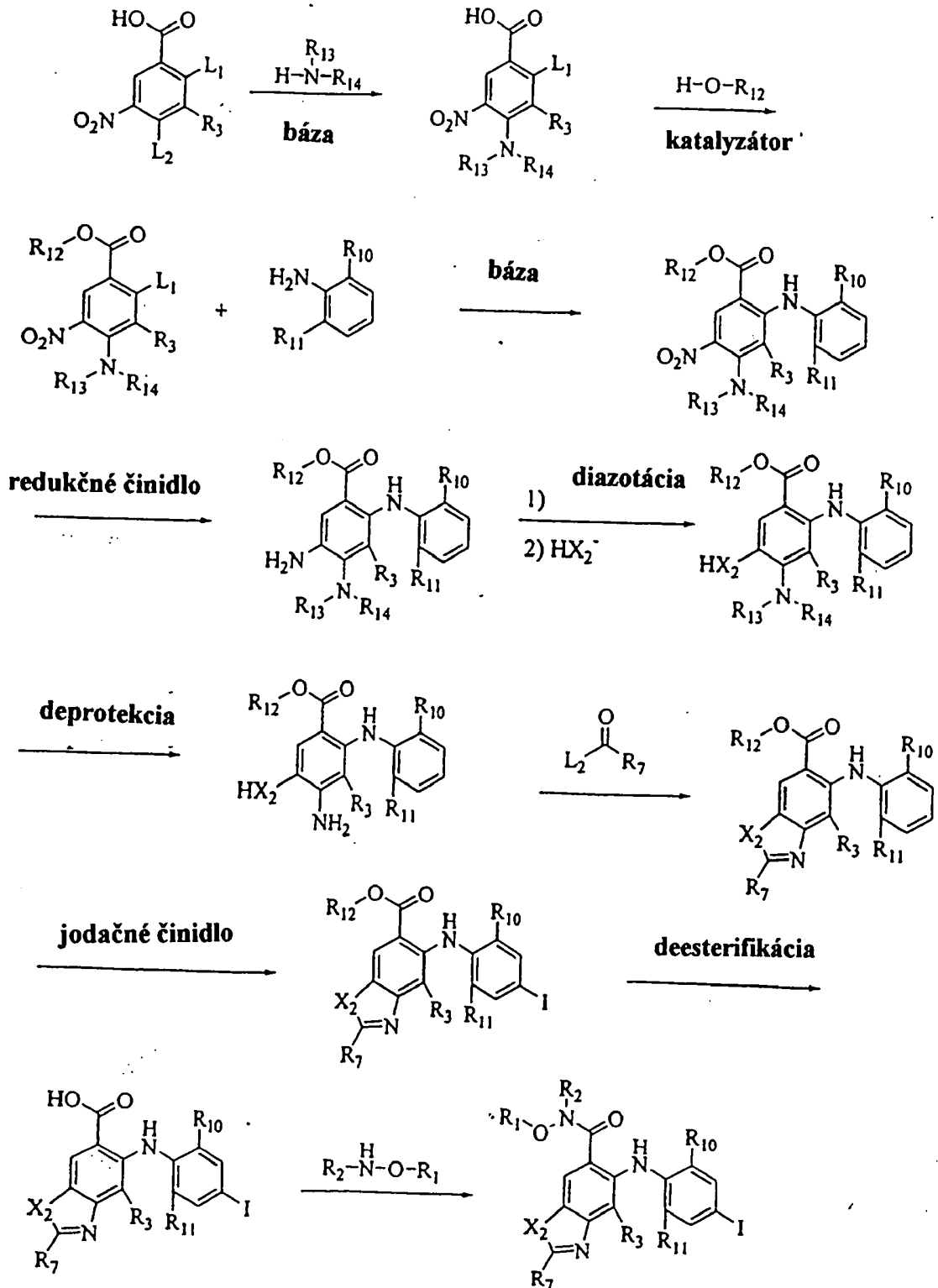


Schéma 4

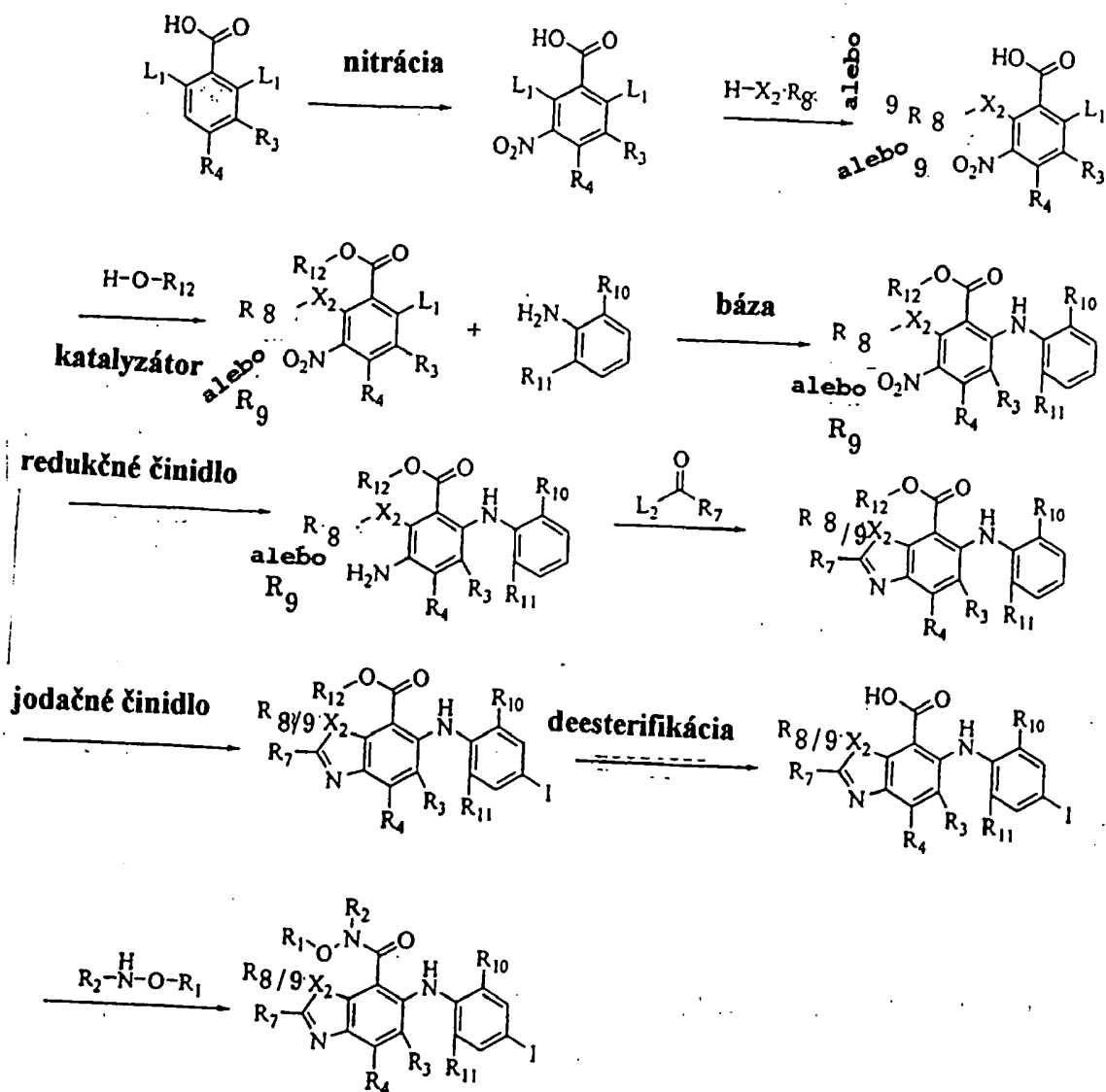
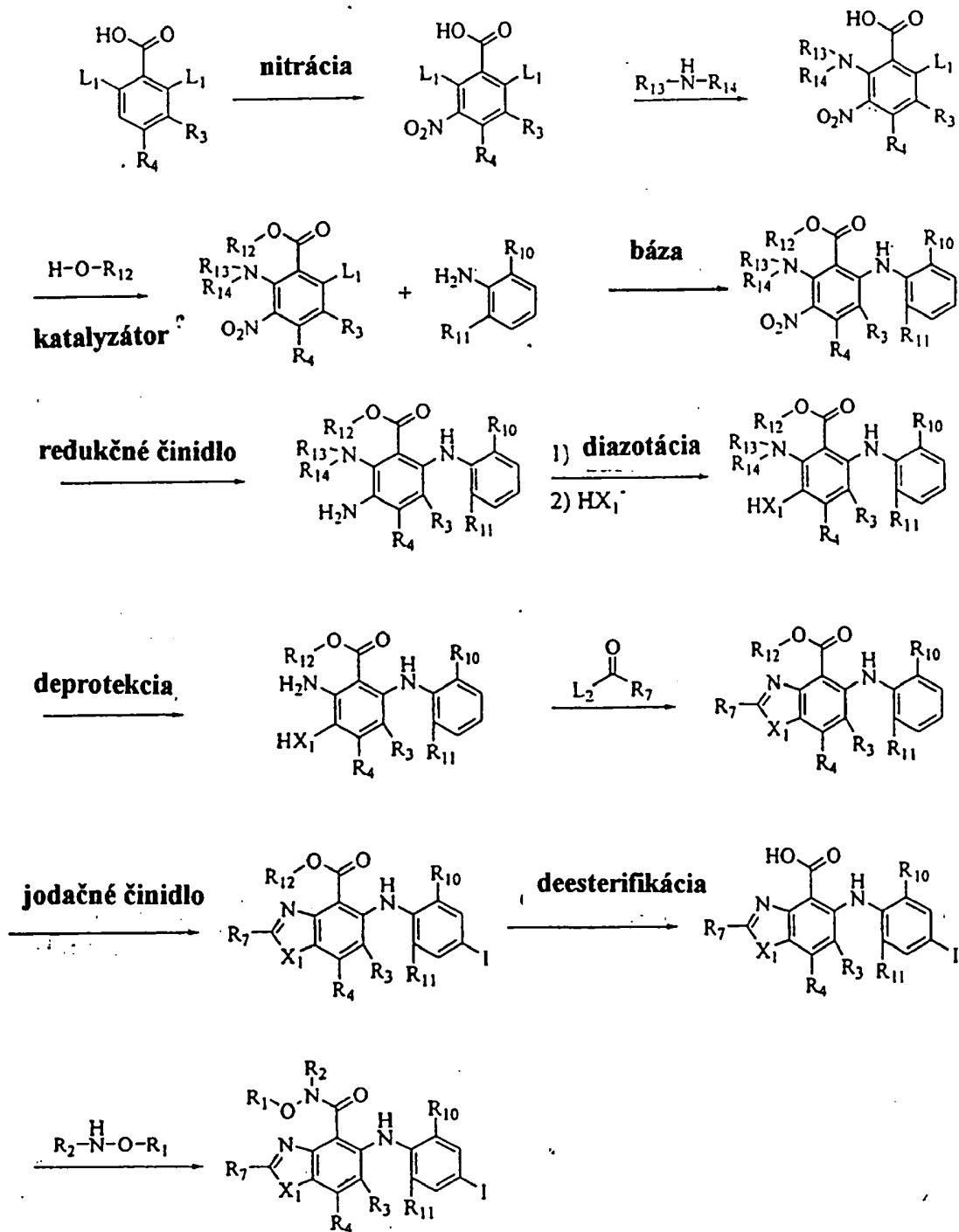


Schéma 5



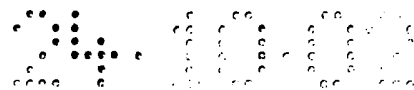


Schéma 6

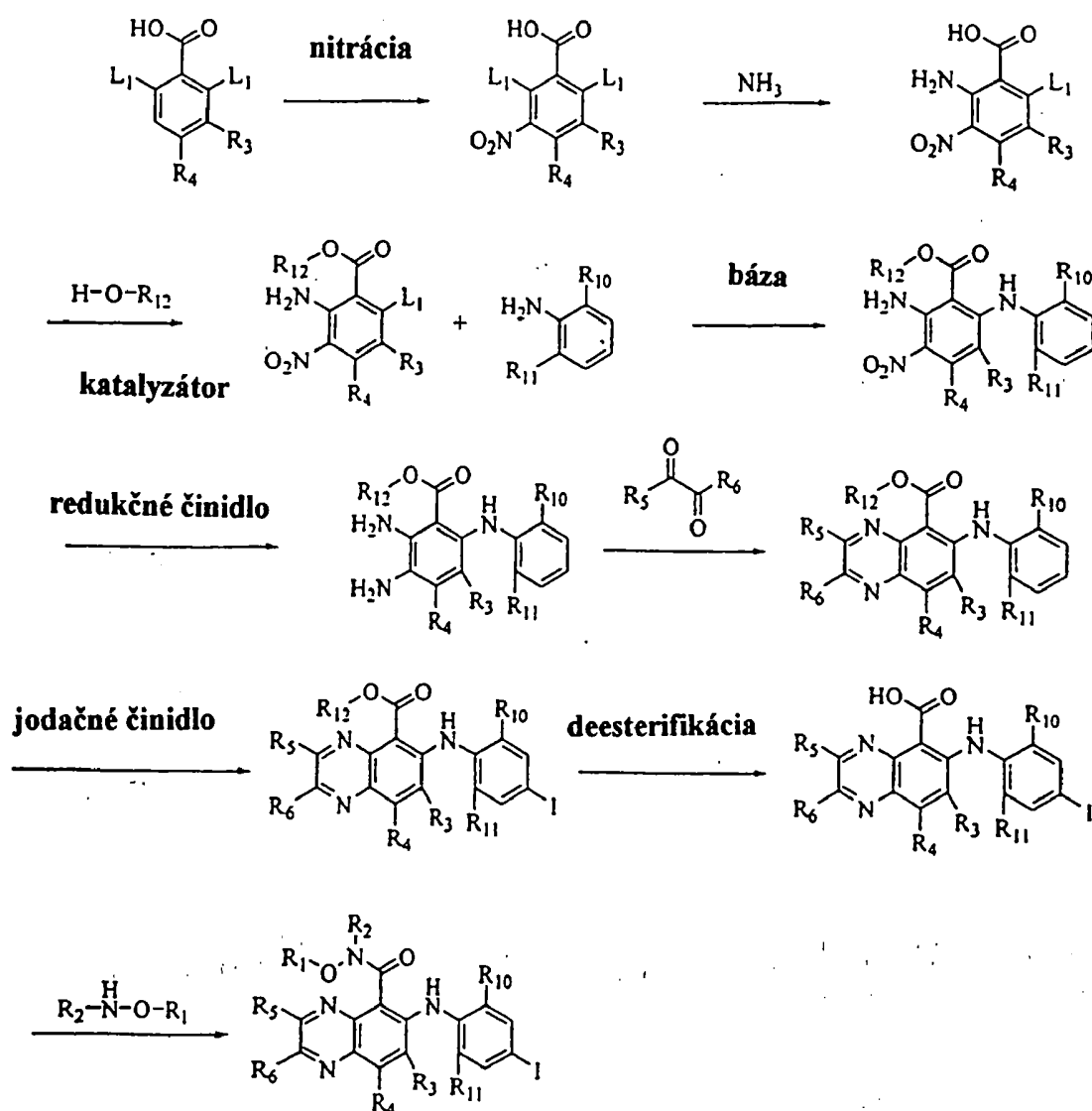


Schéma 7

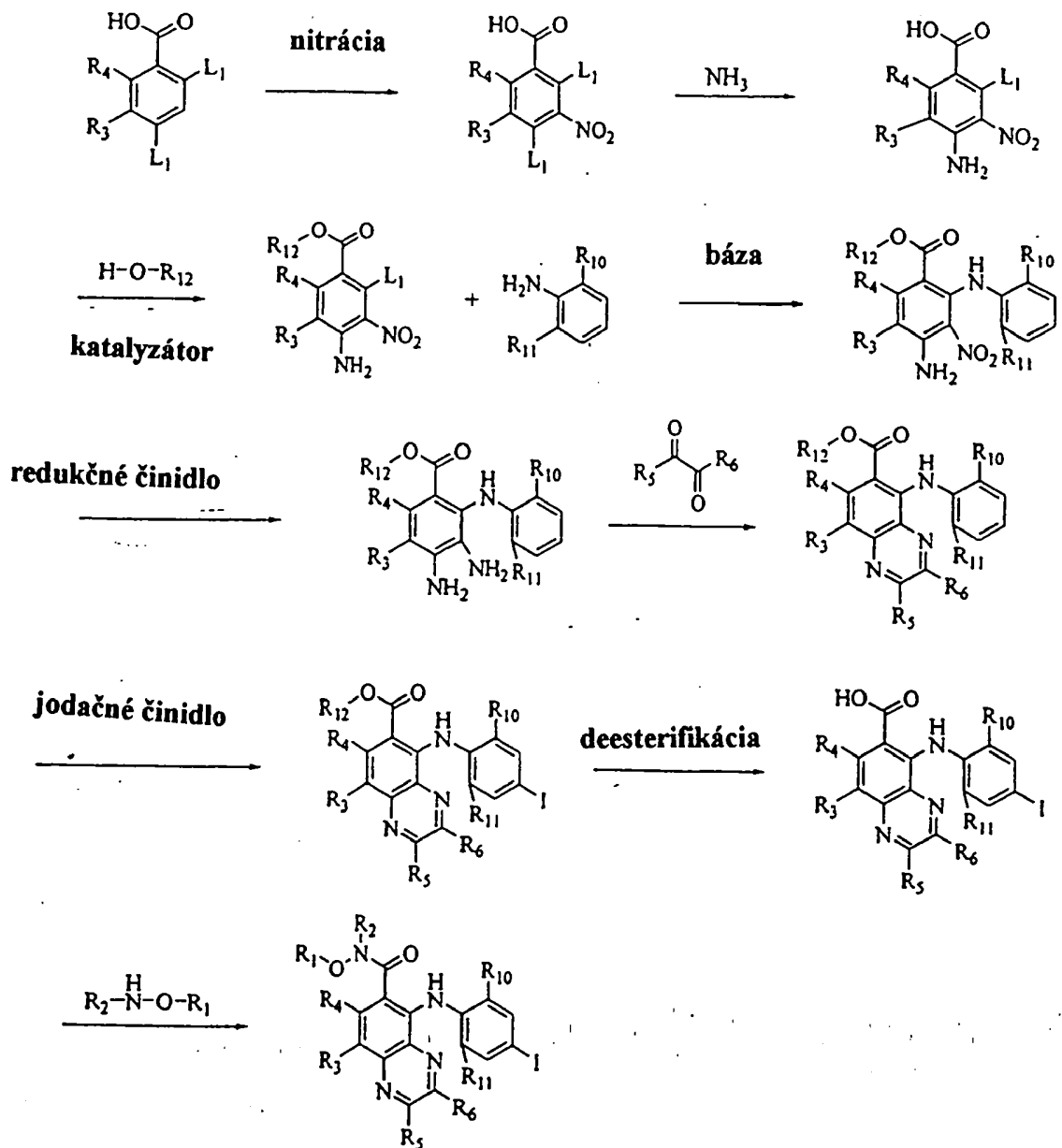


Schéma 8

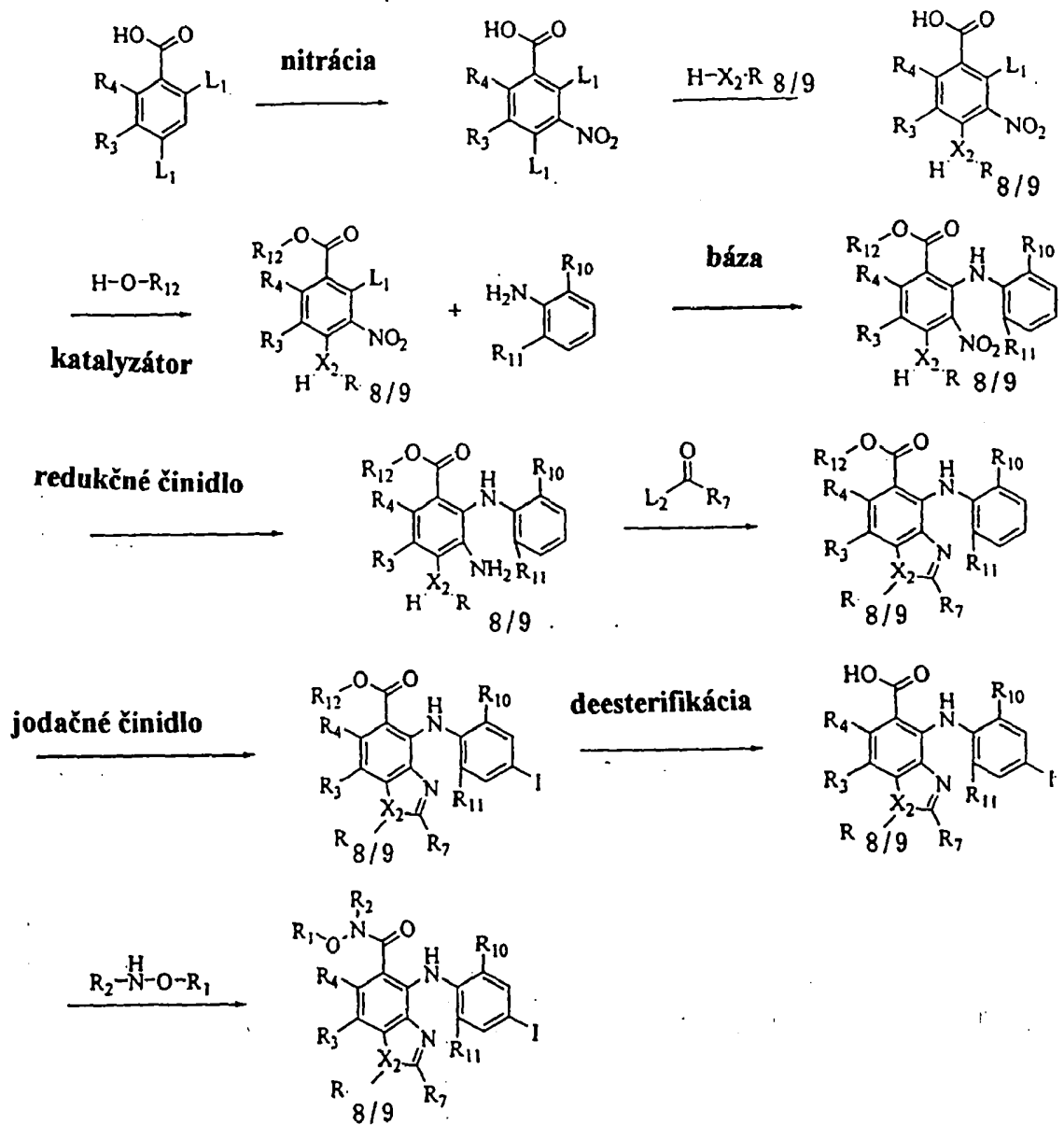
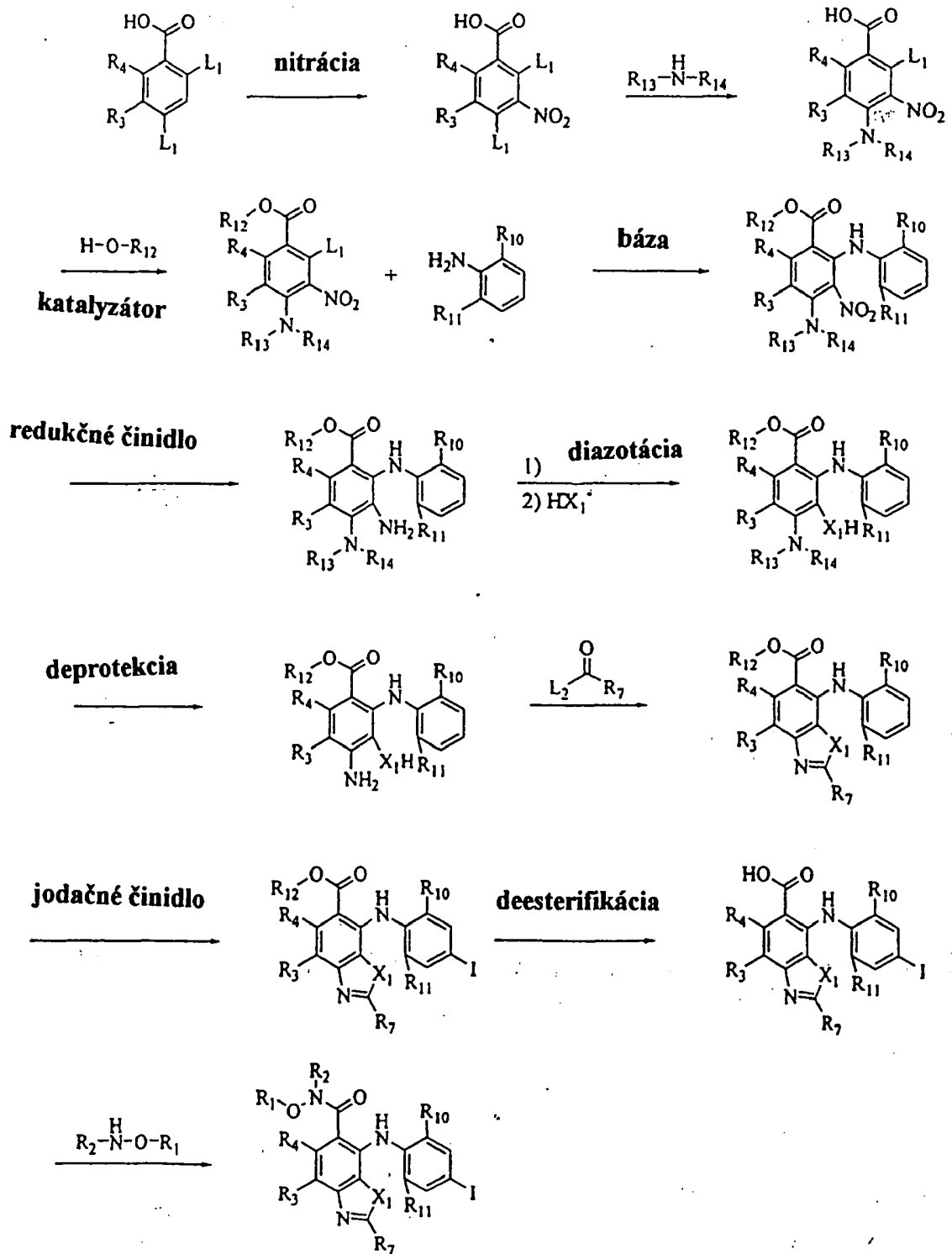


Schéma 9



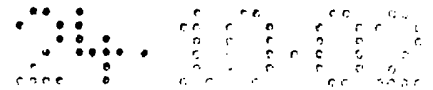


Schéma 10

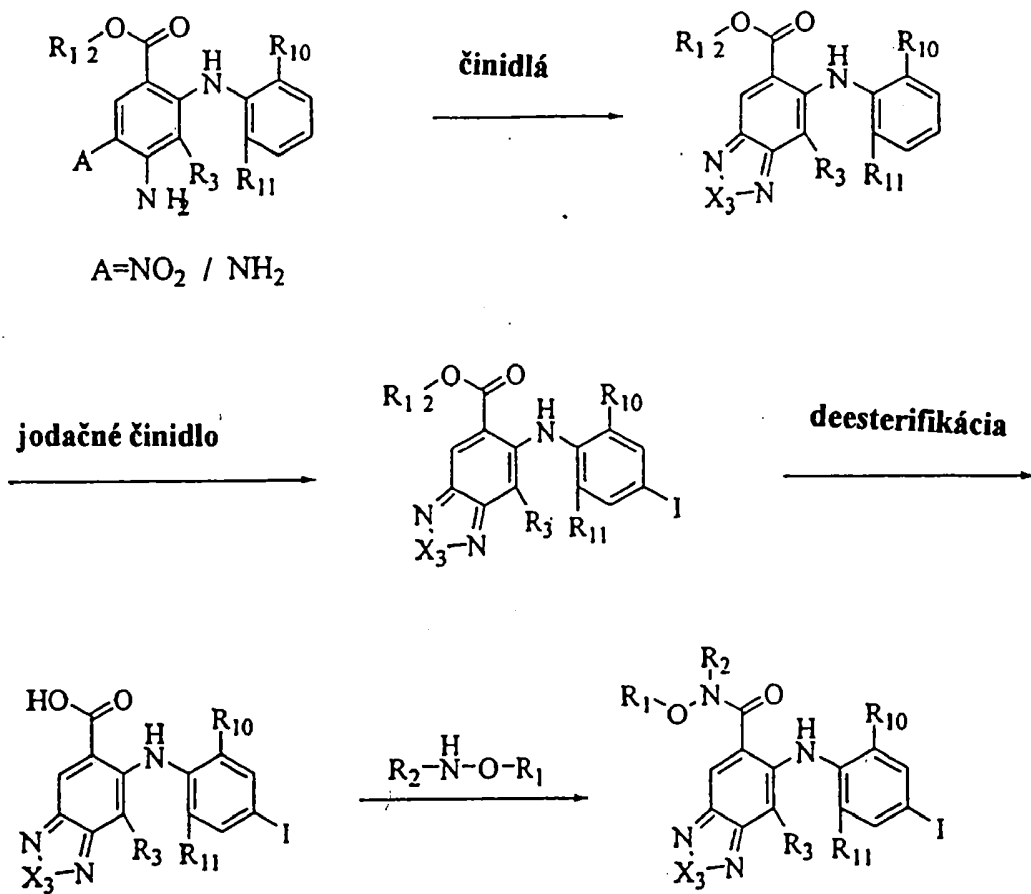
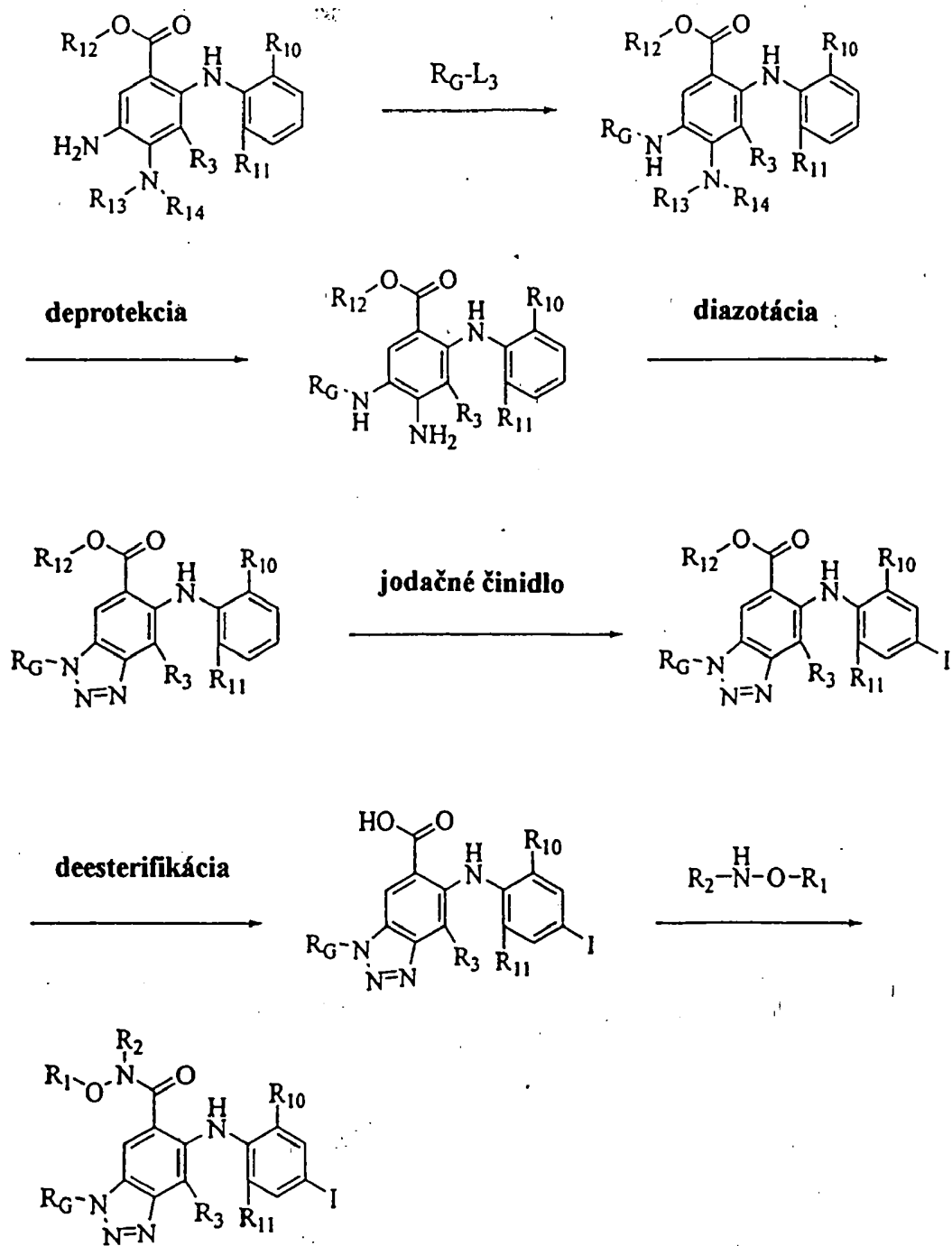


Schéma 11



D. Použitie

Popísané látky sú užitočné ako pri profylaxii, tak aj pri liečení chorôb alebo stavov uvedených vyššie, a tiež chorôb alebo stavov modulovaných MEK kaskádou. Ako ich príklady je možno uviesť mŕtvicu, srdcové zlyhanie, osteoartritídu, reumatoidnú artritídu, odmietanie transplantovaného orgánu a rôzne nádory, ako nádory vaječníkov, pľúc, podžalúdovej žľazy, mozgu, prostaty a kolorekta.

1. Dávkovanie

Odborník v tomto odbore bude schopný na základe známych postupov stanoviť dávku vhodnú pre pacienta pri rešpektovaní takých faktorov, ako veku, hmotnosti, celkového zdravotného stavu, typu bolesti vyžadujúce liečenie a inej medicíny. Zvyčajne bude účinná látka ležať v rozmedzí od 0,1 do 1000 mg/kg za deň, prednostne medzi 1 až 300 mg/kg telesnej hmotnosti, a denné dávky podávané dospelému subjektu o normálnej hmotnosti budú v rozmedzí od 10 do 5000 mg. Obchodne dostupné 100, 200, 300 alebo 400 mg tobolky alebo iné formulácie (ako kvapalné formulácie a potahované tablety) je možno podávať popísanými spôsobmi.

2. Formulácie

Ako dávkovací jednotky je možno uviesť tablety, tobolky, piluly, prášky, granuly, vodné a nevodné roztoky a suspenzie pre perorálne podávanie a parenterálne roztoky balené v kontajneroch prispôbolených pre rozdelenie na jednotlivé dávky. Jednotkové dávkovacie formy tiež môžu byť prispôbolené pre rôzne spôsoby podávania, ako sú formulácie pre riadené uvoľňovanie, ako subkutánne implantáty. Ako spôsoby podávania

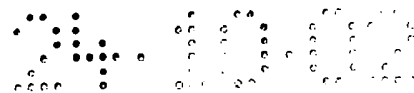
možno menovať podávanie perorálne, rektálne, parenterálne (intravenózne, intramuskulárne, subkutánne), intracisterálne, intravaginálne, intraperitoneálne, intravezikálne, lokálne (kvapky, púdre, masti, želé alebo krémy) a inhalačné (bukálne alebo nasálny sprej) podávanie.

Ako parenterálne formulácie je možno uviesť farmaceuticky vhodné vodné alebo nevodné roztoky, disperzie, suspenzie, emulzie a sterilné prášky pre ich prípravu. Vhodnými nosičmi sú napríklad voda, etanol, polyoly (propylénglykol, polyetylénglykol), rastlinné oleje a injektovateľné organické estery, ako etyloléat. Tekutosť je možno udržiavať za použitia látok na potahovanie, ako lecitínu, povrchovo aktívnych látok alebo udržiavaním vhodnej veľkosti častíc. Ako nosiče pre pevné dávkovacie formy možno uviesť (a) plnivá, (b) spojivá, (c) zmáčadlá, (d) rozvoľňovadlá, (e) spomaľujúce prísady, (f) urýchľovače absorpcie, (g) adsorbanty, (h) lubrikanty, (i) pufrovacie činidlá a (j) propelenty.

Kompozície tiež môžu obsahovať adjuvans, ako konzervačné činidlá, zmáčadlá, emulgátory a dispergačné činidlá; antimikrobiálne činidlá, ako parabény, chlórbutanol, fenol a kyselinu sorbovú; izotonické činidlá, ako cukor alebo chlorid sodný; činidlá predlžujúce absorpciu, ako stearan hlinitý a želatínu; a činidlá podporujúce absorpciu.

3. Príbuzné zlúčeniny

Predmetom vynálezu sú popísané zlúčeniny, im blízko príbuzné farmaceuticky vhodné formy, ako soli, estery, amidy, hydráty alebo ich solvatované formy; maskované alebo chránené formy; a racemické zmesi alebo enantioméerne alebo opticky čisté formy.



Farmaceuticky vhodné soli, estery a amidy zahrnujú karboxylátové soli (napr. alkyl s 1 až 8 atómami uhlíka, cykloalkyl, aryl, heteroaryl alebo nearomatický heterocyklus), adičné soli s aminokyselinami, estery a amidy, ktoré vykazujú priaznivý pomer prínos/riziko, sú farmakologicky účinné a vhodné pre kontakt s tkanivami pacienta bez nežiadúcej toxicity, podráždenia alebo alergickej odpovedi. Ako príklady soli je možno uviesť hydrobromidy, hydrochloridy, sulfáty, hydrogensulfáty, nitráty, acetáty, oxaláty, valeráty, oleáty, palmitáty, stearáty, lauráty, boráty, benzoáty, laktáty, fosfáty, p-toluénsulfonáty, citráty, maleáty, fumaráty, sukcináty, tartráty, naftoáty, metánsulfonáty, glukohoheptanoáty, laktobionáty a laurylsulfonáty. Soli môžu obsahovať katióny alkalických kovov alebo kovov alkalických zemín, ako sodíka, draslíka, vápnika a horčíka, ako aj netoxické amónium, kvartérne amónium a amínové katióny, ako tetrametylamónium, metylamín, trimetylamín a etylamín. Vid' napríklad S. M. Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66: 1 až 19 (táto publikácia je citovaná náhradou za prenesenie celého jej obsahu do tohto textu). Ako reprezentatívne príklady farmaceuticky vhodných amidov zlúčenín podľa vynálezu možno uviesť amidy odvodené od amónia, primárne alkylamíny s 1 až 6 atómami uhlíka a sekundárne dialkylamíny s 1 až 6 atómami uhlíka v každej z alkylových častí. Ako sekundárne amíny je možno uviesť päť- alebo šesťčlánkové heterocyklické alebo heteroaromatické zvyšky obsahujúce aspoň jeden atóm dusíka a poprípade 1 až 2 prídavné heteroatómy. Prednostnými amidmi sú amidy odvodené od amónia, primárnych alkylamínov s 1 až 3 atómami uhlíka a dialkylamínov s 1 až 2 atómami uhlíka v každej z alkylových častí. Ako reprezentatívne príklady farmaceuticky vhodných esterov zlúčenín podľa vynálezu je možno uviesť alkylestery s 1 až 7 atómami uhlíka, cykloalkylestery s 5 až 7 atómami uhlíka, fenylestery a fenylalkylestery s 1 až 6 atómami uhlíka v

alkylovej časti. Prednosť sa dáva metylesterom.

Do rozsahu vynálezu tiež spadajú popísané zlúčeniny, v ktorých je jedna či viacej funkčných skupín (napríklad hydroxyskupín, aminoskupín alebo karboxyskupín) maskovaných chrániacimi skupinami. Niektoré z týchto maskovaných či chránených zlúčenín sú farmaceuticky vhodné, iné budú užitočné ako medziprodukty. Syntetické medziprodukty a popísané spôsoby a ich nepodstatné modifikácie taktiež spadajú do rozsahu tohto vynálezu.

Chrániace skupiny hydroxyskupiny

Ako chrániace skupiny hydroxyskupiny je možno uviesť étery, estery a ochranu pre 1,2- a 1,3-dioly. Ako éterové chrániace skupiny možno menovať metyléter, substituovaný metyléter, substituovaný etyléter, substituovaný benzyléter, silylétery a konverziu silyléterov na iné funkčné skupiny.

Substituované metylétery

Ako substituované metylétery je možno uviesť metoxymetyl, metyltiometyl, terc-butyltiometyl, (fenyldimetylsilyl)metoxymetyl, metoxymetyl, benzyloxymetyl, p-etoxybenzyloxymetyl, (4-metoxyfenoxy)metyl, guaiakolmetyl, terc-butoxymetyl, 4-pentenyloxymetyl, siloxymetyl, 2-metoxyetoxymetyl, 2,2,2-trichlóretoxymetyl, bis(2-chlóretoxy)metyl, 2-(5-trimetylsilyl)etoxymetyl, tetrahydropyranyl, 3-brómtetrahydropyranyl, tetrahydrotiopyranyl, 1-metoxycyklohexyl, 4-metoxytetrahydropyranyl, 4-metoxytetrahydrotiopyranyl, 4-metoxytetrahydropyranyl S,S-dioxido, 1-[(2-chlór-4-metyl)fenyl]-4-metoxypiperidín-4-yl, 1,4-dioxán-2-yl, tetrahydrofuryl, tetrahydrotiofuryl a 2,3,3a,4,5,6,7,7a-

oktahydro-7,8,8-trimetyl-4,7-etanobenzofurán-2-yl.

Substituované etylétery

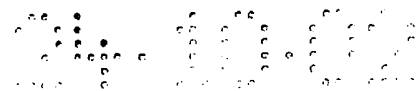
Ako substituované etylétery možno uviesť 1-etoxyetyl, 1-(2-chlóretoxy)etyl, 1-metyl-1-metoxyetyl, 1-metyl-1-benzyloxyetyl, 1-metyl-1-benzyloxy-2-fluóretyl, 2,2,2-trichlóretyl, 2-trimetylsilyletyl, 2-(fenylselenyl)etyl, terc-butyl, allyl, p-chlórfenyl, p-metoxyfenyl, 2,4-dinitrofenyl a benzyl.

Substituované benzylétery

Substituované benzylétery zahŕňujú: p-metoxybenzyl, 3,4-dimetoxybenzyl, o-nitrobenzyl, p-nitrobenzyl, p-halogénbenzyl, 2,6-dichlórbenzyl, p-kyanobenzyl, p-fenylbenzyl, 2- a 4-pikolyl, 3-metyl-2-pikolyl N-oxido, difenylmetyl, p,p'-dinitrobenzhydryl, 5-dibenzosuberyl, trifenylmetyl, α -naftylidifenylmetyl, p-metoxyfenyldifenylmetyl, di(p-metoxyfenyl)fenylmetyl, tri(p-metoxyfenyl)metyl, 4-(4'-brómfenylacyloxy)fenyldifenylmetyl, 4,4',4''-tris(4,5-dichlórfthalimidofenyl)metyl, 4,4',4''-tris(levulinoyloxyfenyl)metyl, 4,4',4''-tris(benzoyloxyfenyl)metyl, 3-(imidazol-1-ylmetyl(bis-(4',4''-dimetoxyfenyl)metyl, 1,1-bis(4-metoxyfenyl)-1'-pyrenylmetyl, 9-antryl, 9-(9-fenyl)xantenyl, 9-(9-fenyl-10-oxo)antryl, 1,3-benzoditiolán-2-yl a benzizotiazolyl S,S-dioxido.

Silylétery

Silylétery zahŕňujú trimetylsilyl, trietylsilyl, triizopropylsilyl, dimetylizopropylsilyl, dietylizopropylsilyl, dimetoxyhexylsilyl, terc-butylidimetylsilyl, terc-butylidifenylsilyl, tribenzylsilyl, tri-p-xylylsilyl, tri-



fenylsilyl, difenylmetylsilyl a terc-butylnmetoxyfenylsilyl.

Estery

Esterové chrániace skupiny zahrnujú estery, karbonáty, asistované štiepenie, zmesové estery a sulfoňaty.

Estery

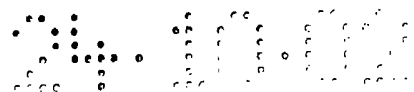
Ako príklady ochranných esterov je možno uviesť formiát, benzoylformiát, acetát, chlóracetát, dichlóracetát, trichlóracetát, trifluóracetát, metoxyacetát, trifenylmetoxyacetát, fenoxycetát, p-chlórphenoxycetát, p-P-fenylacetát, 3-fenylpropionát, 4-oxopentanoát (levulinát), 4,4-(etylénditio)pentanoát, pivaloát, adamantoát, krotonát, 4-metoxykrotonát, benzoát, p-fenylbenzoát a 2,4,6-trimetylbenzoát.

Karbonáty

Karbonáty zahrnujú metyl, 9-fluórenylmetyl, etyl, 2,2,2-trichlóretyl, 2-(trimetylsilyl)etyl, 2-(fenylsulfonyl)etyl, 2-(trifenylfosfónio)etyl, izobutyl, vinyl, allyl, p-nitrofenyl, benzyl, p-metoxybenzyl, 3,4-di-metoxybenzyl, o-nitrobenzyl, p-nitrobenzyl, S-benzyltiokarbonát, 4-etoxy-1-naftyl a metylditiokarbonát.

Asistované štiepenie

Ako príklady chrániacich skupín s asistovaným štiepením je možno uviesť: 2-jódbenzoát, 4-azidobutyrate, 4-nitro-4-metylpentanoát, o-(dibrómmetyl)benzoát, 2-formylbenzénsulfonát, 2-(metyltiometoxy)etylkarbonát, 4-(metyltiometoxymetyl)benzoát a 2-(metyltiometoxymetyl)benzoát.



Rôzne estery

Vedľa vyššie uvedených tried rôzne estery zahŕňujú 2,6-dichlór-4-metylfenoxyacetát, 2,6-dichlór-4-(1,1,3,3-tetrametylbutyl)fenoxycetát, 2,4-bis(1,1-dimetylpropyl)-fenoxycetát, chlórdifenylacetát, izobutyriát, monosukcinát, (E)-2-metyl-2-butenoát (tigloát), o-(metoxykarbonyl)benzoát, p-P-benzoát, α -naftoát, nitrát, alkyl-N,N,N',N'-tetrametylfosfordiamidát, N-fenylkarbamát, borát, dimetylfosfinotioyl a 2,4-dinitrofenylsulfenát.

Sulfonáty

Chrániace sulfáty zahŕňujú: sulfát, metánsulfonát, benzylsulfonát a p-toluénsulfonát.

Ochrana pre 1,2- a 1,3-dioly

Ochrana pre 1,2- a 1,3-dioly zahŕňa: cyklické acetály a ketály, cyklické ortoestery a silylové deriváty.

Cyklické acetály a ketály

Cyklické acetály a ketály zahŕňujú: metylén, etylidén, 1-terc-butyletylidén, 1-fenyletylidén, (4-metoxyfenyl)etylidén, 2,2,2-trichlóretylidén, acetonid (izopropylidén), cyklopentylidén, cyklohexylidén, cykloheptylidén, benzylidén, p-metoxybenzylidén, 2,4-dimetoxybenzylidén, 3,4-dimetoxybenzylidén a 2-nitrobenzylidén.

Cyklické ortoestery

Cyklické ortoestery zahŕňujú: metoxymetylén, etoxymetylén,

dimetoxymetylén, 1-metoxetylidén, 1-etoxyetylidén, 1,2-dimetoxetylidén, α -metoxybenzylidén, 1-(N,N-dimetylamino)etylidénový derivát, α -(N,N-dimetylamino)benzylidénový derivát a 2-oxacyklopentylidén.

Chrániace skupiny karboxyskupiny

Estery

Esterové chrániace skupiny zahŕňujú: estery, substituované metylestery, 2-substituované etylestery, substituované benzylestery, silylestery, aktivované estery, rôzne deriváty a stannylestery.

Substituované metylestery

Substituované metylestery zahŕňujú: 9-fluorenylmetyl, metoxymetyl, metyltiometyl, tetrahydropyranyl, tetrahydrofuryl, metoxyetoxymetyl, 2-(trimetylsilyl)-etoxymetyl, benzyloxymetyl, fenacyl, p-brómfenacyl, α -metylfenacyl, p-metoxyfenacyl, karboxamidometyl a N-ftalimidometyl.

2-Substituované etylestery

2-Substituované etylestery zahŕňujú: 2,2,2-trichlóretyl, 2-halogénetyl, chlóralkyl, 2-(trimetylsilyl)etyl, 2-metyltioetyl, 1,3-ditianyl-2-metyl, 2-(p-nitrofenylsulfenyl)etyl, 2-(p-toluénsulfonfyl)etyl, 2-(2'-pyridyl)etyl, 2-(difenylfosfino)etyl, 1-metyl-1-fenyletyl, terc-butyl, cyklopentyl, cyklohexyl, allyl, 3-butén-1-yl, 4-(trimetylsilyl)-2-butén-1-yl, cinnamyl, α -metylcinnamyl, fenyl, p-(metylmerkpto)fenyl a benzyl.

Substituované benzylestery

Substituované benzylestery zahrnujú: trifenylmetyl, difenylmetyl, bis(o-nitrofenyl)metyl, 9-antrylmetyl, 2-(9,10-dioxo)antrylmetyl, 5-dibenzosuberyl, 1-pyrenylmetyl, 2-(trifluórmetyl)-6-chromylmetyl, 2,4,6-trimetylbenzyl, p-brómbenzyl, o-nitrobenzyl, p-nitrobenzyl, p-metoxybenzyl, 2,6-dimetoxybenzyl, 4-(metylsulfinyl)benzyl, 4-sulfobenzyl, piperonyl a 4-P-benzyl.

Silylové estery

Silylové estery zahrnujú: trimetylsilyl, trietylsilyl, terc-butyldimetylsilyl, i-propyldimetylsilyl, fenyldimetylsilyl a diterc-butyldimetylsilyl.

Rôzne deriváty

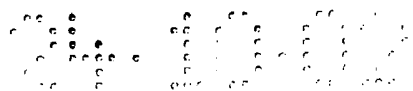
Rôzne deriváty zahrnujú: oxazoly, 2-alkyl-1,3-oxazolíny, 4-alkyl-5-oxo-1,3-oxazolidíny, 5-alkyl-4-oxo-1,3-dioxolány, ortoestery, fenylskupinu a pentaaminokobaltité komplexy.

Stannylestery

Ako príklady stannylesterov je možno uviesť trietylstannyl a tri-n-butylistannyl.

Amidy a hydrazidy

Amidy zahrnujú: N,N-dimetyl, pyrrolidiny, piperidiny, 5,6-dihydrofenantridiny, o-nitroanilidy, N-7-nitroindolyl, N-8-nitro-1,2,3,4-tetrahydrochinolyl a p-P-benzén sulfónamidy. Hydrazidy zahrnujú: N-fenyl, N,N'-diizopropyl a iné



dialkylhydrazidy.

Chránenie aminoskupiny

Karbamáty

Karbamáty zahŕňujú: karbamáty, substituovaný etyl, asistované štiepenie, fotolytické štiepenie, deriváty močovínového typu a rôzne karbamáty

Karbamáty

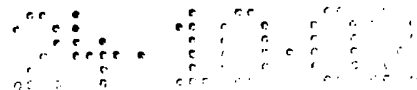
Karbamáty zahŕňujú: metyl a etyl, 9-fluorenylmetyl, 9-(2-sulfo)fluorenylmetyl, 9-(2,7-dibrom)fluorenylmetyl, 2,7-diterc-butyl-[9-(10,10-dioxo-10,10,10-tetrahydrotio-xantyl)]metyl a 4-metoxifenacyl.

Substituovaný etyl

Substituované etylové chrániace skupiny zahŕňujú: 2,2,2-trichlóretyl, 2-trimetylsilyletyl, 2-fenyletyl, 1-(1-adamantyl)-1-metyletyl, 1,1-dimetyl-2-halogénetyl, 1,1-dimetyl-2,2-dibrómetyl, 1,1-dimetyl-2,2,2-trichlóretyl, 1-metyl-1-(4-bifenylyl)etyl, 1-(3,5-diterc-butylfenyl)-1-metyletyl, 2-(2'- a 4'-pyridyl)etyl, 2-(N,N-icyklohexylkarboxamido)etyl, terc-butyl, 1-adamantyl, vinyl, allyl, 1-izopropylallyl, cinnamyl, 4-nitrocinnamyl, chinolyl, N-hydroxypiperidiny, alkylditio, benzyl, p-metoxybenzyl, p-nitrobenzyl, p-brómbenzyl, p-chlórbenzyl, 2,4-dichlórbenzyl, 4-metylsulfinylbenzyl, 9-antrylmetyl a difenylmetyl.

Asistované štiepenie

Ochrana prostredníctvom asistovaného štiepenia zahŕňa:



2-metyltioetyl, 2-metylsulfonyetyl, 2-(p-toluénsulfonyl)etyl, [2-(1,3-ditianyl)]metyl, 4-metyltiofenyl, 2,4-dimetyltiofenyl, 2-fosfónioetyl, 2-trifenylfosfónioizopropyl, 1,1-dimetyl-2-kyanoetyl, m-chlór-p-acyloxybenzyl, p-(dihydroxyboryl)benzyl, 5-benzizoxazolylmetyl a 2-(trifluórmetyl)-6-chromonylmetyl.

Fotolytické štiepenie

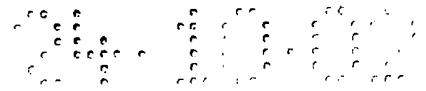
Postupy fotolytického štiepenia využívajú skupín, ako je m-nitrofenyl, 3,5-dimetoxybenzyl, o-nitrobenzyl, 3,4-dimetoxy-6-nitrobenzyl a fenyl(o-nitrofenyl)metyl.

Deriváty močovínového typu

Ako príklady derivátov močovínového typu je možno uviesť: fenotiazinyl-(10)-karbonylový derivát, N'-p-toluén-sulfonylaminokarbonyl a N'-fenylaminotiokarbonyl.

Rôzne karbamáty

Okrem vyššie uvedených rôzne karbamáty zahŕňujú: t-amyl, S-benzyltiokarbamát, p-kyanobenzyl, cyklobutyl, cyklohexyl, cyklopentyl, cyklopropylmetyl, p-decyloxybenzyl, diizopropylmetyl, 2,2-dimetoxykarbonylvinyl, o-(N,N-dimetylkarboxamido)benzyl, 1,1-dimetyl-3-(N,N-dimetykarboxamido)propyl, 1,1-dimetylpropynyl, di(2-pyridyl)metyl, 2-furylmetyl, 2-jódetyl, izobornyl, izobutyl, izonikotinyl, p-(p'-metoxyfenylazo)benzyl, 1-metylcyklobutyl, 1-metylcyklohexyl, 1-metyl-1-cyklopropylmetyl, 1-metyl-(3,5-dimetoxyfenyl)etyl, 1-metyl-1-(p-fenylazofenyl)etyl, 1-metyl-1-fenyleetyl, 1-metyl-1-(4-pyridyl)etyl, fenyl, p-(fenylazo)benzyl, 2,4,6-triterc-butylfenyl, 4-(trimetylamónium)benzyl a 2,4,6-trimetylbenzyl.



Amidy

Amidy

Amidy zahŕnujú: N-formyl, N-acetyl, N-chlóracetyl, N-trichlóracetyl, N-trifluóracetyl, N-fenylacetyl, N-3-fenylpropionyl, N-pikolinoyl, N-3-pyridylkarboxamid, N-benzoylfenylalanylový derivát, N-benzoyl a N-p-fenylbenzoyl.

Asistované štiepenie

Skupiny asistovaného štiepenia zahŕnujú: N-o-nitrofenylacetyl, N-o-nitrofenoxyacetyl, N-acetoacetyl, (N'-ditiobenzoyloxykarbonylamino)acetyl, N-3-(p-hydroxyfenyl)propionyl, N-(3-(o-nitrofenyl)propionyl, N-2-metyl-2-(o-nitrofenoxy)propionyl, N-2-metyl-2-(o-fenylazofenoxi)propionyl, N-4-chlórbutyryl, N-3-metyl-3-nitrobutyryl, N-o-nitrocinnamoyl, N-acetylmationínový derivát, N-o-nitrobenzoyl, N-o-(benzoyloxymetyl)benzoyl a 4,5-difenyl-3-oxazolin-2-ón.

Cyklické imidové deriváty

Cyklické imidové deriváty zahŕnujú: N-ftalimid, N-ditiasukcinoyl, N-2,3-difenylmaleoyl, N-2,5-dimetylpyrrolyl, N-1,1,4,4-tetrametyldisilylazacyklopentánový adukt, 5-substituovaný 1,3-dimetyl-1,3,5-triazacyklohexan-2-ón, 5-substituovaný 1,3-dibenzyl-1,3,5-triazacyklohexan-2-ón a 1-substituovaný 3,5-dinitro-4-pyridonyl.

Špeciálne skupiny pre ochranu -NH

Skupiny pre ochranu -NH zahŕnujú: N-alkyl a N-arylamíny, imínové deriváty, énamínové deriváty a N-heteroatóm deriváty (ako N-kov, N-N, N-P, N-Si a N-S), N-sulfenyl a N-sulfonyl.

N-Alkyl a N-Arylamíny

N-Alkyl a N-arylamíny zahrnujú: N-metyl, N-allyl, N-[2-(trimetylsilyl)etoxy]metyl, N-3-acetoxypropyl, N-(1-izopropyl-4-nitro-2-oxo-3-pyrrolín-3-yl), kvartérne amóniové soli, N-benzyl, N-di(4-metoxyfenyl)metyl, N-5-dibenzosuberyl, N-trifenylmetyl, N-(4-metoxyfenyl)difenylmetyl, N-9-fenylfluorenyl, N-2,7-dichlór-9-fluorenylmetylén, N-ferrocenylmetyl a N-2-pikolylamín N'-oxid.

Imínové deriváty

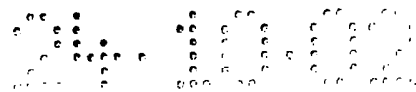
Imínové deriváty zahrnujú: N-1,1-dimetyltiometylén, N-benzylidén, N-p-metoxybenzylidén, N-difenylmetylén, N-[(2-pyridyl)mesityl]metylén, N-(N',N'-dimetylaminometylén), N,N'-izopropylidén, N-p-nitrobenzylidén, N-salicylidén, N-5-chlórsalicylidén, N-(5-chlór-2-hydroxyfenyl)fenylmetylén a N-cyklohexylidén.

Énamínové deriváty

Ako príklad énamínových derivátov možno uviesť N-(5,5-dimetyl-3-oxo-1-cyklohexenyl).

N-Heteroatóm deriváty

Deriváty N-kov zahrnujú: N-boránové deriváty, deriváty N-difenylborínovej kyseliny, N-[fenyl(pentakarbonylchrómium-alebo - volfrám)]karbenyl a N-meď a N-zinok cheláty. Ako príklady derivátov N-N možno uviesť N-nitro, N-nitrózo a N-oxid. Ako príklady derivátov N-P je možno uviesť: N-difenylfosfinyl, N-dimetyltiofosfinyl, N-difenyltiofosfinyl, N-dialkylfosforyl, N-dibenzylfosforyl a N-difenylfosforyl. Ako



Príklady prevedenia vynálezu

P r í k l a d 1

Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny (PD 205293)

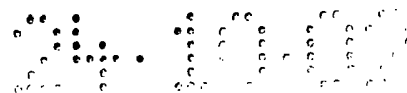
(APK IC_{50} = 14nM: bunky kolón 26, IC_{50} >10 μ M)

Stupeň a: Príprava 5-nitro-2,3,4-trifluórbenzoovej kyseliny

K mierne miešanej koncentrovanej kyseline sírovej (50 ml) sa pridá dymová kyselina dusičná (3,4 ml, 0,076 mol). Ku vzniklej zmesi sa po častiach priamo pridá pevná 2,3,4-trifluórbenzoová kyselina (10,00 g, 0,05565 mol). Vzniklá zmes sa 45 minút mieša, čím sa získa oranžový homogénny roztok, ktorý sa naleje do chladnej vody (400 ml). Výsledná vodná suspenzia sa extrahuje dietyléterom (3 x 200 ml). Spojené extrakty sa vysušia bezvodým síranom horečnatým a skoncentrujú za zníženého tlaku. Získa sa 12,30 g matnej svetlo žltej pevnej látky. Po prekryštalovaní z chloroformu (50 ml) sa získa 9,54 g svetlo žltého mikrokryštalického produktu (výťažok 78 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 14,29 (brs, 1H), 8,43 - 8,38 (m, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO): δ 162,41, 154,24 (dd, $J_{\text{C-F}}$ = 270,1, 10,7 Hz), 148,35 (dd, $J_{\text{C-F}}$ = 267,0, 9,2 Hz), 141,23 (dt, $J_{\text{C-F}}$ = 253,4 Hz), 133,95, 123,30 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,2 Hz), 11,92 (dd, $J_{\text{C-F}}$ = 18,2, 3,8 Hz). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -120,50 až -120,63 (m), -131,133 až -131,27 (m), -153,63 až -153,74 (m)

Stupeň b: Príprava 4-amino-2,3-difluór-5-nitrobenzoovej kyseliny

Pevná 5-nitro-2,3,4-trifluórbenzoová kyselina (0,75 g, 0,00339 mol) sa rozpustí v koncentrovanom hydroxidu amónnom



(25 ml). Ihneď sa získa žltý roztok, zo ktorého sa počas 5 minút vylúči zrazenina. Vzniklá zmes sa koncentrovanou vodnou kyselinou chlorovodíkovou okyslí na pH 0, a rýchlo začne vznikať žltá zrazenina. Výsledná zmes sa zohreje k varu a za horúca prefiltruje. Žltá pevná látka sa premyje 10% vodnou kyselinou chlorovodíkovou a odsaje do sucha. Získa sa 0,47 g žltého prášku (výťažok 64 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 13,32 (s, 1H), 8,36 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,98 (s, 2H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -128,69 až -128,76 (m), -153,60 (d)

Stupeň c: Príprava metyl-4-amino-2,3-difluór-5-nitrobenzoátu

Plynný chlorovodík sa rozpúšťa v bezvodnom metanole (30 ml), dokiaľ sa roztok nezohreje. K tomuto roztoku sa pridá pevná 4-amino-2,3-difluór-5-nitrobenzoová kyselina (0,47 g, 0,00215 mmol). Vzniklá zmes sa za intenzívneho miešania pod atmosférou dusíka 23 hodín zohrieva k spätnému toku, potom nechá schladnúť na laboratórnom stole a vylúčená žltá zrazenina sa zhromaždí filtráciou a odsaje do sucha. Získa sa 0,35 g žltých mikrovlákien (výťažok 70 %) o teplote topenia 183,5 až 184°C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 8,36 (dd, 1H, $J = 7,3, 1,7$ Hz), 8,06 (s, 2H), 3,78 (s, 3H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -128,85 až -128,92 (m), -153,29 (d). MS (APCI-) 231 (M-1, 100). IR (KBr): 3433, 3322, 1700, 1650, 1549, 1343, 1285 cm^{-1} . Analýza pre $\text{C}_8\text{H}_6\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_4$:
vypočítané/nájdené: C 41,39/41,40, H 2,61/2,50, N 12,07/11,98, F 16,37/16,58

Stupeň d: Príprava metyl-4-amino-3-fluór-2-(2-metylfenyl-
-amino)-5-nitrobenzoátu

Pevný metyl-4-amino-2,3-difluór-5-nitrobenzoát (0,087 g, $3,7 \times 10^{-4}$ mol) sa rozpustí v o-toluidínu (3 ml, 0,028 mol). Reakčná zmes sa 35 minút mieša pri 200°C pod atmosférou dusíka

a potom rozdelí medzi dietyléter (150 ml) a 10% vodnú kyselinu chlorovodíkovú (150 ml). Éterová fáza sa vysuší bezvodým síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Surový pevný produkt sa rozpustí v 5 ml dichlórmetánu a dichlórmetán sa prefiltruje cez vrstvu silikagélu pre okamihovú chromatografiu. Elúcia sa prevádza dichlórmetánom. Získa sa 0,0953 g žltej pevnej látky (výťažok 81 %) o teplote topenia 164 až 168°C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 9,20 (s, 1H), 8,52 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz), 7,57 (s, 2H), 7,19 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 7,12 - 7,08 (m, 1H), 7,02 - 6,98 (m, 1H), 6,95 - 6,91 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,21 (s, 3H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -141,34 (s). MS (APCI+) 320 (M+1, 100). (APCI-) 318 (M-1, 100). KR (KBr) 3467, 3346, 1690, 1305 cm^{-1} . Analýza pre $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{O}_4 \cdot 0,21 \text{H}_2\text{O}$ vypočítané/nájdene: C 55,77/55,97, H 4,50/4,55, N 13,01/12,61, F 5,88/5,95

Stupeň e: Príprava metyl-4,5-diamino-3-fluór-2-(2-metyl-fenylamino)benzoátu

Zmes obsahujúca metyl-4-amino-3-fluór-2-(2-metylfenylamino)-5-nitrobenzoát (2,52 g, 0,00789 mol), tetrahydrofurán (50 ml), metanol (50 ml) a premytý Raneyov nikel (0,5 g) sa v trepačke po dobu 4 hodín a 48 minút pri teplote 30,2°C podrobí pôsobeniu tlaku plynného vodíka 334 kPa. Reakčná zmes sa potom prefiltruje a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa 2,20 g lososovo sfarbenej amorfnej pevnej látky (výťažok 98 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 7,84 (s, 1H), 7,04 (d, 1H, $J = 7,1$ Hz), 6,98 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz), 6,95 - 6,91 (m, 1H), 6,68 - 6,64 (m, 1H), 6,40 - 6,36 (m, 1H), 5,39 (s, 2H), 4,73 (s, 2H), 3,66 (s, 3H), 2,21 (s, 3H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -139,66

Stupeň f: Príprava metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylátu

Miešaný roztok obsahujúci metyl-4,5-diamino-3-fluór-2-(2-metylfenylamino)benzoát (1,78 g, 0,00615 mol) v kyseline mravčej (Aldrich, 95 - 97%, 100 ml, 2,5 mmol) sa 3 hodiny zohrieva k spätnému toku a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Hnedý pevný surový produkt sa tritureuje s chloroformom (40 ml) a potom zhromaždí filtráciou. Oddelená pevná látka sa odsaje do sucha. Získa sa 1,09 g svetlo levandulovo sfarbeného prášku. Filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku a surový produkt sa tritureuje s 10 ml zmesi chloroformu a dichlórmetánu. Získaná pevná látka sa zhromaždí filtráciou, premyje dichlórmetánom a odsaje do sucha. Získa sa ďalšia dávka 0,55 g svetlo levandulové sfarbeného prášku (celkový výťažok 1,64 g) (výťažok 87 %) o teplote topenia 259 až 262°C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 8,42 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,93 (brs, 1H), 7,12 (d, 1H, $J = 7,0$ Hz), 6,99 - 6,95 (m, 1H), 6,75 - 6,71 (m, 1H), 6,48 - 6,44 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -132,84 (s). MS (APCI+) 300 (M+1, 100). (APCI-) 298 (M-1, 100). IR (KBr): 3322, 1689, 1437, 1326, 1218 cm^{-1} . Analýza pre $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{O}_2 \cdot 0,32\text{H}_2\text{O}$ vypočítané/nájdené: C 62,99/63,01, H 4,84/4,61, N 13,77/13,70

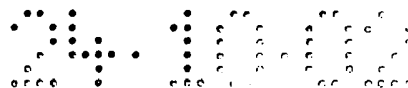
Stupeň g: Príprava metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylátu

Miešaná zmes obsahujúca metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylát (0,2492 g, $8,326 \times 10^{-4}$ ml), benzyltrimetylamóniumdichlórjodínát (Aldrich, 95 %, 0,3934 g, 0,00113 mol) a chlorid zinočnatý (0,1899 g, 0,00139 mol) v ľadovej kyseline octovej (20 ml) sa 15 minút zohrieva ku spätnému toku. Výsledná suspenzia sa za horúca prefiltruje a oddelená zrazenina sa cez noc vysuší vo vákuovej sušiarňi

(90°C, asi 1,33 kPa). Získa sa 0,2392 g zeleného prášku (výťažok 68 %) o teplote topenia 219 až 220°C (za rozkladu). ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 8,71 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,85 (brs, 1H), 7,43 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz), 7,24 (dd, 1H, $J = 8,5, 2,2$ Hz), 6,24 (dd, 1H, $J = 8,5, 5,4$ Hz), 3,76 (s, 3H), 2,22 (s, 3H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -132,86 (s). MS (APCI+) 426 (M+1, 48), 169 (100). (APCI-) 424 (M-1), 100), IR (KBr): 1704, 1508, 1227 cm^{-1}

Stupeň h: Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny

K miešanému roztoku obsahujúcemu metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylát (0,2035 g, $4,786 \times 10^{-4}$ mol) v tetrahydrofuráne (20 ml) sa pridá pevný trimetylsilanolát draselný (0,315 g, 0,00246 mol). Reakčná zmes sa 16 hodín pod atmosférou argónu pri teplote okolia, pridá sa k nej ďalšia dávka 0,082 g ($6,39 \times 10^{-4}$ mol) trimetylsilanolátu draselného a v miešaní sa 30 minút pokračuje. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku na tretinový objem a zmieša s dietyléterom (50 ml). Špinavo biela zrazenina sa oddelí vákuovou filtráciou, čím sa získa hygroskopická pevná látka. Táto látka sa za vlhka rozpustí v roztoku etylacetátu a metanolu (4 : 1 obj., 500 ml). Výsledný roztok sa premyje 0,84M vodnou kyselinou citrónovou (50 ml), vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Žltý kvapalný zvyšok sa rozpustí v čerstvej zmesi etylacetátu a metanolu. Vzniklý roztok sa premyje vodným roztokom chloridu sodného, vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa rozpustí v chloroforme a chloroformový roztok sa skoncentruje. Získa sa 1,55 g viskóznež žltej látky, ktorá obsahuje prevážne kyselinu citrónovú (MS (APCI-) 191 (M-1), 100). Tento zvyšok sa rozpustí vo vode (50 ml) a nerozpustná látka sa extrahuje do zmesi etylacetátu a dietyléteru (1 : 1



obj., 250 ml). Po oddelení vodná fáza zostane silne kyslá (pH 0). Organická fáza sa premyje čerstvou dávkou vody (150 ml). Po oddelení je vodná fáza iba slabokyslá (pH 4,5). Organická fáza sa vysuší síranom horečnatým, skoncentruje za zníženého tlaku a zbytok sa predestiluje s chloroformom. Získa sa zlatohnedá polotuhá látka. Tento produkt sa tritureje s hexánmi. Po vákuovej filtrácii a odsatí do sucha sa získa 0,0839 g zlatohnedej pevnej látky. Dávka tohto produktu (0,050 g) sa prekryštaluje z variaceho sa etanolu (1 ml). Po ochladení a miernom škrabaní sa získa špinavo biela pevná látka. Tento produkt sa izoluje vákuovou filtráciou a vysuší za vysokého vákua (23°C). Získa sa 0,018 g špinavo bieleho prášku (výťažok 9 %) o teplote topenia 247 až 248°C (za rozkladu). $^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, DMSO): δ $^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, DMSO): δ -132,87 (s). MS (APCI+) 412 (M+1, 100), (APCI-) 410 (M-1, 100). IR (KBr) 3322, 1689, 1437, 1326, 1218 cm^{-1} . Analýza pre $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{FIN}_3\text{O}_2$. 0,61 $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$.0,59 H_2O (91,4 % rodičovský) vypočítané/nájdené: C 43,30/43,30, H 3,55/3,34, N 9,34/9,15

P r í k l a d 2

Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny (PD 254552) (APK $\text{IC}_{50} < 10\text{nM}$ (n = 2), bunky kolón 26, 1 hodina predbežného ošetrení, $\text{IC}_{50} = 20\text{nM}$)

K miešanej suspenzii obsahujúcej 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovú kyselinu (0,844 g, $2,05 \times 10^{-3}$ mol) v etylacetáte (4 ml) sa pridá roztok obsahujúci pentafluórfenol (0,375 g, $2,04 \times 10^{-3}$ mol) v N,N-dimetylformamidu (10 ml). Ku vzniklej zmesi sa pridá pevný dicyklohexylkarbodiimid (0,415 g, $1,11 \times 10^{-3}$ mol). Reakčná

zmes sa 22 hodín mieša a potom podrobí vákuovej filtrácii, ktorou sa odstráni vylúčená zrazenina. Filtrát sa zriedi etylacetátom (400 ml) a etylacetátový roztok sa premyje vodou (3 x 400 ml), vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa 1,7 g žltej peny.

Tento surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéle za použitia elučného gradientu chloroform až 0,5% metanol v chloroforme. Získa sa 0,69 g žltého amorfneho produktu (výťažok 60 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 8,54 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,49 (d, 1H, J 1,7 Hz), 7,36 (dd, 1H, J = 8,2, 1,7 Hz), 6,57 (dd, 1H, J = 8,4, 6,5 Hz), 2,31 (s, 3H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -132,02 (s), -152,35 (d, J = 18,3 Hz), -157,26 (t, J = 21,4 Hz), -161,96 (dd, J = 21,3, 18,3 Hz). MS (APCI+) 578 (M+1, 57, 394 (100), (APCI-) 576 (M-1, 44), 409 (100), 393 (95), 392 (82), 378 (55), 183 (97), 165 (68), 127 (53). IR (KBr) 1731 cm^{-1} (streč C=O)

Stupeň b: Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny

K miešanému roztoku obsahujúcemu pentafluórfenylester 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny (0,63 g, $1,09 \times 10^{-3}$ mol) v bezvodnom tetrahydrofuráne (5 ml) sa pridá pevný hydrochlorid cyklopropylmetoxylamínu (0,14 g, $1,13 \times 10^{-3}$ mol) a diizopropyletylamín (0,6 ml, $3,4 \times 10^{-3}$ mol). Reakčná zmes sa 1 týždeň mieša, načo sa z nej odstráni rozpúšťadlo. Odparok sa zmieša 10% vodnou kyselinou chlorovodíkovou (200 ml) a výsledná zmes sa extrahuje dietyléterom (200 ml). Vznikne dvojfázová suspenzia, z ktorej sa vákuovou filtráciou oddelí zrazenina. Surový produkt sa prekryštaluje z absolútneho etanolu, čím sa získa 0,18 g zelenožltého prášku (výťažok 35 %) o teplote

topenia 168 až 172°C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 11,48 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,50 (brs, 1H), 7,456 (s, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,07 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,03 - 5,97 (m, 1H), 3,38 (d, 2H, $J = 6,5$ Hz), 2,04 (s, 3H), 0,85 - 0,75 (m, 1H), 0,30 - 0,22 (m, 2H), 0,00 (s, 2H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -133,23 (s). MS (APCI+) 481 (M+1, 77), 409 (100), (APCI-) 480 (M, 22), 407 (100). IR (KBr): 1659, 1632, 1493 cm^{-1} . Analýza pre $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{FIN}_4\text{O}_2 \cdot 0,5\text{HCl}$ (96,3% rodičovský) vypočítané/nájdené: C 45,78/45,74, H 3,74/3,84, N 11,24/10,88

P r í k l a d 3

Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava O-(tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny

Roztok obsahujúci 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovú kyselinu, O-(tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)hydroxylamín (1,25 ekv.), benzotriazol-1-yloxytrispyrrolidínofosfóniumhexafluórfosfát (1,25 ekv.) a diizopropyletylamín (3 ekv.) vo zmesi tetrahydrofuránu a dichlórmetánu v pomere 1 : 1 (objemové) sa 30 minút mieša a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zbytok sa prečistí okamihovou chromatografiou za použitia dichlórmetánu ako elučného činidla. Požadovaný produkt sa, pokiaľ je to nutné, prekryštaluje z vhodného rozpúšťadla podobného metanolu.

Stupeň b: Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny

O-(Tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxyamid 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny sa rozpustí vo vhodnom rozpúšťadle podobnom metanolu alebo etanolu, ktoré je nasýtené chlorovodíkom. Po dosiahnutí homogenity sa roztok skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa požadovaný produkt. Pokiaľ tento produkt vyžaduje ďalšie prečistenie, je možno ho triturovať vo vhodnom rozpúšťadle podobného chloroformu alebo dichlórmetánu.

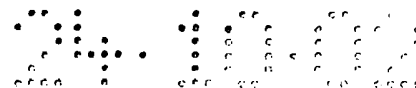
P r í k l a d 4

Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava hydrochloridu O-cyklopropylmetyl
Hydroxylamínu

stupeň i: Príprava 2-cyklopropylmetoxyizoindol-1,3-diónu

K miešanému roztoku/suspenzii obsahujúceho N-hydroxyftalimid (Aldrich, 57,15 g, 339,8 mmol), cyklopropánmetanol (Aldrich, 25,10 g, 341,1 mmol) a trifenylfosfín (DEAD, Aldrich, 91,0 g, 344 mmol) v 1,00 litri tetrahydrofuránu pod atmosférou dusíka v kúpeli z ľadu a vody chladenej na 6°C (vnútorná teplota) sa počas 20 minút kvapkajúcim lievikom prekvapká dietylazodikarboxylát (Aldrich, 56 ml, 356 mmol). Teplota reakčnej zmesi sa počas prídavku udržiava pod 20°C. Po dokončení prídavku DEAD sa ľadový kúpeľ odstaví a reakčná zmes sa 15 hodín mieša a potom skoncentruje za zníženého tlaku na pastovitý zvyšok. Ku zvyšku sa pridá chloroform (asi 300 ml) a výsledná zmes sa mieša vírivým pohybom, čím sa uvoľní všetka pevná látka. Nerozpustné látky sa odstránia vákuovou filtráciou. Filtrát sa prefiltruje rovnakým spôsobom, čím sa



odstráni vylúčená biela zrazenina. Číry filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku, čím sa získa číry olejovitý zbytok, ktorý sa podrobí flash filtrácii cez vrstvu silikagélu (100% chloroform), čím sa získajú filtráty obsahujúce neoddelený produkt. Tieto filtráty sa spoja a skoncentrujú za zníženého tlaku. Získa sa 127,4 g číreho oleja. Tento olej sa rozpustí v absolútnom etanole (400 ml) a etanolický roztok sa na 2 hodiny zmrazí. Potom sa vákuovou filtráciou zhromaždí biela kryštalická pevná látka. Tento produkt sa vysuší vo vákuovej sušiarňi (60°C), čím sa získa 42,66 g (58 %) požadovanej látky o teplote topenia 71 až 77°C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, posun signálu k δ 6,96): δ 7,54 - 7,43 (m, 4H), 3,74 (d, 2H, J = 7,6 Hz), 1,02 - 0,95 (m, 1H), 0,34 - 0,30 (m, 1H), 0,04 - 0,00 (m, 1H)

stupeň ii: Príprava hydrochloridu O-cyklopropylmetyl
hydroxylamínu

K miešanému roztoku obsahujúcemu 2-cyklopropylizoindol-1,3-dión (42,64 g, 196,3 mmol) vo 150 ml dichlórmetánu sa za podmienok okolia opatrne pridá metylhydrazín (Aldrich, 10,7 ml, 197 mmol). Takmer ihneď sa začne tvoriť biela zrazenina. Po 15 minútach intenzívneho miešania sa suspenzia podrobí vákuovej filtrácii. Filtrát sa prefiltruje rovnakým spôsobom, čím sa odstráni ďalšia zrazenina. Výsledný číry filtrát sa opatrne skoncentruje (prchavý produkt) za zníženého tlaku. Zo vzniklej zmesi čírej kvapaliny a pevnej látky sa pevná látka odstráni tak, že sa pripraví éterový (200 ml) roztok produktu, ktorý sa podrobí vákuovej filtrácii. Filtrát sa okyslí plynným chlorovodíkom, čo vedie k okamžitej tvorbe bielej zrazeniny. Táto pevná látka sa zhromaždí vákuovou filtráciou a vysuší za vákua (55°C). Získa sa 18,7 g (77 %) produktu vo forme bieleho prášku o teplote topenia 165 až 168°C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ 10,77 (brs, 2H), 3,57 (d, 2H,

$J = 7,3 \text{ Hz}$), $0,84 - 0,74 \text{ (m, 1H)}$, $0,31 - 0,25 \text{ (m, 2H)}$, $0,04 - 0,00 \text{ (m, 1H)}$. $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO): δ 75,39, 5,52, 0,00

Stupeň b: Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny

Roztok obsahujúci 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovú kyselinu, hydrochlorid o-cyklopropylmethylhydroxylamínu (1,25 ekv.), benzotriazol-1-yloxytris-pyrrolidínofosfóniumhexafluórfosfát (1,25 ekv.) a diizopropyletylamín (3 ekv.) vo zmesi tetrahydrofuránu a dichlórmetánu v pomere 1 : 1 sa 30 minút mieša a potom skonzentruje za zníženého tlaku. Zbytok sa vyberie do dietyléteru. Éterová fáza sa premyje zriedenou vodnou kyselinou chlorovodíkovou, nasýteným vodným hydrogenuhličitanom sodným a vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a skonzentruje za zníženého tlaku. Získa sa požadovaný produkt, ktorý je v prípade potreby ďalšieho prečistenia možno prekryštalovať z vhodného rozpúšťadla.

P r í k l a d 5

Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava 5-nitro-2,3,4-trifluórbenzoovej kyseliny

Postupuje sa rovnakým spôsobom ako v príklade 1 stupni a.

Stupeň b: Príprava 2,3-difluór-4-hydroxy-5-nitrobenzoovej kyseliny

Pevná 5-nitro-2,3,4-trifluórbenzoová kyselina (1,00 g, 0,00452 mol) sa rozpustí v 10% (hmotn.) roztoku hydroxidu sodného. Vzniklá zmes má temne oranžovú farbu. Po niekoľkých minútach státia za podmienok okolia sa zmes rozloží tak, že sa k nej až do dosiahnutia silne kyslého pH (pH 0) pridáva koncentrovaná vodná kyselina chlorovodíková. Vylúčená biela zrazenina sa izoluje vákuovou filtráciou a odsaje do sucha. Získa sa 0,40 g špinavo bielej pevnej látky. Táto látka sa prekryštaluje z chloroformu (20 ml). Získa sa 0,22 g špinavo bieleho kryštalického prášku (výťažok 22 %). MS (APCI-) 218 (M-1, 100).

Stupeň c: Príprava metyl-2,3-difluór-4-hydroxy-5-nitrobenzoátu

Bezvodý plynný chlorovodík sa rozpúšťa v metanole (50 ml) dokiaľ nevznikne teplý roztok. V metanolickom chlorovodíku sa rozpustí 2,3-difluór-4-hydroxy-5-nitrobenzoová kyselina (0,22 g, 0,00100 mol). Reakčná zmes sa 16 hodín pod atmosférou dusíka zahrieva k spätnému toku a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Pevný biely zvyšok sa vysuší za vysokého vákua. Získa sa 0,213 g bieleho prášku (výťažok 91 %) o teplote topenia 108 až 109,5°C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 8,25 (dd, 1H, $J = 7,7, 2,2$ Hz), 3,83 (s, 3H), (CDCl₃): 10,83 (s, 1H), 8,66 (dd, 1H, $J = 7,0, 2,2$ Hz), 3,98 (s, 3H). ^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ -127,85 (s), -154,32 (d, $J = 19,8$ Hz), (CDCl₃): -118,31 až -118,37 (m), -152,38 (d, $J = 18,3$ Hz). MS (APCI-) 232 (M-1, 100). IR (KBr) 3264, 1731, 1640, 1546, 1307, 1286, 1160 cm⁻¹

Stupeň d: Príprava 1-adamantyl-4-karboxymetyl-2,3-difluór-6-nitrofenylkarbonátu

K roztoku obsahujúcemu 1-adamantylfluórformiát (2,0M) a

pyridín (2,0M) v tetrahydrofuráne sa pri teplote okolia pridá miešaný roztok obsahujúci metyl-2,3-difluór-4-hydroxy-5-nitrobenzoát (0,96 ekv., 0,384M) v bezvodnom tetrahydrofuráne. Reakčná zmes sa 6 hodín mieša, načo sa z nej za zníženého tlaku odstráni rozpúšťadlo. Zvyšok sa rozpustí v dichlórmetáne. Organický roztok sa premyje zriedenou vodnou kyselinou chlorovodíkovou, zriedeným vodným uhličitanom sodným a vodou, vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa požadovaný produkt.

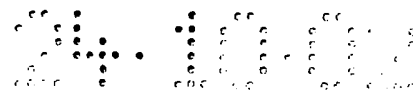
Stupeň e: Príprava 1-adamantyl-4-karboxymetyl-2-fluór-3-(2-metylfenylamino)-6-nitrofenylkarbonátu

1-Adamantyl-4-karboxymetyl-2,3-difluór-6-nitrofenylkarbonát sa rozpustí v nadbytku orto-toluidínu. Reakčná zmes sa 6 hodín mieša pri 200°C, nechá schladnúť a rozpustí v dietyléteri. Organická fáza sa premyje zriedenou vodnou kyselinou chlorovodíkovou, nasýteným vodným hydrogenuhličitanom sodným a vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa požadovaný produkt, ktorý je v prípade nutnosti možno ďalej prečistiť okamihovou chromatografiou.

Stupeň f: Príprava metyl-3-fluór-4-hydroxy-2-(2-metylfenylamino)-5-nitrobenzoátu

1-Adamantyl-4-karboxymetyl-2-fluór-3-(2-metylfenylamino)-6-nitrofenylkarbonát sa pri izbovej teplote rozpustí v prebytku trifluóroctovej kyseliny. Vzniklá zmes sa 20 minút mieša, načo sa z nej za zníženého tlaku odstráni trifluóroctová kyselina. Zvyšok sa umiestni do vývevy, aby sa odstránil adamantán-1-ol. Získa sa požadovaný produkt.

Stupeň g: Príprava metyl-5-amino-3-fluór-4-hydroxy-2-(2-



metylfenylamino)benzoátu

Metyl-3-fluór-4-hydroxy-2-(2-metylfenylamino)-5-nitrobenzoát sa nechá reagovať spôsobom popísaným v stupni e príkladu 1.

Stupeň h: Príprava metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylátu

5-Amino-3-fluór-4-hydroxy-2-(2-metylfenylamino)benzoát sa nechá reagovať spôsobom popísaným v stupni f príkladu 1. Produkt je v prípade potreby ďalšieho prečistenia možno prekryštalovať s vhodným rozpúšťadlom podobným chloroformu alebo etanolu.

Stupeň i: Príprava metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylátu

Miešaná zmes obsahujúca metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylát (0,042M) benzyltrimetylamóniumdichlórjodínát (Aldrich, 95%, 0,057M, 1,36 ekv.) a chlorid zinočnatý (0,070M, 1,67 ekv.) v ľadovej kyseline octovej sa 15 minút zohrieva k spätnému toku a potom skonzentruje za zníženého tlaku. Zbytok sa vyberie do dietyléteru. Éterový roztok sa premyje zriedenou vodnou kyselinou chlorovodíkovou, vodou a vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a skonzentruje za zníženého tlaku. Získa sa požadovaný produkt, ktorý je v prípade nutnosti ďalšieho prečistenia možno prekryštalovať z vhodného rozpúšťadla podobného etanolu.

Stupeň j: Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny

K miešanému roztoku obsahujúcemu metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylát (0,024M) v tetrahydrofuráne sa pridá pevný trimetylsilanolát draselný (5,14 ekv.). Reakčná zmes sa mieša 16 hodín pri izbovej teplote pod atmosférou argónu, načo sa k nej pridá ďalší ekvivalent trimetylsilanolátu draselného. Reakčná zmes sa 30 minút mieša a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa vyberie do zmesi etylacetátu a dietyléteru v pomere 1 : 1 obj. Organická fáza sa premyje zriedenou vodnou kyselinou chlorovodíkovou, vodou a vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Zbytok sa odoženie s chloroformom. Vzniklý surový produkt sa prekryštaluje z vhodného rozpúšťadla podobného etanolu, čím sa získa prečistený požadovaný produkt.

P r í k l a d 6

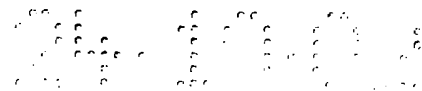
Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava O-tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni a príkladu 2.

Stupeň b: Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny

O-Tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxyamid 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny sa



nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 2.

P r í k l a d 7

Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metyl-fenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzooxazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 3.

P r í k l a d 8

Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava 5-nitro-2,3,4-trifluórbenzoovej kyseliny

Postupuje sa rovnako ako v stupni a príkladu 1.

Stupeň b: Príprava 2,3-difluór-4-hydroxy-5-nitrobenzoovej kyseliny

Postupuje sa rovnako ako v stupni b príkladu 4.

Stupeň c: Príprava metyl-2,3-difluór-4-hydroxy-5-nitrobenzoátu

Postupuje sa rovnako ako v stupni c príkladu 4.

Stupeň d: Príprava metylesteru 4-dimetyltiokarbamoyloxy-2,3-difluór-5-nitrobenzoovej kyseliny

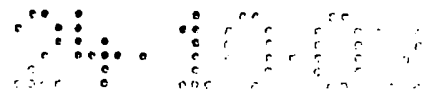
Roztok 2,3-difluór-4-hydroxy-5-nitrobenzoátu v N,N-dimetylformamidu sa zmieša s 1 molárnym ekvivalentom uhličitanu cézneho. Vzniklá zmes sa 30 minút zohrieva na 85°C. K miešanej zmesi sa potom rýchlo prekvapká roztok obsahujúci mierny nadbytok N,N-dimetyltiokarbamoylchloridu v N,N-dimetylformamidu. Reakčná zmes sa 1 hodinu mieša pri izbovej teplote alebo ju možno 1 hodinu zohrievať v parnom kúpeli. Potom sa zmes naleje do vody a vodná zmes sa extrahuje etylacetátom. Organická fáza sa premyje 5% vodným hydroxidom sodným, vodou a vodným chloridom sodným, vysuší činidlom podobným síranu horečnatému alebo síranu sodnému a rozpúšťadlo sa odstráni za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí za použitia obvyklých postupov, ako je chromatografia alebo kryštalizácia z vhodného rozpúšťadla.

Stupeň e: Príprava metylesteru 4-dimetyltiokarbamoyloxy-3-fluór-5-nitro-2-o-toly laminobenzoovej kyseliny

Metylester 4-dimetyltiokarbamoyloxy-2,3-difluór-5-nitrobenzoovej kyseliny sa rozpustí v nadbytku o-toluidínu. Zmes sa za miešania 1 hodinu zohrieva na 200°C a potom naleje do 5% vodnej kyseliny chlorovodíkovej. Vodná zmes sa extrahuje dietyléterom. Organická fáza sa premyje vodou a vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí za použitia zvyčajných postupov, ako chromatografia alebo kryštalizácia z vhodného rozpúšťadla.

Stupeň f: Príprava metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylátu

Metyl-5-amino-3-fluór-4-merkaptó-2-(2-metylfenylamino)benzoát sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 4.



Stupeň g: Príprava metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylátu

Metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylát sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni i príkladu 4.

Stupeň h: Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny

Metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylát sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni j príkladu 4.

P r í k l a d 9

Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava O-(tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni a príkladu 2.

Stupeň b: Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny

O-(Tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxamid 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny sa

nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 2.

P r í k l a d 1 0

Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotiazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b v príkladu 3.

P r í k l a d 1 1

Príprava 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava 8-fluór-7-(2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny

Metyl-4,5-diamino-3-fluór-2-(2-metylfenylamino)benzoát (zo stupňa e príkladu 1) sa rozpustí vo zmesi 2,0 M kyseliny octovej, 4,0 M octanu sodného a metanolu v objemovom pomere 2 : 1 : 1,2. Výsledná suspenzia sa zahrieva na 65°C (alebo tak dlho, dokiaľ sa nestane homogénna). Výsledný číry roztok sa naleje do 0,078 M vodného roztoku glyoxalbisulfitu sodného (Aldrich, monohydrát, 1,05 ekv.), ktorý je zahriaty na 70°C. Reakčná zmes sa 1 hodinu mierne mieša pri 55 až 75°C a potom v kúpeli z ľadu a vody ochladí na 12°C. K chladnému roztoku sa pridá hydroxid sodný (pelety rozmliaždené na prášok) (27 ekv.). Reakčná zmes sa mierne zahrieva na 30°C a 45 minút mieša. Teplota sa zvýši za 15 minút zvýši na 70°C. Reakčná zmes sa nechá schladnúť a zmieša s etylacetátom. Dvojfázová

zmes sa okyslí koncentrovanou vodnou kyselinou chlorovodíkovou tak, aby pH vodnej fázy dosiahlo hodnoty 0. Organická fáza sa oddelí, vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Požadovaný produkt je podľa potreby možno triturovať s vhodným rozpúšťadlom, ktoré je podobné dichlórmetánu alebo prekryštalovať z rozpúšťadla podobného dichlórmetánu.

Stupeň b: Príprava 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny

8-Fluór-7-(2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni i v príkladu 4.

P r í k l a d 1 2

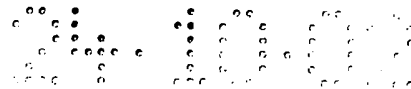
Príprava hydroxyamidu 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)-chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava O-(tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxamidu 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)-chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny

8-Fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-chinoxalín-6-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni a príkladu 2.

Stupeň b: Príprava hydroxyamidu 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)-chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny

O-(Tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxamid 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 2.

**P r í k l a d 1 3**

Príprava cyklopropylmetoxyamidu 8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny

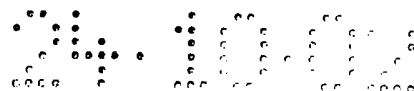
8-Fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 3.

P r í k l a d 1 4

Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]-tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylátu

K miešanému roztoku obsahujúcemu metyl-4,5-diamino-3-fluór-2-(2-metylfenylamino)benzoát (zo stupňa e príkladu 1) a diizopropyletylamín (2 ekv.) vo vhodnom rozpúšťadle podobnom dietyléteru alebo toluénu sa pridá činidlo podobné N-tioanilínu alebo tionylchloridu (1,35 ekv.). Reakčná zmes sa 1 hodinu zahrieva k spätnému toku a potom rozloží zriedenou vodnou kyselinou chlorovodíkovou. Organická fáza sa premyje nasýteným vodným hydrogenuhličitanom sodným a vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Získaný požadovaný produkt je možno v prípade potreby ďalšieho prečistenia prekryštalovať z vhodného rozpúšťadla podobného chloroformu alebo etanolu alebo podrobiť chromatografii.



Alternatívny spôsob:

Metyl-4,5-diamino-3-fluór-2-(2-metylfenylamino)benzoát sa pridá k miešanému roztoku tionylchloridu (6 ekv.) v N,N-dimetylformamide. Výsledná zmes sa postupne zohreje na 75 až 80°C, po 5 hodinách ochladí na 10°C a pridá sa k nej voda. Vodná zmes sa extrahuje rozpúšťadlom podobným dietyléteru alebo dichlórmetánu. Organický extrakt sa vysuší síranom horečnatým a skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa požadovaný produkt, ktorý je v prípade potreby ďalšieho prečistenia prekryštalovať z vhodného rozpúšťadla podobného chloroformu alebo etanolu alebo podrobiť chromatografii.

Stupeň b: Príprava metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylátu

Metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylát sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni i príkladu 4.

Stupeň c: Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo-[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny

Metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo-[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylát sa nechá reagovať spôsobom popísaným v stupni j príkladu 4.

P r í k l a d 1 5

Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava O-(tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxamidu 7-

fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo-
[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni a príkladu 2.

Stupeň b: Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny

O-(Tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxamid 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 2.

P r í k l a d 1 6

Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 3.

P r í k l a d 1 7

Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]-oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava 2-oxidu metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylátu

Vid' Takakis, I. M., Hadjimihalakis, P. m., J. Heterocyclic Chem., 27, 177 (1990).

Zmes obsahujúca 4-amino-3-fluór-2-(2-metylfenylamino)-5-nitrobenzoát (zo stupňa d príkladu 1) a jódizobenzéndiacetát (1,76 ekv.) v benzéne sa 5 hodín mieša pri teplote okolia a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zbytok sa prečistí stípcovou chromatografiou, čím sa získa požadovaný produkt.

Alternatívny spôsob:

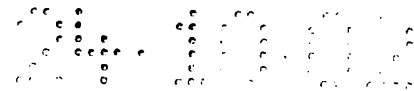
Roztok obsahujúci metyl-4-amino-3-fluór-2-(2-metylfenylamino)-5-nitrobenzoát (0,86M) v tetrahydrofuráne sa diazotuje a diazóniová soľ sa *in situ* nechá reagovať s azidom sodným (vid' Smith, P. A. S., Boyer J. H., Org. Synth., 31, 14 (1951) a odkazy 4 a 8 uvedené v tomto texte). Termolýzou vzniklého medziproduktu v etylénglykole pri 110 až 120°C sa počas 1 hodiny získa požadovaný produkt.

Stupeň b: Príprava metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylátu

Roztok obsahujúci 2-oxid metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylátu a azid sodný (1,38 ekv.) v etylénglykole sa 30 minút zohrieva na 140 až 150°C. Po stípcovej chromatografii sa získa požadovaný produkt.

Stupeň c: Príprava metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylát

7-Fluór-6-(2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylát sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni i príkladu 4.



Stupeň d: Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)
benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny

Metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo-
[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylát sa nechá reagovať popísaným
spôsobom v stupni j príkladu 4.

P r í k l a d 1 8

Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-
benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny

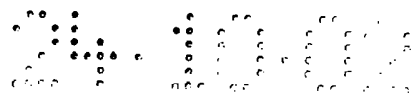
Stupeň a: Príprava O-(tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxamidu 7-
fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo-
[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-
5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v
stupni a príkladu 2.

Stupeň b: Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metyl
fenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylovej
kyseliny

O-(Tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxamid 7-fluór-6-(4-jód-2-
metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny
sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 2.

P r í k l a d 1 9



Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 3.

P r í k l a d 2 0

Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava metyl-7-fluór-6-(2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylátu

4,5-Diamino-3-fluór-2-(2-metylfenylamino)benzoát (zlúčenina zo stupňa e príkladu 1) sa diazotuje za použitia zvyčajných postupov. Po spracovaní sa získa požadovaný produkt.

Stupeň b: Príprava metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylátu

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylát sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni i príkladu 4.

Stupeň c: Príprava 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny

Metyl-7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylát sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni j príkladu 4.

P r í k l a d 2 1

Príprava Hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny

Stupeň a: Príprava o-(tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni a príkladu 2.

Stupeň b: Príprava hydroxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny

O-(Tetrahydro-2H-pyrán-2-yl)oxyamid 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny sa nechá reagovať popísaným spôsobom vo stupni b príkladu 2.

P r í k l a d 2 2

Príprava cyklopropylmetoxyamidu 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny

7-Fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylová kyselina sa nechá reagovať popísaným spôsobom v stupni b príkladu 3.

P r í k l a d 2 2

Kaskádová skúška pre inhibítory dráhy MAP kinázy

Začlenenie ^{32}P do myelínového bázického proteínu (MBP) sa skúša za prítomnosti glutatión S-transferázového fúzneho proteínu obsahujúceho p44MAP kinázu (GST-MAPK) a glutatión S-transferázového fúzneho proteínu obsahujúceho p45MEK (GST-MEK). Skúškový roztok v konečnom objeme 100 μl obsahuje 20mM HEPES, pH 7,4, 10 mM chlorid horečnatý, 1 mM chlorid manganatý, 1mM EGTA, 50 μM [γ - ^{32}P]ATP, 10 μg GST-MEK, 0,5 μg GST-MAPK a 40 μg MBP. Reakcia sa zastaví pod 20 minútach prídavkom trichlóroctovej kyseliny a reakčná zmes sa prefiltruje cez filtračnú vrstvu GF/C. ^{32}P zachytený vo filtračnej vrstve sa stanoví za použitia 120S Betaplate. Zlúčeniny sa skúšajú pri 10 μM koncentrácii na schopnosť inhibovať začlenenie ^{32}P .

Pre overenie, či zlúčeniny inhibujú GST-MEK alebo GST-MAPK sa používa dvoch ďalších protokolov. Podľa prvého protokolu sa zlúčeniny pridajú do skúmaviek obsahujúcich GST-MEK, potom sa pridá GST-MAPK, MBP a [γ - ^{32}P]ATP. Podľa druhého protokolu sa zlúčeniny pridajú do skúmaviek obsahujúcich ako GST-MEK, tak GST-MAPK, načo sa pridá MBP a [γ - ^{32}P] ATP .

Zlúčeniny, ktoré vykazujú aktivitu pri skúškach podľa oboch protokolov sa ohodnotia ako inhibítory MAPK, zatiaľ čo zlúčeniny, ktoré vykazujú aktivitu iba pri skúške podľa prvého protokolu sa ohodnotí ako inhibítory MEK.

P r í k l a d 2 4

Skúška MAP kinázy *in vitro*

Inhibičnú aktivitu je možno potvrdiť priamymi skúškami. Pri skúške na MAP kinázu sa 1 μg GST-MAPK inkubuje sa 40 μg MBP po dobu 15 minút pri 30°C pri konečnom objeme 50 μl (50mM Tris, pH 7,5, 10 μM chlorid horečnatý, 2 μM EGTA a 10 μM [γ - ^{32}P]ATP). Reakcia sa zastaví prídavkom Laemliho SDS pufra a fosforylovaný MBP sa podrobí elektroforéze na 10% polyakrylamidovom géle. Rádioaktivita začlenená do MBP sa stanoví ako autorádiograficky, tak scintilácii excidovaných pásov.

P r í k l a d 2 5

Skúška MEK *in vitro*

Za účelom hodnotenia priamej aktivity MEK sa 10 μg GST-MEK₁ inkubuje s 5 μg glutatión S-transferázového fúzneho proteínu obsahujúceho p44MAP kinázu s mutáciou lyzín-alanín v polohe 71 (GST-MAP-KA). Tieto mutácie eliminuje kinázovú aktivitu MAPK, takže ostáva iba kinázová aktivita pridanej MEK. Inkubácia sa prevádza 15 minút pri 30°C pri konečnom objemu 50 μl (50mM Tris, pH 7,5, 10 μM chloridu horečnatom, 2 μM EGTA a 10 μM [γ - ^{32}P]ATP). Reakcia sa zastaví prídavkom Laemliho SDS vzorkového pufra. Fosforylovaný GST-MAPK-KA sa podrobí elektroforéze na 10% polyakrylamidovom géle. Rádioaktivita začlenená do GST-MAPK-KA sa stanoví autorádiografiou a následným scintilačným zrátaním excidovaných pásov. Prídavne sa používa umelo aktivovanej MEK obsahujúcej mutáciu serín-glutamát v polohách 218 a 222 (GST-MEK-2E). Keď sa tieto dve miesta fosforylujú, je aktivita MEK zvýšená. Fosforyláciu týchto miest je možno napodobniť mutáciou zvyškov serínu na glutamát. Pri tejto skúške sa GST-MEK-2E inkubuje s 5 μg GST-MAPK-KA po dobu 15 minút pri 30°C v

rovnakom reakčnom pufri, aký je popísaný vyššie. Ukončenie reakcie a analýza sa prevedú tiež vyššie popísaným spôsobom.

P r í k l a d 2 6

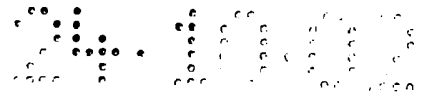
Skúška MAP kinázy v celých bunkách

Pre stanovenie, či zlúčeniny blokujú aktiváciu MAP kinázy v celých bunkách sa použije nasledujúceho protokolu. Bunky sa navzorkujú na multijamkové doštičky a nechajú rásť do konfluencie. Bunky sa cez noc sérovo deprivujú, vystavia sa požadovanej koncentrácii zlúčeniny alebo vehikula (DMSO) po dobu 30 minút, načo sa pridá rastový faktor, napríklad PDGF (100 ng/ml). Po päťminútovom ošetrení rastovým faktorom sa bunky omyjú PBS a lisujú v pufri obsahujúcom 70mM chlorid sodný, 10mM Hepes (pH 7,4), 50mM glycerolfosfát a 1% Triton X-100. Lyzáty sa vyčíria centrifugáciou pri 13 000 x g po dobu 10 minút. 5 µg výsledných supernatantov sa inkubuje s 10 µg proteínu asociovaného s mikrotubulmi 2 (Map2) po dobu 15 minút pri 30°C pri konečnom objeme 25 µl (50 mM Tris, pH 7,4, 10 mM chlorid horečnatý, 2mM EGTA a 30 µM [gamma-³²P]ATP. Reakcia sa ukončí prídavkom Laemmliho vzorkového pufra. Fosforylovaný Map2 sa rozčlení na 7,5% akrylamidovom géle a začlenená rádioaktivita sa stanoví scintilačným zrátaním excidovaných pásov.

P r í k l a d 2 7

Rast v monovrstve

Bunky sa navzorkujú na multijamkové doštičky v množstve 10 až 20 000 buniek/ml. 48 hodín po zaočkovaní sa k rastovému



médiu pre bunky pridajú skúšané zlúčeniny a v inkubácii sa pokračuje ďalšie 2 dni. Potom sa bunky z jamiek odstráni inkubáciou s trypsínom a spočítajú za použitia počítacza Coulter.

P r í k l a d 2 8

Rast v mäkkom agare

Bunky sa zaočkujú do 35mm misiek v množstve 10 000 buniek/miska za použitia rastového média obsahujúceho 0,3% agar. Po ochladení, pri ktorom agar stuhne, sa bunky inkubujú pri 37°C v inkubátore. Po sedem- až desaťdennom raste sa manuálne za použitia mikroskopu spočítajú viditeľné kolónie.

P r í k l a d 2 9

Kolagénom indukovaná artritída u myší

Kolagénom typu II indukovaná artritída (CIA) u myší je experimentálny model artritídy, ktorý vykazuje rad patologických, imunologických a genetických znakov spoločných s reumatoidnou artritídou. Choroba sa indukuje imunizáciou myší DBA/1 100 µg kolagénu typu II, ktorý je hlavnou zložkou kĺbovej chrupavky, podávaným intradermálne vo Freundovom úplnom adjuvans. Susceptibilita k tejto chorobe je regulovaná génovým lokusom triedy II MHC, čo je analóg asociácie reumatoidnej artritídy s HLA-DR4.

Progresívna a zápalová artritída, ktorá sa vyvíja u väčšiny imunizovaných myší, je charakteristická zväčšením šírky labky až o 100 %. Skúšaná zlúčenina sa myšiam podáva v

rôznych množstvách, ako v množstve 20, 60, 100 a 200 mg/kg telesnej hmotnosti za deň. Skúška sa môže prevádzať po dobu niekoľkých týždňov až niekoľkých mesiacov, ako po dobu 40, 60 alebo 80 dní. Pre hodnotenie progresie choroby sa používa klinického skóre: erytém až edém (štádium 1), deformácia kĺba (štádium 2), až ankylóza kĺba (štádium 3). Choroba je premenlivá v tom, že môže postihnúť jednu labku alebo všetky tlapy zvierata, takže možné celkové skóre pre každú myš je 12. Histopatológia artritického kĺba ukáže synovitídu, tvorbu pannu a eróziu chrupavky a kosti. Všetky myšie línie, ktoré sú susceptibilné CIA vykazujú vysokú protilátkovú odpoveď na kolagén typu II, a je markér celulárnej odpovedi na CII.

P r í k l a d 3 0

Monoartikulárna artritída indukovaná SCW

Artritída sa indukuje popísaným spôsobom v Schwab et al., Infection and Immunity, 59:4436 až 4442 (1991) s malými zmenami. Potkanom sa v deň 0 podá 6 µg sonikovaného SCW (v 10 µl Dulbeccovho PBS, DPBS) intraartikulárnou injekciou do pravého tibiotalárneho kĺba. V deň 21 sa iv. podaním 100 µg SCW (250 µl) zaháji DTH. Pri skúškach s perorálnym podávaním sa zlúčeniny suspendujú vo vehikulu (0,5% hydroxypropylcelulóza/0,2% Tween 80), sonikuje a podáva dvakrát za deň (10 ml/kg objem), pričom sa začína 1 hodinu pred reaktiváciou za použitia SCW. Zlúčeniny sa podávajú v množstvách od 10 do 500 mg/kg telesnej hmotnosti za deň, ako v množstve 20, 30, 60, 100, 200 a 300 mg/kg za deň. Edém sa meria stanovením objemov základnej línie sensitizovanej zadnej laby pred reaktiváciou v deň 21 a ich porovnaním s objemami v následných okamihoch, ako v deň 22, 23, 24 a 25. Objem tlapy

sa stanoví za použitia ortuťovej pletyzmografie.

P r í k l a d 3 1

Model transplantácie ucho-srdce u myši

Fey, T. A. et al., popísali spôsoby transplantácie neonatálnych srdcových štieпов do ušnej ušnice myši a potkanov (J. Pharm. and Toxic. Meth. 39: 9 až 17 (1998)). Zlúčeniny sa rozpustia v roztokoch obsahujúcich kombinácie absolútneho etanolu, 0,2% hydroxypropylmetylcelulózy vo vode, propylénglykolu, kremofóru a dextrózy, alebo iného rozpúšťadla alebo suspenzného vehikula. Myšiam sú medikované orálne alebo intraperitoneálne jeden raz, dva razy alebo trikrát za deň, počínajúc dňom transplantácie (deň 0) do dňa 13 alebo dokiaľ štep nie je odmietnutý. Potkany sa ošetrujú jeden raz, dva razy alebo tri razy za deň, počínajúc dňom 0 do dňa 13. Všetky zvieratá sa anestetizujú a rez sa vedie na báze recipientovho ucha tak, že sa reže iba dorzálna epidermis a dermis. Rez sa rozšíri a prehíbi k chrupavke paralelne k hlave a v dostatočnej šíri, aby bolo možno umiestniť vhodný nástroj pre vytvorenie tunela u potkanov alebo vložiť nástroj u myši. Novorodená myš alebo myš o veku menej ako 60 hodín sa anestetizuje a cervikálne dislokuje. Srdce sa vyberie z hrudi, opláchne soľným roztokom, pozdĺžne rozreže skalpelom a omyje sterilným soľným roztokom. Fragment srdca darca sa umiestni do vopred vytvoreného tunela za použitia vkladaneho nástroja alebo sa reziduálna kvapalina z tunela opatrne vytlačí miernym tlakom. Nie je treba žiadneho šitia, lepenia, obväzovania ani ošetrovania antibiotikami.

Implantáty sa skúmajú pri 10 až 20 násobnom zväčšení za použitia stereoskopického mikroskopu bez anestézie.

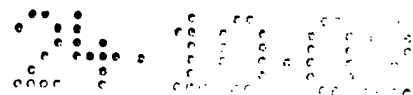
Recipients, ktorých štiepy viditeľne nebudujú je možno anestetizovať a hodnotiť na prítomnosť elektrickej aktivity za použitia platinových subdermálnych hrotových mikroelektród Grass E-2 umiestnených v ušnici alebo priamo v štiepu, a tachografe. Implantáty možno skúmať 1 až 4x za deň po dobu 10, 20, 30 alebo viacej dní. Schopnosť skúsených zlúčenín zmierňovať symptómy odmietania transplantátu je možno porovnať s kontrolnými zlúčeninami, ako cyklosporínom, takrolímom alebo perorálne podávaným lefluonomidom.

P r í k l a d 3 2

Eozinofília indukovaná ovalbumínom u myši

Samice myši C57BL/6 sa získajú od firmy Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Všetkým zvieratám sa podáva potrava a voda ad libitum. Myši sa v deň 0 senzitivizujú jedinou ip. injekciou OVA (kvalita V, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA) adsorbovaného na kamenec (10 µg OVA + 9 mg kamenca vo 200 µl soľného roztoku) alebo kontrolného vehikula (9 mg kamenca vo 200 µl soľného roztoku). V deň 14 sa myši provokujú 12minútovou inhaláciou aerosólu tvoreného 1,5% OVA (hmotnosť/objem) v soľnom roztoku vytvoreného za použitia rozprašovača (generátora malých častíc, model SPAG-2; ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA, USA). Skupine ôsmi myši sa podá perorálne vehikulum (0,5% hydroxypropylmetylcelulóza/0,25% Tween 80) alebo skúšaná zlúčenina v dávke 10, 30 alebo 100 mg/kg v perorálnom vehikulu, 200 µl/myš perorálne. Podávanie sa prevádza jeden raz denne, počínajúc dňom 7 alebo 13, dlhšie ako do dňa 16.

Pre stanovenie pulmonárnych eozinofilov sa 3 dni po prvej provokácii OVA aerosólom (deň 17) sa myši anestetizujú



ip. injekciou anestetiká (ketamín/acepromazín/xylazín) a ich trachea sa exponuje a kanyluje. Plúca a horne cesty dýchacie sa dvakrát premyjú 0,5 ml chladného PBS. Časť (200 µl) kvapaliny z bronchoalveolárnej laváže (BAL) sa spočíta za použitia počítacza Coulter model ZB1 (Coulter Electronics, Hialeah, FL, USA). Ostávajúca BAL kvapalina sa centrifuguje pri 300 g po dobu 5 minút, a bunky sa resuspendujú v 1 ml HBSS (Bibco BRL) obsahujúcom 0,5% fetálne telacie sérum (HyClone) a 10mM Hepes (Gibco BRL). Bunečná suspenzia sa centrifuguje v cytospíne (Shandon Southern Instruments, Sewecley, PA) a ofarbí za použitia Diff Quick (American Scientific Products, McGraw Park, IL, USA), aby sa BAL leukocyty diferenciovali na neutrofilny, eozinofily, monocyty alebo lymfocyty. Počet eozinofilov v BAL kvapaline sa stanoví vynásobením percenta eozinofilov celkovým počtom buniek.

P r í k l a d 3 3

Skúšky na bunkách Caco-2

Skúšky bunečného transportu sa prevádzajú za použitia buniek Caco-2 pestovaných na filtroch Snapwell 22 až 28 dní po zaočkovaní. Pre apikálnu stranu sa zvyčajne používa 10 mM pufor MES (pH 6,5) s obsahom 5mM chloridu draselného, 135mM chloridu sodného a 1,8mM chloridu vápenatého, pre bazolaterálnu stranu 10mM MOPS (pH 7,4) s obsahom 5mM chloridu draselného, 132,5 mM chloridu sodného a 1,8 mM chloridu vápenatého s 5mM D-glukózou. Po omytí monovrstiev sa do odpovedajúcich komôr napipetujú odpovedajúce pufre a bunky sa preekvilibrujú po dobu aspoň 15 minút pri 37°C. V deň skúšky sa rastové médium odsaje a bunečné monovrstvy sa preekvilibrujú s vhodnými puframi po dobu aspoň 15 minút pri 37°C. Za účelom potvrdenia integrity monovrstiev sa potom

prevedie TEER meranie. Transepiteliálny flux sa meria tak, že sa bunčné monovrstvy umiestnia do systému komôr umiestnených tesne u seba (Precision Instrument Desing, Tahoe City, CA, USA). Za použitia pláštá s cirkulujúcou vodou sa teplota udržiava na 37°C. Roztoky sa premiešajú tak, že sa nimi nechá prechádzať zmes 95 % kyslíka a 5 % oxidu uhličitého. Do apikálnej komory sa pridajú donorné roztoky s PD zlúčeninami, [¹⁴C] mannitol (markér prepúšťania) a [³H] metoprolol (referenčná zlúčenina). Donorné a akceptorné vzorky sa odoberajú vo zvolených intervaloch po dobu až 3 hodín. Rádioznačený mannitol a metoprolol sa analyzujú pomocou scintilačného merania (Top Count, Packard Instruments, Downers Grove, IL, USA). PD zlúčeniny sa analyzujú pomocou LC/MS/MS spôsobu. Koeficienty zdanlivej permeability sa vypočítajú za použitia nasledujúcej rovnice :

$$P_{app} = (V * dC) / (A * C_0 * dt)$$

kde V predstavuje objem akceptorného roztoku v ml, A predstavuje plochu povrchu v cm^2 , C_0 predstavuje počiatočné koncentrácie donorného roztoku (mM), a dC/dT predstavuje zmenu koncentrácie liečiva v akceptorovej komore v čase.

P r í k l a d 3 4

Metabolická stabilita v mikrozónoch z ľudských a potkaních pečeni

Zlúčeniny sa jednotlivo inkubujú (5 μ M, roztok v DMSO) s mikrozómami z ľudských a potkaních pečeni (0,5 mg/ml proteínu) v 50mM $KHPO_4$ pufri pri 37°C za prítomnosti 1,0 mM NADPH. V čase 0, 10, 20 a 40 minút sa odoberú 100 μ l alikvóty a pridajú sa k

300 µl acetonitrilu. Podobným spôsobom sa pre každú zlúčeninu v koncentrácii 7,5, 3,75, 2,5 a 1,25 µM získajú štandardné krivky. Vzorky sa analyzujú na koncentráciu pôvodca pomocou LC/MS/MS. Z kriviek závislosti koncentrácie na čase za použitia WinNonlin sa stanoví metabolický polčas *in vitro*. Tieto údaje *in vitro* predstavujú rýchlosť oxidačného a hydrolytického metabolizmu.

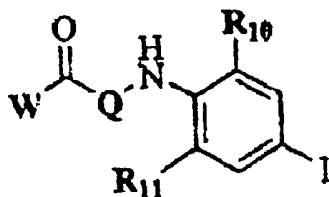
F. Iné prevedenia

Z vyššie uvedeného popisu a príkladov a patentových nárokov, ktoré nadviažu, sú celkom zrejmé základné znaky vynálezu. Do rozsahu vynálezu tiež spadajú rôzne modifikácie a adaptácie, ktoré sú v rámci znalostí priemerného odborníka. V príkladoch je popísaná zlúčenina modifikovaná pridaním alebo odstránením chrániacich skupín, alebo ester, farmaceuticky vhodná soľ, hydrát, kyselina alebo amid popísaných zlúčenín. Všetky publikácie sú citované náhradou za prenesenie ich celého obsahu do tohto textu.

PATENTOVÉ NÁROKY

PP 983-2001

1. Zlúčeniny obecného vzorca I

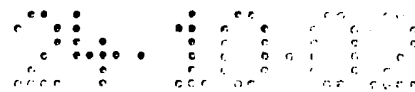


(I)

kde

W predstavuje skupinu OR₁, NR₂OR₁, NR_AR_B, NR₂NR_AR_B, O(CH₂)₂₋₄ NR_AR_B alebo NR₂(CH₂)₂₋₄ NR_AR_B.

R₁ predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 8 atómami uhlíka, alkenylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, fenylskupinu, fenylalkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, fenylalkenylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka v alkenylovej časti, fenylalkynylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka v alkynylovej časti, cykloalkylalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka v cykloalkylovej a 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, cykloalkylalkenylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka v cykloalkylovej a 3 až 4 atómami uhlíka v alkenylovej časti, cykloalkylalkynylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka v cykloalkylovej a 3 až 4 atómami uhlíka v alkynylovej časti, heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka, skupinu (heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkenyl s 3 až 4 atómami uhlíka v alkenylovej časti, (heterocyklický



zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka)alkynyl s 3 až 4 atómami uhlíka v alkynylovej časti alebo $(\text{CH}_2)_{2-4} \text{NR}_C\text{R}_D$;

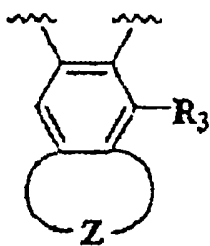
R₂ predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, fenylskupinu, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, heterocyklický zvyšok s 3 až 6 atómami uhlíka alebo cykloalkylmetylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka v cykloalkylovej časti;

R_A predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, alkenylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, fenylskupinu, skupinu (cykloalkyl s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (cykloalkyl s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkenyl s 3 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (cykloalkyl s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkynyl s 3 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka, (heterocyklický zvyšok s 3 až 8 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (aminosulfonyl)fenylskupinu, [(aminosulfonyl)fenyl]alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, (aminosulfonyl)alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, (aminosulfonyl)cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka [(aminosulfonyl)cykloalkyl]alkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka v cykloalkylovej a 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti alebo $(\text{CH}_2)_{2-4} \text{NR}_C\text{R}_D$;

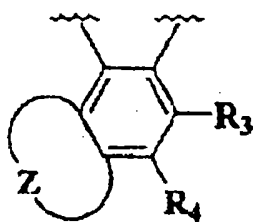
R_B predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 8 atómami uhlíka, alkenylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka alebo fenylskupinu;

Q predstavuje jeden zo zvyškov obecného vzorca (i)

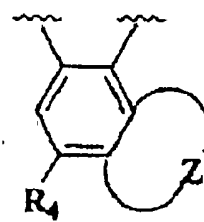
až (iii)



(i)



(ii)

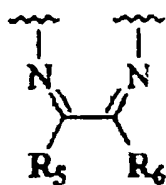


(iii)

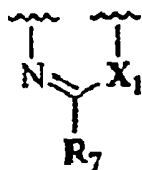
R_3 predstavuje vodík alebo fluór; R_4 predstavuje halogén, skupinu NO_2 , $\text{SO}_2\text{NR}_0(\text{CH}_2)_{2-4} \text{NR}_E\text{R}_F$, $\text{SO}_2\text{NR}_E\text{R}_F$ alebo $(\text{CO})\text{T}$;

T predstavuje alkylskupinu s 1 až 8 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 8 atómami uhlíka, skupinu (NR_ER_F) -alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka v alkylovej časti, OR_F , $-\text{NR}_0(\text{CH}_2)_{2-4} \text{NR}_E\text{R}_F$ alebo NR_ER_F ;

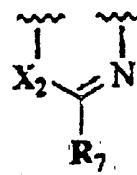
Z predstavuje jeden zo zvyškov obecného vzorca (iv) až (viii)



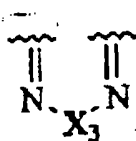
(iv)



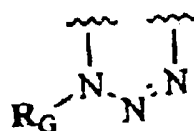
(v)



(vi)



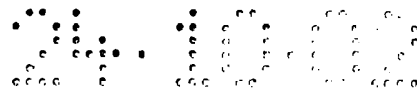
(vii)



(viii)

- jeden z R_5 a R_6 predstavuje vodík alebo metylskupinu a druhý z R_5 a R_6 predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíku, alkenylskupinu s 2 až 6 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, fenylnskupinu, benzylskupinu alebo skupinu -M-E-G;
- M predstavuje kyslík, skupinu CO, SO₂, NR_J, (CO)NR_H, NR_H(CO), NR_H(SO₂), (SO₂)NR_H alebo CH₂;
- E predstavuje (CH₂)₁₋₄ alebo (CH₂)_mO(CH₂)_p, kde $1 \leq$ (každý z parametrov m a p) ≤ 3 a $2 \leq (m + p) \leq 4$; alebo E chýba;
- G predstavuje skupinu R_K, OR_T alebo NR_JR_K, pričom keď p = 1, potom G predstavuje vodík;
- R₇ predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, alkenylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, fenylnskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu, 4-pyridylskupinu, skupinu (CH₂)₁₋₂ Ar, kde Ar predstavuje fenyln-, 2-pyridyl-, 3-pyridyl- alebo 4-pyridylskupinu, SO₂NR_H(CH₂)₂₋₄ NR_JR_K (CO)(CH₂)₂₋₄ NR_JR_K alebo (CO)NR_H(CH₂)₂₋₄ NR_JR_K;
- X₁ predstavuje kyslík, síru, NR₈ alebo CHR₉;
- X₂ predstavuje kyslík, síru alebo CHR₉;
- X₃ predstavuje kyslík alebo síru,
- pričom pokiaľ X₁ a X₂ predstavujú CHR₉, zlúčeninou môže byť tautomerizovaný indol;

- R_8 predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu, 4-pyridylskupinu, skupinu $(CH_2)_{1-2} Ar$, kde Ar predstavuje fenyl-, 2-pyridyl-, 3-pyridyl- alebo 4-pyridylskupinu, alkenylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka alebo skupinu (alkyl s 2 až 4 atómami uhlíka) $NR_L R_M$, pričom R_7 a R_8 dohromady, ale keď sa neráta R_L , R_M , R_J a R_K , nemajú viacej ako 14 atómov uhlíka;
- R_6 predstavuje alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu, 4-pyridylskupinu, alkenylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, skupinu $(CO)OR_P$, (alkyl sa 3 až 4 atómami uhlíka) $NR_L R_M$, $(CO)NR_N(CH_2)_{2-4} NR_L R_M$, $(CO)NR_L R_M$, $(CO)(CH_2)_{2-4} -NR_L R_M$ alebo $(CH_2)_{1-2} Ar$, kde Ar predstavuje fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu alebo 4-pyridylskupinu;
- R_9 predstavuje alkylskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu, 4-pyridylskupinu, alkenylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 2 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, skupinu $(CO)OR_P$, (alkyl s 2 až 4 atómami uhlíka) $NR_L R_M$, $(CO)NR_N(CH_2)_{2-4} NR_L R_M$, $(CO)NR_L R_M$, $(CO)(CH_2)_{2-4} -NR_L R_M$ alebo $(CH_2)_{1-2} Ar'$, kde Ar' predstavuje fenylskupinu, 2-pyridylskupinu, 3-pyridylskupinu alebo 4-pyridylskupinu;
- R_P predstavuje vodík, alkylskupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, fenylskupinu, alkenylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupinu s 3 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka alebo skupinu $(CH_2)_{2-4} NR_L R_M$;



R_{10} predstavuje vodík, metylskupinu, halogén alebo skupinu NO_2 ;

R_{11} predstavuje vodík, metylskupinu, halogén alebo NO_2 ;

každý z R_C , R_D , R_E , R_F , R_I , R_J , R_K , R_L a R_M je nezávisle zvolený z vodíka, alkylskupiny s 1 až 4 atómami uhlíka, alkenylskupiny s 3 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupiny s 3 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupiny s 3 až 6 atómami uhlíka a fenylskupiny;

každá zo skupín NR_CR_D , NR_ER_F , NR_JR_K a NR_LR_M môže tiež nezávisle predstavovať morfolinyl-, piperazinyl-, pyrrolidinyl alebo piperadinylskupinu a

každý z R_H , R_N a R_O predstavuje nezávisle vodík, metylskupinu alebo etylskupinu,

pričom každý z vyššie uvedených uhľovodíkových zvyškov alebo heterocyklických zvyškov je poprípadе substituovaný 1 až 3 substituentmi nezávisle zvolenými z halogénu, alkylskupiny s 1 až 4 atómami uhlíka, cykloalkylskupiny s 3 až 6 atómami uhlíka, alkenylskupiny s 2 až 4 atómami uhlíka, alkynylskupiny s 2 až 4 atómami uhlíka, fenylskupiny, hydroxyskupiny, aminoskupiny, (amino)sulfonylskupiny a NO_2 , a každá z alkylových, cykloalkylových, alkenylových alebo fenylových skupín v definícii vyššie uvedených substituentov je poprípadе ďalej substituovaná 1 až 3 substituentmi nezávisle zvolenými z halogénu, alkylskupiny s 1 až 2 atómami uhlíka, hydroxyskupiny, aminoskupiny a skupiny NO_2 ;

a ich farmaceuticky vhodné soli alebo estery s 1 až 7 atómami uhlíka.

2. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde Q predstavuje skupinu obecného vzorca (i).

3. Zlúčeniny podľa nároku 2 obecného vzorca I, kde R₃ predstavuje vodík alebo fluór.

4. Zlúčeniny podľa nároku 3 obecného vzorca I, kde R₄ predstavuje fluór, chlór alebo bróm.

5. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde R₁₀ predstavuje vodík, metylskupinu, fluór alebo chlór.

6. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde R₁₁ predstavuje metylskupinu, chlór, fluór, nitroskupinu alebo vodík.

7. Zlúčeniny podľa nároku 6 obecného vzorca I, kde R₁₁ predstavuje vodík.

8. Zlúčeniny podľa nároku 6 obecného vzorca I, kde R₁₁ predstavuje fluór.

9. Zlúčeniny podľa nároku 5 obecného vzorca I, kde každý z R₁₀ a R₁₁ predstavuje fluór.

10. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde R₁ predstavuje vodík, metyl-, etyl-, propyl-, izopropyl-, izobutyl-, benzyl-, fenetyl-, allylskupinu, alkenylskupinu s 3 až 5 atómami uhlíka, cykloalkylskupinu s 3 až 6 atómami uhlíka, skupinu (cykloalkyl s 3 až 5 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka, (heterocyklický zvyšok s 3 až 5 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka alebo (CH₂)₂₋₄ NR_CR_D.

11. Zlúčeniny podľa nároku 10 obecného vzorca I, kde R₁

predstavuje vodík alebo skupinu (cykloalkyl s 3 až 4 atómami uhlíka)-alkyl s 1 až 2 atómami uhlíka.

12. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde R_2 predstavuje vodík alebo metylskupinu.

13. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde R_A obsahuje aspoň jeden hydroxylový substituent.

14. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde R_A predstavuje vodík, metyl-, etyl-, izobutyl-, hydroxyetyl-, fenyl-, 2-piperidín-1-yetyl-, 2,3-dihydroxypropyl-, 3-[4-(2-hydroxyetyl)piperazín-1-yl]propyl-, 2-pyrrolidín-1-yetyl- alebo 2-dietylamoetylskupinu; a R_B predstavuje vodík; alebo kde R_B predstavuje metylskupinu a R_A predstavuje fenylskupinu.

15. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde W predstavuje skupinu $NR_A R_B$ alebo $NR_2 NR_A R_B$.

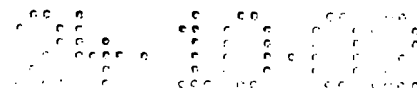
16. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde W predstavuje skupinu $NR_2 (CH_2)_{2-4} NR_A R_B$ alebo $O (CH_2)_{2-3} NR_A R_B$.

17. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde W predstavuje skupinu $NR_2 OR_1$.

18. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde W predstavuje skupinu OR_1 .

19. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde Z predstavuje skupinu vzorca (v).

20. Zlúčeniny podľa nároku 1 obecného vzorca I, kde X_1 predstavuje skupinu NR_8 a R_7 predstavuje vodík.



21. Zlúčenina podľa nároku 1 majúca štruktúrny vzorec 7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylová kyselina.

22. Zlúčeniny podľa nároku 1 zvolené zo súboru zostávajúceho z

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzooxazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzotiazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]tiadiazol-5-karboxylovej kyseliny;

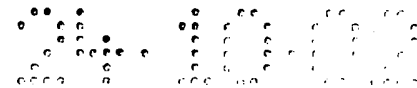
7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)benzo[1,2,5]oxadiazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-2-(2-hydroxyetyl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-2-(2-dimetylaminoetyl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1-acetylbenzoimidazol-5-karboxylovej kyseliny;

8-fluór-7-(4-jód-2-metylfenylamino)chinoxalín-6-karboxylovej kyseliny;



7-fluór-6-(4-jód-2-metylfenylamino)-1H-benzotriazol-5-karboxylovej kyseliny;

a odpovedajúcich hydroxámových kyselín a cyklopropylhydroxamátov.

23. Farmaceutická kompozícia, v y z n a č u j ú c a s a t ý m , že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1 a farmaceuticky vhodný nosič.

24. Spôsob liečenia proliferlačnej choroby, v y z n a č u - j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

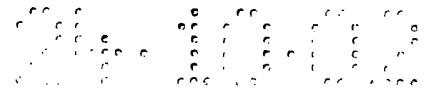
25. Spôsob podľa nároku 24, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že choroba je zvolená z psoriázis, restenózy, autoimunitnej choroby a aterosklerózy.

26. Spôsob liečenia rakoviny, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

27. Spôsob podľa nároku 26, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že rakovina je spojená s MEK.

28. Spôsob podľa nároku 26, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že rakovina je rakovinou mozgu, prsníka, pľúc, vaječníkov, pankreasu, prostaty, obličiek alebo kolorekta.

29. Spôsob liečenia alebo zmierňovania následkov mŕtvice, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo



kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

30. Spôsob liečenia alebo zmierňovania následkov srdcového zlyhania, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

31. Spôsob liečenia alebo zmierňovania symptómov odmietania xenoštiepu, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi s transplantovaným orgánom, transplantovanou končatinou, kožným transplantátom, transplantovanou bunkou alebo transplantovanými bunkami, alebo transplantovanou kostnou dreňou podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

32. Spôsob liečenia osteoartritídy, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

33. Spôsob liečenia reumatoidnej osteoartritídy, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

34. Spôsob liečenia vírusových infekcií, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

35. Spôsob liečenia cystickej fibrózy, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície

obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

36. Spôsob liečenia hepatomegálie, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

37. Spôsob liečenia kardiomegálie, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

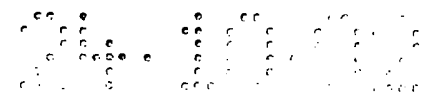
38. Spôsob liečenia Alzheimerovej choroby, v y z n a č u - j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

39. Spôsob liečenia komplikácií diabetu, v y z n a - č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

40. Spôsob liečenia septického šoku, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

41. Spôsob liečenia astmy, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje, podáva farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku 1.

42. Spôsob liečenia rakoviny, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že sa pacientovi, ktorý také liečenie potrebuje,



podáva (a) farmaceuticky účinné množstvo kompozície obsahujúce zlúčeninu podľa nároku; a (b) terapia zvolená z radiačnej terapie a chemoterapie.

43. Spôsob podľa nároku 42, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že chemoterapia zahŕňa inhibítor mitózy.

44. Spôsob podľa nároku 43, v y z n a č u j ú c i s a t ý m , že inhibítorom mitózy je paklitaxel, docetaxel, vinkristín, vinblastín, vinorelbín a vinflunín.