



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 80472

(13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 31/496

A61K 31/4709

A61K 31/4706

A61P 9/10 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) 4-[(2,4-ДИХЛОР-5-МЕТОКСИФЕНІЛ)АМІНО]-6-АЛКОКСИ-3-ХІНОЛІНКАРБОНІТРИЛИ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ

1

2

(21) а200508924

(22) 19.02.2004

(24) 25.09.2007

(86) PCT/US2004/004904, 19.02.2004

(31) 60/449,316

(32) 21.02.2003

(33) US

(46) 25.09.2007, Бюл. № 15, 2007 р.

(72) Бошеллі Дайан Харріс, US, Залеска Маргарет Марія, US, Бошеллі Френк Чарльз, US, Арндт Кім Тімоті, US

(73) УАЙТ, US

(56) D. BERGER ET AL.: "Substituted 4-Anilino-7-phenyl-3-quinolinecarbonitriles as Src Kinase Inhibitors" BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 12, no. 20, 21 October 2001 (2001-10-21), pages 2989-2992, XP002285246 ENGLAND

US 2002/026052 A1 28.02.2002

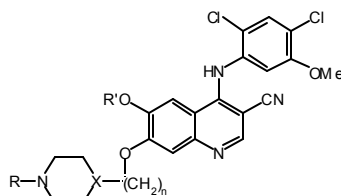
R. PAUL ET AL.: "Src deficiency or blockade of Src activity in mice provides cerebral protection following stroke" NATURE MEDICINE, vol. 7, no. 2, February 2001 (2001-02), pages 222-227, XP002285247 USA

D. BOSCELLI ET AL.: "Investigation of the Effect of Varying the 4-Anilino and 7-Alkoxy Groups of 3-Quinolinecarbonitriles on the Inhibition of Src Kinase Activity" BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 13, no. 21, 3 November 2003 (2003-11-03), pages 3797-3800, XP002285248 ENGLAND

WO 2004/032709 A 22.04.2004

WO 03/093241 A 13.11.2003

(57) 1. Спосіб забезпечення нейропротективної дії у хворого після виявлення цереброваскулярного ішемічного симптому (події), що включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки формули



I,

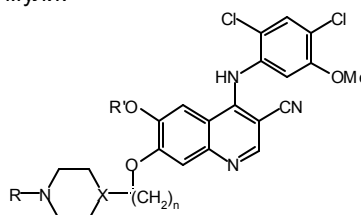
де:

Х являє собою N, CH,

n дорівнює цілому числу від 1 до 3; i

R' і R незалежно являють собою C<sub>1</sub>-залкільні групи, і її фармацевтично прийнятної солі; за умови, що коли n дорівнює 1, X не є N.

2. Спосіб інгібування неврологічних дефіцитних станів у хворого після виявлення цереброваскулярного ішемічного симптому, що включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки формули:



I,

де:

Х являє собою N, CH,

n дорівнює цілому числу від 1 до 3; i

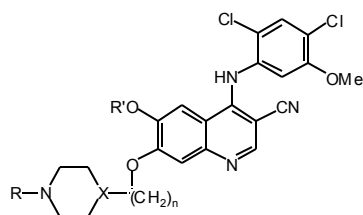
R' і R незалежно являють собою C<sub>1</sub>-залкільні групи, і її фармацевтично прийнятної солі; за умови, що коли n дорівнює 1, X не є N.

3. Спосіб скорочення об'ємів інфаркту у хворого після цереброваскулярної ішемічної події, що включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки формули:

(13) C2

(11) 80472

(19) UA



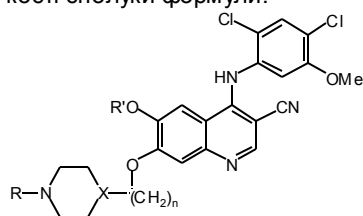
де:

X являє собою N, CH,

n дорівнює цілому числу від 1 до 3; i

R' і R незалежно являють собою C<sub>1-3</sub>-алкільні групи, і її фармацевтично прийнятної солі; за умови, що коли n дорівнює 1, X не є N.

4. Спосіб інгібування постішемичної судинної проникності мозкових кровоносних судин у хворого, що страждає на цереброваскулярний стан, який включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки формули:



де:

X являє собою N, CH,

n дорівнює цілому числу від 1 до 3; i

R' і R незалежно являють собою C<sub>1-3</sub>-алкільні групи, і її фармацевтично прийнятної солі; за умови, що коли n дорівнює 1, X не є N.

5. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, де R' являє собою метил.

6. Спосіб за будь-яким з пп. 1-5, де R являє собою метил або етил.

7. Спосіб за будь-яким з пп. 1-6; де X являє собою N.

8. Спосіб за будь-яким з пп. 1-6, де X являє собою CH.

9. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, де сполука являє собою:

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(4-метил-1-піперазиніл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-7-[3-(4-етил-1-піперазиніл)пропокси]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[2-(4-метил-1-піперазиніл)етокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-7-[2-(4-етил-1-піперазиніл)етокси]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-7-[(1-етилпіперидин-4-іл)метокси]-6-метоксихінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(4-метилпіперазин-1-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(4-етилпіперазин-1-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(4-метил-1-піперазиніл)етокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]хінолін-3-карбонітрил або

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(4-пропіл-1-піперазиніл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил; і їх фармацевтично прийнятні солі.

10. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, в якому сполуку вводять між приблизно 6 і приблизно 24 годинами після ішемичної події.

11. Спосіб за будь-яким з пп. 1-10, в якому терапевтично ефективна кількість складає від приблизно 1 мг/кг до приблизно 30 мг/кг.

12. Спосіб за будь-яким з пп. 1-11, що включає введення сполуки формули I внутрішньовенно.

13. Спосіб за будь-яким з пп. 1-12, в якому пацієнтом є людина.

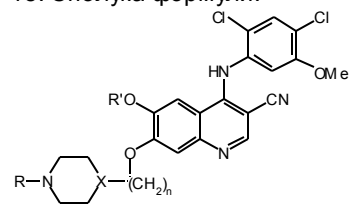
14. Спосіб за будь-яким з пп. 1-13, в якому ішемічна подія є транзиторною.

15. Спосіб за будь-яким з пп. 1-13, в якому ішемічна подія є гострою.

16. Спосіб за будь-яким з пп. 1-15, в якому ішемічна подія (стан) являє собою інсульт, травму голови, травму спинного мозку, загальну анексію або гіпоксію.

17. Спосіб за будь-яким з пп. 1-15, в якому ішемічна подія відбувається під час внутрішньочерепного крововиливу, перинатальної асфіксії, зупинки серця або епілептичного статусу.

18. Сполука формули:



де:

n дорівнює цілому числу від 1 до 3; i

R' і R незалежно являють собою C<sub>1-3</sub>-алкільні групи, і її фармацевтично прийнятні солі.

19. Сполука за п. 18, де R' являє собою метил.

20. Сполука за п. 18 або п. 19, де R являє собою метил або етил.

21. Сполука, яка являє собою:

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-7-[(1-етилпіперидин-4-іл)метокси]-6-метоксихінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил або

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]хінолін-3-карбонітрил;

та їх фармацевтично прийнятні солі.

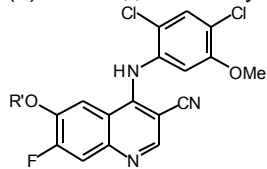
22. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за будь-яким з пп. 18-21 і фармацевтично прийнятний носій або ексципієнт.

23. Фармацевтична композиція, що містить інгібуючу судинну проникність кількість сполуки за будь-яким з пп. 1-9 і фармацевтичний носій або ексципієнт.

24. Композиція за п. 21 у внутрішньовенній дозованій формі.

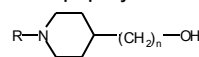
25. Спосіб отримання сполуки за будь-яким з пп. 18-21, що включає:

(а) взаємодію хіноліну формули

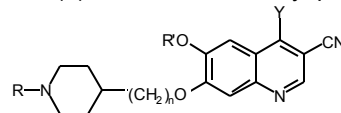


Інсульт є третьою з основних причин смерті та головною причиною інвалідності в США, де кожного року відбувається приблизно 750000 інсультів. Приблизно 80% від цього числа складають ішемічні інсульти, а первинні внутрішньомозкові геморагічні інсульти приблизно 15-20%. До даного часу єдиним схваленим ефективним лікуванням гострого ішемічного мозкового інфаркту є тромболітична терапія за допомогою внутрішньовенного введення t-PA-рекомбінантного тканинного активатора плазміногена. Користь від цього лікування надзвичайно обмежена. Його необхідно проводити в межах тригодинного вікна від появи симптомів, у той час як більшість пацієнтів шукає та/або отримує лікування з істотною затримкою. Крім того, лікування t-PA супроводжується підвищенням ризиком внутрішньомозкового крововиливу - потенційно руйнівного ускладнення. Перед лікуванням необхідно виключити крововилив, а протягом лікування t-PA і після нього треба ретельно управляти кро-

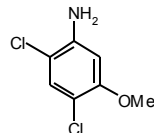
де R' має значення, як визначено в п. 18, зі спиртом формули



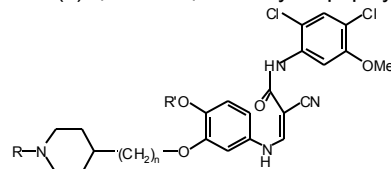
де R і n мають значення, як визначено в п. 18, або (b) взаємодію хіноліну формули



де R, R' і n мають значення, як визначено в п. 18, і Y являє собою галоген, з аніліном формули



або (с) циклізацію сполуки формули

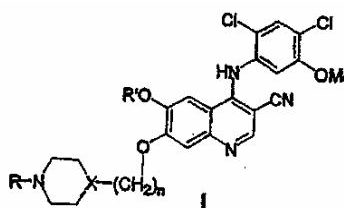


де R, R' і n мають значення, як визначено в п. 18, з отриманням необхідного хіноліну.

26. Застосування сполуки за будь-яким з пп. 1-9 для отримання лікарського препарату для забезпечення нейропротективної дії у хворого після вияву цереброваскулярного ішемічного симптому, інгібуння неврологічних розладів у хворого після вияву цереброваскулярного ішемічного симптому (події), скорочення об'ємів інфаркту у хворого після вияву цереброваскулярного ішемічного симптому або інгібуння постішемічної судинної проникності мозкових кровоносних судин у хворого, що страждає на цереброваскулярний стан.

в'яним тиском і моніторувати його. В даний час в наявності немає нейропротективної терапії для лікування ішемічного інсульту, геморагічного інсульту або мозкової травми. Потреба у нових способах лікування інсульту та інших станів, пов'язаних з судинною проникністю, дуже велика.

Відповідно до даного винаходу пропонуються сполуки структурної формули:



де:

X являє собою N, CH п дорівнює цілому числу від 1 до 3; i

R' і R незалежно являють собою C<sub>1</sub>-залкільні групи, та їх фармацевтично прийнятні солі, за умови, що якщо n дорівнює 1, X не є N.

Приклади C<sub>1</sub>-залкільних груп включають метил, етил, n-пропіл та ізопропіл.

У деяких переважних варіантах здійснення винаходу R' є метилом.

В інших переважних варіантах здійснення винаходу R' являє собою метил або етил.

У подальших варіантах здійснення винаходу n дорівнює 2 або 3.

X переважно являє собою N в деяких переважних варіантах здійснення винаходу.

В інших переважних варіантах здійснення X являє собою СН.

Фармацевтично прийнятні солі являють собою солі, які отримані з таких органічних і неорганічних кислот, як оцтова, молочна, карбонова, лимонна, корична, винна, бурштинова, фумарова, малеїнова, маленова, мигдалева, яблучна, щавлева, пропіонова, хлорводнева, бромводнева, фосфорна, азотна, сірчана, гліколева, піровиноградна, метансульфонова, етансульфонова, толуолсульфонова, саліцилова, бензойна та подібні відомі прийнятні кислоти.

Конкретні сполуки за винаходом включають:

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(4-метил-1-піперазиніл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-[3-(4-етил-1-піперазиніл)пропокси]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[2-(4-метил-1-піперазиніл)етокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-[2-(4-етил-1-піперазиніл)етокси]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]-3-хінолінкарбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-[(1-етилпіперидин-4-іл)метокси]-6-метоксихінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(4-метилпіперазин-1-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-етокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(4-етилпіперазин-1-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил;

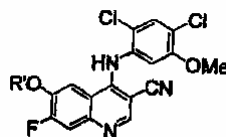
4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(4-метил-1-піперазиніл)етокси]хінолін-3-карбонітрил;

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]хінолін-3-карбонітрил і

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(4-пропіл-1-піперазиніл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил; та їх фармацевтично прийнятні солі.

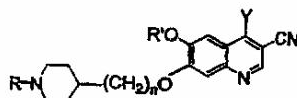
Також наданий спосіб отримання сполук формули I, де X являє собою СН, і всі інші групи є такими, як визначено вище, що включає:

(а) взаємодію хіноліну формули

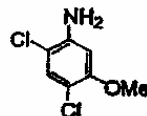


де R' визначений вище, зі спиртом формули R-N<sup>+</sup>fCH<sup>+</sup>OH

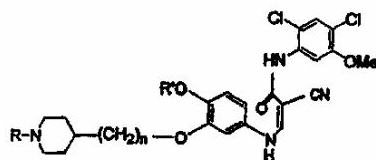
де R та n є такими, як визначено вище, необов'язково в присутності основи, наприклад, гідриду натрію або натрію, або (b) взаємодія хіноліну формули



де R, R' і n є такими, як визначено вище, і Y являє собою хлор або бром, з аніліном формули



необов'язково у прийнятній основі, наприклад, гідриди натрію або гідрохлориди піридину або (c) циклізацію сполуки формули



в необхідний хінолін, переважно в безводних умовах, наприклад, з використанням оксихлориду фосфору в ацетонітрилі, бутіронітрилі, толуолі або ксилолі, зі спиртами або амініми основами як каталізаторами, при прийнятній температурі, наприклад, 80-110°C, як описано [в патенті США 06/496191].

Сполуки за винаходом отримують як проілюстровано нижче. Сполуки за даним винаходом отримували з: (а) комерційно доступних вихідних речовин, (b) відомих вихідних речовин, які можуть бути отримані, як описано в літературних методиках або (c) нових проміжних сполук, наведених на схематично в експериментальних методиках даного опису.

Реакції здійснювали у розчиннику, що відповідає реактивам і речовинам, які використовуються, та є прийнятним для перетворення, що проводиться. Фахівцям в галузі органічного синтезу буде очевидно, що функціональні групи, присутні в молекулі, повинні бути сумісними з передбачуваними

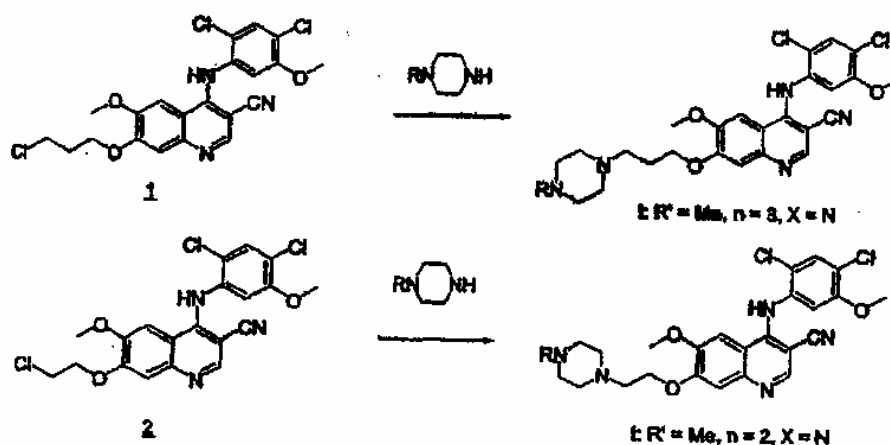
хімічними перетвореннями. Якщо не обумовлено особливо, то порядок стадій синтезу, вибір захисних груп і умов видалення захисту легко стане ясным для фахівців в даній галузі. Крім того, в деяких випадках замісники в початкових речовинах можуть бути несумісними з певними умовами реакції. Обмеження, що відносяться до даних замісників, будуть очевидні фахівцям в даній галузі. Реакції проводили в інертній атмосфері, де це було доречно.

Сполуки формули I отримували відповідно до схеми 1. Сполуки формули I, де R' являє собою метил, X є N і n=3, легко отримати обробкою 7-(3-хлорпропокси)-4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу, 1, N-алкілпіперазином, таким як N-метилпіперазин, N-етилпіперазин або N-

пропілпіперазин, в присутності йодиду натрію або в чистому вигляді, або в розчиннику, такому як диметилловий ефір етиленгліколю. Отримання цих сполук описане в літературі [Boschelli, D.H. et al., J. Med. Chem., 44, 3965 (2001)].

Аналогічно, сполуки формули I, де R' являє собою Me, X є N і n=2, легко можуть бути отримані обробкою 7-(2-хлоретокси)-4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу, 2, N-метил або N-етилпіперазином в присутності йодиду натрію або в чистому вигляді, або в розчиннику, такому як диметилловий ефір етиленгліколю. Отримання цих сполук описане в літературі [Ye, F. et. al., 221th National Meeting of the American Chemical Society, San Diego, California (April, 2001)].

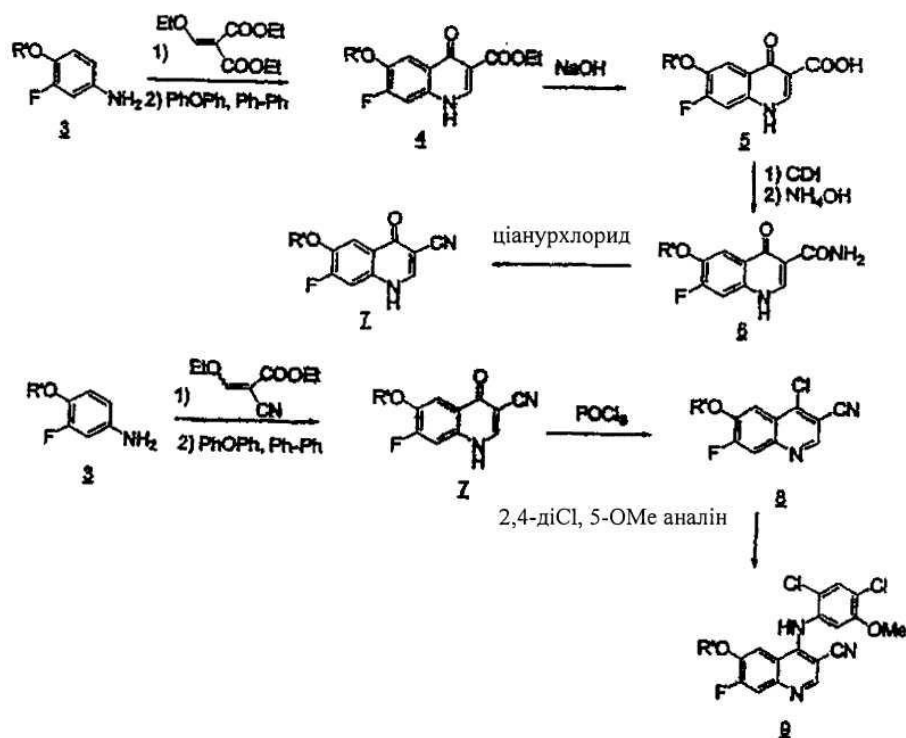
Схема 1



Альтернативно сполуки формули I можуть бути отримані через проміжний продукт 7-фтор-3-хінолінкарбонітрил. Отримання цього основного проміжного продукту показано на Схемі 2. Аніліни формули 3 можуть бути піддані реакції з діетил(етоксиметил)малонатом або в чистому вигляді, або в присутності співрозчинника, такого як толуол, за температури від 60 до 120°C. Подальша теплова циклізація, переважно в системі розчинників, такий як суміш дифенілового ефіру та біфенілу, 3:1, за підвищеної температури, такої як 260°C, дає сполуки формули 4. Гідроліз складно-ефірної групи переважно в основних умовах, таких як гідроксид натрію, в спиртовому розчиннику, такому як етанол, за підвищених температур приводить до сполук формули 5. Перетворення кислотної групи в первинний амід може бути досягнуто обробкою активуючим агентом, таким як 1,1-карбонілдіімідазол з подальшим додаванням газо-

подібного аміаку або, переважно, водного розчину гідроксиду амонію. Сполуки формули 7 отримують дегідратацією первинної аміногрупи сполук формули 6 реактивом, таким як ціанурхлорид, в розчиннику, такому як N,N-диметилформамід. Альтернативно, аніліни формули 3 можуть бути оброблені етил(етоксиметил)ціаноацетатом, або в чистому вигляді, або в присутності співрозчинника, такого як толуол, за температури від 60 до 120°C. Подальша теплова циклізація, переважно в системі розчинників, такий як суміш дифенілового ефіру та біфенілу, 3:1, за підвищеної температури, такої як 260°C, дає сполуки формули I. Сполуки формули 8 отримують взаємодією сполук 7 з хлоруючим агентом, таким як оксихлорид фосфору. Основні 7-фтор проміжні продукти 9 отримують обробкою сполук формули 8 2,4-дихлор-5-метоксіаніліном у присутності гідрохлориду піридину.

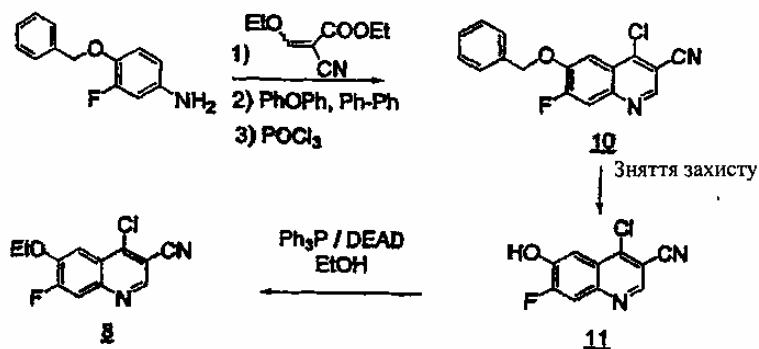
Схема 2



Альтернативний шлях отримання сполук формули 8, де R' являє собою етил, показаний на Схемі 3. При використанні умов схеми 2 4-бензилокси-3-фторанілін перетворюють у сполук формули 10. Видалення бензильної групи тіоані-

золом і трифтороцтовою кислотою приводить до 6-гідроксипохідного формули 11. Обробка сполук 11 трифенілфосфіном, діетилазодикарбосилатом і етанолом дає сполук формули 8, де R' являє собою етил.

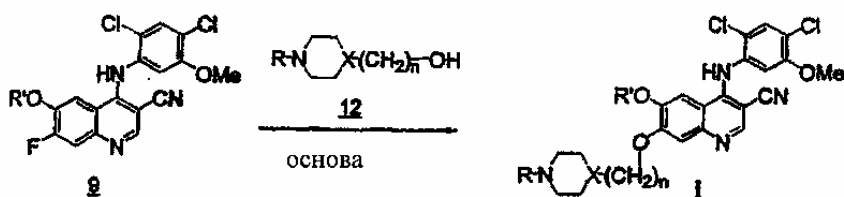
Схема 3



Як показано на Схемі 4, реакція сполук формули 9 зі спиртом формули 12 в присутності основи, такої як гідрид натрію або натрій, забезпечує сполук формули I за винаходом. Ця реакція може

бути проведена в присутності співрозчинника, такого як диметилформамід або диметилсульфоксид, за оптимальної температури від 120°C до 140°C.

Схема 4



Сполуки за даним винаходом були оцінені в декількох стандартних фармакологічних випробуваннях, які показали, що сполуки за даним винаходом інгібують Src кіназу та корисні для запобігання судинній проникності.

#### Аналіз кінази Src

Інгібітори тирозинкіназної активності Src (частково очищений препарат ферменту, придбаний у Upstate Biotechnologies, Lake Placid, NY) були проаналізовані в форматі твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA). Для аналізу використали набір Boehringer Mannheim Tyrosine Kinase Assay (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) з cdc2 пептидом субстрат, що містить Tyr5. Щоб виявити фосфорильований пептид за допомогою кольорової реакції, використали антитіла до фосфотирозину, кон'юговані з пероксидазою хрину (HRP).

Умови реакції: аликвоти по п'ять мікролітрів кожної сполуки, свіжоотриманої до часу аналізу, додавали у вигляді розчину в 10мМ HEPES pH 7,5, 10% диметилсульфоксиді (ДМСО) в реакційну ямку. Тридцять п'ять мікролітрів реакційної суміші, що містить Src, буфер і суміш пептид/бичачий сироватковий альбумін, додавали до ямки зі сполукою та інкубували за 30°C протягом 10 хвилин (реакційний буфер: 50 мМ TrisHCl pH 7,5, 10мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1мМ EGTA, 0,5мМ Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>). Реакцію починали шляхом введення 10 мікролітрів АТФ (500 мМ), інкубували за 30°C протягом 1 години та зупиняли додаванням 20 мікролітрів 0,5М EDTA. Реакційну суміш з фосфорильованим пептидом потім перемішували на мікротитрувальний планшет, вкритий стрептавідином, і давали можливість зв'язування протягом 20 хвилин. Незв'язаний пептид і реакційну суміш зливали і пластину шість разів промивали забуференим фосфатом сольовим розчином. Кон'юговані з пероксидазою хрину антитіла до фосфотирозину, що поставляються в комплекті, інкубували з планшетом протягом однієї години, потім зливали. Пластину знов шестиразово промивали забуференим фосфатом сольовим

розчином. Додавали субстрат і вимірювали оптичну густина при 405нм.

Альтернативно, використовували аналіз, виконаний по суті, як описано вище, крім формату Delfia (Perkin-Elmer), і замість кон'югованих з пероксидазою хрину антитіл до фосфотирозину використовували кон'юговані з європієм антитіла до фосфотирозину, замість бичачого сироваткового альбуміну використовували Pierce Superblock, і після реакції кінази та зв'язування антитіл проводили 6 промивань. Для моніторингу ступеня реакції використовували флюоресценцію європію.

Активність визначали як % інгібування, який обчислювали за формулою:

$$(1 - \text{Abs}/\text{Abs}(\text{MaKc})) \times 100 = \% \text{ інгібування.}$$

Якщо використали численні концентрації речовини, що випробовують, можливе визначення IC<sub>50</sub> (концентрації, яка дає 50% інгібування). Як показано в Таблиці 1, сполуки за винаходом інгібують src кіназу in vitro.

Незалежний від фіксації Src-трансформований аналіз проліферації фібробластів

Фібробласти Rat2, стабільно трансформовані плазмідною, що містить промотор CMV, контролювали v-Src/Hu c-Src ген злиття, в якому замість v-Src каталітичного домена в v-Src гені вставляли каталітичний домен людського c-Src таким чином:

Клонування та плазмідні конструкції.

Prague C v-Src ген з pSrcHis (Wendler and Boschelli, Oncogene 4: 231-236; 1989), вирізали за допомогою NcoI і BamHI, обробляли ДНК-полімеразою T4 та клонували в ділянці R1 pTRE (Clontech), кінці якого затупляли обробкою ДНК-полімеразою T4. Злиття v-Src::huc-Src створювали шляхом заміни фрагмента Bgl2-XbaI, що кодує C-кінець 250 амінокислот v-Src, фрагментом Bgl2-XbaI, що містить v-Src::huc-Src фрагмент злиття (див. нижче). Частковий клон людського c-Src ампліфікували з бібліотеки комплементарної ДНК молочної залози (InVitrogen) з використанням пари олігонуклеотидів

5'-CGCCTGGCCAACGTCTGCCCCACGTCCAAGCCGCAGACTCAGGGCCTG-3'  
(SEQ ID NO: 1)

i

5'-CCAAACACAAGCAGGGAGCAGCTGGGCCTGCAGGTACTCGAAGGTGGGC-3'  
(SEQ ID NO: 2)

і клонували в pCRScript (Stratagene). Каталітичний домен людського c-Src в цьому клоні ампліфікували за допомогою цих олігонуклеотидів (злиття v-src нуклеотиду 734 з людським c-Src нуклеотидом 742 і людського c-Src нуклеотиду 1551 з v-src нук-

леотидом 1543 в v-Src і людських c-Src відкритих рамок зчитування). Дві v-Src послідовності ампліфікували полімеразною ланцюговою реакцією [ПЛР] (5<sup>1</sup>)

Фрагмент v-src з 198 пар основ:

5'-GTGCCTATTGCCTCTCCGTTTCTGAC-3' (SEQ ID NO: 3) (праймер 1)  
 до 5'-ACGTGGGGCAGACGTTGGCCAGGCG-3' (SEQ ID NO: 4) (3' фрагмент *v-src* з 252  
 пар основ, 5'-CAGCTGCTCCCTGCTTGTGTGTGTTGG-3' (SEQ ID NO: 5)  
 (залишки 1543-1567 в *v-src* відкритій рамці зчитування) до  
 5'-ATGAATTCTCTAGAGGAAGACGCCATCATATTCCAAGCAG-3' (SEQ ID NO: 6) залишки

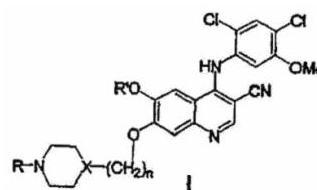
1769-1794 з *v-src* ATG з *Xba*I і додавали ділянки рестрикції *Eco*RI (праймер 4)). Праймери 1 і 4 використовували, щоб зробити трифрагментну ампліфікацію ПЛР та злиття *v-Src*::людського *c-Src* фрагмента злиття з 5' і 3' фрагментами, ампліфікованими з Prague C *v-Src* гена і 3' нетрансльованою ділянкою вірусу саркоми Rous. Ця реакція утворює ген злиття, що знаходиться всередині рамки *v-Src*::людський ген *c-Src* (залишок амінокислоти V244 *v-Src* до C248 людського *c-Src* з боку N-кінця і A517 людського *c-Src* до Q515 *v-Src*). Цей фрагмент гена злиття кодує одну третину C-кінця домену *v-Src* SH2 і 8H2-каталітичний домен лінкера, злитий з людським каталітичним доменом *c-Src*, до якого примикає «хвіст» C-кінця *v-Src*. Ділянку *Bgl*II, що зустрічається у природі, поблизу 5'-кінця фрагмента злиття та генно-інженерна ділянка *Xba*I в 3'-кінці фрагмента використовували, щоб вирізати фрагмент для створення гена злиття *v-Src*::людський *c-Src* повної довжини, як описано вище. Цілісність конструктору була підтверджена визначенням послідовності ДНК. Аналогічні способи використали, щоб клонувати даний ген в інших плазмідах експресії, таких як pIRES (Clontech), для використання в даних дослідженнях.

Ці трансформовані фібробласти Rat2 використовуються для вимірювання залежного від Src припинення росту.

Ультранизькі кластерні планшети (Corning Costar, Acton, MA) засівали по 10000 клітин на ямку в 1-й день. Альтернативно, ультранизькі кластерні планшети (Costar 3474) обробляли Signacote (Sigma, St. Louis, MO), обполіскували 70% етанолом, після висихання у витяжній шафі засівали 5000 клітин. На 2-й день додавали сполуку у вигляді послідовних подвійних розведень від 10мкмоль до 0,009мкмоль, і в день 5 додавали реактив MTS (Promega, Madison, WI) (100 мікролітрів суміші MTS/середовища+100 мікролітрів середовища, що вже знаходиться на клітинах) та оптичну щільність вимірювали при 490нм. Результати аналізували, з отриманням  $IC_{50}$  для проліферації (мікромольні одиниці), таким чином: % інгібування =  $(Abs_{490nm} \text{ зразка-чистий}) / (Abs_{490nm} \text{ без сполуки контролю-чистий}) \times 100\%$ . Як показано в таблиці 1, сполуки за даним винаходу інгібують залежну від src клітинну проліферацію.

Таблиця 1

Інгібування ферментної та клітинної активності Src



Приклад	X	R	n	R'	Src фермент $IC_{50}$ нМ	Src клітин $IC_{50}$ нМ
1	N	Метил	3	Метил	1,2	100
2	N	Етил	3	Метил	0,77	130
3	N	Метил	2	Метил	4,0	380
4	N	Етил	2	Метил	3,6	600
5	CH	Метил	1	Метил	2,0	320
6	CH	Метил	2	Метил	1,9	210
7	CH	Метил	3	Метил	1,4	100
8	CH	Етил	1	Метил	2,1	170
9	N	Метил	3	Етил	NT	86
10	CH	Метил	1	Етил	2,1	176
11	N	Етил	3	Етил	0,85	160
12	CH	Метил	3	Етил	1,4	96
13	N	Метил	2	Етил	1,5	146
14	CH	Метил	2	Етил	1,9	267
15	N	n-Пропіл	3	Метил	1,1	160

Внутрішньочеревинне введення сполуки прикладу 1 забезпечує нейропротективну дію на моделі транзиторної осередкової ішемії.

Сполуку прикладу 1 тестували на щурячій моделі осередкової ішемії. Щурів лінії Wistar піддавали 90-хвилинній оклюзії середньої мозкової артерії (СМА) з використанням внутрішньопросвітного шва, як [описано Longa et al, Stroke 1989, 20:84], з подальшою реперфузією протягом 48 годин. Через 85 хвилин після початку ішемії тварини отримували сполуку прикладу 1 (1,5; 5; 15 або 45мг/кг внутрішньочеревинно).

Після реперфузії тварин оцінювали протягом 48 годин на дефіцит неврологічних функцій і втрату/додавання маси. Розмір інфаркту вимірювали після умертвіння через 48 годин після оклюзії СМА. Сполука прикладу 1 у дозах 5 і 45мг/кг значно прискорило видужання від неврологічного дефіциту, викликаного інсультом. Скорочення об'єму мозкової тканини, що зазнала інфаркту, спостерігалися при більшості доз сполуки прикладу 1, але статистична значущість була досягнута тільки при дозі 45мг/кг внутрішньочеревинно. У тварин, яких



лікували сполукою прикладу 1, спостерігалось прискорене відновлення маси тіла.

Внутрішньовенне введення сполуки прикладу 1 забезпечує нейропротективну дію на моделі скороминучої осередкової ішемії

Щурів лінії Wistar піддавали 90-хвилинній оклюзії середньої мозкової артерії (СМА) з використанням внутрішньопросвітного шва, як [описано Longa et al, Stroke 1989, 20:84], з подальшою реперфузією протягом 48 годин. Через тридцять хвилин після оклюзії СМА препарат прикладу 1 для внутрішньовенного введення в суміші 20 мМ

цитрат натрію/0,85% розчин хлориду натрію з рН 3 вводили в дозах 3, 10 і 30 мг/кг (внутрішньовенно). Після реперфузії за тваринами спостерігали протягом 48 годин на предмет дефіциту неврологічних функцій і втрати/додавання маси. Об'єм інфаркту мозкової тканини зменшився на 22%, 53% і 42%, відповідно. Втрата маси після інсульту також значно зменшилася. Крім того, як показано в таблиці 2, викликані інсультом неврологічні дефіцити значно зменшилися при всіх трьох дозах. Таким чином, сполуки за даним винаходом забезпечують нейропротективну дію після осередкової ішемії.

Таблиця 2

Лікування	Середній бал моторного дефіциту через 24 год	Значення Р (з контрольної групи)	Середній бал моторного дефіциту через 48 год.	Значення Р (з контрольної групи)
Розчинник (контроль)	4,55±0,16	не доступно	4,27±0,14	не доступно
3мг/кг	3,83±0,3*	p=0,007	3,25±0,37*	p=0,0001
10мг/кг	4,08±0,08	p=0,09	3,67±0,22*	p=0,016
30мг/кг	4,08±0,23	p=0,09	3,67±0,28*	p=0,016

#### Терапевтичне вікно

На моделі скороминучої осередкової ішемії проводили три дослідження, щоб оцінити терапевтичне вікно. Щурів лінії Wistar піддавали 90-хвилинній оклюзії СМА, з подальшою реперфузією, як описано вище. Одноразове струминне введення мг/кг сполуки прикладу 1 здійснювали через 30 хвилин, 90 хвилин, 3 години, 4 години, 5 годин і 6 годин після інсульту. Об'єм тканини, що зазнала інфаркту, вимірювали за допомогою гістологічного фарбування. Одноразова доза 10мг/кг сполуки прикладу 1 статистично зменшувала інфаркт мозкової тканини (як % від лікованих розчинником) при введенні між 30 хвилинами і 4 годинами після ішемічного ушкодження. Статистично значущий захист від викликаного дефіциту (як процент від лікованих розчинником) був досягнутий при одноразовому введенні дози 10 мг/кг прикладу 1 у терміни до 5 годин після інсульту, і статистично значущий захист від викликаного ішемією втрати маси (як % від лікованих розчинником) була досягнута при одноразовому введенні дози 10 мг/кг прикладу 1 у термін до 5 годин після інсульту. Таким чином, сполуки за даним винаходом виявляють перевершуючий терапевтичний діапазон у порівнянні з доступними в даний час способами лікування.

#### Постішемична судинна проникність

Щурів лінії Wistar піддавали 90-хвилинній оклюзії середньої мозкової артерії (СМА) з використанням внутрішньопросвітного шва, як [описано Longa et al, Stroke 1989, 20:84], з подальшою реперфузією протягом 24 годин. Сполуку прикладу 1 вводили одноразово внутрішньовенно струминно через 30 хвилин після початку ішемії в дозах 3, 10 і 30мг/кг (внутрішньовенно). За дві години до умиротворення тварини отримували в/в ін'єкцію 2% блакитного Еванса у сольовому розчині. Мозок заливали сольовим розчином і смугасте тіло розтинали. Блакитний Еванс екстрагували, його кількість визначали за допомогою спектрофлуорометра, ґрунтуючись на зовнішніх стандартах. Судинна

проникність в ішемізованому смугастому тілі зменшилася, як було засвідчено зниженням на 60% виходу блакитного Еванса за межі судин. Таким чином, сполуки за даним винаходом знижують судинну проникність, пов'язану з ішемічним ушкодженням.

#### Постійна вогнищева ішемія

Сполуки прикладу 1 також оцінювали на двох щурячих моделях постійної осередкової ішемії. На моделі надзвичайного тяжкості (оклюзія внутрішньої сонної артерії внаслідок внутрішньопросвітного шва) і з відносно коротким виходом (28 годин) ефект був незначним або був відсутнім.

На моделі, що спричиняє широкий інфаркт у чутливій і руховій корі з кількісною оцінкою неврологічного дефіциту протягом 21 днів після інсульту сполука прикладу 1 забезпечила істотне поліпшення неврологічного виходу після інсульту. Щурів лінії Wistar (n=5 на групу) піддавали впливу моделі осередкового ішемічного інсульту, яка приводить до широкої ішемії в чутливій і руховій корі, по суті, як [описано Chen et al. (Stroke 17:738, 1986)]. Сполуки прикладу 1 або розчинник вводили внутрішньовенно струминно по 10мг/кг через 90 хвилин після індукції інсульту, 4 години потому, а також 24 і 28 годин потому (повна доза 40мг/кг). Тварин обстежували на чутливі рухові дефіцити (постуральний рефлекс, тести на візуальне і тактильне розміщення передньої і задньої кінцівки) у дні 1, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16, 18 і 21 після індукції ішемії. Результати були оцінені за допомогою узагальненої моделі регресії, щоб визначити статистичну значущість відмінностей між нахилами і порівняти кінцевий неврологічний результат після 21-го дня. До 21-го дня у суб'єктів, яких лікували сполукою прикладу 1, з'явилося статистично істотне поліпшення за поведінковою шкалою в порівнянні з контрольною групою. Таким чином, сполуки за даним винаходом забезпечують довгострокове поліпшення неврологічного дефіциту.

Судинна проникність через хворобу, ушкодження або іншу травму може статися в різноманітних тканинах і органах, включаючи органи центральної нервової системи, серцево-легеневої системи, шлунково-кишкової системи і ниркової системи. Сполуки за даним винаходом корисні для інгібування судинної проникності, викликані хворобою, ушкодженням або іншою травмою. Зокрема, судинна проникність може бути інгібована в мозковій і спинній тканині після цереброваскулярних подій. Судинна проникність є головною причиною виходу рідини з судинного русла і/або набряку після цереброваскулярної події (вияву симптомів) і часто приводить до неврологічних розладів та інвалідності. Цереброваскулярні стани, включаючи, але, не обмежуючись ними, скоминучі та гострі ішемічні стани, можна лікувати відповідно до даного винаходу. Гострі стани включають, але не обмежені ними, інсульт, травму голови, травму спинного мозку, загальну анемію, гіпоксію, включаючи гіпоксію плоду, гіпоглікемію, гіпотонію і також схожі ушкодження, що спостерігаються під час процедури, через ембол, гіперфузії та гіпоксії. Інсульт включає, але не обмежений ними, осередкову та глобальну ішемію, транзиторні церебральні ішемічні атаки та інші мозкові судинні порушення, які супроводжуються ішемією мозку. Даний винахід також буде корисний у діапазоні цереброваскулярних подій, включаючи церебральний крововилив, інфаркт через емболії або тромбозу інтра- або екстракраніальних артерій, перинатальну асфіксію, при зупинці серця та епілептичному статусі, особливо там, де приплив крові до мозку зупиняється на деякий час. Цереброваскулярні події, пов'язані з виходом рідини з судинного русла, також включають інфекції, включаючи, але, не обмежуючись ними, енцефаліт і менінгіт, пов'язаний із запаленням нервової системи, які за допомогою виходу рідини з судинного русла розповсюджують ушкодження на оточуючі тканини. Системне захворювання, таке як діабет, розсіяний склероз, захворювання нирок і атеросклероз, також може привести до збільшення судинної проникності. Сполуки за даним винаходом також прийнятні для зниження судинної проникності, викликані будь-якою місцевою ішемічною (гіпоксичною) подією в тканині/органі поза центральною нервовою системою, включаючи, але, не обмежуючись ними, ішемію міокарда та ішемічне захворювання кишечника.

Сполуки за даним винаходом забезпечують нейропротективну дію у хворого. Нейропротективна дія, як використано в даному описі, відноситься до захисту нервових клітин проти клітинної смерті або апоптозу. Одним з показників поширеності клітинної смерті або апоптозу слугує об'єм інфаркту; об'єм некротизованої або мертвої тканини мозку. Для оцінки об'єму інфаркту після ішемічної події можуть використовуватися променеві методи дослідження та клінічний статус пацієнта. Сполуки за даним винаходом зменшують об'єм інфаркту у пацієнта в порівнянні з типовим об'ємом інфаркту, відомим з досвіду при схожих ішемічних подіях у відсутності речовин за даним винаходом.

Сполуки за даним винаходом запобігають, зменшують або інгібують дегенерацію нервової

тканини і/або нейротоксичність, зв'язані з судинною проникністю, які призводять до симптомів, включаючи, але, не обмежуючись ними, погіршення зору, погіршення мови, погіршення пам'яті, погіршення або порушення когнітивних функцій, і погіршення рухових функцій, включаючи, але, не обмежуючись ним, параліч. Неврологічні дефекти, що виникають внаслідок ушкоджень або захворювань, описаних вище, можуть бути пригнічені або їх можна запобігти відповідно до даного винаходу. Таким чином, даний винахід включає способи лікування, запобігання, придушення або полегшення станів, пов'язаних із вказаним вище виходом рідини з судинного русла або проникністю, у ссавця, переважно у людини; включаючи введення фармацевтично ефективної кількості сполуки за даним винаходом і, зокрема, кількості, що пригнічує судинну проникність, ссавцеві, зокрема, пацієнту-людині, яка потребує цього.

Даний винахід також включає фармацевтичні композиції для лікування або регулювання судинної проникності, що містять принаймні одну сполуку формули I, їх суміш і/або їх фармацевтичні солі і, отже, фармацевтично прийнятний носій. Такі композиції готують відповідно до прийнятих фармацевтичних методик, таких як [описано в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, ed. Alfonso R. Gennaro, Mack Publishing Company, Easton, PA (1985)]. Фармацевтично прийнятними носіями є сумісні з іншими компонентами композиції та біологічно прийнятні.

Для приготування розчинів, суспензій, емульсій, сиропів і еліксирів, включаючи розчини для внутрішньовенного введення, можуть використовуватися рідкі носії. Активний компонент за даним винаходом може бути розчинений або суспендований у фармацевтично прийнятному рідкому носії, такому як вода, органічний розчинник або суміш обох. Рідкий носій може містити інші прийнятні фармацевтичні домішки, такі як солубілізатори, емульгатори, буфери, консерванти, підсолоджуючі речовини, ароматичні речовини, суспендуючі речовини, загусники, барвники, регулятори в'язкості, стабілізатори, регулятори осмотичного тиску, антиоксиданти та піногасники.

Приклади прийнятних рідких носіїв для перорального, внутрішньовенного та парентерального введення включають воду (особливо яка містить домішки, як вказано вище, наприклад, похідні целюлози, переважно розчин натрійкарбоксиметилцелюлози), сольовий розчин, розчин глюкози, розчини глюкози в сольовому розчині та воді, спирти (включаючи одноатомні спирти та багатоатомні спирти, наприклад, гліколі) та їх похідні. Рідкі носії для парентерального та внутрішньовенного введення використовуються в стерильній формі. pH рідких композицій може бути відрегульований у деяких випадках додаванням HCl, гідроксиду натрію та фосфорної кислоти. Переважно, щоб композиції за даним винаходом були рідкими фармацевтичними композиціями, які являють собою стерильні розчини або суспензії в ізоосмотичній фізіологічно сумісній забуференій системі.

Рідкі фармацевтичні композиції за даним винаходом можуть вводитися, наприклад, за допомо-

гою внутрішньом'язової, внутрішньочеревинної, внутрішньовенної або підшкірної ін'єкції. Фармацевтичні композиції за даним винаходом переважно вводяться пацієнту за допомогою внутрішньочеревинної або внутрішньовенної ін'єкції. Найбільш переважно, щоб композиція вводилася внутрішньовенно, наприклад, за допомогою внутрішньовенного струминного введення, внутрішньовенного краплинного введення, повторних повільних струминних введень або інфузії.

Форми для перорального введення можуть бути або рідкими, або твердими композиціями. Сполуки за даним винаходом також можна вводити перорально або парентерально, у чистому вигляді або в комбінації зі стандартними фармацевтичними носіями. Прийнятні тверді носії можуть містити одну або більше речовин, які можуть також діяти як ароматичні речовини, змашувачі, солюбілізатори, суспендуючі речовини, наповнювачі, ковзні речовини, речовини, які полегшують пресування, зв'язуючі або розпушуючі таблетку речовини, або інкапсулюючий матеріал. У порошках носії є тонкоподрібненою твердою речовиною, яка знаходиться в суміші з тонкоподрібненим активним компонентом. У таблетках активний компонент у прийнятних пропорціях змішаний з носієм, що має необхідні властивості стиснення, і ущільнений до бажаної форми та розміру. Переважно, щоб порошки та таблетки містили до 99% активного компонента. Прийнятні тверді носії включають, наприклад, фосфат кальцію, стеарат магнію, тальк, цукор, лактозу, декстрин, крохмаль, желатин, целюлозу, метилцелюлозу, натрієву сіль карбоксиметилцелюлози, полівінілпіролідон, легкоплавкий віск і йонообмінні смоли.

Переважно, щоб фармацевтична композиція знаходилася в формі одиничних доз, наприклад, у вигляді таблеток, капсул, порошків, розчинів, суспензій, емульсій, гранул, супозиторіїв, ампули або болюсу. В такій формі композиція поділяється на одиничну дозу, що містить відповідну кількість активного компонента; форми одиничних доз можуть бути розфасованими композиціями, наприклад, загорненими в пакетики порошками, ліофілізованим порошком або масою в ампулах або флаконах, або флаконами, ампулами, наповненим шприцями або саше, що містять рідину. Форма одиничних доз може представляти, наприклад, капсулу або таблетку саму по собі або вона може являти собою відповідну кількість будь-яких таких композицій в упакованій формі.

Доза, що вводиться пацієнту, буде змінюватися в залежності від того, що вводять, мети введення, такої як профілактика або лікування, а також стану пацієнта, способу введення і т.п. Термін "терапевтично ефективна кількість" означає кількість, достатню, щоб вилікувати або послабити симптоми хвороби або травми. Загалом, одинична доза (або форма дозування) буде містити від приблизно 1мг/кг до приблизно 30мг/кг і більш переважно від приблизно 1мг/кг до приблизно 10мг/кг сполуки за даним винаходом. Очікується, що деякі пацієнти будуть отримувати багаторазові дози. Дозування, яке використовували для лікування конкретного випадку, повинне бути суб'єктивно

визначене лікарем-куратором. Залучені змінні включають конкретний стан і величину, вік і характер відповіді пацієнта.

Даний винахід надає переваги в порівнянні з раніше відомими способами лікування інсульту та інших станів, пов'язаних з судинною проникністю. Зокрема, хоча після ішемічного ушкодження переважно розпочати лікування пацієнтів як можна швидше, сполуки за даним винаходом можуть ефективно запобігати нейродегенерації та розвитку неврологічних дефектів у деяких пацієнтів, навіть якщо їх вводять приблизно через 18-24 годин після ішемічного ушкодження. Крім того, лікування може продовжуватися, і поліпшення прогнозу у пацієнта може бути результатом безперервного або повторного введення сполуки за даним винаходом протягом приблизно до 72 годин або довше після ішемічного ушкодження.

Один варіант здійснення винаходу включає введення сполуки приблизно між 6-24 годинами після ішемічної події. Подальший варіант здійснення включає введення сполуки приблизно між 18-24 годинами після ішемічного події.

«Вводити», як використано в даному описі, означає безпосереднє введення сполуки або композиції за даним винаходом, або введення проліків, похідних або аналогів, які створюють еквівалентну кількість активної сполуки або речовини в організмі.

Даний винахід включає проліки сполук формули I. "Проліки", як використано в даному описі, означає безпосереднє введення сполуки або композиції за даним винаходом, або введення проліків, похідних або аналогів, які створюють еквівалентну кількість активної сполуки або речовини в організмі. Даний винахід включає проліки сполук формули I. "Проліки", як використано в даному описі, означає безпосереднє введення сполуки або композиції за даним винаходом, або введення проліків, похідних або аналогів, які створюють еквівалентну кількість активної сполуки або речовини в організмі.

Даний винахід буде більш повно описаний у поєднанні з наступними конкретними прикладами, які не повинні розглядатися як такі, що обмежують обсяг даного винаходу.

#### Довідковий приклад 1

Етил 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбоксилат

Суміш 3-фтор-4-метоксіаніліну (3,00г, 21,26ммоль) та діетилетоксиметиленамалонату (4,59 г, 21,26 ммоль) нагрівали при 110°C протягом 1 години, потім охолоджували до кімнатної температури. Потім додавали гексан і тверді частинки збирали фільтруванням. Тверду речовину суспендували в 45мл суміші дифеніловий ефірбіфеніл, 3:1, і суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 2 годин, з отриманням коричневого розчину. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури та додавали гексан. Отриману в результаті тверду речовину збирали фільтруванням,

промивали гексаном, з отриманням 2,62 г етил-7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбоксилату у вигляді білої твердої речовини; т.пл. >300°C.

МС 265,9 (M+H)+

Аналіз для C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

Обчислено: С 58,87; Н 4,56; N 5,28.

Знайдено: С 58,66; Н 4,16; N 5,14.

Довідковий приклад 2

7-Фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонова кислота

Суміш етил-7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбоксилату (2,2г, 8,30ммоль) і 13,2мл 1н. гідроксиду натрію та 40мл етанолу кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 3 годин, потім охолоджували до кімнатної температури. Додавали воду та суміш підкислювали оцтовою кислотою. Отриману в результаті тверду речовину збирали фільтруванням, промивали водою, з отриманням 1,90г 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонової кислоти у вигляді білої твердої речовини; т.пл. 265-267°C.

МС 238,1 (M+H)+

Аналіз для C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>·1,2H<sub>2</sub>O

Обчислено: С 51,04; Н 4,03; N 5,41.

Знайдено: С 50,98; Н 3,95; N 5,33.

Довідковий приклад 3

7-Фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбоксамід

Суміш 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонової кислоти (1,0г, 4,21ммоль) і 1,1'-карбонілдіімідазолу (1,51г, 9,28ммоль) в 14мл N,N-диметилформаміду нагрівали при 65°C протягом 2 годин, потім охолоджували до кімнатної температури та виливали в 200мл водного гідроксиду амонію, що знаходилися на водяній бані з льодом. Розчин перемішували при кімнатній температурі протягом ночі та потім концентрували до невеликого об'єму. Додавали крижану воду, з подальшим підкисленням оцтовою кислотою. Отриману в результаті тверду речовину збирали фільтруванням, промивали водою, з отриманням 821мг 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбоксаміду у вигляді білої твердої речовини; т.пл. >300°C.

МС 236,8 (M+H)+

Аналіз для C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·0,2 H<sub>2</sub>O

Обчислено: С 55,09; Н 3,94; N 11,68.

Знайдено: С 55,00; Н 3,63; N 11,49.

Довідковий приклад 4

7-Фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрил

Суміш 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбоксаміду (700мг, 3,0ммоль) та ціанурхлориду (341мг, 1,65ммоль) в 15мл N,N-диметилформаміду нагрівали при 65°C протягом 6 годин, потім охолоджували до кімнатної температури та додавали додаткові 206 мг ціанурхлориду. Суміш нагрівали при 65°C протягом 4 годин, потім перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Реакційну суміш виливали в крижану воду та нейтралізували насиченим розчином бікарбонату натрію. Тверді частинки збирали фільтруванням, промивали водою та гексаном, з отриманням 610мг неочищеного продукту. Очищення колонковою флеш-хроматографією при градієнтному

елююванні від 3%-го метанолу в дихлорметані до 10%-го метанолу в дихлорметані давало 272мг 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 147-149°C.

МС 216,8 (M-H)<sup>-</sup>

Аналіз для C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·0,1 дихлорметан

Обчислено: С 58,80; Н 3,19; N 12,36.

Знайдено: С 59,06; Н 2,96; N 11,97.

Альтернативний шлях довідковому прикладу 4  
7-Фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрил

Суміш 3-фтор-4-метоксіаніліну (15,31г, 108ммоль) та етил(етоксиметилен)ціаноацетату (18,36г, 108ммоль) в толуолі нагрівали при 100-110°C протягом 4,5 годин, потім охолоджували до кімнатної температури. Додавали суміш гексану та етилацетату, 1:1, і суміш охолоджували на льодяній бані. Тверді частинки збирали промивкою гексаном, з отриманням першого збору, 26,10г, і другого збору, 1,24м. Частину цього продукту масою 2,0г додавали до 18мл суміші дифеніловий ефір:біфеніл, 3:1, при кип'ятінні зі зворотним холодильником. Суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 4 годин, потім охолоджували та виливали в гексан. Тверді частинки збирали фільтруванням і промивали етилацетатом і гексаном, з отриманням 624мг 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрилу у вигляді коричневої твердої речовини. Фільтрат концентрували, залишок розчиняли в етилацетаті та додавали гексан. Отриману в результаті тверду речовину збирали фільтруванням, з отриманням 1,07г 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрилу у вигляді жовтої твердої речовини.

Довідковий приклад 5

4-Хлор-7-фтор-6-метокси-3-хінолінкарбонітрил

Суміш 7-фтор-6-метоксі-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрилу (1,0г, 4,59ммоль) і 14г оксихлориду фосфору кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 30 хвилин, потім концентрували у вакуумі. Залишок розподіляли між водним розчином бікарбонату натрію та етилацетатом. Органічний шар сушили над сульфатом магнію, фільтрували та концентрували на силікагелі. Очищення колонковою флеш-хроматографією при градієнтному елююванні від суміші етилацетат:гексан 1:5 до етилацетат:гексан 1:1 давала 631мг 4-хлор-7-фтор-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 160-162°C.

МС 236,9 (M+H)+

Аналіз для C<sub>11</sub>H<sub>6</sub>ClFN<sub>2</sub>O

Обчислено: С 55,83; Н 2,56; N 11,84.

Знайдено: С 55,66; Н 2,84; N 11,91.

Довідковий приклад 6

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-7-фтор-6-метокси-3-хінолінкарбонітрил

Суміш 4-хлор-7-фтор-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу (4,12г, 18ммоль), 2,4-дихлор-5-метоксіаніліну (4,5 г, 24ммоль) (Theodoridis, G.; Pestic. Set 1990, 30, 259) та гідрохлориду піридину (2,31г, 19,9ммоль) в 45мл 2-етоксіетанолу нагрівали при 120°C протягом 3 годин, потім охолоджували до кімнатної температури. Реакційну суміш додавали до водного розчину бікарбонату натрію і перемішували протягом 20 хвилин. Тверді частинки

ки збирали фільтруванням, з отриманням 4,89г 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-7-фтор-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. >260°C.

Мас-спектроскопія високого розрізнення: обчислено 392,03634; знайдено 392,03556 (M+H)+;

Аналіз для  $C_{18}H_{12}Cl_2FN_3O_2 \cdot 2,0H_2O$

Обчислено: C 50,48; H 3,77; N 9,81.

Знайдено: C 50,41; H 2,82; N 9,78.

Довідковий приклад 7

6-бензилокси-7-фтор-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрил

Суміш 4-бензилокси-3-фтораніліну (6,06г, 27,9ммоль) [США 5622967] та етил(етоксиметиле)ціаноацетату (5,08г, 30,0ммоль) нагрівали при 120°C протягом 45 хвилин, потім охолоджували до кімнатної температури. Цю тверду речовину по частинах додавали до суміші дифенілового ефір:біфеніл, 3:1, при 245°C. Суміш нагрівали при 245°C протягом 3 годин, потім охолоджували і тверді частинки збирали фільтруванням, промивали гексаном і діетиловим ефіром, з отриманням 2,60г 6-бензилокси-7-фтор-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. >250°C.

МС 293,1 (M+H)-

Довідковий приклад 8

6-Бензилокси-4-хлор-7-фтор-3-хінолінкарбонітрил

Суміш 6-бензилокси-7-фтор-4-оксо-1,4-дигідро-3-хінолінкарбонітрилу (645мг, 2,19ммоль) і 10мл оксихлориду фосфору нагрівали при 115°C протягом 1,5 годин, потім концентрували у вакуумі. Залишок обробляли льодяним водним розчином гідроксиду амонію і отриману в результаті тверду речовину збирали фільтруванням. Очищення колонковою флеш-хроматографією при градієнтному елюванні від 1%-го етилацетату в гексані до 6%-го етилацетату в гексані давало 284 мг 6-бензилокси-4-хлор-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 159-160°C.

МС 313,13 (M+H)+

Аналіз для  $C_{17}H_{10}ClFN_2O$

Обчислено: C 65,15; H 3,06; N 8,82.

Знайдено: C 65,29; H 3,22; N 8,96.

Довідковий приклад 9

4-Хлор-7-фтор-6-гідрокси-3-хінолінкарбонітрил  
Суміш 6-бензилокси-4-хлор-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу (733мг, 2,34ммоль) і 1мл тіоанізола в 12мл трифтороцтової кислоти кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 9 годин, потім концентрували у вакуумі. Залишок обробляли крижаною водою і потім підлучнювали до рН 9-10 додаванням водного гідроксиду амонію. Отриману в результаті тверду речовину збирали фільтруванням і промивали діетиловим ефіром. Фільтрат екстрагували 10%-м метанолом в етилацетаті. Органічний шар сушили над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі. Залишок об'єднували з отриманою твердою речовиною, продукт розчиняли в 5%-му метанолі в етилацетаті та абсорбували силікагелем. Очищення колонковою флеш-хроматографією при градієнтному елюванні від гексану до наростаючих концентрацій етилацетату в гексані і далі до 5%-го метанолу

в етилацетаті давало 260мг 4-хлор-7-фтор-6-гідрокси-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. >250°C.

МС 220,9 (M+H)-

Аналіз для  $C_{10}H_4ClFN_2O$

Обчислено: C 53,96; H 1,81; N 12,58.

Знайдено: C 54,23; H 2,02; N 12,06.

Довідковий приклад 10

4-Хлор-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрил  
До суміші з температурою 0°C 4-хлор-7-фтор-6-гідрокси-3-хінолінкарбонітрилу (185мг, 0,83ммоль), трифенілфосфіну (392мг, 1,49ммоль) та етанолу (153мг, 3,32ммоль) в 15мл тетрагідрофурану додавали діетилазодикарбоксилат (260мг, 1,80ммоль). Реакційну суміш витримували при 0°C протягом 45 хвилин, потім перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакційну суміш концентрували у вакуумі та очищували колонковою флеш-хроматографією при градієнтному елюванні від 1%-го етилацетату в гексані до 5%-го етилацетату в гексані, з отриманням 4-хлор-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 165-166°C.

МС 251,0 (M+H)+

Аналіз для  $C_{12}H_8ClFN_2O$

Обчислено: C 57,50; H 3,22; N 11,18.

Знайдено: C 57,24; H 3,41; N 11,09.

Довідковий приклад 11

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрил

Дотримуючись методики довідкового прикладу 6, отримана суміш 4-хлор-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу (197мг, 0,78ммоль), 2,4-дихлор-5-метоксіаніліну (220мг, 1,14ммоль) і гідрохлориду піридину (120мг, 1,04ммоль), після колонкової флеш-хроматографії при градієнтному елюванні від дихлорметану до 1%-го метанолу в дихлорметані давала 183мг 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 184-186°C.

МС 406,0 (M+H)

Аналіз для  $C_{19}H_{14}Cl_2FN_3O_2 \cdot 0,5H_2O$

Обчислено: C 54,96; H 3,64; N 10,12.

Знайдено: C 54,99; H 3,59; N 10,05.

Приклад 1

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(4-метил-1-піперазиніл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил

Суміш 7-[3-хлорпропокси]-4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу (656мг, 1,40ммоль) та йодиду натрію (210мг, 1,40ммоль) в 4мл N-метилпіперазину нагрівали при 80°C протягом 20год. Реакційну суміш концентрували у вакуумі та розподіляли між етилацетатом і насиченим водним розчином бікарбонату натрію. Органічний шар промивали концентрованим розчином солі, сушили над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією при елюванні 30%-м метанолом в дихлорметані. Фракції, що містять продукт, збирали та концентрували у вакуумі. До залишка додавали діетиловий ефір та рожеву тверду речовину збирали фільтруванням, з отриманням 560мг (75%) 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-

метокси-7-[3-(4-метил-1-піперазиніл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 116-120°C;

МС (ES)  $m/z$  530,2, 532,2 (M+1).

Приклад 2

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-[3-(4-етил-1-піперазиніл)пропокси]-

6-метокси-3-хінолінкарбонітрил

Суміш 7-[3-хлорпропокси]-4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу (3,50г, 7,50ммоль), йодиду натрію (1,12г, 7,50ммоль) і 4,8мл N-етилпіперазину в 5мл диметилового ефіру етиленгліколю нагрівали при 95°C протягом 20год. Реакційну суміш концентрували у вакуумі та розподіляли між етилацетатом і насиченим водним розчином бікарбонату натрію. Органічний шар промивали насиченим водним розчином бікарбонату натрію, потім концентрованим розчином солі, сушили над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі. До залишку додавали діетиловий ефір і білу тверду речовину збирали фільтруванням, з отриманням 1,80г (44%) 4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-[3-(4-етил-1-піперазиніл)пропокси]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 102-104°C;

МС (ES)  $m/z$  544,3, 546,4 (M+1).

Приклад 3

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[2-(4-метил-1-піперазиніл)етокси]-3-хінолінкарбонітрил

Отримували згідно зі способом, використаним для отримання сполуки прикладу 1, взаємодією 7-[2-хлоретокси]-4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу та N-метилпіперазину; т.пл. 165-167°C;

МС (ES)  $m/z$  516,0, 518,2 (M+1).

Приклад 4

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-[2-(4-етил-1-піперазиніл)етокси]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрил

Отримували згідно зі способом, використаним для отримання сполуки прикладу 1, взаємодією 7-[2-хлоретокси]-4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу та N-етилпіперазину; т.пл. 101-105°C;

МС (ES)  $m/z$  530,4, 532,4 (M+1).

Приклад 5

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]-3-хінолінкарбонітрил

До розчину 4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-фтор-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу (600мг, 1,53ммоль) та 1-метилпіперидин-4-метанолу (395мг, 3,06ммоль) в 10мл N,N-диметилформаміду при 135°C частинами додавали гідрід натрію (362мг, 9,06ммоль). Через 45 хвилин реакційну суміш виливали в насичений розчин бікарбонату натрію. Після перемішування протягом 15 хвилин тверду речовину збирали фільтруванням. Залишок очищували колонковою флеш-хроматографією при градієнтному елюванні від 5%-го метанолу в дихлорметані до 25%-ого метанолу в дихлорметані. Розтирання з

діетиловим ефіром давало 396мг, 4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 200-202°C.

МС 501,3 (M+H)+

Аналіз для  $C_{25}H_{26}Cl_2N_4O_3 \cdot 0,8H_2O$

Обчислено: C 58,21; H 5,39; N 10,86.

Знайдено: C 58,19; H 5,23; N 10,67.

Приклад 6

4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]-3-хінолінкарбонітрил

Суміш гідриду натрію (128мг, 3,2ммоль) і 1-метил-4-піперидинетанолу (180мг, 1,25ммоль) [EP 0581538] в 5мл N,N-диметилформаміду нагрівали при 110°C протягом 1 години. Потім додавали 4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-фтор-6-метокси-3-хінолінкарбонітрил (200мг, 0,51ммоль) та реакційну суміш нагрівали при 135°C протягом 5 годин. Протягом подальших 4 годин до реакційної суміші додавали ще 128мг гідриду натрію при 130°C. Реакційну суміш розподіляли між етилацетатом і водою. Органічний шар сушили над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі. Залишок очищували препаративною тонкошаровою хроматографією при елюванні 20% метанолом в дихлорметані, з отриманням 105мг 4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]-3-хінолінкарбонітрилу; т.пл. 190-191°C.

МС 515,19 (M+H)+

Аналіз для  $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_3 \cdot 1,0H_2O$

Обчислено: C 58,53; H 5,67; N 10,50.

Знайдено: C 58,65; H 5,57; N 10,34.

Сполуки прикладів 7 і 8 отримували аналогічно способу прикладу 5 і відповідного спирту.

Приклад 7

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]-хінолін-3-карбонітрил

Т.пл. 144-145°C; МС 529,2 (ES+)

Приклад 8

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-7-[(1-етилпіперидин-4-іл)метокси]-6-метоксихінолін-3-карбонітрил

Т.пл. 192-195°C; МС 515,2 (ES+)

Приклад 9

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(4-метилпіперазин-1-іл)пропокси]-хінолін-3-карбонітрил

Суміш 4-[(2,4-дихлор-5-метоксибеніл)аміно]-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу (200мг, 0,49ммоль), 3-(4-метилпіперазин-1-іл)пропанолу (155мг, 0,98ммоль) [WO 20047212] та гідриду натрію (196мг, 4,6ммоль) в 5мл N,N-диметилформаміду нагрівали при 125°C протягом 3 годин. Реакційну суміш виливали в насичений розчин бікарбонату натрію та перемішували протягом 1 години. Водний розчин екстрагували 10% метанолом в дихлорметані. Органічний шар промивали концентрованим розчином солі, сушили над сульфатом магнію та концентрували у вакуумі. Залишок очищували препаративною тонкошаровою хроматографією при елюванні 15% метанолом в дихлорметані. Розтирання з гексаном дава-

ло 116мг 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(4-метилпіперазин-1-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрилу у вигляді світло-коричневої твердої речовини; т.пл. 137-138°C.

МС 542,0 (M+H)-

Аналіз для  $C_{27}H_{13}Cl_2N_5O_3 \cdot 0,6H_2O$

Обчислено: С 58,40; Н 5,84; N 12,61.

Знайдено: С 58,31; Н 5,71; N 12,43.

Приклад 10

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]хінолін-3-карбонітрил

Суміш 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу (200мг, 0,49ммоль), 1-метилпіперидин-4-метанолу (188мг, 0,98ммоль) [WO 20047212] та гідриду натрію (196мг, 4,6ммоль) в 5мл N,N-диметилформаміду нагрівали при 125°C протягом 3 годин. Реакційну суміш виливали в насичений розчин бікарбонату натрію та перемішували протягом 1 години. Тверду речовину збирали фільтруванням, промивали водою та сушили у вакуумі. Тверду речовину очищували препаративною тонкошаровою хроматографією при елююванні 15% метанолом в дихлорметані. Розтирання з діетиловим ефіром давало 67мг

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[(1-метилпіперидин-4-іл)метокси]хінолін-3-карбонітрилу у вигляді світло-коричневої твердої речовини; т.пл. 182-186°C.

МС 513,0 (M+H)-

Аналіз для  $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_3 \cdot 1,4H_2O$

Обчислено: С 57,76; Н 5,74; N 10,36.

Знайдено: С 57,65; Н 5,43; N 10,15.

Приклад 11

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(4-етилпіперазин-1-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил

Суміш 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу (200мг, 0,49ммоль) і 3-(4-етилпіперазин-1-іл)пропанолу (241мг, 0,98ммоль) в 5мл N,N-диметилформаміду нагрівали при 125°C протягом 5хв.

Додавали гідрид натрію (60%) (98мг, 2,45ммоль) і суміш нагрівали при 125°C протягом 1 години. Потім додавали додаткову кількість гідриду натрію (98мг, 2,45ммоль) і суміш нагрівали при 125°C протягом 2 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, виливали в насичений розчин бікарбонату натрію та перемішували протягом 1 години. Водний розчин екстрагували 10% метанолом в дихлорметані. Органічний шар сушили над сульфатом натрію та концентрували у вакуумі. Залишок очищували препаративною тонкошаровою хроматографією при елююванні 12% метанолом у дихлорметані. Розтирання з діетиловим ефіром і гексаном давало 146мг 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(4-етилпіперазин-1-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрилу у вигляді світло-коричневої твердої речовини; т.пл. 127-130°C.

МС 558,3 (M+H)+

Аналіз для  $C_{28}H_{33}Cl_2N_5O_3 \cdot 1,5H_2O$

Обчислено: С 57,44; Н 6,20; N 11,96.

Знайдено: С 57,44; Н 6,24; N 11,79.

Приклад 12

4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрил

Суміш 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу (200мг, 0,49ммоль) і 3-(1-метил-4-піперидиніл)пропанолу (154мг, 0,98ммоль) в 5мл N,N-диметилформаміду нагрівали при 125°C протягом 5хв. Додавали гідрид натрію (60%) (98мг, 2,45ммоль) і суміш нагрівали при 125°C протягом 1 години. Потім додавали додаткову кількість гідриду натрію (98мг, 2,45ммоль) і суміш нагрівали в 125°C протягом 2 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, виливали в насичений розчин бікарбонату натрію та перемішували протягом 1 години. Осад збирали, промивали водою та сушили у вакуумі. Залишок очищували препаративною тонкошаровою хроматографією при елююванні 15% метанолом в дихлорметані. Розтирання з діетиловим ефіром давало 146мг 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[3-(1-метилпіперидин-4-іл)пропокси]хінолін-3-карбонітрилу у вигляді не зовсім білої твердої речовини; т.пл. 148-151°C.

МС 543,2 (M+H)+

Аналіз для  $C_{28}H_{32}Cl_2N_4O_3 \cdot 1,8H_2O$

Обчислено: С 58,39; Н 6,23; N 9,73.

Знайдено: С 58,40; Н 6,16; N 9,64.

Приклад 13

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(4-метил-1-піперазиніл)етокси]хінолін-3-карбонітрил

Суміш 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу (200мг, 0,49ммоль) та 2-(4-метил-1-піперазиніл)етанолу (141мг, 0,98ммоль) в 5мл N,N-диметилформаміду нагрівали до 100°C. Частинами додавали гідрид натрію (60%) (196мг, 4,9ммоль) і суміш нагрівали при 125°C протягом 3 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і обробляли 25мл води. Суміш перемішували протягом 2 годин. Осад збирали, промивали водою і сушили у вакуумі. Залишок очищували колонковою флеш-хроматографією при градієнтному елююванні від 5%-го метанолу в дихлорметані до 15%-ого метанолу в дихлорметані. Розтирання з діетиловим ефіром давало 123мг 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(4-метил-1-піперазиніл)етокси]хінолін-3-карбонітрилу у вигляді не зовсім білої твердої речовини; т.пл. 141-143°C.

МС 530,2 (M+H)+

Аналіз для  $C_{26}H_{29}Cl_2N_5O_3$

Обчислено: С 58,87; Н 5,51; N 13,20.

Знайдено: С 58,48; Н 5,45; N 12,95.

Приклад 14

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]хінолін-3-карбонітрил

Суміш 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-фтор-3-хінолінкарбонітрилу (200мг, 0,49ммоль) і 1-метил-4-піперидинетанолу (140мг, 0,98ммоль) в 5 мл N,N-диметилформаміду нагрівали до 100°C. Частинами додавали гідрид натрію (60%) (162мг, 4,05ммоль) і суміш нагрівали при

125°C протягом 3 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і обробляли 25 мл води. Осад збирали, промивали водою та сушили у вакуумі.

Залишок очищували колонковою флеш-хроматографією при градієнтному елюванні від дихлорметану, потім при градієнті від 5%-го метанолу в дихлорметані до 30%-го метанолу в дихлорметані. Розтирання з діетиловим ефіром давало 121мг 4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-етокси-7-[2-(1-метилпіперидин-4-іл)етокси]-хінолін-3-карбонітрилу у вигляді не зовсім білої твердої речовини; т.пл. 174-176°C.

МС 529,1 (M+H)+

Аналіз для C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

Обчислено: С 61,25; Н 5,71; N 10,58.

Знайдено: С 61,40; Н 5,84; N 10,35.

Приклад 15

4-[(2,4-Дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-7-[3-(4-пропіл-1-піперазиніл)пропокси]-3-хінолінкарбонітрил

Отримували згідно зі способом, використаним для отримання сполук прикладу 1, взаємодією 7-[3-хлоретокси]-4-[(2,4-дихлор-5-метоксифеніл)аміно]-6-метокси-3-хінолінкарбонітрилу та N-пропілпіперазину: т.пл. 97-101°C;

МС (ES) m/z 558,2, 560,2 (M+1).