



УКРАЇНА

(19) UA (11) 94129 (13) C2

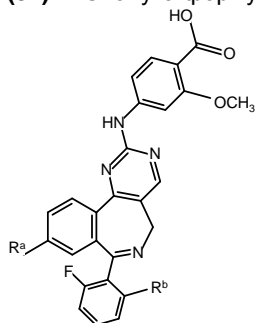
(51) МПК (2011.01)  
C07D 487/04 (2006.01)  
A61K 31/55 (2006.01)  
A61P 35/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОЛУКИ ДЛЯ ІНГІБУВАННЯ МІТОЗУ

1

2

(21) a200906211  
(22) 14.11.2007  
(24) 11.04.2011  
(86) PCT/US2007/023948, 14.11.2007  
(31) 60/859,340  
(32) 16.11.2006  
(33) US  
(46) 11.04.2011, Бюл.№ 7, 2011 р.  
(72) КЛЕЙБОРН КРІСТОФЕР Ф., US, СЕЛЛС ТОДД Б., US, СТРАУД СТЕФЕН Г., US  
(73) МІЛЛЕННІУМ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ІНК., US  
(56) WO 2005/111039 A (MILLENNIUM PHARM INC [US]; CLAIBORNE CHRISTOPHER F [US]; PAYNE LLOYD J), 24.11.2005  
WO 98/28281 A (CELLTECH THERAPEUTICS LTD [GB]; DAVIS JEREMY MARTIN [GB]; DAVIS PETER), 02.07.1998  
WENLE XIA ET AL: "Tumor selective G2/M cell cycle arrest and apoptosis of epithelial and hematological malignancies by BBL22, a benzazepine" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 97, no. 13, 2000, pages 7494-7499  
(57) 1. Сполука формули (I):



(I)

або її фармацевтично прийнятна сіль, де  $R^a$  вибирають з групи, що складається з  $C_{1-3}$  заліфатичної групи,  $C_{1-3}$  фтораліфатичної групи,  $-R^1$ ,  $-T-R^1$ ,  $-R^2$  і  $-T-R^2$ ;  $T$  являє собою  $C_{1-3}$  алкіленовий ланцюг, необов'язково заміщений фтором;  $R^1$  являє собою необов'язково заміщену арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу;

$R^2$  вибирають з групи, що складається з галогену,  $-C \equiv C-R^3$ ,  $-CH=CH-R^3$ ,  $-N(R^4)_2$  і  $-OR^5$ ;  $R^3$  являє собою водень або необов'язково заміщену аліфатичну групу, арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу;

кожний з  $R^4$  незалежно являє собою водень або необов'язково заміщену аліфатичну, арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу;

або два  $R^4$ , приєднані до одного і того ж атома азоту, взяті разом з атомом азоту, утворюють необов'язково заміщене 5-6-членне гетероарильне або 4-8-членне гетероциклічне кільце, що має в доповнення до атома азоту 0-2 кільцевих гетероатомів, вибраних з N, O і S;

$R^5$  являє собою водень або необов'язково заміщену аліфатичну групу, арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу; і

$R^b$  вибирають з групи, що складається з фтору, хлору,  $-CH_3$ ,  $-CF_3$ ,  $-OH$ ,  $-OCH_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-OCH_2CH_3$  і  $-OCH_2CF_3$ .

2. Сполука за п.1, де  $R^1$  являє собою 5- або 6-членне арильне, гетероарильне або гетероциклічне кільце, необов'язково заміщене одним або двома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену,  $C_{1-3}$  заліфатичної групи і  $C_{1-3}$  фтораліфатичної групи.

3. Сполука за п.1, де  $R^a$  являє собою галоген,  $C_{1-3}$  заліфатичну групу,  $C_{1-3}$  фтораліфатичну групу,  $-OH$ ,  $-O(C_{1-3}$  заліфатичну групу),  $-O(C_{1-3}$  фтораліфатичну групу) або  $-C \equiv C-R^3$ ,  $-CH=CH-R^3$ , де  $R^3$  являє собою водень,  $C_{1-3}$  заліфатичну групу,  $C_{1-3}$  фтораліфатичну групу або  $-CH_2-OCH_3$ ; або  $R^a$  являє собою фенільне, фурильне, піролідинільне або тієнільне кільце, необов'язково заміщене одним або двома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену,  $C_{1-3}$  заліфатичної групи і  $C_{1-3}$  фтораліфатичної групи.

4. Сполука за п.3, в якій  $R^a$  вибирається з групи, що складається з хлору, фтору,  $C_{1-3}$  заліфатичної групи,  $C_{1-3}$  фтораліфатичної групи,  $-OCH_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-C \equiv C-H$ ,  $-C \equiv C-CH_3$ ,  $-C \equiv C-CH_2OCH_3$ ,  $-CH=CH_2$ ,  $-CH=CHCH_3$ , N-метилпіролідинілу, тієнілу, метилтієнілу, фурилу, метилфурилу, фенілу, фторфенілу і толілу.

5. Сполука, що являє собою 4-([9-етиніл-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5H-піримідо[5,4d][2]бензазепін-2-

(13) C2

(11) 94129

(19) UA

іл)аміно)-2-метоксибезойну кислоту або її фармацевтично прийнятну сіль.

6. Сполука, що являє собою 4-{{[7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-(1-метил-1Н-пірол-2-іл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойну кислоту або її фармацевтично прийнятну сіль.

7. Сполука, що являє собою 4-{{[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойну кислоту або її фармацевтично прийнятну сіль.

8. Сполука, що являє собою натрій 4-{{[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибензоат.

9. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за будь-яким з пп.1-8.

10. Спосіб інгібування активності Ауорога-кінази в клітині, в якому вводять у контакт клітину, в якій

необхідне інгібування Ауорога-кінази, із сполукою за будь-яким з пп.1-8.

11. Спосіб за п.10, в якому Ауорога-кіназа являє собою Ауорога А-кіназу.

12. Спосіб лікування розладу, опосередкованого Ауорога-кіназою, у пацієнта, що потребує такого лікування, при якому пацієнту вводять терапевтично ефективну кількість сполуки за будь-яким з пп.1-8.

13. Спосіб за п.12, в якому розлад, опосередкований Ауорога-кіназою, являє собою рак.

14. Спосіб за п.13, в якому рак вибирають з групи, що складається з колоректального раку, раку яєчників, раку грудей, раку шлунка, раку простати і раку підшлункової залози.

15. Спосіб за п.14, в якому рак вибирають з групи, що складається з раку грудей, колоректального раку і раку підшлункової залози.

За даною заявкою заявляється пріоритет на основі тимчасової заявки на патент США №60/859340, поданої 16 листопада 2006 року, яка включена в даний опис як посилання повному об'ємі.

Даний винахід стосується сполук і способів лікування раку. Зокрема, даний винахід забезпечує сполуку, яка інгібує ферменти Ауорога-кінази, фармацевтичні композиції, що містять сполуку, і способи застосування сполуки для лікування раку.

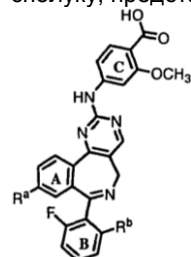
Згідно з Американським Раковим Товариством, вважається, що 1,4 мільйони американців мали діагноз знову виявлений рак в 2004 році і приблизно 560000 жертв померли від цього захворювання. Хоча розвиток медицини підвищив процент виживаності при раку, все ще є потреба в новому і більш ефективному лікуванні.

Рак характеризується неконтрольованим розмноженням клітин. Мітоз являє собою стадію в клітинному циклі, протягом якої ряд складних подій забезпечує правильність розділення хромосом для двох дочірніх клітин. Декілька сучасних видів протиракової терапії, включаючи таксани і алкалоїди вінка, діють, інгібуючи мітотичні механізми. Послідовність стадій мітозу регулюється здебільшого за допомогою протеолізу і подій фосфолування, які опосередковані мітотичними кіназами. Члени сімейства Ауорога-кіназ (наприклад, Ауорога А, Ауорога В, Ауорога С) регулюють послідовність стадій мітозу за допомогою модулювання розділення центросоми, динаміки мітотичного веретена, реперної точки збирання мітотичного веретена, поєднання хромосом і цитокінезу (Dutertre et al., *Oncogene*, 21: 6175 (2002); Berdnik et al., *Curr. Biol.*, 12: 640 (2002)). Надекспресія і/або ампліфікація Ауорога-кіназ пов'язані з онкогенезом у декількох типів пухлин, включаючи пухлини товстої кишки і грудей (Warner et al., *Mol. Cancer Ther.*, 2: 589 (2003); Bischoff et al., *EMBO*, 17: 3062 (1998); Sen et al., *Cancer Res.*, 94: 1320 (2002)). Крім того, інгібування Ауорога-кінази в клітинах пухлини приводить до припинення мітозу і до апоптозу, що говорить про те, що ці кінази є важливими мішенями для протиракової терапії (Ditchfield, *J. Cell Biol.*, 161:267 (2003); Harrington et

al., *Nature Med.*, 1 (2004)). Виходячи з центральної ролі мітозу в розвитку по суті всіх злоякісних утворень, інгібітори Ауорога-кіназ, як очікується, знайдуть застосування для більшого набору пухлин людини. Таким чином, є необхідність в нових інгібіторах Ауорога-кінази.

Claiborne et al., публікація заявки на міжнародний патент WO 05/111039, описує піримідобензазепінові сполуки, що володіють інгібуючою активністю по відношенню до Ауорога-кінази. Автори даного винаходу виявили піримідобензазепінові сполуки з несподівано високою активністю проти Ауорога А кінази. Запропоновані сполуки є корисними для інгібування активності Ауорога А кінази *in vitro* і *in vivo* і є особливо корисними при лікуванні різних захворювань, пов'язаних з проліферацією клітин.

В одному з аспектів даний винахід передбачає сполуку, представлену формулою (I):



(I)

або її фармацевтично прийнятну сіль, де  $R^a$  вибирають з групи, що складається з  $C_{1-3}$  аліфатичної групи,  $C_{1-3}$  фтораліфатичної групи,  $-R^1$ ,  $-T-R^1$ ,  $-R^2$  і  $-T-R^2$ ;

$T$  являє собою  $C_{1-3}$  алкіленовий ланцюг, необов'язково заміщений фтором;

$R^1$  являє собою необов'язково заміщену арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу;

$R^2$  вибирають з групи, що складається з галогену,  $-C\equiv C-R^3$ ,  $-CH=CH-R^3$ ,  $-N(R^4)_2$  і  $-OR^5$ ;

$R^3$  являє собою атом водню або необов'язково заміщену аліфатичну, арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу;

кожний  $R^4$  незалежно являє собою атом водню або необов'язково заміщену аліфатичну, арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу; або два

$R^4$  поблизу одного і того ж атома азоту, взяті разом з атомом азоту, утворюють необов'язково заміщене 5-6-членне гетероарильне або 4-8-членне гетероциклічне кільце, що має, в доповнення до атома азоту, 0-2 кільцевих гетероатомів, вибраних N, O і S;

$R^5$  являє собою атом водню або необов'язково заміщену аліфатичну, арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу; і

$R^6$  вибирають з групи, що складається з фтору, хлору,  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{OCF}_3$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$  і  $-\text{OCH}_2\text{CF}_3$ .

У деяких варіантах здійснення  $R^1$  являє собою 5- або 6-членне арильне, гетероарильне або гетероциклічне кільце, необов'язково заміщене одним або двома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену,  $\text{C}_{1-3}$  аліфатичної групи і  $\text{C}_{1-3}$  фтораліфатичної групи. У певних варіантах здійснення  $R^1$  являє собою фенільне, фурильне, піролідинільне або тієнільне кільце, необов'язково заміщене одним або двома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену,  $\text{C}_{1-3}$  аліфатичної групи і  $\text{C}_{1-3}$  фтораліфатичної групи.

У деяких варіантах здійснення  $R^3$  являє собою атом водню,  $\text{C}_{1-3}$  аліфатичну групу,  $\text{C}_{1-3}$  фтораліфатичну групу або  $-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$ .

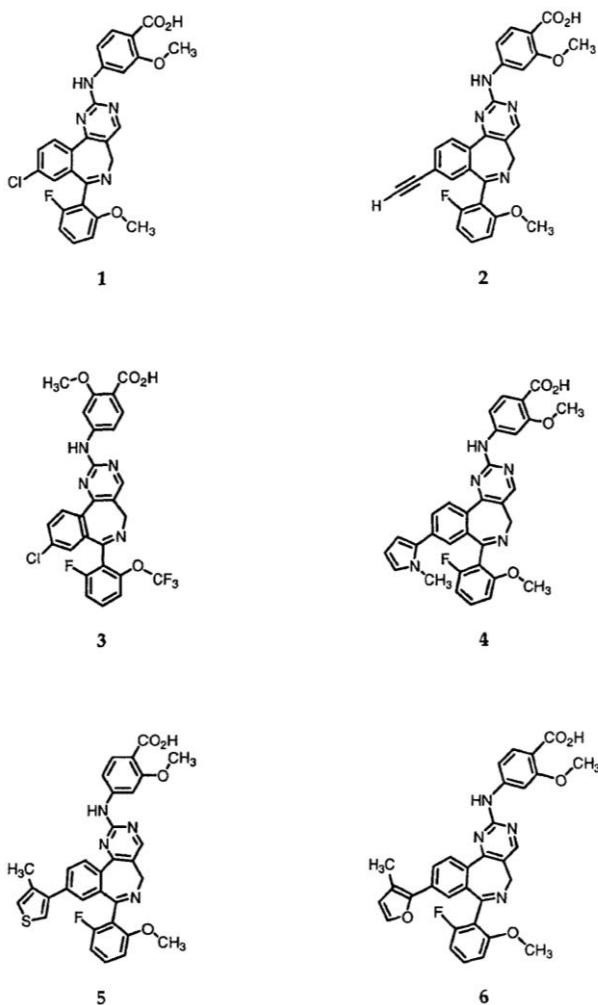
У деяких варіантах здійснення  $R^5$  являє собою атом водню,  $\text{C}_{1-3}$  аліфатичну групу або  $\text{C}_{1-3}$  фтораліфатичну групу.

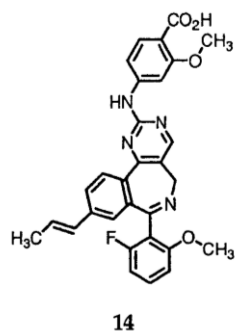
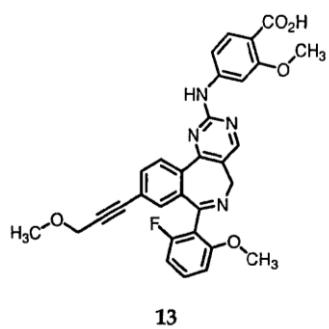
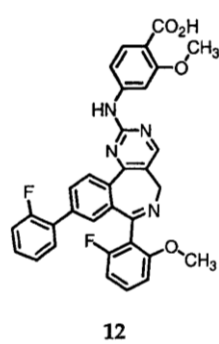
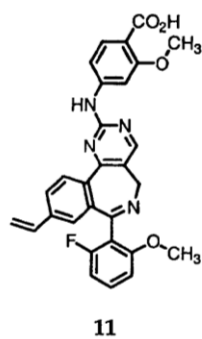
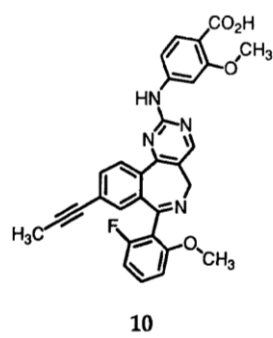
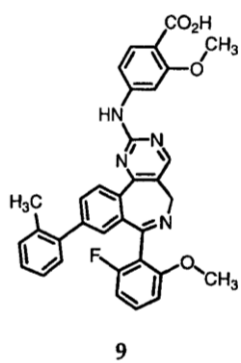
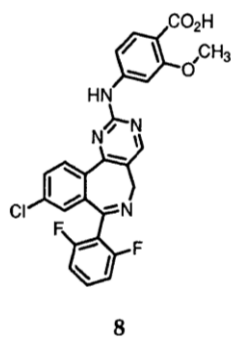
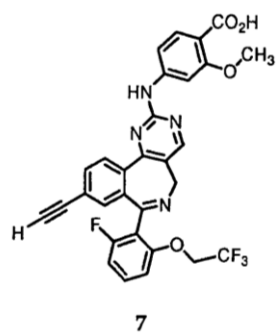
У певних варіантах здійснення  $R^a$  являє собою галоген,  $\text{C}_{1-3}$  аліфатичну групу,  $\text{C}_{1-3}$  фтораліфатичну групу,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{O}(\text{C}_{1-3}$  аліфатичну групу),  $-\text{O}(\text{C}_{1-3}$  фтораліфатичну групу),  $-\text{C}=\text{C}-\text{R}^3$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}^3$  або необов'язково заміщене піролідинільне, тієнільне, фурильне або фенільне кільце, де  $R^3$  являє собою атом водню,  $\text{C}_{1-3}$  аліфатичну групу,  $\text{C}_{1-3}$  фтораліфатичну групу або  $-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$ . У певних конкретних варіантах здійснення  $R^a$  вибирається з групи, що складається з хлору, фтору,  $\text{C}_{1-3}$  аліфатичної групи,  $\text{C}_{1-3}$  фтораліфатичної групи,  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{OCF}_3$ ,  $-\text{C}=\text{C}-\text{H}$ ,  $-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$ ,  $-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ,  $-\text{CH}=\text{CHCH}_3$ , N-метилпіролідинілу, тієнілу, метилтієнілу, фурилу, метилфурилу, фенілу, фторфенілу і толілу.

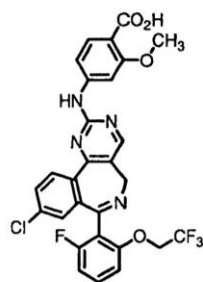
Таблиця 1 показує конкретні приклади сполук формули (I).

Таблиця 1

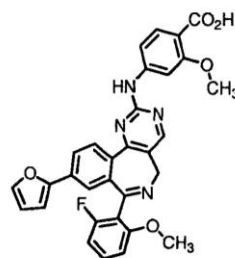
## Інгібітори Aurora-кінази



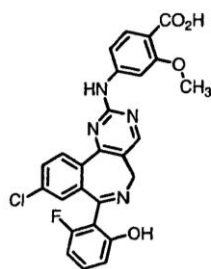




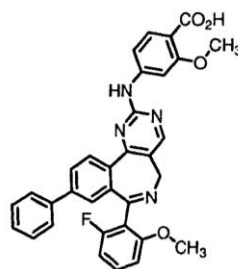
15



16



17



18

Сполуки в таблиці 1 вище також можуть ідентифікуватися за допомогою наступних хімічних найменувань:

Таблиця 1

	Хімічне найменування
1	4-{[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
2	4-{[9-етиніл-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
3	4-{[9-хлор-7-[2-фтор-6-(трифторметокси)феніл]-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
4	4-{[7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-(1-метил-1Н-пірол-2-іл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
5	4-{[7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-(4-метил-3-тієніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
6	4-{[7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-(3-метил-2-фурил)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
7	4-{[9-етиніл-7-[2-фтор-6-(2,2,2-трифторетокси)феніл]-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
8	4-{[9-хлор-7-(2,6-дифторфеніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
9	4-{[7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-(2-метилфеніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
10	4-{[7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-проп-1-ин-1-іл-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота
11	4-{[7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-вініл-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл]аміно}-2-метоксибезойна кислота

12	4-{{7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-(2-фторфеніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно}-2-метоксибезойна кислота
13	4-{{7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-(3-метоксипроп-1-ин-1-іл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно}-2-метоксибезойна кислота
14	4-{{7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-[(1Е)-проп-1-ен-1-іл]-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно}-2-метоксибезойна кислота
15	4-{{9-хлор-7-[2-фтор-6-(2,2,2-трифторетокси)феніл]-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно)-2-метоксибезойна кислота
16	4-{{7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-(2-фурил)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно}-2-метоксибезойна кислота
17	4-{{9-хлор-7-(2-фтор-6-гідроксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно)-2-метоксибезойна кислота
18	4-{{7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-9-феніл-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно}-2-метоксибезойна кислота

В одному з варіантів здійснення сполука формули (I) являє собою 4-{{9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно}-2-метоксибезойну кислоту або її фармацевтично прийнятну сіль. У конкретному варіанті здійснення сполука формули (I) являє собою натрій 4-{{9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-d][2]бензазепін-2-іл}аміно)-2-метоксибензоат.

Якщо не вказано іншого, структури, зображені тут, як маєтись на увазі, включають сполуки, які відрізняються тільки присутністю одного або декількох ізотопно збагачених атомів. Наприклад, сполуки, що мають представлену вище структуру, за винятком заміни атома водню дейтерієм або тритієм або заміни атома вуглецю  $^{13}\text{C}$ - або  $^{14}\text{C}$ -збагаченим вуглецем, знаходяться в рамках даного винаходу.

Термін "аліфатичний" або "аліфатична група", як тут використовується, означає заміщений або незаміщений, що має прямий або розгалужений ланцюг або циклічний  $\text{C}_{1-12}$  вуглеводень, який є повністю насиченим або який містить одну або декілька одиниць ненасиченості, але який не є ароматичним. Наприклад, відповідні аліфатичні групи включають заміщені або незаміщені лінійні, розгалужені або циклічні алкільні, алкенільні, алкінільні групи і їх гібриди, такі як (циклоалкіл)алкіл, (циклоалкеніл)алкіл або (циклоалкіл)алкеніл.

Термін "циклоаліфатичний", що використовується окремо або як частина більшого залишку, стосується насиченої або частково ненасиченої циклічної аліфатичної кільцевої системи, що має від 3 до приблизно 14 елементів, де аліфатична кільцева система є необов'язково заміщеною. У деяких варіантах здійснення циклоаліфатична група являє собою моноциклічний вуглеводень, що має 3-8 або 3-6 кільцевих атомів вуглецю. Необмежувальні приклади включають циклопропіл, циклобутан, циклопентил, циклопентеніл, циклогексил, циклогексеніл, циклогептил, циклогептеніл, циклооктил, циклооктеніл і циклооктадієніл. У деяких варіантах здійснення циклоаліфатична група являє собою з'єднаний містком або конденсований

біциклічний вуглеводень, що має 6-12, 6-10 або 6-8 кільцевих атомів вуглецю, де будь-яке індивідуальне кільце в біциклічній кільцевій системі має 3-8 елементів.

У деяких варіантах здійснення два сусідніх замісники на циклоаліфатичному кільці, взяті разом із спільними кільцевими атомами, утворюють необов'язково заміщене конденсоване 5-6-членне ароматичне або 3-8-членне неароматичне кільце, що має 0-3 кільцевих гетероатомів, вибраних з групи, що складається з O, N і S. Таким чином, термін "циклоаліфатичний" включає аліфатичні кільця, які є конденсованими з одним або декількома арильними, гетероарильними або гетероциклічними кільцями. Необмежувальні приклади включають інданіл, 5,6,7,8-тетрагідрокінокалініл, декагідронафтил або тетрагідронафтил, де радикал або точка приєднання знаходиться на аліфатичному кільці. Термін "циклоаліфатичний" може використовуватися взаємозамінно з термінами "карбоцикл", "карбоцикліл", "карбоцикло" або "карбоциклічний".

Терміни "арил" і "ар-", що використовуються окремо або як частина більшого залишку, наприклад, "аралкіл", "аралкокси" або "арилоксиалкіл", стосуються  $\text{C}_6\text{-C}_{14}$  ароматичного вуглеводеню, що містить одне-три кільця, кожне з яких є необов'язково заміщеним. Переважно, арильна група являє собою  $\text{C}_6\text{-C}_{10}$  арильну групу. Арильні групи включають, без обмеження, феніл, нафтил і антраценіл. У деяких варіантах здійснення два сусідніх замісники на арильному кільці, взяті разом із спільними кільцевими атомами, утворюють необов'язково заміщене конденсоване 5-6-членне ароматичне або 4-8-членне неароматичне кільце, що має 0-3 кільцевих гетероатомів, вибраних з групи, що складається з O, N і S. Таким чином, термін "арил", як тут використовується, включає групи, в яких ароматичне кільце є конденсованим з одним або декількома гетероарильними, циклоаліфатичними або гетероциклічними кільцями, де радикал або точка приєднання знаходиться на ароматичному кільці. Необмежувальні приклади таких конденсованих кільцевих систем включають індоліл,

ізоіндоліл, бензотієніл, бензофураніл, дибензофураніл, індазоліл, бензімідазоліл, бензтіазоліл, хіноліл, ізохіноліл, циноліл, фталазиніл, хіназолініл, хіноксалініл, карбазоліл, акридиніл, феназиніл, фенотіазиніл, феноксазиніл, тетрагідрохіноліл, тетрагідроізохіноліл, флуореніл, інданіл, фенантридиніл, тетрагідронафтил, індолініл, феноксазиніл, бензодіоксаніл і бензодіоксоліл. Арильна група може бути моно-, бі-, три- або поліциклічною, переважно, моно-, бі- або трициклічною, більш переважно, моно- або біциклічною. Термін "арил" може використовуватися взаємозамінно з термінами "арильна група", "арильний залишок" і "арильне кільце".

"Аралкіл" або "арилалкільна" група включає арильну групу, ковалентно зв'язану з алкільною групою, кожна з них незалежно є необов'язково заміщеною.

Переважно, аралкільна група являє собою  $C_{6-10}$  арил( $C_{1-6}$ )алкіл,  $C_{6-10}$  арил( $C_{1-4}$ )алкіл або  $C_{6-10}$  арил( $C_{1-3}$ )алкіл, включаючи, без обмеження, бензил, фенетил і нафтилметил.

Терміни "гетероарил" і "гетероар-", що використовуються окремо, або як частина більшого залишку, наприклад, гетероаралкіл або "гетероаралкокси", стосуються груп, що мають 5-14 кільцевих атомів, переважно, 5, 6, 9 або 10 кільцевих атомів, які мають 6, 10 або 14  $\pi$  електронів, узагальнених в циклічному ряду; і що має в доповнення до атомів вуглецю від одного до чотирьох гетероатомів. Термін "гетероатом" стосується атома азоту, кисню або сірки і включає будь-яку окислену форму азоту або сірки і будь-яку кватернізовану форму основного азоту. Гетероарильні групи включають, без обмеження, тієніл, фураніл, піроліл, імідазоліл, піразоліл, триазоліл, тетразоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, оксадіазоліл, тіазоліл, ізотіазоліл, тіадіазоліл, піридил, піридазиніл, піримідиніл, піразиніл, індолізиніл, пуриніл, нафтиридиніл і птеридиніл. У деяких варіантах здійснення два сусідніх замісники на гетероарилі, взяті разом із спільними кільцевими атомами, утворюють необов'язково заміщене конденсоване 5-6-членне ароматичне або 4-8-членне неароматичне кільце, що має 0-3 кільцевих гетероатомів, вибраних з групи, що складається з O, N і S. Таким чином, терміни "гетероарил" і "гетероар-", як тут використовується, також включають групи, в яких гетероароматичне кільце є конденсованим з одним або декількома арильними, циклоаліфатичними або гетероциклічними кільцями, де радикал або точка приєднання знаходиться на гетероароматичному кільці. Необмежувальні приклади включають індоліл, ізоіндоліл, бензотієніл, бензофураніл, дибензофураніл, індазоліл, бензімідазоліл, бензтіазоліл, хіноліл, ізохіноліл, циноліл, фталазиніл, хіназолініл, хіноксалініл, 4Н-хінолізиніл, карбазоліл, акридиніл, феназиніл, фенотіазиніл, феноксазиніл, тетрагідрохіноліл, тетрагідроізохіноліл і піrido[2,3-*b*]-1,4-оксазин-3(4Н)-он. Гетероарильна група може бути моно-, бі-, три- або поліциклічною, переважно, моно-, бі- або трициклічною, більш переважно, моно- або біциклічною. Термін "гетероарил" може використовуватися взаємозамінно з термінами "гетероарильне кільце", "гетероарильна група" або "гетероа-

роматична група", будь-який з цих термінів включає кільця, які є необов'язково заміщеними. Термін "гетероаралкіл" стосується алкільної групи, заміщеної гетероарилом, де алкільна і гетероарильна частини незалежно є необов'язково заміщеними.

Як тут використовується, терміни "гетероцикл", "гетероцикліл", "гетероциклічний радикал" і "гетероциклічне кільце" використовуються взаємозамінно і стосуються стабільного 3-7-членного моноциклічного або конденсованого 7-10-членного, або до з'єднаного містком 6-10-членного біциклічного гетероциклічного залишку, який є або насиченим, або частково ненасиченим і має, в доповнення до атомів вуглецю, один або декілька, переважно, один-чотири гетероатоми, як визначено вище. Коли він використовується відносно кільцевого атома гетероциклу, термін "азот" включає заміщений азот. Як приклад, в гетероциклічному кільці, що має 1-3 гетероатоми, вибраних з атомів кисню, сірки або азоту, азот може являти собою N (як в 3,4-дигідро-2Н-піролілі), NH (як в піролідинілі) або \*NR (як в N-заміщеному піролідінілі). Гетероциклічне кільце може з'єднуватися з бічною групою на будь-якому гетероатомі або атомі вуглецю, якщо це приводить до одержання стабільної структури, і будь-який з кільцевих атомів може бути необов'язково заміщеним. Приклади таких насичених або частково ненасичених гетероциклічних радикалів включають, без обмеження, тетрагідрофураніл, тетрагідротієніл, піролідиніл, піролідоніл, піперидиніл, піролініл, тетрагідрохіноліл, тетрагідроізохіноліл, декагідрохіноліл, оксазолідиніл, піперазиніл, діоксаніл, діоксоланіл, діазепініл, оксазепініл, тіазепініл, морфолініл і хінуклідиніл.

У деяких варіантах здійснення два сусідніх замісники на гетероциклічному кільці беруться разом із спільними кільцевими атомами для необов'язково заміщеного конденсованого 5-6-членного ароматичного або 3-8-членного неароматичного кільця, що має 0-3 кільцевих гетероатомів, вибраних з групи, що складається з O, N і S. Таким чином, терміни "гетероцикл", "гетероцикліл", "гетероциклічне кільце", "гетероциклічна група", "гетероциклічний залишок" і "гетероциклічний радикал" використовуються тут взаємозамінно і включають групи, в яких гетероциклічне кільце є конденсованим з одним або декількома арильними, гетероарильними або циклоаліфатичними кільцями, такими як індолініл, 3Н-індоліл, хроманіл, фенантридиніл або тетрагідрохіноліл, де радикал або точка приєднання знаходиться на гетероциклічному кільці. Гетероциклічна група може бути моно-, бі-, три- або поліциклічною, переважно, моно-, бі- або трициклічною, більш переважно, моно- або біциклічною. Термін "гетероцикліалкіл" стосується алкільної групи, заміщеної гетероциклілом, де алкільні і гетероциклічні частини незалежно є необов'язково заміщеними.

Як тут використовується, термін "частково ненасичений" стосується кільцевого залишку, який містить, щонайменше, один подвійний або потрійний зв'язок між кільцевими атомами. Термін "частково ненасичений" призначається для охоплення кілець, що мають множину центрів ненасиченості, але не призначений для включення в нього ариль-

них або гетероарильних залишків, як тут визначено.

Терміни "галогеналіфатична група", "галогеналкіл", "галогеналкеніл" і "галогеналкоксі" стосуються аліфатичної, алкільної, алкенільної або алкоксигруп, як приклад, які можуть бути заміщеними одним або декількома атомами галогену. Як тут використовується, термін "галоген" означає F, Cl, Br або I. Термін фтораліфатична група" стосується галогеналіфатичної групи, де галоген являє собою фтор.

Термін "алкілен" стосується двовалентної алкільної групи. "Алкіленовий ланцюг" являє собою поліметиленову групу, тобто  $-(CH_2)_n-$ , де  $n$  являє собою позитивне ціле число, переважно, від 1 до 6, від 1 до 4, від 1 до 3, від 1 до 2 або від 2 до 3. Замещення алкіленовий ланцюг являє собою поліметиленову групу, в якій один або декілька атомів водню метилену замінені замісником. Відповідні замісники включають ті, які описані нижче для заміщеної аліфатичної групи. Алкіленовий ланцюг також може бути заміщеним в одному або декількох положеннях аліфатичною групою або заміщеною аліфатичною групою.

Термін "заміщений", як тут використовується, означає, що водневий радикал позначеного залишку замінений радикалом вказаного замісника, за умови, що заміщення приводить до одержання стабільної або хімічно здійсненої сполуки. Фраза "один або декілька замісників", як тут використовується, стосується деякої кількості замісників, яка складає від одного до максимальної кількості можливих замісників по відношенню до кількості доступних центрів скріплення, за умови, що задовольняються вказані вище умови стабільності і хімічної здійсненності. Якщо не вказано іншого, необов'язково заміщена група може мати замісник в кожному положенні групи, що заміняється, і замісники можуть бути або однаковими, або різними.

Арильна (включаючи арильний залишок в аралкілі, аралкоксі, арилоксіалкілі і тому подібне) або гетероарильна (включаючи гетероарильний залишок в гетероаралкілі і гетероаралкоксі і тому подібне) група може містити один або декілька замісників. Приклади відповідних замісників на ненасиченому атомі вуглецю арильної або гетероарильної групи включають -галоген,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-R^*$ ,  $-C(R^*)=C(R^*)_2$ ,  $-OC-R^*$ ,  $-OR^*$ ,  $-SR^*$ ,  $-S(O)R^*$ ,  $-SO_2R^*$ ,  $-SO_3R^*$ ,  $-SO_2N(R^*)_2$ ,  $-N(R^*)_2$ ,  $-NR^+C(O)R^*$ ,  $-NR^+C(O)N(R^*)_2$ ,  $-NR^+CO_2R^*$ ,  $-O-CO_2R^*$ ,  $-OC(O)N(R^*)_2$ ,  $-O-C(O)R^*$ ,  $-CO_2R^*$ ,  $-C(O)-C(O)R^*$ ,  $-C(O)R^*$ ,  $-C(O)N(R^*)_2$ ,  $-C(O)N(R^+)C(=NR^+)-N(R^*)_2$ ,  $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)-3(O)R^*$ ,  $-C(=NR^+)-N(R^*)_2$ ,  $-C(=NR^+)-OR^*$ ,  $-N(R^+)-N(R^*)_2$ ,  $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^*)_2$ ,  $-NR^+SO_2R^*$ ,  $-NR^+SO_2N(R^*)_2$ ,  $-P(O)(R^*)_2$ ,  $-P(O)(OR^*)_2$ ,  $-O-P(O)-OR^*$  і  $-P(O)(NR^+)-N(R^*)_2$ ; або два сусідніх замісники, взяті разом з їх спільними атомами, утворюють 5-6-членне ненасичене або частково ненасичене кільце, що має 0-3 кільцевих атоми, вибраних з групи, що складається з N, O і S.

Арильна (включаючи арильний залишок в аралкілі, аралкоксі, арилоксіалкілі і тому подібне) або гетероарильна (включаючи гетероарильний залишок в гетероаралкілі і гетероаралкоксі і тому подібне) група може містити один або декілька

замісників. Приклади відповідних замісників на ненасиченому атомі вуглецю арильної або гетероарильної групи включають -галоген,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-R^*$ ,  $-C(R^*)=C(R^*)_2$ ,  $-C=C-R^*$ ,  $-OR^*$ ,  $-SR^*$ ,  $-S(O)R^*$ ,  $-SO_2R^*$ ,  $-SO_3R^*$ ,  $-SO_2N(R^*)_2$ ,  $-N(R^*)_2$ ,  $-NR^+C(O)R^*$ ,  $-NR^+C(O)N(R^*)_2$ ,  $-NR^+CO_2R^*$ ,  $-O-CO_2R^*$ ,  $-OC(O)N(R^*)_2$ ,  $-O-C(O)R^*$ ,  $-CO_2R^*$ ,  $-C(O)-C(O)R^*$ ,  $-C(O)R^*$ ,  $-C(O)N(R^*)_2$ ,  $-C(O)N(R^+)C(=NR^+)-N(R^*)_2$ ,  $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)-C(O)R^*$ ,  $-C(=NR^+)-N(R^*)_2$ ,  $-C(=NR^+)-OR^*$ ,  $-N(R^+)-N(R^*)_2$ ,  $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^*)_2$ ,  $-NR^+SO_2R^*$ ,  $-NR^+SO_2N(R^*)_2$ ,  $-P(O)(R^*)_2$ ,  $-P(O)(OR^*)_2$ ,  $-O-P(O)-OR^*$  і  $-P(O)(NR^+)-N(R^*)_2$ ; або два сусідніх замісники, взяті разом з їх спільними атомами, утворюють 5-6-членне ненасичене або частково ненасичене кільце, що має 0-3 кільцевих атоми, вибраних з групи, що складається з N, O і S.

Кожний  $R^+$  незалежно являє собою атом водню або необов'язково заміщену аліфатичну, арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу, або два  $R^+$  на одному і тому ж атомі азоту, взяті разом з атомом азоту, утворюють 5-8-членне ароматичне або неароматичне кільце, що має в доповнення до атома азоту 0-2 кільцевих гетероатомів, вибраних з N, O і S. Кожний  $R^*$  незалежно являє собою атом водню або необов'язково заміщену аліфатичну, арильну, гетероарильну або гетероциклічну групу. Кожний  $R^*$  являє собою необов'язково заміщену аліфатичну або арильну групу.

Аліфатична група або неароматичне гетероциклічне кільце може бути заміщеним одним або декількома замісниками. Приклади відповідних замісників на насиченому атомі вуглецю аліфатичної групи або неароматичного гетероциклічного кільця включають, без обмеження, ті, які перераховані вище для ненасиченого атома вуглецю арильної або гетероарильної групи, і наступні:  $=O$ ,  $=S$ ,  $=C(R^*)_2$ ,  $=N-N(R^*)_2$ ,  $=N-OR^*$ ,  $=N-NHC(O)R^*$ ,  $=N-NHCO_2R^*$ ,  $=N-NHSO_2R^*$  або  $=N-R^*$ , де кожний  $R^*$  і  $R^*$  є таким, як визначено вище.

Відповідні замісники на атомі азоту неароматичного гетероциклічного кільця включають  $-R^*$ ,  $-N(R^*)_2$ ,  $-C(O)R^*$ ,  $-CO_2R^*$ ,  $-C(O)-C(O)R^*$ ,  $-C(O)CH_2C(O)R^*$ ,  $-SO_2R^*$ ,  $-SO_2N(R^*)_2$ ,  $-C(=S)N(R^*)_2$ ,  $-C(=NH)-N(R^*)_2$  і  $-NR^+SO_2R^*$ ; де кожний  $R^*$  є таким, як визначено вище.

Сполуки формули (I) є інгібіторами Ауорога-кінази. Сполуки можуть аналізуватися *in vitro* або *in vivo* на їх здатність до зв'язування і/або інгібування Ауорога-кінази. Аналізи *in vitro* включають аналізи для визначення інгібування здатності Ауорога-кінази до фосфорилування субстрату білка або пептида. Альтернативні аналізи *in vitro* кількісно визначають здатність сполуки до зв'язування Ауорога-кінази. Зв'язування інгібітора може вимірюватися за допомогою радіоактивного мічення інгібітора перед зв'язуванням, виділення комплексу інгібітор/Ауорога-кіназа і визначення кількості пов'язаних радіоактивних міток. Альтернативно, зв'язування інгібітора може визначатися за допомогою здійснення конкурентного експеримента, в якому нові інгібітори інкубують разом з Ауорога-кіназою, пов'язаною з відомим радіоактивним лігандом. Сполуки згідно з даним винаходом також можуть аналізуватися на їх здатність до впливу на клітинні або фізіологічні функції, що опосередковуються

активністю Ауого-кінази. Аналізи на кожну з цих активностей описуються в Прикладах і/або відомі з літератури.

В іншому аспекті, отже, даний винахід передбачає спосіб інгібування активності Ауого-кінази в клітині, що включає приведення в контакт клітини, в якій є бажаним інгібування Ауого-кінази, з інгібітором Ауого-кінази формули (I) або його фармацевтично прийнятною сіллю.

Переважно, спосіб відповідно до цього аспекту даного винаходу викликає інгібування проліферації клітин для контактуючих клітин. Фраза "інгібування проліферації клітин" використовується для позначення здатності інгібітора Ауого-кінази до інгібування кількості клітин або росту клітин для контактуючих клітин, в порівнянні з клітинами, що не контактують з інгібітором. Оцінка проліферації клітин може здійснюватися за допомогою підрахунку клітин з використанням пристрою для підрахунку клітин або за допомогою аналізу виживаності клітин, наприклад, аналізи BrdU, MTT, XTT або WST. Коли клітини знаходяться в стані безперервного росту (наприклад, тверда пухлина або орган), така оцінка проліферації клітин може здійснюватися за допомогою вимірювання росту, наприклад, за допомогою штангенциркулю, і порівняння величини росту контактуючих і неконтактуючих клітин.

Переважно, ріст клітин, що контактують з інгібітором, сповільнюється, щонайменше, приблизно на 50% в порівнянні із ростом неконтактуючих клітин. У різних варіантах здійснення проліферація для контактуючих клітин інгібується, щонайменше, приблизно на 75%, щонайменше, приблизно на 90%, або, щонайменше, приблизно на 95% в порівнянні з неконтактуючими клітинами. У деяких варіантах здійснення фраза "інгібування проліферації клітин" включає зменшення кількості контактуючих клітин, в порівнянні з неконтактуючими клітинами, що вступили в контакт. Таким чином, інгібітор Ауого-кінази, який інгібує проліферацію клітин у контактуючій клітині, може

спричиняти сповільнення росту контактуючої клітини, припинити ріст, викликати запрограмовану загибель клітин (тобто, апоптоз) або викликати некротичну загибель клітин.

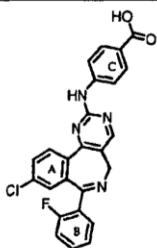
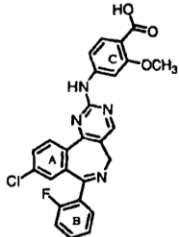
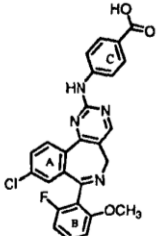
Автори даного винаходу виявили, що сполуки формули (I), які характеризуються метоксизамісником в орто-положенні по відношенню до карбоксильної групи в кільці С, і замісником R<sup>b</sup>, іншим, ніж атом водню в кільці В, демонструють несподівану активність в клітинних аналізах в порівнянні зі структурно схожими сполуками.

Наприклад, таблиця 2 показує порівняння сполуки 1 із сполуками i, ii і iii, описаними в публікації заявки на міжнародний патент WO 05/11039, Claiborne et al. Сполуки 1 і i-iii досліджують в трьох клітинних аналізах: (1) аналіз аутофосфорилювання Ауого А в рТ288; (2) аналіз проліферації клітин з BrdU (5-бром-2-деоксиридином) для клітин НСТ116; і (3) аналіз проліферації клітин з BrdU для клітин SW480. Протоколи цих аналізів відомі в даній галузі і описуються в прикладі 6. Сполуки i і ii демонструють дуже схожу активність у всіх трьох аналізах, і це говорить про те, що додавання метокси замісника в орто-положенні по відношенню до замісника карбонової кислоти в кільці С впливає тільки малим чином на активність по відношенню до клітин або взагалі не надає впливу. У протилежність цьому, сполука iii демонструє значно поліпшену активність у всіх трьох аналізах, в порівнянні із сполукою ii, і це говорить про те, що додатковий замісник на кільці В поліпшує активність. Беручи до уваги ці дані, той факт, що сполука 1 є більш активною, ніж сполуки i і ii, не є несподіваним. Несподівано, однак, сполука 1 демонструє також помітне 2-4-кратне збільшення активності в порівнянні із сполукою iii. Як показують ці дані, поєднання метоксизамісника в орто-положенні по відношенню до замісника карбонової кислоти і до замісника R<sup>b</sup>, іншого, ніж атом водню в кільці В, забезпечує несподіване збільшення активності.

Таблиця 2

Клітинна активність інгібіторів Ауого-кінази

Сполука	Структура	рТ288 IC <sub>50</sub> (мкМ)	BrdU НСТ116 LD <sub>50</sub> (мкМ)	BrdU SW480 LD <sub>50</sub> (мкМ)
1		0.005	0.03	0.41

i		0.18	0.707	6.502
ii		0.15	0.758	7.579
iii		0.018	0.13	0.94

Сполука 1 є також більш активною, ніж сполуки iii *in vivo*, як демонструється на моделі мишей з привитою карциномою товстої кишки людини HCT116 (див. приклад 7). Підвищення активності *in vivo* сполук формули (I), як очікується, приведе до поліпшення терапевтичного індексу по відношенню до нецільових побічних впливів.

В іншому аспекті, отже, даний винахід передбачає фармацевтичну композицію, що містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль і фармацевтично прийнятний носій.

Якщо в цих композиціях використовується фармацевтично прийнятна сіль сполуки згідно з даним винаходом, сіль переважно отримують з неорганічної або органічної кислоти або основи. Відносно огляду відповідних солей, див., наприклад, Berge et al., J. Pharm. Sci. 66:1-19 (1977) і Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., ed. A. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

Необмежувальні приклади відповідних кислотно-адитивних солей включають наступні: ацетат, адипат, альгінат, аспартат, бензоат, бензолсульфонат, бісульфат, бутират, цитрат, камфорат, камфорсульфонат, циклопентанпропіонат, диглюконат, додецилсульфат, етансульфонат, фумарат, лукогептаноат, гліцерофосфат, хемісульфат, гептаноат, гексаноат, гідрохлорид, гідробромід, гідройодид, 2-гідроксіетансульфонат, лактат, малеат, метансульфонат, 2-нафталінсульфонат, нікотинат, оксалат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенілпропіонат, пікрат, півалат, пропіонат, сукцинат, тартрат, тіоціанат, тозилат і ундеканат.

Відповідні адитивні солі з основами включають, без обмеження, солі амонію, солі лужних металів, такі як солі натрію і калію, солі лужноземельних металів, такі як солі кальцію і магнію, солі з органічним основами, такі як дициклогексиламін, N-метил-D-глюкамін, трет-бутиламін, етилендіамін, етаноламін і холін, і солі з амінокислотами, такими як аргінін, лізин і так далі. В одному з варіантів здійснення сполука формули (1) може приготуватися як відповідна натрієва сіль.

Також, основні азотовмісні групи можуть кватернізуватися за допомогою таких агентів як нижчі алкілгалогеніди, такі як метил-, етил-, пропіл- і бутилхлориди, -броміди і -йодиди; діалкілсульфати, такі як диметил-, діетил-, дибутил- і діамілсульфати, доваголанцюжкові галогеніди, такі як децил-, лаурил-, міристил- і стеарилхлориди, -броміди і -йодиди, аралкілгалогеніди, такі як бензил і фенетилброміди, і інші. При цьому виходять продукти, розчинні або дисперговані у воді або маслі.

Термін "фармацевтично прийнятний носій" використовується тут для згадки матеріалу, який сумісний з суб'єктом, його приймаючим, переважно, свавцем, більш переважно, з людиною, і є придатним для доставки активного агента до мішені без припинення активності агента. Токсичність або негативний вплив, якщо він є, пов'язаний з носієм, переважно є сумісним з розумним відношенням ризик/вигода для передбачуваного використання активного агента. Терміни "носій", "допоміжна речовина" або "основа" використовуються тут взаємозамінно і включають будь-які і всі розчинники, розріджувачі і інші рідкі основи, допоміжні речови-

ни для диспергування або суспендування, поверхнево-активні агенти, ізотонічні агенти, загусники або емульсифікуючі агенти, консерванти, тверді зв'язуючі речовини, змащувальні речовини і тому подібне, відповідно до конкретної бажаної дозованої форми. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., ed. A. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, описує різні носії, що використовуються при приготуванні фармацевтично прийнятних композицій, і відомі технології для їх приготування. За винятком того випадку, коли будь-яке звичайне середовище носій є несумісним із сполуками згідно з даним винаходом, наприклад, через надання якого-небудь небажаного біологічного впливу або іншої взаємодії шкідливим чином з будь-яким іншим компонентом (компонентами) фармацевтично прийнятної композиції, його використання, як передбачається, знаходиться в рамках даного винаходу. Деякі приклади матеріалів, які можуть служити як фармацевтично прийнятні носії, включають, але не обмежуючись цим, іонообмінники, оксид алюмінію, стеарат алюмінію, лецитин, сироваткові білки, такі як людський сироватковий альбумін, буферні речовини, такі як динатрій гідрофосфат, калій гідрофосфат, карбонат натрію, бікарбонат натрію, карбонат калію, бікарбонат калію, гідроксид магнію і гідроксид алюмінію, гліцин, сорбінову кислоту або сорбат калію, часткові гліцериди насичених рослинних жирних кислот, воду, що не містить пірогенів, солі або електроліти, такі як протамін сульфат, динатрій гідрофосфат, калій гідрофосфат, хлорид натрію і солі цинку, колоїдний оксид кремнію, трисилікат магнію, полівінілпіролідон, поліакрилати, віск, блок-полімери поліетилен-поліоксипропілен, шерстяний жир, цукри, такі як лактоза, глюкоза, сахароза, крохмаль, такий як кукурудзяний крохмаль і картопляний крохмаль, целюлозу і її похідні, такі як натрій-карбоксиметилцелюлоза, етилцелюлоза і ацетат целюлози, порошкоподібна смола трагаканту; солод, желатин, тальк, наповнювачі, такий як олія какао і віск для супозиторіїв, олії, такі як арахісова олія, бавовняна олія, олія сафлору, кунжутна олія, оливкова олія, кукурудзяна олія і соєва олія, гліколі, такі як пропіленгліколь і поліетиленгліколь, складні ефіри, такі як етилолеат і етиллаурат, агар, альгінову кислоту, ізотонічний сольовий розчин, розчин Рінгера, спирти, такий як етанол, ізопропіловий спирт, гексадециловий спирт і гліцерин, циклодекстрини, змащувальні речовини, такі як натрій-лаурилсульфат і стеарат магнію, вуглеводні нафти, такі як мінеральне масло і петролатум. Фарбувальні агенти, агенти для полегшення вивільнення, агенти для покриттів, підсолоджуючі, ароматизуючі і парфюмерні агенти, консерванти і антиоксиданти також можуть бути присутніми в композиції, відповідно до думки того, хто її виготовляє.

Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом можуть бути одержані способами, добре відомими в даній галузі, такими як звичайні способи гранулювання, змішування, розчинення, інкапсулювання, ліофілізації або емульсифікації, серед іншого. Композиції можуть бути одержані в різних формах, включаючи гранули, преципітати або час-

тинки, порошки, включаючи порошки, висушені виморожуванням, висушені на роторному випарнику або висушені розпиленням, аморфні порошки, таблетки, капсули, сиропи, супозиторії, ін'єкції, емульсії, еліксири, суспензії або розчини. Препарати можуть необов'язково містити розчинники, розріджувачі і інші рідкі основи, допоміжні речовини для диспергування або суспендування, поверхнево-активні агенти, модифікатори рН, ізотонічні агенти, загусники або емульсифікуючі агенти, стабілізатори і консерванти, тверді зв'язуючі речовини, змащувальні речовини і тому подібне, відповідно до конкретної бажаної дозованої форми.

Відповідно до переважного варіанту здійснення композиції згідно з даним винаходом приготовляються для фармацевтичного введення ссавцю, переважно людській істоті. Такі фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом можуть вводитися перорально, парентерально, за допомогою спрею для інгаляцій, місцевим чином, ректально, назально, букально, вагінально або за допомогою імплантованого резервуара. Термін "парентеральний", як тут використовується, включає підшкірну, внутрішньовенну, внутрішньом'язову, інтраартикулярну, інтрасиновіальну, інтрастернальну, інтрастернальну, внутрішньопечінкову, внутрішньораневу і внутрішньочерепну ін'єкцію або методики вливань. Переважно, композиції вводяться перорально, внутрішньовенно або підшкірно. Препарати згідно з даним винаходом можуть складатися таким чином, щоб вони були швидкодіючими, що швидко вивільняються або являли собою препарати з тривалою дією. Крім того, сполуки можуть вводитися швидше за допомогою локальних, ніж системних засобів, наприклад, за допомогою введення (наприклад, за допомогою ін'єкції) в пухлину.

Рідкі дозовані форми для перорального введення включають, але не обмежуючись цим, фармацевтично прийнятні емульсії, мікроемульсії, розчини, суспензії, сиропи і еліксири. У доповнення до активних сполук рідкі дозовані форми можуть містити інертні розріджувачі, що повсюдно використовуються в даній галузі, такі, наприклад, як вода або інші розчинники, солюбілізуючі агенти і емульсифікатори, такі як етиловий спирт, ізопропіловий спирт, етилкарбонат, етилацетат, бензиловий спирт, бензилбензоат, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, циклодекстрини, диметилформамід, олії (зокрема, бавовняна, арахісова, кукурудзяна олія, олія із зародків насіння, оливкова, касторова і кунжутна олії), гліцерин, тетрагідрофурфуриловий спирт, поліетиленгліколі і складні ефіри жирних кислот і складні сорбітанові ефіри жирних кислот, і їх суміші. Поряд з інертними розріджувачами, пероральні композиції можуть також містити допоміжні речовини, такі як змочувальні агенти, емульсифікуючі і суспендуєчі агенти, підсолоджуючі, ароматизуючі і парфюмерні агенти.

Препарати для ін'єкцій, наприклад, стерильні, водні або масляні суспензії, можуть приготуватися відповідно до сучасного рівня техніки з використанням відповідних диспергуючих або змочувальних агентів і суспендуєчих агентів. Стерильний препарат для ін'єкцій може також являти собою

стерильний розчин, суспензію або емульсію для ін'єкцій, в нетоксичному парентерально прийнятному розріджувачі або розчиннику, наприклад, такому як розчин в 1,3-бутандіолі. Серед прийнятих основ і розчинників, які можуть використовуватися, знаходяться вода, розчин Рінгера, U.S.P. (Фармакопея США) і ізотонічний розчин хлориду натрію. У доповнення до цього, стерильні, фіксовані масла звичайно використовуються як розчинники або суспендуєчі середовища. Для цієї мети може використовуватися будь-яке пом'якшувальне фіксоване масло, включаючи синтетичні моно- або дигліцериди. У доповнення до цього, жирні кислоти, такі як олеїнова кислота, використовуються при приготуванні препаратів для ін'єкцій. Препарати для ін'єкцій можуть стерилізуватися, наприклад, за допомогою фільтрування через фільтр, що втримує бактерії, або за допомогою включення стерилізуючих агентів в формі стерильних твердих композицій, які можуть розчинятися або диспергуватися в стерильній воді або в іншому стерильному середовищі для ін'єкцій перед використанням. Композиції, що приготуються для парентерального введення, можуть вводитися за допомогою ін'єкції болусу або за допомогою введення із заданим часовим графіком або можуть вводитися за допомогою безперервного вливання.

Для пролонгування впливу сполуки згідно з даним винаходом часто є бажаним сповільнення поглинання сполуки від підшкірної або внутрішньом'язової ін'єкції. Це може досягатися за допомогою використання рідкої суспензії кристалічного або аморфного матеріалу з поганою розчинністю у воді. При цьому швидкість поглинання сполуки залежить від швидкості розчинення, яка, в свою чергу, може залежати від розміру кристалів і від кристалічної форми. Альтернативно, уповільнене поглинання парентерально форми сполуки, що вводиться, здійснюють за допомогою розчинення або суспендування сполуки в масляній основі. Форми депо для ін'єкцій отримують за допомогою формування мікроінкапсулюючих матриць сполуки в біологічно деградованих полімерах, таких як полілактид-полігліколід. У залежності від відношення сполуки до полімеру і від природи конкретного полімеру, що використовується, швидкість вивільнення сполуки може контролюватися. Приклади інших біологічно деградованих полімерів включають складні полі(ортоєфіри) і полі(ангідриди). Препарати депо для ін'єкцій також отримують за допомогою захоплення сполуки в ліпосомах або мікроемульсіях, які є сумісними з тканинами тіла.

Композиції для ректального або вагінального введення переважно являють собою супозиторії, які можуть бути одержані за допомогою змішування сполук згідно з даним винаходом з відповідними не подразнюючими наповнювачами або носіями, такими як олія какао, поліетиленгліколь або віск для супозиторіїв, які є твердими при температурі навколишнього середовища, але рідкими при температурі тіла, і з цієї причини плавляться в задньому проході або у вагінальній порожнині і вивільняють активну сполуку.

Тверді дозовані форми для перорального введення включають капсули, таблетки, пілюлі, поро-

шки і гранули. У таких твердих дозованих формах активну сполуку змішують, щонайменше, з одним інертним, фармацевтично прийнятним наповнювачем або носієм, таким як цитрат натрію або дикальцій фосфат і/або а) начинками або агентами для придання об'єму, такими як крохмаль, лактоза, сахароза, глюкоза, манітол і кремнієва кислота, б) зі зв'язувальними речовинами, такими, наприклад, як карбоксиметилцелюлоза, альгінати, желатин, полівінілпіролідінон, сахароза і аравійська камедь, с) зі змочувальними речовинами, такими як гліцерин, d) з розпушувачами агентами, такими як агар-агар, карбонат кальцію, крохмаль з картоплі або тапіоки, альгінова кислота, визначені силікати і карбонат натрію, e) з агентами, що сповільнюють розчинення, такими як парафін, f) з прискорювачами поглинання, такими як сполуки четвертинного амонію, g) зі змочувальними агентами, такими як, наприклад, цетиловий спирт і гліцерин моностеарат, h) з поглиначами, такими як каолін і бентонітна глина, і i) зі змащувальними речовинами, такими як тальк, стеарат кальцію, стеарат магнію, тверді поліетиленгліколі, натрій-лаурилсульфат і їх суміші. У випадку капсул, таблеток і пілюль, дозована форма також може містити буферні агенти, такі як фосфати або карбонати.

Тверді композиції подібних типів можуть також використовуватися як начинка в м'яких і твердих желатинових капсулах з начинкою, з використанням таких наповнювачів, як лактоза або молочний цукор, а також високомолекулярні поліетиленгліколі і тому подібне. Тверді дозовані форми в таблетках, драже, капсулах, пілюлях і гранулах можуть бути одержані за допомогою покриттів і оболонки, таких як ентєральні покриття і інші покриття, добре відомі в галузі фармацевтичних препаратів. Вони можуть необов'язково містити замутнювальні агенти і можуть також мати таку композицію, що вони вивільняють активний інгредієнт (інгредієнти) тільки або переважно у певній частині шлунково-кишкового тракту, необов'язково, із затримкою за часом. Приклади вмісних композицій, які можуть використовуватися, включають полімерні речовини і воски. Тверді композиції схожих типів можуть також використовуватися як начинка в м'яких і твердих желатинових капсулах з начинкою, з використанням таких наповнювачів, як лактоза або молочний цукор, а також високомолекулярних поліетиленгліколів, і тому подібне.

Активні сполуки можуть також знаходитися в мікроінкапсульованій формі разом з одним або декількома наповнювачами, як відзначено вище. Тверді дозовані форми таблеток, драже, капсул, пілюль і гранул можуть бути одержані разом з покриттями і оболонками, такими як ентєральні покриття, покриття для контролю вивільнення і інші покриття, добре відомі в галузі приготування фармацевтичних препаратів. У таких твердих дозованих формах активна сполука може змішуватися, щонайменше, з одним інертним розріджувачем, таким як сахароза, лактоза або крохмаль. Такі дозовані форми можуть також містити, відповідно до звичайної практики, додаткові речовини, інші, ніж інертні розріджувачі, наприклад, таблетуючі змащувальні речовини і інші таблетуючі допоміжні

речовини, такі як стеарат магнію і мікрокристалічна целюлоза. У випадку капсул, таблеток і пілюль, дозовані форми можуть також містити буферні агенти. Вони можуть необов'язково містити замутнювальні агенти і також можуть мати таку композицію, що вони вивільняють активний інгредієнт (інгредієнти) тільки або переважно у певній частині шлунково-кишкового тракту, необов'язково, із затримкою у часі. Приклади вмісних композицій, які можуть використовуватися, включають полімерні речовини і віск.

Дозовані форми для місцевого або трансдермального введення сполуки згідно з даним винаходом включають мазі, пасти, креми, лосьйони, гелі, порошки, розчини, спреї, інгалянти або пластири. Активний компонент змішується у стерильних умовах з фармацевтично прийнятним носієм і будь-якими необхідними консервантами або буферами, за потребою. Офтальмологічний препарат, краплі для вух і краплі для очей також розглядаються як такі, що знаходяться в рамках даного винаходу. У доповнення до цього, даний винахід передбачає використання трансдермальних пластирів, які мають додаткову перевагу забезпечення контрольованої доставки сполуки в організм. Такі дозовані форми можуть бути одержані за допомогою розчинення або розподілу сполуки у відповідному середовищі. Підсилювачі поглинання можуть також використовуватися для збільшення потоку сполуки через шкіру. Швидкість може контролюватися або за допомогою створення мембрани, контролюючи швидкість, або за допомогою диспергування сполуки в полімерній матриці або гелі.

Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом є особливо корисними в терапевтичних застосуваннях, що стосуються розладу, опосередкованому Аутога-кіназою. Як тут використовується, термін "розлад, опосередкований Аутога-кіназою" включає будь-який розлад, захворювання або стан, який викликається або відрізняється збільшенням експресії або активності Аутога-кінази або який вимагає активності Аутога-кінази. Термін "розлад, опосередкований Аутога-кіназою", також включає будь-який розлад, захворювання або стан, при якому інгібування активності Аутога-кінази є вигідним. Розлади, опосередковані Аутога-кіназою, включають проліферативні розлади. Необмежувальні приклади проліферативних розладів включають хронічні запальні проліферативні розлади, наприклад, псоріаз і ревматоїдний артрит; проліферативні розлади очей, наприклад, діабетичну ретинопатію; злоякісні проліферативні розлади, наприклад, гемангіоми; і рак.

Переважно, композицію приготують для введення пацієнту, що має розлади, опосередковані Аутога-кіназою, або ризик їх розвитку, або що відчуває їх рецидив. Термін "пацієнт", як тут використовується, означає тварину, переважно, ссавця, більш переважно, людину. Переважні фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом являють собою композиції, приготовані для перорального, внутрішньовенного або підшкірного введення. Однак будь-яка з вказаних вище дозованих форм, що містять терапевтично ефективну кількість сполуки згідно з даним винаходом, знахо-

диться в рамках рутинних експериментів і з цієї причини, в рамках даного винаходу. У деяких варіантах здійснення фармацевтична композиція згідно з даним винаходом може додатково містити інший терапевтичний агент. Переважно, такий інший терапевтичний агент являє собою агент, що звичайно вводиться пацієнтам з тим захворюванням або станом, який лікується.

Під "терапевтично ефективною кількістю" мається на увазі кількість, достатня, щоб спричинити детектоване зменшення активності Аутога-кінази або тяжкості розладу, опосередкованого Аутога-кіназою. Необхідна кількість інгібітора Аутога-кінази буде залежати від ефективності інгібітора для даного типу клітин і від тривалості часу, необхідного для лікування розладу. Необхідно також зрозуміти, що конкретна доза і режим лікування для будь-якого конкретного пацієнта буде залежати від різноманітних факторів, включаючи активність конкретної сполуки, що використовується, вік, масу тіла, загальний стан здоров'я, стать і дієту пацієнта, час введення, швидкість екскретування, поєднання лікарських засобів, думки лікуючого лікаря і тяжкість конкретного захворювання, яке лікується. Кількість додаткового терапевтичного агента, присутнього в композиції згідно з даним винаходом, як правило, буде не більшою, ніж та кількість, яка звичайно вводилася б в композиції, що містить цей терапевтичний агент як єдиний активний агент. Переважно, кількість додаткового терапевтичного агента буде знаходитися в межах від приблизно 50% до приблизно 100% від кількості, звичайно присутньої в композиції, що містить цей агент як єдиний терапевтично активний агент.

Композиції згідно з даним винаходом можуть приготуватися у вигляді стандартної дозованої форми для простоти введення і однорідності дозування. Вираз "стандартна дозована форма", як тут використовується, стосується фізично окремої одиниці агента, відповідної пацієнту, який повинен лікуватися. Буде зрозуміло, однак, що загальне щоденне споживання сполук і композицій згідно з даним винаходом буде визначатися спостережуваним лікарем в рамках випробуваної медичної думки. Стандартна дозована форма для парентерального введення може знаходитися в ампулах або в контейнерах з множиною доз.

В іншому аспекті даний винахід передбачає спосіб лікування пацієнта, страждаючого розладом, опосередкованим Аутога-кіназою, або з ризиком його розвитку, або що відчуває його рецидив. Спосіб включає стадію введення пацієнту сполуки або фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом. Сполуки і фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом можуть використовуватися для досягнення корисного терапевтичного або профілактичного впливу, наприклад, на пацієнта з проліферативним розладом, як обговорювалося вище. Сполуки і фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом є особливо корисними для лікування раку.

Як тут використовується, термін "рак" стосується клітинного розладу, що відрізняється неконтрольованою або нерегульованою проліферацією клітин, зниженою клітинною диференціацією, ано-

мальною здатністю вторгатися в навколишню тканину і/або здатністю встановлювати нове зростання в ектопічних місцях. Термін "рак" включає, але, не обмежуючись цим, тверді пухлини і кров'яні пухлини. Термін "рак" охоплює захворювання шкіри, тканин, органів, кісток, хрящів, крові і судин. Термін "рак" додатково охоплює первинні і метастатичні ракові захворювання.

Необмежувальні приклади твердих пухлин, які можуть лікуватися за допомогою способів згідно з даним винаходом, включають рак підшлункової залози; рак сечового міхура; колоректальний рак; рак грудей, включаючи метастатичний рак грудей; рак простати, включаючи андроген-залежний і андроген-незалежний рак простати; ренальний рак, включаючи, наприклад, метастатичну карциному ренальних клітин; гепатоцелюлярний рак; рак легенів, включаючи, наприклад, недрібноклітинний рак легенів (NSCLC), бронхіолоальвеолярну карциному (BAC) і аденокарциному легенів; рак яєчників, включаючи, наприклад, прогресуючий епітеліальний або первинний перитонеальний рак; рак шийки матки; рак шлунку; рак стравоходу; рак голови і шиї, включаючи, наприклад, карциному сквамозних клітин голови і шиї; меланому; нейроендокринний рак, включаючи метастатичні нейроендокринні пухлини; пухлини мозку, включаючи, наприклад, гліому, анапластичну олігодендрогліому, мультиформну гліобластому дорослих і анапластичну астроцитому дорослих; рак кісток і саркому м'яких тканин.

В деяких інших варіантах здійснення рак являє собою гематологічне злоякісне утворення. Необмежувальні приклади гематологічного злоякісного утворення включають гостру мієлоїдну лейкемію (AML); хронічну мієлогенну лейкемію (CML), включаючи прискорену CML і бластичну фазу CML (CML-BP); гостру лімфобластну лейкемію (ALL); хронічну лімфобластну лейкемію (CLL); хворобу Ходжкіна (HD); лімфому не-Ходжкіна (NHL), включаючи фолікулярну лімфому і лімфому клітин мантийної зони; лімфому В-лімфоцитів; лімфому Т-лімфоцитів; множинну мієлому (MM); макроглобулінемію Вальденстрома; мієлодиспластичні синдроми (MDS), включаючи рефрактерну анемію (RA), рефрактерну анемію з кільцеподібними сидеробластами (RARS), рефрактерну анемію з надлишком бластів (RAEB) і RAEB при трансформації (RAEB-T); і мієлопроліферативні синдроми.

У деяких варіантах здійснення сполука або композиція згідно з даним винаходом використовуються для лікування ракового захворювання, при якому збільшується активність Аутога-кінази. У деяких варіантах здійснення сполука або композиція згідно з даним винаходом використовуються для лікування пацієнта, що має рак, або ризик його розвитку або відчуває рецидив раку, вибраного з групи, що складається з колоректального раку, раку яєчників, раку грудей, раку шлунка, раку простати і раку підшлункової залози. У певних варіантах здійснення рак вибирається з групи, що складається з раку грудей, колоректального раку і раку підшлункової залози.

У деяких варіантах здійснення інгібітор Аутога-кінази згідно з даним винаходом вводять в поєд-

нанні з іншим терапевтичним засобом. Інший терапевтичний засіб може також інгібувати Аутога-кіназу або може працювати по іншому механізмі. У деяких варіантах здійснення інший терапевтичний засіб являє собою такий засіб, який звичайно вводять пацієнтам з тим захворюванням або станом, який лікується. Інгібітор Аутога-кінази згідно з даним винаходом може вводиться разом з іншими терапевтичними засобами в одній і тій же дозованій формі або як окрема дозована форма. Коли він вводиться як окрема дозована форма, інший терапевтичний засіб може вводиться до введення інгібітора Аутога-кінази згідно з даним винаходом, разом з ним або після нього.

У деяких варіантах здійснення інгібітор Аутога-кінази згідно з даним винаходом вводять в поєднанні з терапевтичним засобом, вибраним з групи, що складається з цитотоксичних агентів, радіаційної терапії і імунотерапії. Необмежувальні приклади цитотоксичних агентів, придатних для використання в поєднанні з інгібіторами Аутога-кінази згідно з даним винаходом, включають антиметаболіти, включаючи, наприклад, капецитабін, гемцитабін, 5-фторурацил або 5-фторурацил/лейковорин, флударабін, цитарабін, меркаптопурин, тіогуанін, пентостатин і метотрексат; інгібітори топоізомерази, включаючи, наприклад, етопозид, теніпозид, камптотecin, топотекан, іринотекан, доксорубіцин і даунорубіцин; алкалоїди вінка, включаючи, наприклад, вінкрисдин і вінбластин; таксани, включаючи, наприклад, паклітаксель і доцетаксель; агенти на основі платини, включаючи, наприклад, цисплатин, карбоплатин і оксалиплатин; антибіотики, включаючи, наприклад, актиномицин D, блеомицин, мітоміцин C, адриаміцин, даунорубіцин, ідарубіцин, доксорубіцин і пегільований ліпосомальний доксорубіцин; алкілюючі агенти, такі як мельфалан, хлорамбуцил, бусульфан, тіотепа, іфосфамід, кармустин, ломустин, семустин, стрептозоцин, декарбазин і циклофосфамід; талідомід і родинні аналоги, включаючи, наприклад, CC-5013 і CC-4047; інгібітори білкової тирозинкінази, включаючи, наприклад, іматиніб мезилат і гефітініб; антитіла, включаючи, наприклад, трастузумаб, ритуксимаб, цетуксимаб і бевацизумаб; мітоксантрон; дексаметазон; преднізон і темозоломід.

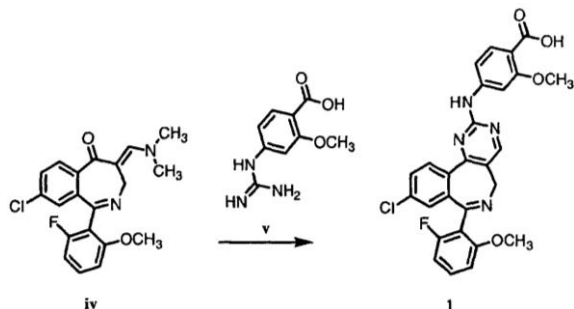
Для того щоб даний винахід був зрозумілий більш повно, наводяться наступні приклади одержання і дослідження. Ці приклади ілюструють, як отримувати або дослідити конкретні сполуки, і не повинні розглядатися як обмежуючі рамки даного винаходу яким-небудь чином.

Приклади

Визначення	
AcOH	оцтова кислота
ATP	аденозин трифосфат
BrdU	5-бром-2'-деоксіуридин
BSA	бичачий сироватковий альбумін
DCM	дихлорметан
DMCO	диметилсульфоксид
DTT	дитіотреїтол
EDTA	етилендіамінтетраоцтова кислота
EtOH	етанол

HPbCD	гідроксипропіл бета-циклодекстрин
MeOH	метанол
MTT	метилтіазолтетразолій
WST	(натрієва сіль 4-[3-(4-йодфеніл)-2-(4-нітрофеніл)-2Н-5-тетразоліо]-1,3-бензолдисульфону)
PKA	cAMP-залежна протеїнкіназа
THF	тетрагідрофуран
h	години
min	хвилини
m/z	відношення маси до заряду
MS	мас-спектр
HRMS	мас-спектр високого розрізнення

Температури плавлення визначають на капілярному пристрої для визначення температури плавлення MEL-TEMP II і не коректують. Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР реєструють на спектрометрі Bruker Avance 400. Мас-спектри отримують на спектрометрі Waters ZQ 2000 (капіляр 3,5кВ, конус 30В). Елементний аналіз здійснюють за допомогою Atlantic Microlab.



Приклад 1: Одержання 4-[[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно]-2-метоксибензойної кислоти (1)

8-Хлор-4-[(диметиламіно)метилен]-1-(2-фтор-6-метоксифеніл)-3,4-дигідро-5Н-2-бензазепін-5-он (iv) може бути одержаний, як описаний в Claiborne et al., публікація патенту США 2005-256102. 4-[[Аміно(іміно)метил]аміно]-2-метоксибензойна кислота HCl (v) може бути одержана способом, подібним тому, що описаний в Sugiki et al., публікація заявки на Міжнародний патент WO 01/042199.

Метанол (50,0мл) додають до iv (2,39г, 6,42ммоль), v (1,77г, 7,21ммоль) і карбонату калію  $1,5[\text{H}_2\text{O}]$  (2,65г, 16,0ммоль) в 100-мл круглодонній колбі, забезпеченій брусковою мішалкою і зворотним холодильником. Реакційну суміш перемішують і нагрівають із зворотним холодильником протягом 16 годин. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, розбавляють водою (450мл) і підкисляють до pH1 за допомогою 1н. HCl. Додають діетиловий ефір (200мл) і суміш перемішують протягом 15 хвилин. Одержаний осад збирають за допомогою фільтрування і очищають за допомогою флеш-хроматографії на силікагелі ( $\text{NH}_4\text{OH}:\text{MeOH}:\text{DCM}$ , від 0,5:5:94,5 до 2:20:78), з одержанням амонієвої солі у вигляді жовто-коричневого твердого продукту. Твердий продукт суспендують у воді (100мл) і при швидкому перемішуванні додають 1н. HCl до встановлення pH1. Суміш перемішують протягом приблизно 30 хвилин, а потім додають простий діетиловий ефір

(50мл) і етилацетат (5мл), і суміш перемішують при кімнатній температурі протягом приблизно 1 години. Продукт збирають на лійці з пористим фільтром (з дрібними порами), промивають водою (50мл) і простим діетиловим ефіром (50мл) і сушать у вакуумі при 40°C протягом ночі, з одержанням 1,65г (вихід 50%) 4-[[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно]-2-метоксибензойної кислоти (1).

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  12,08 (с, 1Н), 10,23 (с, 1Н), 8,72 (с, 1Н), 8,29 (д, 1Н), 7,95 (ушир, с, 1Н), 7,80 (дд, 1Н), 7,70 (д, 1Н), 7,4-7,35 (м, 2Н), 7,21 (ушир, с, 1Н), 6,9 (ушир, с, 2Н), 4,9 (ушир, с, 1Н), 3,9 (ушир, с, 1Н), 3,85 (с, 3Н), 3,3 (ушир, с, 3Н); MS m/z 519 ( $\text{M}^+\text{+H}$ , 100%).

Сполуку 2-18 отримують за допомогою способів, аналогічних тим, які описані для сполуки 1 або описані в Claiborne et al., публікація WO 05/11039.

Приклад 2: Одержання поліморфної форми 1 натрію 4-[[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно]-2-метоксибензоата

До суспензії 4-[[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно]-2-метоксибензойної кислоти (98,0г, 190ммоль), що перемішується в етанолі (2,0л) додають 1,044М гідроксиду натрію у воді (199мл). Одержаний гомогенний розчин перемішують протягом 1 години, протягом цього часу формується густий осад. Продукт збирають за допомогою фільтрування і промивають етанолом (0,5л) і простим діетиловим ефіром (1,0л). Одержаний твердий продукт сушать у вакуумі при 60-70°C протягом 4 днів, з одержанням 88,6г (86,8%) натрію 4-[[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно]-2-метоксибензоата у вигляді світлого жовто-коричневого твердого продукту, т.пл. 225°C (розкладання).

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9,86 (с, 1Н), 8,60 (с, 1Н), 8,29 (д, 1Н), 7,79 (дд, 1Н), 7,60 (ушир, с, 1Н), 7,40 (дд, 1Н), 7,29 (д, 1Н), 7,25-7,15 (м, 2Н), 6,9 (ушир, с, 2Н), 4,9 (ушир, с, 1Н), 3,8 (ушир, с, 1Н), 3,70 (с, 3Н), 3,35 (ушир, с, 3Н);

MS m/z 519 ( $\text{M}^+\text{-Na+H}$ , 100%); CHN Анал. виходів для  $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{ClF}_2\text{N}_4\text{NaO}_4$  0,33 EtOH 1,3  $\text{H}_2\text{O}$ : С, 57,33; Н, 4,10; N, 9,67. Знайдено: С, 57,14; Н, 3,99; N, 9,65.

Приклад 3: Одержання поліморфної форми 2 натрію 4-[[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно]-2-метоксибензоата

Поліморфну форму 1 натрію 4-[[9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифеніл)-5Н-піримідо[5,4-*d*][2]бензазепін-2-іл]аміно]-2-метоксибензоата (100мг) суспендують у воді (0,2мл) і етанолі (2мл), і суміш перемішують при нагріванні при 70°C протягом 6 годин. Суміш охолоджують до кімнатної температури і ясно-жовтий твердий продукт збирають на лійці з пористим фільтром і сушать у вакуумі при 70°C протягом 3 днів, з одержанням 70мг кристалічної поліморфної форми 2, т.пл. 265°C.

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 9,86 (с, 1Н), 8,60 (с, 1Н), 8,29 (д, 1Н), 7,79 (дд, 1Н), 7,60 (ушир, с, 1Н), 7,40 (дд, 1Н), 7,29 (д, 1Н), 7,25-7,15 (м, 2Н), 6,9 (ушир,

c, 2H), 4,9 (ушир, c, 1H), 3,8 (ушир, c, 1H), 3,70 (c, 3H), 3,35 (ушир, c, 3H). MS m/z 519 ( $M^+$ -Na+H, 100%).

Приклад 4: Експресування і очищення ферментів протеїнкіназ

Експресування і очищення ферменту Aurora A

Рекомбінантний Aurora A мишей з гексагістидиновим тегом на N-кінці (His-Aurora A) експресують з використанням стандартного вектора бакуловіруса і системи експресування клітин комах (Bac-to-Bac®, Invitrogen).

Розчинний рекомбінантний Aurora A мишей очищають від клітин комах з використанням агарози Ni-NTA (Qiagen), як описує виробник, і додатково очищають на ексклюзивній колонці S75 (Amersham Pharmacia Biotech).

Експресування і очищення ферменту Aurora B

Рекомбінантний Aurora B мишей з гексагістидиновим тегом на аміновому кінці (His-Aurora B) експресують з використанням стандартного вектора бакуловіруса і системи експресування клітин комах (Bac-to-Bac®, Invitrogen).

Розчинний рекомбінантний Aurora B мишей очищають від клітин комах з використанням агарози Ni-NTA (Qiagen), як описує виробник.

Приклад 5: Аналізи ферменту протеїнкінази

Аналіз Aurora A кінази DELFIA®

Реакційна суміш з ферментом Aurora A мишей складає в цілому 25мкл і містить 25мМ Tris-HCl (pH8,5), 2,5мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,05% Surfact-AMPS-20, 5мМ фториду натрію, 5мМ DTT, 1мМ ATP, 3мкМ пептидного субстрату (биотин-β-Ala-QTRRKSTGGKAPR-NH<sub>2</sub>) і 0,5нМ рекомбінантного ферменту Aurora A мишей. Ферментативну реакційну суміш із сполукою, що досліджується і без неї інкубують протягом 10 хвилин при кімнатній температурі до завершення реакції за допомогою 100мкл стоп-буфера (1% BSA, 0,05% Surfact-AMPS-20 і 100мМ EDTA). У цілому 100мкл ферментативної реакційної суміші переносять в ямки 96-ямкового планшета, покритого нейтравідином (Pierce), і інкубують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Ямки промивають промивальним буфером (25мМ Tris, 150мМ хлориду натрію і 0,1% Tween 20) і інкубують протягом 1 години разом з 100мкл реакційної суміші антитіла, що містить 1% BSA, 0,05% Surfact-AMPS-20, поліклональне антитіло анти-фосфо-РКА кролика (1:2000, New England Biolabs) і мічений європієм IgG анти-кролик (1:2000, Perkin Elmer). Ямки промивають, а потім пов'язаний європій вивільняють з використанням 100мкл Enhancement Solution (Perkin Elmer). Кількісне визначення європію здійснюють з використанням Wallac™ En Vision (Perkin Elmer).

Аналіз Aurora B кінази DELFIA®

Реакційна суміш з ферментом Aurora B, яка складає в цілому 25мкл, містить 25мМ Tris-HCl (pH8,5), 2,5мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,025% Surfact-AMPS-20 (Pierce), 1% гліцерину, 1мМ DTT, 1мМ ATP, 3мкМ пептидного субстрату (биотин-β-Ala-QTRRKSTGGKAPR-NH<sub>2</sub>) і 20нМ рекомбінантного ферменту Aurora B мишей. Ферментативну реакційну суміш із сполукою, що досліджується і без неї інкубують протягом 3 годин при кімнатній температурі до завершення реакції за допомогою

100мкл стоп-буфера (1% BSA, 0,05% Surfact-AMPS-20 і 100мМ EDTA). У цілому 100мкл ферментативної реакційної суміші переносять в ямки 96-ямкового планшета, покритого нейтравідином (Pierce), і інкубують при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Ямки промивають промивальним буфером (25мМ Tris, 150мМ хлориду натрію і 0,1% Tween 20) і інкубують протягом 1 години разом з 100мкл реакційної суміші антитіла, що містить 1% BSA, 0,05% Surfact-AMPS-20, поліклональне антитіло анти-фосфо-РКА кролика (1:2000, New England Biolabs) і мічений європієм IgG анти-кролик (1:2000, Perkin Elmer). Ямки промивають, а потім пов'язаний європій вивільняють з використанням 100мкл Enhancement Solution (Perkin Elmer). Кількісне визначення європію проробляють з використанням Wallac™ En Vision (Perkin Elmer).

Приклад 6: Клітинний аналіз

Аналіз аутофосфорилювання Aurora A pT288

Клітки пухлини людини (HCT-116, отримують від ATCC) вирощують в 96-ямкових планшетах в середовищі МакКоя 5А, доповненому 10% фетальною сироваткою теляти і 200нМ L-глютаміну. Після інкубування середовище зростання замінюють 75мкл свіжого середовища, і додають 25мкл сполуки, що досліджується, до клітин при двократних послідовних розведеннях в диметилсульфоксиді (ДМСО) для одержання кінцевих концентрацій в межах від 5 до 0,010мкМ. Сполуку, що досліджується, при кожному розведенні додають однаковою кількістю в 4 ряди на чашці і додають ДМСО (20нМ) в кожну ямку двох стовпців для нелікованих контролів. Клітини обробляють сполукою, що досліджується, або ДМСО протягом 60 хвилин при 37°C у зволоженій камері для культури клітин. Потім клітини фіксують з допомогою 4% параформальдегіду в фосфатному сольовому буфері (PBS) протягом 10 хвилин, просочують 0,5% Triton X-100 в PBS протягом 10 хвилин і промивають двічі PBS.

Клітини просочують антитілом кролика Phospho-Aurora 2/AIK (T288) (1:60) і антитілом миші Anti-phospho-Ser/Thr-Pro MPM2 (1:750), потім кон'югованим з Alexa 488 IgG кози анти-кролик (1:180) і кон'югованим з Alexa 594 IgG курки анти-миша (1:180; Molecular Probes). Потім клітини забарвлюють кон'югованим з Alexa 488 IgG курки анти-коза (1:180, Molecular Probes) і Hoechst (1:50000). Клітини візуалізуються з використанням Discovery-1 High Content Imaging System. Зображення від дев'яти або шістнадцяти місць на ямку захоплюються при збільшенні 200X. Інгибування Aurora A визначають за допомогою вимірювання інтенсивності флуоресценції pT288 (аутофосфорилювані Aurora A) всередині імунопозитивних (мітотичних) клітин MPM2 з використанням програмного забезпечення Metamorph. Криві відгуку на концентрацію генеруються за допомогою обчислення зменшення інтенсивності флуоресценції pT288 в зразках, оброблених сполукою, що досліджується, в порівнянні з контролями, обробленими ДМСО, і значення інгибування росту (IC<sub>50</sub>) визначають по цих кривих.

Всі сполуки 1-28 демонструють в цьому аналізі значення IC<sub>50</sub>, що дорівнюють або менші, ніж

0,03мкМ. Сполуки 1-8 демонструють в цьому аналізі значення  $IC_{50}$ , що дорівнюють або менші, ніж 0,01мкМ.

Аналіз проліферації клітин за допомогою BrdU

Проліферацію клітин в кожній лінії клітин вимірюють з використанням імуносорбентного аналізу з пов'язаним ферментом (ELISA) для спостереження проліферації клітин, колориметричного набору з 5-бром-2'-дезоксидуридином (BrdU) відповідно до рекомендацій виробника. Аналіз вимірює проліферацію клітин за допомогою кількісного визначення інкорпорування BrdU в реплікуючу дезоксирибонуклеїнову кислоту (ДНК). Коротко, кожну ямку інкубують разом з 10мкл мітячого реагенту BrdU протягом 2 годин при 37°C у зволоженій камері для культур клітин. Після аспірації мітячих середовищ, клітини фіксують і денатурують за допомогою додавання 200мкл етанолу в кожну ямку і інкубують протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Етанол відсмоктують, і до клітин додають 100мкл кон'югованого з пероксидазою антитіла анти-BrdU (анти-BrdU-POD; 1:100 в буфері для розведення антитіла). Клітини інкубують разом з антитілом протягом 90 хвилин при кімнатній температурі. Потім клітини промивають 3×250мкл промивального буфера/ямку і до кожної ямки додають 100мкл тетраметилбензидину. Клітини інкубують протягом 15-30 хвилин при кімнатній температурі перед спектрофотометричним аналізом.

Пристрій для зчитування планшетів SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, Sunny Vale CA) використовують для вимірювання коефіцієнта поглинання кожної ямки на 370нм. Криві відгуку на концентрацію генеруються за допомогою обчислення зменшення оптичної густини у зразків, що обробляються сполукою, що досліджується, в порівнянні з контролями, що обробляються ДМСО.

Всі сполуки 1-18 демонструють в цьому аналізі значення  $LD_{50}$ , що дорівнюють або менші, ніж 0,1мкМ, в клітинах HCT116. Сполуки 1-3, 5, 7-14, 17 і 18, всі, демонструють в цьому аналізі значення  $LD_{50}$ , що дорівнюють або менші, ніж 1,0мкМ, в клітинах SW480. Сполуки 4 і 6 не досліджують.

Приклад 7: Аналізи in vivo

Модель ефективності на пухлині in vivo

Клітини HCT-116 (1(106) в середовищі МакКоя 5А асептично вводяться як ін'єкція в підшкірний

простір в правій задній лопі самиці голих мишей CD-1 (вік 8 тижнів, Charles River) з використанням голки розміру 23. Об'єми пухлини обчислюють з використанням стандартних процедур (0,5× (довжина× ширина)). Коли пухлини досягають об'єму приблизно 200мм<sup>3</sup>, мишам перорально дозують сполуку 1 або сполуку iii при різних дозах в основі з 10% HPbCD +1% NaHCCV Дози (0,1мл) вводять через шлунковий зонд розміру 22. Контрольні тварини отримують тільки одну основу. Тварини дозуються раз в день протягом 21 дня, і є 10 тварин в кожній групі. Розмір пухлини і масу тіла вимірюють двічі на тиждень. Сполуки 1 і iii добре переносяться при всіх дозах в цьому дослідженні. При кожній дозі сполука 1 дає більш тривалу затримку росту пухлини [TGD= (час для лікованих тварин, для досягнення середнього об'єму пухлини 1000мм<sup>3</sup>)- (час для контрольних тварин, для досягнення середнього об'єму пухлини 1000мм<sup>3</sup>)] і більше інгібування росту пухлини [TGI= (середній об'єм пухлини для контрольних тварин- середній об'єм пухлини для лікованих тварин)×100/(середній об'єм пухлини для контрольних тварин)], ніж сполука iii.

Хоча даний винахід описаний в деяких деталях для цілей ясності і розуміння, ці конкретні варіанти здійснення повинні розглядатися як ілюстративні і необмежувальні. Фахівцям в даній галузі з даного опису буде ясно, що різні зміни в формі і деталях можуть бути зроблені без відхилення від істинних рамок даного винаходу, які повинні визначатися, швидше, за допомогою прикладеної формули винаходу, ніж за допомогою конкретних варіантів здійснення.

Патентна і наукова література, що згадується тут, встановлює знання, які доступні для фахівців в даній галузі. Якщо не визначено іншого, всі технічні і наукові терміни, що використовуються тут, мають таке ж значення, як звичайно розуміється фахівцем в галузі, до якої належить даний винахід. Видані патенти, заявки і посилання, які цитуються тут, тим самим включаються як посилання до такої ж міри, як якби кожна з них конкретно і індивідуально вказувалася як включена як посилання. У випадку невідповідностей даний опис, включаючи визначення буде переважним.