



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **103092** (13) **C2**
(51) МПК (2013.01)

C07D 215/22 (2006.01)
C07D 215/233 (2006.01)
C07D 239/88 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/438 (2006.01)
A61K 31/444 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61P 3/00
A61P 9/00
A61P 11/00
A61P 25/00
A61P 29/00
A61P 35/00
A61P 37/08 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2011 15118**
(22) Дата подання заявки: **05.03.2010**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **10.09.2013**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **200910143978.2**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **04.06.2009**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **CN**
(41) Публікація відомостей про заявку: **26.03.2012, Бюл.№ 6**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.09.2013, Бюл.№ 17**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/CN2010/000272, 05.03.2010**

(72) Винахідник(и):
Лу Сяньпін (CN),
Лі Чжибінь (CN),
Шань Сун (CN),
Юй Цзиньді (CN),
Нін Чжицян (CN)
(73) Власник(и):
ШЕНЬЧЖЕНЬ ЧІПСКРІН БАЙОСАЙЄНСІЗ,
ЛТД.,
2-601-606, BIO-Incubator, Gaoxin C, 1St Ave.,
Hi-Tech Industrial Park, Nanshan District,
Shenzhen, Guangdong 518057, China (CN)
(74) Представник:
Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр.
№115
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
CN 1933839 A (AMGEN INC), 21.03.2007
WO 2005/021553 A1 (PFIZER INC. et al.), 10.03.2005
HARMANGE, JEAN-CHRISTOPHE ET AL.: 'Naphthamides as novel and potent vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: design, synthesis, and evaluation.' J. MED. CHEM. vol. 51, 2008, pages 1649 - 1667
DU, JUAN ET AL.: 'Molecular modeling studies of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors using QSAR and docking.' JOURNAL OF MOLECULAR GRAPHICS AND MODELLING vol. 27, 05 November 2008, pages 642 - 654

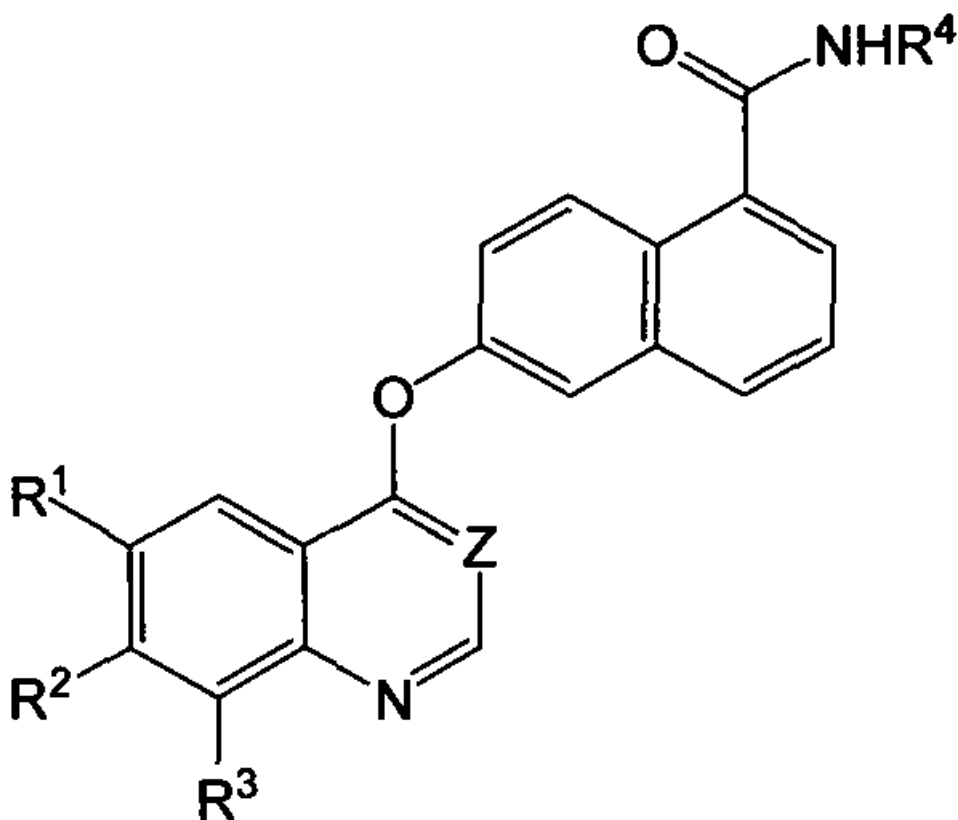
UA 103092 C2

(54) ПОХІДНІ НАФТАЛІНКАРБОКСАМІДУ ЯК ІНГІБІТОРИ ПРОТЕЇНКІНАЗИ І ГІСТОНДЕАЦЕТИЛАЗИ, СПОСІБ ЇХ ОТРИМАННЯ І ЗАСТОСУВАННЯ**(57) Реферат:**

Даний винахід стосується похідних нафталінкарбоксаміду, способів їх отримання і їх застосування.

Їх структура показана у вигляді формули (I), де визначення груп R^1 , R^2 , R^3 , R^4 і Z аналогічні тим, які розкриті в описі.

Сполуки одночасно мають активність інгібування протеїнкінази і активність інгібування гістондеацетилази і можуть застосовуватися для лікування захворювань, пов'язаних з аномальною активністю протеїнкінази або з аномальною активністю гістондеацетилази, що включають запальні захворювання, аутоімунні захворювання, онкологічні захворювання, захворювання нервової системи і нейродегенеративні захворювання, серцево-судинні захворювання, метаболічні захворювання, алергії, астму або захворювання, пов'язані з гормональними розладами.



(I)

Галузь, якої стосується винахід

Даний винахід стосується похідних нафталінкарбоксаміду (нафтаміду), які мають активність інгібування протеїнкіназ і інгібування гістондеацетилаз, способів їх отримання і їх клінічного застосування при лікуванні захворювань, пов'язаних з порушенням активності протеїнкінази і порушенням активності гістондеацетилази.

Попередній рівень техніки

Протеїнкінази являють собою сімейство ферментів, які каталізують фосфорилування білків, зокрема, гідроксигрупи певних залишків тирозину, серину і треоніну в білках. Протеїнкінази відіграють ключову роль в регуляції широкої різноманітності клітинних процесів, включаючи метаболізм, клітинну проліферацію, клітинну диференціацію, виживання клітин, реакцію організму хазяя на фактори навколишнього середовища, імунну відповідь і ангиогенез. Багато які захворювання пов'язані з патологічними клітинними реакціями, що запускаються регуляцією протеїнкінази. Ці захворювання включають запальні захворювання, аутоімунні захворювання, онкологічні захворювання, захворювання нервової системи і нейродегенеративні захворювання, серцево-судинні захворювання, метаболічні захворювання, алергії, астма і захворювання, пов'язані з гормональними порушеннями (Tan, S.-L., 2006, J. Immunol., 176: 2872-2879; Healy, A. et al., 2006, J. Immunol., 177: 1886-1893; Salek-Ardakani, S. et al., 2005, J. Immunol., 175: 7635-7641; Kim, J. et al., 2004, J. Clin. Invest., 114: 823-827). Тому робилися значні зусилля для ідентифікації інгібіторів протеїнкінази, які ефективні як терапевтичні засоби проти вказаних захворювань.

Протеїнкінази можуть звичайно розподілятися на два класи, протеїнтирозинкінази (PTK) і серин-треонінкінази (STK).

Протеїнтирозинкінази (PTK) можуть розподілятися на два класи: нетрансмембранні тирозинкінази і трансмембранні рецептори факторів росту, які мають тирозинкіназну активність (RTK). У цей час були ідентифіковані щонайменше 19 виразних підродин RTK, такі як рецептор епідермального фактора росту (EGFR), рецептор судинного ендотеліального фактора росту (VEGFR), рецептор тромбоцитарного фактора росту (PDGFR) і рецептор фактора росту фібробластів (FGFR).

Сімейство рецептора епідермального фактора росту (EGFR) включає чотири трансмембранних рецепторів факторів росту, які мають тирозинкіназну активність: HER1, HER2, HER3 і HER4. Зв'язування специфічного набору лігандів рецептора сприяє димеризації EGFR і приводить до аутофосфорилування рецепторів на залишках тирозину (Arteaga, C.-L., 2001, Curr. Opin. Oncol., 6: 491-498). Після аутофосфорилування рецептора, стають активованими декілька шляхів передачі сигналів EGFR, що знаходяться нижче по ходу транскрипції. Шляхи передачі сигналів EGFR зв'язували з неопластичними процесами, включаючи розвиток клітинного циклу, інгібування апоптозу, рухливість, інвазію і метастазування пухлинних клітин. Активація EGFR також стимулює судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), який являє собою первинний індуктор ангиогенезу (Petit, A.-M. et al., 1997, Am. J. Pathol., 151: 1523-1530). В експериментальних моделях, розрегуляція опосередкованих EGFR шляхів передачі сигналів пов'язана з онкогенезом (Wikstrand, C.-J. et al., 1998, J Natl Cancer Inst., 90: 799-800). Мутації, які ведуть до безперервної активації ампліфікації і надмірної експресії протеїнів EGFR, спостерігаються при багатьох пухлинах людини, включаючи пухлини молочних залоз, легень, яєчників і нирок. Дані мутації є такими, що визначають агресивність пухлин (Wikstrand, C.-J. et al., 1998, J Natl Cancer Inst., 90: 799-800). Надмірна експресія EGFR часто спостерігається при недрібноклітинному раку легень (NSCLC). Активність EGFR може інгібуватися або блокуватися позаклітинного домену зв'язування ліганду з використанням анти-EGFR антитіл, або шляхом використання дрібних молекул, які інгібують тирозинкіназу EGFR, таким чином приводячи до інгібування компонентів шляху EGFR, які знаходяться нижче по ходу транскрипції (Mendelsohn, J., 1997, Clin. Can. Res., 3: 2707-2707).

Судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF) секретується майже всіма солідними пухлинами і пов'язаної з пухлиною строю у відповідь на гіпоксію. Він високо специфічний для судинного ендотелію і регулює і проліферацію, і проникність судин. Надмірна експресія рівнів VEGF корелюється із збільшеною мікросудинною щільністю, рецидивом онкологічних захворювань і зменшеним виживанням (Parikh, A.-A., 2004; Hematol. Oncol. Clin. N. Am., 18:951-971). Існують 6 різних лігандів рецептора VEGF, з VEGF-A по -E і плацентарний фактор росту. Ліганди зв'язуються зі специфічними рецепторами на ендотеліальних клітинах, головним чином, VEGFR-2. Зв'язування VEGF-A з VEGFR-1 викликає міграцію ендотеліальних клітин. Зв'язування з VEGFR-2 викликає проліферацію, проникність і виживання ендотеліальних клітин. Вважається, що VEGFR-3 опосередковує лімфангіогенез. Зв'язування VEGF з рецепторами VEGFR-2 приводить до активації і аутофосфорилування внутрішньоклітинних доменів

тирозинкінази, які далі запускають інші внутрішньоклітинні каскади процесів передачі сигналів (Parikh, A-A., 2004, *Hematol. Oncol. Clin. N. Am.*, 18:951-971).

Серин-треонінкінази (STK) є переважно внутрішньоклітинними, хоч існує декілька рецепторних кіназ типу STK. STK являють собою найпоширеніші форми цитозольних кіназ, які виконують свою функцію в частині цитоплазми, відмінній від цитоплазматичних органел і цитоскелету.

Глікоген синтаза-кіназа-3 (GSK-3) являє собою серин-треонінпротеїнкіназу, яка складається з α - і β -ізоформ, кожна з яких кодується певними генами. Було виявлено, що GSK-3 фосфорилує і модулює активність ряду регуляторних білків. GSK-3 зв'язували з розвитком різних захворювань, включаючи цукровий діабет, хворобу Альцгеймера, розлади ЦНС, такий як маніакально-депресивний розлад і нейродегенеративні захворювання, і гіпертрофію кардіоміоцитів (Haq, et al., 2000, *J. Cell Biol.*, 151: 117).

Aurora-2 являє собою серин-треонінпротеїнкіназу, яку зв'язували з онкологічними захворюваннями у людей, такими як рак ободової кишки, рак молочної залози і інші солідні пухлини. Вважають, що дана кіназа бере участь в фосфорилуванні білків, які регулюють клітинний цикл. Зокрема, Aurora-2 може відігравати роль в регуляції точної сегрегації хромосом під час мітозу.

Порушення регуляції клітинного циклу може привести до клітинної проліферації і інших патологічних процесів. Було виявлено, що в тканини раку ободової кишки людини, білок Aurora-2 надмірно експресований (Schumacher, et al., 1998, *J. Cell Biol.*, 143: 1635-1646; Kimura et al., 1997, *J. Biol. Chem.*, 272: 13766-13771).

Цикліназалежні кінази (CDK) являють собою серин-треонінпротеїнкіназу, яка регулює розподіл клітин ссавців. До даного часу були ідентифіковані 9 субодиниць кіназ (CDK 1-9). Кожна кіназа асоціюється з певним регуляторним партнером і разом становить активну каталітичну частину. Неконтрольована проліферація являє собою відмітну ознаку злоякісних клітин, і порушення регуляції функції CDK відбувається з високою частотою при багатьох важливих солідних пухлинах. CDK2 і CDK4 представляють особливий інтерес, тому що їх активність часто порушується при широкій різноманітності онкологічних захворювань людей.

Raf-кіназа, що знаходиться нижче по ходу транскрипції ефектор онкопротеїну *ras*, являє собою ключовий медіатор шляхів трансдукції сигналів від клітинної поверхні до ядра клітини. Інгібування *raf*-кінази корелювалось *in vitro* і *in vivo* з інгібуванням зростання різноманітних типів пухлин людини (Monia et al., 1996, *Nat. Med.*, 2: 668-675).

Інші серин-треонінкінази включають протеїнкінази A, B і C. Указані кінази, відомі як PKA, PKB і PKC, відіграють ключові ролі в шляхах трансдукції сигналів.

Робилася велика кількість спроб ідентифікації невеликих молекул, які діють як інгібітори протеїнкіназ, які можна застосовувати при лікуванні захворювань, пов'язаних з аномальною активністю протеїнкіназ. Наприклад, циклічні сполуки (патент США № 7151096), біциклічні сполуки (патент США № 7189721), трициклічні сполуки (патент США № 7132533), (2-оксиндол-3-метиліден), похідні оцтової кислоти (патент США № 7214700), похідні 3-(4-амідопірол-2-ілметиліден)-2-індолінону (патент США № 7179910), конденсовані похідні піразолу (патент США № 7166597), сполуки амінофуразану (патент США № 7157476), пірол-заміщені 2-індолінонові сполуки (патент США № 7125905), триазольні сполуки (патент США № 7115739), піразоліламінзаміщені хіназолінові сполуки (патент США № 7098330) і індазолні сполуки (патент США № 7041687) - всі були описані як інгібітори протеїнкінази. Декілька інгібіторів протеїнкінази, таких як глівек, сутен і сорафеніб, були успішно затверджені FDA (Адміністрацією харчових продуктів і лікарських засобів США) для протиракової терапії. Їх клінічне застосування продемонструвало явні переваги перед існуючими видами хіміотерапевтичного лікування, стимулюючи інтереси до інновації, які зберігаються, основаних на механізмах способів лікування і удосконалення хімічних каркасів для виявлення нових сполук з чудовою пероральною біодоступністю, кращою протипухлинною активністю і більш низькою токсичністю.

Короткий виклад суті винаходу

Однією метою даного винаходу є отримання певних похідних нафтаміду, які здатні селективно інгібувати протеїнкінази і гістондеацетилази. Іншою метою даного винаходу є розробка способів отримання вказаних сполук.

Іншою метою даного винаходу є забезпечення клінічного застосування вказаних сполук при лікуванні захворювань, пов'язаних з аномальною активністю протеїнкіназ і аномальною активністю гістондеацетилаз.

Короткий опис креслень

Фіг. 1 графічно ілюструє протипухлинну активність сполуки 31 у голої миші з трансплантованою пухлиною раку легень людини A549, де Vehicle представляє носій, Sutent представляє існуючий лікарський засіб сунітиніб і comp 31 представляє сполуку 31.

5 Фіг. 2 графічно ілюструє протипухлинну активність сполуки 31 у голої миші з трансплантованою пухлиною раку ободової кишки людини HCT-8, де Vehicle представляє носій, Sutent представляє існуючий лікарський засіб сунітиніб і comp 31 представляє сполуку 31.

10 Фіг. 3 графічно ілюструє протипухлинну активність сполуки 31 у голої миші з трансплантованою пухлиною раку печінки людини SSMC7721, де Vehicle представляє носій, Sutent представляє існуючий лікарський засіб сунітиніб і comp 31 представляє сполуку 31.

Фіг. 4 графічно ілюструє протипухлинну активність сполуки 33 і сполуки 34 у голої миші з трансплантованою пухлиною раку ободової кишки людини HCT-8, де Vehicle представляє носій, Sutent представляє існуючий лікарський засіб сунітиніб, comp 33 представляє сполуку 33, і com 34 представляє сполуку 34.

15 Фіг. 5 графічно ілюструє протипухлинну активність сполуки 33 і сполуки 37 у голої миші з трансплантованою пухлиною раку ободової кишки людини HCT-8, де Vehicle представляє носій, Sutent представляє існуючий лікарський засіб сунітиніб, comp 33 представляє сполуку 33, і com 37 представляє сполуку 37.

20 Фіг. 6 графічно ілюструє протипухлинну активність сполуки 33 і сполуки 37 у голої миші з трансплантованою пухлиною раку печінки людини SSMC7721, де Vehicle представляє носій, Sutent представляє існуючий лікарський засіб сунітиніб, comp 33 представляє сполуку 33, і com 37 представляє сполуку 37.

Детальний опис винаходу

25 Білки гістондеацетилази (HDAC) відіграють ключову роль в регуляції генної експресії *in vivo* шляхом зміни доступності транскрипційних факторів для геномної ДНК. Зокрема, білки HDAC видаляють ацетильну групу залишків ацетиллізину на гістонах, що може привести до нуклеосомального ремоделювання (Grunstein, M., 1997, *Nature*, 389: 349-352). Білки HDAC, в зв'язку з їх керівною роллю в генній експресії, пов'язані з різноманітними клітинними явищами, включаючи регуляцію клітинного циклу, клітинну проліферацію, диференціацію, перепрограмування генної експресії і розвиток онкологічних захворювань (Ruijter, A-J-M., 2003, *Biochem. J.*, 370: 737-749; Grignani, F., 1998, *Nature*, 391: 815-818; Lin, R-J., 1998, 391: 811-814; Marks, P-A., 2001, *Nature Reviews Cancer*, 1: 194). Патологічне деацетилювання, викликане порушенням регуляції деацетилювання гістонів, зв'язували з різними захворюваннями, такими як синдром Рубінштейна-Тейбі, синдром крихкої Х-хромосоми, нейродегенеративні захворювання, серцево-судинні і метаболічні захворювання, ревматоїдне захворювання, лейкоз і інші види онкологічних захворювань (Langley B et al., 2005, *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders*, 4: 41-50). В експериментах було продемонстровано, що у людей і тварин інгібітори HDAC зменшують зростання пухлин, включаючи рак легень, рак шлунка, рак молочної залози, рак передміхурової залози, лімфому і подібне (Dokmanovic, M., 2005, *J. Cell Biochem.*, 96: 293-304).

40 HDAC ссавців можна розділити на три класи відповідно до гомології послідовності. Клас I складається з білків, подібних до дріжджової Rpd3 (HDAC 1, 2, 3, 8 і 11). Клас II складається з білків, подібних до дріжджової HDA1 (HDAC 4, 5, 6, 7, 9 і 10). Клас III складається з білків, подібних до дріжджової SIR2 (SIRT 1, 2, 3, 4, 5, 6 і 7).

45 Активність HDAC1 пов'язана з клітинною проліферацією, характерною ознакою онкологічного захворювання. Зокрема, клітини ссавців з нокдауном експресії HDAC1 з використанням siPHK (малої інтерферуючої PHK) мали антипроліферативну дію (Glaser, K-B., 2003, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 310: 529-536). Хоч у миші з нокдауном HDAC1 була ембріональна летальна мутація, отримані стовбурові клітини виявляли змінене клітинне зростання (Lagge, G., 2002, *EMBO J.*, 21: 2672-2681). Мишачі клітини, які надмірно експресують HDAC1, продемонстрували подовження фаз G₂ і M і знижену швидкість зростання (Bartl, S., 1997, *Mol. Cell Biol.*, 17: 5033-5043). Тому опубліковані дані мають на увазі участь HDAC1 в регуляції клітинного циклу і проліферації клітин.

55 HDAC2 регулює експресію багатьох плідних міокардіальних білкових ізоформ. Недостатність HDAC2 або хімічне інгібування гістондеацетилази можуть запобігти повторній експресії фетальних генів і послаблюють серцеву гіпертрофію. Стійкість до гіпертрофії пов'язана зі збільшеною експресією гена, що кодує інозитол поліфосфат-5-фосфатазу f (Inpp5f), приводячи до активації глікоген синтази кінази 3β (Gsk3β) за допомогою інактивації прото-онкогену тимоми (Akt) і 3-фосфоінозитидзалежної протеїнкінази-1 (Pdk1). Навпаки, у HDAC2 трансгенних мишей була посилена гіпертрофія, пов'язана з інактивованою Gsk3β. Хімічне інгібування активованої

Gsk3 β дозволило дорослим з недостатністю HDAC2 стати чутливою до гіпертрофічної стимуляції. Дані результати свідчать про те, що HDAC2 являє собою важливу молекулярну мішень інгібіторів HDAC в серце і що і HDAC2, і Gsk3 β являють собою компоненти регуляторного шляху, забезпечуючи привабливу терапевтичну мішень для лікування серцевої гіпертрофії і серцевої недостатності (Trivedi, C-M., 2007, *Nat. Med.*, 13: 324-331).

HDAC3 максимально експресовані в проліферуючих клітинах крипт в здоровому кишечнику. Сайленсинг експресії HDAC3 в лініях клітин раку ободової кишки приводив до інгібування зростання клітин, зменшення виживання клітин і збільшеного апоптозу. Подібні результати спостерігалися для HDAC2 і, в меншій мірі, для HDAC1. Сайленсинг гена HDAC3 також селективно викликав експресію лужної фосфатази, маркера дозрівання клітин ободової кишки. Надекспресія HDAC3 інгібувала базальну і викликану бутиратом транскрипцію p21, тоді як сайленсинг HDAC3 стимулював промоторну активність і експресію p21. Вказані дані ідентифікують HDAC3 як ген, регуляція якого порушується при раку ободової кишки людини і як новий регулятор дозрівання клітин ободової кишки і експресії p21 (Wilson, A-J., 2006, *J. Biol. Chem.*, 281: 13548-13558).

HDAC6 являє собою підтип сімейства HDAC, який деацетилює альфа-тубулін і збільшує рухливість клітин. З використанням кількісної полімеразної ланцюгової реакції із зворотною транскрипцією і вестерном-блотингу на дев'яти лініях клітин, отриманих з плоскоклітинної карциноми ротової порожнини (OSCC) і нормальних кератиноцитів ротової порожнини (NOK), мРНК HDAC6 і експресія білків звичайно стимулювалися у всіх клітинних лініях, в порівнянні з NOK. Аналіз імунофлюоресценції виявив білок HDAC6 в цитоплазмі ліній клітин OSCC. Подібно до ліній клітин OSCC, стимуляція HDAC6 була очевидна по рівню і мРНК (74 %), і білка (51 %) первинних пухлин OSCC людини. Серед аналізованих клінічних змінних величин було виявлено, що клінічна стадія пухлини пов'язана зі станами експресії HDAC6. Аналіз указав на значну відмінність рівня експресії HDAC6 між пухлинами на ранній стадії (стадії I і II) і на пізніх стадіях (стадії III і IV) ($P=0,014$). Дані результати свідчать про те, що експресія HDAC6 може корелювати з агресивністю пухлини і надають ключі для планування нових видів лікування (Sakuma, T., 2006, *Int. J. Oncol.*, 29: 117-124).

Епігенетичний сайленсинг функціональних хромосом HDAC являє собою один з основних механізмів, що відбуваються при багатьох патологічних процесах, при яких пов'язані з функцією гени репресуються або перепрограмовуються активністю HDAC, що веде до втрати фенотипів при регуляції кінцевої диференціації, дозрівання і зростання і до втрати функціональної активності тканин. Наприклад, гени-супресори пухлин часто піддаються сайленсингу під час розвитку онкологічних захворювань, і інгібітор HDAC може придушувати експресію цих генів-супресорів пухлин, приводячи до інгібування зростання і диференціації клітин (Glaros S et al., 2007, *Oncogene* June 4, друкується; Mai, A, et al., 2007, *Int J. Biochem Cell Bio.*, April 4, друкується; Vincent A. et al., 2007, *Oncogene*, April 30, друкується; неопубліковані дані заявників). Репресія структурних генів, таких як FXN при атаксії Фрідріха і SMN при спинномозковій м'язовій атрофії, може усуватися інгібіторами HDAC, що приводить до реекспресії генів FXN і SMN і поновленню їх функцій в тканинах (Herman D et al., 2006, *Nature Chemical Biology*, 2(10): 551-8; Avila AM et al., 2007, *J Clin Invest*, 117(3): 659-71; de Bore J, 2006, *Tissue Eng.* 12(10): 2927-37). Індукція експресії всього сімейства генів MHC II за допомогою перепрограмування "гарячої плями" HDAC в хромосомі 6p21-22 інгібітором HDAC додатково розширює епігенетичну модуляцію імунного розпізнавання і імунної відповіді (Gialitakis M et al., 2007, *Nucleic Acids Res.*, 34(1);765-72).

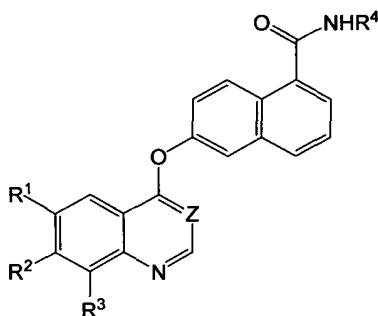
Були ідентифіковані декілька класів інгібіторів HDAC, включаючи (1) коротколанцюжкові жирні кислоти, наприклад, бутират і фенілбутират; (2) органічні гідроксамові кислоти, наприклад, субероіланілідгідроксамову кислоту (SAHA) і трихостатин А (TSA); (3) циклічні тетрапептиди, що містять частину у вигляді 2-аміно-8-оксо-9,10-експоксидеканоїлу (AOE), наприклад, трапоксин і HC-токсин; (4) циклічні тетрапептиди без частини у вигляді AOE, наприклад, апіцидин і FK228; і (5) бензаміди, наприклад, MS-275 (EP0847992A1, US2002/0103192A1, WO02/26696A1, WO01/70675A2, WO01/18171A2). Хоч HDAC успадкував дуже перспективні біологічні ролі як лікарська мішень, успіх препарату SAHA, що випускається компанією Merck, в цей час обмежується лише лікуванням шкірної Т-клітинної лімфоми, в той час як не було повідомлень про високу ефективність даного лікування при основних солідних пухлинах. Тому ще є потреба у виявленні нових сполук з більш високою інгібуючою активністю відносно HDAC і активністю проти онкологічних захворювань, з більш селективним інгібуванням різних підтипів HDAC і більш низькою токсичністю.

Улюбленою метафорою розробників лікарських засобів проти онкологічних захворювань протягом тривалого часу була прицільна терапія. Була надія на створення лікарського засобу,

який може вражати пухлинні клітини як одну специфічну мішень, знищувати пухлинні клітини, в той же час нормальні клітини залишаючи непошкодженими. Однак злоякісні клітини можуть використовувати множинні біологічні пускові механізми і шляхи для зростання і поширення по всьому організму. Ураження їх у вигляді однієї мішені також викличе їх перегрупування і перерозподіл по нових шляхах зростання. Усвідомлення цього привело до розробки способів комбінованої прицільної терапії, які стають новою парадигмою для лікування онкологічних захворювань. У цей час розробляються декілька інгібіторів кінрази, що мають множинну мішень, і два з них сорафеніб і сутен, вже затверджені в США. Наприклад, сорафеніб, розроблений компанією Bayer Pharmaceuticals, являє собою перший лікарський препарат, націлений і на шлях RAF/MEK/ERK (що бере участь в клітинній проліферації) і каскаді передачі сигналів VEGFR2/PDGFR β (що бере участь в ангіогенезі). Цей лікарський препарат був уперше затверджений в грудні 2005 р. з приводу запущеного раку нирок. Однак дані прицільні терапії, хоч і є ефективними проти деяких солідних пухлин, але далекі від задоволення з точки зору досягнення кращої ефективності при збереженні прийнятних побічних ефектів, пов'язаних зі способами лікування проти інших солідних пухлин.

Даний винахід стосується нових хімічних сполук, які комбінують антиангіогенну і антипроліферативну активність інгібіторів RTK разом з індукуючою диференціацію, імуномодуючою, зупиняючою клітинний цикл і індукуючою апоптоз активністю інгібіторів HDAC, для досягнення кращої ефективності проти солідних пухлин, одночасно долаючи побічні ефекти, такі як гіпертензія, подовження інтервалу QT на ЕКГ, регресія щитовидної залози, висип і зміна кольору шкіри і болі, пов'язані з інгібіторами RTK, які є в цей час на ринку.

Зокрема, даний винахід стосується сполуки, яка має структуру, представлену формулою (I):



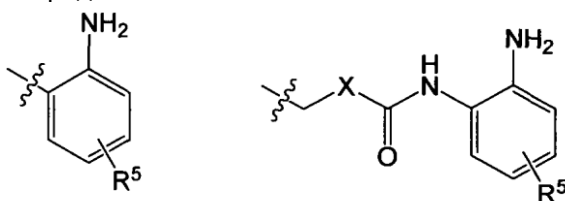
(I)

включаючи її вільну форму, сольову форму, енантіомер, діастереомер або гідрат, де

Z представляє CH або N;

кожна з груп R¹, R² і R³ представляє водень, галоген, алкіл, алкокси або трифторметил;

R⁴ представляє



або

X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;

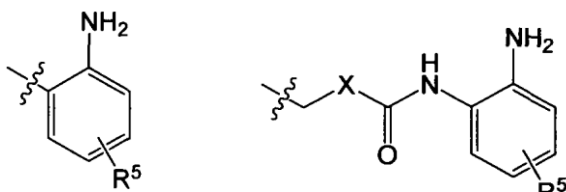
R⁵ представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу.

У переважному варіанті здійснення, сполуки за даним винаходом являють собою сполуки формули (I), де

Z представляє CH;

кожна з груп R¹, R² і R³ представляє водень, галоген, алкіл, алкокси або трифторметил;

R⁴ представляє



або

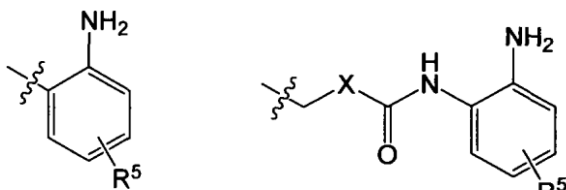
X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;
R⁵ представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу.

У іншому переважному варіанті здійснення, сполуки за винаходом являють собою сполуки формули (I), де

Z представляє CH;

кожна з груп R¹, R² і R³ представляє водень або алкокси;

R⁴ представляє



або

X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;
R⁵ представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу.

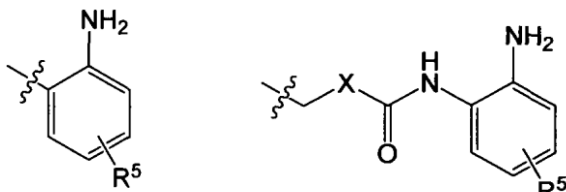
У іншому переважному варіанті здійснення, сполуки за винаходом являють собою сполуки формули (I), де

Z представляє CH;

кожна з груп R¹ і R² представляє водень або метокси;

R³ представляє H;

R⁴ представляє



або

X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;
R⁵ представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу.

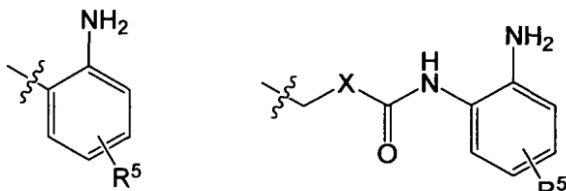
У іншому переважному варіанті здійснення, сполуки за винаходом являють собою сполуки формули (I), де

Z представляє CH;

кожна з груп R¹ і R² представляє водень або метокси;

R³ представляє H;

R⁴ представляє



або

X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;

R⁵ представляє H або F.

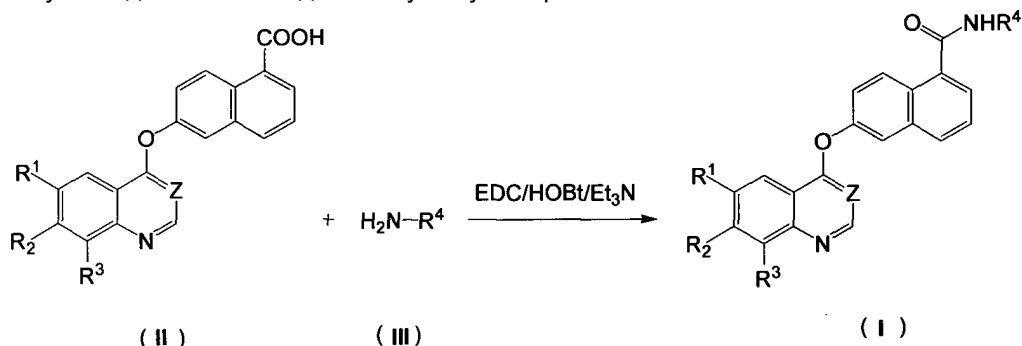
Використовуваний в даному описі термін "галоген" означає фтор, хлор, бром або йод.

Використовуваний в даному описі термін "алкіл" включає лінійні, розгалужені або циклічні алкіли, наприклад, метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, трет-бутил, н-пентил,

ізопентил, н-гексил, ізогексил, циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил і тому подібні.

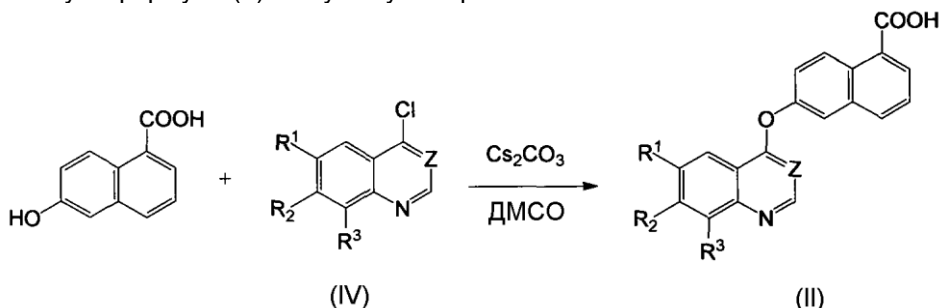
Використовуваний в даному описі термін "алкокси" означає групу, утворену приєднанням алкільного радикала до атома кисню, де атом кисню має здатність вільного зв'язування. Його приклади включають метокси, етокси, пропокси, бутокси, пентокси, ізопропокси, трет-бутокси, циклопропокси, циклогексилокси і тому подібні.

Сполуки за даним винаходом можуть бути отримані таким чином:



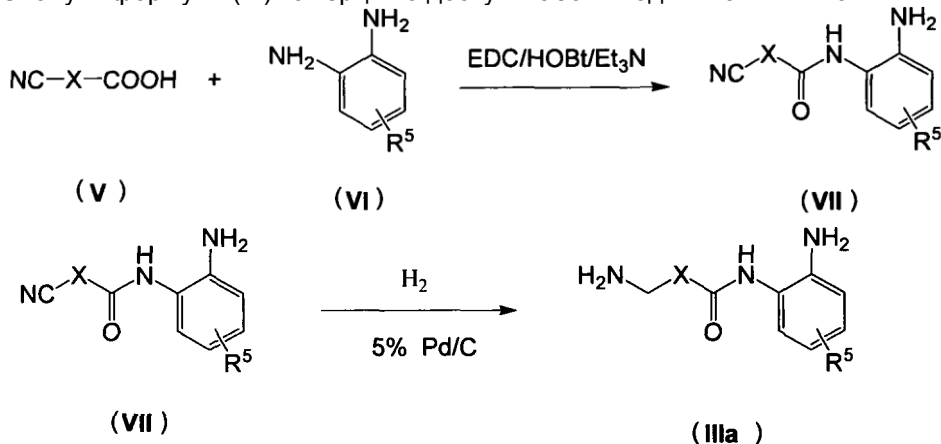
Сполуки формули (II) конденсуються сполукою формули (III) для отримання сполуки (I). Реакція конденсації проводиться шляхом використання пептидного конденсуючого агента як каталізатора, такого як 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімід (EDC), N, N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC), N, N'-карбонілдіімідазол (CDI) і т. д. Реакція може проводитися при температурі від 0 до 80°C протягом від 4 до 72 годин. Розчинники, які можуть використовуватися, являють собою нормальні розчинники, такі як бензол, толуол, тетрагідрофуран, діоксан, дихлорметан, хлороформ, N, N-диметилформамід і т. д. При необхідності, основа, така як гідроксид натрію, триетиламін або піридин, може додаватися до реакційної системи.

Сполуки формули (II) можуть бути отримані таким чином:



Комерційно доступна 6-гідроксинафтоєва кислота нагрівається в присутності карбонату цезію і відповідним чином заміщеного 4-хлорхіноліну (IV) в ДМСО (диметилсульфоксиду) для отримання нафтоєвих кислот (II). Реакція може проводитися при температурі від 130 до 140°C протягом 3-24 годин.

Сполуки формули (III) комерційно доступні або виходять таким чином:



Комерційно доступна сполука (V) конденсується з комерційно доступною сполукою (VI) для отримання сполуки (VII). Реакція конденсації проводиться з використанням пептидного

конденсуючого агента як каталізатора, такого як 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімід (EDC), N, N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC), N, N'-карбонілдіімідазол (CDI) і т. д. Реакція може проводитися при температурі від 0 до 60°C протягом 2-72 годин. Розчинники, які можуть використовуватися, являють собою нормальні розчинники, такі як бензол, толуол, тетрагідрофуран, діоксан, дихлорметан, хлороформ, N, N'-диметилформамід і т. д. При необхідності, основа, така як гідроксид натрію, триетиламін або піридин, може додаватися до реакційної системи.

Сполука (VII) розчиняється в метанолі і гідрується з використанням 5 % паладію на активованому вугіллі як каталізатора для виходу сполуки (IIIa). Реакція може проводитися при кімнатній температурі. При необхідності, до реакційної системи може додаватися кислота, така як сірчана кислота.

Сполуки, представлені формулою (I), можуть очищатися звичайними способами виділення, такими як екстракція, перекристалізація, колонкова хроматографія і тому подібні.

Сполуки, представлені формулою (I), здатні одночасно інгібувати протеїнкінази і гістондеацетилази, і тому можуть застосовуватися при лікуванні захворювань, пов'язаних з аномальними видами активності протеїнкінази і аномальними видами активності гістондеацетилази. Зокрема, вони високоефективні проти гематологічних злоякісних захворювань і солідних пухлин.

Сполуки, представлені формулою (I), можуть складатися в звичайні фармацевтичні препарати, такі як таблетки, капсули, порошки, сиропи, розчини, суспензії, ін'єкційні препарати, мазі і тому подібні. Препарати можуть містити сполуку формули (I) як активний інгредієнт разом з фармацевтично прийнятними носіями, ексципієнтами і розріджувачами. Такий препарат звичайно містить від 0,5 до 70 %, переважно, від 1 до 20 % мас. активного інгредієнта.

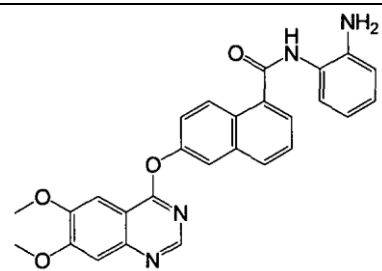
У даному винаході фармацевтично прийнятні носії, ексципієнти і розріджувачі включають без обмеження ті, які перераховані в керівництві "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (American Pharmaceutical Association, October, 1986).

Сполуки, представлені в даному описі формулою (I), можуть клінічно вводитися ссавцям, включаючи людей, перорально або шляхом ін'єкцій. Переважно введення пероральним шляхом. Дозування, що вводиться, знаходиться в діапазоні від 0,0001 до 200 мг/кг маси тіла на день, переважно, в діапазоні від 0,01 до 100 мг/кг маси тіла на день і, найбільш переважно, в діапазоні від 0,1 до 50 мг/кг маси тіла на день. Однак оптимальне дозування варіюється у різних отримуючих лікування індивідів, загалом, спочатку вводиться менша доза, і потім проводиться її ступінчасте збільшення.

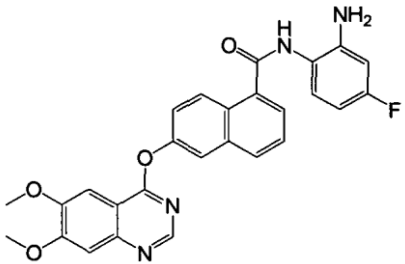
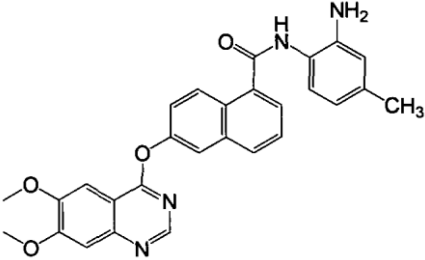
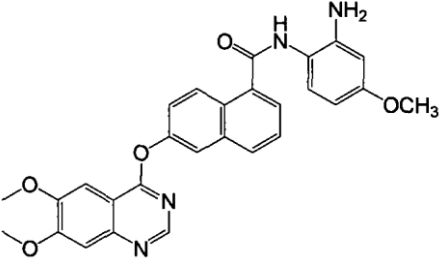
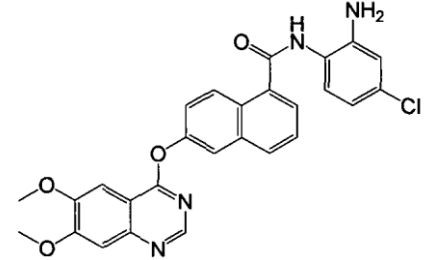
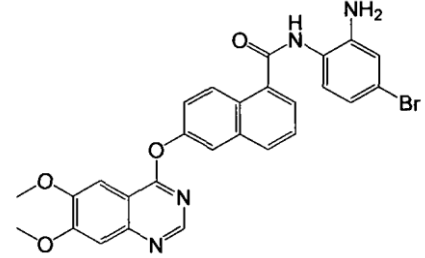
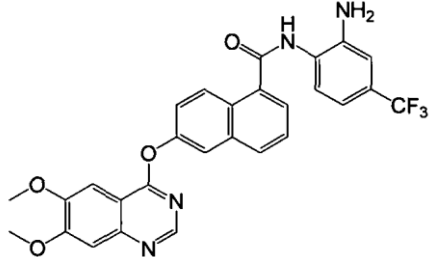
Репрезентативні сполуки за даним винаходом показані нижче в таблиці 1. Номери сполук відповідають "номерам прикладів" в розділі "Приклади". Тобто синтез сполуки 1, як показано в таблиці 1, описаний в "Прикладі 1", а синтез сполуки 44, як показано в таблиці 1, описаний в "Прикладі 44".

Таблиця 1

Репрезентативні сполуки за даним винаходом

Приклад	Структура	Назва
16		N-(2-амінофеніл)-6-(6,7-диметоксифіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід

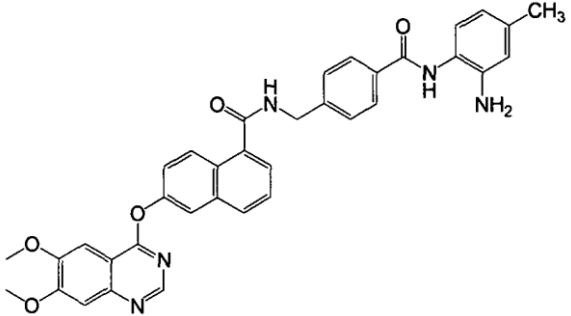
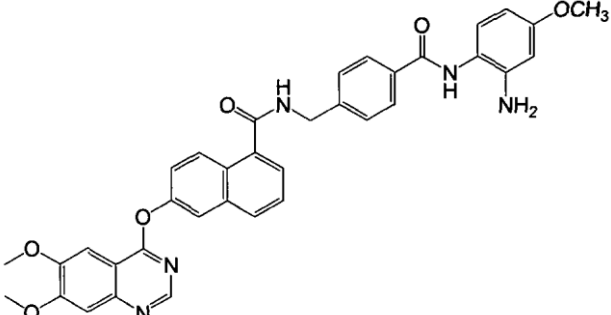
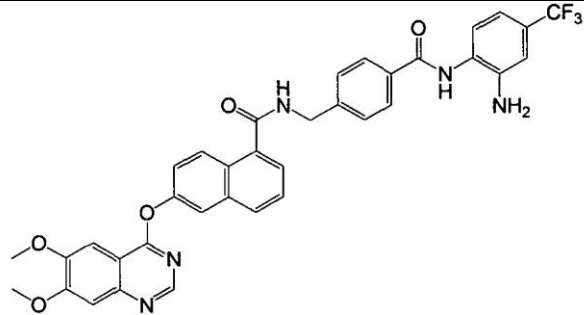
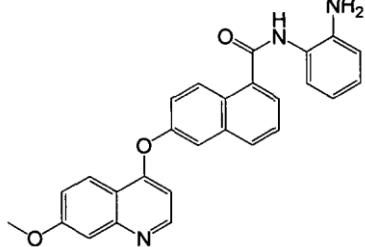
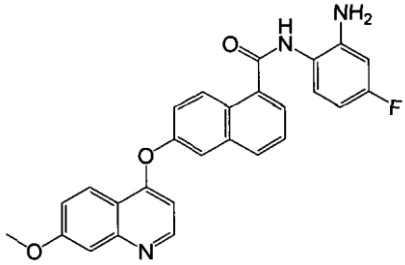
Продовження таблиці 1

17		N-(2-аміно-4-фторфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
18		N-(2-аміно-4-метилфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
19		N-(2-аміно-4-метоксифеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
20		N-(2-аміно-4-хлорфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
21		N-(2-аміно-4-бромфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
22		N-(2-аміно-4-трифторметилфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід

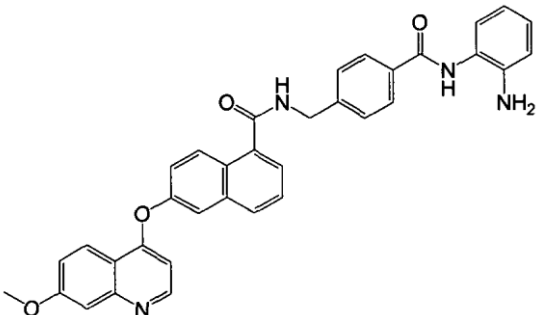
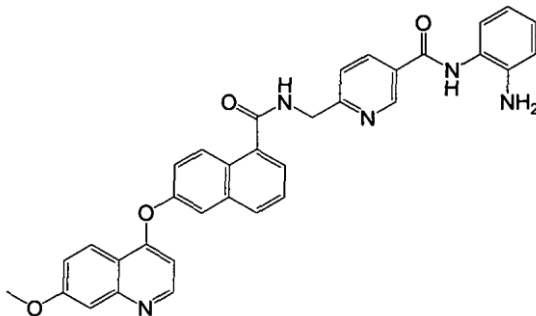
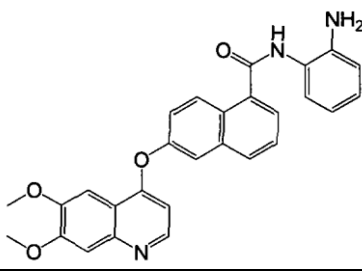
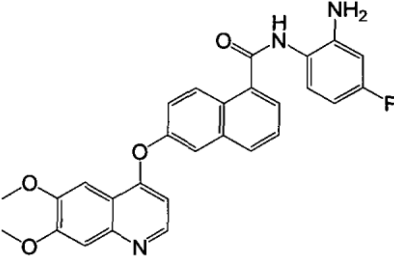
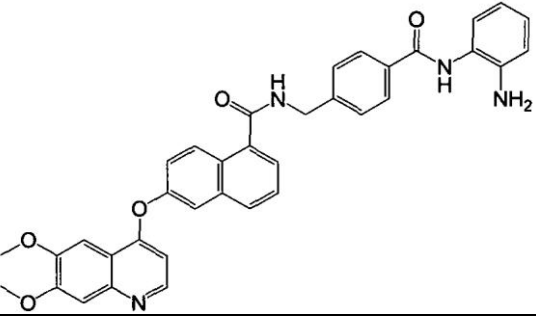
Продовження таблиці 1

23		N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
24		N-(4-((2-аміно-4-фторфеніл)-карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
25		N-(2-амінофеніл)-6-((2-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамідо)метил) нікотинамід
26		N-(2-аміно-4-фторфеніл)-6-((2-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамідо)метил) нікотинамід
27		N-(3-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід

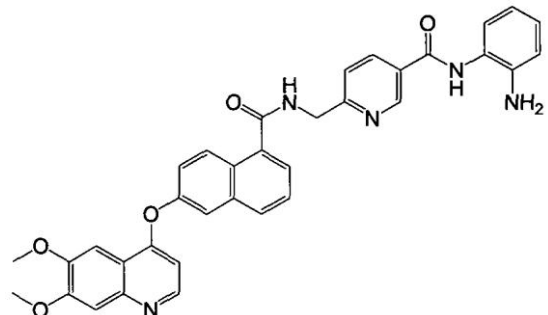
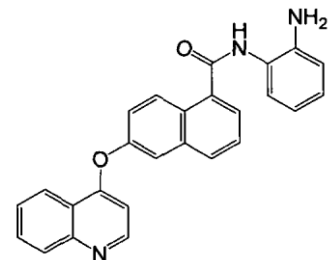
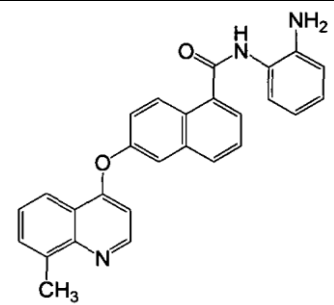
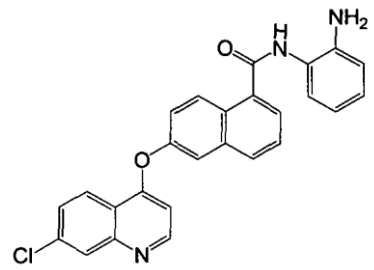
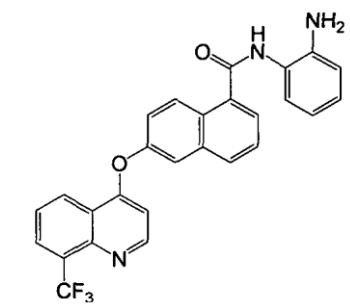
Продовження таблиці 1

28		N-(4-((2-аміно-4-метилфеніл)-карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
29		N-(4-((2-аміно-4-метоксифеніл)-карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
30		N-(4-((2-аміно-4-трифторметилфеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамід
31		N-(2-амінофеніл)-6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтамід
32		N-(2-аміно-4-фторфеніл)-6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтамід

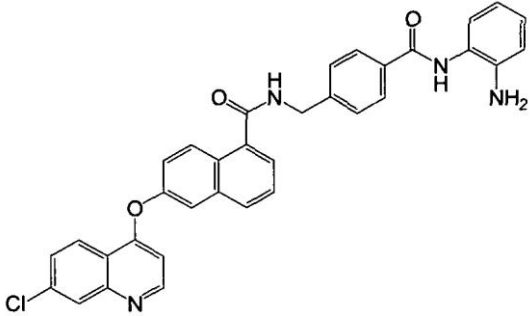
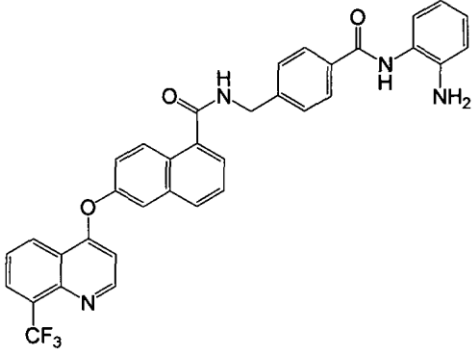
Продовження таблиці 1

33		N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(7-метоксигінолін-4-ілокси)-1-нафтамід
34		N-(2-амінофеніл)-6-((2-(7-метоксигінолін-4-ілокси)-1-нафтамідо)метил) нікотинамід
35		N-(2-амінофеніл)-6-(6,7-диметоксигінолін-4-ілокси)-1-нафтамід
36		N-(2-аміно-4-фторфеніл)-6-(6,7-диметоксигінолін-4-ілокси)-1-нафтамід
37		N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксигінолін-4-ілокси)-1-нафтамід

Продовження таблиці 1

38		N-(2-амінофеніл)-6-((2-(6,7- диметоксихінолін-4-ілокси)-1- нафтамідо)метил) нікотинамід
39		N-(2-амінофеніл)-6-(хінолін-4- ілокси)-1-нафтамід
40		N-(2-амінофеніл)-6-(8- метилхінолін- 4-ілокси)-1-нафтамід
41		N-(2-амінофеніл)-6-(7-хлорхінолін-4- ілокси)-1-нафтамід
42		N-(2-амінофеніл)-6-(8- (трифторметил)хінолін-4-ілокси)-1- нафтамід

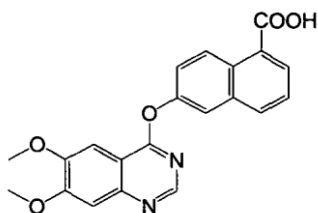
Продовження таблиці 1

43		N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(7-хлорхінолін-4-ілокси)-1-нафтамід
44		N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(8-(трифторметил)хінолін-4-ілокси)-1-нафтамід

Далі даний винахід буде проілюстрований в комбінації з приведеними нижче прикладами, однак, об'єм захисту даного винаходу не обмежується приведеними прикладами. Далі, поки немає інших визначень, приведені в даному описі процентні частки дані на масу. Будь-який діапазон приведених в описі чисел, таких як одиниці вимірювання, умови реакцій, фізичні стани сполуки або процентні частки, призначені для надання буквального і певним посиланням. Фахівці в даній галузі при здійсненні даного винаходу, використовуючи температури, концентрації, кількості, числа атомів вуглецю і тому подібні, які випадають з діапазону або відрізняються від однієї величини, досягнуть бажаного результату.

Приклад 1

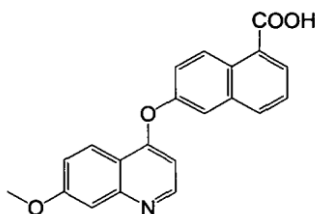
Отримання 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти



6-Гідрокси-1-нафтоєву кислоту (1,43 г, 7,6 ммоль) розчиняли в 38 мл ДМСО, потім додавали карбонат цезію (7,5 г, 22,9 ммоль) і 4-хлор-6,7-диметоксихіназоліну (2,05 г, 9,14 ммоль). Суміш нагрівали при 140°C протягом 3 годин. Коли реакція завершувалася, суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли 40 мл H₂O. Суміш нейтралізували 2 н. HCl до pH=6,5. Осаджені тверді речовини фільтрували, промивали H₂O, сушили і перекристалізовували з метанолу для отримання вказаної в заголовку сполуки (1,68 г, вихід 59 %) у вигляді твердої речовини коричневого кольору. LC-MS (рідинна хроматографія-мас-спектроскопія) (m/z) 377 (M+1).

Приклад 2

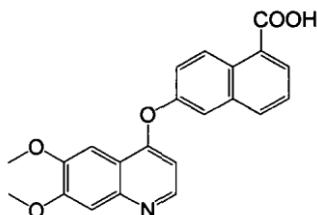
Отримання 6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти



- Вказану в заголовку сполуку (1,73 г, вихід 66 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-гідрокси-1-нафтоєвої кислоти (1,43 г, 7,6 ммоль) і 4-хлор-7-метоксихіноліну (1,77 г, 9,14 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 1.
- 5 LC-MS (m/z) 346 (M+1).

Приклад 3

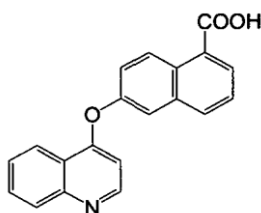
Отримання 6-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти



- Вказану в заголовку сполуку (1,95 г, вихід 68 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-гідрокси-1-нафтоєвої кислоти (1,43 г, 7,6 ммоль) і 4-хлор-6,7-диметоксихіноліну (2,04 г, 9,14 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 1.
- 10 LC-MS (m/z) 376 (M+1).

Приклад 4

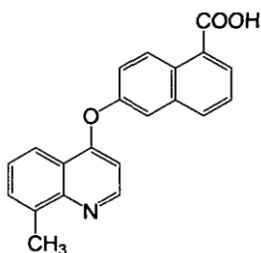
Отримання 6-(хінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти



- Вказану в заголовку сполуку (1,24 г, вихід 52 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-гідрокси-1-нафтоєвої кислоти (1,43 г, 7,6 ммоль) і 4-хлорхіноліну (1,49 г, 9,14 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 1.
- 15 LC-MS (m/z) 316 (M+1).

Приклад 5

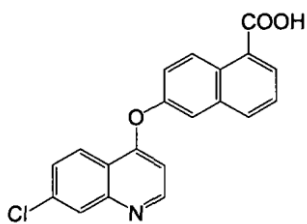
- 20 Отримання 6-(8-метилхінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти



- Вказану в заголовку сполуку (1,25 г, вихід 55 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-гідрокси-1-нафтоєвої кислоти (1,43 г, 7,6 ммоль) і 4-хлор-8-метилхіноліну (1,62 г, 9,14 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 1.
- 25 LC-MS (m/z) 330 (M+1).

Приклад 6

Отримання 6-(7-хлорхінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти

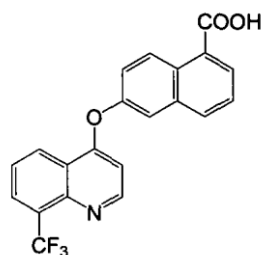


Вказану в заголовку сполуку (1,57 г, вихід 59 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-гідрокси-1-нафтоєвої кислоти (1,43 г, 7,6 ммоль) і 4,7-дихлорхіноліну (1,81 г, 9,14 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 1. LC-MS (m/z) 350 (M+1).

5

Приклад 7

Отримання 6-(8-(трифторметил)хінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти

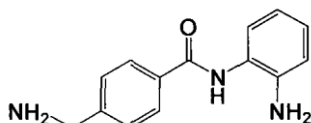


Вказану в заголовку сполуку (1,43 г, вихід 49 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-гідрокси-1-нафтоєвої кислоти (1,43 г, 7,6 ммоль) і 4-хлор-8-(трифторметил)хіноліну (2,12 г, 9,14 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 1. LC-MS (m/z) 384 (M+1).

10

Приклад 8

Отримання 4-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)бензаміду



15

4-Ціанобензойну кислоту (294 мг, 2 ммоль) розчиняли в 8 мл ДМФА, потім додавали 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід гідрохлорид (768 мг, 4 ммоль), 1-гідроксибензотриазол (324 мг, 2,4 ммоль), триетиламін (808 мг, 8 ммоль) і о-фенілендіамін (432 мг, 4 ммоль). Суміш перемішували протягом 20 годин при кімнатній температурі. Суміш розбавляли 400 мл концентрованого розчину солі. Тверді речовини збирали вакуумною фільтрацією, промивали водою і сушили у вакуумі для отримання N-(2-амінофеніл)-4-ціанобензаміду (364 мг, 77 %) у вигляді твердої речовини сірого кольору. LC-MS (m/z) 238 (M+1).

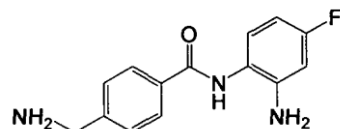
20

N-(2-амінофеніл)-4-ціанобензамід (237 мг, 1 ммоль) розчиняли в метанолі (40 мл), потім додавали сірчану кислоту (196 мг, 1 ммоль) і 5 % паладій на активованому вугіллі (0,20 г). Суміш перемішували в атмосфері водню до завершення реакції. Суміш фільтрували через целіт і фільтрат нейтралізували 1 н. розчином NaOH (2 мл). Отриману суміш фільтрували, і фільтрат концентрували у вакуумі для отримання вказаної в заголовку сполуки (232 мг, вихід 96 %) у вигляді твердої речовини сірого кольору. LC-MS (m/z) 242 (M+1).

25

Приклад 9

Отримання 4-(амінометил)-N-(2-аміно-4-фторфеніл)бензаміду



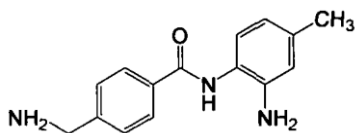
30

Вказану в заголовку сполуку (186 мг, вихід 72 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 4-ціанобензойної кислоти (294 мг, 2 ммоль) і 4-фтор-о-фенілендіаміну (302 мг, 2,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 8. LC-MS (m/z) 260 (M+1).

35

Приклад 10

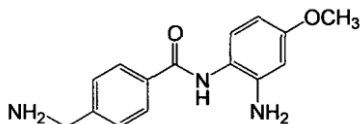
Отримання 4-(амінометил)-N-(2-аміно-4-метилфеніл)бензаміду



Вказану в заголовку сполуку (173 мг, вихід 68 %) отримували у вигляді твердої речовини сірого кольору з 4-ціанобензойної кислоти (294 мг, 2 ммоль) і 4-метил-о-фенілендіаміну (293 мг, 2,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 8. LC-MS (m/z) 256 (M+1).

5 Приклад 11

Отримання 4-(амінометил)-N-(2-аміно-4-метоксифеніл)бензаміду

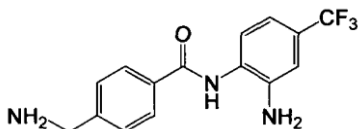


Вказану в заголовку сполуку (192 мг, вихід 71 %) отримували у вигляді твердої речовини сірого кольору з 4-ціанобензойної кислоти (294 мг, 2 ммоль) і 4-метокси-о-фенілендіаміну (331 мг, 2,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 8. LC-MS (m/z) 272 (M+1).

10

Приклад 12

Отримання 4-(амінометил)-N-(2-аміно-4-трифторметилфеніл)бензаміду

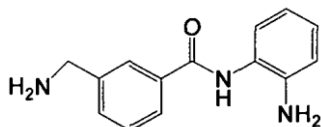


Вказану в заголовку сполуку (195 мг, вихід 63 %) отримували у вигляді твердої речовини сірого кольору з 4-ціанобензойної кислоти (294 мг, 2 ммоль) і 4-трифторметил-о-фенілендіаміну (422 мг, 2,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 8. LC-MS (m/z) 310 (M+1).

15

Приклад 13

Отримання 3-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)бензаміду



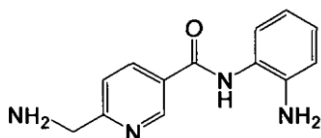
Вказану в заголовку сполуку (140 мг, вихід 58 %) отримували у вигляді твердої речовини сірого кольору з 3-ціанобензойної кислоти (294 мг, 2 ммоль) і о-фенілендіаміну (432 мг, 4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 8. LC-MS (m/z) 242 (M+1).

20

25

Приклад 14

Отримання 6-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)нікотинаміду

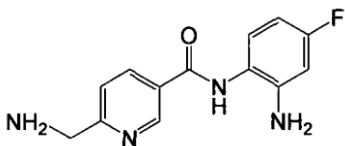


Вказану в заголовку сполуку (157 мг, вихід 65 %) отримували у вигляді твердої речовини сірого кольору з 6-ціанонікотинової кислоти (296 мг, 2 ммоль) і о-фенілендіаміну (864 мг, 8 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 8. LC-MS (m/z) 243 (M+1).

30

Приклад 15

Отримання 6-(амінометил)-N-(2-аміно-4-фторфеніл)нікотинаміду

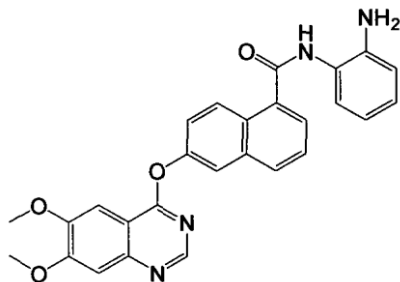


Вказану в заголовку сполуку (135 мг, вихід 52 %) отримували у вигляді твердої речовини сірого кольору з 6-ціанонікотинової кислоти (296 мг, 2 ммоль) і 4-фтор-о-фенілендіаміну (302 мг, 2,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 8. LC-MS (m/z) 261 (M+1).

35

Приклад 16

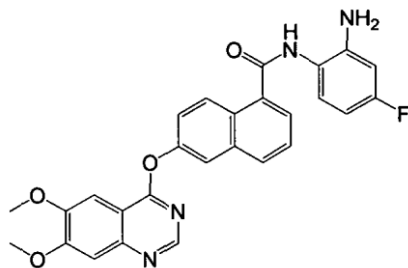
Отримання N-(2-амінофеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



6-(6,7-Диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєву кислоту (37,6 мг, 0,1 ммоль) розчиняли в 4 мл ДМФА, потім додавали 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімід гідрохлорид (38,4 мг, 0,2 ммоль), 1-гідроксибензотриазол (16,2 мг, 0,12 ммоль), триетиламін (40,4 мг, 0,4 ммоль) і о-фенілендіамін (43,2 мг, 0,4 ммоль). Суміш перемішували протягом 20 годин при кімнатній температурі. Суміш розбавляли 200 мл концентрованого розчину солі. Тверді речовини збирали вакуумною фільтрацією, промивали водою і сушили у вакуумі для отримання вказаної в заголовку сполуки (39,1 мг, 84 %) у вигляді твердої речовини коричневого кольору. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,01 (с, 6H, 2×OCH₃), 4,97 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,65 (т, J=7,2 Гц, 1H, Ar-H), 6,82 (д, J=7,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,00 (т, J=7,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,38 (д, J=7,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,42 (с, 1H, Ar-H), 7,60 (дд, J=2,4 і 9,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,64-7,68 (м, 2H, Ar-H), 7,87 (д, J=6,7 Гц, 1H, Ar-H), 7,97 (д, J=2,3 Гц, 1H, Ar-H), 8,09 (д, J=8,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,38 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,54 (с, 1H, Ar-H), 9,85 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 467 (M+1).

Приклад 17

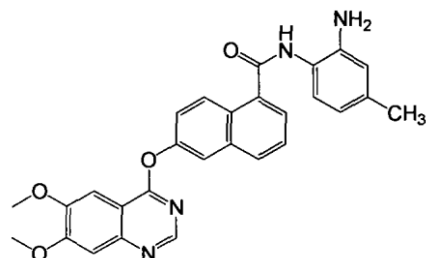
Отримання N-(2-аміно-4-фторфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (43,1 мг, вихід 89 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-фтор-о-фенілендіаміну (15,1 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,01 (с, 6H, 2×OCH₃), 5,28 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,41 (тд, J=2,6 і 8,5 Гц, 1H, Ar-H), 6,59 (дд, J=2,6 і 11,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,35 (тд, J=1,8 і 7,5 Гц, 1H, Ar-H), 7,41 (с, 1H, Ar-H), 7,59 (дд, J=2,2 і 8,4 Гц, 1H, Ar-H), 7,63-7,67 (м, 2H, Ar-H), 7,89 (д, J=6,9 Гц, 1H, Ar-H), 7,96 (д, J=1,9 Гц, 1H, Ar-H), 8,08 (д, J=8,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,38 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,54 (с, 1H, Ar-H), 9,77 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 485 (M+1).

Приклад 18

Отримання N-(2-аміно-4-метилфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду

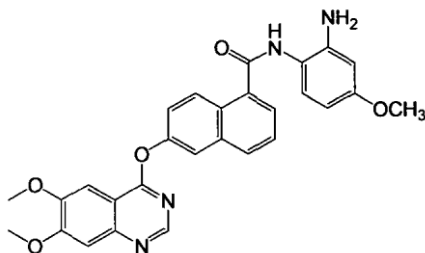


Вказану в заголовку сполуку (39,4 мг, вихід 82 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-метил-о-фенілендіаміну (14,6 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) (відношення ізомерів 0,77/0,23) δ 2,21 (с, 3H, Ar-CH₃), 4,01 (с, 6H, 2×OCH₃), 4,77 (с, 0,23×2H, бензол-NH₂), 4,89 (с, 0,77×2H, бензол-NH₂), 6,46 (д, J=7,6 Гц, 0,77×1H, Ar-H), 6,64 (с, 0,77×1H, Ar-H), 6,73 (д, J=7,9 Гц, 0,23×1H, Ar-H), 6,81 (с, 0,23×1H, Ar-H), 7,24 (д, J=8,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,41 (с, 1H, Ar-H), 7,58-7,66 (м, 3H, Ar-H), 7,85 (д, J=6,7 Гц, 1H, Ar-H).

H), 7,97 (с, 1H, Ar-H), 8,08 (д, J=7,9 Гц, 1H, Ar-H), 8,38 (д, J=9,0 Гц, 1H, Ar-H), 8,54 (с, 1H, Ar-H), 9,77 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 481 (M+1).

Приклад 19

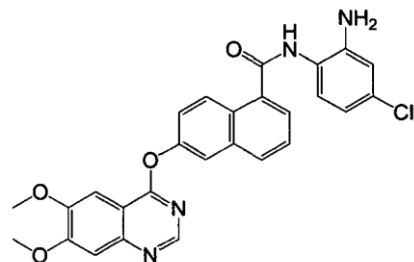
5 Отримання N-(2-аміно-4-метоксифеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



10 Вказану в заголовку сполуку (43,2 мг, вихід 87 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-метокси-о-фенілендіаміну (16,5 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 3,70 (с, 3H, -OCH₃), 4,01 (с, 6H, 2×OCH₃), 5,00 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,23 (дд, J=2,6 і 8,6 Гц, 1H, Ar-H), 6,40 (д, J=2,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,22 (д, J=8,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,41 (с, 1H, Ar-H), 7,59 (дд, J=2,2 і 9,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,62-7,66 (м, 2H, Ar-H), 7,86 (д, J=6,9 Гц, 1H, Ar-H), 7,96 (д, J=2,0 Гц, 1H, Ar-H), 8,07 (д, J=8,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,38 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,54 (с, 1H, Ar-H), 9,70 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 497 (M+1).

15 Приклад 20

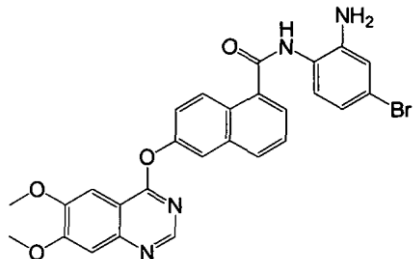
Отримання N-(2-аміно-4-хлорфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



20 Вказану в заголовку сполуку (42,9 мг, вихід 83 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-хлор-о-фенілендіаміну (17,1 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,01 (с, 6H, 2×OCH₃), 5,31 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,65 (д, J=8,3 Гц, 1H, Ar-H), 6,86 (д, J=1,9 Гц, 1H, Ar-H), 7,41 (с, 1H, Ar-H), 7,58-7,67 (м, 4H, Ar-H), 7,89 (д, J=6,8 Гц, 1H, Ar-H), 8,01 (с, 1H, Ar-H), 8,09 (д, J=8,1 Гц, 1H, Ar-H), 8,37 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,55 (с, 1H, Ar-H), 9,84 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 501 (M+1).

25 Приклад 21

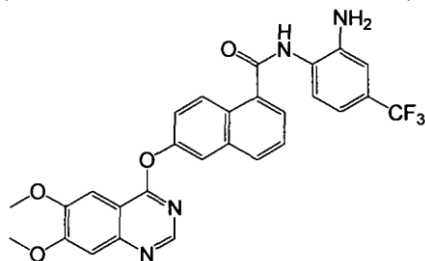
Отримання N-(2-аміно-4-бромфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



30 Вказану в заголовку сполуку (42,0 мг, вихід 77 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-бром-о-фенілендіаміну (22,4 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,01 (с, 6H, 2×OCH₃), 5,31 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,77 (д, J=8,3 Гц, 1H, Ar-H), 7,01 (с, 1H, Ar-H), 7,41 (с, 1H, Ar-H), 7,58-7,65 (м, 5H, Ar-H), 7,89 (д, J=7,0 Гц, 1H, Ar-H), 8,00 (с, 1H, Ar-H), 8,14 (д, J=10,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,37 (д, J=9,1 Гц, 1H, Ar-H), 8,54 (с, 1H, Ar-H), 9,84 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 545 (M+1).

Приклад 22

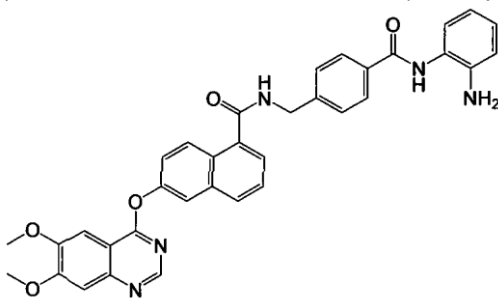
Отримання N-(2-аміно-4-трифторметилфеніл)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



- 5 Вказану в заголовку сполуку (42,3 мг, вихід 79 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-трифторметил-о-фенілендіаміну (21,1 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ^1H -ЯМР (DMSO-d_6) δ 4,01 (с, 6H, $2\times\text{OCH}_3$), 5,72 (с, 2H, бензол- NH_2), 6,92 (д, $J=8,5$ Гц, 1H, Ar-H), 7,42 (с, 1H, Ar-H), 7,59-7,65 (м, 3H, Ar-H), 7,90-7,96 (м, 2H, Ar-H), 7,98 (с, 1H, Ar-H), 8,10 (д, $J=8,3$ Гц, 1H, Ar-H), 8,17 (д, $J=7,3$ Гц, 1H, Ar-H), 8,39 (д, $J=9,2$ Гц, 1H, Ar-H), 8,54 (с, 1H, Ar-H), 9,90 (с, 1H, бензол- NH). LC-MS (m/z) 535 ($M+1$).

Приклад 23

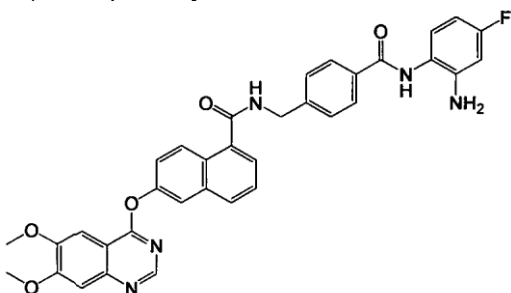
Отримання N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



- 15 Вказану в заголовку сполуку (43,1 мг, вихід 72 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)бензаміду (28,9 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. LC-MS (m/z) 600 ($M+1$).

Приклад 24

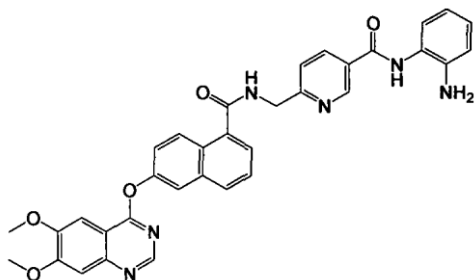
Отримання N-(4-((2-аміно-4-фторфеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



- 25 Вказану в заголовку сполуку (46,3 мг, вихід 75 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-(амінометил)-N-(2-аміно-4-фторфеніл)бензаміду (31,1 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. LC-MS (m/z) 618 ($M+1$).

Приклад 25

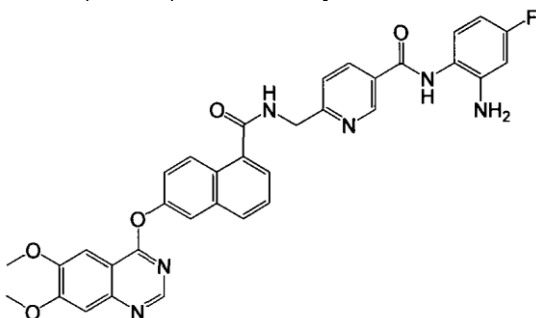
Отримання N-(2-амінофеніл)-6-((2-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамідо)метил)нікотинаміду



- Вказану в заголовку сполуку (41,4 мг, вихід 69 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 6-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)нікотинамідом (29,0 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. LC-MS (m/z) 601 (M+1).

Приклад 26

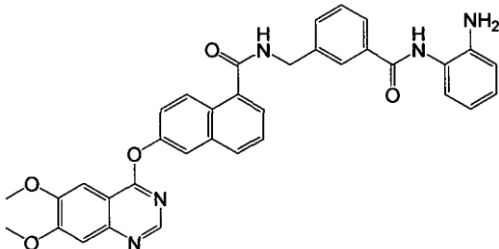
Отримання N-(2-аміно-4-фторфеніл)-6-((2-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамідометил)нікотинамідом



- Вказану в заголовку сполуку (43,3 мг, вихід 77 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 6-(амінометил)-N-(2-аміно-4-фторфеніл)нікотинамідом (31,2 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. LC-MS (m/z) 619 (M+1).

Приклад 27

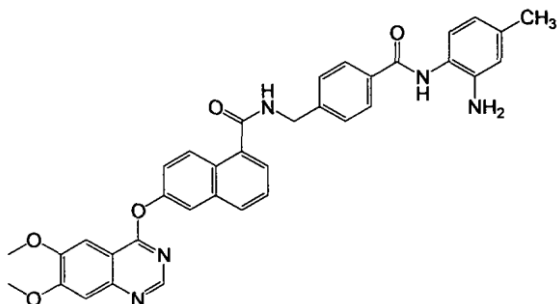
- Отримання N-(3-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамідом



- Вказану в заголовку сполуку (48,5 мг, вихід 81 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 3-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)бензамідом (28,9 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. LC-MS (m/z) 600 (M+1).

Приклад 28

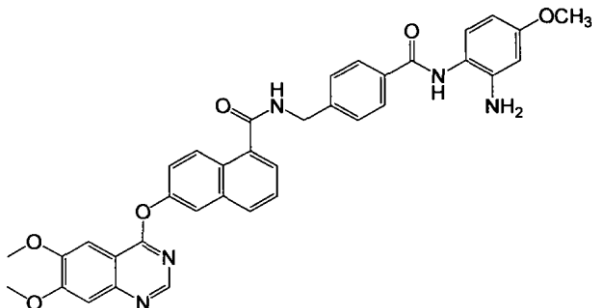
Отримання N-(4-((2-аміно-4-метилфеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтамідом



Вказану в заголовку сполуку (52,7 мг, вихід 86 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-(амінометил)-N-(2-аміно-4-метилфеніл)бензаміду (30,6 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. LC-MS (m/z) 614 (M+1).

5 Приклад 29

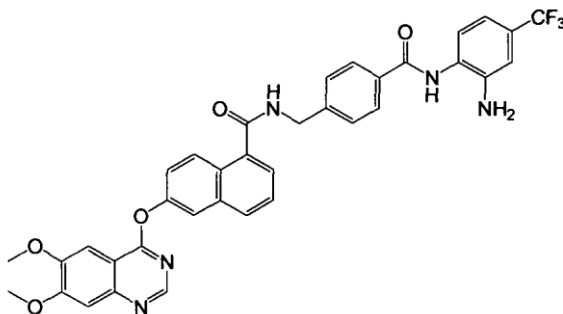
Отримання N-(4-((2-аміно-4-метоксифеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



10 Вказану в заголовку сполуку (51,6 мг, вихід 82 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-(амінометил)-N-(2-аміно-4-метоксифеніл)бензаміду (32,5 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. LC-MS (m/z) 630 (M+1).

Приклад 30

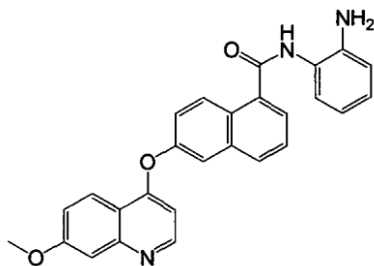
15 Отримання N-(4-((2-аміно-4-трифторметилфеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



20 Вказану в заголовку сполуку (46,7 мг, вихід 70 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихіназолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,6 мг, 0,1 ммоль) і 4-(амінометил)-N-(2-аміно-4-трифторметилфеніл)бензаміду (37,1 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. LC-MS (m/z) 668 (M+1).

Приклад 31

Отримання N-(2-амінофеніл)-6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду

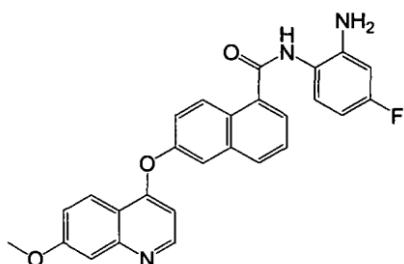


25 Вказану в заголовку сполуку (39,6 мг, вихід 91 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (34,5 мг, 0,1 ммоль) і о-фенілендіаміну (43,2 мг, 0,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 3,95 (с, 3H, -OCH₃), 4,97 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,60 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 6,64 (т, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 6,82 (д, J=7,8 Гц, 1H, Ar-H), 6,99 (т, J=7,4 Гц, 1H, Ar-H), 7,31 (дд, J=2,5 і 9,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,38 (д, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,45 (д, J=2,4 Гц, 1H, Ar-H), 7,57 (дд, J=2,4 і 9,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,65 (т, J=7,8 Гц, 1H, Ar-H), 7,87-7,88 (м, 2H, Ar-H), 8,07 (д, J=8,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,25 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,43 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,65 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 9,84 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 436 (M+1).

30

Приклад 32

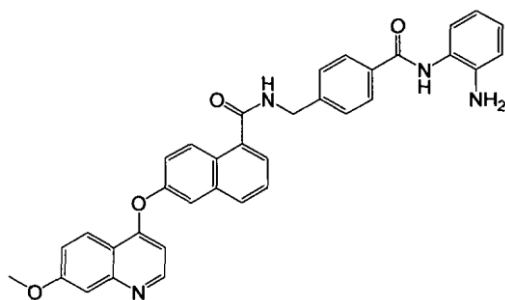
Отримання N-(2-аміно-4-фторфеніл)-6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (33,1 мг, вихід 73 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (34,5 мг, 0,1 ммоль) і 4-фтор-о-фенілєндіаміну (15,1 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ^1H -ЯМР (ДМСО- d_6) δ 3,95 (с, 3H, $-\text{OCH}_3$), 5,27 (с, 2H, бензол- NH_2), 6,41 (тд, $J=2,5$ і 8,4 Гц, 1H, Ar-H), 6,57-6,61 (м, 2H, Ar-H), 7,30-7,36 (м, 2H, Ar-H), 7,45 (д, $J=2,2$ Гц, 1H, Ar-H), 7,56 (дд, $J=2,2$ і 9,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,65 (т, $J=7,6$ Гц, 1H, Ar-H), 7,87-7,91 (м, 2H, Ar-H), 8,07 (д, $J=8,3$ Гц, 1H, Ar-H), 8,24 (д, $J=9,1$ Гц, 1H, Ar-H), 8,43 (д, $J=9,2$ Гц, 1H, Ar-H), 8,65 (д, $J=5,1$ Гц, 1H, Ar-H), 9,75 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 454 (M+1).

Приклад 33

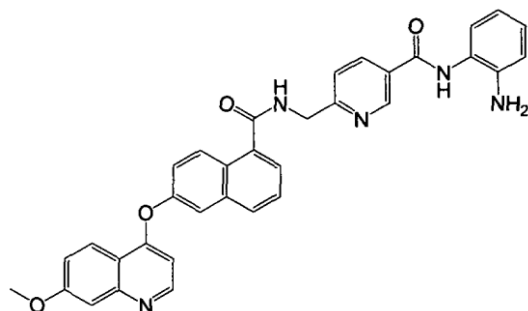
Отримання N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (48,3 мг, вихід 85 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (34,5 мг, 0,1 ммоль) і 4-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)бензаміду (28,9 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ^1H -ЯМР (ДМСО- d_6) δ 3,95 (с, 3H, $-\text{OCH}_3$), 4,64 (д, $J=5,6$ Гц, 2H, $-\text{CH}_2$), 4,87 (с, 2H, бензол- NH_2), 6,58-6,62 (т, 2H, Ar-H), 6,78 (дд, $J=1,2$ і 7,8 Гц, 1H, Ar-H), 6,97 (тд, $J=1,4$ і 8,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,18 (д, $J=7,0$ Гц, 1H, Ar-H), 7,31 (дд, $J=2,5$ і 9,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,44 (д, $J=2,4$ Гц, 1H, Ar-H), 7,53-7,56 (м, 3H, Ar-H), 7,62 (т, $J=8,0$ Гц, 1H, Ar-H), 7,72 (д, $J=6,1$ Гц, 1H, Ar-H), 7,86 (д, $J=2,5$ Гц, 1H, Ar-H), 7,98-8,06 (м, 3H, Ar-H), 8,24 (д, $J=9,1$ Гц, 1H, Ar-H), 8,39 (д, $J=9,2$ Гц, 1H, Ar-H), 8,64 (д, $J=5,2$ Гц, 1H, Ar-H), 9,21 (т, $J=6,0$ Гц, 1H, $-\text{CONH}$), 9,61 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 569 (M+1).

Приклад 34

Отримання N-(2-амінофеніл)-6-((2-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтамідо)метил)нікотинаміду

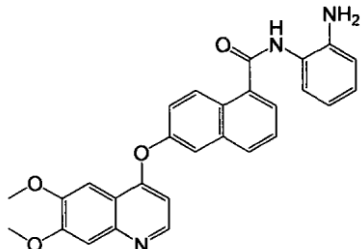


Вказану в заголовку сполуку (46,6 мг, вихід 82 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(7-метоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (34,5 мг, 0,1 ммоль) і 6-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)нікотинаміду (29,0 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ^1H -ЯМР (ДМСО- d_6) δ 3,95 (с, 3H, $-\text{OCH}_3$), 4,74 (с, 2H, $-\text{CH}_2$), 4,95 (с, 2H, бензол- NH_2), 6,60 (м, 2H, Ar-H), 6,79 (с, 1H, Ar-H), 6,98 (с, 1H, Ar-H), 7,17 (с, 1H, Ar-

H), 7,31 (д, J=8,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,44 (с, 1H, Ar-H), 7,58-7,63 (м, 3H, Ar-H), 7,77 (с, 1H, Ar-H), 7,87 (с, 1H, Ar-H), 8,05 (д, J=5,6 Гц, 1H, Ar-H), 8,24 (д, J=8,3 Гц, 1H, Ar-H), 8,33 (с, 1H, Ar-H), 8,47 (д, J=7,5 Гц, 1H, Ar-H), 9,13 (с, 1H, Ar-H), 9,25 (с, 1H, -CONH), 9,77 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 570 (M+1).

5 Приклад 35

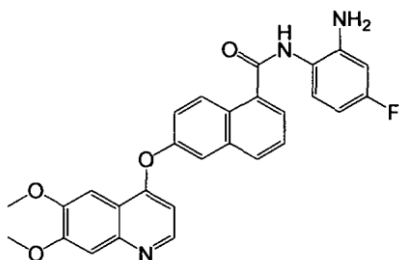
Отримання N-(2-амінофеніл)-6-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (40,0 мг, вихід 86 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,5 мг, 0,1 ммоль) і о-фенілендіаміну (43,2 мг, 0,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 3,93 (с, 3H, -OCH₃), 3,95 (с, 3H, -OCH₃), 4,99 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,56 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 6,63 (т, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 6,81 (д, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 6,98 (т, J=7,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,36 (д, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,43 (с, 1H, Ar-H), 7,56-7,58 (м, 2H, Ar-H), 7,65 (т, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,87-7,90 (м, 2H, Ar-H), 8,08 (д, J=8,0 Гц, 1H, Ar-H), 8,43 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,49 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 9,87 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 466 (M+1).

15 Приклад 36

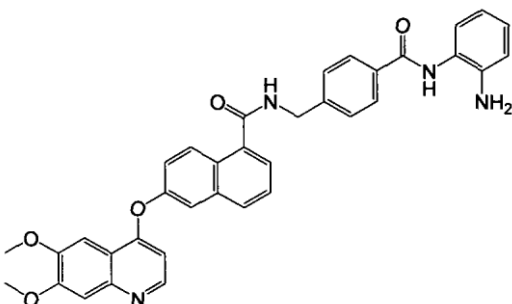
Отримання N-(2-аміно-4-фторфеніл)-6-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (39,1 мг, вихід 81 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,5 мг, 0,1 ммоль) і 4-фтор-о-фенілендіаміну (15,1 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 3,93 (с, 3H, -OCH₃), 3,95 (с, 3H, -OCH₃), 5,31 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,40 (с, 1H, Ar-H), 6,55-6,59 (т, 2H, Ar-H), 7,30 (д, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,42 (с, 1H, Ar-H), 7,54-7,57 (м, 2H, Ar-H), 7,64 (т, J=8,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,89-7,91 (м, 2H, Ar-H), 8,07 (д, J=8,0 Гц, 1H, Ar-H), 8,42 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,49 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 9,79 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 484 (M+1).

20 Приклад 37

Отримання N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду

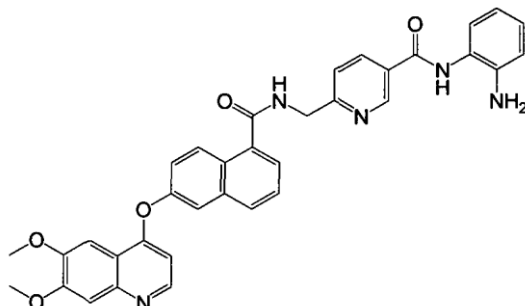


Вказану в заголовку сполуку (49,0 мг, вихід 82 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,5 мг, 0,1 ммоль) і 4-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)бензаміду (28,9 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 3,93 (с, 3H, -OCH₃), 3,95 (с,

- 3H, -OCH₃), 4,63 (д, J=5,6 Гц, 2H, -CH₂), 4,90 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,56-6,59 (м, 2H, Ar-H), 6,78 (д, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 6,96 (т, J=8,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,17 (д, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,42 (с, 1H, Ar-H), 7,53-7,55 (м, 4H, Ar-H), 7,62 (т, J=8,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,71 (д, J=6,8 Гц, 1H, Ar-H), 7,87 (с, 1H, Ar-H), 7,98-8,06 (м, 3H, Ar-H), 8,39 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,49 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 9,26 (т, J=6,0 Гц, 1H, -CONH), 9,66 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 599 (M+1).

Приклад 38

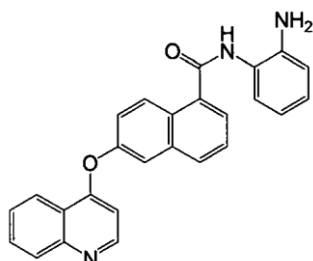
Отримання N-(2-амінофеніл)-6-((2-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтамідо)метил)нікотинамід



- Вказану в заголовку сполуку (47,9 мг, вихід 80 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(6,7-диметоксихінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (37,5 мг, 0,1 ммоль) і 6-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)нікотинамід (29,0 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 3,93 (с, 3H, -OCH₃), 3,95 (с, 3H, -OCH₃), 4,73 (д, J=5,6 Гц, 2H, -CH₂), 4,97 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,57 (м, 2H, Ar-H), 6,77 (д, J=6,4 Гц, 1H, Ar-H), 6,98 (т, J=8,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,16 (д, J=5,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,42 (с, 1H, Ar-H), 7,55-7,63 (м, 4H, Ar-H), 7,62 (т, J=8,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,76 (д, J=6,8 Гц, 1H, Ar-H), 7,88 (с, 1H, Ar-H), 8,06 (с, 1H, Ar-H), 8,33 (с, 1H, Ar-H), 8,45-8,48 (м, 2H, Ar-H), 9,12 (с, 1H, Ar-H), 9,30 (т, J=6,0 Гц, 1H, -CONH), 9,80 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 600 (M+1).

Приклад 39

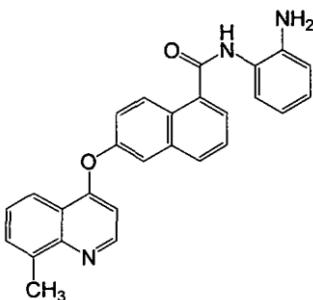
- Отримання N-(2-амінофеніл)-6-(хінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



- Вказану в заголовку сполуку (35,6 мг, вихід 88 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(хінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (31,5 мг, 0,1 ммоль) і о-фенілендіаміну (43,2 мг, 0,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,97 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,65 (т, J=7,3 Гц, 1H, Ar-H), 6,75 (д, J=5,1 Гц, 1H, Ar-H), 6,82 (д, J=7,8 Гц, 1H, Ar-H), 7,00 (т, J=7,1 Гц, 1H, Ar-H), 7,38 (д, J=7,5 Гц, 1H, Ar-H), 7,59 (дд, J=2,3 і 9,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,64-7,71 (м, 2H, Ar-H), 7,83-7,92 (м, 3H, Ar-H), 8,08 (д, J=8,4 Гц, 2H, Ar-H), 8,37 (д, J=7,9 Гц, 1H, Ar-H), 8,45 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,73 (д, J=5,1 Гц, 1H, Ar-H), 9,85 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 406 (M+1).

- Приклад 40

Отримання N-(2-амінофеніл)-6-(8-метилхінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду

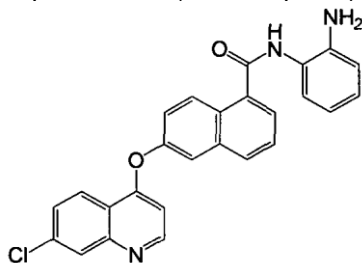


Вказану в заголовку сполуку (37,7 мг, вихід 90 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(8-метилхінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (32,9 мг, 0,1 ммоль) і о-

фенілендіаміну (43,2 мг, 0,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 2,76 (с, 3H, Ar-CH₃), 4,97 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,64 (т, J=7,1 Гц, 1H, Ar-H), 6,78 (д, J=5,0 Гц, 1H, Ar-H), 6,82 (д, J=7,8 Гц, 1H, Ar-H), 6,99 (т, J=7,3 Гц, 1H, Ar-H), 7,38 (д, J=7,5 Гц, 1H, Ar-H), 7,55-7,58 (м, 2H, Ar-H), 7,65 (т, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 7,71 (д, J=7,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,87-7,89 (м, 2H, Ar-H), 8,07 (д, J=8,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,20 (д, J=7,9 Гц, 1H, Ar-H), 8,44 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,76 (д, J=5,0 Гц, 1H, Ar-H), 9,84 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 420 (M+1).

Приклад 41

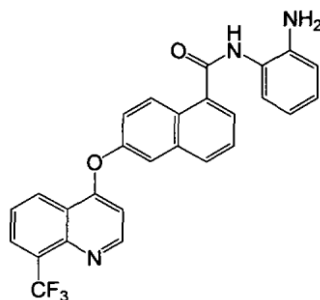
Отримання N-(2-амінофеніл)-6-(7-хлорхінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (33,2 мг, вихід 83 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(7-хлорхінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (35,0 мг, 0,1 ммоль) і о-фенілендіаміну (43,2 мг, 0,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,97 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,65 (т, J=7,4 Гц, Ar-H), 6,77 (д, J=5,5 Гц, 1H, Ar-H), 6,82 (д, J=7,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,00 (т, J=7,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,38 (д, J=7,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,60 (дд, J=2,6 і 9,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,67-7,74 (м, 2H, Ar-H), 7,89 (д, J=7,4 Гц, 1H, Ar-H), 7,94 (д, J=2,4 Гц, 1H, Ar-H), 8,09 (д, J=8,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,13 (д, J=2,1 Гц, 1H, Ar-H), 8,41 (д, J=9,0 Гц, 1H, Ar-H), 8,46 (д, J=9,6 Гц, 1H, Ar-H), 8,76 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 9,85 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 440 (M+1).

Приклад 42

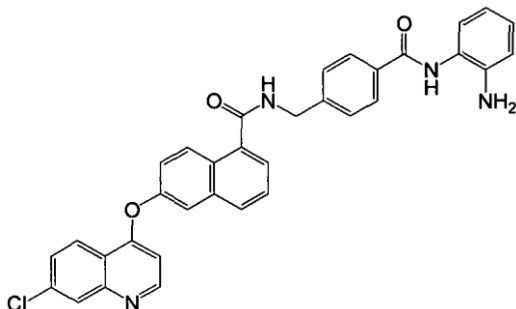
Отримання N-(2-амінофеніл)-6-(8-трифторметилхінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (38,3 мг, вихід 81 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(8-трифторметилхінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (39,8 мг, 0,1 ммоль) і о-фенілендіаміну (43,2 мг, 0,4 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,98 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,65 (т, J=7,3 Гц, 1H, Ar-H), 6,83 (д, J=7,6 Гц, 1H, Ar-H), 6,89 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,00 (т, J=7,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,38 (д, J=7,5 Гц, 1H, Ar-H), 7,62 (дд, J=2,4 і 9,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,68 (т, J=7,7 Гц, 1H, Ar-H), 7,83 (т, J=7,9 Гц, 1H, Ar-H), 7,90 (д, J=7,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,97 (д, J=2,3 Гц, 1H, Ar-H), 8,10 (д, J=8,3 Гц, 1H, Ar-H), 8,29 (д, J=7,1 Гц, 1H, Ar-H), 8,47 (д, J=9,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,70 (д, J=7,8 Гц, 1H, Ar-H), 8,87 (д, J=5,2 Гц, 1H, Ar-H), 9,86 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 474 (M+1).

Приклад 43

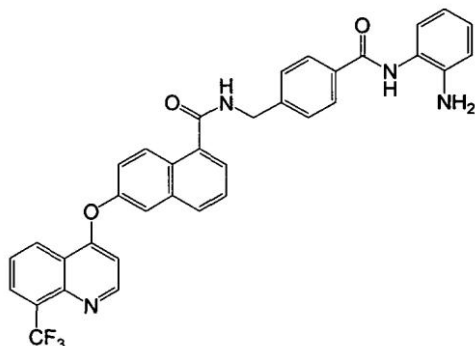
Отримання N-(4-((2-амінофеніл)карбамоїл)бензил)-6-(7-хлорхінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (42,4 мг, вихід 74 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(7-хлорхінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (35,0 мг, 0,1 ммоль) і 4-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)бензаміду (28,9 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,64 (д, J=5,8 Гц, 2H, -CH₂), 4,87 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,60 (т, J=7,0 Гц, 1H, Ar-H), 6,75-6,79 (м, 2H, Ar-H), 6,97 (т, J=7,5 Гц, 1H, Ar-H), 7,18 (д, J=7,7 Гц, 1H, Ar-H), 7,53-7,59 (м, 3H, Ar-H), 7,66 (т, J=8,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,70-7,74 (м, 2H, Ar-H), 7,92 (д, J=2,0 Гц, 1H, Ar-H), 7,99 (д, J=7,9 Гц, 2H, Ar-H), 8,06 (д, J=8,2 Гц, 1H, Ar-H), 8,13 (с, 1H, Ar-H), 8,39-8,42 (м, 2H, Ar-H), 8,75 (д, J=5,1 Гц, 1H, Ar-H), 9,22 (т, J=5,6 Гц, 1H, -CONH), 9,62 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 573 (M+1).

Приклад 44

Отримання N-(4-((2-амінофенілкарбамоїл)бензил)-6-(8-трифторметилхінолін-4-ілокси)-1-нафтаміду



Вказану в заголовку сполуку (47,3 мг, вихід 78 %) отримували у вигляді твердої речовини коричневого кольору з 6-(8-трифторметилхінолін-4-ілокси)-1-нафтоєвої кислоти (38,3 мг, 0,1 ммоль) і 6-(амінометил)-N-(2-амінофеніл)нікотинаміду (29,0 мг, 0,12 ммоль) процедурою, аналогічною процедурі, описаній в прикладі 16. ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 4,64 (д, J=5,6 Гц, 2H, -CH₂), 4,87 (с, 2H, бензол-NH₂), 6,60 (т, J=7,2 Гц, 1H, Ar-H), 6,78 (д, J=7,8 Гц, 1H, Ar-H), 6,89 (д, J=5,1 Гц, 1H, Ar-H), 6,97 (т, J=7,2 Гц, 1H, Ar-H), 7,18 (д, J=7,9 Гц, 1H, Ar-H), 7,53-7,66 (м, 4H, Ar-H), 7,74 (д, J=6,9 Гц, 1H, Ar-H), 7,83 (т, J=7,9 Гц, 1H, Ar-H), 7,95-8,08 (м, 4H, Ar-H), 8,29 (д, J=7,0 Гц, 1H, Ar-H), 8,42 (д, J=9,1 Гц, 1H, Ar-H), 8,69 (д, J=8,3 Гц, 1H, Ar-H), 8,86 (д, J=5,0 Гц, 1H, Ar-H), 9,22 (т, J=5,5 Гц, 1H, -CONH), 9,61 (с, 1H, бензол-NH). LC-MS (m/z) 607 (M+1).

Приклад 45

Отримання таблеток

Склад (1000 таблеток):

Сполука 31	5 г
Мікрокристалічна целюлоза	90 г
Карбоксиметилкрохмаль натрію	5 г
4 % розчин полівідону (K30) в абсолютному етанолі	50 г
Порошок тальку	0,5 г

Сполуки 31 просівали через сито 100 меш. Мікрокристалічну целюлозу, карбоксиметилкрохмаль натрію і порошок тальку відповідно просівали через сито 80 меш. Мікрокристалічну целюлозу і карбоксиметилкрохмаль натрію відважували у кількості, що включається в склад, і однорідно змішували зі сполукою 31 способом ступінчастого додавання. Для отримання вологих гранул додавали прийнятну кількість 4 % розчину полівідону (K30) в абсолютному етанолі. Гранули сушили і додавали порошок тальку у кількості, що включається в склад. Потім проводили пресування для отримання таблеток.

Приклад 46

Отримання капсул

Склад (1000 капсул):

Сполука 31	5 г
Мікрокристалічна целюлоза	55 г
Лактоза	35 г
Карбоксиметилкрохмаль натрію	5 г
Стеарат магнію	0,5 г

Сполуку 31 просівали через сито 100 меш. Мікрокристалічну целюлозу, лактозу, карбоксиметилкрохмаль натрію і стеарат магнію відповідно просівали через сито 80 меш.

Мікрокристалічну целюлозу, лактозу і карбоксиметилкрохмаль натрію відважували у кількості, що включається в склад, і однорідно змішували зі сполукою 31 способом ступінчастого додавання. Потім стеарат магнію додавали у кількості, що включається в склад, і однорідно змішували. Потім проводили заповнення капсул для отримання готових до вживання капсул.

5 Приклад 47

Отримання ін'єкційного препарату

Склад:

Сполука 31	1,00 мг
ДМСО	0,10 мл
Етанол	1,00 мл

Сполуку 31 розчиняли в ДМСО і потім додавали етанол для отримання ін'єкційного препарату.

10 Приклад 48

Аналіз залежної від лігандів PDGF і VEGF клітинної проліферації під дією сполук формули (I)

Вимірювання інгібування *in vivo* залежної від рецепторних лігандів клітинної проліферації:

1. PDGF-залежна клітинна проліферація:

15 Методами інженерії конструювали лінію клітин мишачих фібробластів NIH-3T3 для стабільної експресії людського PDGFR β і використовували для оцінки PDGF-залежної клітинної проліферації. Експресуючі людський PDGFR β клітини NIH-3T3 висівали в 96-ямкові планшети в кількості 5000 на ямку і інкубували протягом ночі в безсироватковому середовищі через 24 години. Додавали підлягаючі тестуванню сполуки і PDGF BB (50 нг/мл) і клітини інкубували
20 протягом 72 годин в безсироватковому середовищі. Впливи на проліферацію визначали способом MTS (Promega), відповідно до інструкції. Інкубацію виконували протягом 2 годин при 37°C в інкубаторі в атмосфері CO₂, і спектральну поглинальну здатність при 490 нм вимірювали з використанням зчитувального пристрою планшет ELISA (імуноферментного аналізу).

2. VEGF-залежна клітинна проліферація:

25 Клітини HUVEC висівали в 96-ямкові планшети в кількості 6000 на ямку і через 24 години інкубували в безсироватковому середовищі протягом 2 годин. Додавали підлягаючі тестуванню сполуки і VEGF 165 (50 нг/мл) і інкубували протягом 72 годин в безсироватковому середовищі. Впливи на проліферацію визначали способом MTS (Promega), відповідно до інструкції. Інкубацію виконували протягом 2 годин при 37°C в інкубаторі в атмосфері CO₂, і спектральну поглинальну здатність при 490 нм вимірювали з використанням зчитувального пристрою
30 планшет ELISA.

Експериментальні результати показані в таблиці 2.

Таблиця 2

Приклад (сполуки)	GI ₅₀ , нМ (залежна від ліганду PDGF клітинна проліферація)	GI ₅₀ , нМ (залежна від ліганду VEGF клітинна проліферація)
16	48	3
17	40	3
18	15	7
19	11	23
20	23	6
21	19	5
22	372	3
23	148	18
25	69	13
31	46	5
32	20	2
33	300	8
34	248	90
35	5	1
36	3	2
37	159	4
38	74	25
39	32	107

Продовження таблиці 2

40	1000	1000
41	479	105
42	48	1000
43	1000	288
44	1000	1000

Приклад 49

Інгібування *in vitro* загальної ферментативної активності HDAC і інгібування *in vivo* ферментної активності підтипу HDAC сполуками формули (I)

Аналіз загальної ферментативної активності HDAC *in vitro*:

Загальну ферментативну активність HDAC *in vitro* визначали з використанням набору для флуорометричного аналізу HDAC/виявлення лікарських засобів (BIOMOL), відповідно до інструкції виробника.

Принцип експерименту наступний: під дією гістондеацетилази (в експерименті використовувався ядерний екстракт клітин HeLa, який був багатий різноманітними підтипами HDAC), ацетильна група видаляється зі спеціального субстрату Fluor de Lys, таким чином, відкривається вільна аміногрупа. Після додавання проявника, субстрат продукує флуоресценцію. Для флуоресценції довжина хвиль збудження становить 360 нм, і довжина хвиль емісії 460 нм. Чим повніше деацетилювання субстрату, тим вища флуоресценція, яка викликається. За відсутності інгібіторів, величина флуоресценції приймається як контроль; коли інгібітор збуджується, величина викликаного флуоресценції буде знижена, тоді як у разі відсутності збудження ферменту (відповідного повному інгібуванню активності ферменту), величина флуоресценції не визначається. Загалом, після придушення, величини флуоресценції будуть складати від контрольної величини до відсутності флуоресценції. При проведенні аналізу субстрат з відсутністю флуоресценції використовується як 0, і контроль використовується як 1. Менша величина означає більш високу інгібіторну активність.

1. Додати аналітичний буфер, розбавлений трихостатин А і тестований інгібітор у відповідні ямки титраційного мікропланшета. У наступній таблиці представлені кількості, що використовуються для кожного реагенту різних типів аналізів.

Реагент	Аналітичний буфер	Екстракт HeLa (розведення)	Інгібітор (5×)	Субстрат Fluor de Lys™ (2×)
Без флуоресценції	25 мкл	0	0	25 мкл
Контроль	10 мкл	15 мкл	0	25 мкл
Трихостатин А	0	15 мкл	10 мкл	25 мкл
Тестований зразок	0	15 мкл	10 мкл	25 мкл

2. Додати розбавлений екстракт нуклеопотеїну HeLa у всі ямки, крім тих, які марковані як "пусті".

3. Дати можливість субстрату Fluor de Lys™ і зразкам в титраційному мікропланшеті урівноважитися до 25°C.

4. Ініціювати реакції HDAC додаванням розбавленого субстрату (25 мкл) в кожну ямку і ретельно змішати.

5. Дати можливість реакціям продовжуватися протягом 30 хвилин і потім зупинити їх додаванням проявника Fluor de Lys™ (50 мкл). Інкубувати планшет при кімнатній температурі (25°C) протягом 10-15 хв.

6. Зчитувати величини флуоресценції зразків на зчитувальному флуорометрі титраційних мікропланшетів при довжині хвиль збудження 369 нм і довжині хвиль емісії 451 нм.

Аналіз селективності інгібіторів відносно підтипів HDAC з використанням гена-репортера:

Різні підтипи HDAC можуть зв'язуватися з різними транскрипційними факторами і брати участь в регуляції експресії різних генів. Прийнятні регуляційні елементи для транскрипційних факторів вибираються для конструкції генів-репортерів, які можуть використовуватися для оцінки селективного інгібування підтипів HDAC інгібіторами. Коротко, клітини HeLa висівали в 96-ямкові планшети за день до трансфекції для забезпечення злиття 50-80 % при трансфекції. Клітини трансфекували плазмідом, що містить промоторну послідовність p21 або реактивний елемент вище по ходу транскрипції конструкта гена люцифери з використанням реагенту трансфекції FuGene6, відповідно до інструкції виробника (Roche). Для нормалізації

ефективності трансфекції, котрансфекували експресійну плазмиду GFP. Через 24 години додавали сполуки або контроль носія (DMCO). Через 24 години, клітини збирали і лізували і кількість люциферази оцінювали з використанням наборів аналізу люциферази (Promega), відповідно до інструкції виробника.

5 Експериментальні результати показані в таблиці 3.

Таблиця 3

Приклад (сполука)	% інгібування загальної ферментативної активності HDAC при 30 мкМ	HDAC класу I (аналіз репортера p21) Кратність індукції при 10 мкМ
CS055	50,4	33
16	8,6	1,3
17	22,5	1,1
18	17,1	1,1
19	21,9	1,4
20	21,9	1,5
21	18,6	1,1
22	17	1,1
23	49,4	11,3
25	47,9	12,1
31	10,1	1,6
32	21,7	1,8
33	39,1	2,8
34	38,8	5,0
35	19,3	1,2
36	14,4	1,2
37	35,9	3,0
38	39,3	3,1
39	15,9	1,2
40	22,2	1,3
41	19,3	1,1
42	6,2	1,3
43	38,7	6,1
44	35,1	3,2

CS055: хідамід, інгібітор HDAC, розроблений компанією Chemscreen Biosciences, має чудову протипухлинну активність і в даний час проходить II стадію клінічних випробувань.

Приклад 50

Інгібування проліферації пухлинних клітин сполуками формули (I)

- 10 Пухлинні клітини трипсинізували і висівали в 96-ямкові планшети в кількості 3000 на ямку і інкубували в повному середовищі з 10 % FBS (фетальною телячою сироваткою) протягом 24 годин. Додавали підлягаючі тестуванню сполуки і носія, і кінцева концентрація сполук знаходилася в діапазоні від 100 нмоль/л до 100 мкмоль/л. Сполуки інкубували протягом 72 годин в повному середовищі. Додавали реагент MTS (Promega) відповідно до інструкції,
- 15 інкубували протягом 2 годин при 37°C в інкубаторі в атмосфері CO₂. Потім показники спектральної поглинальної здатності при 490 нм зчитували з використанням зчитувального пристрою планшет ELISA.

Експериментальні результати представлені в таблиці 4.

Таблиця 4

Приклад (сполука)	GI ₅₀ , мкМ в А-498	GI ₅₀ , мкМ в А549	GI ₅₀ , мкМ в Bel-7402	GI ₅₀ , мкМ в НСТ-8	GI ₅₀ , мкМ в MCF-7
CS055	12,08	11,15	18,93	7,711	3,865
16	30,0	30,0	30,0	12,3	30,0
17	30,0	30,0	30,0	3,0	30,0
18	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
19	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
20	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
21	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
22	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
23	14,7	30,0	30,0	5,7	4,3
25	14,7	30,0	30,0	4,9	6,1
31	9,5	17,3	30,0	6,6	10,2
32	7,5	8,3	17,3	6,6	15,9
33	1,9	2,1	2,8	1,5	2,0
34	7,9	11,2	17,7	5,5	5,2
35	9,1	7,7	19,5	8,9	13,3
36	4,2	7,4	12,1	4,1	8,9
37	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0
38	6,9	30,0	30,0	8,0	9,4
39	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
40	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
41	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
42	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
43	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.
44	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.	н.в.

н.в.*: не визначалося

CS055: хідамід, інгібітор HDAC, розроблений компанією Chipseen Biosciences, має чудову протипухлинну активність і в цей час проходить II стадію клінічних випробувань.

Приклад 51

5 Інгібування сполукою 31 клітин ракової пухлини легень людини А549, трансплантованих голим мишам

10 Самиць мишей пу/пу з масою тіла приблизно 14-16 г годували нормальним раціоном протягом 3 днів. Потім культивовані клітини ракової пухлини легень людини А549 імплантували в пахову западину 50 мишам. Коли пухлини досягали діаметра більшого 6 мм, мишей ділили на 6 груп випадковим методом. Кожна група включала 8 мишей. Одну групу лікували носієм. 10 Одну групу лікували сутентом, лікарським засобом позитивного контролю. Інші чотири групи лікували сполукою 31 в дозах 5, 10, 20 і 40 мг/кг маси тіла. Кожна група отримувала засіб, що вводиться перорально один раз на день протягом 24 днів. Об'єм пухлин нарівні з масою тіла реєстрували двічі на тиждень. На наступний день після введення 24 доз мишей умертвляли, і пухлини зважували. Інгібування зростання пухлин в кожній групі розраховували, 15 використовуючи наступну формулу:

$$\{[(\text{середня маса пухлин контрольної групи}) - (\text{середня маса пухлин тестованої групи})] / (\text{середню масу пухлин контрольної групи})\} \times 100 \%$$

Експериментальні результати представлені в таблиці 5 і на фіг. 1.

Таблиця 5

Група ^a	Доза (мг/кг)	Маса тіла (г)		Маса пухлини (г)	TGI (%) ^b	P
		початок	кінець			
Носій	-	20,3±0,9	25,4±2,3	4,20±0,75	-	-
Сутент	40	20,3±1,4	24,4±2,3	2,06±0,71	50,9	<0,001
Сполука 31	40	20,0±0,9	22,6±2,4	1,06±0,54	4,8	<0,001
Сполука 31	20	20,6±1,1	24,2±0,7	1,50±0,41	4,3	<0,001
Сполука 31	10	19,9±1,3	25,1±1,3	2,13±0,51	9,4	<0,001
Сполука 31	5	21,1±0,6	24,6±1,3	2,20±0,57	7,6	<0,001

^a n=8 тварин на групу. ^b Інгібування зростання пухлини.

Приклад 52

Інгібування сполукою 31 клітин ракової пухлини

5 ободової кишки людини НСТ-8, трансплантованих голим мишам

Самиць мишей пу/пу з масою тіла приблизно 18-20 г годували нормальним раціоном протягом 3 днів. Потім культивовані клітини ракової пухлини ободової кишки людини НСТ-8 імплантували в пахову западину 50 мишам. Коли пухлини досягали об'єму не меншого 100 мм³, мишей ділили на 6 груп випадковим методом. Кожна група включала 8 мишей. Одну групу лікували носієм. Одну групу лікували сутентом, лікарським засобом позитивного контролю. Інші чотири групи лікували сполукою 31 в дозах 2,5, 5, 10 і 20 мг/кг маси тіла. Кожна група отримувала засіб, що вводиться перорально один раз на день протягом 24 днів. Об'єм пухлин нарівні з масою тіла реєстрували двічі на тиждень. На наступний день після введення 20 доз мишей умертвляли, і пухлини зважували. Інгібування зростання пухлин в кожній групі розраховували, використовуючи наступну формулу:

15
$$\frac{[(\text{середня маса пухлин контрольної групи}) - (\text{середня маса пухлин тестованої групи})]}{(\text{середню масу пухлин контрольної групи})} \times 100 \%$$

Експериментальні результати представлені в таблиці 6 і на фіг. 2.

Таблиця 6

Група ^a	Доза (мг/кг)	Маса тіла (г)		Маса пухлини (г)	TGI (%) ^b	P
		початок	кінець			
Носій	-	20,8±1,0	22,1±2,1	4,78±1,99	-	-
Сутент	40	21,5±0,7	22,4±1,1	0,23±0,07	95,3	<0,001
Сполука 31	20	20,5±1,3	22,5±1,6	0,19±0,06	96,1	<0,001
Сполука 31	10	20,7±1,1	23,7±0,8	0,46±0,15	90,3	<0,001
Сполука 31	5	21,6±0,8	24,8±1,5	0,78±0,25	83,8	<0,001
Сполука 31	2,5	20,3±0,8	24,5±1,1	2,18±1,28	54,5	<0,001

^a n=8 тварин на групу. ^b Інгібування зростання пухлини.

Приклад 53

Інгібування сполукою 31 клітин ракової пухлини ободової кишки людини SSMC7721, трансплантованих голим мишам

Самиць мишей пу/пу з масою тіла приблизно 18-20 г годували нормальним раціоном протягом 3 днів. Потім культивовані клітини ракової пухлини ободової кишки людини SSMC7721 імплантували в пахову западину 50 мишам. Коли пухлини досягали об'єму не меншого 100 мм³, мишей ділили на 6 груп випадковим методом. Кожна група включала 8 мишей. Одну групу лікували носієм. Одну групу лікували сутентом, лікарським засобом позитивного контролю. Інші чотири групи лікували сполукою 31 в дозах 2,5, 5, 10 і 20 мг/кг маси тіла. Кожна група отримувала засіб, що вводиться перорально один раз на день протягом 24 днів. Об'єм пухлин нарівні з масою тіла реєстрували двічі на тиждень. На наступний день після введення 24 доз мишей умертвляли, і пухлини зважували. Інгібування зростання пухлин в кожній групі розраховували, використовуючи наступну формулу:

35
$$\frac{[(\text{середня маса пухлин контрольної групи}) - (\text{середня маса пухлин тестованої групи})]}{(\text{середню масу пухлин контрольної групи})} \times 100 \%$$

Експериментальні результати представлені в таблиці 7 і фіг. 3.

Таблиця 7

Група ^a	Доза (мг/кг)	Маса тіла (г)		Маса пухлини (г)	TGI (%) ^b	P
		початок	кінець			
Носій	-	20,8±0,8	25,1±1,5	4,78±1,99	-	-
Сутент	40	21,0±0,8	24,8±1,2	1,00±0,68	70,3	<0,001
Сполука 31	20	20,2±1,7	21,0±2,2	0,53±0,28	84,4	<0,001
Сполука 31	10	20,4±1,6	23,6±1,5	0,70±0,45	79,2	<0,001
Сполука 31	5	20,8±1,2	24,8±1,5	1,16±0,55	65,4	<0,001
Сполука 31	2,5	20,1±0,9	23,2±2,1	1,63±0,70	51,7	<0,001

^a n=8 тварин на групу. ^b Інгібування зростання пухлини.

Приклад 54

Інгібування сполукою 33 і сполукою 34 клітин ракової пухлини

5 ободової кишки людини НСТ-8, трансплантованих голим мишам

Самиць мишей пу/пу з масою тіла приблизно 18-20 г годували нормальним раціоном протягом 3 днів. Потім культивовані клітини ракової пухлини ободової кишки людини НСТ-8 імплантували в пахову западину 50 мишам. Коли пухлини досягали об'єму не меншого 100 мм³, мишей ділили на 6 груп випадковим методом. Кожна група включала 8 мишей. Одну групу лікували носієм. Одну групу лікували сутентом, лікарським засобом позитивного контролю. Дві групи лікували сполукою 33 в різних концентраціях. Дві інші групи лікували сполукою 34 в різних концентраціях. Кожна група отримувала засіб, що вводиться перорально один раз на день протягом 20 днів. Об'єм пухлин нарівні з масою тіла реєстрували двічі на тиждень. На наступний день після введення 20 доз мишей умертвляли, і пухлини зважували. Інгібування зростання пухлин в кожній групі розраховували, використовуючи наступну формулу:

15
$$\frac{[(\text{середня маса пухлин контрольної групи}) - (\text{середня маса пухлин тестованої групи})]}{(\text{середню масу пухлин контрольної групи})} \times 100 \%$$

Експериментальні результати представлені в таблиці 8 і на фіг. 4.

Таблиця 8

Група ^a	Доза (мг/кг)	Маса тіла (г)		Маса пухлини (г)	TGI (%) ^b	P
		початок	кінець			
Носій	-	19,4±1,6	21,2±2,4	4,08±0,95	-	-
Сутент	40	20,6±1,2	22,1±1,5	0,44±0,15	70,3	<0,001
Сполука 33	60	19,4±0,8	21,4±1,5	1,98±0,61	51,5	<0,001
Сполука 33	30	19,0±1,3	21,1±2,2	2,31±0,43	43,3	<0,001
Сполука 34	60	19,6±1,1	21,6±2,3	2,74±0,77	32,7	<0,001
Сполука 34	30	19,7±1,2	21,2±1,9	3,95±0,73	3,07	<0,05

^a n=8 тварин на групу. ^b Інгібування зростання пухлини.

Приклад 55

Інгібування сполукою 33 і сполукою 37 клітин ракової пухлини

ободової кишки людини НСТ-8, трансплантованих голим мишам

Самиць мишей пу/пу з масою тіла приблизно 18-20 г годували нормальним раціоном протягом 3 днів. Потім культивовані клітини ракової пухлини ободової кишки людини НСТ-8 імплантували в пахову западину 50 мишам. Коли пухлини досягали об'єму не менше 100 мм³, мишей ділили на 6 груп випадковим методом. Кожна група включала 8 мишей. Одну групу лікували носієм. Одну групу лікували сутентом, лікарським засобом позитивного контролю. Дві групи лікували сполукою 33 в різних концентраціях. Дві інші групи лікували сполукою 37 в різних концентраціях. Сполуки 33 вводили двічі на день з інтервалом 6 годин. Для інших груп введення виконували один раз на день. Кожна група отримувала засіб, що вводиться перорально один раз на день протягом 20 днів. Об'єм пухлин нарівні з масою тіла реєстрували двічі на тиждень. На наступний день після введення 20 доз мишей умертвляли, і пухлини зважували. Інгібування зростання пухлин в кожній групі розраховували, використовуючи наступну формулу:

35
$$\frac{[(\text{середня маса пухлин контрольної групи}) - (\text{середня маса пухлин тестованої групи})]}{(\text{середню масу пухлин контрольної групи})} \times 100 \%$$

Експериментальні результати представлені в таблиці 9 і на фіг. 5.

Таблиця 9

Група ^a	Доза (мг/кг)	Маса тіла (г)		Маса пухлини (г)	TGI (%) ^b	P
		початок	кінець			
Носій	-	21,1±0,7	23,4±1,5	6,13±0,28	-	-
Сутент	40	21,3±0,6	23,7±0,8	0,29±0,08	95,3	<0,001
Сполука 33	60×2	20,1±0,9	19,0±1,8	0,45±0,05	92,6	<0,001
Сполука 33	30×2	21,1±1,2	22,6±1,6	0,73±0,36	88,1	<0,001
Сполука 37	60	20,8±0,8	24,1±2,1	3,36±0,80	45,1	<0,001
Сполука 37	30	20,6±0,8	23,6±2,2	3,89±1,19	36,5	<0,001

^a n=8 тварин на групу. ^b Інгібування зростання пухлини.

Приклад 56

5 Інгібування сполукою 33 і сполукою 37 клітин ракової пухлини печінки людини SSMC7721, трансплантованих голим мишам

Самиць мишей пу/пу з масою тіла приблизно 18-20 г годували нормальним раціоном протягом 3 днів. Потім культивовані клітини ракової пухлини печінки людини SSMC7721 імплантували в пахвову западину 50 мишам. Коли пухлини досягали об'єму не менше 100 мм³, мишей ділили на 6 груп випадковим методом. Кожна група включала 8 мишей. Одну групу лікували носієм. Одну групу лікували сутентом, лікарським засобом позитивного контролю. Дві групи лікували сполукою 33 в різних концентраціях. Дві інші групи лікували сполукою 37 в різних концентраціях. Кожна група отримувала засіб, що вводиться перорально один раз на день протягом 30 днів. Об'єм пухлин нарівні з масою тіла реєстрували двічі на тиждень. На наступний день після введення 30 доз мишей умертвляли, і пухлини зважували. Інгібування зростання пухлин в кожній групі розраховували, використовуючи наступну формулу:

$$\frac{\{[(\text{середня маса пухлин контрольної групи}) - (\text{середня маса пухлин тестованої групи})]\}}{(\text{середню масу пухлин контрольної групи})} \times 100 \%$$

Експериментальні результати представлені в таблиці 10 і на фіг. 6.

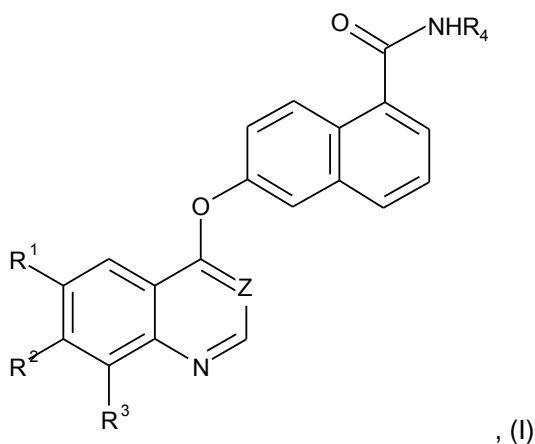
Таблиця 10

Група ^a	Доза (мг/кг)	Маса тіла (г)		Маса пухлини (г)	TGI (%) ^b	P
		початок	кінець			
Носій	-	21,1±0,4	24,5±1,6	2,25±0,85	-	-
Сутент	40	21,2±1,1	24,0±0,6	0,88±0,39	61,1	<0,001
Сполука 33	60	21,4±1,3	25,4±2,8	1,48±0,89	34,4	>0,05
Сполука 33	30	20,8±0,5	24,0±1,7	1,63±0,47	27,8	>0,05
Сполука 37	60	21,4±0,6	24,3±1,1	1,28±0,51	43,3	<0,05
Сполука 37	30	20,7±1,2	25,3±0,9	1,45±0,58	35,6	<0,05

^a n=8 тварин на групу. ^b Інгібування зростання пухлини.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука формули I:

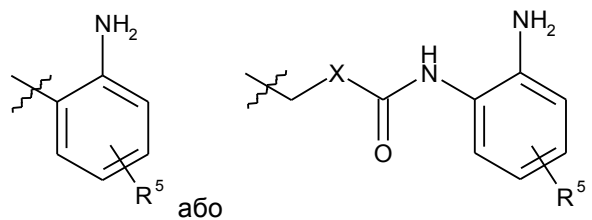


де

Z представляє CH або N;

кожна з груп R^1 , R^2 і R^3 представляє водень, галоген, алкіл, алкокси або трифторметил;

R^4 представляє



X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;

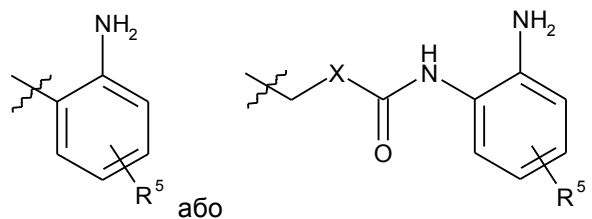
R^5 представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу.

2. Сполука за п. 1, де

Z представляє CH;

кожна з груп R^1 , R^2 і R^3 представляє водень, галоген, алкіл, алкокси або трифторметил;

R^4 представляє



X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;

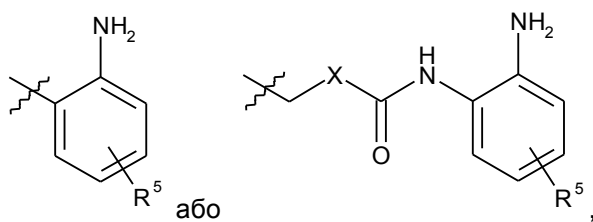
R^5 представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу.

3. Сполука за п. 1,

де Z представляє CH;

кожна з груп R^1 , R^2 і R^3 представляє водень або алкокси;

R^4 представляє



X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;

R⁵ представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу.

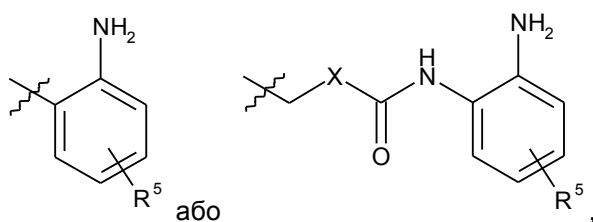
4. Сполука за п. 1,

де Z представляє CH;

кожна з груп R¹ і R² представляє водень або метокси;

R³ представляє H;

R⁴ представляє



X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;

R⁵ представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу.

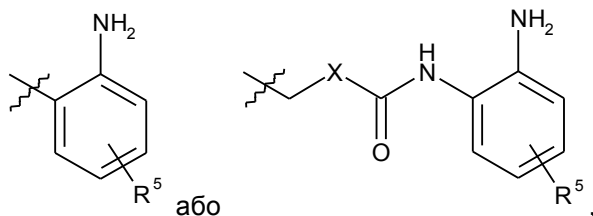
5. Сполука за п. 1,

де Z представляє CH;

кожна з груп R¹ і R² представляє водень або метокси;

R³ представляє H;

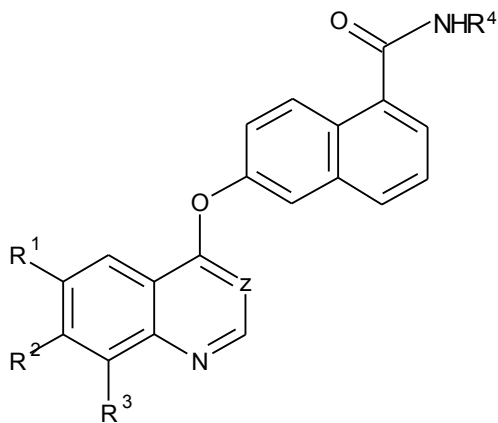
R⁴ представляє



X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;

R⁵ представляє H або F.

6. Спосіб отримання сполуки формули I



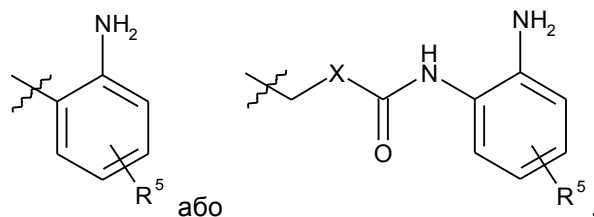
, (I)

де

Z представляє CH або N;

кожна з груп R^1 , R^2 і R^3 представляє водень, галоген, алкіл, алкокси або трифторметил;

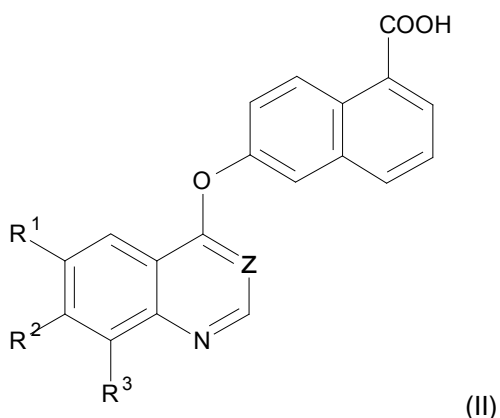
R^4 представляє



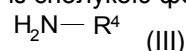
X представляє бензольне кільце або піридинове кільце;

R^5 представляє один або більше замісників, вибраних з групи, яка складається з водню, галогену, алкілу, алкокси і трифторметилу;

в якому здійснюють взаємодію
сполуки формули (II)



із сполукою формули (III)



в присутності органічного розчинника і пептидного конденсуючого агента з утворенням сполуки формули (I).

7. Спосіб за п. 6, де вказаний пептидний конденсуючий агент вибирають з групи, яка складається з 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду (EDC), N,N'-дициклогексилкарбодііміду (DCC) і N,N'-карбонілдіімідазолу (CDI).

8. Спосіб за п. 6, де вказаний органічний розчинник вибирають з групи, яка складається з бензолу, толуолу, тетрагідрофурану, 1,4-діоксану, дихлорметану, хлороформу і N,N'-диметилформаміду.

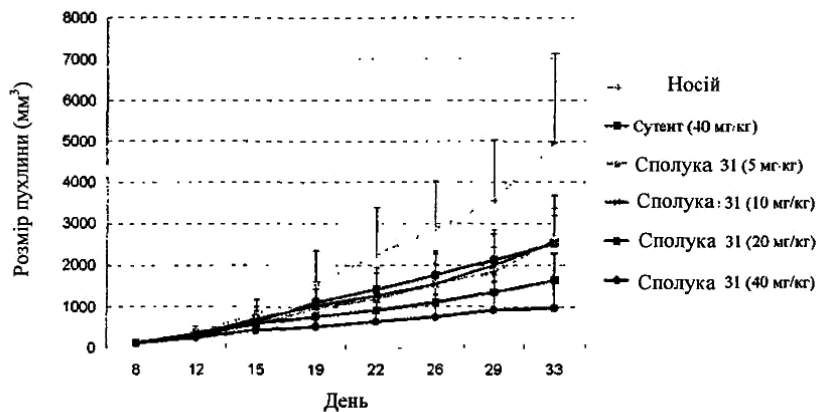
9. Фармацевтичний препарат для лікування захворювань, пов'язаних з аномальною активністю протеїнкінази або аномальною активністю гістондеацетилази, що містить сполуку формули (I) за п. 1 і фармацевтично прийнятний носій, ексципієнт або розріджувач.

10. Фармацевтичний препарат за п. 9 у формі таблетки, капсули, порошку, сиропу, розчину, суспензії, ін'єкції або мазі.

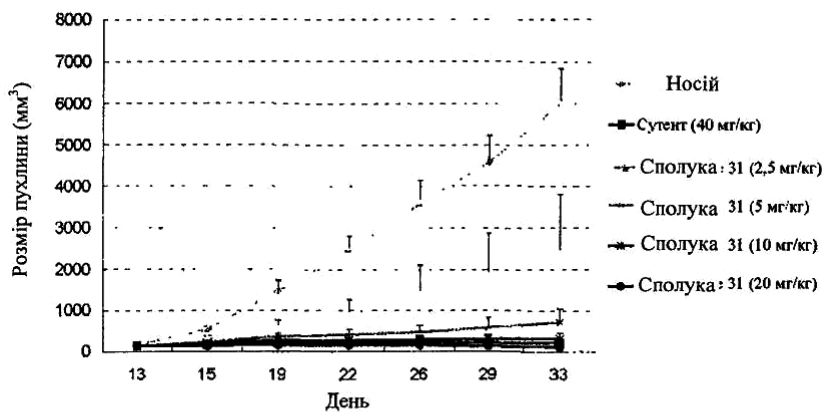
11. Застосування сполуки за п. 1 для отримання лікарського засобу для лікування запальних захворювань, аутоімунних захворювань, онкологічних захворювань, захворювань нервової системи і нейродегенеративних захворювань, алергій, астми, серцево-судинних захворювань і метаболічних захворювань або захворювань, пов'язаних з гормональними розладами.

12. Застосування фармацевтичного препарату за п. 9 для отримання лікарського засобу для лікування запальних захворювань, аутоімунних захворювань, онкологічних захворювань, захворювань нервової системи і нейродегенеративних захворювань, алергій, астми, серцево-судинних захворювань і метаболічних захворювань або захворювань, пов'язаних з гормональними розладами.

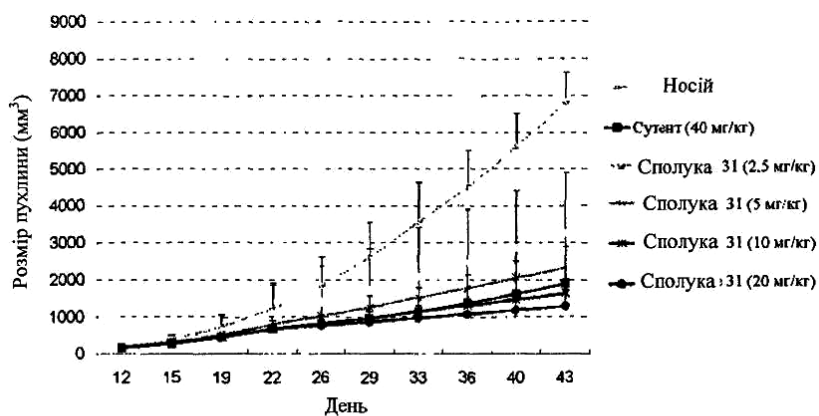
13. Фармацевтичний препарат за п. 9, що містить вказану сполуку формули (I) в кількості в діапазоні від 0,001 до 200 мг.



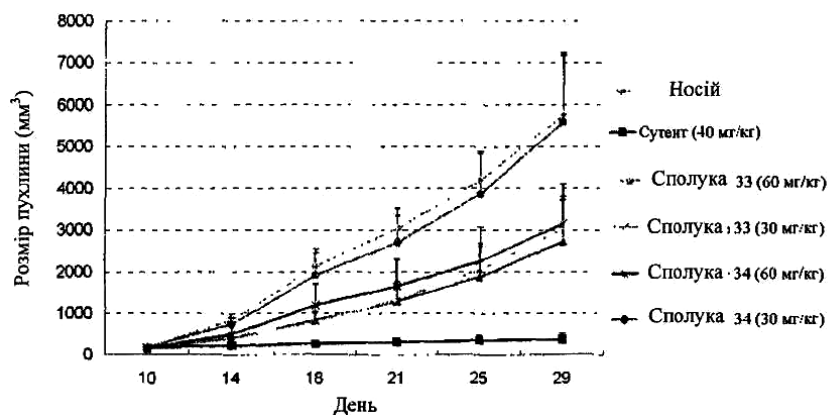
Фіг. 1



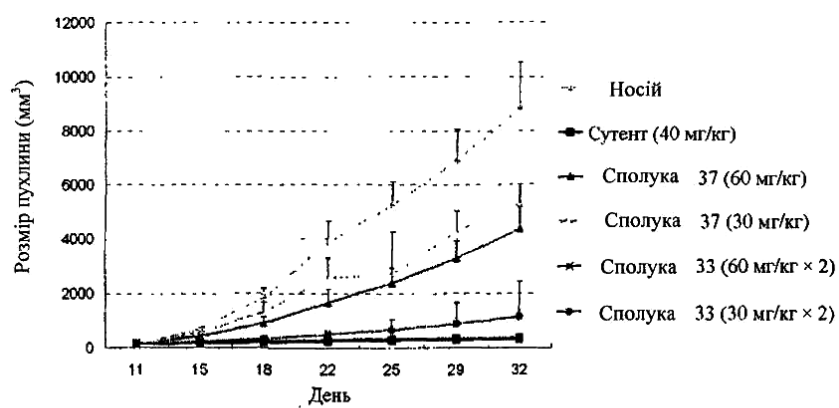
Фіг. 2



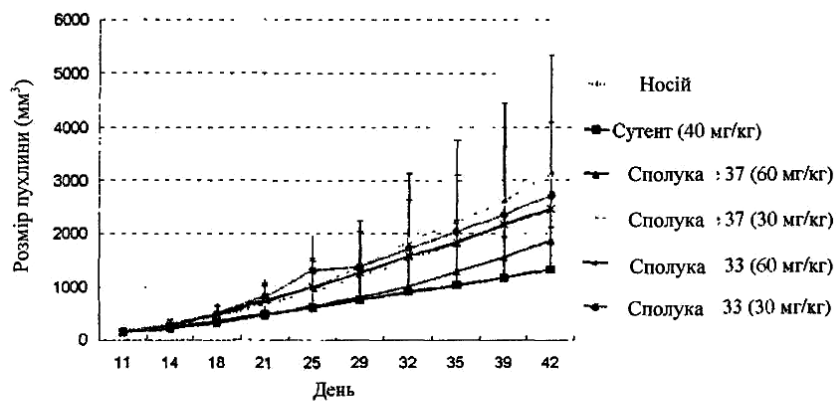
Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5



Фіг. 6

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601