

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **018083**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2013.05.30

(21) Номер заявки
200801680

(22) Дата подачи заявки
2007.01.22

(51) Int. Cl. *C07D 401/04* (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 405/12 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИМИДИНА, ПРИМЕНИМЫЕ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ Р13 КИНАЗЫ, И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 60/760,789

(32) 2006.01.20

(33) US

(43) 2008.12.30

(86) PCT/US2007/001708

(87) WO 2007/084786 2007.07.26

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НОВАРТИС АГ (CH)

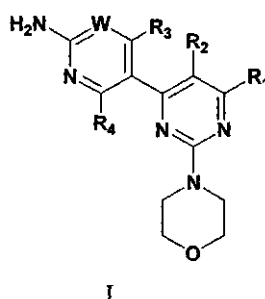
(72) Изобретатель:
**Берджер Маттью, Ни Чжицзи, Пекки
Сабина, Аталлах Гордана, Бартулис
Сара, Фрейзер Келли, Смит Аарон,
Верхаген Джоелл, Чжан Яньчэнь,
Уагман Аллан, Нг Саймон, Пфистер**

**Кейт, Пун Даниел, Луи Алисия, Пик
Тереса, Барсанти Пол, Иванович
Эдуин, Фантл Уэнди, Хендриксон
Томас, Кнапп Марк, Меритт Ханне,
Волива Чарлз, Визманн Марион, Синь
Сяхуа (US)**

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

(56) WO-A-2004048365
WO-A-2006005914
WO-A-2005028444

(57) Изобретение относится к ингибиторам фосфатидилинозит (PI) 3-киназы формулы I и к их фармацевтически приемлемым солям; к композициям, содержащим эти ингибиторы вместе с фармацевтически приемлемым носителем, по отдельности или в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим средством; и к применению этих ингибиторов, по отдельности или в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим средством, для профилактики или лечения пролиферативных заболеваний, характеризующихся аномальной активностью факторов роста, протеинсерин/треонинкиназ и фосфолипидкиназ.



018083 B1

018083 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новым ингибиторам фосфатидилинозит (PI) 3-киназы и их фармацевтически приемлемым солям; к композициям этих соединений с фармацевтически приемлемым носителем, по отдельности или в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим средством; к применению этих соединений, по отдельности или в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим средством, для профилактики или лечения целого ряда заболеваний, предпочтительно характеризующихся аномальной активностью факторов роста, рецепторов тирозинкиназ, протеинсерин/треонинкиназ, связанных с белком G рецепторов, фосфолипидкиназ и фосфатаз.

Уровень техники

Фосфатидилинозит-3-киназы (PI3K) представляют собой семейство липидных и сериновых/треониновых киназ, которые катализируют перенос фосфата в D-3'-положение инозитсодержащих липидов с образованием фосфоинозит-3-фосфата (PIP), фосфоинозит-3,4-дифосфата (PIP₂) и фосфоинозит-3,4,5-трифосфата (PIP₃) которые, в свою очередь, действуют в качестве вторичных мессенджеров в каскадах передачи сигналов путем вовлечения белков, которые содержат гомологичные плекстрину FYVE, Phox и другие связывающие фосфолипиды домены, в различные передающие сигналы комплексы, которые часто присутствуют на плазматической мембране ((Vanhaesebroeck et al., Annu. Rev. Biochem. 70:535 (2001); Katso et al., Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17:615 (2001)). Среди PI3K, принадлежащих двум классам, которые являются подклассами класса 1, PI3K класса 1A представляют собой гетеродимеры, состоящие из каталитической субъединицы p110 (изоформы α , β , δ), конститутивно ассоциированной с регуляторной субъединицей, которая может представлять собой p85 α , p55 α , p50 α , p85 β или p55 γ . Подкласс, представляющий собой класс 1B, состоит из одного представителя семейства, а именно гетеродимера, который включает каталитическую субъединицу p110 γ , ассоциированную с двумя регуляторными субъединицами p101 или p84 (Fruman et al., Annu. Rev. Biochem. 67:481 (1998); Suire et al., Curr. Biol. 15:566 (2005)). Модулярные домены субъединиц p85/55/50 включают домены, гомологичные Src (SH2), которые связывают остатки фосфотирозина в контексте специфической последовательности на активированном рецепторе и цитоплазматических тирозинкиназах, что приводит к активации и локализации PI3K класса 1A. PI3K класса 1B активируются непосредственно сшитыми с протеином G рецепторами, с которыми связывается широкое разнообразие пептидных и непептидных лигандов (Stephens et al., Cell 89:105 (1997)); Katso et al., Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17:615-675 (2001)). В результате образовавшиеся фосфолипидные продукты PI3K класса 1 связывают рецепторы, расположенные выше в пути передачи сигнала с расположенными ниже в пути передачи сигнала клеточными элементами, оказывающими воздействие на пролиферацию, выживание, хемотаксис, направленную миграцию клеток, подвижность, метаболизм, воспалительные и аллергические ответы, транскрипцию и трансляцию (Cantley et al., Cell 64:281 (1991); Escobedo and Williams, Nature 335:85 (1988); Fantl et al., Cell 69:413 (1992)).

Во многих случаях PIP₂ и PIP₃ приводят к рекрутменту Akt, человеческого продукта, гомологичного вирусному онкогену v-Akt, на плазматической мембране, где он действует в качестве узловой точки для многих внутриклеточных путей передачи сигналов, важных для роста и выживания (Fantl et al., Cell 69:413-423(1992); Bader et al., Nat. Rev. Cancer 5:921 (2005); Vivanco and Sawyer, Nat. Rev. Cancer 2:489 (2002)). Аномальная регуляция PI3K, которая часто повышает выживание благодаря активации Akt, является одним из наиболее превалирующих явлений при раке у человека и, как установлено, происходит на нескольких уровнях. У гена-супрессора опухолей PTEN, который дефосфорилирует фосфоинозитиды в 3'-положении инозитного кольца и поэтому обладает способностью антагонизировать активность PI3K, во многих типах опухолей отсутствует функциональная активность. В других типах опухолей происходит амплификация генов, кодирующих изоформу p110 α , PIK3CA и Akt, и повышенный уровень экспрессии белковых продуктов этих генов был продемонстрирован при некоторых видах рака человека. Кроме того, для некоторых видов рака человека описаны мутации и транслокации субъединицы p85 α , которая служит для повышающей регуляции комплекса p85-p110. И, наконец, установлено, что соматические миссенс-мутации PIK3CA, которые активируют пути дальнейшей передачи сигнала, достаточно часто встречаются при многих видах рака человека (Kang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:802 (2005); Samuels et al., Science 304:554 (2004); Samuels et al., Cancer Cell 7:561-573(2005)). Эти данные свидетельствуют о том, что нарушение регуляции фосфоинозит-3-киназы и компонентов, находящихся выше и ниже в этом пути передачи сигнала, является одним из наиболее распространенных видов нарушения регуляции, ассоциированных с раком и пролиферативными заболеваниями человека (Parsons et al., Nature 436:792(2005); Hennessey et al., Nature Rev. Drug Dis. 4:988-1004 (2005)).

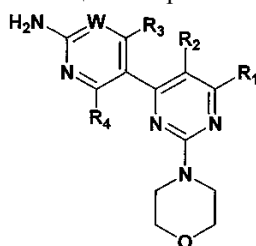
Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к новым ингибиторам фосфатидилинозит 3-киназы (PI3K), к фармацевтическим композициям, которые включают эти соединения, к способам ингибирования фосфатидилинозит 3-киназы (PI3K) и к способам лечения пролиферативных заболеваний.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к новым ингибиторам фосфатидилинозит 3-киназы (PI3K), которые являются соединениями на основе пиримидина и к их фармацевтически приемлемым солям. Пиримидины и их фармацевтически приемлемые соли являются ингибито-

рами РІЗК и применимы для лечения клеточных пролиферативных заболеваний.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы I



I

или его стереоизомеру, таутомеру или фармацевтически приемлемой соли, в которой

W выбран из CH и N;

R₁ выбран из группы, включающей:

(1) замещенный и незамещенный гетероцикл, представляющий собой 3-или 4-членное кольцо, содержащее гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы, или 5- или 6-членное кольцо, содержащее от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода или серы, где любое из указанных гетероциклических колец может быть сконденсировано с бензольным кольцом;

(2) -NR_{1a}H, где R_{1a} представляет собой замещенный и незамещенный гетероцикл, представляющий собой 3- или 4-членное кольцо, содержащее гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы, или 5- или 6-членное кольцо, содержащее от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода или серы, где любое из указанных гетероциклических колец может быть сконденсировано с бензольным кольцом;

R₂ представляет собой H;

R₃ выбран из H и CF₃;

R₄ представляет собой H;

где "замещенный" означает замещение водорода одним или несколькими одновалентными или двухвалентными радикалами, выбранными из гидроксигруппы, нитрогруппы, аминогруппы, иминогруппы, цианогруппы, галогена, тиогруппы, сульфонил, тиамидной группы, амидиновой группы, имидиновой группы, оксогруппы, оксамидиновой группы, метоксамидиновой группы, имидиновой группы, гуанидиновой группы, сульфонидамидной группы, карбоксигруппы, формила, C₁₋₆алкила, замещенного C₁₋₆алкила, галоген-C₁₋₆алкила, C₁₋₆алкиламиногруппы, галоген-C₁₋₆алкиламиногруппы, C₁₋₆алкоксигруппы, галоген-C₁₋₆алкоксигруппы, C₁₋₆алкокси-C₁₋₆алкила, C₁₋₆алкилкарбонила, аминокарбонила, фенилкарбонила, фенил-C₁₋₆алкилкарбонила, C₁₋₆алкилтиогруппы, C₁₋₆аминоалкила, C₁₋₆цианоалкила, фенила, бензила, пиридила, пирозолила, пиррола, тиафена, имидазолила, где заместители замещенного алкила выбраны из -CH₃, -C₂H₅, -CH₂OH, -OH, -OCH₃, -OC₂H₅, -OCF₃, -OC(=O)CH₃, -OC(=O)NH₂, -OC(=O)N(CH₃)₂, -CN, -NO₂, -C(=O)CH₃, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CONH₂, -NH₂, -N(CH₃)₂, -NHCOCH₃, -NHC(=O)OCH₃, -NHCOCH₃, -SO₂CH₃, -SO₂NH₂, галогена.

В более предпочтительном варианте осуществления W обозначает CH.

В другом варианте осуществления W обозначает N.

В другом варианте осуществления R₁ обозначает замещенный или незамещенный морфолинил; еще более предпочтительно, если R₁ обозначает незамещенный присоединенный по атому N морфолинил.

В другом варианте осуществления R₁ обозначает замещенный или незамещенный тетрагидропиран.

В другом варианте осуществления R₁ обозначает замещенный или незамещенный тетрагидрофуран.

В другом варианте осуществления R₃ обозначает трифторметил.

Другой вариант осуществления относится к способу ингибирования фосфорилирования Akt у человека или животного, включающему введение человеку или животному эффективного количества соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении.

Другой вариант осуществления относится к композиции, включающей фармацевтически приемлемый носитель и такое количество соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении, которое при введении эффективно для ингибирования активности РІЗ-К у человека или животного. В более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения композиция при введении эффективна для ингибирования активности РІЗ-К-альфа у человека или животного.

Другой вариант осуществления относится к композиции, включающей фармацевтически приемлемый носитель, такое количество соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении, которое при введении эффективно для ингибирования активности РІЗ-К у человека или животного, и по меньшей мере одно дополнительное средство для лечения рака. В более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения по меньшей мере одним дополнительным средством для лечения рака является ваталаниб (РТК-787), иматиниб или гефитиниб. Альтернативно, по меньшей мере одно дополнительное средство для лечения рака может быть выбрано

из группы, включающей ингибиторы киназы, антиэстрогены, антиандрогены, другие ингибиторы, химиотерапевтические противораковые лекарственные средства, алкилирующие средства, хелатные средства, модификаторы биологического ответа, противораковые вакцины и средства антисмысловой терапии (группы А-Ж), перечисленные ниже. Кроме того, по меньшей мере одно дополнительное средство для лечения рака выбрано из группы, включающей лучевую терапию, аналоги нуклеозидов и антимитотические средства.

Другой вариант осуществления относится к способу лечения патологического состояния путем модуляции активности Р13-К, включающему введение человеку или животному, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении. В более предпочтительном варианте осуществления соединение обладает значением IC_{50} , характеризующим ингибирование Р13К, равным менее 1 мкМ. В другом более предпочтительном варианте осуществления патологическим состоянием является рак.

Другой вариант осуществления относится к способу ингибирования активности Р13-К у человека или животного, включающему введение человеку или животному композиции, включающей такое количество соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении, которое эффективно для ингибирования активности Р13-К у человека или животного.

Другой вариант осуществления относится к способу лечения ракового заболевания у человека или животного, включающему введение человеку или животному композиции, включающей такое количество соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении, которое эффективно для ингибирования активности Р13-К у человека или животного. Более предпочтительный вариант осуществления дополнительно включает введение человеку или животному по меньшей мере одного дополнительного средства для лечения рака. В другом варианте осуществления по меньшей мере одним дополнительным средством для лечения рака является ваталаниб, иматиниб или gefitinib. Альтернативно, по меньшей мере одно дополнительное средство для лечения рака может быть выбрано из группы, включающей ингибиторы киназы, антиэстрогены, антиандрогены, другие ингибиторы, химиотерапевтические противораковые лекарственные средства, алкилирующие средства, хелатные средства, модификаторы биологического ответа, противораковые вакцины и средства антисмысловой терапии (группы А-Ж), перечисленные ниже.

В другом варианте осуществления любого из указанных выше вариантов раком является рак молочной железы, рак мочевого пузыря, колоректальный рак, глиома, глиобластома, рак легких, гепатоцеллюлярный рак, рак желудка, меланома, рак щитовидной железы, рак эндометрия, рак почек, рак шейки матки, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак предстательной железы, рак головного мозга или рак яичников.

Другой вариант осуществления относится к способу ингибирования фосфорилирования Akt, включающему взаимодействие соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении, с клеткой. В более предпочтительном варианте осуществления соединение обладает значением EC_{50} , характеризующим ингибирование pAkt, равным менее примерно 1 мкМ. Предпочтительно соединение обладает значением EC_{50} , характеризующим ингибирование pAkt, равным менее примерно 0,5 мкМ. Предпочтительно соединение обладает значением EC_{50} , характеризующим ингибирование pAkt, равным менее примерно 0,1 мкМ.

Другой вариант осуществления относится к применению соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении, для лечения рака.

Другой вариант осуществления относится к применению соединения, соответствующего любому из вариантов осуществления, предлагаемых в настоящем изобретении, для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения рака.

Настоящее изобретение также относится к композициям, наборам, способам применения и способам получения, описанным в подробном описании настоящего изобретения.

Краткое описание чертежей

Указанные выше варианты осуществления и многие из дополнительных преимуществ настоящего изобретения станут понятнее, когда само изобретение станет понятнее после рассмотрения приведенного ниже подробного описания совместно с прилагаемыми чертежами, на которых представлено следующее:

на фиг. 1 приведена зависимость, иллюстрирующая подавление роста опухоли типичным соединением, предлагаемым в настоящем изобретении, при использовании двух доз и проведено сопоставление с растворителем в качестве контроля;

на фиг. 2 приведена зависимость, иллюстрирующая подавление роста опухоли типичным соединением, предлагаемым в настоящем изобретении, при использовании трех доз и проведено сопоставление с растворителем в качестве контроля;

на фиг. 3 приведена зависимость, иллюстрирующая подавление роста опухоли типичным соединением, предлагаемым в настоящем изобретении, при использовании двух доз и проведено сопоставление с растворителем в качестве контроля;

на фиг. 4 приведена зависимость, иллюстрирующая подавление роста опухоли типичным соединением, предлагаемым в настоящем изобретении, при использовании двух доз и проведено сопоставление с

растворителем в качестве контроля;

на фиг. 5 приведена зависимость, иллюстрирующая подавление роста опухоли типичным соединением, предлагаемым в настоящем изобретении, и проведено сопоставление с растворителем в качестве контроля.

Подробное описание предпочтительных вариантов осуществления

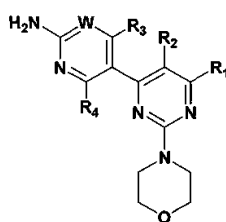
Фосфотидилинозит-3-киназа (PI3K) опосредует сигнал от различных факторов роста, регулируя пролиферацию и выживание клеток. Установлено, что сериновая/треониновая (Ser/Thr, или S/T) протеинкиназа, обозначенная, как Akt, является расположенной ниже в пути передачи сигнала мишенью PI3-киназы. Рекрутмент этой протеинкиназы на клеточной мембране происходит в результате взаимодействия ее гомологичного плекстрину домена с PI3K-продуктами, такими как фосфатидилинозит-3,4,5-трифосфат (PIP₃) и фосфатидилинозит-3,4-бисфосфат (PIP₂), при этом она активируется путем фосфорилирования ее каталитического домена с помощью зависящей от 3-фосфоинозитида киназы-1 (PDK-1). Akt дополнительно активируется в результате фосфорилирования серина в ее С-концевом гидрофобном мотиве, вероятно, другой киназой (PDK-2). Активация Akt приводит к оказанию действия ниже в пути передачи сигнала, приводящего к регулировке дополнительных киназ, многие из которых участвуют в клеточных процессах, контролируемых выживанием, пролиферацию, метаболизм и рост, а также трансляцию. PI3K может регулировать также клеточные процессы, которые воздействуют на трансформацию, клеточную пролиферацию, перегруппировку цитоскелета и выживание, благодаря параллельному пути, в котором не участвует Akt (Hennessy et al., Nat. Rev. Drug Disc. 4:988-1004 (2005)). Два из этих путей представляют собой пути активации низкомолекулярных ГТФ-связывающих (ГТФ - гуанозинтрифосфат) белков Cdc42 и Rac1 и активацию сывороточной и индуцируемой глюкокортикоидом киназы (SGK). Cdc42 и Rac1, которые регулируют движение цитоскелета и клеточную подвижность и могут функционировать в качестве онкогенов при их сверхэкспрессии, также связаны с путем RAS. Таким образом, активность PI3K приводит к образованию 3'-фосфатидилинозитсодержащих липидов, которые являются узловой точкой, стимулирующей разнообразие расположенных ниже путей передачи сигналов.

То, что эти пути, в частности, влияют на такие характеристики клеток, как пролиферация, выживание, подвижность и морфология, нарушение которых часто происходит при раке, пролиферативных заболеваниях, тромбоцитарных заболеваниях и воспалении, показывает, что соединения, ингибирующие PI3K (и их изоформы), применимы в виде отдельного средства или в комбинации для лечения этих заболеваний. Для рака в литературе имеется много публикаций, посвященных нарушениям регуляции пути PI3K/Akt, в том числе о сверхэкспрессировании гена PIK3CA, активирующих мутациях гена PIK3CA, сверхэкспрессировании Akt, мутациях PDK-1 и делециям/инактивации PTEN (Parsons et al., Nature 436:792 (2005); Hennessy et al., Nat. Rev. Drug Disc. 4:988 (2005); Stephens et al., Curr. Opin. Pharmacol. 5:1 (2005); Bonneau and Longy, Human Mutation 16:109 (2000) и Ali et al., J. Natl. Can. Inst. 91:1922 (1999)). Последние данные показывают, что PIK3CA часто (>30%) мутирует в различных солидных опухолях у людей (Samuels and Ericson, Curr. Opin. Oncology 18:77 (2005)) и наиболее частые из этих мутаций стимулируют рост клеток и инвазию (Samuels et al., Cancer Cell 7:561 (2005) и подвергаются трансформации (Kang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:802 (2005), Zhao et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:18443 (2005)). Таким образом, ингибиторы PI3K, в особенности изоформа p110 α , кодируемая PIK3CA, и ее мутантные формы должны быть применимы для лечения раковых заболеваний, связанных с этими мутациями и нарушениями регуляции.

Настоящее изобретение относится к новым соединениям, которые действуют в качестве ингибиторов серинтреонинкиназ, липидкиназ и более предпочтительно в качестве ингибиторов функции фосфатидилинозит 3-киназы (PI3K). Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно включить в фармацевтические композиции, которые применимы для лечения пациентов, нуждающихся в ингибиторе PI3K, в особенности в предпочтительных вариантах осуществления изобретение относится к композициям и способам уменьшения пролиферации клеток и усиления гибели клеток при лечении рака.

Один вариант осуществления настоящего изобретения относится к новым ингибиторам фосфатидилинозит 3-киназы (PI3K) и к их фармацевтически приемлемым солям. Ингибиторами PI3K являются соединения на основе пиримидина. Пиримидины и их фармацевтически приемлемые соли являются ингибиторами PI3K и применимы для лечения клеточных пролиферативных заболеваний.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предлагаются ингибиторы фосфатидилинозит 3-киназы (PI3K) формулы (I)



I

или их стереоизомеры, таутомеры или фармацевтически приемлемые соли, в которой

W выбран из CH и N;

R₁ выбран из группы, включающей:

(1) замещенный и незамещенный гетероцикл, представляющий собой 3- или 4-членное кольцо, содержащее гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы, или 5- или 6-членное кольцо, содержащее от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода или серы, где любое из указанных гетероциклических колец может быть сконденсировано с бензольным кольцом;

(2) -NR_{1a}H, где R_{1a} представляет собой замещенный и незамещенный гетероцикл, представляющий собой 3- или 4-членное кольцо, содержащее гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы, или 5- или 6-членное кольцо, содержащее от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода или серы, где любое из указанных гетероциклических колец может быть сконденсировано с бензольным кольцом;

R₂ представляет собой H;

R₃ выбран из H и CF₃;

R₄ представляет собой H;

где "замещенный" означает замещение водорода одним или несколькими одновалентными или двухвалентными радикалами, выбранными из гидроксигруппы, нитрогруппы, аминогруппы, иминогруппы, цианогруппы, галогена, тиогруппы, сульфонил, тиамидной группы, амидиновой группы, имидиновой группы, оксогруппы, оксамидиновой группы, метоксамидиновой группы, имидиновой группы, гуанидиновой группы, сульфонамидной группы, карбоксигруппы, формила, C₁₋₆алкила, замещенного C₁₋₆алкила, галоген-C₁₋₆алкила, C₁₋₆алкиламиногруппы, галоген-C₁₋₆алкиламиногруппы, C₁₋₆алкоксигруппы, галоген-C₁₋₆алкоксигруппы, C₁₋₆алкокси-C₁₋₆алкила, C₁₋₆алкилкарбонила, аминокарбонила, фенилкарбонила, фенил-C₁₋₆алкилкарбонила, C₁₋₆алкилтиогруппы, C₁₋₆аминоалкила, C₁₋₆цианоалкила, фенила, бензила, пиридила, пирозолила, пиррола, тиафена, имидазолила, где заместители замещенного алкила выбраны из -CH₃, -C₂H₅, -CH₂OH, -OH, -OCH₃, -OC₂H₅, -OCF₃, -OC(=O)CH₃, -OC(=O)NH₂, -OC(=O)N(CH₃)₂, -CN, -NO₂, -C(=O)CH₃, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CONH₂, -NH₂, -N(CH₃)₂, -NHSO₂CH₃, -NHCOCH₃, -NHC(=O)OCH₃, -NHSO₂CH₃, -SO₂CH₃, -SO₂NH₂, галогена.

В одном варианте осуществления W обозначает CH.

В другом варианте осуществления W обозначает N.

В другом варианте осуществления R₁ обозначает замещенный или незамещенный морфолинил; еще более предпочтительно, если R₁ обозначает незамещенный присоединенный по атому N морфолинил.

В другом варианте осуществления R₁ обозначает замещенный или незамещенный тетрагидропиран.

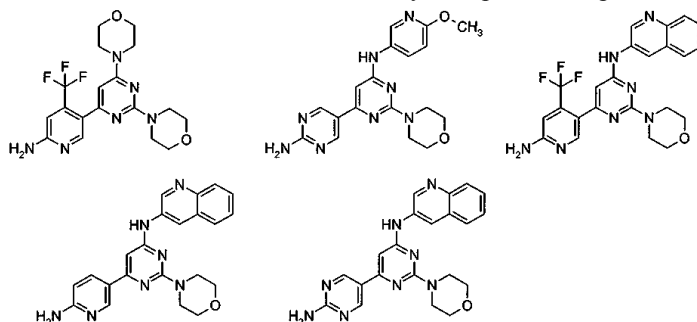
В другом варианте осуществления R₁ обозначает замещенный или незамещенный тетрагидрофуран.

В одном варианте осуществления R₁ обозначает замещенный или незамещенный пиперидин.

В одном варианте осуществления R₁ обозначает замещенный или незамещенный пирролидин.

В одном варианте осуществления R₃ обозначает трифторметил.

Предпочтительные соединения согласно настоящему изобретению представляют собой



или их фармацевтически приемлемые соли.

Следует понимать, что соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать таутомерией. Поскольку химические структуры в настоящей заявке могут представлять только одну из возможных таутомерных форм, следует понимать, что настоящее изобретение включает любую таутомер-

ную форму изображенной структуры.

Синтез типичных ингибиторов PI3K, предлагаемых в настоящем изобретении, описан в методиках, приведенных в представленном ниже разделе, посвященном примерам, а получение типичных соединений описано в примерах 1-31.

Типичные ингибиторы PDK, предлагаемые в настоящем изобретении, приведены в табл. 1.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к способу ингибирования фосфорилирования Akt, включающему введение соединения формулы I нуждающемуся в нем человеку. Другой вариант осуществления относится к способу лечения рака, реагирующего на ингибирование фосфорилирования Akt, включающему введение соединения формулы I. Другой вариант осуществления относится к способу ингибирования фосфорилирования Akt, включающему взаимодействие клетки с соединением формулы I.

Другой вариант осуществления относится к способу ингибирования фосфорилирования Akt, включающему пероральное введение соединения формулы I нуждающемуся в нем человеку. В более предпочтительном варианте осуществления человек страдает от рака. В более предпочтительном варианте осуществления рак реагирует на лечение соединением, которое ингибирует фосфорилирование Akt. В другом варианте осуществления соединение является биологически доступным при пероральном введении.

Другой вариант осуществления относится к способу лечения рака, включающему пероральное введение соединения формулы I, в котором указанное соединение способно ингибировать активность Akt.

В некоторых вариантах осуществления способа ингибирования PI3K с применением ингибитора PI3K, предлагаемого в настоящем изобретении, значение IC_{50} соединения, характеризующее ингибирование PI3K, меньше или равно 1 мМ. Предпочтительно значение IC_{50} меньше или равно 100 мкМ, меньше или равно 25 мкМ, меньше или равно 10 мкМ, меньше или равно 1 мкМ, меньше или равно 0,1 мкМ, меньше или равно 0,050 мкМ или меньше или равно 0,010 мкМ.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также применимы в исследованиях, в которых оценивают относительную активность при ингибировании киназы PI3. При таких исследованиях соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, можно использовать для определения относительной ингибирующей активности при сопоставлении со вторым соединением. При таком применении соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, используется в количестве, достаточном для того, чтобы специалист в данной области техники смог обнаружить ингибирование киназы PI3. Такое количество в настоящем изобретении иногда называется "эффективным ингибирующим количеством". Предпочтительно ингибирующее количество является количеством, которое уменьшает активность киназы PI3 примерно на 50% по сравнению с активностью при отсутствии соединения. Затем другие соединения можно оценить как обеспечивающие большее или меньшее ингибирование при такой же концентрации и установить порядок относительной активности. Такая информация полезна для определения изменений структуры и других изменений при изучении исследуемого соединения с целью улучшения его активности. Соответственно настоящее изобретение относится к способу ингибирования активности киназы PI3, который включает взаимодействие указанной киназы PI3 с эффективным ингибирующим количеством соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, раскрытого в настоящем изобретении.

Некоторые варианты осуществления относятся к способам ингибирования фосфорилирования Akt с использованием соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, обладающего значением EC_{50} , характеризующим ингибирование pAkt, равным менее примерно 1 мкМ. Предпочтительно соединение обладает значением EC_{50} , характеризующим ингибирование pAkt, равным менее примерно 0,5 мкМ. Предпочтительно соединение обладает значением EC_{50} , характеризующим ингибирование pAkt, равным менее примерно 0,1 мкМ.

В некоторых вариантах осуществления компоненты, предлагаемые в настоящем изобретении, способны ингибировать фосфорилирование Akt. В некоторых вариантах осуществления компоненты, предлагаемые в настоящем изобретении, способны ингибировать фосфорилирование Akt у человека или животного (т.е. *in vivo*).

Один вариант осуществления относится к способу уменьшения активности pAkt у человека или животного. В этом способе соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, вводят в количестве, эффективном для уменьшения активности pAkt.

В некоторых вариантах осуществления способа ингибирования PI3K с применением ингибитора PI3K, предлагаемого в настоящем изобретении, значение EC_{50} для соединения равно от 1 до 10 нМ. Предпочтительно значение EC_{50} равно от 10 до 50 нМ, от 50 до 100 нМ, от 100 нМ до 1 мкМ, от 1 до 25 мкМ или от 25 до 100 мкМ.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также применимы в исследованиях, в которых оценивают относительную активность при ингибировании фосфорилирования Akt. При таких исследованиях соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, можно использовать для определения относительной ингибирующей активности при сопоставлении со вторым соединением. При таком применении соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, используется в количестве, достаточном для того, чтобы специалист в данной области техники смог обнаружить ингибирование фосфорилирова-

ния Akt. Такое количество в настоящем изобретении иногда называется "эффективным ингибирующим количеством". В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения ингибирующее количество является количеством, которое уменьшает активность при фосфорилировании Akt примерно на 50% по сравнению с активностью при отсутствии соединения. Затем другие соединения можно оценить, как обеспечивающие большее или меньшее ингибирование при такой же концентрации, и установить порядок относительной активности. Такая информация полезна для определения изменений структуры и других изменений при изучении исследуемого соединения с целью улучшения его активности. Соответственно настоящее изобретение относится к способу ингибирования фосфорилирования Akt, который включает взаимодействие клетки с эффективным ингибирующим количеством соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, описанного в настоящем изобретении. Активность киназы PI3 также можно ингибировать в клетке, что включает взаимодействие указанной клетки с эффективным ингибирующим количеством соединения, заявленного в настоящем изобретении.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения, опосредуемого с помощью PI3K нарушения. В одном способе эффективное количество ингибитора PI3K вводят нуждающемуся в нем пациенту (например, человеку или животному) для опосредования (или модуляции) активности PI3K.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, применимы в фармацевтических композициях, предназначенных для использования в медицине и ветеринарии, когда показано ингибирование PI3K, например, для лечения клеточных пролиферативных заболеваний, таких как опухолевые и/или рост раковых клеток, опосредуемых с помощью PI3K. В частности, эти соединения применимы для лечения раковых заболеваний человека или животного (например, мыши), включая, например, раковые заболевания легких и бронхов, предстательной железы, молочной железы, поджелудочной железы, прямой кишки, щитовидной железы, печени и внутрипеченочных желчных протоков, гепатоцеллюлярные заболевания, желудка, глиому/глиобластому, эндометрия, меланому, почек и почечных лоханок, мочевого пузыря, тела матки, шейки матки, яичников, множественную миелому, пищевода, острый миелолейкоз, хронический миелолейкоз, лимфолейкоз, миелолейкоз головного мозга, полости рта и глотки, гортани, тонкого кишечника, неходжкинскую лимфому, меланому и ворсинчатую аденому ободочной кишки.

Средства, которые характеризуются селективным ингибированием PI3 киназы гамма, являются особенно подходящими для лечения воспалительных или обструктивных заболеваний дыхательных путей, приводящих, например, к уменьшению поражения ткани, воспаления дыхательных путей, бронхиальной гиперреактивности, ремоделирования или прогрессирования заболевания. Воспалительные или обструктивные заболевания дыхательных путей включают астму любого типа и генеза, включая наследственную астму (неаллергическую) и приобретенную (аллергическую) астму, слабую астму, астму средней тяжести, тяжелую астму, бронхиальную астму, астму напряжения, профессиональную астму и астму, вызванную бактериальной инфекцией. Лечение астмы также следует понимать, как включающее лечение субъектов, например, в возрасте менее 4 или 5 лет, у которых наблюдается свистящее дыхание и которым поставлен или может быть поставлен диагноз "бронхит младенцев", установившейся категории пациентов, вызывающих большую обеспокоенность медиков, которых в настоящее время часто называют страдающими от зарождающейся астмы или ранней стадии астмы ("синдром бронхита младенцев").

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, которые более селективны по отношению к одной изоформе киназы PI3 (α , β , γ , δ), чем по отношению к другой изоформе, представляют собой соединения, которые предпочтительно ингибируют одну изоформу. Например, соединение может ингибировать изоформу альфа более предпочтительно, чем изоформу гамма. Альтернативно, соединение может ингибировать изоформу гамма более предпочтительно, чем изоформу альфа. Для определения селективности соединения проводят определение активности соединения с помощью биологических методик, описанных в настоящем изобретении. Например, значение IC_{50} или значение EC_{50} соединения определяют для двух или большего количества изоформ киназы PI3, например альфа и гамма, с помощью биологических методик 1 и 2 соответственно. Затем полученные данные сопоставляют для определения селективности исследуемого соединения. Предпочтительно, если соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, селективнее по отношению к одной изоформе по меньшей мере в 2, 5 или 10 раз, чем по отношению ко второй изоформе. Еще более предпочтительно, если соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, селективнее по отношению к одной изоформе по меньшей мере в 50 или 100 раз, чем по отношению ко второй изоформе. Еще более предпочтительно, если соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, селективнее по отношению к одной изоформе по меньшей мере в 1000 раз, чем по отношению ко второй изоформе.

Воспалительные или обструктивные заболевания и патологические состояния дыхательных путей также включают острое поражение легких у взрослых (ОПЛ), острый респираторный дистресс синдром взрослых (ОРДС), кистозный фиброз, хроническое обструктивное легочное заболевание, заболевание дыхательных путей или легких (ХОЛЗ, ХОЗД, ХОЗЛ), включая фиброз легких, хронический бронхит или связанную с ним одышку, эмфизему, а также обострение гиперреактивности дыхательных путей, явившееся следствием лечения другим лекарственным средством, в частности другим средством ингаляционной терапии, бронхит любого типа и генеза, включая, например, острый, арахисовый, катаральный, кру-

позный, хронический или гнойный туберкулезный бронхит. Другие воспалительные или обструктивные заболевания дыхательных путей включают пневмокониоз (воспалительное, обычно профессиональное, заболевание легких, часто сопровождающееся обструкцией дыхательных путей, хронической или острой, и вызываемое повторяющимся вдыханием пыли) любого типа или генеза, например алюминоз, антракоз, асбестоз, халикоз, птилоз, сидероз, силикоз, табакоз и биссиноз.

Средства, которые характеризуются селективным ингибированием PI3K, также применимы для лечения связанных с эозинофилами нарушений, например эозинофилии, в частности, связанных с эозинофилами нарушений дыхательных путей (например, включающих болезненную инфильтрацию эозинофилов тканей легких), включая гиперэозинофилию, поскольку она влияет на дыхательные пути и/или легкие, а также, например, связанных с эозинофилами нарушений дыхательных путей, следующих за синдромом Леффлера или одновременных с ним, эозинофильной пневмонии, заражения паразитами (в частности, многоклеточными) (включая тропическую эозинофилию), бронхолегочного аспергиллеза, нодозного полиартериита (включая синдром Черджа-Строса), эозинофильной гранулемы и связанных с эозинофилами нарушений, влияющих на дыхательные пути, вызванных реакцией на лекарственное средство.

Средства, которые характеризуются селективным ингибированием PI3K, также применимы для лечения воспалительных или аллергических патологических состояний кожи, например псориаза, контактного дерматита, атопического дерматита, гнездовой алопеции, многоформной эритемы, герпетриформного дерматита, склеродермы, витилиго, аллергического васкулита, уртикарии, буллезного пемфигоида, красной волчанки, пузырчатки, врожденного буллезного эпидермолиза и других воспалительных или аллергических патологических состояний кожи.

Такие средства также можно применять для лечения других заболеваний или патологических состояний, в частности заболеваний или патологических состояний, включающих воспалительный компонент, например, для лечения заболеваний и патологических состояний глаз, таких как конъюнктивит, сухой кератоконъюнктивит и весенний конъюнктивит, заболеваний, влияющих на нос, включая аллергический ринит, и воспалительного заболевания с участием аутоиммунных реакций или обладающих аутоиммунным компонентом или этиологией, включая аутоиммунные заболевания крови (например, гемолитической анемии, апластической анемии, истинной эритроцитарной анемии и идиопатической тромбоцитопении), системной красной волчанки, полихондри, склеродермы, гранулематоза Вегенера, дерматомиозита, хронического активного гепатита, злокачественной миастении, синдрома Стивенса-Джонсона, идиопатического спру, аутоиммунного воспалительного заболевания кишечника (например, язвенного колита и болезни Крона), эндокринной офтальмопатии, диффузного токсического зоба, саркоидоза, альвеолита, хронического гиперчувствительного пневмонита, рассеянного склероза, первичного билиарного цирроза, увеита (переднего и заднего), интерстициального фиброза легких, псориатического артрита и гломерулонефрита (с нефротическим синдромом и без него, например, включая идиопатический нефротический синдром или нефропатию с минимальными изменениями).

Такие средства могут подавлять образование лейкоцитов, предпочтительно нейтрофилов и В- и Т-лимфоцитов. Типичные патологические состояния, которые можно лечить, включают патологические состояния, характеризующиеся нежелательной функцией нейтрофилов, выбранные из группы, включающей стимулированную выработку супероксидных радикалов, стимулированный экзоцитоз и хемотаксическую миграцию, предпочтительно без подавления фагоцитарной активности или уничтожения бактерий нейтрофилами.

Такие средства могут нарушать функцию остеокластов и ослаблять нарушения, связанные с резорбцией кости, например остеопороз.

Такие средства применимы для лечения заболеваний, которые включают септический шок, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, заболевания костей, такие как, но не ограничиваясь только ими, ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилоартрит, остеоартрит, ожирение, рестеноз, диабет, например сахарный диабет типа I (юношеский диабет) и сахарный диабет типа II, диарейные заболевания.

Опосредуемое PI3K патологическое состояние или нарушение может быть выбрано из группы, включающей сердечно-сосудистые заболевания, атеросклероз, гипертензию, тромбоз глубоких вен, удар, инфаркт миокарда, нестабильную стенокардию, тромбоз эмболию, эмболию легких, тромботические заболевания, острую артериальную ишемию, тромботические окклюзии периферических сосудов и ишемическую болезнь сердца, реперфузионные поражения, ретинопатию, такую как диабетическая ретинопатия или вызванная кислородом гипербарическая ретинопатия, и патологические состояния, характеризующиеся повышенным внутриглазным давлением или секрецией внутриглазной жидкости, такие как глаукома.

Как отмечено выше, поскольку PI3K выступают в качестве узла вторых мессенджеров, который объединяет параллельные пути передачи сигналов, появляется все больше данных о том, что комбинация ингибитора PI3K с ингибиторами других путей будет применима для лечения рака и пролиферативных заболеваний у людей.

Примерно у 20-30% людей, страдающих раком молочной железы, сверхэкспрессируется Her-2/neu-ErbB2, мишень для лекарственного препарата трастузумаб. Хотя показано, что трастузумаб приводит к

длительным реакциям у некоторых пациентов, у которых экспрессируется Her2/neu-ErbB2, реакция наблюдается только у части этих пациентов. Последние исследования показали, что такую ограниченную реакцию можно существенно улучшить с помощью комбинации трастузумаба с ингибиторами пути PI3K или PI3K/Akt (Chan et al., *Breast Can. Res. Treat.* 91:187 (2005), Woods Ignatoski et al., *Brit. J. Cancer* 82:666 (2000), Nagata et al., *Cancer Cell* 6:117 (2004)).

При различных злокачественных заболеваниях людей происходят активирующие мутации или наблюдается повышенное содержание Her1/EGFR и для воздействия на эту рецепторную тирозинкиназу разработан целый ряд антител и небольших молекул-ингибиторов, в том числе тарцева, гефитиниб и эрбитукс. Однако, хотя ингибиторы EGFR проявляют противоопухолевую активность по отношению к некоторым опухолям человека (например, NSCLC), они не увеличивают общую выживаемость для всех пациентов, у которых имеются опухоли, экспрессирующие EGFR. Это можно объяснить тем, что для многих мишеней Her1/EGFR, расположенных ниже в пути передачи сигнала, включая путь PI3K/Akt, с высокой частотой происходят мутации или нарушения регуляции при различных злокачественных проявлениях. Например, по данным исследований *in vitro* гефитиниб подавляет рост линии клеток аденокарциномы. Однако можно выбрать субклоны этих линий клеток, которые резистентны к воздействию гефитиниба и у которых наблюдается усиленная активация пути PI3/Akt. Дезактивация или ингибирование этого пути делает резистентные субклоны чувствительными к гефитинибу (Kokubo et al., *Brit. J. Cancer* 92:1711 (2005)). Кроме того, в модели рака молочной железы *in vitro* с использованием линии клеток, у которых скрыта мутация PTEN и происходит сверхэкспрессирование EGFR, ингибирование и пути PI3K/Akt, и EGFR приводит к синергетическому эффекту (She et al., *Cancer Cell* 8:287-297(2005)). Эти результаты показывают, что комбинация гефитиниба и ингибиторов пути PI3K/Akt должна быть привлекательной для лечения рака.

В модели ксенотрансплантата глиобластомы комбинация AEE778 (ингибитор Her-2/neu/ErbB2, VEGFR и EGFR) и RAD001 (ингибитор mTOR, расположенной ниже в пути передачи сигнала мишени Akt) приводит к большей суммарной эффективности, чем при использовании этих средств по отдельности (Goudar et al., *Mol. Cancer Ther.* 4:101-112 (2005)).

Антиэстрогены, такие как тамоксифен, подавляют рост рака молочной железы, вызывая остановку клеточного цикла, для которой необходимо воздействие ингибитора p27Kip клеточного цикла. Недавно показано, что активация пути киназы Ras-Raf-MAP меняет состояние фосфорилирования p27Kip, так что ослабляется его ингибирующее воздействие при остановке клеточного цикла, что способствует резистентности к антиэстрогенам (Donovan, et al., *J. Biol. Chem.* 276:40888, 2001). Как показано в публикации Donovan et al., ингибирование сигнального пути MAPK путем лечения ингибитором MEK обращает аномальное состояние фосфорилирования p27 в случае стойких к гормону линий клеток рака молочной железы и тем самым восстанавливает чувствительность к гормону. Аналогичным образом, фосфорилирование p27Kip посредством Akt устраняет его воздействие при остановке клеточного цикла (Viglietto et al., *Nat Med.* 8:1145 (2002)). В соответствии с этим в одном варианте осуществления соединения формулы (I) можно использовать для лечения зависящих от гормонов типов рака, таких как рак молочной и предстательной железы, путем устранения стойкости к гормонам, обычно наблюдающейся для этих типов рака при использовании обычных противораковых средств.

При раковых заболеваниях крови, таких как хронический миелолейкоз (ХМЛ), транслокация хромосом ответственна за конститутивно активированную BCR-Abl тирозинкиназу. Страдающие этими заболеваниями пациенты реагируют на иматиниб, небольшую молекулу ингибитор тирозинкиназы, вследствие ингибирования активности киназы Abl. Однако на прогрессирующей стадии заболевания многие пациенты сначала реагируют на иматиниб, но затем происходит рецидив вследствие приводящих к резистентности мутаций в домене киназы Abl. Исследования *in vitro* показали, что для оказания воздействия BCR-Abl использует пути киназы Ras-Raf. Кроме того, ингибирование на том же пути более одной киназы приводит к дополнительной защите от мутаций, приводящих к резистентности. Поэтому в одном варианте осуществления настоящего изобретения соединения формулы (I) применяют в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным средством, таким как иматиниб (Gleevec®), для лечения раковых заболеваний крови, таких как хронический миелолейкоз (ХМЛ), с целью обращения или предупреждения резистентности по меньшей мере к одному дополнительному средству.

Поскольку активация пути PI3K/Akt способствует выживанию клеток, ингибирование этого пути в сочетании со средствами, которые способствуют апоптозу раковых клеток, включая лучевую терапию и химиотерапию, приведет к улучшенному ответу (Ghobrial et al., *CA Cancer J. Clin* 55:178-194 (2005)). Примером является комбинации ингибитора киназы PI3 с карбоплатином, которая обнаруживает синергетический эффект при исследованиях пролиферации и апоптоза *in vitro*, а также при исследованиях эффективности воздействия на опухоль *in vivo* с использованием модели ксенотрансплантата рака яичников (Westfall и Skinner, *Mol. Cancer Ther* 4:1764-1771 (2005)).

Появляется все больше данных о том, что ингибиторы PI3-киназ классов 1A и 1B могут иметь терапевтическую ценность не только при раке и пролиферативных заболеваниях, но и при других типах заболеваний. Установлено, что ингибирование p110 β , изоформы PI3K, являющейся продуктом гена

PIK3CB, может участвовать в индуцируемой сдвигом активации тромбоцитов (Jackson et al., *Nature Medicine* 11:507-514 (2005)). Таким образом, ингибитор PI3K, который ингибирует p110 β , можно применять в качестве единственного средства или в сочетании с антитромботической терапией. Изоформа p110 δ , которая является продуктом гена PIK3CD, является важной для В-клеточной функции и дифференцировки (Clayton et al., *J. Exp. Med.* 196:753-763 (2002)), а также для зависящих и независящих от Т-клеток иммунных ответов (Jou et al., *Mol. Cell Biol.* 22:8580-8590 (2002)) и дифференцировки мастоцитов (Ali et al., *Nature* 431:1007-1011 (2004)). Таким образом, можно ожидать, что ингибиторы p110 δ могут оказаться ценными при лечении связанных с В-клетками аутоиммунных заболеваний и астмы. И, наконец, ингибирование p110 γ , изоформы, являющейся продуктом гена PIK3CG, приводит к пониженному Т-клеточному, но не В-клеточному ответу (Reif et al., *J. Immunol.* 173:2236-2240 (2004)), и эффективность ингибирования этой изоформы продемонстрирована на созданных на животных моделях аутоиммунных заболеваний (Camps et al., *Nature Medicine* 11:936-943 (2005), Barber et al., *Nature Medicine* 11:933-935 (2005)).

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, включающим по меньшей мере один ингибитор PI3K (например, соединение формулы I) совместно с фармацевтически приемлемым носителем, пригодным для введения человеку или животному, по отдельности или вместе с другими противораковыми средствами.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения людей или животных, страдающих от клеточного пролиферативного заболевания, такого как рак. Настоящее изобретение относится к способам лечения человека или животного, нуждающегося в таком лечении, включающим введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора PI3K (например, соединение формулы I), по отдельности или в комбинации с другими противораковыми средствами.

В частности, композиции можно приготовить совместно в виде комбинированного лекарственного средства или вводить по отдельности. Противораковые средства включают, но не ограничиваются только ими, одно или большее количество средств, приведенных ниже.

А. Ингибиторы киназы.

Ингибиторы киназы, предназначенные для применения в качестве противораковых средств, включают ингибиторы киназ рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), такие как небольшие молекулы хиналозинов, например gefitinib (US 5457105, US 5616582 и US 5770599), ZD-6474 (WO 01/32651), erlotinib (тарцева®, US 5747498 и WO 96/30347) и lapatinib (US 6727256 и WO 02/02552); ингибиторы киназ рецептора сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR), включая SU-11248 (WO 01/60814), SU-5416 (US 5883113 и WO 99/61422), SU-6668 (US 5883113 и WO 99/61422), CHIR-258 (US 6605617 и US 6774237), vatalanib или PTK-787 (US 6258812), VEGF-Trap (WO 02/57423), B43-Genistein (WO 09606116), fenretinide (п-гидроксифениламиноретиноевая кислота US 4323581), IM-862 (WO 02/62826), bevacizumab или Авастин® (WO 94/10202), KRN-951, 3-[5-(метилсульфонилипиперидинметил)индолил]хинолон, AG-13736 и AG-13925, пирроло[2,1-f][1,2,4]триазины, ZK-304709, Веглин®, VMDA-3601, EG-004, CEP-701 (US 5621100), Cand5 (WO 04/09769); ингибиторы Erb2 тирозинкиназы, такие как pertuzumab (WO 01/00245), trastuzumab и ритуксимаб; ингибиторы Akt протеинкиназы, такие как RX-0201; ингибиторы протеинкиназы C (PKC), такие как LY-317615 (WO 95/17182) и перифосин (US 2003/171303); ингибиторы киназы Raf/Map/MEK/Ras, включая сорафениб (BAY 43-9006), ARQ-350RP, LerafAON, BMS-354825 AMG-548 и другие, раскрытые в WO 03/82272; ингибиторы киназ рецептора фактора роста фибробластов (FGFR); ингибиторы клеточно-зависимых киназ, включая CYC-202 и росковитин (WO 97/20842 и WO 99/02162); ингибиторы киназ рецептора тромбоцитарного фактора роста (PGFR), такие как CHIR-258, 3G3 mAb, AG-13736, SU-11248 и SU6668; и ингибиторы киназы Bcr-Abl и белков слияния, такие как STI-571 или Глеевек® (иматиниб).

В. Антиэстрогены.

Воздействующие на эстрогены средства, предназначенные для применения в противораковой терапии, включают селективные модуляторы эстрогенного рецептора (СМЭР), включая тамоксифен, торемифен, ралоксифен; ингибиторы ароматазы, включая Аримидекс® или анастрозол; негативные регуляторы эстрогенного рецептора (НРЭ), включая Фаслодекс® или фульвестрант.

С. Антиандрогены.

Воздействующие на андрогены средства, предназначенные для применения в противораковой терапии, включают флутамид, бикалутамид, финастерид, аминоглютетамид, кетоконазол и кортикостероиды.

Д. Другие ингибиторы.

Другие ингибиторы, предназначенные для применения в качестве противораковых средств, включают ингибиторы протеинфARNазилтрансферазы, включая типифарниб или R-115777 (US 2003/134846 и WO 97/21701), BMS-214662, AZD-3409 и FTI-277; ингибиторы топоизомеразы, включая мербарон и дифломотекал (BN-80915); ингибиторы митотических кинезиновых белков шпильки (КБШ), включая SB-743921 и MKI-833; модуляторы протеазы, такие как бортезомиб или Велкаде® (US 5780454), XL-784; и ингибиторы циклооксигеназы 2 (COX-2), включая нестероидные противовоспалительные лекарственные средства I (НСПВЛС).

Е. Химиотерапевтические противораковые лекарственные средства.

Конкретные противораковые химиотерапевтические средства включают анастрозол (Аримидекс®), бикалутамид (Казодекс®), блеомицин сульфат (Бленоксан®), бусульфан (Милеран®), бусульфан для инъекций (Бусульфекс®), капецитабин (Кселода®), N4-пентоксикарбонил-5-дезоксидефторцитидин, карбоплатин (Параплатин®), кармустин (BiCNU®), хлорамбуцил (Лейкеран®), цисплатин (Платинол®), кладрибин (Лейстатин®), циклофосфамид (Цитоксан® или Неосар®), цитарабин, цитозинарабинозид (Цитосар-U®), липосомный цитарабин для инъекций (ДероСут®), дакарбазин (DTIC-Dome®), дактиномицин (актиномицин D, космоган), даунорубингидрохлорид (Церубидин®), липосомный даунорубинцитрат для инъекций (DaunoXome®), дексаметазон, доцетаксел (Таксотер®, US 2004/073044), доксорубингидрохлорид (Адриамицин®, Рубекс®), этопозид (Верезид®), флударабинфосфат (Флудара®), 5-фторурацил (Адруцил®, Эфудекс®), флутамид (Эйлексин®), тезацитибин, гемцитабин (дифтордезоксидитидин), гидроксимочевина (Гидреа®), идарубин (Идамицин®), ифосфамид (IFEX®), иринотекан (Камптосар®), L-аспарагиназа (ЭЛСПАР®), лейковорин кальций, мелфалан (Алкеран®), 6-меркаптопурин (Пуринэтол®), метотрексат (Фолекс®), митоксандрон (Новантрон®), миотарг, паклитаксел (Таксол®), феникс (иттрий-/MX-DTPA), пентостатин, полифепросан 20 с имплантатом кармустина (Глиадел®), тамоксифен цитрат (Нолвадекс®), тенипозид (Вумон®), 6-тиогуанин, тиотепа, трипазамин (Тиразон®), топотекангидрохлорид для инъекций (Гикампитин®), винбластин (Велбан®), винкристин (Онковин®) и винорелбин (Навелбин®).

Ф. Алкилирующие средства.

Алкилирующие средства, предназначенные для применения в качестве противораковых средств, включают VNP-40101M или клоретизин, оксалиплатин (US 4169846, WO 03/24978 и WO 03/04505), глутифосфамид, мафосфамид, этопозид (US 5041424), преднимустин, треоосульфат, бусульфан, ирофлувен (ацилфульвен), пенкломедин, пиразолоакридин (PD-115934), Об-бензилгуанин, децитабин (5-аза-2-дезоксидитидин), бросталлицин, митомицин С (MitoExtra, TLK-286 (Телцита®), темозоломид, трабектедин (US 5478932), AP-5280 (композиция на основе платины - цисплатин), порфирамицин и клеаразид (меклоретамин).

Г. Хелатные средства.

Хелатные средства, предназначенные для применения в качестве противораковых средств, включают тетратиомолибдат (WO 01/60814), RP-697, химерик Т84.66 (сТ84.66), гадофосвесет (Вазовист®), дефероксамин и блеомицин необязательно в сочетании с электропорацией (ЭПР).

Н. Модификаторы биологического ответа.

Модификаторы биологического ответа, такие как иммуномодуляторы, предназначенные для применения в качестве противораковых средств, включают стауроспорин и его макроциклические аналоги, включая UCN-01, CEP-701 и мидостаурин (см. WO 02/30941, WO 97/07081, WO 89/07105, US 5621100, WO 93/07153, WO 01/04125, WO 02/30941, WO 93/08809, WO 94/06799, WO 00/27422, WO 96/13506 и WO 88/07045), скваламин (WO 01/79255), DA-9601 (WO 98/04541 и US 6025387), алемтузумаб, интерфероны (например, IFN-α, IFN-β и т.п.), интерлейкины, предпочтительно IL-2 или алдеслейкин, а также IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12 и их активные биологические варианты, содержащие аминокислотные последовательности, составляющие более 70% от нативной последовательности человека, алтратамин (Гексален®), SU 101 или лефлумонид (WO 04/06834 и US 6331555), имидазохинолины, такие как ресихимод и имихимод (US 4689338, US 5389640, US 5268376, US 4929624, US 5266575, US 5352784, US 5494916, US 5482936, US 5346905, US 5395937, US 5238944 и US 5525612), и небольшие молекулы, модулирующие иммунофармацевтические средства, включая бензозолы, антрахиноны, тиосемикарбазоны и триптантрины (WO 04/87153, WO 04/64759 и WO 04/60308).

И. Противораковые вакцины.

Противораковые вакцины включают Авицин® (Tetrahedron Letters 26, 1974 2269-70), ореговомаб (OvaRex®), Тератоп® (STn-KLH), вакцины против меланомы, серия GI-4000 (GI-4014, GI-4015 и GI-4016), нацеленные на 5 мутаций белка Ras, GlioVax-1, MelaVax, Адвексин® или INGN-201 (WO 95/12660), Sig/E7/LAMP-1, кодирующий HPV-16 E7, вакцину MAGE-3 или M3TK (WO 94/05304), HER-2VAX, ACTIVE, который стимулирует Т-клетки, специфические для опухолей, противораковую вакцину GM-CSF и вакцины на основе моноцитогенов Listeria.

Ж. Средства антисмысловой терапии.

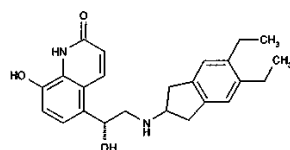
Противораковые средства также включают антисмысловые композиции, такие как AEG-35156 (GEM-640), AP-12009 и AP-11014 (TGF-β-2-специфические антисмысловые олигонуклеотиды), AVI-4126, AVI-4557, AVI-4472, облимерсен (Генасенс®), JFS2, апринокарсен (WO 97/29780), GTI-2040 (антисмысловый олигонуклеотид, воздействующий на R2 рибонуклеотид-редуктазы мРНК) (WO 98/05769), GTI-2501 (WO 98/05769), капсулированные в липосомах антисмысловые олигодезоксинуклеотиды с-Raf (LErafAON) (WO 98/43095) и Sirna-027 (основанные на иммунной РНК лекарственные средства, воздействующие на VEGFR-1 мРНК).

Соединения, которые характеризуются ингибированием PI3K, также можно объединить в фарма-

цевтической композиции с бронхолитическими или антигистаминными лекарственными веществами. Такие бронхолитические лекарственные средства включают антихолинергические или антимускариновые средства, в частности ипратропийбромид, окситропийбромид и тиотропийбромид, и агонисты β -2-адренорецептора, такие как салбутамол, тербуталин, салметерол и предпочтительно формотерол. Совместно применяющиеся терапевтические антигистаминные лекарственные вещества включают цетиризингидрохлорид, клемастинфумарат, прометазин, лоратидин, деслоратидин, дифенилгидрамин и фексофенадингидрохлорид.

Эффективность средства при подавлении воспалительных патологических состояний, например воспалительных заболеваний дыхательных путей, можно продемонстрировать на моделях животных, например модели мышей или крыс, предназначенных для исследования воспаления дыхательных путей или других воспалительных патологических состояний, например, как это описано в публикациях Szarka et al., J. Immunol. Methods (1997) 202:49-57; Renzi et al., Am. Rev. Respir. Dis. (1993) 148:932-939; Tsuyuki et al., J. Clin. Invest. (1995) 96:2924-2931 и Cernadas et al. (1999) Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 20:1-8.

Средства, ингибирующие PI3K, также применимы в качестве совместно применяющихся терапевтических средств, предназначенных для использования в комбинации с другими лекарственными веществами, такими как противовоспалительные, бронхорасширяющие или антигистаминные лекарственные вещества, предпочтительно для лечения обструктивных или воспалительных заболеваний дыхательных путей, такими как указанные выше, например, в качестве средств, усиливающих терапевтическую активность таких лекарственных средств, или в качестве средств, обеспечивающих снижение необходимой дозы или ослабление возможных побочных эффектов таких лекарственных средств. Такое средство можно смешивать с другим лекарственным веществом в фиксированной фармацевтической композиции или можно вводить отдельно, до, одновременно или после другого лекарственного вещества. Поэтому средство, ингибирующее PI3K, можно применять в комбинации с противовоспалительным, бронхорасширяющим или антигистаминным лекарственным веществом, причем указанное средство и указанное лекарственное вещество находятся в одной или в разных фармацевтических композициях. Такие противовоспалительные лекарственные средства включают стероиды, в частности глюкокортикостероиды, такие как будезонид, бекламетазон, флутиказон, циклезонид или мометазон, антагонисты LTB₄, такие как описанные в US 5451700, антагонисты LTD₄, такие как монтелукаст и зафирлукаст, агонисты допаминового рецептора, такие как каберголин, бромокриптин, ропинирол и 4-гидрокси-7-[2-[[2-[[3-(2-фенилэтокси)пропил]сульфонил]этил]амино]этил]-2(3H)-бензотиазолон и их фармацевтически приемлемые соли (гидрохлоридом является Виозан® AstraZeneca) и ингибиторы PDE4, такие как арифло (GlaxoSmith Kline), рофрумиласт (Byk Gulden), V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), арофиллин (Almirall Prodesfarma) и PD189659 (Parke-Davis). Такие бронхорасширяющие лекарственные средства включают антихолинергические или антимускариновые средства, в частности ипратропийбромид, окситропийбромид и тиотропийбромид, и агонисты бета-2 адренорецептора, такие как салбутамол, тербуталин, салметерол и предпочтительно формотерол и их фармацевтически приемлемые соли и соединения (в свободной форме или в форме соли или сольвата) формулы I, описанного в публикации международной заявки WO 00/75114, которая включена в настоящее изобретение в качестве ссылки, предпочтительно соединения, указанные в примерах в этой публикации, предпочтительно соединения формулы



и его фармацевтически приемлемые соли. Совместно применяющиеся терапевтические антигистаминные лекарственные вещества включают цетиризингидрохлорид, ацетаминофен, клемастинфумарат, прометазин, лоратидин, деслоратидин, дифенилгидрамин и фексофенадингидрохлорид. Комбинации средств, ингибирующих PI3K, и стероидов, агонистов бета-2, ингибиторов PDE4 или антагонистов LTD₄ можно использовать, например, для лечения ХОЗЛ или предпочтительно астмы. Комбинации средств, ингибирующих PI3K, и антихолинергических или антимускариновых средств, ингибиторов PDE4, агонистов допаминового рецептора или антагонистов LTB₄ можно использовать, например, для лечения астмы или предпочтительно ХОЗЛ.

Другими полезными комбинациями средств, ингибирующих PI3K, с противовоспалительными лекарственными средствами являются комбинации с антагонистами хемокиновых рецепторов, например CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 и CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, предпочтительно с антагонистами CCR-5, такие как выпускающиеся фирмой Schering-Plough антагонисты SC-351125, SCH-55700 и SCH-D, выпускающиеся фирмой Takeda антагонисты, такие как N-[[4-[[[6,7-дигидро-2-(4-метилфенил)-5H-бензоциклопентен-8-ил]карбонил]амино]фенил]метил]тетрагидро-N,N-диметил-2H-пиран-4-аминийхлорид (ТАК-770) и антагонисты CCR-5, описанные в US 6166037 (в особенности в пп.18 и 19 формулы изобретения), WO 00/66558 (в особенности в п.8 формулы

изобретения) и WO 00/66559 (в особенности в п.9 формулы изобретения).

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также можно объединить в фармацевтической композиции с соединениями, которые применимы для лечения тромболитического заболевания, заболевания сердца, удара и т.п. (например, аспирин, стрептокиназа, активатор плазминогена ткани, урокиназа, атикоагулянты, лекарственные средства, препятствующие агрегации тромбоцитов (например, плавикс, клопидогрелбисульфат), статины (например, липитор или кальциевая соль аторвастатина), злкор (симвастатин), крестор (росувастатин и т.п.), бета-блокаторами (например, атенолол), норваск (амлодипинбезилат) и ингибитором ацетилхолинэстеразы (АХЭ) (например, лизиноприл).

Соединения, ингибирующие PI3K, также можно объединить в фармацевтической композиции с соединениями, которые применимы для лечения гипертензии, такими как, ингибиторы АХЭ, средства, снижающие содержание липидов, такие как статины, липитор (кальциевая соль аторвастатина), блокаторы кальциевых каналов, такие как норваск (амлодипинбезилат). Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также можно использовать в комбинации с фибратами, бета-блокаторами, ингибиторами NEPI, антагонистами ангиотензинового рецептора 2 и средствами, препятствующими агрегации тромбоцитов.

Для лечения воспалительных заболеваний, включая ревматоидный артрит, соединения, ингибирующие PI3K, можно комбинировать с такими средствами, как ингибиторы TNF- α , такие как анти-TNF- α моноклональные антитела (такие как ремикаде, CDP-870) и D2E7 (HUMIRA) и молекулы иммуноглобулина слияния рецептора TNF (такие как эмбрел), ингибиторы IL-1, антагонисты рецептора растворимого IL-1R α (например, кинерет или ингибиторы ICE), нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (НСПВЛС), пироксикам, диклофенак, напроксен, флурбипрофен, фенопрофен, кетопрофен, ибупрофен, фенаматы, мефенаминовая кислота, индометацин, сулиндак, апазон, пиразолоны, фенилбутазон, аспирин, ингибиторы COX-2 (такие как целебрекс (целекоксиб), прексиг (лумиракоксиб)), ингибиторы металлопротеазы (предпочтительно селективные ингибиторы MMP-13), p2 $\times$ 7 ингибиторы, α , β , δ ингибиторы, нейротин, прегабалин, применяющийся в низкой дозе метотрексат, лефлуномид, гидроксихлорхин, d-пеницилламин, ауранофин или вводимые парентерально или перорально препараты золота.

Соединения, ингибирующие PI3K, также можно использовать в комбинации с имеющимися терапевтическими средствами, предназначенными для лечения остеоартрита. Средства, подходящие для использования в комбинации, включают стандартные нестероидные противовоспалительные лекарственные средства I (далее НСПВЛС), такие как пироксикам, диклофенак, пропионовые кислоты, такие как напроксен, флурбипрофен, фенопрофен, кетопрофен и ибупрофен, фенаматы, такие как мефенаминовая кислота, индометацин, сулиндак, апазон, пиразолоны, такие как фенилбутазон, салицилаты, такие как аспирин, ингибиторы COX-2, такие как целекоксиб, валдекоксиб, лумиракоксиб и эторикоксиб, анальгетики и средства для внутриглазной терапии, такие как кортикостероиды и гиалуроновые кислоты, такие как гиалган и синвиск.

Соединения, ингибирующие PI3K, также можно использовать в комбинации с противовирусными средствами, такими как вирацепт, AZT, ацикловир и фамцикловир, и антисептиками, такими как валант.

Соединения, ингибирующие PI3K, также можно использовать в комбинации со средствами, действующими на центральную нервную систему (ЦНС), такими как антидепрессанты (сертралин), лекарственные средства для лечения болезни Паркинсона (такие как депренил, L-дора, реквип, мирапекс, ингибиторы MAOB, такие как селегин и расагилин, ингибиторы comP, такие как тасмар, ингибиторы A-2, ингибиторы повторного всасывания допамина, антагонисты NMDA, агонисты никотина, агонисты допамина и ингибиторы нейронной синтазы оксида азота) и лекарственные средства для лечения болезни Альцгеймера, такие как донеперил, такрин, α , β , δ ингибиторы, нейротин, прегабалин, ингибиторы COX-2, пропентофиллин или метрифонат.

Соединения, ингибирующие PI3K, также можно использовать в комбинации со средствами для лечения остеопороза, такими как эвиста (ралоксифенгидрохлорид), дролоксифен, лазофоксифен или фосамакс, и иммунодепрессантами средствами, такими как FK-506 и рапамицин.

Предлагаемые соединения можно использовать в виде наборов, которые включают одно или большее количество соединений согласно настоящему изобретению. Типичные наборы включают ингибитор PI3K, предлагаемый в настоящем изобретении (например, соединение формулы I), и листок-вкладыш или другую маркировку, содержащую указания для лечения клеточного пролиферативного заболевания путем введения ингибирующего PI3K количества соединения.

Приведенные ниже определения предназначены для того, чтобы лучше понять изобретение.

"Алкил" означает алкильные группы, которые не содержат гетероатомы. Этот термин включает алкильные группы с линейной цепью, такие как метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, нонил, децил, ундецил, додецил и т.п. Термин также включает обладающие разветвленной цепью изомеры линейных алкильных групп, включая, но не ограничиваясь только ими, следующие, приведенные в качестве примеров: $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$

$\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ и др. Таким образом, выражение "алкильные группы" включает первичные алкильные группы, вторичные алкильные группы и третичные алкильные группы. Предпочтительные алкильные группы включают обладающие линейной и разветвленной цепью алкильные группы, содержащие от 1 до 12 атомов углерода или от 1 до 6 атомов углерода.

Алкильные группы могут быть замещенными. "Замещенный алкил" означает алкильную группу, определенную выше, в которой одна или большее количество связей с атомом (атомами) углерода или водорода заменены на связь с атомом, не являющимся атомом водорода и атомом углерода. Примерами заместителей замещенного алкила являются: $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{NH}_2$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NHSO}_2\text{CH}_3$, $-\text{NHCOCCH}_3$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{OCH}_3$, $-\text{NHSO}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, галоген.

"Алкоксигруппа" означает $\text{RO}-$, в которой R обозначает алкил. Типичные примеры алкоксигрупп включают метоксигруппу, этоксигруппу, трет-бутоксигруппу, трифторметоксигруппу и т.п.

"Галоген" означает хлоридную, бромидную, фторидную и йодидную группы. Термин "галогеналкил" означает алкильный радикал, замещенный одним или большим количеством атомов галогенов.

"Аминогруппа" в настоящем изобретении означает группу $-\text{NH}_2$. Термин "алкиламиногруппа" в настоящем изобретении означает группу $-\text{NRR}'$, в которой R обозначает алкил и R' обозначает водород или алкил.

"Алкоксиалкил" означает группу $-\text{alk}_1-\text{O}-\text{alk}_2$, в которой alk_1 и alk_2 означают алкил.

"Амиокарбонил" в настоящем изобретении означает группу $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}_2$.

"Карбонил" означает двухвалентную группу $-\text{C}(\text{O})-$.

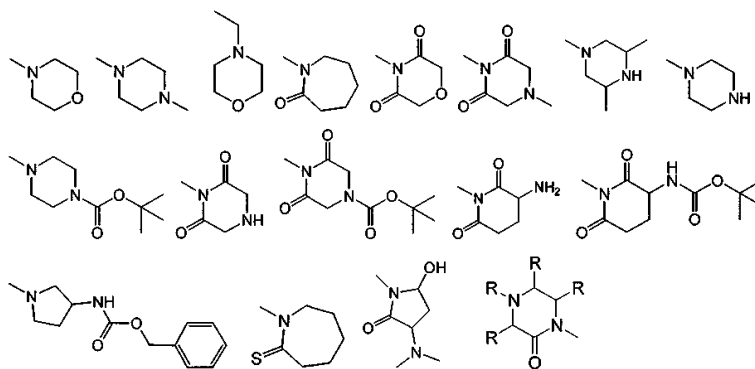
"Гуанидиновая группа" или "гуанидил" означает фрагменты, образованные из гуанидина, $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$. Такие фрагменты включают присоединенные по атому азота, обладающему формальной двойной связью (положение "2" гуанидина, например диаминометиленаминогруппу, $(\text{H}_2\text{N})_2\text{C}=\text{NH}-$), и присоединенные по атому азота, обладающему формальной ординарной связью (положения "1" и/или "3" гуанидина, например $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}-$). Атомы водорода, присоединенные к одному или большему количеству атомов азота, могут быть заменены на подходящий заместитель, такой как алкил, арил или арилалкил.

"Амидиновая группа" означает фрагменты $\text{R}-\text{C}(=\text{N})-\text{NR}'$ (радикал присоединен к атому азота "N¹") и $\text{R}(\text{NR}')\text{C}=\text{N}-$ (радикал присоединен к атому азота "N²"), в которых R и R' могут обозначать водород, алкил, арил или арилалкил.

"Замещенный гетероцикл", "гетероциклическая группа", "гетероцикл" или "гетероциклил" при использовании в настоящем изобретении означают любое 3-или 4-членное кольцо, содержащее гетероатом, выбранный из группы, включающей азот, кислород и серу, или 5- или 6-членное кольцо, содержащее от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из группы, включающей азот, кислород и серу; где 5-членное кольцо содержит 0-2 двойных связей и 6-членное кольцо содержит 0-3 двойных связей; где атомы азота и серы необязательно могут быть окислены; где атомы азота и серы необязательно могут кватернизованы; и включает любую бициклическую группу, в которой любое из указанных выше гетероциклических колец сконденсировано с бензольным кольцом. Примеры гетероциклических групп включают, но не ограничиваются только ими, ненасыщенные 3-8-членные кольца, содержащие 1-4 атома азота, такие как, но не ограничиваясь только ими, пирролил, дигидропиридил, пиримидил, пиазинил, тетразолил (например, 1H-тетразолил, 2H-тетразолил); конденсированные ненасыщенные гетероциклические группы, содержащие 1-4 атома азота, такие как, но не ограничиваясь только ими, изоиндолил, индолинил, индолизинил, хинолил, индазолил; ненасыщенные 3-8-членные кольца, содержащие 1-2 атома кислорода и 1-3 атома азота, такие как, но не ограничиваясь только ими, оксадиазолил (например, 1,2,4-оксадиазолил, 1,3,4-оксадиазолил, 1,2,5-оксадиазолил); насыщенные 3-8-членные кольца, содержащие 1-2 атома кислорода и 1-3 атома азота, такие как, но не ограничиваясь только ими, морфолинил; ненасыщенные конденсированные гетероциклические группы, содержащие 1-2 атома кислорода и 1-3 атома азота, например бензоксадиазолил, бензоксазинил (например, 2H-1,4-бензоксазинил); ненасыщенные 3-8-членные кольца, содержащие 1-3 атома серы и 1-3 атома азота, такие как, но не ограничиваясь только ими, тиadiaзолил (например, 1,2,3-тиadiaзолил, 1,2,4-тиadiaзолил, 1,3,4-тиadiaзолил, 1,2-тиadiaзолил); насыщенные 3-8-членные кольца, содержащие 1-2 атома серы и 1-3 атома азота, такие как, но не ограничиваясь только ими, тиазодиинил; насыщенные и ненасыщенные 3-8-членные кольца, содержащие 1-2 атома серы, такие как, но не ограничиваясь только ими, дигидродитиенил, дигидродитионил, тетрагидротииофен, тетрагидротииопиран; ненасыщенные конденсированные гетероциклические кольца, содержащие 1-2 атома серы и 1-3 атома азота, такие как, но не ограничиваясь только ими, бензотиадиазолил, бензотиазинил (например, 2H-1,4-бензотиазинил), дигидробензотиазинил (например, 2H-3,4-дигидробензотиазинил), ненасыщенные 3-8-членные кольца, содержащие атомы кислорода, такие как, но не ограничиваясь только ими, фурил; ненасыщенные конденсированные гетероциклические кольца, содержащие 1-2 атома кислорода, такие как бензодиоксолил (например, 1,3-бензодиоксолил); ненасыщенные 3-8-членные кольца, содержащие атом кислорода и 1-2 атома серы, такие как, но не ограничиваясь только ими, дигидроокса-

тиенил; насыщенные 3-8-членные кольца, содержащие 1-2 атома кислорода и 1-2 атома серы, такие как 1,4-оксатиан; ненасыщенные конденсированные кольца, содержащие 1-2 атома серы, такие как бензоди-тиенил; и ненасыщенные конденсированные гетероциклические кольца, содержащие атом кислорода и 1-2 атома кислорода, такие как бензоксатиенил. Предпочтительные гетероциклические группы включают, например, diaзепинил, пиррил, пирролинил, пирролидинил, пиразолил, пиразолинил, пиразолидинил, имидазолил, имидазолинил, имидазолидинил, пиридил, пиперидинил, пиразинил, пиперазинил, N-метил пиперазинил, азетидинил, N-метилазетидинил, пиримидинил, пиридазинил, оксазолил, оксазолидинил, изоксазолил, изоксазолидинил, морфолинил, тиазолил, тиазолидинил, изотиазолил, изотиазолидинил, индолил, хинолинил, изохинолинил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензоксазолил, фурил, тиенил, триазолил и бензотиенил. Гетероциклические группы также включают описанные выше, в которых один или большее количество атомов S кольца связан двойной связью с одним или двумя атомами кислорода (сульфоксиды и сульфоны). Например, гетероциклические группы включают тетрагидротиофен, тетрагидротиофеноксид и тетрагидротиофен-1,1-диоксид. Предпочтительные гетероциклические группы содержат 5 или 6 элементов кольца. Более предпочтительные гетероциклические группы включают пиперазин, 1,2,3-триазол, 1,2,4-триазол, тетразол, тиоморфолин, гомопиперазин, оксазолидин-2-он, пирролидин-2-он, хинуклидин и тетрагидрофуран.

Гетероциклические группы могут быть присоединены в разных положениях, как это должно быть очевидно специалистам в области органической и медицинской химии в связи с раскрытием в настоящем изобретении



где R обозначает H или гетероциклический заместитель, описанный в настоящем изобретении.

Типичные гетероциклические группы включают, например, имидазолил, пиридил, пиперазинил, азетидинил, тиазолил, фуранил, триазолил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензоксазолил, хинолинил, изохинолинил, хиназолинил, хиноксалинил, фталазинил, индолил, нафтпиридинил, индазолил и хиноли-зинил.

"Необязательно замещенный" или "замещенный" означает замещение водорода одним или большим количеством одновалентных или двухвалентных радикалов. Подходящие замещающие группы включают, например, гидроксигруппу, нитрогруппу, аминогруппу, иминогруппу, цианогруппу, галоген, тио-группу, сульфонил, тиаамидную группу, амидиновую группу, имидиновою группу, оксогруппу, оксами-диновую группу, метоксамидиновую группу, имидиновою группу, гуанидиновую группу, сульфонамид-ную группу, карбоксигруппу, формил, алкил, замещенный алкил, галогеналкил, алкиламиногруппу, га-логеналкиламиногруппу, алкоксигруппу, галогеналкоксигруппу, алкоксиалкил, алкилкарбонил, амина-карбонил, фенилкарбонил, фениллакилкарбонил, алкилтиогруппу, аминал, цианоалкил, фенил, бен-зил, пиридил, пиразолил, пиррол, тиофен, имидазолил и т.п.

Если замещенный заместитель включает группу, обладающую линейной цепью, то замещение мо-жет происходить внутри цепи (например, 2-гидроксипропил, 2-аминобутил и т.п.) или в конце цепи (на-пример, 2-гидроксиэтил, 3-цианопропил и т.п.). Замещенные заместители могут представлять собой об-ладающую линейной цепью, разветвленную или циклическую группировку ковалентно связанных ато-мов углерода или гетероатомов.

Термин "защищенная" для гидроксигрупп, аминогрупп и сульфгидрильных групп означает формы этих функциональных групп, которые защищены от нежелательных реакций защитными группами, из-вестными специалистам в данной области техники, такими как указанные в публикации *Protective Groups in Organic Synthesis*, Greene, T.W.; Wuts, P.G.M., John Wiley & Sons, New York, NY, (3rd Edition, 1999), которые можно вводить или удалять по приведенным в них методикам. Примеры защищенных гидро-ксигрупп включают, но не ограничиваются только ими, силиловые простые эфиры, такие как получае-мые по реакции гидроксигруппы с реагентом, таким как, но не ограничиваясь только ими, трет-бутилдиметилхлорсилан, триметилхлорсилан, триизопропилхлорсилан, триэтилхлорсилан; замещенные метиловые и этиловые простые эфиры, такие как, но не ограничиваясь только ими, метоксиметиловый эфир, метилтиометиловый эфир, бензилоксиметиловый эфир, трет-бутоксиметиловый эфир, 2-метоксиэтоксиметиловый эфир, тетрагидропираниловые простые эфиры, 1-этоксиэтиловый эфир, аллил-ловый эфир, бензиловый эфир; сложные эфиры, такие как, но не ограничиваясь только ими, бензоил-

формиат, формиат, ацетат, трихлорацетат и трифторацетат. Примеры защищенных аминогрупп включают, но не ограничиваются только ими, амиды, такие как формамид, ацетамид, трифторацетамид и бензамид; имиды, такие как фталимид и дитиосукцинимид; и др. Примеры защищенных сульфгидрильных групп включают, но не ограничиваются только ими, простые тиоэфиры, такие как S-бензиловый тиоэфир и S-4-пикколиловый тиоэфир; замещенные S-метилпроизводные, такие как гемитио-, дитио- и аминотио-ацетали; и др.

"Защищенная карбоксигруппа" означает карбонильную группу, которая этерифицирована одной из обычно применяющихся сложноэфирных групп, использующихся для блокирования или защиты карбоксигруппы, когда проводят реакции, в которых участвуют другие функциональные группы соединения. Кроме того, карбоксигруппу для ее защиты можно связать с твердой подложкой и соединение остается связанным с твердой подложкой в виде карбоксилата, пока оно не будет отщеплено с помощью методик гидролиза с высвобождением соответствующей свободной кислоты. Типичные защищенные карбоксигруппы включают, например, алкиловые эфиры, вторичные амиды и т.п.

Некоторые соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, содержат асимметрично замещенные атомы углерода. Такие асимметрично замещенные атомы углерода могут привести к соединениям, предлагаемым в настоящем изобретении, представляющим собой смеси стереоизомеров по конкретному асимметрично замещенному атому углерода или отдельный стереоизомер. Поэтому рацемические смеси, смеси диастереоизомеров, а также отдельные диастереоизомеры соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, включены в настоящее изобретение. Термины "S-" и "R- конфигурация" при использовании в настоящем изобретении обладают значениями, определенными в публикации IUPAC 1974 "Recommendations for Section E, Fundamental Stereochemistry", Pure Appl. Chem. 45:13-30, 1976. Обозначения α и β используются для определения положений циклов в циклических соединениях.

α -Положение в рассматриваемой плоскости является положением, в котором предпочтительный заместитель расположен в положении с меньшим номером. Заместители, расположенные с противоположной стороны рассматриваемой плоскости, отмечают символом β . Следует отметить, что эти обозначения отличаются от обозначений циклических стереоизомеров, для которых " α " означает "ниже плоскости" и обозначает абсолютную конфигурацию. Термины α - и β -конфигурация при использовании в настоящем изобретении обладают значениями, определенными в публикации "Chemical Abstracts Index Guide," Appendix IV, paragraph 203, 1987.

При использовании в настоящем изобретении термин "фармацевтически приемлемые соли" означает соли нетоксичной кислоты или соли нетоксичного щелочно-земельного металла пиримидинов, предлагаемых в настоящем изобретении. Эти соли можно получить *in situ* при окончательном выделении и очистке пиримидинов или путем отдельных реакций основных или кислотных групп с подходящей органической или неорганической кислотой или основанием соответственно. Типичные соли включают, но не ограничиваются только ими, следующие: ацетат, адипат, альгинат, цитрат, аспартат, бензоат, бензолсульфонат, бисульфат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, диглюконат, циклопентанпропионат, додецилсульфат, этансульфонат, глюкогептаноат, глицерофосфат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, фумарат, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактат, малеат, метансульфонат, никотинат, 2-нафталинсульфонат, оксалат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, пикрат, пивалат, пропионат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, п-толуолсульфонат и ундеcanoат. Кроме того, основные азотсодержащие группы можно кватернизировать такими реагентами, как алкилгалогениды, такие как метил-, этил-, пропил- и бутилхлориды, -бромиды и -йодиды; диалкилсульфаты, такие как диметил-, диэтил-, дибутил- и диамилсульфаты, галогениды с длинными цепями, такие как децил-, лаурил-, миристил- и стеарилхлориды, -бромиды и -йодиды, арилалкилгалогениды, такие как бензил- и фенетилбромиды и др. Таким образом получают растворимые или диспергирующиеся в воде или масле продукты.

Примеры кислот, которые можно использовать для получения фармацевтически приемлемых солей присоединения с кислотами, включают такие неорганические кислоты, как хлористо-водородная кислота, бромисто-водородная кислота, азотная кислота, серная кислота и фосфорная кислота, и такие органические кислоты, как муравьиная кислота, уксусная кислота, трифторуксусная кислота, фумаровая кислота, винная кислота, щавелевая кислота, матеиновая кислота, метансульфоновая кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, метансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота и п-толуолсульфоновая кислота, лимонная кислота, и аминокислоты, такие как аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота.

Соли присоединения с основаниями можно получить *in situ* при окончательном выделении и очистке пиримидинов или путем отдельных реакций кислотных групп карбоновых кислот с подходящим основанием, таким как гидроксид, карбонат или бикарбонат фармацевтически приемлемого катиона металла, или с аммиаком либо с первичным, вторичным или третичным органическим амином. Фармацевтически приемлемые соли включают, но не ограничиваются только ими, соли, содержащие катионы щелочных и щелочно-земельных металлов, такие как соли натрия, лития, калия, кальция, магния, алюминия и т.п., а также нетоксичные соли аммония, четвертичного аммония и аминов, включая, но не ограничиваясь только ими, соли аммония, тетраметиламмония, тетраэтиламмония, метиламина, диметиламина, три-

метиламина, триэтиламина, этиламина и т.п. Другие типичные органические амины, применяющиеся для получения солей присоединения с основаниями, включают диэтиламин, этилендиамин, этаноламин, диэтанолламин, пиперазин, пиридин, пиколин, триэтанолламин и т.п. и основные аминокислоты, такие как аргинин, лизин и орнитин.

Термин "фармацевтически приемлемый сложный эфир" означает сложные эфиры, которые гидролизуются *in vivo*, и включают такие, которые легко разрушаются в организме человека с высвобождением исходного соединения или его соли. Подходящие сложноэфирные группы включают, например, образованные из фармацевтически приемлемых алифатических карбоновых кислот, предпочтительно алканкарбоновых, алкенкарбоновых, циклоалканкарбоновых и алкандикарбоновых, в которых каждый алкильный или алкенильный фрагмент предпочтительно содержит не более 6 атомов углерода. Типичные примеры предпочтительных сложных эфиров включают, но не ограничиваются только ими, формиаты, ацетаты, пропионаты, бутираты, акрилаты и этилсукцинаты.

Термин "фармацевтически приемлемые пролекарства" означает соединения, которые с медицинской точки зрения применимы для взаимодействия с тканями человека и низших животных без проявления нежелательной токсичности, раздражения, аллергической реакции и т.п., характеризуются разумным соотношением польза/риск и эффективны для применения по назначению, а также, когда это возможно, цвиттерионные формы соединений. Термин "пролекарство" означает соединения, которые быстро подвергаются превращению *in vivo* и образуют исходные соединения указанной выше формулы, например, путем гидролиза в крови. Подробное обсуждение приведено в публикациях Higuchi T. and V. Stella, "Prodrugs as Novel Delivery Systems", A.C.S. Symposium Series 14 и "Bioreversible Carriers in Drug Design", in Edward B. Roche (ed.), American Pharmaceutical Association, Pergamon Press, 1987, которые включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

"Лечение" в контексте настоящего изобретения означает ослабление симптомов, связанных с нарушением или заболеванием, или остановку дальнейшего развития или ухудшения этих симптомов, или предупреждение или профилактику заболевания или нарушения. Например, при лечении пациентов, которым необходим ингибитор РІЗК, успешное лечение может включать уменьшение пролиферации капилляров, питающих опухоль или пораженную ткань, ослабление симптомов, связанных с ростом рака или опухоли, пролиферацией капилляров или пораженной ткани, остановку пролиферации капилляров или остановку прогрессирования заболевания, такого как рак, или роста раковых клеток. Лечение также может включать введение фармацевтических композиций, предлагаемых в настоящем изобретении, в сочетании с другими методиками лечения. Например, соединения и фармацевтические композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, можно вводить до, во время или после хирургического вмешательства и/или лучевой терапии. Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также можно вводить совместно с другими противораковыми лекарственными средствами, включая применяющиеся при антисмысловой и генной терапии.

При использовании в настоящем изобретении "ограничение" и "лечение" заменяют термины "ограничивать" и "лечить" и при использовании в настоящем изобретении они включают предупредительное (например, профилактическое) и паллиативное лечение или проведение предупредительного или паллиативного лечения.

Термин "нарушение, опосредуемое РІЗК" означает нарушение, которое можно эффективно лечить путем ингибирования РІЗК.

Термин "клеточные пролиферативные заболевания" означает заболевания, включающие, например, рак, опухоль, гиперплазию, рестеноз, гипертрофию сердца, иммунное нарушение и воспаление.

Термин "рак" означает раковые заболевания, которые можно эффективно лечить путем ингибирования РІЗК, включая, например, раковые заболевания легких и бронхов, предстательной железы, молочной железы, поджелудочной железы, ободочной и прямой кишки, щитовидной железы, печени и внутрипеченочных желчных протоков, гепатоцеллюлярные заболевания, желудка, глиому/глиобластому, эндометрия, меланому, почек и почечных лоханок, мочевого пузыря, тела матки, шейки матки, яичников, множественную миелому, пищевода, острый миелолейкоз, хронический миелолейкоз, лимфолейкоз, миелолейкоз головного мозга, полости рта и глотки, гортани, тонкого кишечника, неходжкинскую лимфому, меланому и ворсинчатую аденому ободочной кишки.

Ингибиторы РІЗК, предлагаемые в настоящем изобретении, описанные в настоящем изобретении, можно вводить в виде солей присоединения с кислотами. Эти соли обычно получают по реакции соединения, если оно является основанием, с подходящей кислотой, такой как описана выше. Соли быстро получают с высокими выходами при умеренных температурах и часто их получают просто выделением соединения из подходящего кислого промывочного раствора на заключительной стадии синтеза. Солеобразующую кислоту растворяют в подходящем органическом растворителе или смеси воды и органического растворителя, такого как алканол, кетон или сложный эфир. С другой стороны, если соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, необходимо получить в виде свободного основания, то его выделяют на заключительной стадии из щелочного промывочного раствора в соответствии с обычной практикой. Предпочтительной методикой получения гидрохлоридов является растворение свободного основания в подходящем растворителе и тщательная сушка раствора, например, над молекулярными ситами,

с последующим пропусканием газообразного хлорида водорода. Также следует понимать, что можно вводить аморфные формы ингибиторов РІЗК.

Изотопно-меченые ингибиторы РІЗК представляют собой соединения, которые по структуре идентичны раскрытым выше, но в которых один или большее количество атомов заменены на атом, обладающий атомной массой или атомным номером, отличным от обычно встречающегося в природе. Примеры изотопов, которые можно вводить в соединения, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора и хлора, такие как ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F и ^{36}Cl соответственно. Некоторые изотопно-меченые соединения, например, такие, в которые введены радиоактивные изотопы, такие как ^3H и ^{14}C , применимы в лекарственных средствах и/или при анализах распределения в тканях. Тритированные, т.е. содержащие изотоп ^3H , и углерод-14, т.е. ^{14}C , являются особенно предпочтительными, поскольку их легко приготовить и обнаружить. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, т.е. ^2H , может обеспечить некоторые терапевтические преимущества, обусловленные их более высокой метаболической стабильностью, например увеличенной длительностью полувыведения или возможностью использования меньших доз, и поэтому при некоторых условиях они могут быть предпочтительными. Изотопно-меченые соединения и их пролекарства обычно можно получить по известным или стандартным методикам и путем замены не содержащего изотопа реагента на легкодоступный изотопно-меченый реагент.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, применимы для подавления роста раковых клеток *in vitro* или *in vivo*. Соединения можно использовать по отдельности или в композициях совместно с фармацевтически приемлемым носителем или инертным наполнителем. Фармацевтические композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, включают терапевтически эффективное количество ингибитора фосфатидилинозит 3-киназы, описанного в настоящем изобретении, приготовленного совместно с одним или большим количеством фармацевтически приемлемых носителей. При использовании в настоящем изобретении термин "фармацевтически приемлемый носитель" означает нетоксичный, инертный твердый, полужидкий или жидкий носитель, разбавитель, капсулирующее вещество или вспомогательное вещество любого типа, используемое для приготовления композиций. Некоторыми примерами веществ, которые могут выступать в качестве фармацевтически приемлемых носителей, являются сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлоза и ее производные, такие как натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлоза и ацетилцеллюлоза; порошкообразная трагакантовая камедь; солод; желатин; тальк; инертные наполнители, такие как масло какао и воска для изготовления суппозитория; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар-агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновая кислота; апиогенная вода; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт и фосфатные буферные растворы, а также другие нетоксичные совместимые смазывающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также окрашивающие агенты, агенты, обеспечивающие отделение от пресс-форм, агенты для нанесения покрытий, подсластители, вкусовые добавки и отдушки, консерванты и антиоксиданты, которые также могут содержаться в композиции в соответствии с решением составителя композиции. Другие подходящие фармацевтически приемлемые инертные наполнители описаны в публикации "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Pub. Co., New Jersey, 1991, которая включена в настоящее изобретение в качестве ссылки.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно вводить людям и другим животным перорально, парентерально, сублингвально, с помощью аэрозоля или ингаляции спрея, ректально, интрацестерально, вагинально, внутривентриально, трансбуккально или местно в виде разовых доз композиций, при необходимости содержащих обычные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества и растворители. Местное введение также может включать применение средств чрескожного введения, таких как чрескожные пластыри или устройства для ионофореза. Термин "парентерально" при использовании в настоящем изобретении включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, надчревные инъекции и вливание.

Технологии приготовления композиций хорошо известны в данной области техники и описаны, например, в публикации Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 19th Edition (1995). Фармацевтические композиции, предлагаемые для применения в настоящем изобретении, могут представлять собой стерильные апиогенные жидкие растворы или суспензии, капсулы с покрытием, суппозитории, лиофилизированные порошки, чрескожные пластыри и другие формы, известные в данной области техники.

Препараты для инъекции, например стерильные водные или масляные суспензии для инъекции, можно приготовить с использованием известных в данной области техники подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный препарат для инъекции также может представлять собой стерильный раствор, суспензию или эмульсию для инъекции в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например раствор в 1,3-пропандиоле или 1,3-бутандиоле. В число приемлемых носителей и разбавителей, которые можно использовать, входят вода,

раствор Рингера, соответствующий ФСША (Фармакопея США) и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое жидкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, для приготовления средств для инъекции используют жирные кислоты, такие как олеиновая кислота. Композиции для инъекции можно стерилизовать, например, фильтрованием через задерживающий бактерии фильтр или путем введения стерилизующих средств и получить стерильные твердые композиции, которые перед использованием можно растворить или диспергировать в стерильной воде или другой стерильной среде для инъекции.

Для продления воздействия лекарственного средства часто желательно замедлить всасывание лекарственного средства, введенного с помощью подкожной или внутримышечной инъекции. Это можно выполнить путем использования жидкой суспензии кристаллического или аморфного вещества, плохо растворимого в воде. В этом случае скорость всасывания лекарственного средства зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и используемой кристаллической формы. Альтернативно, замедлить всасывание введенного парентерально лекарственного средства можно путем растворения или суспендирования лекарственного средства в масляном носителе. Вводимые путем инъекции формы-депо готовят путем формирования микрокапсулирующих матриц лекарственного средства в биологически разлагающихся полимерах, таких как полилактид-полигликолид. Путем подбора отношения количества лекарственного средства к количеству матрицы и конкретного используемого полимера можно регулировать скорость высвобождения лекарственного средства. Примеры других биологически разлагающихся полимеров включают поли(ортоэфир) и поли(ангидриды). Вводимые путем инъекции композиции-депо также можно приготовить путем включения лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканями организма.

Композиции для ректального или вагинального введения предпочтительно представляют собой суппозитории, которые можно приготовить путем смешивания соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, с подходящими не оказывающими раздражающее воздействие инертными наполнителями или носителями, такими как масло какао, полиэтиленгликоль или воск для суппозитория, которые являются твердыми при температуре окружающей среды, но жидкими при температуре тела, и поэтому плавятся в прямой кишке или полости влагалища и высвобождают активное соединение.

Твердые дозированные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых дозированных формах активное соединение смешивают по меньшей мере с одним инертным фармацевтически приемлемым инертным наполнителем или носителем, таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат и/или а) наполнителями или средствами, увеличивающими объем, такими как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота, б) связующими, такими как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидин, сахароза и камедь акации, с) влагоудерживающими веществами, такими как глицерин, d) агентами, обеспечивающим распадаемость, такими как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или маниоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия, e) агентами, замедляющими растворение, такими как парафин, f) ускорителями впитывания, такими как четвертичные аммониевые соединения, g) смачивающими агентами, такими как, например, пропанол и моностеарат гликоля, h) впитывающими средствами, такими как каолин и бентонитовая глина и i) смазывающими веществами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси. В случае капсул, таблеток и пилюль дозированная форма также может включать буферные агенты.

Твердые композиции аналогичного типа также можно использовать в качестве наполнителей в заполненных капсулах из мягкого или твердого желатина с применением таких инертных наполнителей, как лактоза или молочный сахар, а также обладающие большой молекулярной массой полиэтиленгликоли и т.п.

Твердые дозированные формы в виде таблеток, драже, капсул, пилюль и гранул можно изготовить с покрытиями или оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в технологии приготовления фармацевтических средств. Они необязательно могут содержать агенты, придающие непрозрачность, а также могут обладать таким составом, чтобы активный ингредиент (ингредиенты) высвобождался только или предпочтительно на определенном участке кишечника, необязательно в замедленном режиме. Примеры веществ, которые можно использовать для таких целей, включают полимерные вещества и воска.

Активные соединения также можно использовать в микрокапсулированном виде с одним или большим количеством инертных наполнителей, указанных выше. Твердые дозированные формы в виде таблеток, драже, капсул, пилюль и гранул можно изготовить с покрытиями или оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия, покрытия, регулирующие высвобождение, и другие покрытия, хорошо известные в технологии приготовления фармацевтических средств. В таких твердых дозированных формах активное соединение можно смешать по меньшей мере с одним инертным разбавителем, таким как сахароза, лактоза или крахмал. Такие дозированные формы могут включать, что является обычной практикой, дополнительные вещества, не являющиеся инертными разбавителями, например смазывающие

вещества для таблеток и другие средства, использующиеся в таблетках, такие как стеарат магния и микрокристаллическая целлюлоза. В случае капсул, таблеток и пилюль дозированные формы также могут включать буферные агенты. Они необязательно могут содержать агенты, придающие непрозрачность, а также могут обладать таким составом, чтобы активный ингредиент (ингредиенты) высвобождался только или предпочтительно на определенном участке кишечника, необязательно в замедленном режиме. Примеры веществ, которые можно использовать для таких целей, включают полимерные вещества и воска.

Жидкие дозированные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к активным соединениям жидкие дозированные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, EtOAc, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, из зародышей, оливковое, касторовое, кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли, и сложные эфиры сорбита и жирных кислот и их смеси. Кроме инертных разбавителей композиции для перорального введения также могут содержать вспомогательные вещества, такие как смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подсластители, вкусовые добавки и отдушки.

Дозированные формы для местного или чрескожного введения соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, включают мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, порошки, растворы, спреи, формы для ингаляции и пластыри. Активный компонент в стерильных условиях смешивают с фармацевтически приемлемым носителем и любыми консервантами или буферными веществами, которые могут потребоваться. Офтальмологические композиции, глазные капли и т.п. также входят в объем настоящего изобретения.

Мази, пасты, кремы и гели в дополнение к активному соединению, предлагаемому в настоящем изобретении, могут содержать инертные наполнители, такие как животные и растительные жиры, масла, воска, парафины, крахмал, трагакантовую камедь, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремниевую кислоту, тальк и оксид цинка или их смеси.

Композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, также можно приготовить для введения в виде жидкого аэрозоля или сухого порошка для вдыхания. Жидкие аэрозольные композиции можно измельчать до частиц такого размера, чтобы они могли попадать в концевые и дыхательные бронхиолы.

Аэрозольные композиции можно вводить с помощью устройств, формирующих аэрозоли, таких как струйное устройство, колеблющаяся пористая пластинка или ультразвуковое распыляющее устройство, предпочтительно выбранное из числа способных формировать частицы аэрозоля, обладающие средним диаметром, в основном находящимся в диапазоне от 1 до 5 мкм. Кроме того, предпочтительно, чтобы композиция обладала сбалансированной осмоляльностью, ионной силой и концентрацией хлорида и наименьшим объемом, из которого в инфицированное положение можно ввести эффективную дозу соединений, предлагаемых в настоящем изобретении. Кроме того, предпочтительно, чтобы аэрозольная композиция не оказывала неблагоприятное воздействие на функционирование дыхательных путей и не приводила к нежелательным побочным эффектам.

Формирующие аэрозоли устройства, пригодные для введения аэрозольных композиций, включают, например, струйные, содержащие колеблющуюся пористую пластинку, или ультразвуковые распыляющие устройства и ингаляторы для сухих порошков с электропитанием, которые способны распылять композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, с образованием частиц аэрозоля, обладающих размером, в основном находящимся в диапазоне 1-5 мкм. Выражение "в основном" означает, что не менее 70%, но предпочтительно более 90% всех образовавшихся частиц аэрозоля обладают размером, находящимся в диапазоне 1-5 мкм. Струйное распыляющее устройство действует за счет давления воздуха, который разделяет жидкий раствор на капельки аэрозоля. Распыляющие устройства, содержащие колеблющуюся пористую пластинку, действуют за счет звуковой волны, образуемой колеблющейся пористой пластинкой, которая экструдирует капельки растворителя через пористую пластинку. Ультразвуковое распыляющее устройство действует с помощью пьезоэлектрического кристалла, который с помощью сдвигового усилия разделяет жидкость на капельки аэрозоля. Имеются различные подходящие устройства, включая, например, содержащие колеблющуюся пористую пластинку распыляющие устройства AERONEB и AERODOSE (AeroGen, Inc., Sunnyvale, California), распыляющие устройства SIDESTREAM (Medic-Aid Ltd., West Sussex, England), струйные распыляющие устройства PARI LC и PARI LC STAR (Pari Respiratory Equipment, Inc., Richmond, Virginia) и ультразвуковые распыляющие устройства AEROSONIC (DeVilbiss Medizinische Produkte (Deutschland) GmbH, Heiden, Germany) и ULTRAIRE (Omron Healthcare, Inc., Vernon Hills, Illinois).

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также можно приготовить для использования в виде порошков и спреев местного действия, которые в дополнение к соединениям, предлагаемым в настоящем изобретении, могут содержать инертные наполнители, такие как лактозу, тальк, кремниевую кислоту, гидроксид алюминия, силикаты кальция и порошкообразный полиамид или смеси этих веществ. Спреи могут дополнительно содержать обычные пропелленты, такие как хлорфторуглеводороды.

Чрескожные пластыри обладают тем дополнительным преимуществом, что обеспечивают регулируемое введение соединения в организм. Такие дозированные формы можно приготовить путем растворения или диспергирования соединения в подходящей среде. Для увеличения потока соединения через кожу также можно использовать средства, улучшающие впитывание. Скорость можно регулировать путем использования регулирующей скорости мембраны или путем диспергирования соединения в полимерной матрице или геле. Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также можно вводить в виде липосом. Как известно в данной области техники, липосомы обычно получают из фосфолипидов или других липидов. Липосомы формируются моно- или многослойными гидратированными жидкими кристаллами, которые диспергированы в водной среде. Можно использовать любой нетоксичный физиологически приемлемый и подвергающийся метаболизму липид, способный образовывать липосомы. Композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, в дополнение к соединению, предлагаемому в настоящем изобретении, могут содержать стабилизаторы, консерванты, инертные наполнители и т.п. Предпочтительными липидами являются фосфолипиды и фосфатидилхлориды (лецитины), натуральные и синтетические. Методики приготовления липосом известны в данной области техники; см., например, публикацию Prescott (ed.), "Methods in Cell Biology," Volume XIV, Academic Press, New York, 1976, p. 33 et seq.

Эффективные количества соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, обычно представляют собой любые количества, достаточные для ингибирования активности PI3K, обнаруживаемого с помощью любой из методик исследования, описанных в настоящем изобретении, с помощью других методик исследования активности PI3K, известных специалистам с общей подготовкой в данной области техники, или обнаруживаемого по подавлению или ослаблению симптомов рака. Количество активного ингредиента, которое можно объединить с носителями с получением разовой дозированной формы, будет меняться в зависимости от подвергающегося лечению реципиента и конкретного пути введения. Однако следует понимать, что точная доза для любого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола, диеты, времени введения, пути введения, скорости выведения, комбинации лекарственных средств и тяжести конкретного заболевания, подвергающегося лечению. В каждом случае терапевтически эффективное количество можно легко определить с помощью стандартных исследований и на основании своей профессиональной подготовки решение принимает лечащий врач.

В способах лечения, предлагаемых в настоящем изобретении, рост опухоли ослабляется или предупреждается у пациента, такого как человек или низшее млекопитающее, путем введения пациенту терапевтически эффективного количества соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, в таких количествах и в течение такого времени, которые необходимы для получения необходимого результата. "Терапевтически эффективное количество" соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, означает количество соединения, достаточное для борьбы с ростом опухоли при разумном соотношении польза/риск, относящемся к любому медикаментозному лечению. Однако следует понимать, что полную суточную дозу соединений и композиций, предлагаемых в настоящем изобретении, будет определять лечащий врач на основании тщательного медицинского анализа. Конкретная терапевтически эффективная доза для любого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, включая подвергающееся лечению нарушение и тяжесть нарушения, активность конкретного используемого соединения, конкретную используемую композицию, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и диету пациента, время введения, путь введения и скорость выведения конкретного используемого соединения, длительность лечения, лекарственные средства, используемые в комбинации или совместно с конкретным используемым соединением, и аналогичные факторы, хорошо известные в медицине.

Терапевтически эффективная доза обычно представляет собой полную суточную дозу, вводимую реципиенту в виде одной или разделенных доз в количествах, которые могут составлять, например, от 0,001 до 1000 мг/(кг массы тела) в сутки и более предпочтительно от 1,0 до 30 мг/(кг массы тела) в сутки. Разовая доза композиции может составлять доли таких количеств, так чтобы в сумме они образовывали суточную дозу. Обычно режимы лечения, предлагаемые в настоящем изобретении, включают введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, от примерно 10 до примерно 2000 мг в сутки соединения (соединений), предлагаемого в настоящем изобретении, в виде одной или нескольких доз.

Соединения могут быть использованы в виде набора, который включает одно или большее количество соединений, предлагаемых в настоящем изобретении. Типичные наборы включают ингибитор PI3K, предлагаемый в настоящем изобретении (например, соединение формулы I) и листок-вкладыш или другую маркировку, содержащую указания по лечению клеточного пролиферативного заболевания путем введения ингибирующего PI3K количества соединения.

Термин "набор" означает контейнер для размещения фармацевтических композиций и также может включать разделенные контейнеры, такие как разделенный флакон или разделенный пакет из фольги. Контейнер может обладать любой обычной формой, известной в данной области техники, и может быть изготовлен из любого фармацевтически приемлемого материала, например из бумаги, или представлять собой картонную коробку, стеклянный или пластмассовый флакон или банку, повторно закрывающийся пакет (например, для помещения таблеток, укладываемых в другой контейнер) или блистерную упаковку.

ку, содержащую отдельные дозированные формы, "выдавливаемые" в соответствии с режимом лечения. То, какой контейнер применяют, зависит от конкретной используемой дозированной формы, например стандартную картонную коробку обычно не используют для жидкой суспензии. Для продажи одной дозированной формы можно использовать более одного контейнера в одной упаковке. Например, таблетки могут находиться во флаконе, который сам помещен в коробку.

Примером такого набора является так называемая блистерная упаковка. Блистерные упаковки хорошо известны в области упаковок и широко используются для упаковки разовых фармацевтических дозированных форм (таблеток, капсул и т.п.). Блистерные упаковки обычно представляют собой лист относительно жесткого материала, покрытого фольгой, предпочтительно состоящей из прозрачной пластмассы. Во время изготовления упаковки в пластмассовой фольге формируют углубления. Размер и форма углублений соответствуют размеру и форме отдельных упаковываемых таблеток или капсул или они могут обладать размерами и формой, позволяющими поместить в них несколько упаковываемых таблеток и/или капсул. Затем таблетки или капсулы помещают в углубления и лист относительно жесткого материала прикрепляют к пластмассовой фольге со стороны, противоположной направлению, в котором формируют углубления. В результате таблетки или капсулы по отдельности или по несколько штук, в зависимости от того, что необходимо, герметизированы в углублениях между пластмассовой фольгой и листом. Предпочтительно, чтобы прочность листа была такой, чтобы таблетки или капсулы можно было извлечь из блистерной упаковки, нажимая пальцами на углубления, так чтобы в листе на месте углубления образовывалось отверстие. Таблетку или капсулу можно извлечь через это отверстие.

Может быть желательным предоставление письменной памятки, которая содержит информацию и/или инструкции для врача, фармацевта или другого медицинского работника, или субъекта, например, в виде номеров, расположенных рядом с таблеткой или капсулой, и номера соответствуют дням, в которые следует принимать отмеченные таким образом таблетки или капсулы, или в виде карточки, которая содержит информацию такого же типа. Другим примером такой памятки является календарь, напечатанный на карточке, например, такой как "Первая неделя, понедельник, вторник", "Вторая неделя, понедельник, вторник, ...". Очевидны другие варианты памятки. "Суточной дозой" может быть одна таблетка или капсула или несколько таблеток или капсул, которые следует принимать в течение суток. Если набор содержит отдельные композиции, то суточная доза одной или большего количества композиций набора может включать одну таблетку или капсулу, а суточная доза другой одной или большего количества композиций набора может включать несколько таблеток или капсул.

Предпочтительно набор представляет собой раздаточное устройство, предназначенное для выдачи суточных доз по одной в порядке их применения. Предпочтительно, чтобы раздаточное устройство содержало памятку, чтобы облегчить соблюдение режима. Примером такой памятки является механический счетчик, который показывает количество выданных суточных доз. Другим примером такой памятки является работающая от батарейки память на микросхеме, соединенная с жидкокристаллическим дисплеем или с устройством, выдающим звуковой напоминающий сигнал, которое, например, выводит дату приема последней дозы и/или напоминает о том, когда необходимо принять следующую дозу.

Наборы в дополнение к ингибитору Р1ЗК могут содержать одно или большее количество дополнительных фармацевтически активных соединений. Предпочтительно, если дополнительным соединением является другой ингибитор Р1ЗК или другое соединение, применяемое для лечения рака, ангиогенеза или борьбы с ростом опухоли. Дополнительные соединения можно вводить в той же дозированной форме, что и ингибитор Р1ЗК, или в разных дозированных формах. Аналогичным образом, дополнительные соединения можно вводить в то же время, что и ингибитор Р1ЗК, или в разные моменты времени.

Настоящее изобретение будет лучше понято с помощью представленных ниже примеров, которые приведены для иллюстрации, а не для ограничения настоящего изобретения.

Примеры

В приведенных ниже примерах соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, синтезировали по методикам, описанным в настоящем изобретении, или по другим методикам, которые известны в данной области техники.

Соединения и/или промежуточные продукты характеризовали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографической системы Waters Millenium с модулем разделения 2695 Separation Module (Milford, MA). Для анализа использовали колонки Alltima C-18 с обращенной фазой, 4,6×50 мм, скорость потока 2,5 мл/мин, выпускающиеся фирмой Alltech (Deerfield, IL). Использовали элюирование в градиентном режиме, обычно начиная от смеси 5% ацетонитрил/95% вода и заканчивая 100% ацетонитрилом с длительностью режима, составляющей 40 мин. Все растворители, содержащие 0,1% трифторуксусной кислоты (ТФК). Соединения детектировали по поглощению в ультрафиолетовой (УФ) области спектра при длине волны 220 или 254 нм. Использовали растворители для ВЭЖХ, выпускающиеся фирмами Burdick and Jackson (Muskegan, MI) или Fisher Scientific (Pittsburgh, PA). В некоторых случаях чистоту определяли с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием стеклянных или пластмассовых пластин, покрытых силикагелем, таких как, например, гибкие пластины Baker-Flex Silica Gel 1B2-F. Данные ТСХ легко получали путем визуального детектирования при ультрафиолетовом освещении или путем использования хорошо известной методики

окрашивания парами йода или различных других методик окрашивания.

Масс-спектрометрические исследования проводили на одном из двух приборов для ЖХ/МС: Waters System (Alliance HT HPLC и Micromass ZQ масс-спектрометр; колонка: Eclipse XDB-C18, 2,1×50 мм; система растворителей: 5-95% (или 35-95%, или 65-95%, или 95-95%) ацетонитрил в воде с прибавлением 0,05% ТФК; скорость потока 0,8 мл/мин; диапазон молекулярных масс 200-1500; разность потенциалов на конусе 20 В; температура колонки 40°C), или Hewlett Packard System (Series 1100 HPLC; колонка: Eclipse XDB-C18, 2,1×50 мм; система растворителей: 1-95% ацетонитрил в воде с прибавлением 0,05% ТФК; скорость потока 0,8 мл/мин; диапазон молекулярных масс 150-850; разность потенциалов на конусе 50 В; температура колонки 30°C). Приведенные массы относятся к протонированным исходным ионам.

Исследования с помощью ЖХ/МС проводили на приборе Hewlett Packard (HP6890 Series газовый хроматограф с селективным по массе детектором 5973; инжестируемый объем: 1 мкл; начальная температура колонки: 50°C; конечная температура колонки: 250°C; время линейного повышения: 20 мин; скорость потока газа: 1 мл/мин; колонка: 5% фенилметилсилоксан, Model No. HP 190915-443, размеры: 30,0×25×0,25 м).

Исследования с помощью ядерного магнитного резонанса (ЯМР) проводили для некоторых соединений на приборе Varian 300 МГц NMR (Palo Alto, CA). В качестве стандарта использовали триметилсилан или известный химический сдвиг растворителя. Некоторые образцы соединений исследовали при повышенных температурах (например, 75°C), чтобы повысить растворимость образца.

Чистоту некоторых соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, исследовали с помощью элементного анализа (Desert Analytics, Tucson, AZ).

Температуры плавления определяли на приборе Laboratory Devices Mel-Temp apparatus (Holliston, MA).

Препаративные разделения проводили с помощью хроматографической системы Flash 40 и KP-Sil, 60A (Biotage, Charlottesville, VA) или с помощью колоночной флэш-хроматографии с использованием силикагеля (230-400 меш) в качестве насадки, или с помощью ВЭЖХ с использованием Waters 2767 Sample Manager, C-18 колонки с обращенной фазой, 30×50 мм, скорость потока 75 мл/мин. Типичными растворителями, использованными для системы Flash 40 Biotage и колоночной флэш-хроматографии, являлись дихлорметан, метанол, этилацетат, гексан, ацетон, водный раствор аммиака (или гидроксид аммония) и триэтиламин. Типичными растворителями, использованными для ВЭЖХ с обращенной фазой, являлись ацетонитрил в разных концентрациях и вода с прибавлением 0,1% трифторуксусной кислоты.

Следует понимать, что органические соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать таутомерией. Поскольку химические структуры в настоящей заявке могут представлять только одну из возможных таутомерных форм, следует понимать, что настоящее изобретение включает любую таутомерную форму изображенной структуры.

Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается вариантами осуществления, представленными в настоящем изобретении для иллюстрации, а включает все его формы, соответствующие объему приведенного выше описания.

Аббревиатура

АСН - ацетонитрил;
 БИНАФ - 2,2'-бис-(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил;
 ДИЭА - диизопропилэтиламин;
 ДМЭ - 1,2-диметоксиэтан;
 ДМФ - N,N-диметилформамид;
 ДФФФ - 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен;
 EtOAc - этилацетат;
 EtOH - этанол;
 МХПБ - метахлорпероксибензойная кислота;
 NBS - N-бромсукцинимид;
 NMP - N-метил-2-пирролидон;
 КТ - комнатная температура;
 ТГФ - тетрагидрофуран.

Общие методики синтеза ингибиторов Р1ЗК

Приведены методики получения соединений формулы I. Эти методики включают реакцию 4-галоген-2-морфолинопиримидина с замещенной пиридиновой или пиримидиновой группой, содержащей реакционноспособный сложноэфирный бороновый заместитель, в присутствии палладиевого катализатора. В одном варианте осуществления замещенная пиридиновая или пиримидиновая группа, содержащая реакционноспособный сложноэфирный бороновый заместитель, содержит группу -NH₂ в пара-положении к сложноэфирной бороновой группе. В другом варианте осуществления замещенная пиридиновая или пиримидиновая группа, содержащая реакционноспособный сложноэфирный боро-

новый заместитель, содержит группу $-NH_2$ в пара-положении к сложноэфирной бороновой группе и другой не являющийся водородом заместитель - в орто-положении к сложноэфирной бороновой группе. В некоторых вариантах осуществления не являющийся водородом заместитель представляет собой $-CF_3$, $-CN$, $-NH_2$, галоген или замещенный или незамещенный C_1-C_3 -алкил.

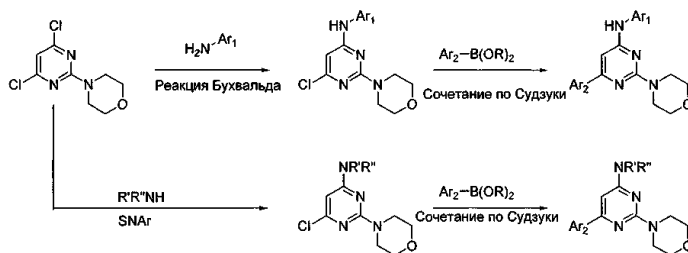
В другом варианте осуществления 4-галоген-2-морфолинопиримидиновая группа представляет собой 4-галоген-6-гетероцикл-2-морфолинопиримидиновую группу. В другом варианте осуществления 4-галоген-2-морфолинопиримидиновая группа представляет собой 4-галоген-6-гетероциклокси-2-морфолинопиримидиновую группу. В другом варианте осуществления 4-галоген-2-морфолинопиримидиновая группа представляет собой 4-галоген-6-гетероариламино-2-морфолинопиримидиновую группу. В другом варианте осуществления 4-галоген-2-морфолинопиримидиновая группа представляет собой 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидин.

В другом варианте осуществления пиридинилбороновый сложный эфир представляет собой 4-(трифторметил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин. В другом варианте осуществления палладиевым катализатором является аддукт $Pd(dppf)Cl_2$ с дихлорметаном.

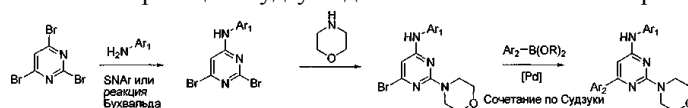
В другом варианте осуществления 4-галоген-6-гетероцикл-2-морфолинопиримидиновую группу получают по реакции гетероциклической группы с 4,6-дигалоген-2-морфолинопиримидиновой группой. В другом варианте осуществления 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидиновую группу получают по реакции 4,6-дихлор-2-морфолинопиримидин с морфолином. В другом варианте осуществления 4,6-дихлор-2-морфолинопиримидиновую группу получают по реакции 2-морфолинопиримидин-4,6-диола с $POCl_3$. В другом варианте осуществления 2-морфолинопиримидин-4,6-диол получают по реакции морфолин-4-карбоксамидина с диэтилмалонатом в присутствии основания, такого как этюксид натрия.

В другом варианте осуществления замещенную пиридинильную или пиримидинильную группу, содержащую реакционноспособный сложноэфирный бороновый заместитель, получают по реакции замещенной пиридинильной или пиримидинильной группы, содержащей бромидный заместитель, с дибороновым сложным эфиром, таким как 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан. В другом варианте осуществления замещенную пиридинильную или пиримидинильную группу, содержащую бромидный заместитель, получают по реакции замещенной пиридинильной или пиримидинильной группы с N-бромсукцинимидом (NBS).

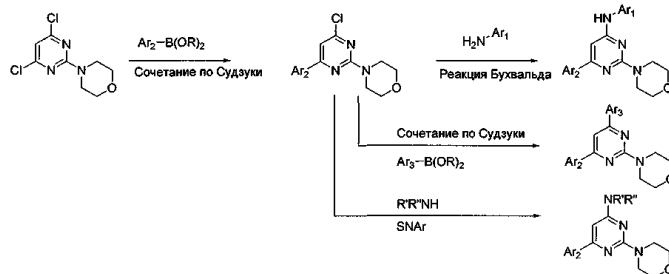
В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидина, включающему реакцию морфолина с 2,4,6-трихлорпиримидином в подходящем растворителе. В более предпочтительном варианте осуществления растворителем является полярный апротонный растворитель. Еще более предпочтительно, если растворителем является ТГФ. В другом более предпочтительном варианте осуществления 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидин прибавляют в течение не менее 10 мин, или не менее 20 мин, или 30 мин к раствору, содержащему морфолин. Альтернативно, морфолин прибавляют к раствору, содержащему 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидин. Еще более предпочтительно, если раствор охлаждают до температуры ниже $20^\circ C$, или ниже $10^\circ C$, или ниже $5^\circ C$, или ниже $0^\circ C$. Более предпочтительно, если во время или после прибавления 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидина раствору дают нагреться до температуры выше $20^\circ C$, или выше $25^\circ C$, или выше $30^\circ C$. В другом варианте осуществления после объединения морфолина и 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидина реакцию останавливают путем прибавления водного раствора. Более предпочтительно, если не менее чем через 10 ч, или не менее чем через 20 ч, или не менее чем через 30 ч, или не менее чем через 40 ч, или не менее чем через 50 ч, или примерно через 64 ч после объединения морфолина и 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидина реакцию останавливают путем прибавления водного раствора. Более предпочтительно, если после остановки реакции раствор очищают с помощью колоночной хроматографии. Еще более предпочтительно, если колонка содержит силикагель. В другом варианте осуществления 4-хлор-2,6-диморфолинопиримидин вводят в реакцию с 2-аминопиридинильным или 2-аминопиримидильным фрагментом и получают соединение формулы III. Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, содержащие пиримидиновое ядро, такие как соединения формулы I, можно получить с помощью целого ряда методик, известных специалисту в данной области техники. В одной методике содержащие подходящие функциональные группы амины можно ввести в реакцию сочетания с 4,6-дихлор-2-морфолинопиримидином по реакциям нуклеофильного ароматического замещения или по реакции кросс-сочетания Бухвальда-Хартвига (Hartwig et al., *Tetrahedron Letters* 36, (1995) 3609), и Ag обозначает арильные или гетероарильные фрагменты. Затем для получения конечного продукта можно провести сочетание по Судзуки (Suzuki et al., *Chem. Commun.* (1979) 866) при известных условиях, например путем обработки содержащих функциональные группы бороновых эфиров по следующим схемам:



Из 2,4,6-трибромпиридина: реакция SNAr (или Бухвальда), содержащих функциональные группы ариламинов с 2,4,6-трибромпиридином предпочтительно дает 4-замещенные продукты. Замещение морфолином в положение 2 после реакции Судзуки дает конечные аналоги пиридина

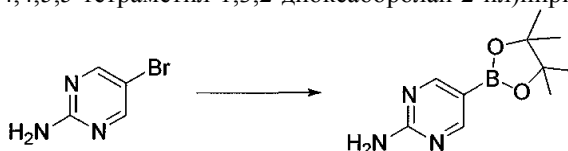


Альтернативно, можно использовать несколько сочетаний по Судзуки и получить арильные или гетероарильные группы, присоединенные непосредственно к пиридиновому ядру в положениях 4 и 6; или можно сначала провести сочетание по Судзуки и затем провести реакцию нуклеофильного ароматического замещения или реакцию кросс-сочетания Бухвальда-Хартвига, как это показано на следующей схеме:



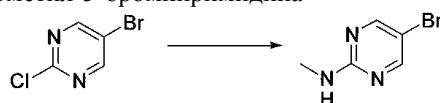
Более предпочтительные методики синтеза соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, в особенности соединений формулы I, приведены в представленных ниже методиках и примерах.

Методика 1. Синтез 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-иламина



В сухую колбу объемом 500 мл прибавляли 2-амино-5-бромпиридин (10 г, 57,5 ммоль), ацетат калия (16,9 г, 172 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (16,1 г, 63,0 ммоль) и диоксан (300 мл). Через раствор в течение 15 мин пропускали аргон и затем прибавляли аддукт дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (Pd(dppf)Cl₂CH₂Cl₂) (2,34 г, 2,87 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 4 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры прибавляли EtOAc (500 мл) и полученную взвесью обрабатывали ультразвуком и фильтровали. Дополнительное количество EtOAc (500 мл) использовали для промывки твердого вещества. Объединенные органические экстракты промывали с помощью H₂O (2×300 мл), насыщенным раствором NaCl (300 мл), сушили над Na₂SO₄ и фильтровали через слой силикагеля толщиной 5 см. Дополнительное количество EtOAc использовали для промывки продукта. После концентрирования растворителя неочищенное вещество обрабатывали смесью 1:3 дихлорметана с гексаном (40 мл), фильтровали, промывали гексаном и получали светло-желтое твердое вещество (8,5 г, 75%). ЖХ/МС (m/z): 140 (MH⁺ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта во время ЖХ). ¹H ЯМР (CDCl₃): δ 8,58 (s, 2H), 5,74 (s, 2H), 1,32 (s, 12H).

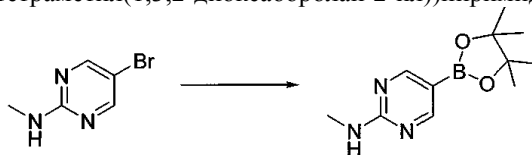
Методика 2. Синтез 2-аминометил-5-бромпиридина



Метиламин (2,0 М в метаноле, 40 мл, 80 ммоль) прибавляли к 5-бром-2-хлорпиридину (5,6 г, 29,0 ммоль) в герметизируемом сосуде для проведения реакции. После выпуска газа в течение нескольких минут сосуд герметизировали, помещали позади защитного экрана и нагревали при 115°C на масляной бане в течение 48 ч. После охлаждения летучие вещества удаляли в вакууме. Вещество растворяли в CH₂Cl₂ (200 мл) и промывали с помощью 1 М NaOH (40 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали

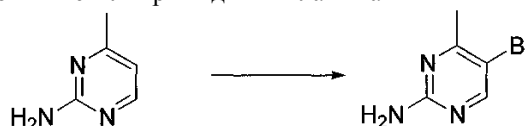
ли с помощью CH_2Cl_2 (2×50 мл). Объединенные органические вещества сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали и получали почти белое твердое вещество (5,1 г, 93%). ЖХ/МС (m/z): 188,0/190,0 (MH^+).

Синтез метил[5-(4,4,5,5-тетраметил(1,3,2-диоксаборолан-2-ил))пиримидин-2-ил]амина



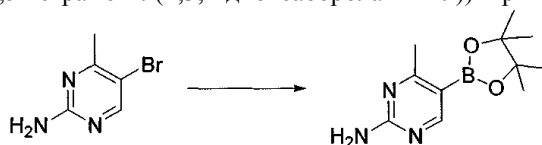
В сухую колбу объемом 500 мл прибавляли 2-метиламино-5-бромпиримидин (9,5 г, 50,5 ммоль), ацетат калия (15,1 г, 154,4 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (14,1 г, 55,5 ммоль) и диоксан (280 мл). Через раствор пропускали аргон в течение 15 мин и затем прибавляли аддукт 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II)хлорида с дихлорметаном (2,05 г, 2,51 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 4 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры прибавляли EtOAc (500 мл) и полученную взвесь обрабатывали ультразвуком и фильтровали. Дополнительное количество EtOAc (500 мл) использовали для промывки твердого вещества. Объединенные органические вещества промывали с помощью H_2O (2×300 мл), насыщенным раствором NaCl (300 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и растворители удаляли в вакууме. Очистка с помощью хроматографии на SiO_2 (50% EtOAc /гексаны) давала почти белое твердое вещество (7,66 г, 64%). ЖХ/МС (m/z): 154 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта *in situ* во время ЖХ). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,58 (s, 2H), 5,56 (s, 1H), 3,02 (d, 3H), 1,32 (s, 12H).

Методика 3. Синтез 5-бром-4-метилпиримидин-2-иламина



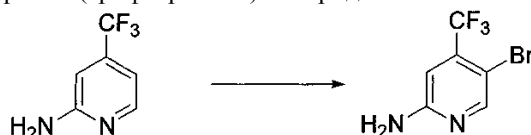
К раствору 4-метилпиримидин-2-иламина (10,9 г, 100 ммоль) в хлороформе (400 мл) прибавляли N-бромсукцинимид (17,8 г, 100 ммоль). Раствор перемешивали в темноте в течение 15 ч и затем его прибавляли к CH_2Cl_2 (1400 мл), промывали с помощью 1н. NaOH (3×200 мл) и насыщенным раствором NaCl (100 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали и получали 5-бром-4-метилпиримидин-2-иламин (18,8 г, 99%). ЖХ/МС (m/z): 188,0/190,0 (MH^+). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,22 (s, 1H), 5,02 (bs, 2H), 2,44 (s, 3H).

Синтез 4-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил(1,3,2-диоксаборолан-2-ил))пиримидин-2-иламина



В сухую колбу объемом 1 л прибавляли 5-бром-4-метилпиримидин-2-иламин (18,8 г, 100 ммоль), ацетат калия (29,45 г, 300 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (26,7 г, 105 ммоль) и диоксан (500 мл). Через раствор в течение 15 мин пропускали аргон и затем прибавляли аддукт 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II) хлорида с дихлорметаном (4,07 г, 5 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 18 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры прибавляли EtOAc (500 мл) и полученную взвесь обрабатывали ультразвуком и фильтровали. Дополнительное количество EtOAc (500 мл) использовали для промывки твердого вещества. Объединенные органические экстракты промывали с помощью H_2O (2×300 мл), насыщенным раствором NaCl (300 мл), сушили над Na_2SO_4 , концентрировали и очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (EtOAc в качестве элюента) и получали 18,1 г почти белого твердого вещества. По данным ^1H ЯМР вещество представляло собой смесь состава 5:1 боронатного сложного эфира и 4-метилпиримидин-2-иламина в качестве побочного продукта. Вещество использовали в последующих реакциях Судзуки. ЖХ/МС (m/z): 154 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта *in situ* во время ЖХ). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,52 (s, 1H), 5,14 (bs, 2H), 2,56 (d, 3H), 1,32 (s, 12H).

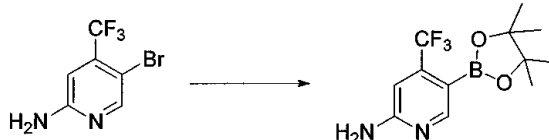
Методика 4. Синтез 5-бром-4-(трифторметил)-2-пиридиламина



К раствору 2-амино-4-трифторметилпиридина (10,0 г, 62,1 ммоль) в хлороформе (200 мл) прибав-

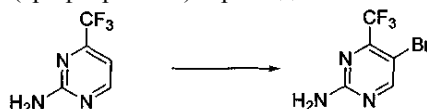
ляли N-бромсукцинимид (12,0 г, 67,4 ммоль). Раствор перемешивали в темноте в течение 2 ч и затем его прибавляли к CH_2Cl_2 (200 мл) и 1н. NaOH (200 мл). После перемешивания слои разделяли и органический слой промывали насыщенным раствором NaCl (100 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенное вещество очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (0-5% EtOAc/ CH_2Cl_2) и получали 12,0 г (80%) 5-бром-4-(трифторметил)-2-пиридиламина, ЖХ/МС (m/z): 241/243 (MH^+). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,28 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 4,78 (bs, 2H).

Синтез 5-(4,4,5,5-тетраметил(1,3,2-диоксаборолан-2-ил))-4-(трифторметил)-2-пиридиламина



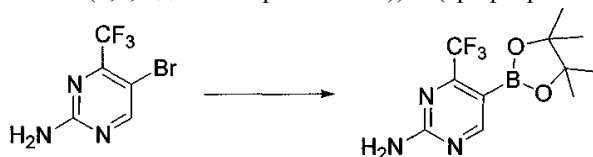
В сухую колбу объемом 500 мл прибавляли 5-бром-4-(трифторметил)-2-пиридиламин (11,8 г, 49,0 ммоль), ацетат калия (14,4 г, 146,9 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (13,6 г, 53,9 ммоль) и диоксан (300 мл). Через раствор в течение 15 мин пропускали аргон и затем прибавляли аддукт 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II) хлорида с дихлорметаном (2,0 г, 2,45 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 8 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры диоксан удаляли в вакууме. Прибавляли EtOAc (500 мл) и полученную взвесь обрабатывали ультразвуком и фильтровали. Дополнительное количество EtOAc (500 мл) использовали для промывки твердого вещества. Объединенные органические экстракты концентрировали и неочищенное вещество частично очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (30-40% EtOAc/гексаны). После удаления растворителя прибавляли гексаны (75 мл); после обработки ультразвуком полученное твердое вещество отфильтровывали и сушили в высоком вакууме в течение 3 дней и получали 2,4 г почти белого твердого вещества. По данным ^1H ЯМР вещество представляло собой смесь состава 5:1 боронатного сложного эфира и 2-амино-4-трифторметилпиридина в качестве побочного продукта. Вещество использовали в последующих реакциях Судзуки. ЖХ/МС (m/z): 207 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта *in situ* во время ЖХ). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,50 (s, 1H), 6,72 (s, 1H), 4,80 (bs, 2H), 1,34 (s, 12H).

Методика 5. Синтез 5-бром-4-(трифторметил)пиримидин-2-амина



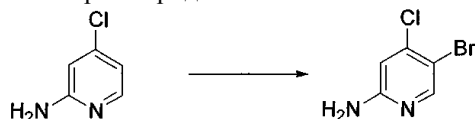
К раствору 2-амино-4-трифторметилпиримидина (8,0 г, 49,1 ммоль) в хлороформе (300 мл) прибавляли N-бромсукцинимид (8,9 г, 50 ммоль). Раствор перемешивали в темноте в течение 16 ч и затем прибавляли дополнительное количество N-бромсукцинимид (4,0 г, 22,5 ммоль). После перемешивания в течение еще 4 ч раствор прибавляли к CH_2Cl_2 (200 мл) и 1н. NaOH (200 мл). После перемешивания слои разделяли и органический слой промывали насыщенным раствором NaCl (100 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и получали 10,9 г (82%) 5-бром-4-(трифторметил)-2-пиримидиламина. ЖХ/МС (m/z): 242/244 (MH^+). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,52 (s, 1H), 5,38 (bs, 2H).

Синтез 5-(4,4,5,5-тетраметил(1,3,2-диоксаборолан-2-ил))-4-(трифторметил)пиримидин-2-иламина



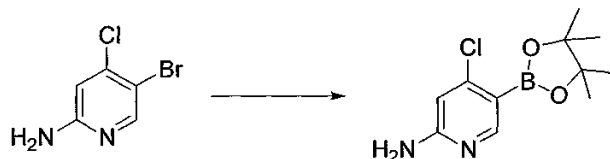
В сухую колбу объемом 500 мл прибавляли 5-бром-4-(трифторметил)-2-пиримидиламин (10,1 г, 41,7 ммоль), ацетат калия (12,3 г, 125,2 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (11,6 г, 45,9 ммоль) и диоксан (150 мл). Через раствор в течение 15 мин пропускали аргон и затем прибавляли 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II) хлорид (1,7 г, 2,1 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 6 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры диоксан удаляли в вакууме. Прибавляли EtOAc (500 мл), полученную взвесь обрабатывали ультразвуком и фильтровали. Дополнительное количество EtOAc (500 мл) использовали для промывки твердого вещества. Объединенные органические экстракты концентрировали и неочищенное вещество очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (30-40% EtOAc/гексаны) и получали 4,40 г почти белого твердого вещества. По данным ^1H ЯМР вещество представляло собой смесь состава 1:1 боронатного сложного эфира и 2-амино-4-трифторметилпиримидина в качестве побочного продукта. Вещество использовали в последующих реакциях Судзуки. ЖХ/МС (m/z): 208 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта *in situ* во время ЖХ). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,72 (s, 1H), 5,50 (bs, 2H), 1,34 (s, 12H).

Методика 6. Синтез 5-бром-4-хлор-2-пиридиламина



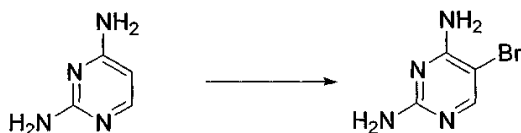
К раствору 4-хлор-2-пиридиламина (6,0 г, 46,7 ммоль) в хлороформе (180 мл) прибавляли N-бромсукцинимид (8,3 г, 46,7 ммоль). Раствор перемешивали в темноте в течение 2 ч и затем его прибавляли к CH_2Cl_2 (800 мл) и 1н. NaOH (100 мл). После перемешивания слои разделяли и органический слой промывали с помощью насыщенного раствора NaCl (100 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенное вещество очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (25-35% EtOAc/гексаны) и получали 3,63 г (38%) 5-бром-4-хлор-2-пиридиламина. ЖХ/МС (m/z): 206,9/208,9 (MH^+). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,18 (s, 1H), 6,62 (s, 1H), 4,52 (bs, 2H).

Синтез 4-хлор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-2-пиридиламина



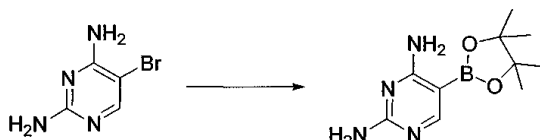
В сухую колбу объемом 500 мл прибавляли 5-бром-4-хлор 2-пиридиламин (7,3 г, 35,8 ммоль), ацетат калия (10,3 г, 105 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (10,1 г, 39,8 ммоль) и диоксан (150 мл). Через раствор в течение 15 мин пропускали аргон и затем прибавляли аддукт 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II) хлорида с дихлорметаном (0,85 г, 1,04 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 6 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры диоксан удаляли в вакууме. Затем прибавляли EtOAc (500 мл) и полученную взвесь обрабатывали ультразвуком и фильтровали. Дополнительное количество EtOAc (500 мл) использовали для промывки твердого вещества. Объединенные органические экстракты концентрировали и неочищенное вещество очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (EtOAc в качестве элюента). После удаления растворителя прибавляли смесь 3:1 гексаны/ CH_2Cl_2 (100 мл). После обработки ультразвуком полученное твердое вещество отфильтровывали и концентрировали в вакууме и получали 2,8 г белого твердого вещества. По данным ^1H ЯМР вещество представляло собой смесь состава 10:1 боронатного сложного эфира и 2-амино-4-хлорпиридина в качестве побочного продукта. Вещество использовали в последующих реакциях Судзуки. ЖХ/МС (m/z): 173 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта *in situ* во время ЖХ). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,36 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 4,70 (bs, 2H), 1,38 (s, 12H).

Методика 7. Синтез 5-бромпиримидин-2,4-диамина



К раствору 2,4-диаминопиримидина (1,0 г, 9,1 ммоль) в хлороформе (30 мл) прибавляли N-бромсукцинимид (1,62 г, 9,08 ммоль). Раствор перемешивали в темноте в течение 12 ч и затем его прибавляли к CH_2Cl_2 (150 мл) и 1н. NaOH (50 мл). Образовавшееся твердое вещество отфильтровывали, промывали водой, концентрировали в вакууме и получали 1,4 г (74%) 5-бромпиримидин-2,4-диамина. ЖХ/МС (m/z): 189/191 (MH^+). ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) (DMSO -диметилсульфоксид): δ 7,78 (s, 1H), 6,58 (bs, 2H), 6,08 (bs, 2H).

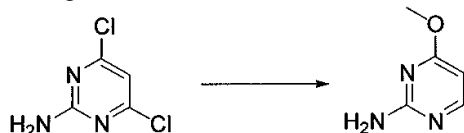
Синтез 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиримидин-2,4-диамина



В сухую колбу объемом 1 л прибавляли 5-бромпиримидин-2,4-диамин (30,0 г, 158,7 ммоль), ацетат калия (45,8 г, 466,7 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (51,2 г, 202,2 ммоль) и диоксан (500 мл). Через раствор в течение 15 мин пропускали аргон и затем прибавляли 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II)хлорид (2,5 г, 3,11 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 16 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры твердое неорганическое вещество отфильтровывали, промывали с помощью EtOAc (1 л). Органический фильтрат концентрировали в вакууме и к полученному твердому веществу прибавляли дихлорметан (1 л). После обработки ультразвуком твердое вещество отфильтровывали. Твердое вещество представляло собой дебромированный 2,4-

диаминопиримидин. Фильтрат, содержащий искомый боронатный сложный эфир, концентрировали в вакууме. К этому остатку прибавляли диэтиловый эфир (100 мл). После обработки ультразвуком раствор фильтровали, промывали дополнительным количеством диэтилового эфира (50 мл), полученное твердое вещество сушили в высоком вакууме и получали искомый 2,4-диаминопиримидил-5-боронатный сложный эфир (10,13 г, 27%). По данным ^1H ЯМР вещество представляло собой смесь состава 4:1 2,4-диаминопиримидил-5-боронатного сложного эфира и 2,4-диаминопиримидина в качестве побочного продукта. Вещество использовали в последующих реакциях Судзуки. ЖХ/МС (m/z): 155 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта *in situ* во время ЖХ). ^1H ЯМР ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$): δ 8,16 (s, 1H), 1,34 (s, 12H).

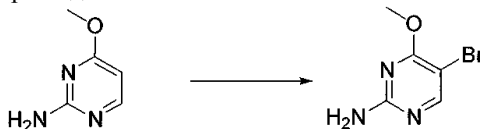
Методика 8. Синтез 4-метоксипиримидин-2-иламина



К раствору 4,6-дихлор-2-аминопиримидина (5,0 г, 30,5 ммоль) в метаноле (100 мл) прибавляли 25% метоксид натрия (6,59 г, 30,5 ммоль). Раствор кипятили с обратным холодильником в течение 20 ч и затем метанол удаляли в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc (350 мл), промывали с помощью H_2O (100 мл) и насыщенным раствором NaCl (100 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и получали 4,4 г (90%) 4-хлор-6-метоксипиримидин-2-иламина.

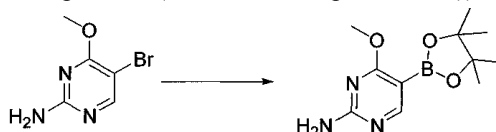
К раствору 4-хлор-6-метоксипиримидин-2-иламина (4,4 г, 27,7 ммоль) в EtOAc (200 мл) и этаноле (150 мл), прибавляли диизопропилэтиламин (9,6 мл, 55,3 ммоль) и 10% палладия на угле (2,9 г, 2,77 ммоль). Гетерогенный раствор перемешивали в атмосфере подаваемого из баллона H_2 в течение 14 ч, затем раствор фильтровали через слой целита и летучие вещества удаляли в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc (200 мл), промывали насыщенным раствором Na_2CO_3 (100 мл) и насыщенным раствором NaCl (100 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали и получали 3,1 г (90%) 4-метоксипиримидин-2-иламина. ЖХ/МС (m/z): 126 (MH^+). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,00 (d, $J=5,7$ Гц, 1H), 6,08 (d, $J=5,7$ Гц, 1H), 4,98 (bs, 2H), 3,84 (s, 3H).

Синтез 5-бром-4-метоксипиримидин-2-иламина



К раствору 4-метоксипиримидин-2-иламина (1,84 г, 14,7 ммоль) в хлороформе (600 мл) прибавляли N-бромсукцинимид (2,62 г, 14,7 ммоль). После перемешивания в темноте в течение 5 ч раствор прибавляли к CH_2Cl_2 (200 мл) и 1н. NaOH (100 мл). После перемешивания слои разделяли и органический слой промывали насыщенным раствором NaCl (100 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и получали 2,88 г (96%) 5-бром-4-метоксипиримидин-2-иламина. ЖХ/МС (m/z): 204/206 (MH^+). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,10 (s, 1H), 4,93 (bs, 2H), 3,96 (s, 3H).

Синтез 4-метокси-5-(4,4,5,5-тетраметил(1,3,2-диоксаборолан-2-ил))пиримидин-2-иламина



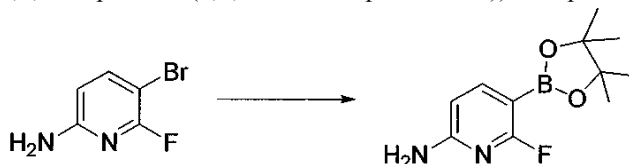
В сухую колбу объемом 200 мл прибавляли 5-бром-4-метоксипиримидин-2-иламин (2,88 г, 14,1 ммоль), ацетат калия (4,16 г, 42,4 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (3,76 г, 14,8 ммоль) и диоксан (75 мл). Через раствор в течение 15 мин пропускали аргон и затем прибавляли аддукт 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II) хлорида с дихлорметаном (0,58 г, 0,71 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 21 ч в атмосфере аргона. После охлаждения до комнатной температуры диоксан удаляли в вакууме. Прибавляли EtOAc (500 мл) и полученную взвесь обрабатывали ультразвуком и фильтровали. Дополнительное количество EtOAc (500 мл) использовали для промывки твердого вещества. Объединенные органические вещества концентрировали и неочищенное вещество очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (EtOAc в качестве элюента) и получали 2,4 г почти белого твердого вещества. По данным ^1H ЯМР вещество представляло собой смесь состава 1:1 боронатного сложного эфира и 4-метоксипиримидин-2-иламина. Вещество использовали в последующих реакциях Судзуки. ЖХ/МС (m/z): 170 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта *in situ* во время ЖХ). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,42 (s, 1H), 5,22 (bs, 2H), 3,90 (s, 3H), 1,34 (s, 12H).

Методика 9. Синтез 5-бром-6-фтор-2-пиридиламина



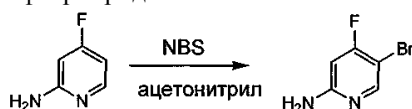
К раствору 6-фтор-2-пиридиламина (1,0 г, 8,93 ммоль) в хлороформе (55 мл) прибавляли N-бромсукцинимид (1,59 г, 8,93 ммоль). Раствор перемешивали в темноте в течение 15 ч и затем его прибавляли к CH_2Cl_2 (200 мл) и 1н. NaOH (50 мл). После перемешивания слои разделяли и органический слой промывали насыщенным раствором NaCl (50 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенное вещество очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (25% EtOAc/гексаны) и получали 5-бром-6-фтор-2-пиридиламин (386 мг, 22%). ЖХ/МС (m/z): 190,9/192,9 (MH^+); ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,59 (t, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,25 (dd, $J=8,1, 1,2$ Гц, 1H), 4,58 (bs, 1H).

Синтез 6-фтор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-2-пиридиламин



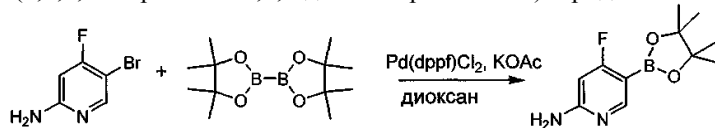
В сухую колбу объемом 50 мл прибавляли 5-бром-6-фтор-2-пиридиламин (370 мг, 1,93 ммоль), ацетат калия (569 мг, 5,8 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (538 мг, 2,12 ммоль) и диоксан (15 мл). Через раствор пропускали аргон в течение 15 мин и затем прибавляли аддукт 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II) хлорида с дихлорметаном (79 мг, 0,09 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником при 115°C на масляной бане в течение 4 ч в атмосфере аргона. После удаления летучих веществ в вакууме прибавляли EtOAc (150 мл) и раствор промывали с помощью H_2O (3×40 мл), насыщенным раствором NaCl (300 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Очистка с помощью хроматографии на SiO_2 (30% EtOAc/гексаны) давала боронатный сложный эфир (161 мг, 35%). ЖХ/МС (m/z): 157 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта *in situ* во время ЖХ); ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,86 (t, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,29 (dd, $J=8,1, 2,7$ Гц, 1H), 4,70 (bs, 1H), 1,32 (s, 12H).

Методика 10. Синтез 5-бром-4-фторпиридин-2-амина



N-Бромсукцинимид (126 мг, 0,71 ммоль) прибавляли к раствору соли 4-фторпиридин-2-амина с ТФК (162 мг, 0,72 ммоль) в ацетонитриле (4 мл) в колбе, обернутой алюминиевой фольгой, в затемненном вытяжном шкафу. Раствор реакционной смеси перемешивали при комнатной температуре в темноте в течение 2 ч. После выпаривания растворителя неочищенный продукт очищали на колонке с силикагелем, элюируя с помощью EtOAc, и получали 5-бром-4-фторпиридин-2-амин в виде твердого вещества цвета слоновой кости (92 мг, 67%). ЖХ/МС (m/z): 190,9/192,9 (MH^+), R_t 1,02 мин.

Синтез 4-фтор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амина



В герметизируемом сосуде высокого давления из пирекса смесь 5-бром-4-фторпиридин-2-амина (25 мг, 0,13 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолана (40 мг, 0,16 ммоль), ацетата калия (51 мг, 0,52 ммоль) и аддукта дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладий(II)дихлорметан (16 мг, 0,019 ммоль) суспендировали в диоксане (1,7 мл) в атмосфере аргона. Сосуд высокого давления герметизировали и реакционную смесь перемешивали при 110°C в течение 2 ч. После того как по данным ЖХ/МС реакция закончилась, реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и 4-фтор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин использовали в последующих реакциях без дополнительной очистки, принимая, что выход являлся количественным (0,13 ммоль). ЖХ/МС (m/z): 157,0 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта во время ЖХ), R_t 0,34 мин.

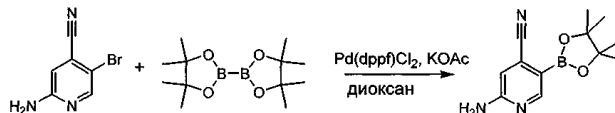
Методика 11. Синтез 2-амино-5-бром-изоникотинитрила



В колбе, обернутой алюминиевой фольгой, в затемненном вытяжном шкафу соль 2-амино-

изоникотинитрила с ТФК (125 мг, 0,54 ммоль) растворяли в ацетонитриле (3,5 мл). При перемешивании при КТ к раствору одной порцией прибавляли твердый N-бромсукцинимид (89,2 мг, 0,501 ммоль). Раствор реакционной смеси перемешивали при комнатной температуре в темноте в течение 90 мин. После выпаривания растворителя неочищенное вещество дополнительно очищали с помощью хроматографии на силикагеле и получали 2-амино-5-бром-изоникотинитрил (53 мг, 49%). ЖХ/МС (m/z): 197,9 (MH^+), R_t 2,92 мин.

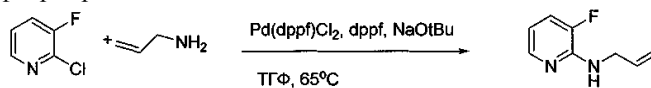
Синтез 2-амино-5-боронового сложного эфира изоникотинитрила



В стеклянном сосуде высокого давления смесь 2-амино-5-бром-изоникотинитрил (25 мг, 0,126 ммоль), 4,4,5,5-тетраметил-2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1,3,2-диоксаборолан (38 мг, 0,151 ммоль) и ацетат калия (49 мг, 0,504 ммоль) суспендировали в диоксане (1,8 мл). После продувки смеси аргоном в течение 1-2 мин одной порцией прибавляли аддукт дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (16 мг, 0,019 ммоль). Сосуд для проведения реакции герметизировали и нагревали при 120°C при перемешивании в течение 2 ч. Неочищенный раствор реакционной смеси охлаждали до комнатной температуры и использовали без дополнительной очистки, принимая, что выход боронового сложного эфира являлся количественным (0,126 ммоль). ЖХ/МС (m/z): 164,0 (MH^+ бороновой кислоты, образовавшийся при гидролизе продукта во время ЖХ), R_t 0,37 мин.

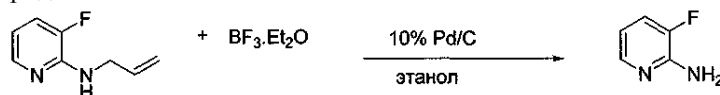
Методика 12. Синтез 3-фтор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин.

Синтез N-аллил-3-фторпиридин-2-амин



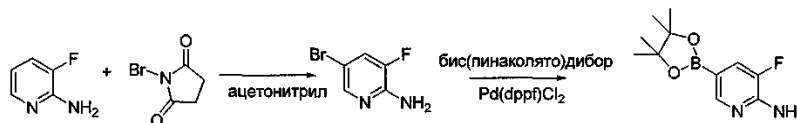
К предварительно полученному ярко-желтому комплексу $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (41 мг, 0,05 ммоль), dppf (83 мг, 0,15 ммоль) и NaOt-Bu (1,4 г, 15 ммоль) в ТГФ (20 мл) прибавляли 2-хлор-3-фторпиридин (1,32 г, 10 ммоль) и аллиламин (1,2 мл, 15 ммоль). Смесь продували азотом и сосуд высокого давления закрывали и герметизировали. Реакционную смесь нагревали при 65-70°C в течение 16 ч. Охлажденную реакционную смесь фильтровали через слой целита и слой промывали с помощью EtOAc (30 мл). Растворитель удаляли при пониженном давлении и получали густое коричневое масло. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле, элюируя с помощью 5% MeOH в EtOAc. Фракции, содержащие продукт, разбавляли с помощью EtOAc (100 мл) и экстрагировали с помощью 1 М HCl (2×50 мл), водный раствор кислого продукта лиофилизировали с образованием светло-коричневого твердого вещества и получали N-аллил-3-фторпиридин-2-амин в виде соли с HCl (1,6 г, 85%). ЖХ/МС (m/z): 153,1 (MH^+), R_t 0,5 мин.

Синтез 3-фторпиридин-2-амин



Одной порцией 10% Pd/C (1,23 г) прибавляли к раствору N-аллил-3-фторпиридин-2-амин (1,62 г, 7,18 ммоль) и $BF_3 \cdot Et_2O$ (900 мкл, 7,18 ммоль) в EtOH (20 мл) при КТ в атмосфере азота. После перемешивания при 80°C в течение 2 дней реакционную смесь фильтровали через слой целита и слой промывали с помощью EtOH (20 мл). бн. HCl прибавляли к светло-желтому фильтрату до кислой реакции раствора. Соль HCl 3-фторпиридин-2-амин с HCl является намного менее летучей, чем свободное основание. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток, представляющий собой соль, сушили в вакууме и получали 3-фторпиридин-2-амин в виде светло-желтого стеклообразного твердого вещества (1,66 г, количественный выход). ЖХ/МС (m/z): 113,0 (MH^+), R_t 0,41 мин.

Синтез 5-бром-3-фторпиридин-2-амин и 3-фтор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин



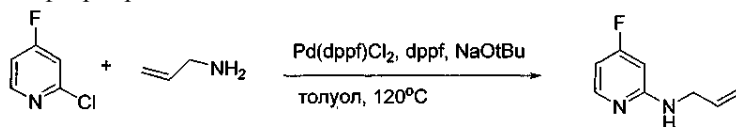
Твердый NBS (750 мг, 4,2 ммоль) при КТ при перемешивании прибавляли к раствору соли 3-фторпиридин-2-амин с HCl (1,66 г, 7,18 ммоль) в ACN (30 мл). Реакционную смесь закрывали от воздействия света и перемешивали в атмосфере азота. Через 1 ч к реакционной смеси прибавляли дополнительное количество NBS (250 мг, 1,4 ммоль). Через 1 ч растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью 70% EtOAc/гексан, а затем с помощью 100% EtOAc, и получали 5-бром-3-фторпиридин-2-амин в виде желто-коричневого

твердого вещества (1,26 г, 92% выход). ЖХ/МС (m/z): 191,0/193,0 (MH^+), R_t 1,18 мин.

Бромид превращали в пинаколборановый сложный эфир при условиях, описанных в методике 1. ЖХ/МС (m/z): 157,0 (MH^+), R_t 0,36 мин.

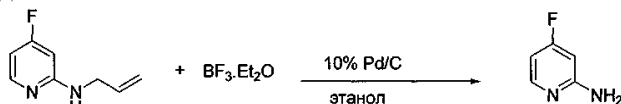
Методика 13. Синтез 4-фтор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин.

Синтез N-аллил-4-фторпиридин-2-амин



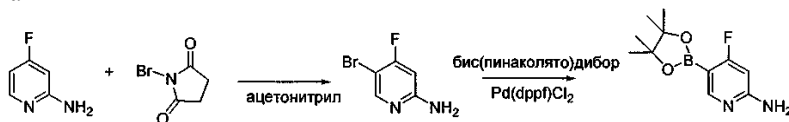
К предварительно полученному красно-коричневому комплексу $Pd(dppf)Cl_2$ (817 мг, 1,0 ммоль), $dppf$ (1,66 г, 3,0 ммоль) и $NaOtBu$ (2,9 г, 30 ммоль) в толуоле (30 мл) прибавляли 2-хлор-4-фторпиридин (2,16 г, 20 ммоль) и аллиламин (1,2 мл, 15 ммоль). Смесь продували азотом и сосуд высокого давления закрывали и герметизировали. Реакционную смесь нагревали при 120-125°C в течение 18 ч. Охлажденную темно-коричневую реакционную смесь фильтровали через слой целита и слой промывали с помощью $EtOAc$ (60 мл). Растворитель осторожно удаляли при пониженном давлении и получали густое коричневое масло, которое могло возгораться в вакууме. Неочищенную смесь подкисляли с помощью бн. HCl (10 мл) и лиофилизировали досуха и получали коричневое порошкообразное вещество в виде соли с HCl . Неочищенный продукт подвергали распределению между $EtOAc$ (100 мл) и насыщенным раствором $NaHCO_3$ (80 мл). Слои разделяли и водный слой повторно экстрагировали с помощью $EtOAc$ (100 мл). Объединенные органические слои промывали рассолом (100 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении и получали коричневый твердый N-аллил-4-фторпиридин-2-амин (690 мг, 25%). ЖХ/МС (m/z): 153,0 (MH^+), R_t 1,13 мин.

Синтез 4-фторпиридин-2-амин



Одной порцией 10% Pd/C (552 мг) при КТ в атмосфере азота прибавляли к раствору N-аллил-4-фторпиридин-2-амин (690 мг, 3,07 ммоль) и $BF_3 \cdot Et_2O$ (0,386 мл, 3,07 ммоль) в абсолютном $EtOH$ (12 мл). После перемешивания при 80°C в течение 24 ч реакционную смесь фильтровали через слой целита и слой промывали с помощью $MeOH$ (100 мл). К темному фильтрату прибавляли бн. HCl (2 мл) до кислой реакции раствора. Соль фторпиридин-2-амин с HCl является намного менее летучей, чем свободное основание. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и сушили в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ и получали 4-фторпиридин-2-амин в виде коричневой порошкообразной соли с ТФК (162 мг, 23%). ЖХ/МС (m/z): 113,0 (MH^+), R_t 0,40 мин.

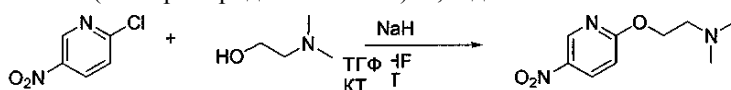
Синтез 5-бром-4-фторпиридин-2-амин и 4-фтор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин



Твердый NBS (78 мг, 0,43 ммоль) прибавляли к раствору соли 3-фторпиридин-2-амин с HCl (162 мг, 0,72 ммоль) в ACN (4 мл) при КТ при перемешивании. Реакционную смесь закрывали от воздействия света и перемешивали в атмосфере азота. Через 1,5 ч к реакционной смеси прибавляли дополнительное количество NBS (15 мг, 0,084 ммоль). После проверки степени протекания реакции через 1,5 ч к реакционной смеси прибавляли дополнительное количество NBS (15 мг, 0,084 ммоль), пока по данным ЖХ/МС не происходило полного израсходования исходного вещества. Через 1 ч растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью 50% этилацетат/гексан, и получали 5-бром-4-фторпиридин-2-амин в виде твердого вещества цвета слоновой кости (92 мг, 68%). ЖХ/МС (m/z): 190,9/192,9 (MH^+), R_t 1,02 мин.

Бромид превращали в пинаколборан при условиях, описанных в методике 1. ЖХ/МС (m/z): 157,0 (MH^+), R_t 0,34 мин.

Методика 14. Синтез 2-(5-нитропиридин-2-илокси)-N,N-диметиламина

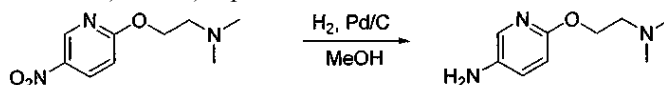


Нагревание микроволновым излучением. К раствору 2-(диметиламино)этанола (339 мг, 3,80 ммоль) в ДМФ (5 мл) прибавляли бис-(триметилсилил)амид натрия (4,75 мл, 1 М раствор в ТГФ, 4,75 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Затем прибавляли 2-хлор-5-нитропиридин (500 мг, 3,16 ммоль). Сосуд закрывали и обрабатывали микроволновым излучением (150°C в течение 10 мин). Смесь разбавляли водой (250 мл) и $EtOAc$ (250 мл). Эти два слоя разделяли и

водный слой еще 2 раза экстрагировали с помощью EtOAc. Органические экстракты объединяли, промывали водой и рассолом, сушили над сульфатом натрия и выпаривали и получали неочищенное вещество в виде коричневого масла. Очистка с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием смеси 5% метанол/метиленхлорид давала 2-(5-нитропиридин-2-илокси)-N,N-диметилэтанамин в виде светло-желтого твердого вещества (295 мг, 44%).

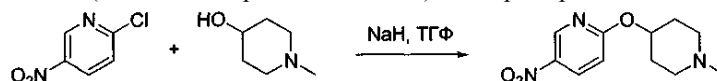
Гидрид натрия и нагревание на масляной бане. К смеси гидрида натрия (189 мг, 4,73 ммоль) с безводным тетрагидрофураном (2 мл) при 0°C по каплям прибавляли раствор 2-хлор-5-нитропиридина (500 мг, 3,16 ммоль) и 2-(диметиламино)этанола (353 мг, 3,96 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (4 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч. ТГФ выпаривали и прибавляли воду (100 мл) и EtOAc (200 мл). Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (200 мл) и органические слои объединяли, промывали рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали и получали коричневое масло. Очистка с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием смеси 5% метанол/метиленхлорид давала 2-(5-нитропиридин-2-илокси)-N,N-диметилэтанамин в виде светло-желтого твердого вещества (233 мг, 35%). ЖХ/МС (m/z): 212,2 (МН⁺), R_t 1,28 мин.

Синтез 6-(2-(диметиламино)этокси)пиридин-3-амина



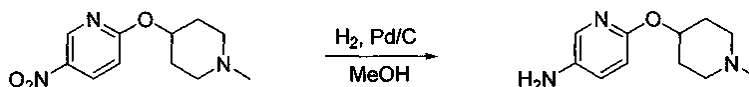
2-(5-Нитропиридин-2-илокси)-N,N-диметилэтанамин (295 мг, 1,40 ммоль) растворяли в 5 мл метанола и помещали в атмосферу азота. Прибавляли каталитическое количество 10% палладия на угле и к колбе для проведения реакции присоединяли баллон с водородом. Колбу пять раз продували водородом и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 16 ч. Твердое вещество отфильтровывали и промывали метанолом. Филтрат выпаривали при пониженном давлении и получали 6-[2-(диметиламино)этокси]пиридин-3-амин в виде коричневого масла (250 мг, 99%). ЖХ/МС (m/z): 182,1 (МН⁺), R_t 0,36 мин.

Методика 15. Синтез 2-(1-метилпиперидин-4-илокси)-5-нитропиридина



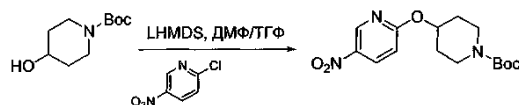
К смеси гидрида натрия (189 мг, 4,73 ммоль) с безводным тетрагидрофураном (2 мл) при 0°C по каплям прибавляли раствор 2-хлор-5-нитропиридина (500 мг, 3,16 ммоль) и 1-метилпиперидин-4-ола (455 мг, 3,96 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (4 мл). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 16 ч. ТГФ выпаривали и прибавляли воду (100 мл) и EtOAc (200 мл). Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (200 мл). Органические слои объединяли, промывали рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали и получали коричневое масло. Очистка с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием смеси 3% метанол/метиленхлорид давала 2-(1-метилпиперидин-4-илокси)-5-нитропиридин в виде желтого твердого вещества (367 мг, 49%). ЖХ/МС (m/z): 238,0 (МН⁺), R_t 1,59 мин.

Синтез 6-(1-метилпиперидин-4-илокси)пиридин-3-амина



2-(1-Метилпиперидин-4-илокси)-5-нитропиридин (100 мг, 0,42 ммоль) растворяли в 5 мл метанола и помещали в атмосферу азота. Прибавляли каталитическое количество 10% палладия на угле и к колбе для проведения реакции присоединяли баллон с водородом. Колбу пять раз продували водородом и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода. Твердое вещество отфильтровывали и промывали метанолом. Филтрат выпаривали при пониженном давлении и получали 6-(1-метилпиперидин-4-илокси)пиридин-3-амин в виде коричневого твердого вещества (85 мг, 98%). ЖХ/МС (m/z): 208,2 (МН⁺), R_t 0,34 мин.

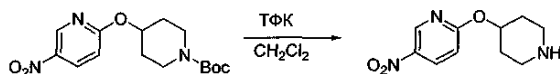
Методика 16. Синтез трет-бутил-4-(5-нитропиридин-2-илокси)пиперидин-1-карбоксилата



К раствору трет-бутил-4-гидроксипиперидин-1-карбоксилата (1 экв.) в ДМФ прибавляли бистриметилсилиламид калия (1,5 экв., 1 М раствор в тетрагидрофуране). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин и прибавляли 2-хлор-5-нитропиридин (1,2 экв.). Реакционную смесь обрабатывали микроволновым излучением в течение 600 с при 145°C. К реакционной смеси прибавляли EtOAc и воду и слои разделяли. Органический слой промывали водой, рассолом, сушили над сульфатом натрия, выпаривали и получали коричневое неочищенное вещество. Очистка с помощью ко-

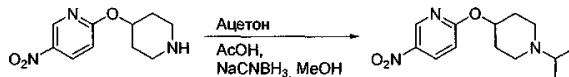
лоночной хроматографии на силикагеле с использованием смеси 10% EtOAc/гексан давала продукт в виде светло-желтого твердого вещества. ЖХ/МС (m/z): 324,3 (МН⁺), R_t 3,33 мин.

Синтез 5-нитро-2-(пиперидин-4-илокси)пиридина



Трифторуксусную кислоту (5 экв.) прибавляли к раствору трет-бутил-4-(5-нитропиридин-2-илокси)пиперидин-1-карбоксилата (1 экв.) в дихлорметане, перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем растворитель выпаривали, значение pH остатка доводили до 10 насыщенным водным раствором Na₂CO₃ и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали рассолом, сушили над сульфатом натрия, выпаривали и получали продукт в виде светло-желтого кристаллического твердого вещества. ЖХ/МС (m/z): 224,3 (МН⁺), R_t 1,64 мин.

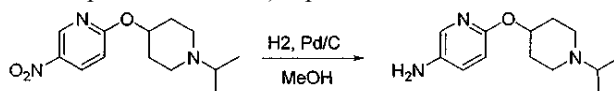
Синтез 2-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)-5-нитропиридина



К 10% раствору уксусной кислоты в метаноле прибавляли 5-нитро-2-(пиперидин-4-илокси)пиридин (1 экв.) и безводный ацетон (5 экв.). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C в бане со льдом и прибавляли цианоборогидрид натрия (1,5 экв.). Реакционную смесь затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 5 ч. Растворитель выпаривали, значение pH остатка доводили до 10 карбонатом натрия и экстрагировали с помощью EtOAc.

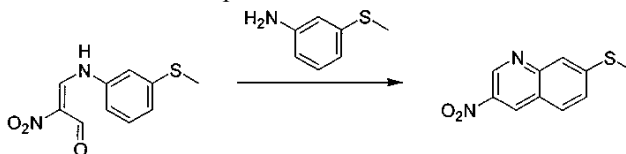
Органический слой промывали водой, рассолом, сушили над сульфатом натрия, выпаривали и получали неочищенное вещество. Очистка с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием смеси 2% метанол/дихлорметан давала продукт в виде желтого твердого вещества. ЖХ/МС (m/z): 266,3 (МН⁺), R_t 1,85 мин.

Синтез 6-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)пиридин-3-амин



2-(1-Изопропилпиперидин-4-илокси)-5-нитропиридин (1 экв.) растворяли в метаноле и помещали в атмосферу азота. Прибавляли каталитическое количество 10% палладия на угле и к колбе для проведения реакции присоединяли баллон с водородом. Колбу пять раз продували водородом и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч в атмосфере водорода. Твердое вещество отфильтровывали и промывали метанолом. Фильтрат выпаривали при пониженном давлении и получали продукт в виде коричневого масла. ЖХ/МС (m/z): 236,3 (МН⁺), R_t 0,38 мин.

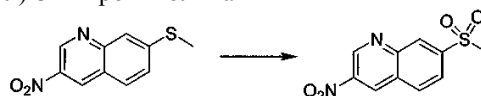
Методика 17. Синтез 7-метилтио-3-нитрохинолина



При кипячении с обратным холодильником к смеси 3-[(3-метилтиофенил)амино]-2-нитропроп-2-енала (2,3 г, 9,6 ммоль) и соли 3-метилтиофениламина с HCl (2,7 г, 19,3 ммоль) в уксусной кислоте (25 мл) прибавляли тиофенол (0,2 г, 1,9 ммоль). После кипячения с обратным холодильником в течение 18 ч смесь охлаждали до комнатной температуры и уксусную кислоту удаляли при пониженном давлении. К оставшемуся темному твердому веществу при перемешивании прибавляли EtOAc (50 мл). Фильтрование давало желто-зеленое твердое вещество и темный фильтрат. При выдерживании продукт кристаллизовался из раствора в EtOAc. Фильтрование и промывка холодным EtOAc давали 330 мг кристаллического продукта.

Желто-зеленое твердое вещество промывали с помощью 3×250 мл порций дихлорметана. Дихлорметановые промывочные растворы концентрировали и получали еще 150 мг продукта (23%). ЖХ/МС (m/z): 221,1 (МН⁺), R_t 2,54 мин.

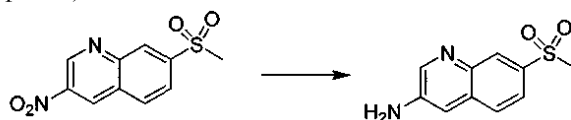
Синтез 7-(метилсульфонил)-3-нитрохинолина



К охлаждаемому в бане со льдом раствору 7-метилтио-3-нитрохинолина (141 мг, 0,6 ммоль) в дихлорметане (6 мл) прибавляли МХПБК (м-хлорпероксибензойная кислота) (221 мг, 1,3 ммоль) в дихлорметане (3 мл). После нагревания до комнатной температуры образовавшийся белый осадок отфильтровывали, промывали с помощью еще 10 мл дихлорметана и получали чистый продукт (85 мг, 53%).

ЖХ/МС (m/z): 252,9 (MH⁺), R_t 1,82 мин.

Синтез 7-(метилсульфонил)-3-хинолиламина



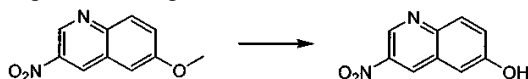
К суспензии 7-(метилсульфонил)-3-нитрохинолина (85 мг, 0,4 ммоль) в EtOAc (6 мл) в атмосфере аргона прибавляли 10% Pd/C (22 мг, 0,04 ммоль). К колбе для проведения реакции присоединяли баллон с H₂, колбу трижды продували с помощью H₂ и реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 18 ч. Наблюдалось осаждение непрореагировавшего исходного вещества вместе с катализатором на дно колбы. Твердое вещество удаляли из раствора в EtOAc фильтрованием. Выпаривание EtOAc при пониженном давлении давало 7-(метилсульфонил)-3-хинолиламин (22 мг, 30%). ЖХ/МС (m/z): 223,0 (MH⁺), R_t 1,10 мин.

Методика 18. Синтез 6-метоксихинолин-3-амина



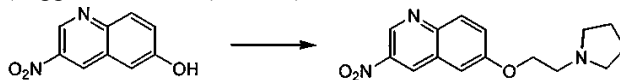
Смесь 6-метокси-3-нитрохинолина (Magnus, P. et al., J. Am. Chem. Soc. 119, 5591, 1997; 0,17 г, 0,83 ммоль) и Pd/C (10%, 80 мг) в EtOAc (15 мл) гидрировали водородом из баллона и получали 6-метоксихинолин-3-амин с количественным выходом. ЖХ/МС (m/z): 175,1 (MH⁺), R_t 1,54 мин.

Методика 19. Синтез 6-гидроксид-3-нитрохинолина



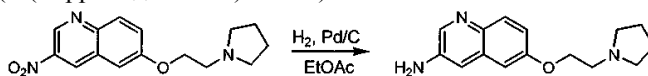
6-Метокси-3-нитрохинолин (Magnus, P. et al., J. Am. Chem. Soc. 119, 5591, 1997; 100 мг, 0,49 ммоль) растворяли в растворе бромида водорода (47% водный раствор, 2,5 мл, 0,2 М), нагревали и перемешивали при 120°C в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, нейтрализовывали с помощью бн. NaOH, затем экстрагировали с помощью EtOAc (150 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄, очищали с помощью флэш-хроматографии (SiO₂, 40-50% EtOAc/гексаны) и получали 73 мг (78%) 6-гидрокси-3-нитрохинолина. ЖХ/МС (m/z): 190,9 (MH⁺), R_t 1,97 мин.

Синтез 3-нитро-6-(2-(пирролидин-1-ил)этокси)хинолина



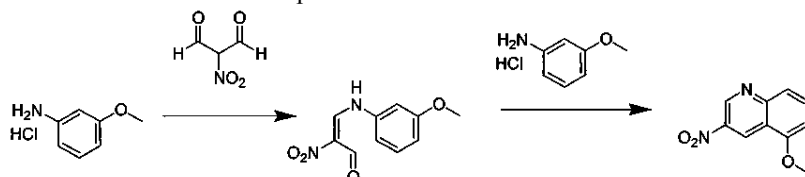
6-Гидрокси-3-нитрохинолин (148 мг, 0,78 ммоль) растворяли в ТГФ (18 мл). Прибавляли 2-(пирролидин-1-ил)этанол (0,091 мл, 0,78 ммоль) и трифенилфосфин (306 мг, 1,17 ммоль). Затем прибавляли диэтилазодикарбоксилат (0,184 мл, 1,17 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем растворитель концентрировали в вакууме, остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (SiO₂) и получали 134 мг (60%) 3-нитро-6-(2-(пирролидин-1-ил)этокси)хинолина. ЖХ/МС (m/z): 288,1 (MH⁺), R_t 1,80 мин.

Синтез 3-амино-6-(2-(пирролидин-1-ил)этокси)хинолина



3-Нитро-6-(2-(пирролидин-1-ил)этокси)хинолин (134 мг, 0,46 ммоль) растворяли в EtOAc (10 мл) и раствор в течение нескольких минут продували с помощью N₂. Затем прибавляли триэтиламин (0,065 мл, 0,46 ммоль) и после этого каталитическое количество 10% Pd/C. Продувку с помощью N₂ повторяли после каждого прибавления. К колбе для проведения реакции присоединяли баллон с H₂ и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 48 ч. Затем смесь фильтровали через слой целлита, концентрировали и получали неочищенный 3-амино-6-(2-(пирролидин-1-ил)этокси)хинолин, который использовали в следующей реакции без обработки. ЖХ/МС (m/z): 258,1 (MH⁺), R_t 0,33 мин.

Методика 20. Синтез 5-метокси-3-нитрохинолина



Синтез 3-(3-метоксифениламино)-2-нитропропенала.

К соли 3-метоксифениламина с HCl (4,6 г, 28,9 ммоль) в 1н. HCl (300 мл) прибавляли раствор 2-нитромаленового альдегида (2,7 г, 19,3 ммоль) в 150 мл воды. Через 30 мин осадок отфильтровывали и

промывали с помощью 0,1н. HCl. Сушка воздухом в воронке Бюхнера в течение 18 ч давала 3,36 г (78%) светло-желто/зеленого порошкообразного вещества. ЖХ/МС (m/z): 245,1 (MH⁺+Na), R_t 2,21 мин.

Синтез 5-метокси-3-нитрохинолина и 7-метокси-3-нитрохинолина.

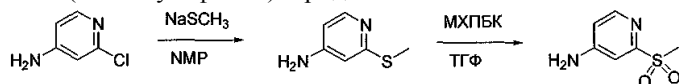
К соли 3-метоксифениламина с HCl (4,7 г, 29,7 ммоль) в 30 мл уксусной кислоты прибавляли 3-(3-метоксифениламино)-2-нитропропеналь (3,3 г, 14,9 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником и прибавляли тиофенол (0,3 мл, 2,98 ммоль). Через 22 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и растворитель удаляли в вакууме. Прибавление 70 мл EtOAc и фильтрование давало твердый побочный продукт, 7-метокси-3-нитрохинолин, и фильтрат, который содержал неочищенный 5-метокси-3-нитрохинолин. Фильтрат вводили в колонку с диоксидом кремния и элюировали смесью 5-25% EtOAc в гексанах со скоростью 85 мл/мин в течение 30 мин. Фракции, обогащенные продуктом, концентрировали и использовали на следующей стадии в виде смеси 5- и 7-метоксизамещенных 3-нитрохинолинов. ЖХ/МС (m/z): 205,1 (MH⁺), R_t 2,26 мин.

Синтез 5-метоксихинолин-3-амина



Смесь 5- и 7-метоксизамещенных 3-нитрохинолинов (780 мг, 3,82 ммоль) растворяли в EtOAc (75 мл) и реакционную смесь в течение нескольких минут продували с помощью N₂. Затем прибавляли 10% Pd/C (54 мг) и баллон с H₂ присоединяли к колбе для проведения реакции. Реакционную смесь продували с помощью H₂ и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение ночи. Удаление растворителя в вакууме и очистка с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (100% EtOAc) давали два разделенных изомера - 5-метоксихинолин-3-амин и 7-метоксихинолин-3-амин. Искомый продукт, 5-метоксихинолин-3-амин (80 мг, 12%), получали в виде желтого порошкообразного вещества. Отнесение структуры проводили по данным ¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,40 (d, 1H), 7,69 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,30 (t, 1H), 6,85 (d, 1H). ЖХ/МС (желательный изомер) (m/z): 175,0 (MH⁺), R_t 1,54 мин; ЖХ/МС (нежелательный изомер) (m/z): 175,0 (MH⁺), R_t 1,53 мин.

Методика 21. Синтез 2-(метилсульфонил)пиридин-4-амина

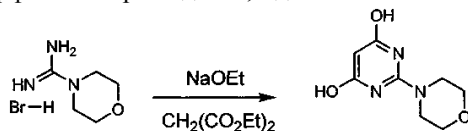


Синтез 2-(метилтио)пиридин-4-амина.

Твердый тиометоксид (140 мг, 1,98 ммоль) прибавляли к раствору 2-хлорпиридин-4-амина (150 мг, 1,17 ммоль) в NMP (0,65 мл) в сосуде высокого давления. Сосуд герметизировали и нагревали микроволновым излучением при 200°C в течение 800 с. Очистка с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния при элюировании смесью 8% MeOH/ДХМ давала 2-(метилтио)пиридин-4-амин (435 мг, выход 50%). ЖХ/МС (m/z): 140,9 (MH⁺), R_t 0,59 мин.

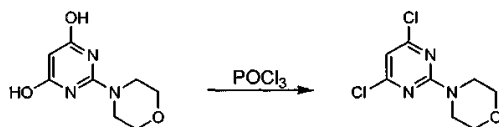
Твердый МХПБК (780 мг, 2-3 ммоль) небольшими порциями при перемешивании медленно прибавляли к раствору 2-(метилтио)пиридин-4-амина (435 мг, 1,17 ммоль) в ТГФ (7 мл) при КТ. За протеканием реакции следили с помощью ЖХ/МС и за расходом исходного вещества - путем титрования с помощью МХПБК. К реакционной смеси прибавляли диоксид кремния и затем ее концентрировали досуха при пониженном давлении. Неочищенное вещество на подложке из диоксида кремния очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью 5% MeOH/ДХМ, и получали 2-(метилсульфонил)пиридин-4-амин (220 мг, количественный выход). ЖХ/МС (m/z): 173,0 (MH⁺), R_t 0,34 мин.

Методика 22. Синтез 2-морфолинопиримидин-4,6-диола



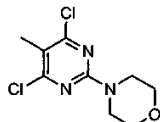
Натрий (17,25 г, 150 ммоль) нарезали на небольшие кусочки и медленно прибавляли к EtOH (500 мл) в круглодонной колбе объемом 1 л в атмосфере N₂ и охлаждали водой. После растворения всего натрия прибавляли морфолиноформамидингидробромид (52,5 г, 50 ммоль) и диэтилмалонат (40 г, 50 ммоль). Смесь кипятили с обратным холодильником в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и этанол удаляли в вакууме. К белому твердому веществу при комнатной температуре прибавляли водный раствор HCl (1н., 800 мл). Твердое вещество сначала растворялось с образованием прозрачного раствора, затем продукт осаждался в виде белого твердого вещества. Через 1 ч при комнатной температуре твердое вещество отфильтровывали, промывали водой (3×), сушили (на воздухе и затем над P₂O₅) и получали 2-морфолинопиримидин-4,6-диол (42,5 г, 86%). ЖХ/МС (m/z): 198,1 (MH⁺), R_t 0,51 мин.

Синтез 4,6-дихлор-2-морфолинопиримидина



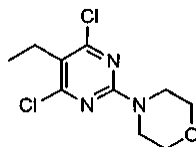
Смесь 2-морфолинопиримидин-4,6-диола (30 г, 0,15 моль) и POCl₃ (150 мл, 1,61 моль) нагревали при 120°C в течение 16 ч, затем охлаждали до КТ. Избыток POCl₃ удаляли и получали полужидкое вещество. Твердое вещество при перемешивании постепенно прибавляли к смеси воды (700 мл) и EtOH (100 мл), периодически охлаждая водой. Образовавшееся белое твердое вещество отфильтровывали, промывали водой, 10% EtOH в воде и сушили над P₂O₅ и получали 4,6-дихлор-2-морфолинопиримидин (17,82 г, 50%). ЖХ/МС (m/z): 233,9 (MH⁺), R_t 2,95 мин.

Методика 23. Синтез 4,6-дихлор-5-метил-2-морфолинопиримидина



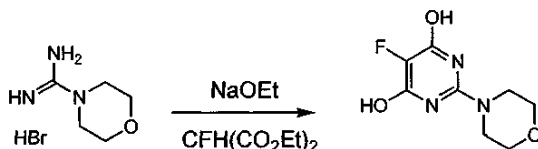
4,6-Дихлор-5-метил-2-морфолинопиримидин получали по методике, аналогичной использованной для 4,6-дихлор-2-морфолинопиримидина (в методике 22) с использованием диметил-2-метилмалоната вместо диэтилмалоната. ЖХ/МС (m/z): 248,1 (MH⁺).

Методика 24. Синтез 4,6-дихлор-5-этил-2-морфолинопиримидина



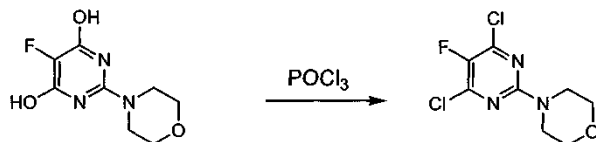
4,6-Дихлор-5-этил-2-морфолинопиримидин получали по методике, аналогичной использованной для 4,6-дихлор-2-морфолинопиримидина (в методике 22) с использованием диметил-2-этилмалоната вместо диэтилмалоната. ЖХ/МС (m/z): 262,1 (MH⁺), R_t 3,59 мин.

Методика 25. Синтез 5-фтор-2-морфолинопиримидин-4,6-диола



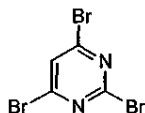
Гидрид натрия (60% в масле, 3,9 г, 96,5 ммоль) промывали гексанами в круглодонной колбе в атмосфере аргона и охлаждали в бане из воды со льдом. Медленно прибавляли EtOH (100 мл). Полученную смесь нагревали до КТ и перемешивали в течение 30 мин. К щелочной смеси прибавляли диэтил-2-фтормалонат (5,7 г, 32,2 ммоль), а затем морфолиноформамидингидробромид (6,8 г, 32,2 ммоль). Смесь нагревали при 90-95°C при перемешивании в атмосфере аргона. Через 12 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и EtOH удаляли в вакууме. Полученное белое твердое вещество растворяли в воде (25 мл) и концентрированной HCl подкисляли до pH 3-4. Образовавшийся белый осадок собирали на фильтре Бюхнера, промывали водой (2×50 мл), на фильтре сушили воздухом, сушили в вакууме и получали 5-фтор-2-морфолинопиримидин-4,6-диол (0,87 г, 12%). ЖХ/МС (m/z): 216,0 (MH⁺), R_t 0,63 мин.

Синтез 4-(4,6-дихлор-5-фторпиримидин-2-ил)морфолина



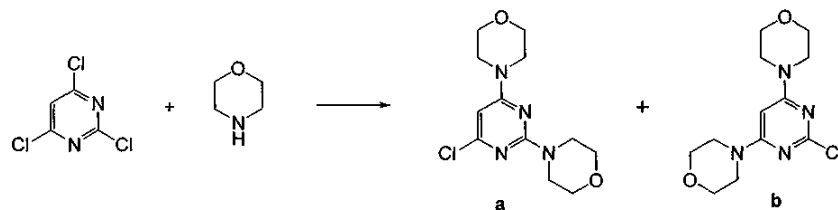
Смесь 5-фтор-2-морфолинопиримидин-4,6-диола (0,87 г, 4,0 ммоль) и POCl₃ (10 мл) нагревали при 120°C в течение 16 ч, затем охлаждали до КТ. Избыток POCl₃ удаляли при пониженном давлении и получали полужидкое вещество, которое дополнительно сушили в вакууме. После 12 ч сушки в вакууме твердое вещество растворяли в EtOAc (150 мл) и промывали насыщенным раствором NaHCO₃ (60 мл). Твердое вещество, образовавшееся при промывке, отбрасывали с водным слоем. Органический слой повторно промывали насыщенным раствором NaHCO₃ (2×30 мл), рассолом (30 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и получали неочищенный продукт. Продукт очищали с помощью флэш-хроматографии, элюируя смесью 25% EtOAc/гексан, и получали 4-(4,6-дихлор-5-фторпиримидин-2-ил)морфолин (418 мг, 42%). ЖХ/МС (m/z): 251,9 (MH⁺), R_t 3,22 мин.

Методика 26. Синтез 2,4,6-трибромпиридина



К смеси пиридин-2,4,6(1H,3H,5H)-триона (2,66 г, 20,87 ммоль) и POBr_3 (25 г, 87,2 ммоль) в толуоле (35 мл) в колбе объемом 200 мл прибавляли N,N-диметиланилин (4,52 мл, 35,7 ммоль). Кирпично-красную взвесь кипятили с обратным холодильником в течение 3 ч. За это время образовывался двухфазный раствор с красной смолой на дне колбы и находящейся над ней желтой прозрачной жидкостью. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и желтый органический слой сливали. Красную смолу один раз промывали с помощью EtOAc . Объединенные органические экстракты промывали насыщенным раствором NaHCO_3 (3× или до прекращения выделения CO_2), H_2O (3×), рассолом (2×) и сушили над Na_2SO_4 . Затем раствор концентрировали, сушили в высоком вакууме и получали 2,4,6-трибромпиридин (5,40 г, 82%), который использовали без дополнительной очистки. ЖХ/МС (m/z): 316,8/318,7 (MH^+), R_t 2,78 мин.

Методика 27

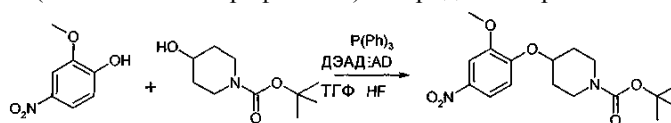


Раствор морфолина (100 г; 1,15 моль; 5,3 экв.) в ТГФ (450 мл) охлаждали в бане со льдом. В течение 30 мин прибавляли раствор 2,4,6-трихлорпиридина (39,9 г; 217 ммоль; 1,0 экв.) в ТГФ (100 мл). После прибавления 2,4,6-трихлорпиридина образовывалось большое количество белого осадка и реакционная смесь быстро загустевала. Смеси давали нагреться до температуры окружающей среды и ее механически перемешивали в течение 64 ч (кипение реакционной смеси с обратным холодильником после прибавления 2,4,6-трихлорпиридина приводило к завершению реакции за 60 мин. Соотношение а:б не менялось). Затем смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали дополнительным количеством ТГФ (2×100 мл). Фильтрат концентрировали на роторном испарителе. Прибавляли воду (600 мл) и полученную взвесь перемешивали в течение 30 мин. Твердое вещество выделяли фильтрованием, промывали дополнительным количеством воды (2×100 мл) и сушили в течение ночи в вакууме. Выход а+б: 61,3 г (99%). По данным ВЭЖХ продукт на 87% состоял из а, а остальное представляло собой б.

31 г неочищенного твердого вещества растворяли в 200 мл CH_2Cl_2 и вносили в 600 г сухого диоксида кремния в воронке с пористым стеклянным фильтром. Диоксид кремния элюировали смесью 1:1 гексан:EtOAc и собирали 300 мл фракций. Анализ с помощью ТСХ показывал, что вещество а содержалось во фракциях 1-7 и 4,6-диморфолино-2-хлорпиридин - во фракциях 6-10. Фракции 1-5 объединяли, концентрировали и получали белое твердое вещество. Выход: 28,2 г (по данным ВЭЖХ продукт содержал 98% вещества а).

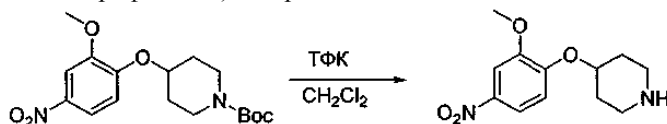
Методика 28. Синтез 4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)-3-метоксианилина.

Синтез трет-бутил-4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидин-1-карбоксилата



К смеси трифенилфосфина (3,10 г, 11,8 ммоль) и диэтилазodicарбоксилата (2,06 г, 11,8 ммоль) в атмосфере N_2 в ТГФ (40 мл) прибавляли трет-бутил-4-гидрокси-пиперидин-1-карбоксилат (2,00 г, 9,94 ммоль). После перемешивания в течение 10 мин прибавляли 2-метокси-4-нитрофенол (1,00 г, 5,91 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч, растворитель выпаривали при пониженном давлении и получали оранжевое масло. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием смеси 25% EtOAc/гексан и получали трет-бутил-4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидин-1-карбоксилат в виде бежевого твердого вещества (1,70 г, 82%). ЖХ/МС (m/z): 353,2 (MH^+), R_t 3,23 мин.

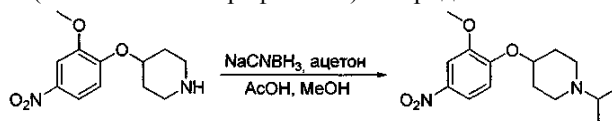
Синтез 4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидина



Трифторуксусную кислоту (5 экв.) прибавляли к раствору трет-бутил-4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидин-1-карбоксилата (200 мг, 0,57 ммоль, 1 экв.) в дихлорметане, перемешивали при

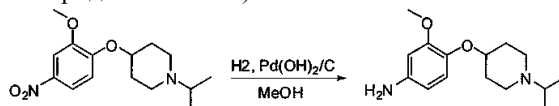
комнатной температуре в течение 1 ч. Затем растворитель выпаривали, значение pH остатка доводили до 10 насыщенным водным раствором Na_2CO_3 и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали рассолом, сушили над сульфатом натрия, выпаривали и получали продукт 4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидин в виде светло-желтого твердого вещества (137,3 мг, 96%). ЖХ/МС (m/z): 253,2 (MH^+), R_t 1,81 мин.

Синтез 1-изопропил-4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидина



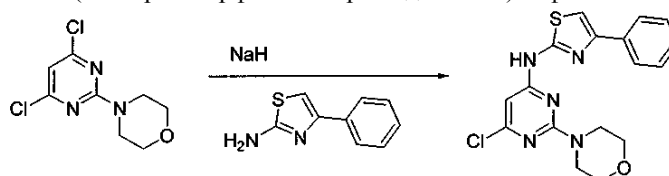
К 10% раствору уксусной кислоты в метаноле прибавляли 4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидин (148 мг, 0,59 ммоль, 1 экв.), безводный ацетон (5 экв.) и цианоборогидрид натрия (1,5 экв.). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Прибавляли дополнительное количество безводного ацетона (5 экв.) и цианоборогидрида натрия (1,5 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч. Растворитель выпаривали, значение pH остатка доводили до 10 водным раствором карбоната натрия и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали водой, рассолом, сушили над сульфатом магния, выпаривали и получали 1-изопропил-4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидин в виде желтого масла (163 мг, 97%). ЖХ/МС (m/z): 295,2 (MH^+), R_t 1,96 мин.

Синтез 4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)-3-метоксианилина



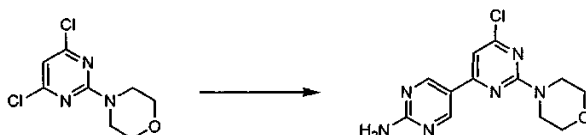
1-Изопропил-4-(2-метокси-4-нитрофенокси)пиперидин (167 мг, 0,57 ммоль) растворяли в метаноле (20 мл) и помещали в атмосферу азота. Прибавляли каталитическое количество 20% гидроксида палладия на угле и к колбе для проведения реакции присоединяли баллон с водородом. Колбу пять раз продували водородом и перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 16 ч. Реакционную смесь фильтровали и промывали метанолом. Фильтрат выпаривали при пониженном давлении. К остатку прибавляли ацетонитрил (10 мл), взбалтывали в течение 10 мин и сливали с пленки. Ацетонитриловый слой выпаривали при пониженном давлении и получали 4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)-3-метоксианилин в виде коричневого масла (131 мг, 87%). ЖХ/МС (m/z): 265,2 (MH^+), R_t 0,33 мин.

Методика 30. Синтез N-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-фенилтиазол-2-амин



К раствору 4-фенилтиазол-2-амин (374 мг, 2,1 ммоль) в 10 мл N,N-диметилацетамида при комнатной температуре прибавляли гидрид натрия (50 мг, 2,1 ммоль). После перемешивания смеси при этой температуре в течение 10 мин к реакционной смеси прибавляли дихлорид (470 мг, 2,0 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 ч к реакционной смеси прибавляли дополнительное количество гидрида натрия (50 мг, 2,1 ммоль). Смесь перемешивали в течение 1 ч и реакцию останавливали с помощью 5 мл водного раствора хлорида аммония. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (2×10 мл). Объединенные органические слои промывали водой (10 мл), рассолом (10 мл), затем сушили над MgSO_4 , фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и получали неочищенный продукт, который очищали на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом и гексаном, и получали N-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-фенилтиазол-2-амин. ЖХ/МС (m/z): 374 и 376 (MH^+), R_t 3,40 мин.

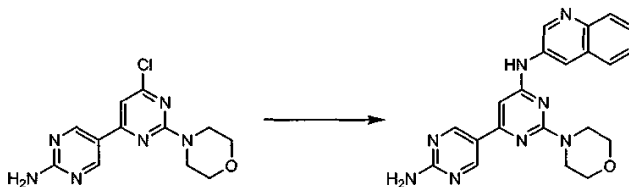
Пример 1. Получение N-(6-(2-аминопиримидин-5-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)хинолин-3-амин



4,6-Дихлор-2-морфолинопиримидин (получен, как в методике 22; 3,0 г, 12,9 ммоль) и 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиримидин-2-амин (3,43 г, 15,5 ммоль) растворяли в ДМЭ (130 мл). Затем прибавляли водный раствор Na_2CO_3 (2 М, 32 мл, 64 ммоль) и реакционную смесь в течение нескольких минут продували с помощью N_2 . Затем прибавляли $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (145 мг, 0,65 ммоль) и PPh_3 (339 мг, 1,29 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 95°C в течение 1 ч. Реакционной смеси давали охладиться до комнатной температуры, раствор сливали с твердого остатка и концентрировали. Образовавшееся твердое вещество отделяли от водной фазы. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc и

этот органический слой объединяли с осадком. Удаление растворителя в вакууме давало твердый остаток, который растирали примерно с 20 мл EtOAc, фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и получали искомый продукт. Дополнительное количество продукта получали путем концентрирования маточного раствора и очистки твердого осадка путем растирания с EtOAc. Две порции объединяли и получали 1,98 г (52%) искомого продукта. ЖХ/МС (m/z): 293,1 (MH^+), R_t 1,92 мин.

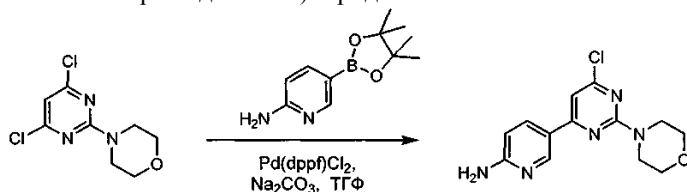
N-(6-(2-аминопиримидин-5-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)хинолин-3-амин



$Pd(OAc)_2$, БИНАФ, карбонат цезия, ТГФ (0,8 мл) смешивали с 5-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)пиримидин-2-амином (1 экв.) и хинолин-3-амином (2 экв.). Смесь нагревали микроволновым излучением в течение 10 мин при 110°C. Раствор фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. ЖХ/МС (m/z): 401,4 (MH^+).

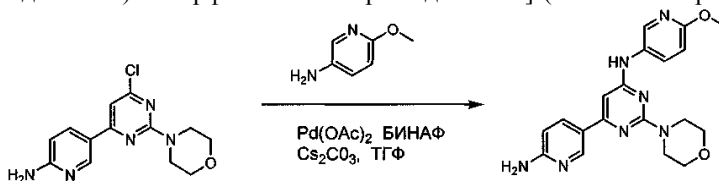
Пример 2. Получение [6-(6-аминопиридин-3-ил)-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил]-(6-метоксипиридин-3-ил)амин.

5-(6-Хлор-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил)пиридин-2-иламин



ТГФ (130 мл) и водный раствор Na_2CO_3 (2 М, 40 мл, 80 ммоль) прибавляли в сосуд высокого давления, содержащий 4,6-дихлор-2-морфолинопиримидин (получен, как в методике 22; 4,5 г, 19,2 ммоль) и 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин (4,7 г, 21,2 ммоль). Полученную смесь перемешивали и продували аргоном в течение 1-2 мин. Затем одной порцией прибавляли катализатор, аддукт дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (1,26 г, 1,54 ммоль). После герметизации сосуда для проведения реакции реакционную смесь нагревали при 85°C в течение 1 ч при перемешивании. После охлаждения до КТ ТГФ удаляли при пониженном давлении и получали вязкий остаток. Прибавляли EtOAc (450 мл) и воду (50 мл). После энергичного перемешивания в течение 1-2 мин твердое вещество отфильтровывали и промывали с помощью EtOAc (100 мл). Органический слой отделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (100 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором NaCl (1×50 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенное вещество дополнительно очищали с помощью хроматографии на силикагеле и получали 5-(6-хлор-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил)пиридин-2-иламин (2,48 г, 44%). ЖХ/МС (m/z): 292,1 (MH^+), R_t 2,06 мин.

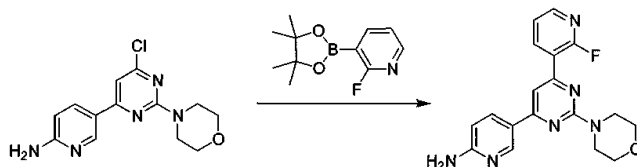
[6-(6-Аминопиридин-3-ил)-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил]-(6-метоксипиридин-3-ил)амин



В стеклянном сосуде высокого давления $Pd(OAc)_2$ (2,0 мг, 0,0082 ммоль), БИНАФ (6,4 мг, 0,0102 ммоль), карбонат цезия (20,0 мг, 0,0615 ммоль) и ТГФ (0,8 мл) смешивали и перемешивали при комнатной температуре в течение 1-3 мин. К полученной смеси прибавляли 5-(6-хлор-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил)пиридин-2-иламин (12,0 мг, 0,041 ммоль), а затем 6-метоксипиридин-3-иламин (10,2 мг, 0,082 ммоль). Стеклянный сосуд высокого давления герметизировали и перемешивали при 95°C в течение 90 мин. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали [6-(6-аминопиридин-3-ил)-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил]-(6-метоксипиридин-3-ил)амин (5,0 мг, 32%). ЖХ/МС (m/z): 380,1 (MH^+), R_t 1,82 мин.

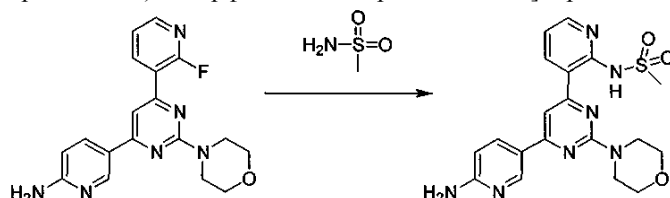
Пример 3. Получение 5-(6-[2-(метилсульфонамид)пиридин]-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)пиридин-2-амина.

5-[6-(2-Фторпиридин-3-ил)-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил]пиридин-2-иламин



К раствору 5-(6-хлор-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил)пиридин-2-иламина, полученному, как в примере 2 (252 мг, 0,87 ммоль), и 2-фтор-3-(4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)пиридина (183 мг, 1,30 ммоль) в ДМЭ (4 мл) прибавляли водный раствор Na_2CO_3 (2 М, 1 мл), а затем дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладий(II)дихлорметан (71 мг, 0,087 ммоль). Смесь нагревали микроволновым излучением в течение 20 мин при 120°C. Водную фазу отделяли от ДМЭ и экстрагировали с помощью ЕтОАс. Объединенные органические фазы промывали рассолом, сушили, фильтровали, концентрировали и получали неочищенный искомый продукт, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХ/МС (m/z): 353,3 (MH^+), 1,84 мин.

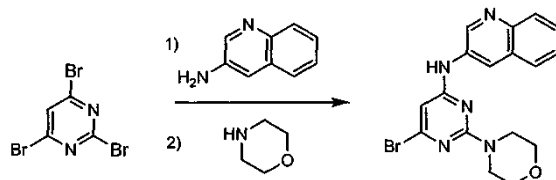
N-{3-[6-(6-Аминопиримидин-3-ил)-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил]пиридин-2-ил}метансульфонамид



К раствору 5-[6-(2-фторпиридин-3-ил)-2-морфолин-4-илпиримидин-4-ил]пиридин-2-иламина (200 мг, 0,57 ммоль) и метансульфонамид (216 мг, 2,3 ммоль) в NMP (8 мл) прибавляли Cs_2CO_3 (372 мг, 1,1 ммоль). Раствор нагревали при 125°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали, очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали искомое соединение. ЖХ/МС (m/z): 428,3 (MH^+), R_t 1,80 мин.

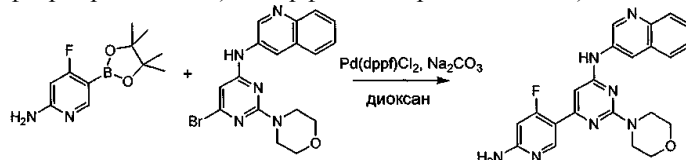
Пример 4. Получение N-(6-(6-амино-4-фторпиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)хинолин-3-амина.

N-(6-Бром-2-морфолинопиримидин-4-ил)хинолин-3-амин



К раствору 2,4,6-трибромпиримидина (5,40 г, 17,2 ммоль) в ацетонитриле (60 мл) прибавляли хинолин-3-амин, а затем ДИЭА (8,99 мл, 51,6 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 45°C в течение ночи. Затем прибавляли морфолин (1,50 мл, 17,2 ммоль) и реакционную смесь продолжали нагревать в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали и растворяли в ЕтОАс (примерно 500 мл), органический раствор промывали насыщенным раствором NaHCO_3 (3×), H_2O (2×), рассолом (1×) и сушили над Na_2SO_4 . Затем раствор выпаривали в присутствии силикагеля, очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO_2 , 15-25% ЕтОАс/гексаны) и получали N-(6-бром-2-морфолинопиримидин-4-ил)хинолин-3-амин. ЖХ/МС (m/z): 386,1 (MH^+).

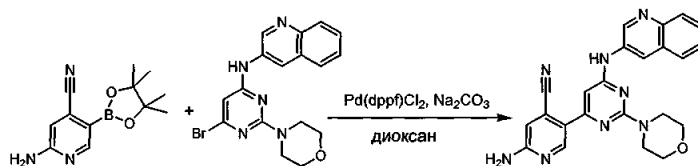
N-(6-(6-Амино-4-фторпиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)хинолин-3-амин



К раствору 4-фтор-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амина (получен, как показано в методике 10) в диоксане (1,7 мл, 0,13 ммоль) в атмосфере аргона прибавляли N-(6-бром-2-морфолинопиримидин-4-ил)хинолин-3-амин (20 мг, 0,052 ммоль), аддукт дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладий(II)дихлорметан (11 мг, 0,013 ммоль) и 2 М водный раствор карбоната натрия (0,6 мл, 1,2 ммоль). Сосуд высокого давления герметизировали и реакционную смесь нагревали в микроволновом реакторе при 120°C в течение 15 мин. Неочищенный продукт подвергали распределению между ЕтОАс (30 мл) и насыщенным раствором бикарбоната натрия (10 мл). Органический слой

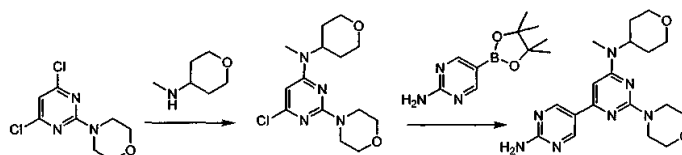
отделяли, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали N-(6-(6-амино-4-фторпиридин-3-ил)-2-морфолинопириимидин-4-ил)хинолин-3-амин в виде желтого порошкообразного вещества (14 мг, 26%). ЖХ/МС (m/z): 418,0 (MH^+), R_t 2,31 мин.

Пример 5. Получение 2-амино-5-[2-морфолин-4-ил-6-(хинолин-3-иламино)пириимидин-4-ил]изоникотинитрила



К раствору неочищенного 2-амино-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-4-карбонитрила (получен, как в методике 11) (25 мг, 0,13 ммоль) в диоксане (1,8 мл) в сосуде высокого давления прибавляли (6-бром-2-морфолин-4-илпириимидин-4-ил)хинолин-3-иламин (19,4 мг, 0,05 ммоль) и водный раствор Na_2CO_3 (2 М, 0,6 мл, 1,2 ммоль). После продувки реакционной смеси аргоном одной порцией прибавляли аддукт дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (10,3 мг, 0,01 ммоль). Сосуд высокого давления герметизировали и смесь нагревали микроволновым излучением при 120°C в течение 900 с. Неочищенную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали 2-амино-5-[2-морфолин-4-ил-6-(хинолин-3-иламино)пириимидин-4-ил]изоникотинитрил (4,4 мг, 20%). ЖХ/МС (m/z): 425,0 (MH^+), R_t 2,03 мин.

Пример 6. Получение N⁶-метил-2-морфолино-N⁶-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-4,5'-бипириимидин-2',6-диамина



N-Метилтетрагидро-2Н-пиран-4-амин.

Тетрагидро-2Н-пиран-4-амин (90 мг, 0,9 ммоль) прибавляли к раствору формальдегида (37% водный раствор, 0,091 мл, 1,13 ммоль) и уксусной кислоты (0,162 мл) в АСН (0,8 мл). После перемешивания в течение 5 мин при КТ одной порцией прибавляли $Na(CN)BH_3$ (60 мг, 1,13 ммоль). Через 1 ч к реакционной смеси прибавляли избыток Cs_2CO_3 до щелочной реакции. После перемешивания в течение 15 мин реакционную смесь фильтровали для удаления твердых веществ и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт N-метилтетрагидро-2Н-пиран-4-амин использовали для последующего замещения без дополнительной очистки. ЖХ/МС (m/z): 116,1 (MH^+), R_t 0,34 мин.

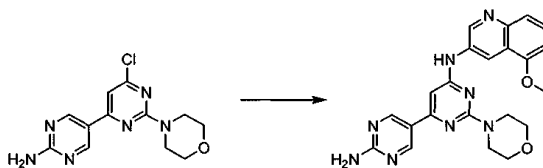
6-Хлор-N-метил-2-морфолино-N-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)пириимидин-4-амин.

Неочищенный N-метилтетрагидро-2Н-пиран-4-амин (104 мг, 0,9 ммоль) растворяли в NMP (0,8 мл). К этому раствору при комнатной температуре прибавляли Cs_2CO_3 (366 мг, 1,13 ммоль) и 4-(4,6-дихлорпириимидин-2-ил)морфолин (получен, как в методике 22) (80 мг, 0,34 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 95°C. Через 90 мин реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали, очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали 24 мг (23%) чистого 6-хлор-N-метил-2-морфолино-N-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)пириимидин-4-амина. ЖХ/МС (m/z): 313,2 (MH^+), R_t 2,61 мин.

N⁶-Метил-2-морфолино-N⁶-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-4,5'-бипириимидин-2',6-диамин.

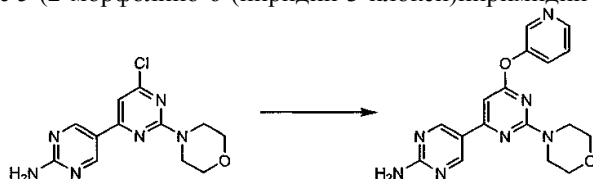
К продуваемой аргоном смеси 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пириимидин-2-амина (42 мг, 0,19 ммоль), 6-хлор-N-метил-2-морфолино-N-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)пириимидин-4-амина (12 мг, 0,038 ммоль) в ТГФ (0,8 мл) и водного раствора Na_2CO_3 (2 М, 0,27 мл) в сосуде высокого давления одной порцией прибавляли аддукт дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (8 мг, 0,0095 ммоль). Сосуд высокого давления герметизировали и смесь нагревали микроволновым излучением при 120°C в течение 600 с. Неочищенную смесь фильтровали, концентрировали при пониженном давлении, очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали N⁶-метил-2-морфолино-N⁶-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-4,5'-бипириимидин-2',6-диамин (4,6 мг, 32%). ЖХ/МС (m/z): 372,2 (MH^+), R_t 1,76 мин.

Пример 7. Получение N-(6-(2-аминопиримидин-5-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-5-метоксихинолин-3-амин



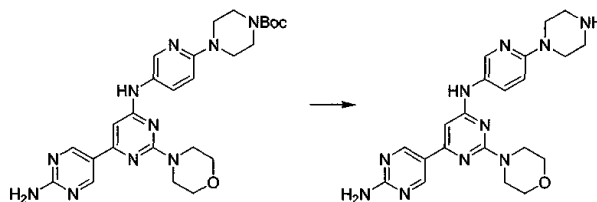
Искомое соединение получали, как описано в примере 2: Pd(OAc)₂, БИНАФ, карбонат цезия, ТГФ (0,8 мл) смешивали с 5-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)пиримидин-2-амином (1 экв.) и 5-метоксихинолин-3-амином (2 экв.), который получали, как показано в методике 20. Смесь нагревали микроволновым излучением в течение 10 мин при 110°C. Раствор фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой. ЖХ/МС (m/z): 431,2 (МН⁺), R_t 2,03 мин.

Пример 8. Получение 5-(2-морфолино-6-(пиридин-3-илокси)пиримидин-4-ил)пиримидин-2-амин



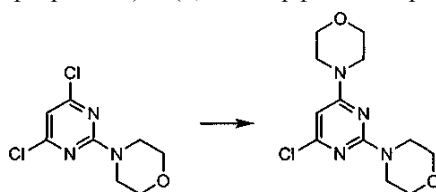
5-(6-Хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)пиримидин-2-амин (10 мг, 0,034 ммоль, получен, как в примере 1), трет-бутоксид калия (6 мг, 0,051 ммоль), пиридин-3-ол (5 мг, 0,051 ммоль) и ДМСО (0,5 мл) объединяли и нагревали при 110°C в течение 2 дней. Неочищенный продукт непосредственно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали 5-(2-морфолино-6-(пиридин-3-илокси)пиримидин-4-ил)пиримидин-2-амин (5,1 мг, 32%). ЖХ/МС (m/z): 352,1 (МН⁺), R_t 1,83 мин.

Пример 9. Получение 6-(2-аминопиримидин-5-ил)-2-морфолино-N-(6-(пиперазин-1-ил)пиридин-3-ил)пиримидин-4-амин



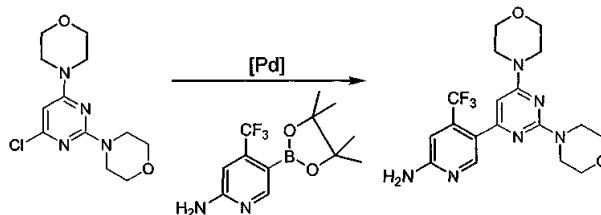
К трет-бутил-4-(5-(6-(2-аминопиримидин-5-ил)-2-морфолинопиримидин-4-иламино)пиридин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилату (получен, как описано в примере 1 из 5-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)пиримидин-2-амин и имеющегося в продаже трет-бутил-4-(5-аминопиридин-2-ил)пиперазин-1-карбоксилата, 30 мг, 0,06 ммоль) прибавляли 5 мл 4 н. HCl в диоксане. После перемешивания в течение 1 ч раствор концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в смеси 3:1 ацетонитрила и воды, лиофилизировали и получали искомый продукт ЖХ/МС (m/z): 435,2 (МН⁺), R_t 1,52 мин.

Пример 10. Получение 4-(трифторметил)-5-(2,6-диморфолинопиримидин-4-ил)пиридин-2-амин



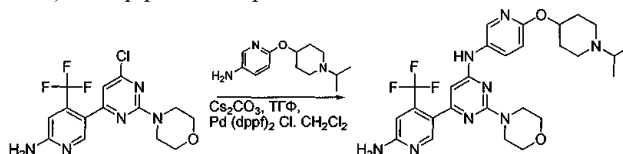
К взвеси 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина (получен, как в методике 22, 2,0 г, 8,54 ммоль) в NMP (14 мл) прибавляли триэтиламин (1,43 мл, 10,25 ммоль). Гетерогенную смесь перемешивали в течение 15 мин, затем обрабатывали морфолином (0,75 мл, 8,54 ммоль). После кипячения с обратным холодильником при 85°C в атмосфере аргона в течение 2 ч раствор охлаждали, затем прибавляли к EtOAc (160 мл). Органический раствор промывали с помощью 25 мл насыщенного раствора NaHCO₃ (2×), водой (2×) и рассолом, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенное вещество растворяли в 200 мл EtOAc и фильтровали через слой SiO₂, затем элюировали с помощью EtOAc и получали 2,2 г (93%) 2,4-диморфолино-6-хлорпиримидина в виде почти белого твердого вещества. ЖХ/МС (m/z): 285,0 (МН⁺), ¹H ЯМР (CDCl₃): δ 5,86 (s, 1H), 3,71-3,76 (m, 12H), 3,52-3,56 (m, 4H).

4-(Трифторметил)-5-(2,6-диморфолинопиримидин-4-ил)пиридин-2-амин



Через гетерогенную смесь 2,4-диморфолино-6-хлорпиримидина (4,1 г, 14,3 ммоль) и 4-(трифторметил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин (16,5 г, 57,3 ммоль) в 1,2-диметоксизтане и 2 М Na_2CO_3 (3:1) в течение 20 мин пропускали аргон. Прибавляли 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II)хлорид (292 мг, 0,36 ммоль) и стеклянный сосуд высокого давления, содержащий смесь, герметизировали. Затем реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 15 ч, охлаждали и разбавляли с помощью EtOAc (300 мл). Органический раствор промывали с помощью 300 мл смеси вода:насыщенный раствор $\text{Na}_2\text{CO}_3:\text{NH}_4\text{OH}_{(\text{конц.})}=5:4:1$, затем насыщенным раствором NH_4Cl и рассолом (2×), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенное вещество очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (50-90% EtOAc/гексаны с прибавлением 0,1% ТЭА (триэтиламин)) и получали 5,62 г (95%) 4-(трифторметил)-5-(2,6-диморфолинопиримидин-4-ил)пиридин-2-амин в виде почти белого твердого вещества. ЖХ/МС (m/z): 411,3 (MH^+); ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,27 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 5,97 (s, 1H), 4,77 (bs, 2H), 3,59-3,80 (m, 12H), 3,58-3,61 (m, 4H).

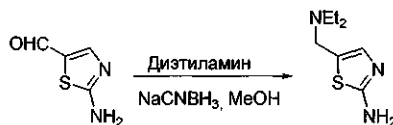
Пример 11. Получение N-(6-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)пиридин-3-ил)-6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-амин



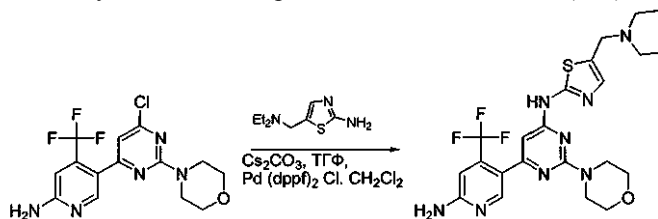
N-(6-(1-Изопропилпиперидин-4-илокси)пиридин-3-ил)-6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-амин синтезировали по общей методике проведения реакции Бухвальда, описанной в примере 2, по реакции 6-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)пиридин-3-амин (получен, как в методике 16) с 5-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-(трифторметил)пиридин-2-амином. ЖХ/МС (m/z): 559,2 (MH^+), R_t 1,92 мин. ^1H ЯМР (DMSO): δ 10,27 (1H, bs, NH), 8,41 (1H, bs), 8,17 (1H, s), 7,98 и 7,94 (1H, 2 широких дублета, $J=9,0$ Гц, 2 конформера), 6,97 (1H, s), 6,90 и 6,84 (1H, 2 дублета, $J=9,0$ Гц, 2 конформера), 6,23 (1H, bs), 5,25 и 5,15 (1H, 2 мультиплета, 2 конформера), 3,66 (8H, bs), 3,44 (1H, m), 3,35 (2H, m), 3,10 (2H, m), 2,22 (2H, m), 2,03 (2H, m), 1,27 (6H, перекрывающиеся дублеты вследствие наличия конформеров, кажущийся триплет, $J=5,7$ Гц).

Пример 12. Получение N-(5-((диэтиламино)метил)тиазол-2-ил)-6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-амин.

5-((Диэтиламино)метил)тиазол-2-амин



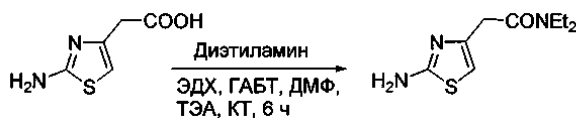
2-Аминотиазол-5-карбальдегид (1 экв.) при перемешивании прибавляли к раствору диэтиламина (4 экв.) в безводном MeOH при 0°C . Затем при 0°C порциями прибавляли цианоборогидрид натрия (1,5 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 10 ч. Затем реакцию останавливали с помощью H_2O и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , концентрировали и получали вязкое коричневое масло. ЖХ/МС (m/z): 186,2 (MH^+), R_t 0,33 мин.



Искомое соединение синтезировали по общей методике, приведенной в примере 2. ЖХ/МС (m/z): 509,2 (MH^+), R_t 1,98 мин. ^1H ЯМР (DMSO): δ 11,0, (2H, bs, NH_2), 8,17 (1H, s), 7,63 (1H, s), 7,08 (1H, bs), 6,40 (1H, s), 4,48 (2H, bd, $J=4,2$ Гц), 3,80 (4H, m), 3,68 (4H, m), 3,03 (4H, bq, $J=6,9$ Гц), 1,30 (6H, t, $J=6,9$ Гц).

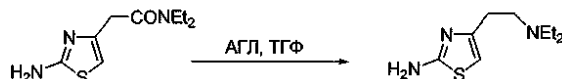
Пример 13. Синтез 6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-N-(4-(2-(диэтиламино)этил)тиазол-2-ил)-2-морфолинопиримидин-4-амин.

2-(2-Аминотиазол-4-ил)-N,N-диэтилацетамид

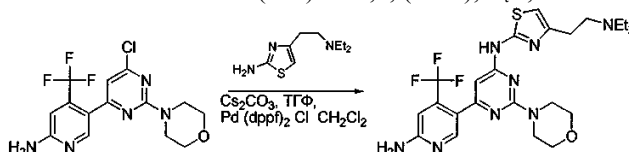


Смесь 2-(2-аминотиазол-4-ил)уксусной кислоты (1 экв.), ГАБТ (1 экв.), ЭДХ (этилендихлорид) (1,1 экв.), ТЭА (1 экв.) и HNEt_2 (1 экв.) в ДМА (диметилацетамид) перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Затем реакцию останавливали с помощью H_2O и концентрировали. Остаток при перемешивании растворяли в 4:1 смеси EtOAc и насыщенного раствора NaHCO_3 . Эти две фазы разделяли и органический раствор промывали рассолом, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали досуха. Полученное твердое вещество дважды промывали с помощью Et_2O , сушили и получали искомый продукт в виде белого твердого вещества. ЖХ/МС (m/z): 214,0 (MH^+), R_t 1,13 мин.

4-(2-(Диэтиламино)этил)тиазол-2-амин

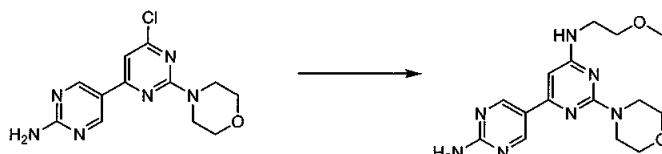


Суспензию 2-(2-аминотиазол-4-ил)-N,N-диэтилацетамида (1 экв.) в ТГФ при энергичном перемешивании при 0°C по каплям прибавляли к суспензии АГЛ (алюмогидрид лития) (1 экв.) в ТГФ. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем полученную смесь охлаждали до 0°C и по каплям прибавляли 1 ч. H₂O, а затем 1 ч. 10% NaOH и в заключение 3 ч. H₂O. Смесь перемешивали в течение 10 мин, фильтровали и твердый остаток промывали с помощью ТГФ. Фильтрат собирали и концентрировали досуха. Полученное неочищенное вещество дважды промывали с помощью Et₂O, сушили и получали вязкое коричневое масло. ЖХ/МС (m/z): 200,1, (MH⁺), R_t 0,34 мин.



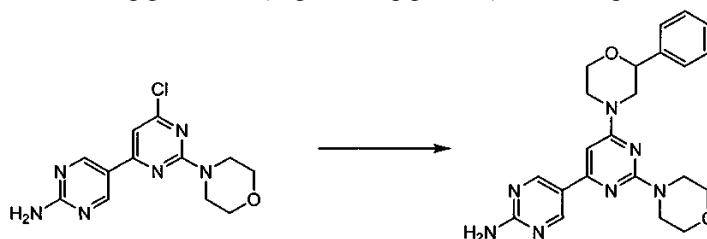
Искомое соединение синтезировали по общей методике, приведенной в примере 2. ЖХ/МС (m/z): 523,1 (MH⁺), R_t 2,11 мин. ¹H ЯМР (ДМСО): δ 8,15 (1H, s), 7,08 (1H, s), 6,96 (1H, s), 6,38 (1H, s), 3,78 (4H, m), 3,65 (4H, m), 3,31 (2H, m), 3,13 (4H, q, J=7,2 Гц), 3,02 (2H, m), 1,20 (6H, t, J=7,2 Гц).

Пример 14. Получение N⁶-(2-метоксиэтил)-2-морфолино-4,5'-бипиридин-2',6-диамина

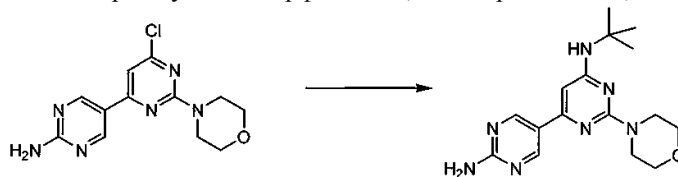


Продуваемую аргонном смесь 6-хлор-2-морфолино-4,5'-бипиримидин-2'-амина (10 мг, 0,03 ммоль) и 2-метоксизанамина (0,018 мл, 0,20 ммоль) в NMP (0,8 мл), находящуюся в сосуде высокого давления, в течение 1000 с нагревали микроволновым излучением при 155°C. Реакционную смесь фильтровали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали N⁶-(2-метоксиэтил)-2-морфолино-4,5'-бипиримидин-2',6-диамин в виде соли с ТФК (4,0 мг, 30%). ЖХ/МС (m/z): 332,2 (MH⁺), R_t 1,44 мин.

Пример 15. Получение 2-морфолино-6-(2-фенилморфолино)-4,5'-бипиримидин-2'-амина



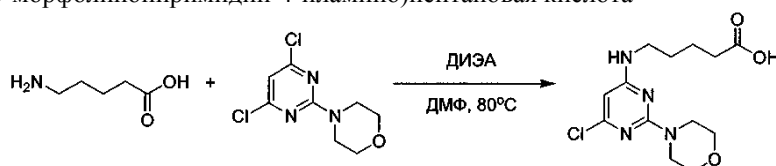
Продуваемую аргонном смесь 6-хлор-2-морфолино-4,5'-бипиримидин-2'-амина (10 мг, 0,03 ммоль), Cs₂CO₃ (27 мг, 0,09 ммоль) и 2-фенилморфолина (11 мг, 0,068 ммоль) в NMP (0,5 мл), находящуюся в сосуде высокого давления, в течение 600 с нагревали микроволновым излучением при 170°C. Реакционную смесь фильтровали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали 2-морфолино-6-(2-фенилморфолино)-4,5'-бипиримидин-2'-амин в виде соли с ТФК (7,2 мг, 45%). ЖХ/МС (m/z): 420,1 (MH⁺), R_t 2,20 мин.

Пример 16. Получение N⁶-трет-бутил-2-морфолино-4,5'-бипиримидин-2',6-диамина

Продуваемую аргоном смесь 6-хлор-2-морфолино-4,5'-бипиримидин-2'-амина (10 мг, 0,03 ммоль) и трет-бутиламина (12,5 мг, 0,17 ммоль) в NMP (0,5 мл), находящуюся в сосуде высокого давления, в течение 800 с нагревали микроволновым излучением при 175°C. К реакционной смеси прибавляли дополнительное количество трет-бутиламина (50 мг, 0,68 ммоль). Реакционную смесь повторно нагревали микроволновым излучением при 175°C в течение 800 с и еще раз при 175°C в течение 800 с до израсходования исходного вещества. Неочищенную смесь фильтровали. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали N⁶-трет-бутил-2-морфолино-4,5'-бипиримидин-2',6-диамин в виде соли с ТФК (0,9 мг, 7%). ЖХ/МС (m/z): 330,2 (MH⁺), R_t 1,96 мин.

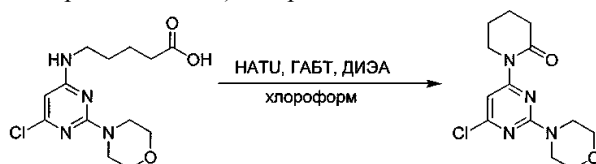
Пример 17. Получение 1-(2-(6-амино-4-(трифторметил)пиримидин-3-ил)-6-морфолинопиримидин-4-ил)пиперидин-2-она.

5-(2-Хлор-6-морфолинопиримидин-4-иламино)пентановая кислота



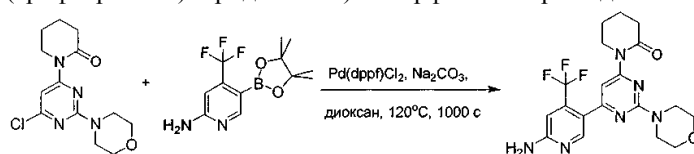
5-Аминопентановую кислоту (140 мг, 1,19 ммоль), 4-(2,6-дихлорпиримидин-4-ил)морфолин (получен, как в методике 22; 234 мг, 1,0 ммоль) и DIEA (0,530 мл, 3,0 ммоль) растворяли в N,N-диметилформамиде (6 мл). Раствор реакционной смеси перемешивали при 40°C в течение 40 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (100 мл) и промывали с помощью 0,5 М HCl (40 мл), водой (40 мл), рассолом (40 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали, выпаривали и получали твердое вещество. Неочищенный продукт хроматографировали на колонке с силикагелем при элюировании с помощью 80% EtOAc в гексане и получали 5-(2-хлор-6-морфолинопиримидин-4-иламино)пентановую кислоту в виде белого твердого вещества (190 мг, 60%). ЖХ/МС (m/z): 315,0 (MH⁺), R_f 1,79 мин.

1-(2-Хлор-6-морфолинопиримидин-4-ил)пиперидин-2-он



К раствору NATU (304 мг, 0,8 ммоль), ГАБТ (82 мг, 0,6 ммоль) и DIEA (0,209 мл, 1,2 ммоль) в хлороформе (20 мл) в атмосфере аргона медленно прибавляли раствор 5-(2-хлор-6-морфолинопиримидин-4-иламино)пентановой кислоты (190 мг, 0,6 ммоль) в хлороформе (10 мл). Раствор реакционной смеси перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. После завершения реакции раствор выпаривали досуха и получали белое твердое вещество, которое хроматографировали на колонке с силикагелем при элюировании смесью 40% EtOAc/гексан и получали 1-(2-хлор-6-морфолинопиримидин-4-ил)пиперидин-2-он в виде белого твердого вещества (62 мг, 35%). ЖХ/МС (m/z): 297,0 (MH⁺), R_t 2,74 мин.

1-(2-(6-Амино-4-(трифторметил)пиримидин-3-ил)-6-морфолинопиримидин-4-ил)пиперидин-2-он

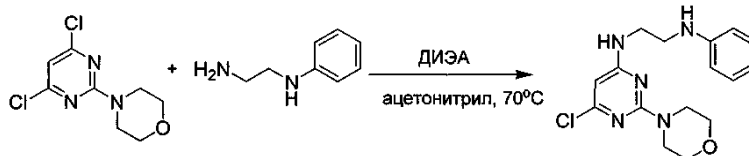


К суспензии 1-(2-хлор-6-морфолинопиримидин-4-ил)пиперидин-2-она (16 мг, 0,05 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-4-(трифторметил)пиримидин-2-амина (получен, как в методике 4; 23 мг, 0,08 ммоль) и аддукта дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (8 мг, 0,009 ммоль) в диоксане (1,1 мл) в атмосфере аргона прибавляли 2 М водный раствор карбоната натрия (0,4 мл, 0,8 ммоль). Реакционную смесь нагревали микроволновым излучением при 120°C в течение 1000 с. Неочищенный продукт подвергали распределению между EtOAc (30 мл) и насыщенным раствором бикарбоната натрия (10 мл). Органический слой отделяли, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали 1-(2-(6-амино-4-

(трифторметил)пиридин-3-ил)-6-морфолинопиримидин-4-ил)пиперидин-2-он в виде желтого порошкообразного вещества (8,8 мг, 42%). ЖХ/МС (m/z): 423,0 (MH^+), R_t 2,25 мин.

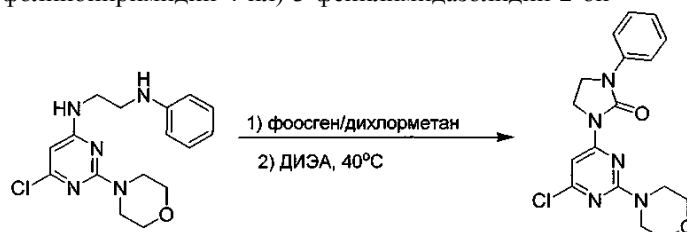
Пример 18. Получение 1-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-3-фенилимидазолидин-2-она.

N^1 -(6-Хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)- N^2 -фенилэтан-1,2-диамин



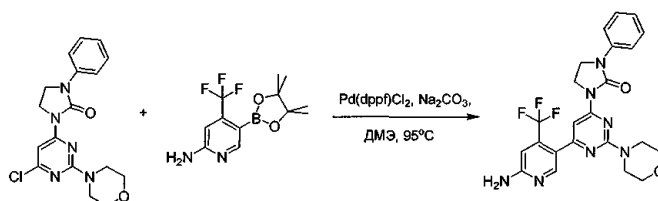
К раствору 4-(4,6-дихлорпиримидин-2-ил)морфолина (получен, как описано в методике 22; 932 мг, 4,0 ммоль) и ДИЭА (0,7 мл, 4,0 ммоль) в АСН (40 мл) медленно прибавляли неразбавленный N^1 -фенилэтан-1,2-диамин (0,523 мл, 4,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 70-80°C в атмосфере азота. Через 20 ч реакционную смесь охлаждали и растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт подвергали распределению между EtOAc (120 мл) и 0,1 М $NaHCO_3$ (50 мл). Органический слой промывали дополнительным количеством 0,1 М $NaHCO_3$ (2×50 мл), рассолом (50 мл), сушили, фильтровали и концентрировали и получали N^1 -(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)- N^2 -фенилэтан-1,2-диамин, в виде почти белого твердого вещества (1,29 г, 96%). ЖХ/МС (m/z): 334,0 (MH^+), R_t 1,94 мин.

1-(6-Хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)-3-фенилимидазолидин-2-он



К раствору N^1 -(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)- N^2 -фенилэтан-1,2-диамина (100 мг, 0,3 ммоль) в ДХМ (15 мл) при 0°C в атмосфере азота медленно прибавляли раствор фосгена в толуоле (1,89 М, 0,32 мл, 0,6 ммоль). Через 20 мин реакционной смеси давали нагреться до КТ. Через 18 ч прибавляли ДИЭА (0,42 мл, 2,4 ммоль) и раствор реакционной смеси нагревали при 40-50°C в течение 40 ч. Реакционную смесь выпаривали при пониженном давлении и неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле, элюируя смесью 70% EtOAc/гексан, и получали 1-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)-3-фенилимидазолидин-2-он в виде белого твердого вещества (94 мг, 87%). ЖХ/МС (m/z): 360,1 (MH^+), R_t 3,41 мин.

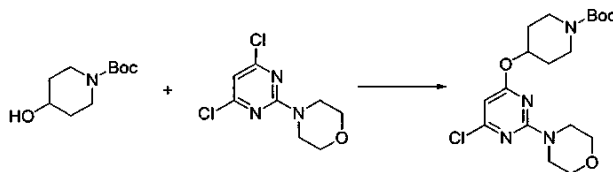
1-(6-(6-Амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-3-фенилимидазолидин-2-он



К суспензии 1-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)-3-фенилимидазолидин-2-она (18 мг, 0,05 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-4-(трифторметил)пиридин-2-амин (получен, как описано в методике 4; 18 мг, 0,06 ммоль) и аддукта дихлор[1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (3,2 мг, 0,004 ммоль) в ДМЭ (1,2 мл) в атмосфере аргона прибавляли 2 М водный раствор карбоната натрия (0,4 мл, 0,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 95°C в течение 5 ч. Неочищенный продукт подвергали распределению между EtOAc (30 мл) и насыщенным раствором бикарбоната натрия (10 мл). Органический слой отделяли, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ и получали 1-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-3-фенилимидазолидин-2-он в виде бледно-желтого порошкообразного вещества (8,4 мг, полный выход 35%). ЖХ/МС (m/z): 448,1 (MH^+), R_t 3,29 мин.

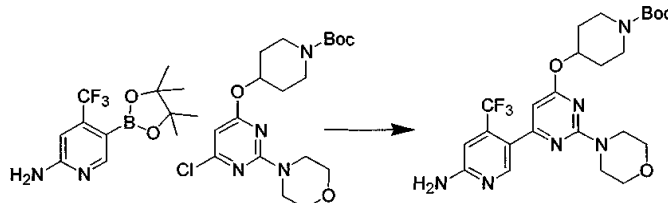
Пример 19. Получение 1-(4-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-ил)этанона.

Стадия 1. Алкоксилирование 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина



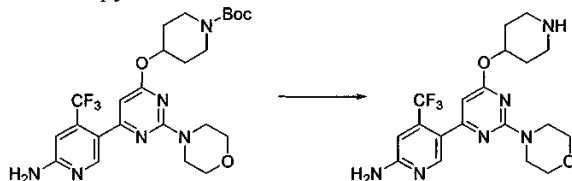
К раствору N-Вос-4-гидроксипиперидина (2,58 г, 12,81 ммоль) в тетрагидрофуране при 0°C в атмосфере аргона прибавляли гидрид натрия (60%, 512 мг, 12,81 ммоль). После перемешивания в течение 20 мин шприцем прибавляли раствор 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина (2,0 г, 8,54 ммоль) в тетрагидрофуране (20 мл). Раствор перемешивали в течение 14 ч и в это время баня со льдом нагревалась до комнатной температуры. Затем реакцию останавливали водой (2 мл), реакционную смесь подвергали распределению между EtOAc (350 мл) и насыщенным раствором Na₂CO₃ (75 мл). Органический слой отделяли, промывали рассолом (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и остаток очищали с помощью хроматографии на SiO₂ (15-20% EtOAc в гексанах) и получали трет-бутил-4-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилат в виде белого твердого вещества (2,64 г, 77%). ЖХ/МС (m/z): 399,1 (M⁺). ¹H ЯМР (CDCl₃): δ 6,00 (s, 1H), 5,18 (m, 1H), 3,74 (s, 8H), 3,64-3,74 (m, 2H), 3,28-3,38 (m, 2H), 1,86-1,96 (m, 2H), 1,68-1,78 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

Стадия 2. Реакция Судзуки 2-морфолино-4-алкоксизамещенного 6-хлорпиримидина



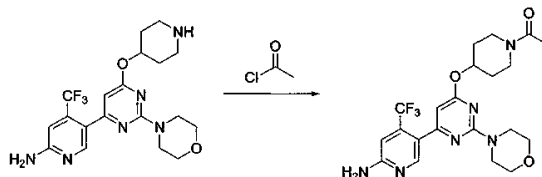
Смесь трет-бутил-4-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилата (250 мг, 0,63 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксобо-ролан-2-ил)-4-(трифторметил)пиридин-2-амин (получен, как в методике 4, 325 мг, 1,13 ммоль) и Pd(dppf)Cl₂-CH₂Cl₂ (25,6 мг, 0,031 ммоль) в смеси диметоксизтан/2 М Na₂CO₃ (3:1, 8 мл) нагревали микроволновым излучением в течение 15 мин при 120°C. Реакционную смесь подвергали распределению между EtOAc (200 мл) и насыщенным раствором Na₂CO₃ (50 мл), органический слой отделяли, промывали рассолом (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и очищали с помощью хроматографии на SiO₂ (50-75% EtOAc/гексаны) и получали продукт в виде белого твердого вещества (207 мг, 63%). ЖХ/МС (m/z): 525,2 (M⁺).

Стадия 3. Гидролиз защитной группы N-Вос



Смесь трет-бутил-4-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилата (649 мг, 1,24 ммоль) и 4 М HCl/диоксан (15 мл, 60 ммоль) выдерживали при комнатной температуре в течение 14 ч. После удаления летучих веществ в вакууме прибавляли диэтиловый эфир (50 мл), вещество обрабатывали ультразвуком, концентрировали и получали бис-HCl соль искомого продукта в виде почти белого твердого вещества. ЖХ/МС (m/z): 425,1 (M⁺).

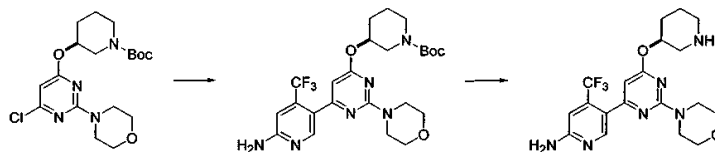
Стадия 4. Ацилирование



К раствору 4-(трифторметил)-5-(2-морфолино-6-(пиперидин-4-илокси)пиримидин-4-ил)пиридин-2-амин в NMP прибавляли диизопропилэтиламин (5 экв.) и ацетилхлорид (1,5 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и затем непосредственно очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой и лиофилизировали и получали соль продукта с ТФК. Альтернативно, после обработки с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой свободное основание продукта можно было выделить после экстракции с помощью EtOAc, подщелачивания, последующей сушки над Na₂SO₄ и удаления ле-

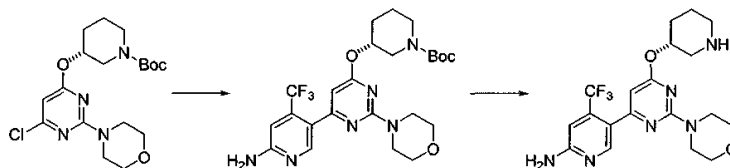
тучих веществ в вакууме. ЖХ/МС (m/z): 467,1 (MH^+).

Пример 20. Получение 5-(6-((S)-пиперидин-3-илокси)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-(трифторметил)пиридин-2-амин



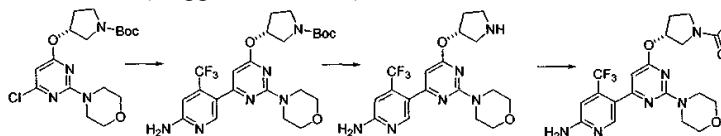
(S)-трет-бутил 3-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилат получали, как в примере 19 стадии 1, путем алкоксилирования 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина (87%). ЖХ/МС (m/z): 399,1 (MH^+). Содержащий защитную группу Boc промежуточный продукт получали по реакции Судзуки, как показано на стадии 2 примера 19, и очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (30-60% EtOAc/гексаны; 78%). ЖХ/МС (m/z): 526,0 (MH^+). Искомое соединение получали путем отщепления защитной группы N-Boc, как показано на стадии 3 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 425,1 (MH^+).

Пример 21. Получение 5-(6-((R)-пиперидин-3-илокси)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-(трифторметил)пиридин-2-амин



(R)-трет-Бутил 3-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилат получали, как в примере 19 стадии 1, путем алкоксилирования 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина (82%). ЖХ/МС (m/z): 399,1 (MH^+). Содержащий защитную группу Boc промежуточный продукт получали по реакции Судзуки, как показано на стадии 2 примера 19, и очищали с помощью хроматографии на силикагеле (30-60% EtOAc/гексаны, 54%). ЖХ/МС (m/z): 526,0 (MH^+). Искомое соединение получали путем отщепления защитной группы N-Boc, как показано на стадии 3 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 425,1 (MH^+).

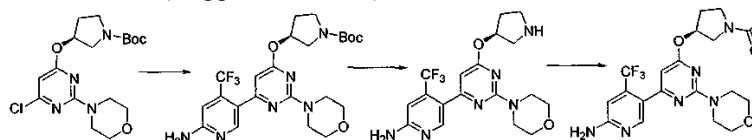
Пример 22. Получение 1-((R)-3-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пирролидин-1-ил)этанона



(R)-трет-Бутил 3-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пирролидин-1-карбоксилат получали, как в примере 19 стадии 1, путем алкоксилирования 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина (41%). ЖХ/МС (m/z): 385,0 (MH^+).

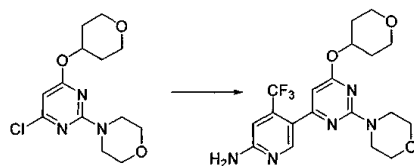
Содержащий защитную группу Boc промежуточный продукт получали по реакции Судзуки, как показано на стадии 2 примера 19, очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой и выделяли в виде свободного основания после экстракции с помощью EtOAc, проводимой после подщелачивания (71%). ЖХ/МС (m/z): 511,0 (MH^+). Отщепление защитной группы N-Boc проводили, как показано на стадии 3 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 411,0 (MH^+). Искомое соединение получали, как на стадии 4 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 453,1 (MH^+), R_t 2,18.

Пример 23. Получение 1-((S)-3-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пирролидин-1-ил)этанона



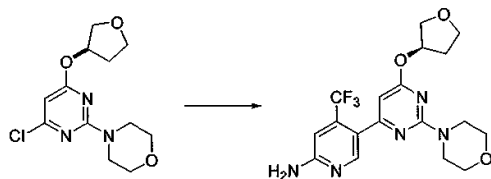
(S)-трет-Бутил 3-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пирролидин-1-карбоксилат получали в соответствии с примером 19 стадии 1, путем алкоксилирования 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина (99%). ЖХ/МС (m/z): 385,0 (MH^+). Содержащий защитную группу Boc промежуточный продукт получали по реакции Судзуки, как показано на стадии 2 примера 19, очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой и выделяли в виде свободного основания после экстракции с помощью EtOAc, проводимой после подщелачивания (72%). ЖХ/МС (m/z): 511,0 (MH^+). Защитную группу N-Boc отщепляли, как показано на стадии 3 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 411,0 (MH^+). Искомое соединение получали, как на стадии 4 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 453,1 (MH^+), R_t 2,18.

Пример 24. Получение 4-(трифторметил)-5-(2-морфолино-6-(тетрагидро-2Н-пиран-4-илокси)пиримидин-4-ил)пиридин-2-амин



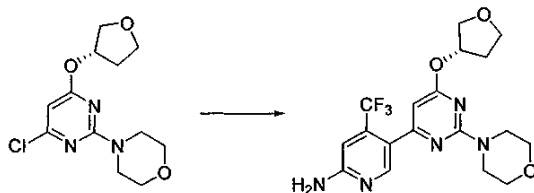
4-(4-Хлор-6-(тетрагидро-2Н-пиран-4-илокси)пиримидин-2-ил)морфолин получали в соответствии с примером 19 стадия 1, путем алкоксилирования 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина 4-гидрокситетрагидропираном (80%). ЖХ/МС (m/z): 300,1 (MH^+). Искомое соединение получали по реакции Судзуки, как показано на стадии 2 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 426,1 (MH^+), R_t 2,26 мин.

Пример 25. Получение 5-(6-((R)-тетрагидрофуран-3-илокси)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-(трифторметил)пиридин-2-амин



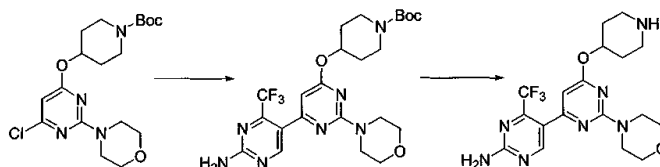
(R)-4-(4-Хлор-6-(тетрагидрофуран-3-илокси)пиримидин-2-ил)морфолин получали в соответствии с примером 19 стадия 1, путем алкоксилирования 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина (R)-3-гидрокситетрагидрофураном (81%). ЖХ/МС (m/z): 286,1 (MH^+). Искомое соединение получали по реакции Судзуки, как показано на стадии 2 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 412,1 (MH^+).

Пример 26. Получение 5-(6-((S)-тетрагидрофуран-3-илокси)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-(трифторметил)пиридин-2-амин



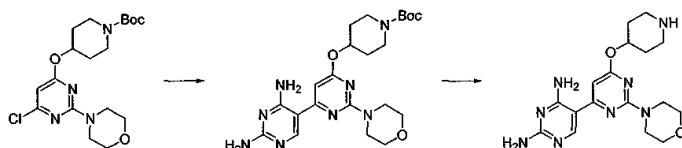
(S)-4-(4-Хлор-6-(тетрагидрофуран-3-илокси)пиримидин-2-ил)морфолин получали в соответствии с примером 19 стадия 1, путем алкоксилирования 2-морфолино-4,6-дихлорпиримидина (S)-3-гидрокситетрагидрофураном (85%). ЖХ/МС (m/z): 286,1 (MH^+). Искомое соединение получали по реакции Судзуки, как показано на стадии 2 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 412,1 (MH^+).

Пример 27. Получение 4-(трифторметил)-5-(2-морфолино-6-(пиперидин-4-илокси)пиримидин-4-ил)пиримидин-2-амин



трет-Бутил-4-(6-(2-амино-4-(трифторметил)пиримидин-5-ил)-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилат получали по реакции Судзуки трет-бутил-4-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилата, как показано на стадии 2 примера 19, с 5-(4,4,5,5-тетраметил(1,3,2-диоксаборолан-2-ил))-4-(трифторметил)пиримидин-2-иламином (получен, как в методике 5). Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле (30-50% EtOAc/гексаны) (63%). ЖХ/МС (m/z): 526,0 (MH^+). Искомое соединение получали путем отщепления защитной группы N-Boc, как показано на стадии 3 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 426,0 (MH^+).

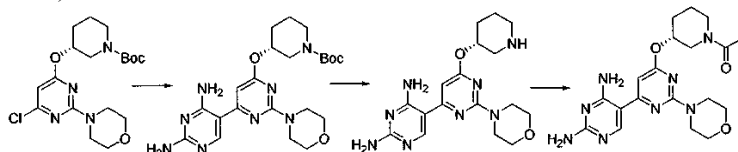
Пример 28. Получение 5-(2-морфолино-6-(пиперидин-4-илокси)пиримидин-4-ил)пиримидин-2,4-диамина



трет-Бутил-4-(6-(2,4-диаминопиримидин-5-ил)-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилат получали по реакции Судзуки трет-бутил-4-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилата, как показано на стадии 2 примера 19, с 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиримидин-2,4-диаминами (получен, как в методике 7). Неочищенный продукт очи-

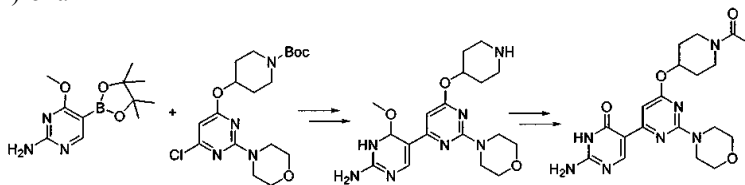
щали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой и выделяли в виде свободного основания после экстракции с помощью EtOAc, проводимой после подщелачивания (70%). ЖХ/МС (m/z): 473,1 (MH^+). Искомое соединение получали путем отщепления защитной группы N-Boc, как показано на стадии 3 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 373,0 (MH^+).

Пример 29. Получение 1-((R)-3-(6-(2,4-диаминопиримидин-5-ил)-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-ил)этанола



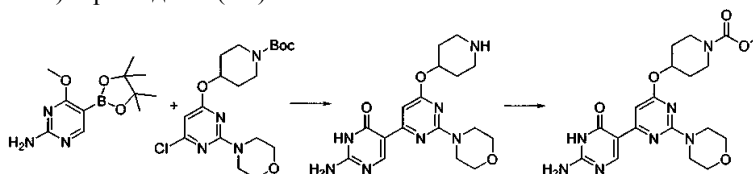
(R)-трет-Бутил 3-(6-(2,4-диаминопиримидин-5-ил)-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилат получали по реакции Судзуки 4-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилата, как показано на стадии 2 примера 19, с 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиримидин-2,4-диамином. Неочищенный продукт очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой и выделяли в виде свободного основания после экстракции с помощью EtOAc, проводимой после подщелачивания (77%). ЖХ/МС (m/z): 473,1 (MH^+). Защитную группу N-Boc отщепляли, как показано на стадии 3 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 373,0 (MH^+). Искомое соединение синтезировали, как показано на стадии 4 примера 19. ЖХ/МС (m/z): 460,1 (MH^+), R_t 2,51.

Пример 30. Получение 2-амино-5-(2-морфолино-6-(N-ацилпиперидин-4-илокси)пиримидин-4-ил)пиримидин-4(3H)-она



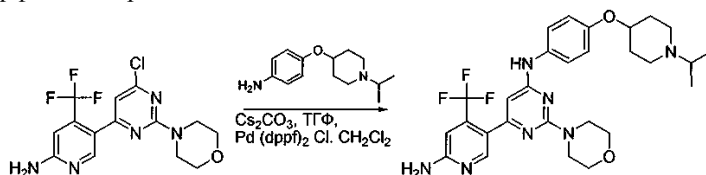
Смесь трет-бутил-4-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-илокси)пиперидин-1-карбоксилата (500 мг, 1,26 ммоль), 4-метокси-2-аминопиримидилборонатного сложного эфира (получен, как в методике 8, 630 мг, 2,51 ммоль) и $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (51 мг, 0,063 ммоль) в диметоксиэтаноле и 2 М Na_2CO_3 (3:1, 12 мл) в течение 15 мин нагревали микроволновым излучением при 120°C. Реакционную смесь подвергали распределению между EtOAc (200 мл) и насыщенным раствором Na_2CO_3 (50 мл), органический слой отделяли и промывали рассолом (50 мл). Объединенные водные слои дополнительно экстрагировали с помощью EtOAc (2×100 мл) и объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. К этому веществу прибавляли смесь 4 М HCl/диоксан (20 мл) для удаления группы Boc. После выдерживания в течение 12 ч летучие вещества удаляли в вакууме и остаток подвергали распределению между CH_2Cl_2 (200 мл) и 1н. NaOH (50 мл). После разделения водный слой дополнительно экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 (200 мл) и затем $CHCl_3$ (2×150 мл). Объединенные органические слои концентрировали и получали 1,6-дигидро-6-метокси-5-(2-морфолино-6-(пиперидин-4-илокси)пиримидин-4-ил)пиримидин-2-амин (464 мг). Неочищенное соединение и морфолин (0,9 мл, 10,45 ммоль) в NMP (10 мл) в течение 15 мин нагревали микроволновым излучением при 200°C для превращения метокси-пиримидина в пиримидон. Прибавляли дополнительное количество морфолина (0,9 мл, 10,45 ммоль) и раствор нагревали микроволновым излучением в течение 15 мин и затем в течение 10 мин при 200°C. После охлаждения вещество непосредственно очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой. После лиофилизации бис-соль с ТФК 2-амино-5-(2-морфолино-6-(пиперидин-4-илокси)пиримидин-4-ил)пиримидин-4(3H)-она выделяли в виде почти белого твердого вещества (325 мг, 45%). ЖХ/МС (m/z): 374,1 (MH^+). Искомое соединение получали ацилированием вторичной аминогруппы, как показано в примере 19, стадия 4. ЖХ/МС (m/z): 416,0 (MH^+), R_t 1,67.

Пример 31. Получение 2-амино-5-(2-морфолино-6-(N-метоксикарбонилпиперидин-4-илокси)пиримидин-4-ил)пиримидин-4(3H)-она



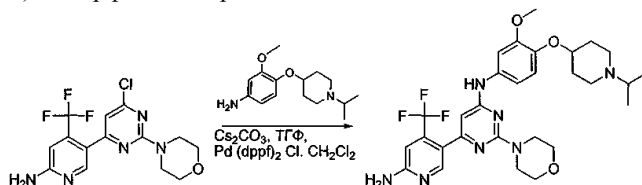
Искомое соединение получали, как в примере 30, но с использованием метилхлорформиата вместо ацетилхлорида на последней стадии. ЖХ/МС (m/z): 432,0 (MH^+), R_t 2,05.

Пример 32. Получение 6-[6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил]-N-[4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)фенил]-2-морфолинопиримидин-4-амин



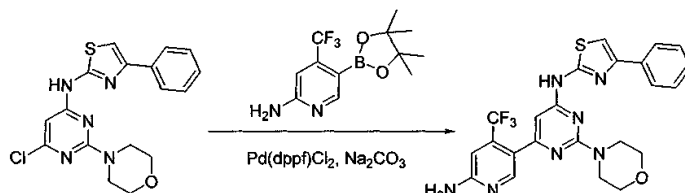
В стеклянном сосуде высокого давления $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (5,0 мг, 0,022 ммоль), БИНАФ (17,0 мг, 0,028 ммоль), карбонат цезия (72,0 мг, 0,22 ммоль) и ТГФ (2,0 мл) смешивали и перемешивали при комнатной температуре в течение 1-3 мин. К полученной смеси прибавляли 5-(6-хлор-2-морфолин-4-ил)пиримидин-4-ил)пиридин-2-иламин (40,0 мг, 0,11 ммоль), а затем 4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)анилин (37,0 мг, 0,16 ммоль). Стеклянный сосуд высокого давления герметизировали, перемешивали и в течение 10 мин нагревали микроволновым излучением при 110°C. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали 6-[6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил]-N-[4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)фенил]-2-морфолинопиримидин-4-амин (3,0 мг, 5%). ЖХ/МС (m/z): 558,3(MH^+), R_t 1,90 мин.

Пример 33. Получение 6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-N-(4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)-3-метоксифенил)-2-морфолинопиримидин-4-амин



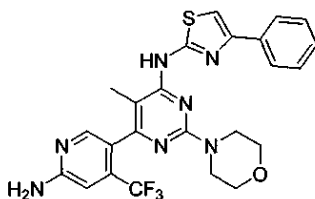
В стеклянном сосуде высокого давления $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (5,0 мг, 0,02 ммоль), БИНАФ (17,0 мг, 0,028 ммоль), карбонат цезия (72,0 мг, 0,22 ммоль) и ТГФ (2,0 мл) смешивали и перемешивали при комнатной температуре в течение 1-3 мин. К полученной смеси прибавляли 5-(6-хлор-2-морфолин-4-ил)пиримидин-4-ил)пиридин-2-иламин (40,0 мг, 0,11 ммоль), а затем 4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)-3-метоксианилин (46,6 мг, 0,16 ммоль). Стеклянный сосуд высокого давления герметизировали, перемешивали и в течение 10 мин нагревали микроволновым излучением при 120°C. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали 6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-N-(4-(1-изопропилпиперидин-4-илокси)-3-метоксифенил)-2-морфолинопиримидин-4-амин (6,6 мг, 10%). ЖХ/МС (m/z): 588,3(MH^+), R_t 1,92 мин.

Пример 34. Синтез N-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-фенилтиазол-2-амин



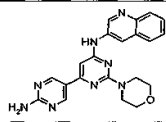
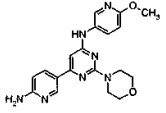
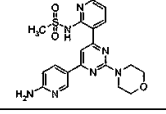
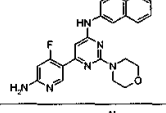
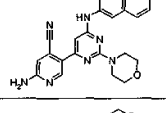
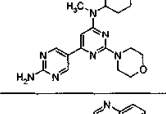
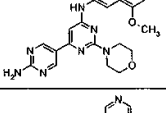
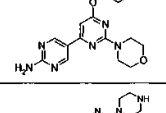
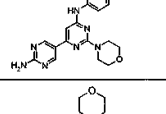
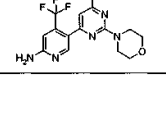
Раствор N-(6-хлор-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-фенилтиазол-2-амин (15 мг, 0,040 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-4-(трифторметил)пиридин-2-амин (23 мг, 0,080 ммоль) и 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II)хлорида (6,6 мг, 0,0080 ммоль) в 0,5 мл 1,4-диоксана и 0,05 мл 2 М водного раствора карбоната натрия в течение 600 с нагревали микроволновым излучением при 120°C. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой и получали N-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-фенилтиазол-2-амин. ЖХ/МС (m/z): 500 (MH^+), R_t 2,46 мин.

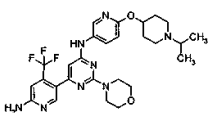
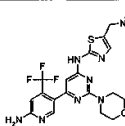
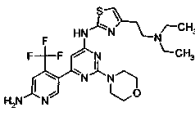
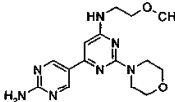
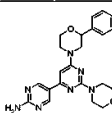
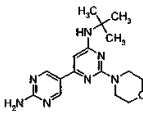
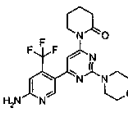
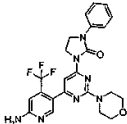
Пример 35. Получение N-(6-(6-амино-4-(трифторметил)пиридин-3-ил)-5-метил-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-фенилтиазол-2-амин

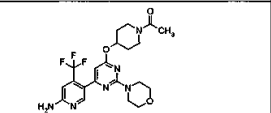
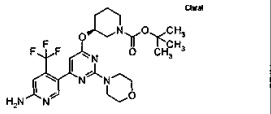
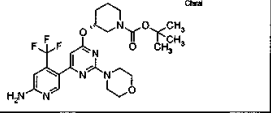
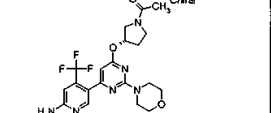
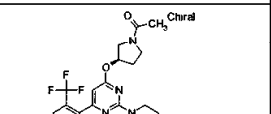
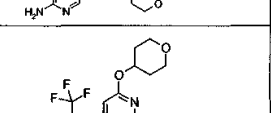
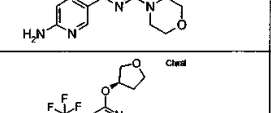
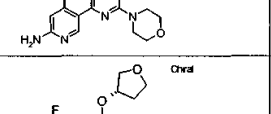


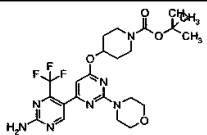
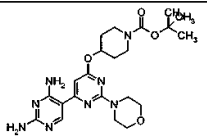
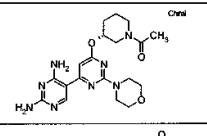
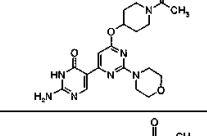
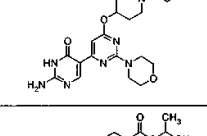
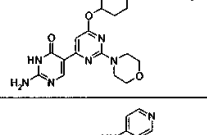
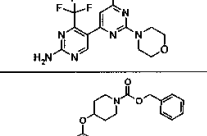
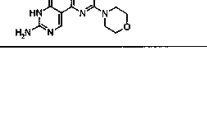
N-(6-(6-Амино-4-(трифтометил)пиридин-3-ил)-5-метил-2-морфолинопиримидин-4-ил)-4-фенил-тиазол-2-амин получали в соответствии с примером 35. ЖХ/МС (m/z): 514 (MH⁺), R_t 2,62 мин.

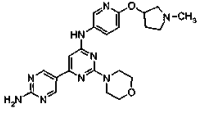
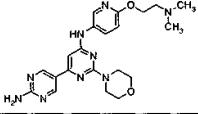
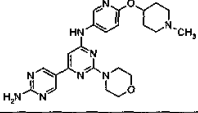
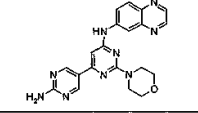
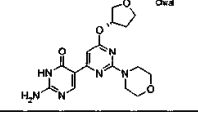
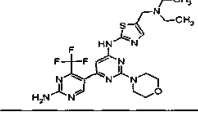
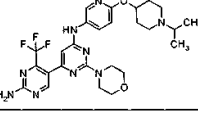
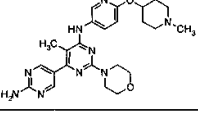
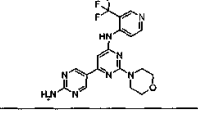
Таблица 1

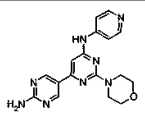
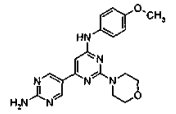
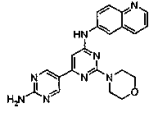
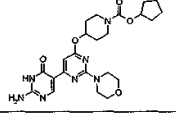
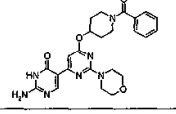
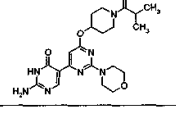
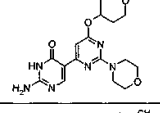
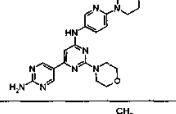
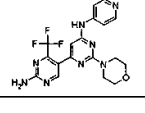
СОЕДИ- НЕНИЕ	СТРУКТУРА	ЖХ/МС (M+H, RT мин)	ВЭЖХ 10 мин (L=45 мин)	PI3 киназа альфа, IC ₅₀	PSer473 АКТ, EC ₅₀	Проли- ферация клеток, EC ₅₀
1		401,4, 2,00		++++	++++	++++
2		380,1, 1,82	9,67 L	++++	НО	НО
3		428,2, 2,09	11,50 L	++++	++++	++++
4		418,0	1,99	++++	++++	++++
5		425,0	11,16 L	++++	+++	++++
6		372,2	8,74 L	++++	НО	+++
7		431,2, 2,03	11,11 L	++++	++++	++++
8		352,1, 1,83	7,96 L	++++	++++	++++
9		435,2, 1,52	6,45 L	++++	++++	++++
10		411,3, 1,88		++++	++++	++++

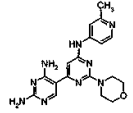
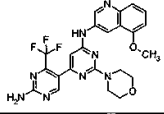
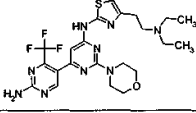
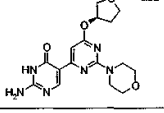
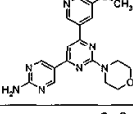
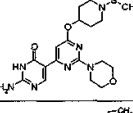
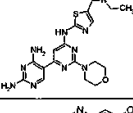
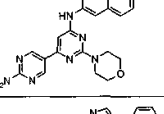
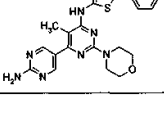
11		559,2, 1,92				
				++++	++++	++++
12		509,0, 1,72	1,98			
				++++	++++	+++
13		523,1, 2,02	2,11			
				++++	++++	+++
14		332,2	7,50 L			
				++++	HO	+++
15		420,1	13,14 L			
				++++	++++	++++
16		330,2	10,83 L			
				++++	HO	+++
17		423,1	2,57			
				++++	HO	+++
18		486	3,23			
				++++	HO	+++

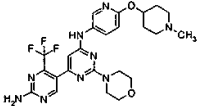
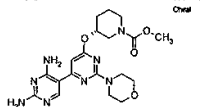
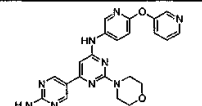
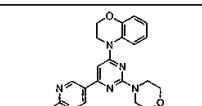
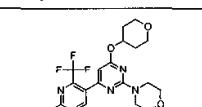
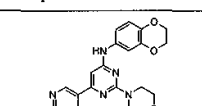
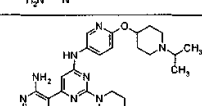
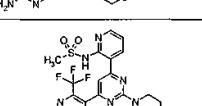
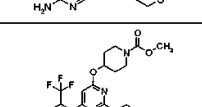
19		467,1, 2,36		++++	HO	+++
20		525,0, 3,42		++++	HO	+++
21		525,0, 3,42		++++	HO	HO
22		453,1, 2,18		++++	HO	+++
23		453,1, 2,18		++++	HO	HO
24		426,1, 2,26	2,54	++++	++++	++++
25		412,1, 2,47		++++	++++	+++
26		412,1, 2,19	2,47, (12,34)	++++	HO	+++

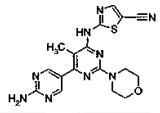
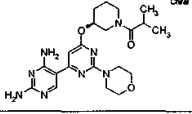
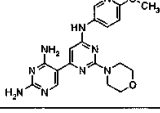
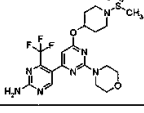
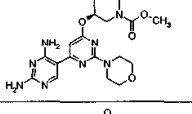
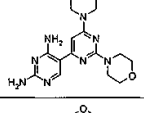
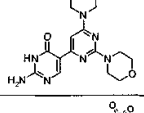
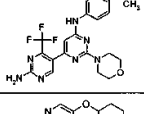
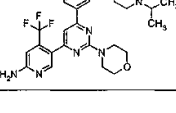
27		526,0, 4,30		++++	++++	++++
28		473,1, 3,02		++++	++++	++++
29		415,1, 2,06		++++	++++	+++
30		416,0, 1,67		++++	++++	++++
31		432,0, 2,05		++++	++++	++++
32		460,1, 2,51		++++	++++	++++
33		419,0, 2,17		++++	++++	++++
34		508,0, 2,17	2,96, (14,82)	++++	++++	++++

35		450,2, 1,61			++++	++++	++++
36		438,1, 1,61			++++	++++	++++
37		464,4, 1,53			++++	++++	++++
38		402,2, 1,88 min			++++	++++	++++
39		361,0, 1,44	1,73, (8,13)		++++	++++	++++
40		510,1, 1,98	2,18		++++	++++	++++
41		560,2, 1,93	1,98		++++	++++	++++
42		478,4, 1,59			++++	++++	++++
43		419,1	9,23 L		++++	++++	++++

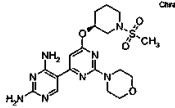
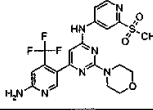
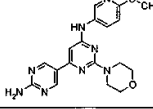
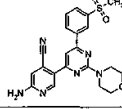
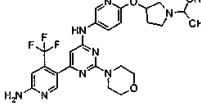
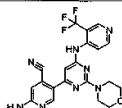
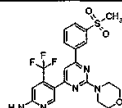
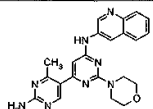
44		351,1	8,23 L	++++	++++	++++
45		375,0, 2,11	2,41	++++	++++	+++
46		401,1, 1,70	1,70	++++	++++	++++
47		486,1, 2,11	2,76, (14,49)	++++	++++	++++
48		478,0, 1,79	2,23, (11,48)	++++	++++	++++
49		444,1, 1,70	2,06, (10,23)	++++	++++	++++
50		375,1, 1,80	1,82, (8,95)	++++	++++	++++
51		449,1, 1,51	6,56 L	++++	++++	++++
52		433,0, 2,30		++++	++++	++++

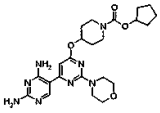
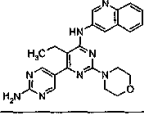
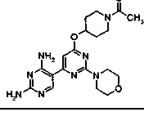
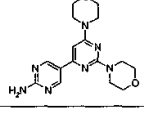
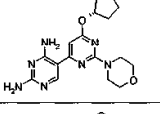
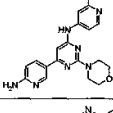
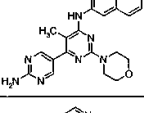
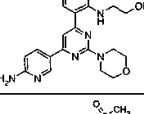
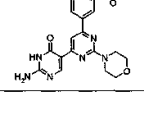
53		380,1, 1,65				
				++++	++++	++++
54		498,9, 2,55				
				++++	++++	++++
55		524,1, 2,10	2,37			
				++++	++++	++++
56		361,0, 1,45	1,64, (8,18)			
				++++	++++	++++
57		366,1, 1,85	1,95			
				++++	++++	++++
58		452,0, 1,65				
				++++	++++	++++
59		457,2 ,1,72	1,71			
				++++	++++	++++
60		431,2, 1,95	10,48 L			
				++++	++++	++++
61		447,4, 2,85				
				++++	++++	++++

62		532,0, 1,85			++++	++++	++++
63		431,2, 2,43			++++	++++	++++
64		444,4, 1,66			++++	++++	++++
65		392,3, 2,55			++++	++++	++++
66		427,1, 3,21			++++	++++	+++
67		408,1, 1,98	2,16		++++	++++	++++
68		507,2, 1,79	1,78		++++	++++	++++
69		496,9, 2,40	3,39, (16,57)		++++	++++	++++
70		484,0, 3,36			++++	++++	++++

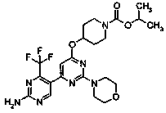
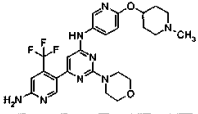
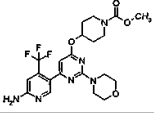
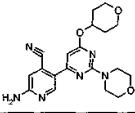
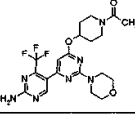
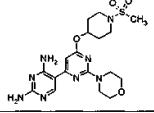
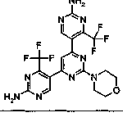
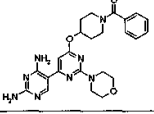
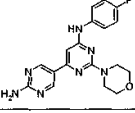
71		396,3, 2,32			++++	++++	++++
72		443,2, 2,45			++++	++++	+++
73		396,1, 1,58	1,89, (9,53)		++++	++++	+++
74		504,0, 3,19			++++	++++	++++
75		431,2, 2,38			++++	++++	+++
76		359,1, 1,42			++++	++++	+++
77		360,0, 1,47	1,79, (8,61)		++++	++++	++++
78		496,9, 2,42			++++	++++	++++
79		544,2, 1,97	2,04		++++	++++	+++

80		410,1, 1,91	10,36 L	++++	++++	++++
81		431,0, 2,45		++++	++++	++++
82		400,0, 1,74	1,76	++++	++++	++++
83		529,2, 2,98		++++	++++	+++
84		374,1, 2,13		++++	++++	++++
85		412,0, 2,03		++++	++++	++++
86		545,6, 1,78		++++	++++	++++
87		368,1, 2,05	2,26	++++	++++	+++
88		502,1, 1,89	1,95	++++	++++	+++

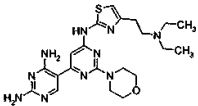
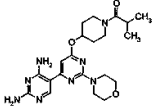
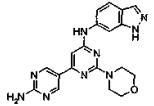
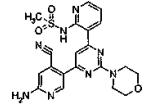
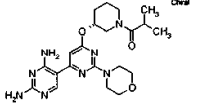
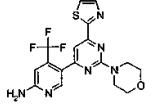
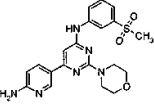
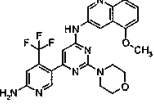
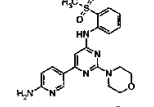
89		451,1, 2,30			++++	++++	++++
90		496	2,29		++++	++++	++++
91		381,4, 1,95			++++	++++	++++
92		437,1, 2,33	2,8		++++	++++	+++
93		545,6, 1,78			++++	++++	+++
94		443,1	2,07		++++	++++	++++
95		480,4, 2,13	2,85, (14,41)		++++	++++	+++
96		415,3, 1,90			++++	++++	++++

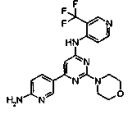
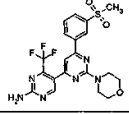
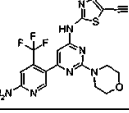
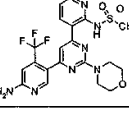
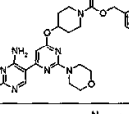
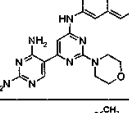
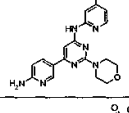
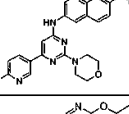
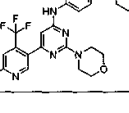
97		485,1, 3,04			++++	++++	+++
98		429,2	8,99 L		++++	++++	++++
99		415,1, 1,97			++++	++++	+++
100		344,1	7,58 L		++++	++++	++++
101		360,1, 2,05			++++	++++	+++
102		394,2, 1,85	1,92		++++	++++	++++
103		415,3, 1,68			++++	++++	++++
104		394,4, 1,62			++++	++++	+++
105		428,9, 1,72	2,25, (10,78)		++++	++++	++++

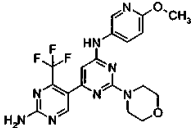
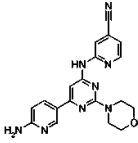
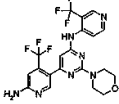
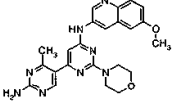
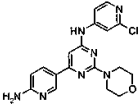
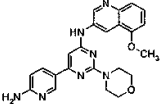
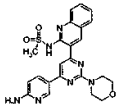
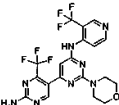
106		496,0, 3,28		++++	++++	++++
107		443,4, 2,70		++++	++++	+++
108		360,1, 2,05		++++	++++	++++
109		496,0, 2,07	2,39	++++	++++	+++
110		432,1	1,97	++++	++++	++++
111		368,0; 2,15	2,48	++++	++++	+++
112		427,1	2,08	++++	++++	+++
113		501,1, 2,34	14,12 L	++++	++++	+++
114		377,0, 1,54		++++	++++	+++

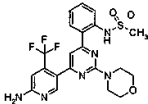
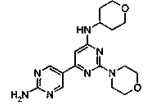
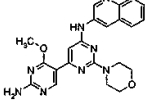
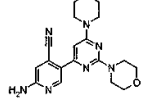
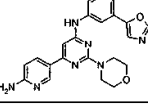
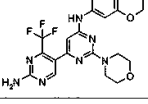
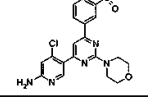
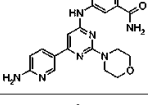
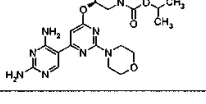
115		512,0, 3,96				
116		531,5, 1,77				
117		483,1, 2,37	2,82, (14,09)			
118		383,0, 2,76	2,53			
119		468,0, 2,70				
120		451,0, 2,28				
121		487,9	3,45			
122		477,1, 2,60				
123		368,1, 2,09	2,34			

124		530,0, 3,53		++++	++++	++++
125		428,0, 2,38		++++	++++	++++
126		466,1, 2,25	2,62	++++	++++	+++
127		451,1, 2,25		++++	++++	+++
128		496,1	2,26	++++	++++	+++
129		530,1, 1,93	1,99	++++	++++	+++
130		364,1, 1,69	1,76	++++	++++	++++
131		459,1, 2,82		++++	++++	++++
132		259,2, 1,27	1,34, (6,23)	++++	++++	+++

133		471,2, 1,79	1,88	++++	++++	++++
134		443,2, 2,37		++++	++++	++++
135		390,1, 1,85	9,52 L	++++	++++	++++
136		453,0, 2,29	2,76	++++	++++	++++
137		443,2, 2,38		++++	++++	+++
138		409,0, 2,95		++++	++++	+++
139		427,1	2,03	++++	++++	+++
140		498,5, 2,36		++++	++++	+++
141		427	2,38	++++	++++	+++

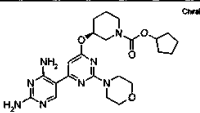
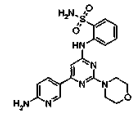
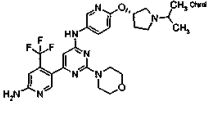
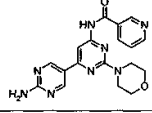
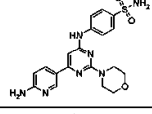
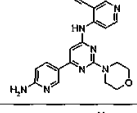
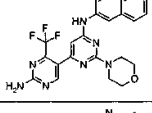
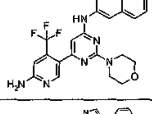
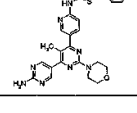
142		418,1, 1,78	8,81 L	++++	++++	++++
143		480,9, 2,46	3,50, (17,16)	++++	++++	++++
144		448,9, 2,76		++++	++++	+++
145		496,0, 2,35	2,75	++++	++++	+++
146		507,2, 3,12		++++	++++	++++
147		416,0, 1,98		++++	++++	++++
148		380,1	1,78	++++	++++	++
149		478,9, 1,75		++++	++++	+++
150		517,5, 1,78		++++	++++	++++

151		449,0, 2,42			++++	++++	+++
152		375,0	2,22		++++	++++	+++
153		486,4, 2,12			++++	++++	++++
154		445,3, 2,02			++++	++++	++++
155		384,0, 2,04	2,28		++++	++++	+++
156		430,2, 2,05	11,18 L		++++	++++	++++
157		478,1, 2,40	14,67 L		++++	++++	++
158		486,9, 2,48			++++	++++	++++

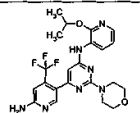
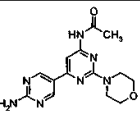
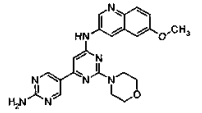
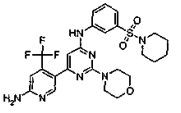
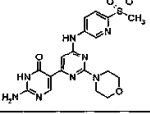
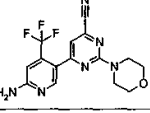
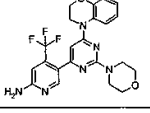
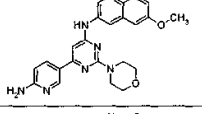
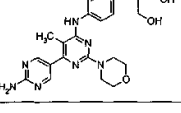
159		495,0, 2,57	3,13	++++	++++	+++
160		358,1	8,00 L	++++	++++	+++
161		431,4, 1,96		++++	++++	++++
162		368,2	1,84	++++	++++	++++
163		416,1	2,23	++++	++++	+++
164		475,9, 2,69		++++	++++	++++
165		445,9, 1,95	2,57, (12,84)	++++	++++	++++
166		392,1	1,62	++++	++++	+++
167		459,2, 2,71		++++	++++	+++

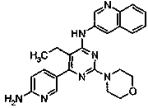
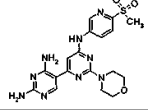
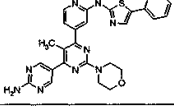
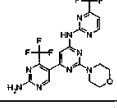
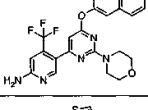
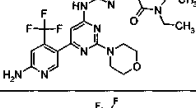
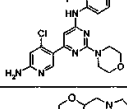
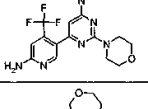
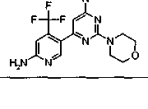
168		389,1	2,38	++++	++++	++++
169		418,3, 1,70	2,16, (10,66)	++++	++++	++++
170		462,9, 2,41		++++	++++	++++
171		498,1	1,92	++++	++++	++++
172		391,2	2,62	++++	++++	+++
173		495,0	2,32	++++	++++	+++
174		391,1	2,14	++++	++++	+++
175		434,3, 1,95		++++	++++	++++
176		560,0, 4,28		++++	++++	+++

177		445,3, 1,79		++++	++++	++++
178		462,0, 1,98	2,19	++++	++++	+++
179		374,0, 2,16	2,48	++++	++++	+++
180		434,1	2,4	++++	++++	+++
181		513,1, 1,76	1,72	++++	++++	++++
182		497,2, 1,90	9,89 L	++++	++++	++++
183		400,4, 2,03		++++	++++	++++
184		350,1	7,65 L	++++	++++	+++
185		429,4, 1,67		++++	++++	++++

186		485,1, 2,91		++++	++++	+++
187		428,1	2,17	++++	++++	+++
188		545,2, 1,84	1,89	++++	++++	+++
189		379,4, 1,42		++++	++++	+++
190		428,1	1,85	++++	++++	+++
191		375,1, 1,75	1,74	++++	++++	+++
192		469,4, 2,44		++++	++++	++++
193		468,4, 2,26		++++	++++	++++
194		524,5, 2,44	3,44	++++	++++	+++

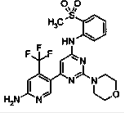
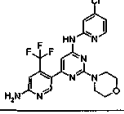
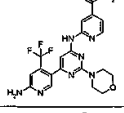
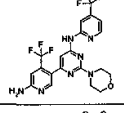
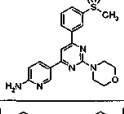
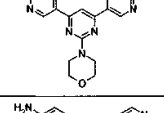
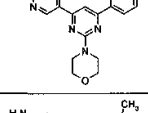
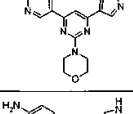
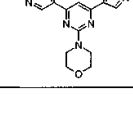
195		434,3, 2,06				
				++++	++++	++++
196		368,1, 1,69	1,63			
				++++	++++	++++
197		392,1	1,68			
				++++	++++	+++
198		437,2, 1,60	1,45			
				++++	++++	HO
199		448,4, 2,24				
				++++	++++	+++
200		430,1, 1,84	9,55 L			
				++++	++++	++++
201		414,1, 1,85	9,53 L			
				++++	++++	++++
202		418,3	2,16			
				++++	++++	++++
203		490,1, 1,85	1,83			
				++++	++++	+++

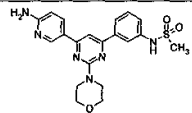
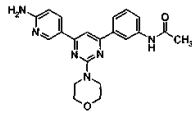
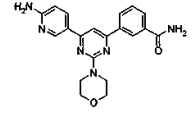
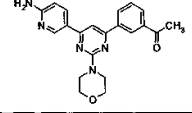
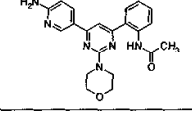
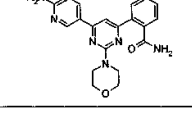
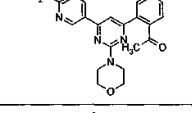
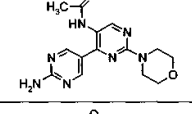
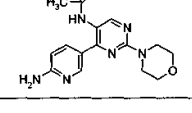
204		476,1, 2,42	2,86	++++	++++	++
205		316,2, 1,45		++++	++++	+++
206		431,0, 1,91	2,16	++++	++++	++++
207		564,1	3,08	++++	+++	++++
208		445,0, 1,50	1,78, (8,91)	++++	+++	++
209		351,0, 2,12	2,88, (14,36)	++++	+++	+++
210		459,4, 2,80		++++	+++	+++
211		430,2, 2,02	2,14	++++	+++	++++
212		455,5, 1,53		++++	+++	++

213		428,2, 1,74	8,55 L	++++	+++	++++
214		444,0, 2,06		++++	+++	++
215		524,5, 2,44	3,36	++++	+++	+++
216		487,9, 3,60		++++	HO	+++
217		469,1, 2,01	2,13	++++	HO	+++
218		537,1, 2,27	2,53	++++	HO	+++
219		452,0, 1,85	1,89	++++	HO	+++
220		494,1, 1,67	1,59	+++	HO	++
221		425,0, 1,66	1,98	++++	HO	+++

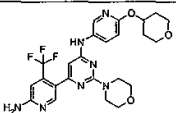
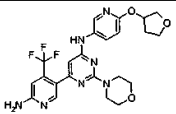
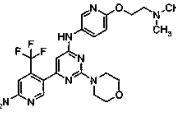
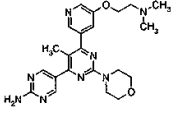
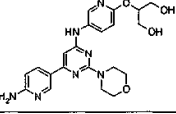
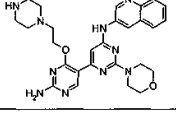
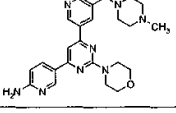
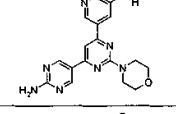
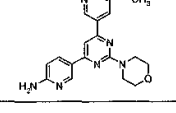
222		479,1, 1,98	2,20	+++	HO	HO
223		423,2, 1,83	1,99	++++	HO	+++
224		370,3, 1,25	1,39	+++	HO	HO
225		422,2, 1,84	1,86	++++	HO	HO
226		448,3, 1,93	1,94	++++	HO	HO
227		389,2, 1,93	1,93	++++	HO	+++
228		353,1, 2,25	2,55	++++	HO	HO
229		302,1, 1,68	1,74	++++	HO	HO
230		379,1, 1,73	1,74	++++	HO	+++

231		379,1, 1,75	1,78	++++	HO	+++
232		316,1, 1,84	2,24	++++	HO	++
233		371,2, 1,49	1,39	++++	HO	+++
234		370,0, 2,12	2,37	++++	HO	++
235		385,2, 1,50	1,40	++++	HO	+++
236		303,1, 1,65	1,70	++++	HO	HO
237		284,1, 2,12	2,56	++++	HO	+++
238		495,0	2,3	++++	HO	+++
239		443,1	2,63	++++	HO	+++

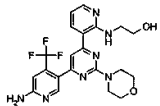
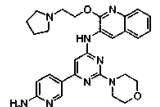
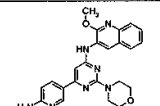
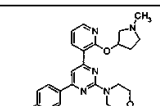
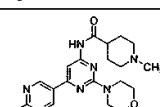
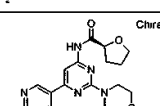
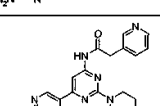
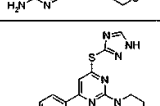
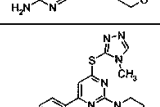
240		495, 2,20	3,29	++++	HO	HO
241		452,0	2,57	++++	HO	+++
242		461,1	1,85	++++	HO	+++
243		486, 2,01	2,26	++++	HO	HO
244		413, 2,13	2,41	++++	HO	+++
245		350, 1,72	1,66	++++	HO	+++
246		335, 1,66	1,57	++++	HO	+++
247		338, 1,92	2,02	++++	HO	+++
248		324, 1,79	1,82	++++	HO	+++

249		427, 2,15	2,40	++++	HO	+++
250		391, 2,07	2,30	++++	HO	+++
251		377, 1,98	2,14	++++	HO	+++
252		376, 2,31	2,66	++++	HO	+++
253		391, 2,13	2,56	++++	HO	+++
254		377, 1,76	1,81	++++	HO	++
255		376, 2,14	2,39	++++	HO	++
256		316, 1,44	1,32	++++	HO	HO
257		315, 1,46	1,30	+++	HO	HO

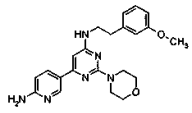
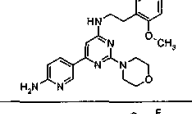
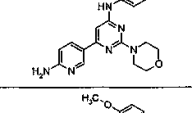
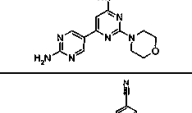
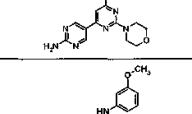
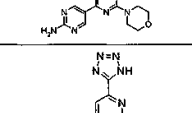
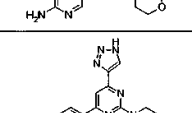
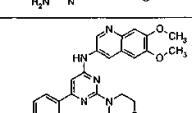
258		274, 1,40	1,22	++++	HO	++
259		273, 1,40	1,23	+++	HO	++
260		444,1, 2,02	2,24	++++	HO	+++
261		507,2, 1,92	1,98	++++	HO	+++
262		559,2, 2,07	2,25	++++	HO	+++
263		500,2, 1,66	2,03	++++	HO	+++
264		486,1, 1,61	1,94	++++	HO	+++
265		511,1, 2,09	2,44	++++	HO	+++
266		481,1, 2,23	2,59	++++	HO	+++

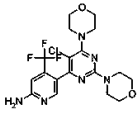
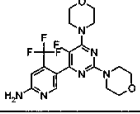
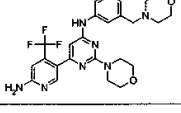
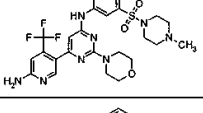
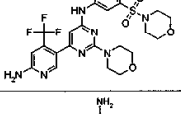
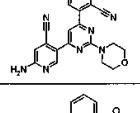
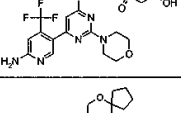
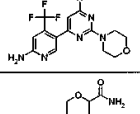
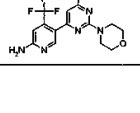
267		518,2, 2,18			++++	HO	+++
268		504,1, 2,13			++++	HO	+++
269		505,2, 1,76			++++	HO	+++
270		437,1, 1,56	1,44		++++	HO	++
271		440,1, 1,59	1,45		++++	HO	++
272		529,1, 1,64	1,72		++++	HO	HO
273		447,2, 1,61	1,54		++++	HO	+++
274		352,2, 1,81	1,77		++++	HO	+++
275		365,2, 1,88	1,90		++++	HO	+++

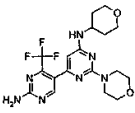
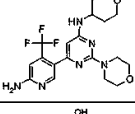
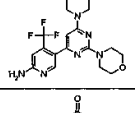
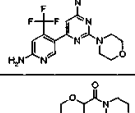
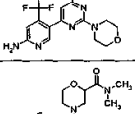
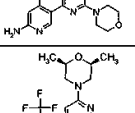
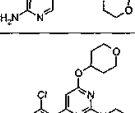
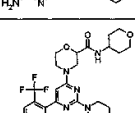
276		463,3, 1,72			++++	HO	+++
277		449,2, 2,00	2,11		++++	HO	+++
278		354,2, 2,32	2,12		++++	HO	++++
279		352,1, 1,81	1,48		++++	HO	++++
280		386,1, 1,83	1,91		++++	HO	+++
281		485,1, 2,17			++++	HO	++
282		486,0, 1,69			++++	HO	++
283		442,0, 2,02			++++	HO	+++
284		443,1, 2,22			++++	HO	+++

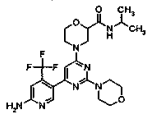
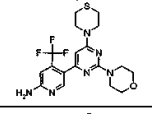
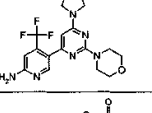
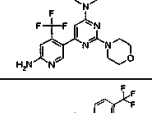
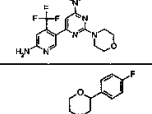
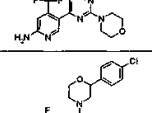
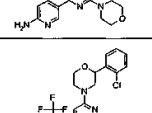
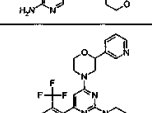
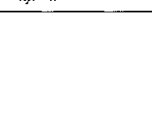
285		462,1, 1,95		++++	HO	+++
286		513,1, 2,46		+++	HO	HO
287		430,1, 2,98		++++	HO	+++
288		434,4, 1,97		+++	HO	HO
289		399,4, 1,50		++++	HO	+++
290		372,3, 1,74		++++	HO	+++
291		393,4, 1,32		++++	HO	++
292		357,2, 1,78		+++	HO	HO
293		371,4, 1,68		+++	HO	HO

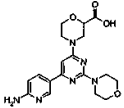
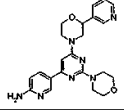
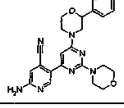
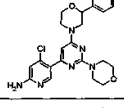
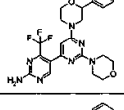
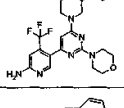
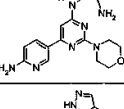
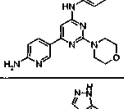
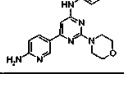
294		367,3, 1,65		++++	HO	+++
295		367,2, 2,17		++++	HO	+++
296		356,3, 1,22		+++	HO	HO
297		378,4, 1,72		++++	HO	HO
298		383,4, 2,69		++++	HO	HO
299		434,5, 1,41		++++	HO	+++
300		448,4, 1,44		++++	HO	+++
301		274,2, 0,46		++++	HO	++
302		407,2, 2,04	3,73	+++	HO	++

303		407,2; 2,02	3,77	++++	HO	+++
304		407,1; 2,10	2,25	++++	HO	++
305		367,0; 2,07	2,28	++++	HO	+++
306		380,1; 2,07	2,29	++++	HO	+++
307		375,0; 2,09	2,39	++++	HO	+++
308		380,1; 2,07	2,32	++++	HO	+++
309		326,1; 1,79	2,99	++++	HO	HO
310		325,0; 1,51	1,88	++++	HO	HO
311		460,1; 1,96	2,09	++++	HO	++++

312		445,1, 2,30	2,7	++++	HO	HO
313		429,1	2,32	++++	HO	++
314		516,1	1,78	++++	HO	++
315		579,1	2,09	++++	HO	+++
316		566	2,64	++++	HO	+++
317		400,1, 2,02	2,27	++++	HO	+++
318		525,1	2,15	++++	HO	+++
319		465,1, 2,28	2,5	++++	HO	HO
320		454,1, 1,74	1,74	++++	HO	+++

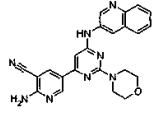
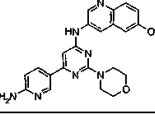
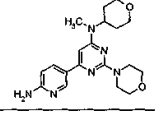
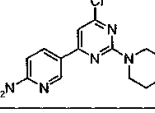
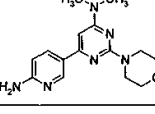
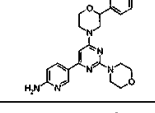
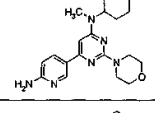
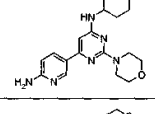
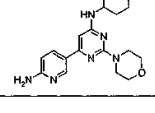
321		426,1	2,08	++++	HO	+++
322		425,1, 1,92	1,97	++++	HO	++
323		425,0, 1,78	1,83	++++	HO	++
324		423,0, 1,82	1,79	++++	HO	+++
325		524,1, 1,88	1,96	++++	HO	++
326		482,1, 1,88	1,93	++++	HO	++
327		439,2, 2,15	2,38	++++	HO	+++
328		392,0, 2,08	2,26	++++	HO	+++
329		538,2, 1,90	1,98	++++	HO	++

330		496,2, 2,04	2,2	++++	HO	++
331		459,1, 1,83	1,89	++++	HO	++
332		413,1, 2,04	2,21	++++	HO	++++
333		455,1, 1,77	1,79	++++	HO	++
334		555,1, 2,76	3,36	++++	HO	+++
335		505,1	2,94	++++	HO	+++
336		521,1, 2,66	3,18	++++	HO	+++
337		521,1	3,1	++++	HO	++
338		488,1, 1,73	1,67	++++	HO	+++

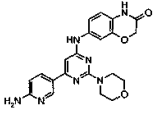
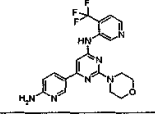
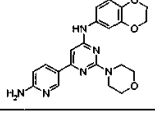
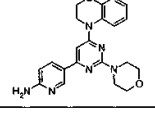
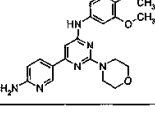
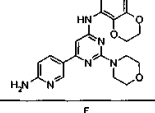
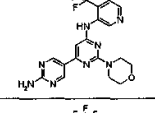
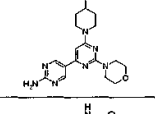
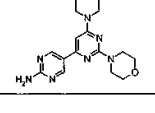
339		387,1, 1,55	1,44	+++	HO	HO
340		420,1, 1,57	1,44	++++	HO	HO
341		444,1	2,84	++++	HO	+++
342		453,1	2,51	++++	HO	+++
343		488,1	3,02	++++	HO	++
344		487,2	2,86	++++	HO	+++
345		389,1, 2,06	2,28	++++	HO	+++
346		389,1, 1,92	1,94	++++	HO	HO
347		389,1	1,83	++++	HO	+++

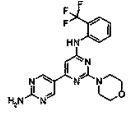
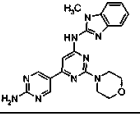
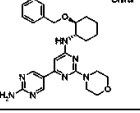
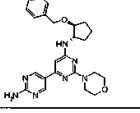
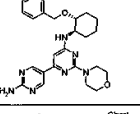
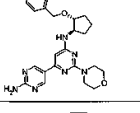
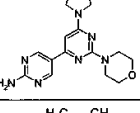
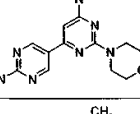
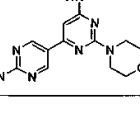
348		393,1	1,57	++++	HO	++
349		384,1	2,13	++++	HO	++
350		418,1	2,77	++++	HO	++
351		368,2	1,77	++++	HO	++
352		392,1, 1,89	1,94	++++	HO	+++
353		406,1, 1,78	1,77	+++	HO	HO
354		432,2, 2,05	2,25	++++	HO	HO
355		415,0, 1,73	1,61	++++	HO	HO
356		432,0	2,0	++++	HO	+++

357		416,0, 2,05	2,21	++++	HO	++
358		481,1, 2,64	3,27	++++	HO	+++
359		391,1, 2,06	2,28	++++	HO	++++
360		406,1, 1,71	1,71	++++	HO	+++
361		442,1	1,89	++++	HO	+++
362		428,1	1,77	++++	HO	+++
363		406,1	1,77	++++	HO	+++
364		375,1, 1,93	2,04	+++	HO	++
365		414,1, 1,94	10,78 L	+++	HO	HO

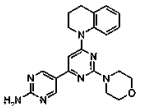
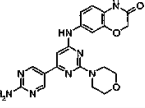
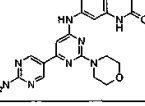
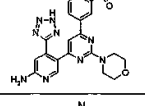
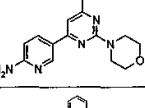
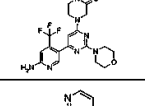
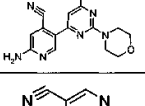
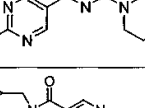
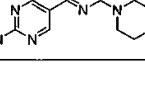
366		425,1, 2,14	12,06 L	+++	HO	HO
367		416,1	9,23 L	++++	HO	+++
368		371,2, 1,69	7,86 L	++++	HO	+++
369		292,1, 2,07	11,31 L	++++	HO	++
370		301,2, 1,57	6,77 L	+++	HO	HO
371		419,2	12,26 L	++++	HO	+++
372		369,2, 2,15	11,91 L	+++	HO	HO
373		355,2, 2,07	11,27 L	+++	HO	HO
374		357,2, 1,62	7,19 L	+++	HO	HO

375		389,2, 2,13	12,07 L	++++	HO	HO
376		356,2, 1,40	5,75 L	+++	HO	HO
377		401,1	10,23 L	++++	HO	+++
378		350,2, 1,66	7,63 L	++++	HO	+++
379		417,1, 2,28	13,32 L	++++	HO	HO
380		468,1, 2,16	11,42 L	++++	HO	+++
381		420,1, 1,81	9,41 L	++++	HO	HO
382		389,2, 2,28	13,47 L:	++++	HO	HO
383		468,2, 2,13	11,64 L	++++	HO	+++

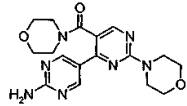
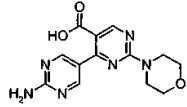
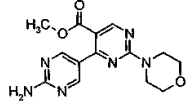
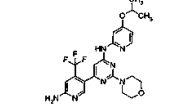
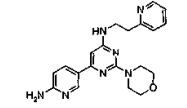
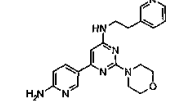
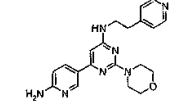
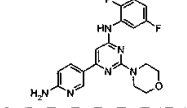
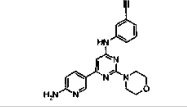
384		420,1, 1,68	8,71 L	++++	HO	+++
385		418,1, 1,98	11,04 L	++++	HO	HO
386		407,1, 1,95	10,57 L	++++	HO	+++
387		391,1, 2,25	13,62 L	++++	HO	+++
388		409,1, 1,87	9,91 L	++++	HO	HO
389		407,1, 2,08	11,36 L	++++	HO	HO
390		419,1	10,41 L	++++	HO	+++
391		410,1, 2,20	12,63 L	++++	HO	HO
392		357,1	5,96 L	++++	HO	+++

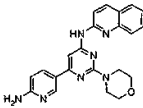
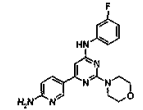
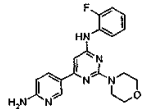
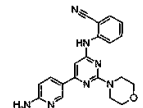
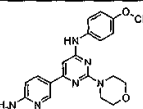
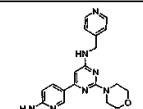
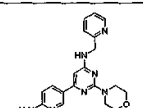
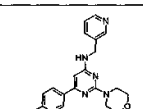
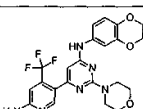
393		418,1	13,00 L	++++	HO	+++
394		404,2	10,64 L	++++	HO	+++
395		462,2, 2,38	14,83 L	++++	HO	HO
396		448,2	14,53 L	++++	HO	+++
397		462,2, 2,40	14,82 L	++++	HO	HO
398		448,2, 2,38	14,52 L	++++	HO	HO
399		328,2	9,63 L	++++	HO	+++
400		302,2	7,77 L	++++	HO	+++
401		288,2	6,92 L	++++	HO	++

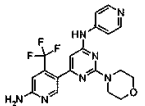
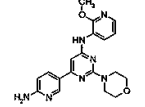
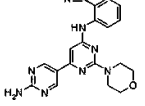
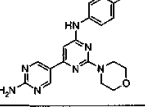
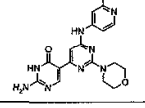
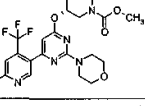
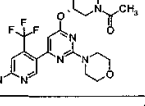
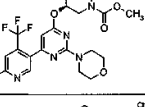
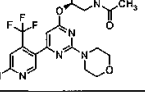
402		314,2	8,39 L	++++	HO	+++
403		390,1	13,44 L	++++	HO	+++
404		370,2	13,71 L	++++	HO	+++
405		356,2	12,73 L	++++	HO	+++
406		370,2	14,24 L	++++	HO	++
407		418,2	14,81 L	++++	HO	+++
408		469,1	12,14 L	++++	HO	+++
409		469,1	12,17 L	++++	HO	++++
410		469,1	12,17 L	++++	HO	+++

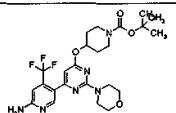
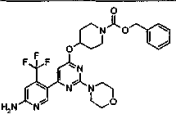
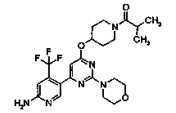
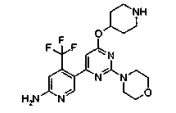
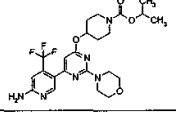
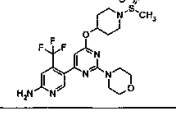
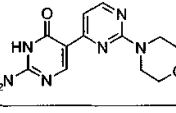
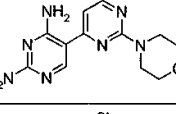
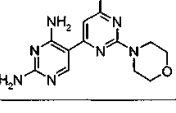
411		390,1	13,47 L	++++	HO	+++
412		421,1	8,70 L	++++	HO	++++
413		421,1	9,60 L	++++	HO	+++
414		480,0, 1,98	2,19	++++	HO	HO
415		283,2, 1,95		++++	HO	++
416		500,0, 1,83	2,36	++++	HO	HO
417		378,0, 3,02	2,79	++++	HO	++
418		284,2, 1,94	2,2	++++	HO	++
419		356,2, 1,77	1,86	+++	HO	HO

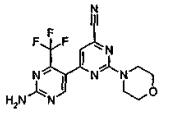
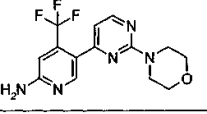
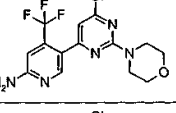
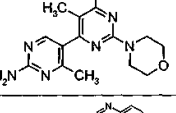
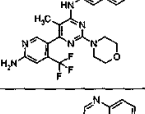
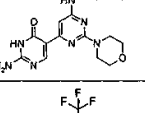
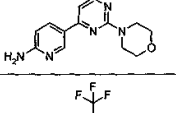
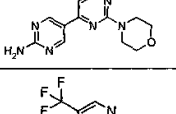
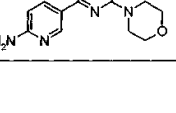
420		373,2, 1,37	1,23	+++	HO	HO
421		386,2, 1,57	1,73	+++	HO	HO
422		330,2, 1,47	1,58	+++	HO	HO
423		387,2, 1,47	1,32	+++	HO	HO
424		360,2, 1,57	1,47	+++	HO	HO
425		356,2, 1,79	1,83	+++	HO	HO
426		386,2, 1,61	1,56	+++	HO	HO
427		385,2, 1,48	1,4	+++	HO	++
428		385,2, 0,5	1,34	+++	HO	++

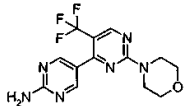
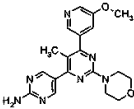
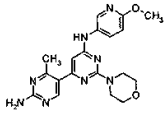
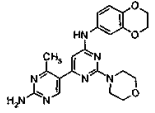
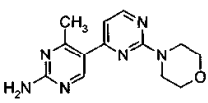
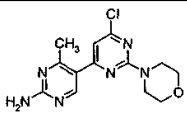
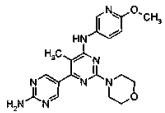
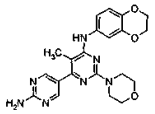
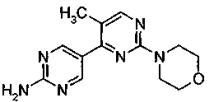
429		372,3, 1,39	1,69	+++	HO	HO
430		303,1, 1,66	1,66	+++	HO	HO
431		317,2, 1,59	2,02	++++	HO	++
432		476,1, 2,16	2,46	++++	HO	+++
433		378,1, 1,31	1,13	+++	HO	HO
434		378,2, 1,46	1,14	+++	HO	HO
435		378,2, 1,44	1,13	+++	HO	HO
436		385,1, 2,25	2,58	++++	HO	+++
437		374,0, 2,14	2,42	++++	HO	+++

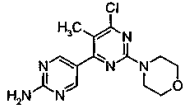
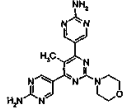
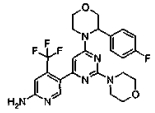
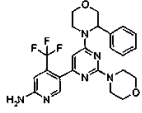
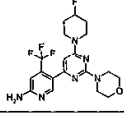
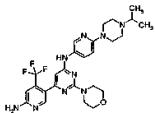
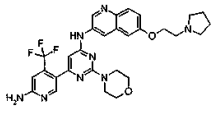
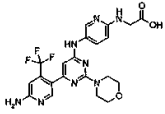
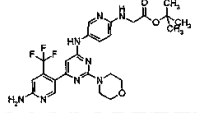
438		400,0, 1,90	2,04	++++	HO	+++
439		367,1, 2,20	2,47	++++	HO	+++
440		367,1, 2,07	2,29	++++	HO	+++
441		374,1, 2,07	2,26	++++	HO	+++
442		379,1, 1,94	2,19	++++	HO	+++
443		364,1, 1,41	1,10	+++	HO	HO
444		364,1, 1,33	1,16	+++	HO	HO
445		364,1, 1,37	1,10	+++	HO	HO
446		475,4, 1,99	2,52	++++	HO	++

447		418,3, 1,54	1,93	++++	HO	++
448		380,1, 1,98	2,06	++++	HO	+++
449		375,0, 2,00	2,21	++++	HO	+++
450		380,1, 2,01	2,19	++++	HO	++
451		381,0, 1,30	1,48, (7,22)	++++	HO	+++
452		483,0, 2,83		++++	HO	+++
453		467,0, 2,87		++++	HO	+++
454		483,0, 2,83		++++	HO	+++
455		467,0, 2,87		++++	HO	+++

456		525,1, 2,90		++++	HO	+++
457		599,2, 3,60		++++	HO	+++
458		495,1, 2,77		++++	HO	+++
459		425,1, 1,80		++++	HO	HO
460		511,1, 3,28		++++	HO	+++
461		503,1, 2,66		++++	HO	+++
462		275,0, 1,16	1,23, (5,79)	++++	HO	+++
463		274,0, 1,36		++++	HO	++
464		307,9, 2,09		++++	HO	++

465		352,0, 2,46	3,57, (17,04)	++++	HO	+++
466		326,2, 1,66	2,04, (10,20)	++++	HO	++
467		360,2, 2,18	2,92, (14,71)	++++	HO	++
468		321,2, 1,84	2,35, 11,87	++++	HO	++
469		482,4, 1,70	2,08, (10,76)	++++	HO	HO
470		417,3, 1,58	1,83, (9,39)	++++	HO	+++
471		326,3, 1,98	2,53, (13,21)	++++	HO	HO
472		327,2, 2,21	3,13, (15,01)	++++	HO	+++
473		326,3, 1,76	2,24, (11,11)	+++	HO	HO

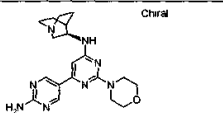
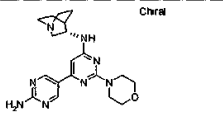
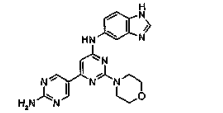
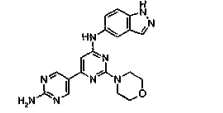
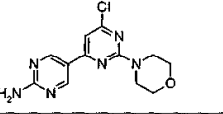
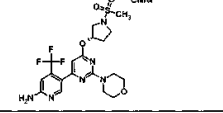
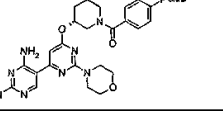
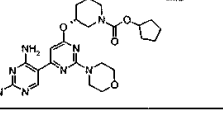
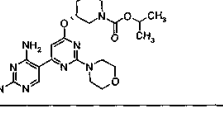
474		327,3, 1,97	2,69, (12,81)	++++	HO	++
475		380,3, 1,49	1,76, (8,70)	++++	HO	+++
476		395,3, 1,89		++++	HO	+++
477		422,3, 2,15		++++	HO	+++
478		273,2, 1,55	1,44, (6,80)	++++	HO	++
479		307,1, 2,05	2,33, (11,43)	++++	HO	HO
480		395,3, 1,79		++++	HO	+++
481		422,3, 2,10		++++	HO	++++
482		273,2, 1,29	1,43, (6,78)	++++	HO	+++

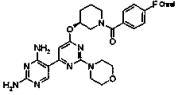
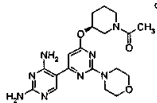
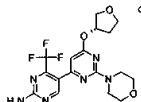
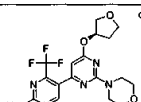
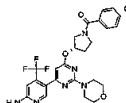
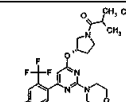
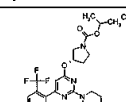
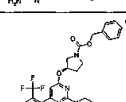
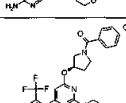
483		307,2, 1,96	2,58, (12,75)	++++	HO	++
484		366,3, 1,39	1,63, (7,75)	++++	HO	+++
485		505,1, 2,35	14,35 L	++++	HO	HO
486		487,2, 2,31	13,84 L	++++	HO	HO
487		427,1, 2,12	11,84 L	++++	HO	HO
488		544,2, 1,76	1,67	++++	HO	+++
489		581,2, 1,82	1,90	++++	HO	+++
490		491,1, 1,70	1,59	++++	HO	HO
491		547,1, 2,09	11,59 L	++++	HO	++

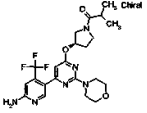
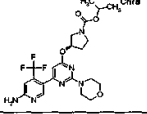
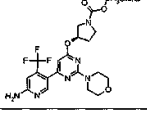
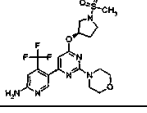
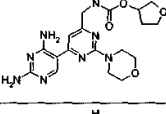
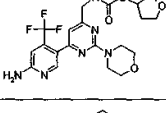
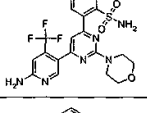
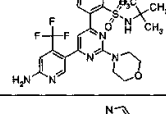
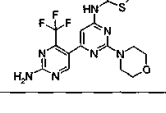
492		492,9, 1,78	2,24	+++	HO	HO
493		561,1, 2,20	2,46	++++	HO	HO
494		430,2, 1,97	10,65 L	++++	HO	+++
495		485,0, 2,47	15,16 L	++++	HO	++
496		484,1, 2,47	15,14 L	+++	HO	HO
497		462,4, 1,29	7,09 L	++++	HO	+++
498		463,2, 1,77	8,92 L	+++	HO	HO
499		463,2, 1,72	8,24 L	++++	HO	+++
500		428,4, 1,63	10,17	++++	HO	+++

501		462,4, 1,28	1,51	++++	HO	+++
502		511,3, 2,08	11,82 L	+++	HO	HO
503		428,2, 1,93	10,1 L	++++	HO	+++
504		378,2, 1,66	7,72 L	+++	HO	HO
505		378,2, 1,76	8,73 L	++++	HO	+++
506		447,3, 1,78	8,02	++++	HO	HO
507		461,2, 1,8	8,93 L	++++	HO	HO
508		353,1, 2,16	2,34	++++	HO	+++
509		476,3, 1,65	7,27 L	++++	HO	+++

510		351,1, 1,74	1,70	+++	HO	HO
511		402,2, 1,65	7,51 L	++++	HO	+++
512		351,2, 1,66	7,85 L	++++	HO	+++
513		258,2, 1,48	6,33 L	++++	HO	HO
514		372,2, 1,65	7,49	++++	HO	+++
515		359,2, 2,05	11,16 L	++++	HO	++++
516		387,2, 1,54	6,71 L	++++	HO	+++
517		373,2, 0,71	5,93	+++	HO	HO
518		336,2, 1,61	8,11 L	++++	HO	++++

519	 Chiral	383,2, 1,44	2,04	++++	HO	HO
520	 Chiral	383,2, 1,53	2,09	++++	HO	+++
521	 Chiral	390,1, 1,59	7,15 L	++++	HO	+++
522	 Chiral	390,1, 1,75	8,62 L	++++	HO	+++
523	 Chiral	293,1, 1,93	2,20	++++	HO	+++
524	 Chiral	489,1, 2,47		++++	HO	+++
525	 Chiral	495,2, 2,49		++++	HO	HO
526	 Chiral	485,1, 2,90		++++	HO	+++
527	 Chiral	459,2, 2,75		++++	HO	+++

528		495,2, 2,47		++++	HO	+++
529		415,1, 2,06		++++	HO	+++
530		413,1, 3,09		++++	HO	+++
531		413,1, 3,07		++++	HO	+++
532		515,1, 2,74		++++	HO	+++
533		481,1, 2,54		+++	HO	HO
534		497,1, 3,01		++++	HO	+++
535		545,1, 3,37		++++	HO	HO
536		515,1, 2,79		++++	HO	HO

537		481,1, 2,55		++++	HO	HO
538		497,1, 2,54	3,00, (15,55)	++++	HO	HO
539		469,1, 2,56		++++	HO	+++
540		489,1, 2,47		++++	HO	+++
541		417,0, 1,51	1,84, (8,78)	++++	HO	++
542		469,0, 1,76	2,27, (10,99)	++++	HO	HO
543		481,1, 1,93	2,57, (12,58)	++++	HO	+++
544		536,9, 2,47	3,38, (17,30)	++++	HO	++
545		449,9, 3,44		++++	HO	++

546		460,0, 3,00		++++	HO	+++
547		484,5, 2,28	3,12, (15,46)	+++	HO	HO
548		427,3, 1,83	2,49, (11,84)	++++	HO	+++
549		427,3, 1,82	2,51, (11,79)	++++	HO	+++
550		360,9, 1,56		HO	HO	+++
551		358,9, 1,63		++++	HO	+++
552		558,3, 1,90		++++	++++	+++
553		588,3, 1,92		++++	++++	++++
554		500,0; 2,46		++++	HO	+++
555		514,0; 2,62		+++	HO	HO

HO - не определено
Chiral - хиральный

Соединения, приведенные в табл. 1, синтезировали по методикам 1-30 и методикам, приведенным в представленных выше примерах 1-35. Значения PIK IC_{50} и $pSer473$ Akt EC_{50} для ингибирования фосфорилирования Akt определяли по биологическим методикам 1 и 2 соответственно. Значения EC_{50} для пролиферации клеток, приведенные в табл. 1, определяли по биологической методике 3.

В табл. 1 приведены значения IC_{50} и EC_{50} , определенные по биологическим методикам 1-4, описанным в настоящем изобретении. В табл. 1 "+" показывает, что соединение обладает значением IC_{50} или EC_{50} , составляющим >25 мкМ; "++" показывает, что соединение обладает значением IC_{50} или EC_{50} , составляющим <25 мкМ; "+++" показывает, что соединение обладает значением IC_{50} или EC_{50} , составляющим >10 мкМ; и "++++" показывает, что соединение обладает значением IC_{50} или EC_{50} , составляющим >1 мкМ. Обозначение "HO" в табл. 1 показывает, что значение не определено.

Каждое из соединений, приведенных в табл. 1, обладает значениями IC_{50} , характеризующими ингибирование $PI3K$, равными менее 10 мкМ. Многие из соединений, приведенных в табл. 1, обладают значениями IC_{50} , характеризующими ингибирование $PI3K$, равными менее 1 и даже менее 0,1 мкМ. Поэтому

каждое из соединений является предпочтительным по отдельности и является предпочтительным, как группа. Значения IC_{50} для PI3 киназы альфа, приведенные в табл. 1, определяли путем исследования расхода АТФ (аденозинтрифосфат), описанного в настоящем изобретении в биологической методике 1.

Кроме того, многие из соединений, приведенных в табл. 1, обладают значениями EC_{50} , характеризующими фосфорилирование pSer473 Akt, равными менее 10 мкМ. Многие из этих соединений обладают значениями EC_{50} , характеризующими ингибирование pAkt, равными менее 1 и даже менее 0,1 мкМ. В табл. 1 приведены значения EC_{50} для ингибирования фосфорилирования pSER473 Akt. Исследования проводили по биологической методике 2, описанной в настоящем изобретении.

Кроме того, многие из соединений, приведенных в табл. 1, исследованы для определения их активности по отношению к подавлению пролиферации клеток по биологической методике 4. Многие из этих соединений обладают значениями EC_{50} , равными менее 1 и даже менее 0,1 мкМ, что свидетельствует об их активной способности подавлять пролиферацию клеток. В табл. 1 приведены значения EC_{50} для подавления пролиферации линии клеток рака яичника A2780.

Биологическая методика 1. Исследования фосфорилирования.

Исследование 1. Исследование гомогенной растворенной фазы.

Исследуемые соединения растворяют в ДМСО и сразу же распределяют по лункам 384-луночных флэш-планшетов по 1,25 мкл/лунка. Для инициирования реакции в каждую лунку прибавляют 20 мкл 6 нМ PI3 киназы, а затем 20 мкл 400 нМ АТФ, содержащего следовое количество радиоактивной метки АТФ и 900 нМ 1-альфа-фосфатидилинозита (PI). Планшеты непродолжительное время центрифугируют для удаления воздуха. Реакцию проводят в течение 15 мин и затем ее останавливают путем прибавления 20 мкл 100 мМ ЭДТК (этилендиаминтетрауксусная кислота). После остановки реакции смесь инкубируют в течение ночи при КТ, чтобы за счет гидрофобного взаимодействия липидный субстрат связался с поверхностью флэш-планшета. Затем жидкость смывают из лунок и меченый субстрат исследуют с помощью сцинтилляционного счетчика.

Исследование 2. Одностадийное исследование твердой фазы.

Методика, аналогично использованной в исследовании 1, за тем исключением, что липидный субстрат (1-альфа-фосфатидилинозит (PIP)) сначала растворяют в буфере, образующем покрытие, и инкубируют во флэш-планшета при комнатной температуре в течение ночи, чтобы за счет гидрофобного взаимодействия липидный субстрат связался с поверхностью флэш-планшета. Затем несвязанный субстрат смывают. В день проведения исследования в каждую лунку прибавляют 20 мкл 6 нМ PI3 киназы, а затем 20 мкл 400 нМ АТФ, содержащего следовое количество радиоактивной метки АТФ. Вместе с ферментом и АТФ соединения прибавляют в планшеты, покрытые липидом. Планшеты непродолжительное время центрифугируют для удаления воздуха. Реакцию проводят в течение 2-3 ч. Реакцию останавливают путем прибавления 20 мкл 100 мМ ЭДТК или путем сразу же проводимой промывки. Фосфорилированный липидный субстрат исследуют с помощью сцинтилляционного счетчика.

Исследование 3. Исследование расхода АТФ.

Исследуемые соединения растворяют в ДМСО и сразу же распределяют по лункам 384-луночных планшетов по 1,25 мкл/лунка. Для инициирования реакции в каждую лунку прибавляют 25 мкл 10 нМ PI3 киназы и 5 мкг/мл 1-альфа-фосфатидилинозита (PI), а затем 25 мкл 2 мкМ АТФ. Реакцию проводят до израсходования примерно 50% АТФ и затем реакцию останавливают путем прибавления 25 мкл раствора киназы Glo, приобретенной у фирмы Promega. После остановки реакции смесь инкубируют в течение 5 мин и затем содержание оставшегося АТФ определяют с помощью люминесценции.

Биологическая методика 2. Исследования pSer473 Akt для изучения пути PI3K.

В этой методике описано исследование состояния pSer473-Akt, опосредуемого с помощью PI3K, после лечения типичными ингибиторами, предлагаемыми в настоящем изобретении.

Клетки A2780 культивируют в МДСИ (модифицированная по способу Дульбекко среда игла), к которой прибавлены 10% ФБС (фетальная бычья сыворотка), L-глутамин, пируват натрия и антибиотики. Клетки в этой же среде при плотности 15000 клеток/лунка помещают в 96-луночные планшеты для выращивания культур тканей, в которых наружные лунки являются пустыми, и дают им связываться с лунками в течение ночи.

Исследуемые соединения, получаемые в ДМСО, дополнительно разбавляют до 500-кратных необходимых конечных концентраций, а затем разбавляют в культуральной среде до 2-кратных конечных концентраций. Одинаковые объемы 2х соединений прибавляют в лунки 96-луночных планшетов и инкубируют при 37°C в течение 1 ч. Затем среды и соединения удаляют, планшеты охлаждают и клетки подвергают лизису в литическом буфере (150 мМ NaCl, 20 мМ Tris [трис-(гидроксиметиламинометан)] pH 7,5, 1 мМ ЭДТК, 1 мМ ЭГТУ (этиленгликольтетрауксусная кислота), 1% Triton X-100), к которому прибавлены ингибиторы фосфатазы и протеазы. После тщательного перемешивания лизаты помещают в планшеты, предназначенные для определения содержания pSer473Akt и полного содержания Akt, выпускающиеся фирмой Meso Scale Discovery (MSD), и при встряхивании инкубируют в течение ночи при 4°C. Планшеты промывают промывочным буфером 1х MSD и связанные анализируемые вещества регистрируют с помощью вторичных антител. После инкубации со вторичными антителами при комнатной тем-

пературе в течение 1-2 ч планшеты повторно промывают и в лунки прибавляют буфер считывания T (MSD) при концентрациях 1,5×.

Определение проводят с помощью прибора для считывания SECTOR Imager 6000 (Meso Scale Discovery). Отношения сигналов pSer473Akt и полного Akt используют для коррекции нестабильностей и путем сопоставления полных сигналов для клеток, обработанных соединением и только посредством ДМСО, определяют выраженное в процентах ингибирование pSer473Akt и его используют для определения значений EC₅₀ для каждого соединения.

Биологическая методика 3. Исследование фармакологической модуляции мишени и эффективности с использованием модели ксенотрансплантата рака яичников.

Клетки A2780 рака яичников, полученные от фирмы George Coukos (Fox Chase Cancer Center, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA) держат в МДСИ (Invitrogen, Inc.), к которым прибавляют 10% термически активированной фетальной бычьей сыворотки, содержащей 1% глутамина. Клетки размножают по методике, рекомендованной Dr. Coukos с коллегами. Для всех фармакологических исследований *in vivo* используют самок мышей nu/nu (в возрасте 8-12 недель, 20-25 г, Charles River). Мышей содержат и используют в соответствии с руководством штата и федеральным руководством по гуманному использованию и содержанию подопытных животных и им в неограниченном количестве предоставляют корм и воду. Раковые клетки собирают со стадии середины логарифмического роста культур с использованием смеси трипсин-ЭДТК (Invitrogen, Inc.). В правый бок каждой мыши подкожно вводят 5 млн клеток. Лечение соединением начинают, когда объем опухоли достигает 300-400 мм при исследовании PK/PD и 200-300 мм при исследовании эффективности. Все исследуемые соединения вводят перорально. Объемы опухолей определяют с помощью программного обеспечения StudyDirector.

Для исследования *in vivo* изменения модуляции мишени PK/PD во времени опухолевые ткани вырезают у каждой мыши в разные моменты времени, составляющие от 30 мин до 36 ч после перорального введения однократной дозы соединения (60 или 100 мг/кг) или растворителя. При исследовании зависимости от дозы для PK/PD мышам, у которых имеется опухоль, однократно перорально вводят соединение при разных концентрациях (10, 30, 60 и 100 мг/кг или растворитель) и опухоли вырезают через 10 или 24 ч после введения. Пробы крови берут путем пункции сердца с помощью шприца, покрытого сульфатом гепарина. Вырезанные опухоли быстро замораживают твердым диоксидом углерода и измельчают в криогенной ступке, охлаждаемой жидким азотом, а затем подвергают лизису в холодном буфере для экстракции (Biosource), к которому прибавлена таблетка ингибитора протеазы (полный; без ЭДТК, Amersham). После центрифугирования лизатов опухолей при 300×g в течение 10 мин при 4°C собирают надосадочные жидкости и с помощью BCA (BioRad) в каждой надосадочной жидкости определяют концентрацию белка. Одинаковые количества белка, взятые из каждого лизата, вводят в гели 10% трис-глицин (Invitrogen) и подвергают электрофорезу в геле додецилсульфат натрия-полиакриламид (SDS-PAGE) и затем белки переносят из геля на мембрану из поливинилиденфторида. На мембраны наносят антитела, которые распознают phosphoAkt^{Ser473} или phosphoAkt^{Thr308} (Cell Signaling), а затем козий антикроличий IgG конъюгированный с HRP (Amersham). Соответствующие положительной реакции полосы выявляют по усиленной хемилюминесценции с использованием рентгеновской пленки. Аналогичные методики используют при определении полного содержания Akt в тех же лизатах опухолей для применения с целью нормировки при определении полного содержания белка в каждом исследовании. Сканируют плотность полосы, соответствующей положительной реакции, на рентгеновской пленке, модуляцию мишени для каждого соединения представляют в виде выраженного в процентах ингибирования каждым соединением и проводят сопоставление с данными для лечения растворителем. Для описания активности модуляции мишени соединением устанавливают диапазоны ингибирования мишени (<50%, 50-75%, >75% по сравнению с лечением растворителем).

Для исследования эффективности клетки A2780 рака яичников (5×10⁵ в 100 мкл культуральной среды МДСИ) вводят подкожно в правый бок каждой мыши nu/nu. Когда объем опухоли достигает примерно 200 мм, мышам ежедневно или два раза в сутки вводят соединения при трех концентрациях (обычно 10, 30 и 100 мг/кг) в 100 мкл. Рост опухоли и массу тела животного определяют два раза в неделю и ежедневно проводят клинические исследования для выявления возможной токсичности, связанной с лечением. Исследования обычно завершают, когда в группе животных, которых лечат растворителем, опухоль достигает 2500 мм или наблюдаются неблагоприятные клинические проявления. Активация пути передачи сигнала PI3K приводит к фосфорилированию расположенной ниже в пути передачи сигнала молекулы Akt^{Ser473} и/или Thr³⁰⁸. Модуляцию фосфорилирования Akt^{Ser473} соединением в ксеротрансплантатах опухоли A2780 исследуют в разные моменты времени, составляющие от 30 мин до 36 ч после введения одной дозы соединения, равной 60 или 100 мг/кг. В табл. 2 приведены данные по модуляции фосфорилирования Akt^{Ser473} типичными соединениями через 8 или 10 ч. Устанавливают выраженные в процентах диапазоны ингибирования, составляющие <50%, 50-75% и >75% по сравнению с лечением растворителем.

Таблица 2

Модуляция фосфорилирования Akt^{Ser473} типичными пиримидинами, предлагаемыми в настоящем изобретении

Соединение	60 мг/кг	100 мг/кг
91 в течение 8 ч		>50%
183 в течение 8 ч		50-75%
103 в течение 8 ч		<50%
10 в течение 10 ч	>75%	>75%
84 в течение 10 ч	50-75%	
76 в течение 10 ч	>75%	>75%
66 в течение 10 ч	<50%	

Эффективность соединения 91 исследуют с использованием модели ксенотрансплантата опухоли A2780. Мышам, у которых имеются опухоли A2780, два раза в сутки перорально вводят соединение 91 по 10 и 60 мг/кг. Подавление роста опухолей (50%) наблюдается при лечении с использованием дозы, равной 60 мг/кг, а при использовании дозы, равной 10 мг/кг, подавление роста не наблюдается (фиг. 1).

Умеренное подавление роста опухолей соединением 91 при дозе, равной 60 мг/кг, при ежедневном введении обусловлено его кратковременным модулирующим воздействием на мишень (составляющее 50% ингибирование продолжается в течение 8 ч). Поэтому на модели A2780 исследована противоопухолевая эффективность других соединений (соединение 10, соединение 76 и соединение 66), которые обнаруживают более длительное ингибирование Akt^{Ser473} (составляющее >50% ингибирование в течение >10 ч) в опухолях A2780. Соединения вводят перорально ежедневно, когда объем опухоли достигает примерно 200 мм. Соединение 10 обнаруживает зависящее от дозы подавление роста опухолей: 40% при 30 мг/кг, 70% при 60 мг/кг и остановку роста опухолей при 100 мг/кг (фиг. 2). Аналогичное зависящее от дозы подавление роста опухолей для модели опухоли A2780 обнаруживается при лечении соединением 76 в дозе, равной 30 и 60 мг/кг (фиг. 3), и обнаружено, что соединение 84 обладает меньшей противоопухолевой активностью (<50% TGI при 60 мг/кг) (фиг. 4).

Противоопухолевая активность соединения 10 также исследована в режиме более частого введения (два раза в сутки). Как показано на фиг. 5, соединение 10 проявляет значительную противоопухолевую активность при проводимом два раза в сутки введении дозы, равной 30 мг/кг. Примечательно, что подавление роста опухолей при проводимом два раза в сутки введении дозы, равной 30 мг/кг, является более значительным, чем при одноразовом введении эквивалентной суточной дозы (60 мг/кг, фиг. 2). В этом исследовании соединения хорошо переносятся. Этот результат показывает, что пролонгированное, но менее сильное ингибирование мишени (охватывающее весь период введения, но при ингибировании мишени, составляющем <75%) в опухолях A2780 соединением 10 может обеспечить значительную противоопухолевую эффективность.

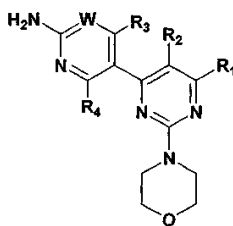
Хотя описан и проиллюстрирован предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения, следует понимать, что без отклонения от сущности и объема настоящего изобретения в него можно внести различные изменения.

Биологическая методика 4. Исследования пролиферации клеток A2780.

Способность соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, подавлять пролиферацию клеток определяют с помощью реагента Cell Titer Glo, продающегося фирмой Promega Corporation. Клетки A2780 рака яичников высевают в обработанные тетрациклином 96-луночные планшеты при плотности 1000 клеток/луночка в среде МДСИ, к которой прибавлены 10% ФБС, 1% пируват натрия и 1% смеси пенициллина со стрептомицином, не менее чем за 2 ч до прибавления соединения. Для каждой концентрации исследуемого соединения аликвоты по 2 мкл (500×) соединения или 100% ДМСО разводят в 500 мкл культуральной среды до концентрации 2× и затем разводят до концентрации 1× вместе с клетками. Клетки инкубируют в течение 72 ч при 37°C, 5% CO₂. После инкубации в течение 72 ч прибавляют реагент Cell Titer Glo, определяют количество жизнеспособных клеток, оставшихся после воздействия соединения, и рассчитывают значение EC₅₀. Исследование проводят в соответствии с инструкциями изготовителя (Promega Corporation, Madison, WI, USA). Для каждого экспериментального условия исследования проводят дважды. Результаты приведены в табл. 1.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I



I

или его стереоизомер, таутомер или фармацевтически приемлемая соль, в которой W выбран из CH и N;

R₁ выбран из группы, включающей:

(1) замещенный и незамещенный гетероцикл, представляющий собой 3- или 4-членное кольцо, содержащее гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы, или 5- или 6-членное кольцо, содержащее от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода или серы, где любое из указанных гетероциклических колец может быть сконденсировано с бензольным кольцом;

(2) -NR_{1a}H, где R_{1a} представляет собой замещенный и незамещенный гетероцикл, представляющий собой 3- или 4-членное кольцо, содержащее гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы, или 5- или 6-членное кольцо, содержащее от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода или серы, где любое из указанных гетероциклических колец может быть сконденсировано с бензольным кольцом;

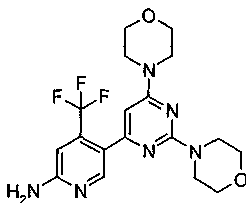
R₂ представляет собой H;

R₃ выбран из H и CF₃;

R₄ представляет собой H;

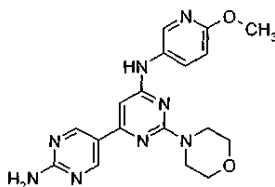
где "замещенный" означает замещение водорода одним или несколькими одновалентными или двухвалентными радикалами, выбранными из гидроксигруппы, нитрогруппы, аминогруппы, иминогруппы, цианогруппы, галогена, тиогруппы, сульфонил, тиаминой группы, амидиновой группы, имидиновой группы, оксогруппы, оксамидиновой группы, метоксамидиновой группы, гуанидиновой группы, сульфонамидной группы, карбоксигруппы, формила, C₁₋₆алкила, замещенного C₁₋₆алкила, галоген-C₁₋₆алкила, C₁₋₆алкиламиногруппы, галоген-C₁₋₆алкиламиногруппы, C₁₋₆алкоксигруппы, галоген-C₁₋₆алкоксигруппы, C₁₋₆алкокси-C₁₋₆алкила, C₁₋₆алкилкарбонила, аминокарбонила, фенилкарбонила, фенил-C₁₋₆алкилкарбонила, C₁₋₆алкилтиогруппы, C₁₋₆аминоалкила, C₁₋₆цианоалкила, фенила, бензила, пиридила, пирролила, пиррола, тиофена, имидазолила, где заместители замещенного алкила выбраны из -CH₃, -C₂H₅, -CH₂OH, -OH, -OCH₃, -OC₂H₅, -OCF₃, -OC(=O)CH₃, -OC(=O)NH₂, -OC(=O)N(CH₃)₂, -CN, -NO₂, -C(=O)CH₃, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CONH₂, -NH₂, -N(CH₃)₂, -NHSO₂CH₃, -NHCOCH₃, -NHC(=O)OCH₃, -NHSO₂CH₃, -SO₂CH₃, -SO₂NH₂, галогена.

2. Соединение по п.1 структуры



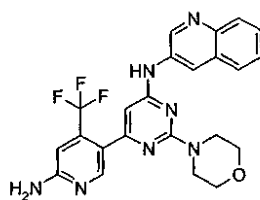
или его фармацевтически приемлемая соль.

3. Соединение по п.1 структуры



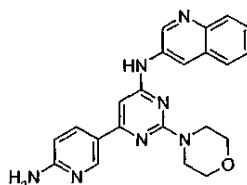
или его фармацевтически приемлемая соль.

4. Соединение по п.1 структуры



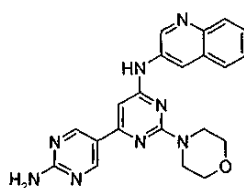
или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Соединение по п.1 структуры



или его фармацевтически приемлемая соль.

6. Соединение по п.1 структуры



или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Способ ингибирования фосфорилирования Akt у человека или животного, включающий введение человеку или животному соединения по любому из пп.1-6 в эффективном количестве.

8. Фармацевтическая композиция, включающая фармацевтически приемлемый носитель и соединение по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемую соль в эффективном количестве.

9. Фармацевтическая композиция, включающая фармацевтически приемлемый носитель и соединение по любому из пп.1-6 в количестве, эффективном для ингибирования активности PI3-K при введении человеку или животному.

10. Фармацевтическая композиция по п.9, эффективная для ингибирования активности PI3-K-α при введении человеку или животному.

11. Фармацевтическая композиция по п.9, дополнительно включающая по меньшей мере одно дополнительное средство для лечения рака.

12. Фармацевтическая композиция по п.11, в которой по меньшей мере одним дополнительным средством для лечения рака является ваталаниб, иматиниб, гефитиниб, эрлотиниб, пертузумаб, трастузумаб, капецитабин, иринотекан, паклитаксел, цисплатин, карбоплатин, фульвестрант, дексаметазон, бевацизумаб и доцетаксел.

13. Способ лечения патологического состояния путем ингибирования активности PI3-K, включающий введение человеку или животному, нуждающемуся в таком лечении, соединения по любому из пп.1-6 в эффективном количестве.

14. Способ по п.13, в котором соединение обладает значением IC_{50} , характеризующим ингибирование PI3-K, равным менее 1 мкМ.

15. Способ по п.13, в котором патологическим состоянием является рак.

16. Способ ингибирования активности PI3-K у человека или животного, включающий введение человеку или животному фармацевтической композиции, включающей соединение по любому из пп.1-6 в количестве, эффективном для ингибирования активности PI3-K у человека или животного.

17. Способ лечения ракового заболевания у человека или животного, включающий введение человеку или животному фармацевтической композиции, включающей соединение по любому из пп.1-6 в количестве, эффективном для ингибирования активности PI3-K у человека или животного.

18. Способ по п.17, дополнительно включающий введение человеку или животному по меньшей мере одного дополнительного средства для лечения рака.

19. Способ по п.18, в котором по меньшей мере одним дополнительным средством для лечения рака является ваталаниб, иматиниб, гефитиниб, эрлотиниб, пертузумаб, трастузумаб, капецитабин, иринотекан, паклитаксел, цисплатин, карбоплатин, фульвестрант, дексаметазон, бевацизумаб и доцетаксел.

20. Способ по п.17, в котором раком является рак молочной железы, рак мочевого пузыря, колоректальный рак, глиома, глиобластома, рак легких, гепатоцеллюлярный рак, рак желудка, меланома, рак щитовидной железы, рак эндометрия, рак почек, рак шейки матки, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак предстательной железы, рак головного мозга или рак яичников.

21. Способ ингибирования фосфорилирования Akt, включающий взаимодействие соединения по

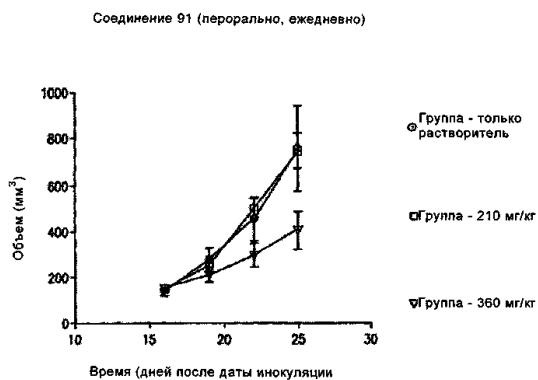
любому из пп.1-6 с клеткой.

22. Способ по п.21, в котором соединение обладает значением EC_{50} , характеризующим ингибирование pAkt, равным менее примерно 1 мкМ.

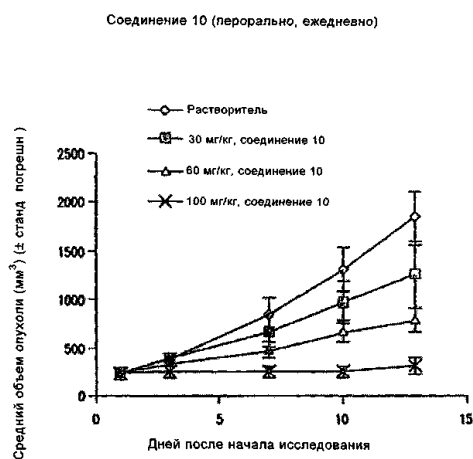
23. Применение соединения по любому из пп.1-6 для лечения рака.

24. Применение соединения по любому из пп.1-6 для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения рака.

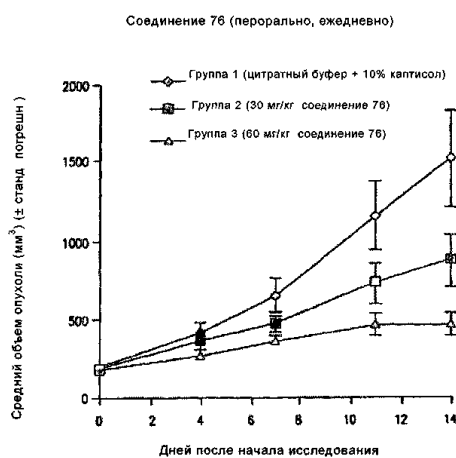
25. Применение соединения по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемой соли в качестве фармацевтического средства.



Фиг. 1

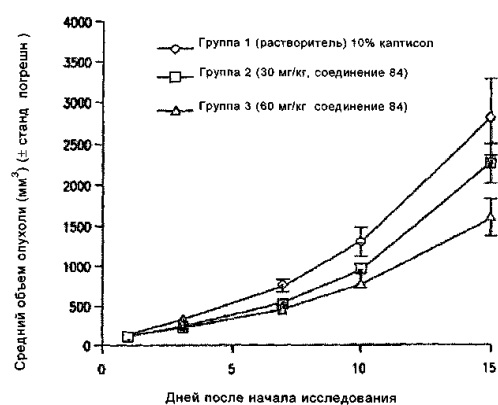


Фиг. 2



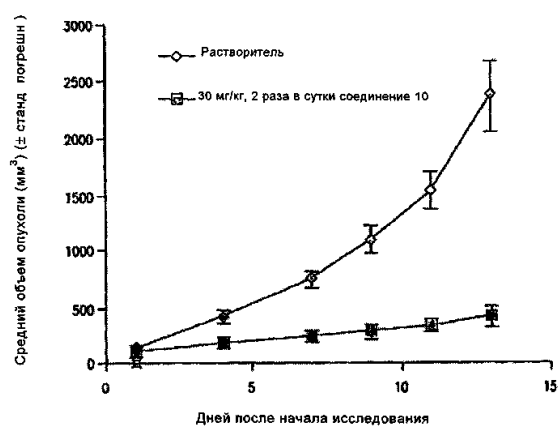
Фиг. 3

Соединение 84 (перорально, ежедневно)



Фиг. 4

Соединение 10 (перорально, 2 раза в сутки)



Фиг. 5

