



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **106353** (13) **C2**
(51) МПК (2014.01)**C07D 231/56** (2006.01)**C07D 471/04** (2006.01)**C07D 487/04** (2006.01)**C07D 497/00****A61K 31/416** (2006.01)**A61K 31/4162** (2006.01)**A61P 35/00**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: а 2010 15066	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2008043745 (A1), 17.04.2008 WO 2004113303 (A1), 29.12.2004 WO 2004080457 (A1), 23.09.2004 WO 2005074922 (A1), 18.08.2005 WO 2005005427 (A1), 20.01.2005 BUNDGAARD J: "NOVEL CHEMICAL APPROACHES IN PRODRUG DESIGN" DRUGS OF THE FUTURE, PROUS SCIENCE, ES, vol. 16, no. 5, 1 May 1991, pages 443-458 PEVARELLO P. ET AL.: "3-Amino-1,4,5,6-tetrahydropyrrolo[3,4-c]p yrazoles: A new class of CDK2 inhibitors" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 16, no. 4, 15 February 2006, pages 1084-1090 LEE ET AL.: "Synthesis and biological evaluation of 3,5-diaminoindazoles as cyclin-dependent kinase inhibitors" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 18, no. 7, 6 March 2008, pages 2292-2295 FANCELLI DANIELE ET AL.: "Potent and selective Aurora inhibitors identified by the expansion of a novel scaffold for protein kinase inhibition." JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY 21 APR 2005, vol. 48, no. 8, 21 April 2005, pages 3080-3084 SIMPLICIO ANA L. ET AL.: "Prodrugs for amines" MOLECULES, MOLECULAR DIVERSITY PRESERVATION INTERNATIONAL, BASEL, vol. 13, no. 3, 1 January 2008, pages 519-547
(22) Дата подання заявки: 14.05.2009	
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 26.08.2014	
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 08156262.1	
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 15.05.2008	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.03.2011, Бюл.№ 6	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.08.2014, Бюл.№ 16	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/EP2009/055802, 14.05.2009	
(72) Винахідник(и): Пулічі Мауріціо (ІТ), Получчі Паоло (ІТ)	
(73) Власник(и): НЕРВІАНО МЕДІКАЛ САЙЄНСІЗ С.Р.Л., Viale Pasteur, 10, I-20014 Nerviano (MI), Italy (ІТ)	
(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115	

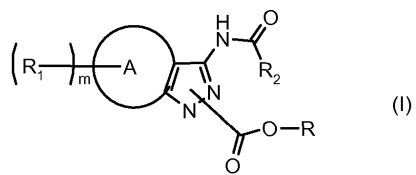
(54) КАРБАМОЇЛЬНІ ПОХІДНІ БІЦИКЛІЧНИХ КАРБОНІЛАМІНОПІРАЗОЛІВ ЯК ПРОЛІКИ**(57) Реферат:**

Об'єктом винаходу є біциклічні карбоніламінопіразоли формули (I), де змінні мають значення, визначені в формулі винаходу, для використання як лікарського засобу, зокрема, для лікування захворювань, викликаних порушенням функції протеїнази (PK), таких як рак, фармацевтичні

UA 106353 C2

композиції, що включають такі карбамойльні похідні, і їх застосування як проліків терапевтично активних речовин.

Спосіб лікування і деякі нові біциклічні карбоніламінопіразоли також є об'єктом даного винаходу.



Даний винахід стосується карбамоїльних похідних біциклічних карбоніламіно-піразолів для застосування як лікарського засобу, зокрема, для лікування захворювань, викликаних порушенням функції протеїнкіназ (РК), таких як рак і пухлини, фармацевтичних композицій, що включають такі карбамоїльні похідні, і їх застосування як проліків терапевтично активних засобів.

Даний винахід також належить до способу лікування раку і клітинно-проліферативних розладів із застосуванням таких поліків, і до деяких нових карбамоїльних похідних.

Порушення функції протеїнкіназ (РК) є ознакою різних захворювань. Велика частка онкогенів і протоонкогенів, залучених до ракових захворювань людини, кодуєть РК. Підвищена активність РК також пов'язана з багатьма незлоякісними захворюваннями, такими як доброякісна гіперплазія простати, сімейний аденоматоз, поліпоз, нейро-фіброматоз, псоріаз, проліферація клітин гладких м'язів судин, пов'язана з атеросклерозом, фіброз легень, артрит, гломерулонефрит і післяопераційний стеноз і рестеноз. РК також залучені до запальних станів і до розмноження вірусів і паразитів. РК також можуть грати істотну роль в патогенезі і розвитку нейродегенеративних розладів.

Загальні відомості про порушення або неправильну регуляцію функцій РК див., наприклад, Current Opinion in Chemical Biology 1999, 3, 459-465.

Серед деяких протеїнкіназ, відомих з рівня техніки як залучених в ріст ракових клітин, можна вказати кінази Aurora, зокрема, Aurora-2.

Було виявлено, що надекспресія Aurora-2 має місце в ряді різних пухлин. Картування її локусу має місце в 20q13, ділянка хромосоми, яка часто ампліфікується при багатьох типах раку, включаючи рак молочної залози [Cancer Res. 1999, 59(9), 2041-4] і рак товстої кишки.

Ампліфікація 20q13 корелює з поганим прогнозом у пацієнтів з раком молочної залози без ураження лімфатичних вузлів, і підвищена експресія Aurora-2 є показником поганого прогнозу і зменшеного періоду виживання у пацієнтів з раком сечового міхура [J. Natl. Cancer Inst., 2002, 94(17), 1320-9]. Загальні відомості про роль Aurora-2 в аномальній функції центросоми при ракові також див. в Molecular Cancer Therapeutics, 2003, 2, 589-595.

Рецептор інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF-1R, IGF1R) є членом субсімейства інсулінових рецепторів RTK. Існує декілька ліній підтвердження того, що сигнальна активність IGF-1R може сприяти пухлинному генезу, і що втручання в функцію IGF-1R є цінним терапевтичним підходом при ракові. Примусова експресія цього рецептора призводить до ліганд-залежного трансформованого росту фібробластів миші і щура (наприклад, Kaleko M., Rutter W.J. and Miller A.D. Mol Cell Biol vol. 10, pages 464-73, 1990; Rubini M., Hongo A., D'Ambrosio C. and Baserga R. Exp Cell Res vol. 230, pages 284-92, 1997), і такі трансформовані клітини здатні утворювати пухлини in vivo, як з in vitro трансформацією, так і пухлиноутворенням in vivo, залежних від активного кіназного домену (див. огляд в Blakesley V.A., Stannard B.S., Kalebic T., Helman L.J., and LeRoith D. J Endocrinol, vol. 152, pages 339-44, 1997).

Сполуки, які заявлені, що мають активність інгібування протеїнкінази, для застосування в лікуванні різних захворювань, пов'язаних з порушенням функції протеїнкіназ, розкриті наприклад, в WO 02/12242 (різні конденсовані піразоли); WO 03/028720, WO 08/074749 і WO 09/013126 (аміноіндазоли); WO 04/056827, WO 05/005427, WO 2008017465 і WO 2008043745 (піроло-піразоли); WO 04/007504, WO 04/013146, WO 05/074922, WO 07/009898, WO 07/138017 і EP 2058315 (фууро- і тієно-піразоли); WO 07/099171, WO 07/068637, WO 07/99166 і WO 07/068619 (Арилсульфо-піроло-піразоли і арилсульфо-піроло-піридини). Такі патентні заявки також розкривають способи одержання заявлених сполук, які можуть включати проміжні сполуки, які відрізняються тим, що вони містять етоксикарбонільну групу за одним з атомів азоту, присутніх в піразольному кільці.

Всі патенти, патентні заявки і наукові публікації, на які посилаються в даному розкритті, включені в дану заявку за допомогою посилання.

Однак, наприклад, введення і терапевтична ефективність таких сполук, що мають активність інгібування протеїнкінази, можуть бути обмежені через низьку або відсутню пероральну біодоступність, низьку водорозчинність або стабільність. Більш того оскільки ці хіміотерапевтичні засоби можуть бути цитотоксичними для нормальних тканин, застосування поліків є вигідним з точки зору зниження побічних ефектів.

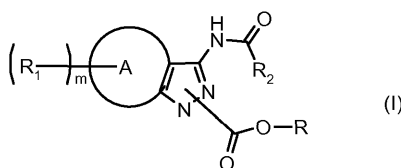
Відома велика кількість пролікарських стратегій, основаних на різних модифікаціях вихідного лікарського засобу, але жодна з них не розкриває і не пропонує специфічні проліки за даним винаходом. Навпаки, вказані вище патентні заявки описують деякі карбамоїльні похідні як корисні проміжні сполуки для хімічного одержання бажаних кінцевих активних лікарських засобів. Знаходження нового застосування, тому, є абсолютно несподіваним.

Завдання даного винаходу полягає в забезпеченні сполуки формули (I) для застосування як лікарського засобу, переважно, як проліків, корисних в терапії як засіб проти захворювань хазяїна, викликаних і/або пов'язаних з порушенням регуляції активності протеїнкіназ, тобто, для лікування захворювань, викликаних порушенням функції протеїнкіназ (РК), таких як рак або пухлини.

Більш конкретно, проліки за даним винаходом є корисними для лікування різних типів раку, включаючи, але не обмежуючись цим: таку як карциному сечового міхура, молочної залози, товстої кишки, нирки, печінки, легені, включаючи дрібноклітинний рак легені, стравоходу, жовчного міхура, яєчника, підшлункової залози, шлунку, шийки матки, щитовидної залози, передстатевої залози і шкіри, включаючи сквамозно-клітинну карциному; гематопоетичні пухлини лімфоїдного походження, включаючи лейкоз, гострий лімфоцитарний лейкоз, гострий лімфобластний лейкоз, В-клітинну лімфому, Т-клітинну лімфому, лімфому Ходжкіна, неходжкінську лімфому, волосисто-клітинну лімфому і лімфому Беркетта; гематопоетичні пухлини мієлоїдного походження, включаючи гострий і хронічний мієлогенний лейкоз, мієлодиспластичний синдром і промієлоцитарний лейкоз; пухлини мезенхімального походження, включаючи фібросаркому і рабдоміосаркому; пухлини центральної і периферичної нервової системи, включаючи астроцитому, нейробластому, гліому і шваноми; інші пухлини, включаючи меланому, семіному, тератоканциному, остеосаркому, пігментну ксеродерму, кератоксантому, тиреоїдний фолікулярний рак і саркому Капоші.

Оскільки РК грають ключову роль в регуляції клітинної проліферації, ці проліки також є корисними для лікування різних клітинно-проліферативних розладів, таких як, наприклад, доброякісна гіперплазія простати, сімейний аденоматоз, поліпоз, нейро-фіброматоз, псоріаз, проліферація клітин гладких м'язів судин, пов'язана з атеросклерозом, фіброз легень, артрит, гломерулонефрит і післяопераційний стеноз і рестеноз.

Відповідно, в першому варіанті втілення, даний винахід забезпечує сполуку формули (I):



де

R являє собою лінійну або розгалужену C₁-C₁₂ алкілну, арильну або гетероарильну групу, R₁ являє собою атом водню або замісник, приєднаний до будь-якого доступного атома кільця A,

R₂ являє собою необов'язково заміщену групу, вибрану з лінійного або розгалуженого C₁-C₆ алкілу, арилу, гетероарилу, C₃-C₆ циклоалкілу, C₂-C₆ алкенілу або алкінілу, C₃-C₆ циклоалкіл C₁-C₆ алкілу, арил C₁-C₆ алкілу, гетероарил C₁-C₆ алкілу, 5 або 6-членного гетероциклілу і гетероциклілу C₁-C₆ алкілу з 1-3 гетероатомами, вибраними з азоту, кисню і сірки,

кільце A являє собою феніл або гетероцикл, і

m має значення від 1 до 6,

або її фармацевтично прийнятну сіль для застосування як лікарського засобу.

Більш переважно, даний винахід забезпечує сполуку формули (I), визначену вище, для застосування як проліків.

Ще більш переважно, винахід забезпечує сполуку формули (I), визначену вище, для застосування як проліків для лікування клітинно-проліферативних розладів, викликаних і/або пов'язаних зі зміною активності протеїнкінази, зокрема, раку.

Винахід, крім того, забезпечує будь-який терапевтичний спосіб лікування із застосуванням як проліків сполуки формули (I), визначеної вище.

Ще одним завданням даного винаходу є сполука формули (I), визначена вище, яка відрізняється тим, що R не може являти собою незаміщену етильну групу.

Даний винахід також забезпечує спосіб лікування клітинно-проліферативних розладів, викликаних і/або пов'язаних зі зміною активності протеїнкінази, який включає введення ссавцеві, потребуючому цього, ефективної кількості сполуки формули (I), визначеної вище.

Вказаний вище спосіб робить можливим лікування клітинно-проліферативних розладів, викликаних і/або пов'язаних зі зміною активності протеїнкінази, наприклад, кіназ Auroga або IGF-1R.

У переважному варіанті втілення способу, описаного вище, клітинно-проліферативний розлад являє собою рак.

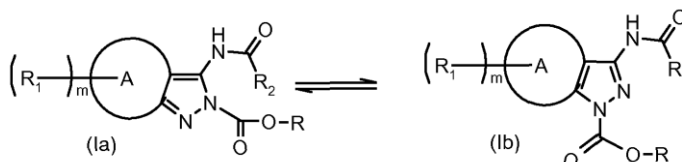
Конкретні типи раку, які можна лікувати, включають карциному, сквамозно-клітинну карциному, гематопоетичні пухлини мієлоїдного або лімфоїдного походження, пухлини мезенхімального походження, пухлини центральної і периферичної нервової системи, меланому, семіному, тератокарциному, остеосаркому, пігментну ксеродерму, кератоксантому, тиреоїдний фолікулярний рак і саркому Капоші.

Даний винахід також включає фармацевтичні композиції, що включають сполуку формули (I), визначену вище, або її фармацевтично прийнятну сіль в асоціації з фармацевтично прийнятним ексципієнтом, який може являти собою носій або розріджувач, і до способу лікування клітинно-проліферативних розладів, викликаних і/або пов'язаних зі зміною активності протеїнкінази, який включає введення ссавцеві, потребуючому цього, ефективної кількості сполуки формули (I), визначеної вище, або фармацевтичної композиції, як визначено в даній заявці. Більш повне розуміння даного винаходу і багатьох пов'язаних з ним переваг буде можливим при зверненні до докладного опису, що йде далі.

Сполуки формули (I) можуть містити асиметричні атоми вуглецю і тому можуть існувати або у вигляді рацемічних сумішей, або у вигляді індивідуальних оптичних ізомерів.

Відповідно, всі можливі ізомери і їх суміші також включені в обсяг даного винаходу.

У доповнення до вказаного вище, як повинне бути очевидно, сполуки формули (I) можуть існувати у вигляді ізомерів або сумішей ізомерів формул (Ia) і (Ib):



Два ізомери формули (Ia) і (Ib) можна зручним чином розділити відповідно до добре відомих способів, наприклад, в умовах хроматографії, і кожний ізомер, виділений таким чином, на наступних стадіях можна піддати обробці. В альтернативному випадку, суміш ізомерів можна обробити, як на наступних стадіях способу, без будь-якого розділення. Вказаний вище спосіб можна здійснити згідно зі способами, добре відомими з рівня техніки.

З вищезгаданого фахівцеві в даній галузі повинно бути зрозуміло, що, коли сполуку формули (I), одержану відповідно до описаного вище способу, одержують у вигляді суміші ізомерів, їх розділення на окремі ізомери формули (I), здійснюване відповідно до традиційних способів, також включене в обсяг даного винаходу. Подібним чином, перетворення на спільну сполуку (I) у формі її відповідної солі відповідно до добре відомих способів, також включене в обсяг даного винаходу.

Як він використовується в даній заявці, якщо не вказане інше, термін лінійний або розгалужений C₁-C₁₂ або C₁-C₆ алкіл, або як такий, або як арил C₁-C₆ алкіл або гетероарил C₁-C₆ алкіл, означає групу, таку як, наприклад, метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, трет-бутил, втор-бутил, н-пентил, н-гексил, н-гептил, і подібні. Переважно, він являє собою C₁-C₄ алкіл, наприклад, метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, трет-бутил, втор-бутил.

Під терміном "арильна група" розуміється будь-яка ароматична карбоциклічна кільцева система, що складається з 1 або 2 кільцевих фрагментів, або конденсованих, або зв'язаних один з одним через простий зв'язок, наприклад, що включає фенільну, або нафтильну або біфенільну групи.

Під терміном "гетероарил" розуміється будь-яке ароматичне гетероциклічне кільце, яке може включати необов'язково бензо-конденсований 5- або 6-членний гетероцикл, що містить від 1 до 3 гетероатомів, вибраних з N, O або S. Необмежуючі приклади гетероарильних груп відповідно до винаходу, таким чином можуть включати, наприклад, піридил, піразиніл, піримідиніл, піридазиніл, індоліл, імідазоліл, тіазоліл, ізотіазоліл, піроліл, феніл-піроліл, фурил, феніл-фурил, оксазоліл, ізоксазоліл, піразоліл, тієніл, бензотієніл, ізоіндолініл, бензоімідазоліл, хінолініл, ізохінолініл, 1,2,3-триазоліл, 1-феніл-1,2,3-триазоліл і подібні.

Під терміном "атом галогену" розуміється атом фтору, хлору, бромов або йоду.

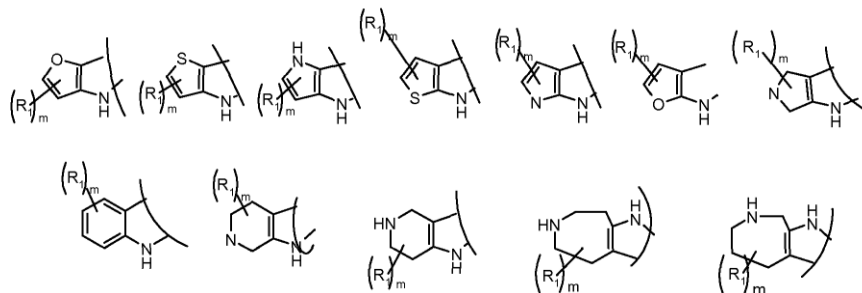
Під терміном "C₃-C₆ циклоалкіл" розуміється будь-яка група, така як циклопропіл, циклобутил, циклопентил або циклогексил.

Під терміном "C₂-C₆ алкенільна або C₂-C₆ алкінільна група" розуміється будь-яка ненасичена лінійна або розгалужена група, така як, наприклад, вініл, аліл, 1-пропеніл, ізопропеніл, 1-, 2- або 3-бутеніл, пентеніл, гексеніл, етиніл, 1- або 2-пропініл, бутиніл, пентиніл, гексиніл і подібні.

Під терміном "гетероцикл", "гетероцикліл" або "гетероциклічна група" також розуміється необов'язково бензо-конденсований 4-7-членний гетероцикл, що відповідно охоплює ароматичні гетероциклічні групи, також відомі як гетероарильні групи, або насичені, або частково ненасичені, що містять від 1 до 3 гетероатомів, вибраних з N, O і S.

Приклади таких 4 або 7-членних гетероциклічних груп включають, наприклад, 1,3-діоксолан, піран, піролідін, піролін, імідазолін, імідазолідин, піразолідин, піразолін, піперидин, піперазин, морфолін, тетрагідрофуран, гексаметиленімін, 1,4-гексагідродіазепін, азетидин і подібні.

Відповідно до даного винаходу, кільце А в формулі (I) вище являє собою феніл або гетероцикл, такий як



де R_1 і m визначені вище.

Коли R₁ являє собою замісник, приєднаний до будь-якого доступного атома кільця А, він вибраний з: галогену, нітро, оксогрупи (=O), карбокси, ціано, алкілу, поліфторованого алкілу, алкенілу, алкінілу, циклоалкілу, циклоалкенілу; арилу, гетероциклілу, алкіл-гетероциклілу, гетероцикліл-алкілу, аміногруп і їх похідних, таких як, наприклад, алкіламіно, діалкіламіно, ариламіно, діариламіно, уреїдо, алкілуреїдо або арилуреїдо; карбоніламіногруп і їх похідних, таких як, наприклад, форміламіно, алкілкарбоніламіно, алкенілкарбоніламіно, арилкарбоніламіно, алкоксикарбоніламіно; гідроксигруп і їх похідних, таких як, наприклад, алкокси, поліфторований алкокси, арилокси, гетероциклілокси, алкілкарбонілокси, арилкарбонілокси, циклоалкенілокси або алкіліденамінокси; карбонільних груп і їх похідних, таких як, наприклад, алкілкарбоніл, арилкарбоніл, алкоксикарбоніл, арилоксикарбоніл, циклоалкілоксикарбоніл, амінокарбоніл, алкіламінокарбоніл, діалкіламінокарбоніл; сульфурованих похідних, таких як, наприклад, алкілтію, арилтію, алкілсульфоніл, арилсульфоніл, алкілсульфініл, арилсульфініл, арилсульфонілокси, аміносульфоніл, алкіламіносульфоніл або діалкіламіносульфоніл.

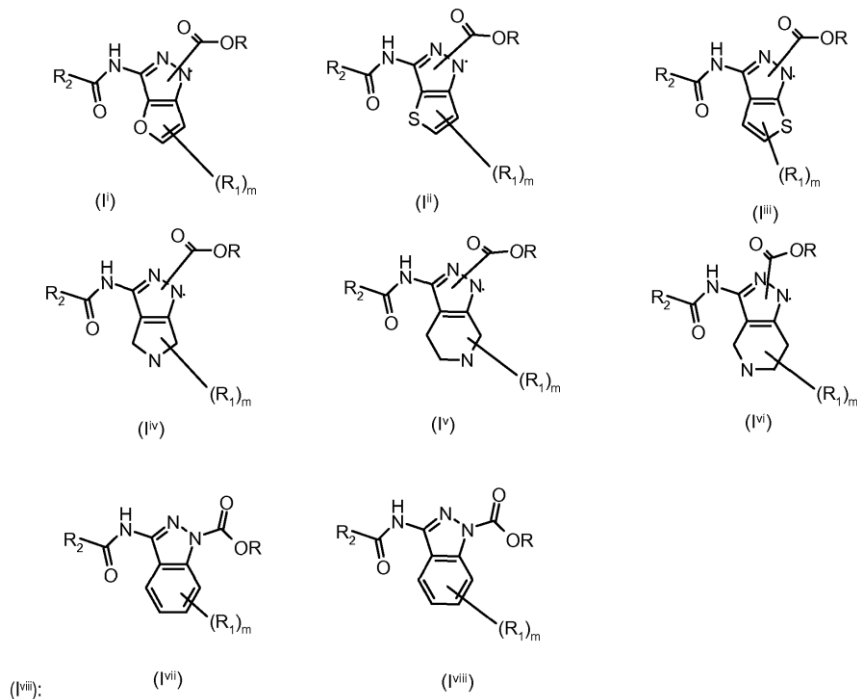
Зайво говорити про те, що, коли m має значення, відмінне від 1 або 0, два або більше замісники, представлені як R_1 , можуть мати однакове значення, наприклад, дві метильні групи, або можуть мати різні значення, наприклад, атом галогену і алкіл, за одним і тим самим атомом або за двома або більше різними атомами кільця A.

У свою чергу, коли це є придатним, кожний з вказаних вище замісників може бути додатково заміщений однією або декількома з вказаних вище груп.

Згідно зі значеннями, представленими для груп R і R_2 , будь-яка з груп, вказаних в їх визначеннях вище, необов'язково, може бути додатково заміщена в будь-якому з вільних положень однією або декількома групами, наприклад, 1-6 групами, при цьому такі замісники визначені вище для R_1 .

Термін "фармацевтично прийнятні солі" охоплює солі, що зазвичай використовуються для одержання солей лужних металів і для одержання адитивних солей з вільними кислотами або вільними основами. Природа солі не є критичною, за умови, що вона є фармацевтично прийнятною. Відповідні фармацевтично прийнятні кислотно-адитивні солі сполук за даним винаходом можна одержати з неорганічної або органічної кислоти. Приклади таких неорганічних кислот включають хлористоводневу, бромистоводневу, йодистоводневу, азотну, вугільну, сірчану і фосфорну кислоту. Придатні органічні кислоти можуть бути вибрані з аліфатичних, циклоаліфатичних, ароматичних, арилаліфатичних, гетероциклічних, карбонових і сульфонових органічних кислот, приклади яких включають мурашину, оцтову, трифтороцтову, пропіонову, бурштинову, гліколеву, глюконову, молочну, яблучну, винну, лимонну, аскорбінову, глюкуронову, малеїнову, фумарову, пірувінову, аспарагінову, глутамінову, ембонову, антранілову, мезілову, саліцилову, п-гідроксибензойну, фенілоцтову, мигдалеву, ембонову (памову), метансульфонову, етансульфонову, бензолсульфонову, пантотенову,

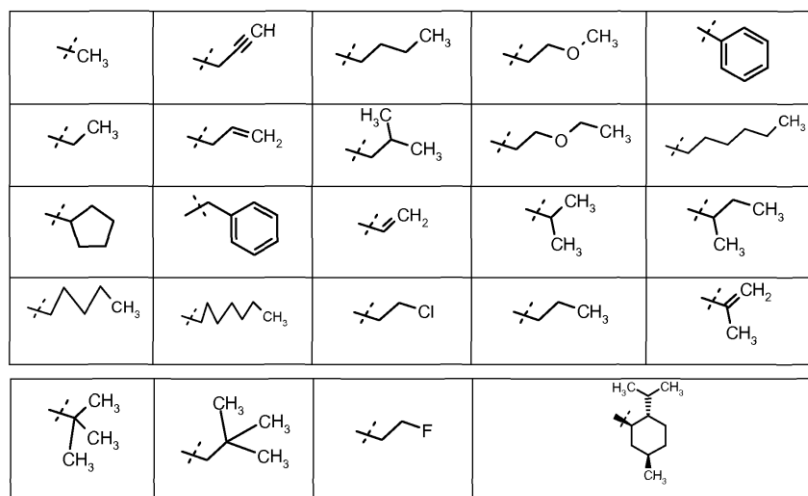
толуолсульфонову, 2-гідроксіетансульфонову, сульфанілову, стеаринову, циклогексиламіноссульфонову, альгенову, оксимасляну, галактарову і галактуранову кислоту. Придатні фармацевтично прийнятні основно-адитивні солі сполук за даним винаходом включають солі з металами, одержані з алюмінію, кальцію, літію, магнію, калію, натрію і цинку, або органічні солі, одержані з N, N'-добензилетилендіаміну, хлорпрокаїну, холіну, діетаноламіну, етилендіаміну, меглуміну (N-метил-глюкамін) і прокаїну. Всі з цих солей можна одержати традиційними способами з відповідних сполук за даним винаходом, наприклад, шляхом їх взаємодії з відповідною кислотою або основою. Переважно, даний винахід забезпечує сполуку формули (Iⁱ), (Iⁱⁱ), (I^{iv}), (I^{iv}), (I^v), (I^{vi}), (I^{vii}) і



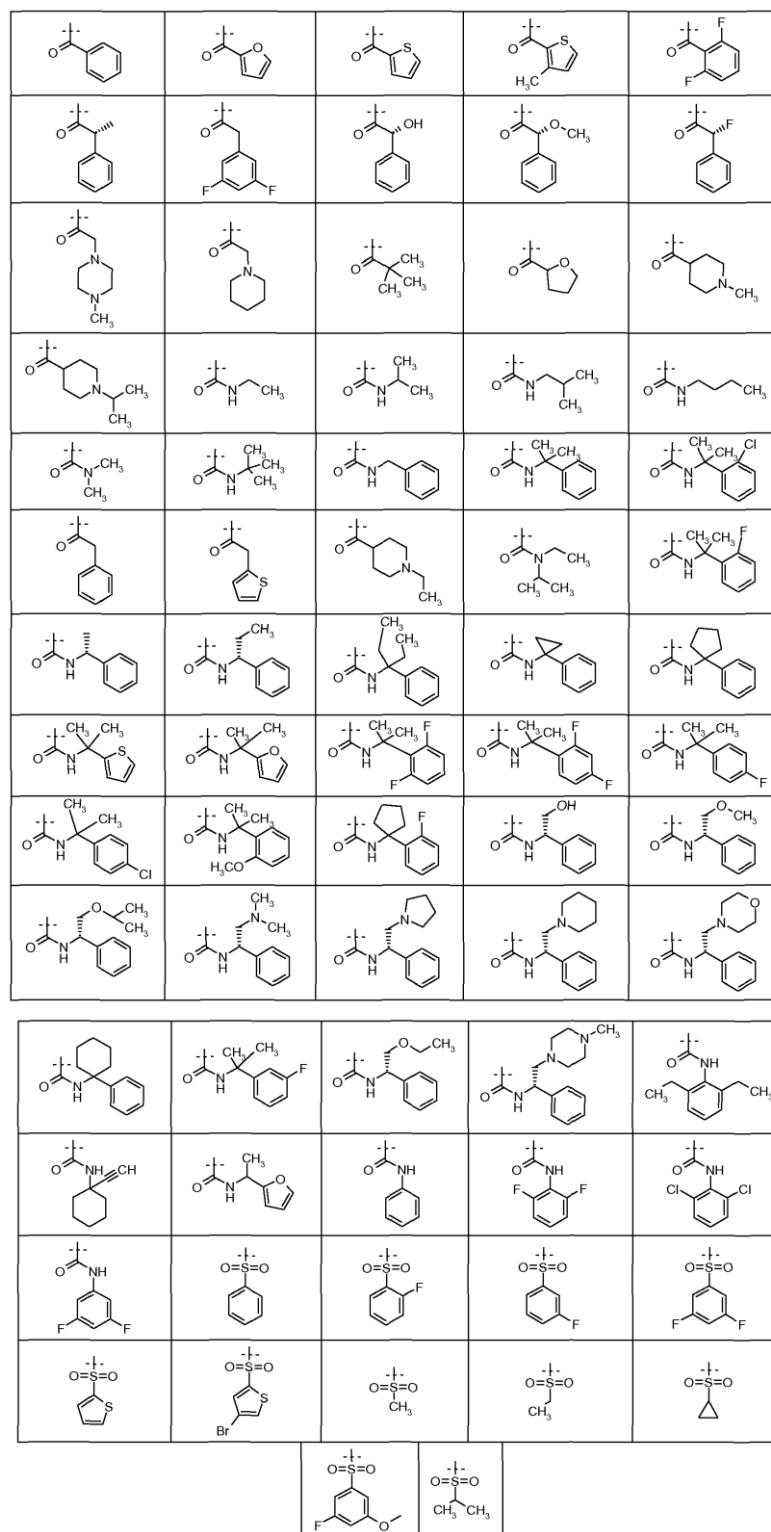
де m , R , R_1 і R_2 визначені вище; наприклад, коли m має значення 2 або 3, додатковий R_1 замісник (замісники) в фенільному або гетероциклічному кільці являє собою метильну, етильну або циклопропільну групу.

У представлених формулах в даному описі пунктирна лінія перетинає зв'язок, який зв'язує замісник з основним каркасом молекули.

Переважно, R являє собою групу, вибрану з

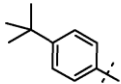



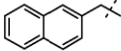
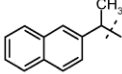
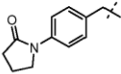
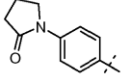

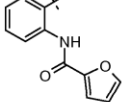
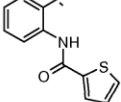
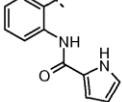
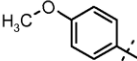
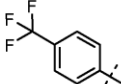



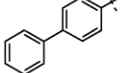
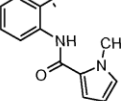
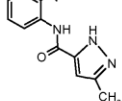
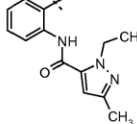
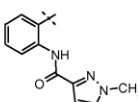
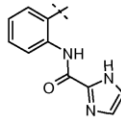
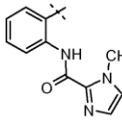
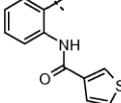
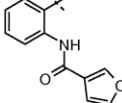
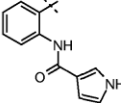
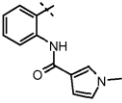
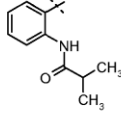
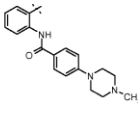
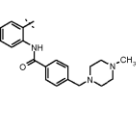
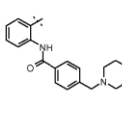


Переважно, для сполуки формули Iⁱ), (Iⁱⁱ), (Iⁱⁱⁱ), (I^{iv}), (I^v) або (I^{vi}), R_i являє собою групу, вибрану



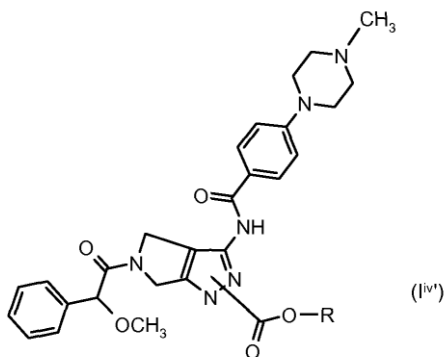
I, нарешті, R₂ переважно, являє собою групу, вибрану з:

5

В іншому переважному аспекті даний винахід забезпечує сполуку формули (I^{iv'}):

5

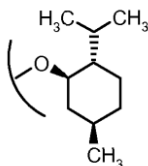


де

R визначений вище, або її фармацевтично прийнятну сіль для застосування як лікарського засобу; більш переважно, як проліків, ще більш переважно, як протираківних проліків.

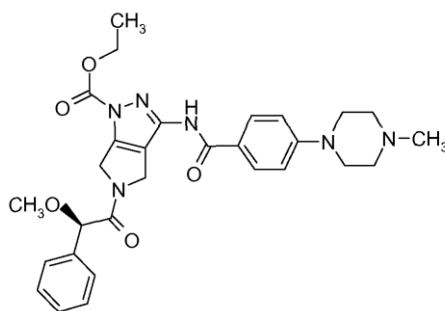
10

Переважно, конфігурація асиметричного вуглецевого атома являє собою (R) конфігурацію, і R вибраний з метилу, етилу, циклопентилу, н-пентилу, трет-бутилу, 2-пропінілу, алілу, бензилу, н-гептилу, неопентилу, н-бутилу, ізобутилу, вінілу, 3-хлор-пропілу, 3-фтор-пропілу, 2-метоксіетилену, 2-етоксіетилену, ізопропілу, н-пропілу, фенілу, н-гексилу, втор-бутилу, ізопропенілу або групи формули:



Більш переважно, даний винахід забезпечує сполуку формули (I^{iv}), що має (R) конфігурацію і яка відрізняється тим, що R являє собою етильну групу для застосування як лікарського засобу; більш переважно, як проліків, ще більш переважно, як протиракових проліків.

Ще більш переважно, даний винахід забезпечує сполуку формули:



або її фармацевтично прийнятну сіль для застосування як лікарського засобу, переважно, як проліків, ще більш переважно, як проліків для лікування клітинно-проліферативних розладів, викликаних і/або пов'язаних зі зміною активності протеїнкінази, зокрема, як проліків для лікування раку. Така сполука представлена як A024 нижче.

Винахід, крім того, забезпечує будь-який терапевтичний спосіб лікування із застосуванням як проліків сполуки, представленої під номером A024, яка визначене вище.

Даний винахід також включає фармацевтичні композиції, що включають сполуку, представлену під номером A024, визначену вище, або її фармацевтично прийнятну сіль в асоціації з фармацевтично прийнятним ексципієнтом, який може являти собою носій або розріджувач, і до способу лікування клітинно-проліферативних розладів, викликаних і/або пов'язаних зі зміною активності протеїнкінази, який включає введення ссавцеві, потребуючому цього, ефективної кількості сполуки, представленої під номером A24, визначеної вище, або фармацевтичної композиції, як визначено в даній заявці.

В іншому аспекті, забезпечується сполука формули (I^{iv}), де R являє собою лінійну або розгалужену C₁-C₁₂ алкілну, арильну або гетероарильну групу, але не етильну групу.

Конкретні, що не обмежують, приклади сполук за даним винаходом, де це є придатним - у формі фармацевтично прийнятних солей, як такі, для застосування як лікарського засобу, або і ті і інші, являють собою наступні:

A01 метиловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A02 етиловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A03 вініловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A04 пропіловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A05 ізопропіловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A06 аліловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

E074 2-метоксі-етилловий ефір R-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламіно-етокси)-2-(2-метокси-1-метил-етиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

E075 2-етоксі-етилловий ефір R-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламіно-етокси)-2-(2-метокси-1-метил-етиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

5 E076 метиловий ефір R-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(піролідін-1-ілметил)-2-(2-метокси-1-метил-етиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

E077 етиловий ефір R-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(піролідін-1-ілметил)-2-(2-метокси-1-метил-етиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

10 E078 2-метоксі-етилловий ефір R-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(піролідін-1-ілметил)-2-(2-метокси-1-метил-етиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

E079 2-етоксі-етилловий ефір R-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(піролідін-1-ілметил)-2-(2-метокси-1-метил-етиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти і

E080 етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-(2-метоксі-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти.

15 Як було вказано, сполуки, перераховані вище "за рег се", являють собою ще один об'єкт даного винаходу як такі і у вигляді їх фармацевтично прийнятних солей, але, що стосується сполук під номерами A02, A024 і C024, відомих як проміжні сполуки, вони є тільки об'єктом даного винаходу для застосування як лікарського засобу, як описано вище.

Ще більш переважними сполуками за даним винаходом є наступні:

20 A02 етиловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A04 пропіловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

25 A05 ізопропіловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A08 бутиловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A09 ізобутиловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

30 A020 (1R, 2S, 5R)-2-ізопропіл-5-метил-циклогексильовий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A021 2-фторетиловий ефір 5-(2,6-діетил-фенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

35 A024 етиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A026 пропіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

40 A027 ізопропіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A030 бутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A032 ізобутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

45 A042 (1R, 2S, 5R)-2-ізопропіл-5-метил-циклогексильовий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A043 2-фторетиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

50 B02 етиловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-ілметил)-бензоїламіно]-фууро[3,2-с]піразол-1-карбонової кислоти;

B04 пропіловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-ілметил)-бензоїламіно]-фууро[3,2-с]піразол-1-карбонової кислоти;

55 B05 ізопропіловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-ілметил)-бензоїламіно]-фууро[3,2-с]піразол-1-карбонової кислоти;

B08 бутиловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-ілметил)-бензоїламіно]-фууро[3,2-с]піразол-1-карбонової кислоти;

B09 ізобутиловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-ілметил)-бензоїламіно]-фууро[3,2-с]піразол-1-карбонової кислоти;

- [illegible]

E080 етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-(2-метоксі-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти.

Найбільш переважними сполуками за даним винаходом є наступні:

[illegible]

- [illegible]

- [illegible]

A027 ізопропіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A030 бутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

5 A032 ізобутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

A042 (1R, 2S, 5R)-2-ізопропіл-5-метил-циклогексильовий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

10 B02 етиловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-ілметил)-бензоїламіно]-фуоро[3,2-с]піразол-1-карбонової кислоти;

C02 етиловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-(4-піперидин-1-ілметил-бензоїламіно)-тієно[2,3-с]піразол-1-карбонової кислоти;

15 C024 етиловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-(4-морфолін-4-іл-бензоїламіно)-тієно[2,3-с]піразол-1-карбонової кислоти;

C068 етиловий ефір 3-[4-(ізопропіламіно-метил)-бензоїламіно]-5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-тієно[2,3-с]піразол-1-карбонової кислоти;

20 D02 етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-2-(тетрагідро-піран-4-іламіно)-бензоїламіно]-4,5,6,7-тетрагідро-піразоло[4,3-с]піридин-1-карбонової кислоти;

D029 етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-(2-метоксі-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-4,5,6,7-тетрагідро-піразоло[4,3-с]піридин-1-карбонової кислоти;

25 D056 етиловий ефір S-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-(2-метоксі-1-метил-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-4,5,6,7-тетрагідро-піразоло[4,3-с]піридин-1-карбонової кислоти;

D083 етиловий ефір R-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-(2-метоксі-1-метил-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-4,5,6,7-тетрагідро-піразоло[4,3-с]піридин-1-карбонової кислоти;

30 E01 етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-2-(тетрагідро-піран-4-іламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

E040 етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-((S)-2-метоксі-1-метил-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

E043 2-(2-метоксі-етоксі)-етиловий ефір S-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-2-(2-метоксі-1-метил-етиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

35 E060 етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-((R)-2-метоксі-1-метил-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;

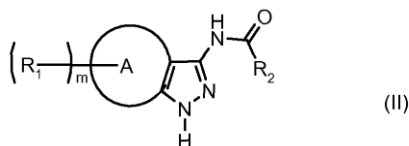
E063 2-(2-метоксі-етоксі)-етиловий ефір R-5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-2-(2-метоксі-1-метил-етиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти і

40 E080 етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-(2-метоксі-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти.

Як вказано вище, спосіб одержання сполук формули (I) являє собою ще один об'єкт даного винаходу.

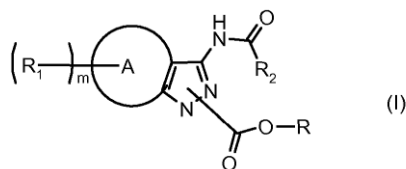
Сполуки формули (I) і їх фармацевтично прийнятні солі, таким чином, можуть бути одержані згідно зі способом, що включає:

45 а) взаємодію необов'язково захищеної бі-циклічної сполуки формули (II):



50 де A, R₁, R₂ і m визначені вище, з будь-яким відповідним агентом для введення бажаної -C(O)OR групи, де R визначений вище, за одним з атомів азоту піразолу, таким як хлорформіатне похідне, з подальшим необов'язковим видаленням захисної групи, якщо вона присутня;

б) якщо це необхідне, перетворення одержаної сполуки формули (I):

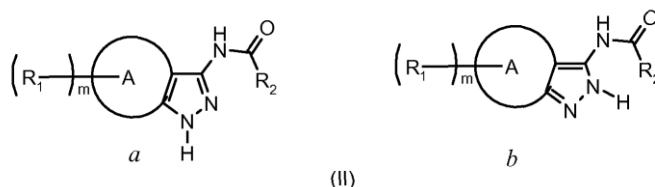


де A, R, R₁, R₂ і m визначені вище, на іншу сполуку формули (I), де один або декілька з R₁, R₂ або m має інше значення, з використанням відомих реакцій; розділення, якщо це необхідне, одержаних ізомерів формули (Ia) і (Ib), визначених вище, відповідно до добре відомих способів; перетворення сполуки формули (I), визначеної вище на фармацевтично прийнятну сіль, або перетворення солі такої сполуки на спільну сполуку формули (I), визначену вище.

Посилання на будь-яку конкретну сполуку формули (I) за даним винаходом, необов'язково в формі фармацевтично прийнятної солі, дивись в експериментальному розділі нижче.

Альтернативно, сполуку формули (I) за даним винаходом також можна одержати з використанням добре відомого способу, описаного в патентній літературі, вказаній вище, де такі сполуки описані як корисні проміжні сполуки.

Потрібно вказати, що сполуки формули (II), визначені вище, також можуть бути присутніми в будь-якій з їх таутомерних форм а або b, а не тільки в а формі, описаній вище:



Описані вище способи є аналогічними до способів, які можна здійснити відповідно до методів, відомих з рівня техніки. Як вказано вище, фахівцям в даній галузі повинно бути зрозуміло, що, якщо сполука формули (I), яка одержана відповідно до описаного вище способу, одержана у вигляді суміші ізомерів, їх розділення на окремі ізомери формули (I), здійснюване відповідно до традиційних способів, також включене в обсяг даного винаходу.

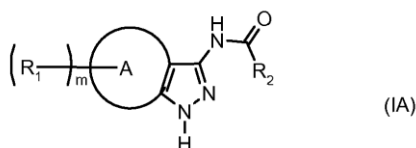
Згідно зі стадією (а) способу, конденсованому піразольне похідне формули (II) піддають взаємодії, відповідно до добре відомих способів, з агентом для введення бажаної карбоаміольної групи (-COOR) за одним з атомів азоту піразолу. Як приклад, вказану вище реакцію можна здійснювати з алкілхлорформіатом, який також називають хлоркарбонатом, у придатному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, дихлорметан, хлороформ, ацетонітрил, толуол або суміші таких розчинників, при температурі в межах від близько -5 °C до близько 35 °C і протягом часу від близько 30 хвилин до близько 72 годин, в присутності придатного акцептора протонів, такого як триетиламін або діізопропілетиламін.

На основі вищевикладеного, фахівцям в даній галузі повинно бути зрозуміло, що цю реакцію можна здійснювати різними шляхами і з використанням різних робочих умов, які добре відомі з рівня техніки для одержання карбоаміольних похідних.

Відомості, що стосуються одержання сполук формули (II) можна знайти в опублікованій патентній заявці, на яку є посилання вище.

ФАРМАКОЛОГІЯ

Як вказано вище, сполуку формули (I) за даним винаходом можна застосовувати як лікарський засіб і, зокрема, як проліки для вивільнення активного вихідного лікарського засобу відповідно до формули (IA):



де A, R₁, R₂ і m визначені вище, in vivo.

Виділені сполуки формули (IA) є активними як інгібітори протеїнкіназ, більш конкретно, інгібітори кіназ Aurora або інгібітори IGF-R₁, і тому вони є корисними, наприклад, для обмеження нерегульованої проліферації пухлинних клітин.

У терапії їх можна застосовувати в лікуванні різних пухлин, таких, як вказані вище, а також в лікуванні інших клітинно-проліферативних розладів, таких як псоріаз, проліферація клітин гладких м'язів судин, пов'язана з атеросклерозом і післяопераційним стенозом і рестенозом.

Інгібіторну дію і активність вибраних сполук визначають методом аналізу, оснований на використанні SPA технології (Amersham Pharmacia Biotech).

Аналіз включає перенесення радіоактивно міченої фосфатної групи за допомогою кінази до біотинільованого субстрату. Забезпечують можливість зв'язування одержаного 33P-міченого біотинільованого продукту з SPA кульками, що мають стрептавідинове покриття (концентрація біотину 130 пмоль/мг) і випромінюване випромінювання вимірюють з використанням сцинтиляційного лічильника.

Аналіз інгібування IGF-1R кіназної активності

Буфери/компоненти, що використовуються в аналізі, являли собою наступні. Кіназний Буфер (буфер KB) складався з 50 mM HEPES, 3 mM MnCl₂, 1 mM DTT, 3 мкМ Na₃VO₄, pH 7,9. Ферментний Буфер (буфер EB) складався з буфера KB, що містить 0,6 мг/мл BSA (бичачий сироватковий альбумін). Сцинтиляційні кульки SPA (Код продукту RPNQ0007, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ USA) одержували у вигляді 10 мг/мл суспензії в PBS, що містить 32 mM EDTA, 500 мкМ неміченого АТФ і 0,1 % Triton X-100. Цей препарат вказаний нижче як "суспензія SPA кульок". У день аналізу, IGF-1R попередньо фосфорильовали, щоб одержати лінійну кінетику реакції. Для досягнення цього, бажану кількість ферменту інкубували протягом 30 хвилин при 28°C при концентрації 1050 нМ ферменту в буфер EB, що містить 100 мкМ неміченого АТФ. Після преінкубації і безпосередньо перед аналізом цей заздалегідь фосфорильований IGF-1R кіназний препарат розбавляли до концентрації ферменту 60 нМ шляхом додавання 16,5 об'ємів буфера KB. Цей розбавлений заздалегідь фосфорильований фермент вказаний нижче як "ферментна суміш".

Субстрат, що використовується в аналізі, являв собою біотинільований за карбокси-кінцем пептид, що має наступну послідовність: KKKSPGEYVNIIEFGGGGK-біотин. Пептид одержували партіями з чистотою пептиду >95 % від American Peptide Company, Inc. (Sunnyvale, CA, USA). "АТФ суміш", вказана нижче, складалася з буфера KB, що містить 6 нМ 33Pγ-АТФ (гамма фосфат-мічений, Redivue™ Кодовий номер AH9968, 1000-3000Ki/ммоль, Amersham Biosciences Piscataway, NJ USA), 18 мкМ неміченого АТФ і 30 мкМ біотинільованого пептидного субстрату. Цей розчин містив ці компоненти при 3X їх кінцевих концентраціях в реакції. Сполуки, які випробовували, одержували в 100 % DMSO при відповідних концентраціях. Ці препарати потім розбавляли 33-кратно з використанням буфера KB, з одержанням сполуки при 3X бажаній кінцевій концентрації, що аналізується в буфері KB, який містить 3 % DMSO. Цей 3X препарат вказаний нижче як "робочий розчин сполуки".

Кіназна реакція: Реакції здійснювали в 96-ямкових мікротитрувальних планшетах з U-подібним дном (таких як Продукт #650101, Greiner Bio-One, Kremsmuenster Austria) з використанням кінцевого реакційного об'єму 30 мкл. У кожен ямок для випробування додавали 10 мкл "робочого розчину сполуки", що містить відповідне розведення сполуки, з подальшим додаванням 10 мкл "АТФ суміші" і 10 мкл "Ферментної суміші", таким чином, запускаючи реакцію. Вміст ямки відразу змішували шляхом піпетування і реакційні суміші інкубували протягом 60 хвилин при кімнатній температурі. Після інкубації реакції зупиняли шляхом додавання 100 мкл/ямку "суспензії SPA кульок". Ямки інкубували ще протягом 15 хвилин при кімнатній температурі, потім з кожної ямки витягали по 110 мкл і переносили в окрему ямку 96-ямкових непрозорих сцинтиляційних планшетів (таких як OptiPlate™-96, PerkinElmer LAS, Inc. Boston, MA, USA), кожна з яких містила 100 мкл/ямку 5M CsCl. Після 4 годин спокою при кімнатній температурі для забезпечення можливості флотації SPA кульок, ці планшети зчитували з використанням сцинтиляційного лічильника (Packard TopCount NXT, PerkinElmer LAS, Inc. Boston, MA, USA) для кількісного визначення випромінюване випромінювання з кожної ямки (пропорційно кількості фосфату, включеного в пептидний субстрат в процесі кіназної реакції).

Багато зі стадій, описаних вище, такі як стадії, що включають розведення сполук, додавання сумішей в реакцію, перенесення суміші після завершення реакції в рахункові планшети, можуть бути автоматизовані з використанням роботизованих пристроїв для піпетування (таких як маніпулятори для рідин Multimek і Biomek, Beckman Coulter Inc., Fullerton CA USA), і криву розведення відомого інгібітора кінази, такого як стауроспорин, можна включати рутинним чином як позитивний контроль для інгібування IGF-1R.

Результати: дані аналізували з використанням пакету програм "Assay Explorer" (Elsevier MDL, San Leandro, CA 94577). Для окремих концентрацій сполуки, інгібіторну активність типово виражали як % інгібування, одержаний в присутності сполуки, в порівнянні із загальною активністю ферменту, одержаною, коли інгібітор не використовували. Сполуки, що демонструють бажане інгібування, можна піддати подальшому аналізу для дослідження активності інгібітора через обчислення IC_{50} . У цьому випадку, дані інгібування, одержані з використанням серійного розведення інгібітора, можуть бути оброблені за допомогою методу нелінійної регресії з використанням наступного рівняння (Рівняння 1):

$$v = v_0 + \frac{(v_0 - v_b)}{1 + 10^{n(\log IC_{50} - \log [I])}}$$

де v_b означає базову лінію швидкості,
 v означає швидкість реакції, що спостерігається,
 v_0 означає швидкість у відсутності інгібіторів,
 n означає ціле число; i
 $[I]$ означає концентрацію інгібітора.

Вестерн-блот-аналіз фосфорилування рецептора після стимуляції за допомогою IGF-1 в MCF-7 людських ракових клітинах молочної залози MCF-7

Клітини (ATCC# HTB-22) висівали в 12-ямкові планшети для культури тканини при густині 2×10^5 клітин/ямку в E-MEM середовище (MEM+Earle's BSS+2 мМ глутаміну + 0,1 мМ замісних амінокислот) + 10 % FCS і інкубували протягом ночі при 37 °C, 5 % CO₂, 100 % відносної вологості. Клітини потім виснажували шляхом заміни середовища E-MEM+10 % FCS середовищем E-MEM+0,1 % BSA і інкубування протягом ночі. Після цієї інкубації, ямку обробляли бажаними концентраціями сполуки протягом 1 години при 37 °C і потім стимулювали за допомогою 10 нМ рекомбінантного людського IGF-1 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) протягом 10 хвилин при 37 °C. Клітини потім промивали за допомогою PBS і лізували в 100 мкл/ямку буфері для клітинного лізису (M-PER реагент для Екстракції Білка Ссавців [Продукт #78501, Pierce, Rockford, IL, USA] + 10 мМ EDTA+ коктейль інгібітора протеази [Sigma-Aldrich продукт #P8340] + коктейль інгібітора фосфатази [Sigma-Aldrich продукти #P2850 + #P5726]). Клітинні лізати очищували шляхом центрифугування при 10000 x g протягом 5 хвилин і 10 мкг/смужку очищеного білка лізату вимивали на NuPAGE гелі (NuPAGE 4-12 % 10-lane Bis-Tris gels, Invitrogen) за допомогою протікаючого буфера MOPS, потім переносили на Hybond-ECL нітроцелюлозні фільтри (Amersham Biosciences, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK) з використанням Mini PROTEAN II комірок (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). Фільтри, що втримують перенесений на них білок, інкубували протягом 1 години в блокувальному буфері (TBS+5 % BSA+0,15 % Tween 20) і зондували протягом 2 годин в цьому ж буфері, що містить 1/1000 кролячого анти-фосфо IGF-1R Tyr₁₃₁/InsR Tyr₁₁₄₆ антитіла (продукт #3021, Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA) для детекції фосфорильованого IGF-1R, або 1/1000 розведення кролячого IGF-1rβ(H-60) антитіла (продукт #sc-9038, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) для детекції загальної кількості β ланцюга IGF-1R. У будь-якому випадку, фільтри потім промивали протягом 30 хвилин, замінюючи декілька разів TBS+0,15 % Tween 20, і інкубували протягом 1 години в промивальному буфері, що містить 1/5000 розведення кон'югованого з пероксидазою хрину антикролячого IgG (Amersham, продукт #NA934), потім промивали знов і виявляли з використанням ECL хемілюмінесцентної системи (Amersham) відповідно до рекомендацій виробника. Якщо не вказане інше, реагенти, що використовуються, одержували від Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

Індуковане ростовим фактором фосфорилування S6 рибосомального білка в первинних людських фібробластах.

Фосфорилування S6 рибосомального білка у відповідь на стимуляцію ростовим фактором нормальних людських дермальних фібробластів (NHDF) використовували для оцінки активності сполуки за інгібуванням індукованої IGF-1 сигнальної трансдукції в клітинах і селективності у відношенні EGF і PDGF стимулу. NHDF клітини, одержані від PromoCell (Heidelberg, Germany), підтримували при 37 °C в атмосфері вологості 5 % CO₂ в повному середовищі для росту фібробластів (PromoCell). Для аналізу, NHDF висівали 384-ямкові планшети для культури тканин (прозорі і плоскодонні чорні планшети; Matrix Technologies Inc., Hudson, NH, USA) при густині 5000 клітин/ямку в безсироватковому середовищі, що містить 0,1 % бичачого сироваткового альбуміну (BSA), і інкубували протягом 5 днів. Виснажені клітини обробляли

протягом 1 години бажаними дозами сполук і потім стимулювали ще протягом 2 годин за допомогою або 10 нМ IGF-1 (Invitrogen Corp., CA, USA), 10 нМ EGF (Gibco BRL, USA), або 1 нМ PDGF-B/B (Roche Diagnostics GmbH, Germany). Клітини потім фіксували в PBS/3,7 % параформальдегіду протягом 20 хвилин при кімнатній температурі, промивали X2 за допомогою PBS і обробляли шляхом просочення PBS/0,3 % Triton X-100 протягом 15 хвилин. Ямки потім насичували PBS/1 % знежиреного сухого молока (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) протягом 1 години і потім зондували протягом 1 години при 37 °C за допомогою анти-фосфо-S6 (Ser 235/236) антитіла (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA, cat. #2211) при 1/200 розведенні в PBS/1 % молока/0,3 % Tween 20. Ямки потім промивали два рази за допомогою PBS і інкубували протягом 1 години при 37 °C з PBS/1 % молока/0,3 % Tween 20+1 мкг/мл DAPI (4,6-діамідино-2-феніліндол) + 1/500 козячого антикроплячого Cy5™-кон'югованого вторинного антитіла (Amersham Biosciences, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK). Ямки потім промивали X2 за допомогою PBS, і 40 мкл PBS залишалося в кожній ямці для імунофлуоресцентного аналізу. Флуоресцентні зображення в DAPI і Cy5™ каналах одержували автоматично, зберігали і аналізували з використанням пристрою Cellomics ArrayScan™ IV (Cellomics, Pittsburgh, USA); використовували алгоритм цитотоксичності Cellomics кількісного визначення цитоплазматичної флуоресценції, асоційованої з фосфо-S6 (Cy5™ сигнальний параметр: "Mean Lyso Mass-pH"), для кожної клітини в 10 полях/ямка і, зрештою, виражали у вигляді середньої величини популяції. Якщо не вказане інше, реагенти одержували від Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.

Аналіз інгібування активності Aurora-2

Кіназна реакція: 8 мікроМ біотинільований пептид (4 повтори LRRWSLG), 10 АТФ (0,5 мкКі Р³³Y-АТФ), 7,5 нг Aurora 2, інгібітор в кінцевому об'ємі 30 мкл буфера (HEPES 50 мМ рН 7,0, MgCl₂ 10 мМ, 1 мМ DTT, 0,2 мг/мл BSA, 3 М ортованадату) додавали в кожну ямку 96-ямкового планшета з U-подібним дном. Після 60 хвилин інкубації при кімнатній температурі реакцію зупиняли і біотинільований пептид захоплювали шляхом додавання 100 мкл суспензії кульок.

Стратифікація: 100 мкл CsCl 5 М додавали в кожну ямку і давали вистоятися протягом 4 годин перед вимірюванням радіоактивності з використанням лічильника Top-Count.

Визначення ІK₅₀: інгібітори випробовували при різних концентраціях в межах від 0,0015 до 10 М. Експериментальні дані аналізували за допомогою комп'ютерної програми GraphPad Prizm з використанням розрахункового рівняння з чотирма параметрами (Рівняння 2):

$y = \text{нижнє значення} + (\text{верхнє значення} - \text{нижнє значення}) / (1 + 10^{-(\log IK_{50} - x) \cdot \text{кут нахилу}})$ (Рівняння 2)

де

x являє собою логарифм концентрації інгібітора; i

y являє собою відповідь;

у починається від нижнього значення і йде до верхнього значення з сигмоїдальною формою.

Розрахунок K_i:

Експериментальний спосіб: Реакцію здійснювали в буфері (10 мМ Tris, рН 7,5, 10 мМ MgCl₂, 0,2 мг/мл BSA, 7,5 мМ DTT), що містить 3,7 нМ ферменту, гістон і АТФ (постійне відношення холодний/мічений АТФ 1/3000). Реакцію зупиняли за допомогою EDTA і субстрат захоплювали на фосфомембрані (96-ямкові планшети Multiscreen від Millipore).

Після ретельного промивання, планшети multiscreen зчитували за допомогою лічильника. Визначали контрольне значення (час нуль) для кожної концентрації АТФ і гістону.

План експерименту: Швидкості реакцій вимірювали при чотирьох концентраціях АТФ, субстрат (гістон) і інгібітора. Одержували 80-точкову матрицю концентрацій навколо відповідних K_m значень АТФ і субстрату і значень ІK₅₀ для інгібітора (0,3, 1, 3, 9-кратні значення K_m або ІK₅₀). Попередній протягом певного часу експеримент за відсутності інгібітора і при різних концентраціях АТФ і субстрату дозволяв вибрати одну кінцеву точку часу (10 хв) в лінійних межах реакції для експерименту з визначення K_i.

Визначення кінетичних параметрів: кінетичні параметри визначали шляхом одночасного використання методу нелінійної регресії і найменших квадратів з використанням [Рівняння 3] (конкурентний інгібітор відносно АТФ, рандомізований механізм) з використанням повного комплексу даних (80 точок):

(Рівняння 3)

$$v = \frac{V_m \cdot A \cdot B}{\alpha \cdot K_a \cdot K_b + \alpha \cdot K_a \cdot B + \alpha \cdot K_b \cdot A + A \cdot B + \alpha \cdot \frac{K_a}{K_i} \cdot I \cdot (K_b + \frac{B}{\beta})} \quad [\text{Ур. 1}]$$

де A=[АТФ],
 B=[Субстрат],
 I=[інгібітор],
 Vm= максимальна швидкість,

5 Ka, Kb, Ki константи дисоціації АТФ, субстрата і інгібітора, відповідно, і показник кооперативності зв'язування між субстратом і АТФ і зв'язування субстрату і інгібітора, відповідно;

α і β означають фактори взаємодії між речовиною і АТФ зв'язью і між речовиною і інгібітором зв'язування відповідно.

10 Сполуки за даним винаходом також були перевірені *in vitro* для оцінки анти-проліферативного ефекту на клітинні культури.

Аналіз клітинної проліферації *in vitro*

15 Клітинну лінію раку товстої кишки людини НСТ-116 висівали при 5000 клітин/см² в 24-ямковий планшет (Costar) з використанням F12 середовища (Gibco), доповненого 10 % FCS (EuroClone, Italy), 2 мМ L-глутаміну і 1 % пеніциліну/стрептоміцину, і підтримували при 37 °С, 5 % CO₂ і 96 % відносної вологості. На наступний день планшети обробляли два рази за допомогою 5 мкл відповідного розведення сполук, починаючи з 10 мМ вихідного розчину в DMSO. По дві необроблені контрольні ямки була включені в кожний планшет. Після 72 часів обробки середовище видаляли і клітини відділяли з кожної ямки з використанням 0,5 мл 0,05 % (мас/об) трипсину, 0,02 % (мас/об) EDTA (Gibco). Зразки розбавляли за допомогою 9,5 мл ізотону (Coulter) і підраховували з використанням 3-ямкового лічильника Multisizer (Beckman Coulter). Дані оцінювали як процент від контрольних ямок: % від CTR = (Обробка - Сліпий дослід)/(Контроль - Сліпий дослід).

25 Значення ІK₅₀ розраховували за допомогою LSW/Аналіз даних з використанням сигмоїдальної кривої Microsoft Excel.

Як вказано вище, сполуки формули (I) за даним винаходом виявилися надзвичайно корисними як лікарський засіб, переважно, як полікі, ще більш переважно, як проліки для лікування захворювань, викликаних порушенням функції протеїнази (РК), таких пухлин.

Приклади біодоступності

30 У таблиці I нижче представлені експериментальні дані для деяких репрезентативних сполук за даним винаходом, які були перевірені. Сполуки формули (I), сформульовані в 0,5 % Methocel®, вводили перорально мишам (10-100 мг/кг) в фармакокінетичних випробуваннях і перетворення сполук формули (I) на відповідну вихідну активну сполуку (IA), визначену вище (тобто без -COOR групи, де R має значення, визначене вище) відстежували в крові за допомогою ВЕРХ/МС аналізу в точці часу 15 і 30 хвилин, 1, 6 і 24 годин після введення. Всі зразки крові брали з підшкірної вени задньої кінцівки.

40 Пероральну біодоступність (Fos) розраховували як процентне відношення середнього п/о значення АUC вихідної сполуки після введення проліків до середнього в/в значення АUC вихідної сполуки після введення вихідної сполуки як такої після нормалізації дози вихідної сполуки.

Сполука	Ідентифікація або код	Fos (миша)
N-[5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-1,4,5,6-тетрагідро-піроло[3,4-с]піразол 3-іл]-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензамід	Вихідна сполука	1
етиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;	A024	13
ізопропіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;	A027	27

Сполука	Ідентифікація або код	Fos (миша)
(1R, 2S, 5R)-2-ізопропіл-5-метил-циклогексильний ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-c]піразол-1-карбонової кислоти;	A042	16
N-[5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-1H-індазол-3-іл]-2-((R)-2-метокси-1-метил-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензамід	Вихідна сполука	53
етильний ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-((R)-2-метокси-1-метил-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;	E060	100
(1-метил-1-феніл-етил)-амід 3-(4-піперидин-1-ілметил-бензоїламіно)-1H-тієно[2,3-c]піразол-5-карбонової кислоти	Вихідна сполука	5
етильний ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-(4-піперидин-1-ілметил-бензоїламіно)-тієно[2,3-c]піразол-1-карбонової кислоти;	C02	33

Крім того, було показано, що сполуки, які випробовуються, також мають надзвичайно чудовий антипроліферативний ефект. Виходячи з вищевикладеного, виявилось, що сполуки формули (I) за даним винаходом мають біологічний профіль, який, що розглядається загалом, несподівано перевершує відомий з рівня техніки, і, отже, є особливо корисними в терапії проти проліферативних розладів, пов'язаних зі зміною кіназної активності, зокрема, зміною активності кінази Aurora-2.

Сполуки за даним винаходом можна вводити або у вигляді окремого засобу, або, альтернативно, в поєднанні з відомими протираковими лікуваннями, такими як променева терапія або хіміотерапія, в поєднанні з цитостатичними або цитотоксичними засобами, антибіотиками, алкілувальними засобами, антиметаболітними засобами, гормональними засобами, імунологічними засобами, засобами типу інтерферону, інгібіторами циклооксидози (наприклад, інгібіторами COX-2), інгібіторами металопротеїнази матриксу, інгібіторами теломери, інгібіторами тирозинових кіназ, засобами проти рецепторів факторів росту, анти-HER засобами, анти-EGFR засобами, засобами проти ангіогенезу (наприклад, інгібіторами ангіогенезу), інгібіторами фарнезилтрансферази, інгібіторами шляху сигнальної трансдукції ras-raf, інгібіторами клітинного циклу, іншими інгібіторами cdk, агентами зв'язування тубуліну, інгібіторами топоізомери I, інгібіторами топоізомери II і подібними засобами.

Коли вони сформульовані у вигляді фіксованої дози, такі продукти поєднання включають сполуки за даним винаходом в межах доз, які описані нижче, і інший фармацевтично активний засіб у встановлених межах доз. Сполуку формули (I) можна використовувати послідовно з відомими протираковими засобами, коли комбінована композиція не є придатною.

Сполуки формули (I) за даним винаходом, придатні для введення ссавцеві, наприклад, людині, можна вводити звичайним шляхом, і рівень доз залежить від віку, маси тіла і стану пацієнта, а також шляху введення.

Наприклад, придатна доза, прийнята для перорального введення сполуки формули (I), може знаходитися в межах від близько 10 до близько 500 мг на дозу, від 1 до 5 разів на день. Сполуки за даним винаходом можна вводити в різних лікарських формах, наприклад, перорально в формі таблеток, капсул, таблеток з цукровим або плівковим покриттям, рідких розчинів або суспензій; ректально в формі супозиторіїв; парентерально, наприклад, внутрішньом'язово або за допомогою внутрішньовенної і/або інтратекальної і/або інтраспінальної ін'єкції або інфузії.

Даний винахід також включає фармацевтичні композиції, що включають сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль в асоціації з фармацевтично прийнятним ексципієнтом, який може являти собою носій або розріджувач.

Ще одним об'єктом тому є застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, визначеної вище, для одержання лікарського засобу для лікування захворювання, викликаного і/або пов'язаного з порушеною регуляцією активності протеїнази, зокрема, для лікування захворювання, викликаного і/або пов'язаного з порушеною регуляцією активності IGF-1R або кінази Aurora, переважно, з порушеною регуляцією активності кінази Aurora. Такий лікарський засіб також забезпечує інгібування ангиогенезу і метастазів пухлини.

Захворювання, що підлягає лікуванню, переважно, вибране з групи, що включає рак, клітинно-проліферативні розлади, вірусні інфекції, ретинопатії, включаючи діабетичну і неонатальну ретинопатії і вікову дегенерацію жовтої плями, атеросклероз і стани, що включають проліферацію клітин гладких м'язів судин або утворення неоінтими, такі як рестеноз після ангиопластики або хірургічної операції, захворювання судин трансплантата, такі, які виникають після трансплантації судин або органу, акромегалію і вторинні розлади, пов'язані з акромегалією, а також інші гіпертрофічні стани, в які залучена передача сигналу IGF/IGF-1R, такі як доброякісна гіперплазія простати, псоріаз, фіброзні захворювання легень, фіброз легень, патології, пов'язані з хронічним або гострим окислювальним стресом або викликаним гіпероксією ураженням тканини, і метаболічні розлади з підвищеним рівнем IGF або підвищеною активністю IGF-1R, такі як ожиріння.

Ще одним об'єктом даного винаходу є застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, визначеної вище, для одержання лікарського засобу з протипухлинною активністю.

Відповідно до даного винаходу, підлягаючий лікуванню рак вибраний з групи, що включає карциному, сквамозно-клітинну карциному, гематопоетичні пухлини мієлоїдного або лімфоїдного походження, пухлини мезенхімального походження, пухлини центральної і периферичної нервової системи, меланому, семіному, тератоканциному, остеосаркому, пігментну ксеродерму, кератоксантоми, тиреоїдний фолікулярний рак і саркому Капоші.

Крім того, підлягаючий лікуванню рак вибраний з групи, що включає рак молочної залози, рак легень, колоректальний рак, рак передстатевої залози, рак яєчників, ендометріальний рак, рак шлунку, світлоклітинну нироклітинну карциному, увеальну меланому, множинну мієлому, рабдоміосаркому, саркому Евінга, саркому Капоші і медуллобластому.

Підлягаючий лікуванню клітинно-проліферативний розлад вибраний з групи, що включає доброякісну гіперплазію простати, сімейний аденоматоз, поліпоз, нейро-фіброматоз, псоріаз, проліферацію клітин гладких м'язів судин, пов'язану з атеросклерозом, фіброз легень, артрит, гломерулонефрит і післяопераційний стеноз і рестеноз.

Фармацевтичні композиції, що містять сполуки за даним винаходом, зазвичай одержують традиційними способами і вводять у відповідній фармацевтичній формі.

Наприклад, тверді пероральні форми можуть містити, разом з активним сполуками, розріджувачі, наприклад, лактозу, декстрозу, сахарозу, целюлозу, кукурудзяний крохмаль або картопляний крохмаль; мастильні речовини, наприклад, діоксид кремнію, тальк, стеаринову кислоту, стеарат магнію або кальцію і/або поліетиленгліколі; зв'язувальні, наприклад, крохмаль, аравійську камедь, желатин, метилцелюлозу, карбоксиметилцелюлозу або полівінілпіролідон; розпушувачі, наприклад, крохмаль, альгінову кислоту, альгірати або натрій крохмаль гліколят; суміші шипучих речовин; барвники; підсолоджувачі; змочувальні речовини, такі як лецитин, полісорбати, лаурилсульфати; і, як правило, нетоксичні і фармакологічно неактивні речовини, що використовуються для формулювання фармацевтичних композицій. Ці фармацевтичні препарати можна одержувати відомими способами, наприклад, шляхом змішування, гранулювання, таблетування, нанесення цукрового покриття або плівкового покриття.

Рідкі дисперсії для перорального введення можуть являти собою, наприклад, сиропи, емульсії і суспензії.

Як приклад, сиропи можуть містити як носій, сахарозу або сахарозу з гліцерином і/або манітом і сорбіт.

Суспензії і емульсії можуть містити, як приклади носіїв, природну камедь, агар, альгінат натрію, пектин, метилцелюлозу, карбоксиметилцелюлозу або полівініл спирт.

Суспензії або розчини для внутрішньом'язових ін'єкцій можуть містити, разом з активним сполуками, фармацевтично прийнятний носій, наприклад, стерильну воду, оливкову олію, етилолеат, гліколі, наприклад, пропіленгліколь, і, якщо це бажано, відповідну кількість лідокаїнгідрохлориду.

Розчини для внутрішньовенних ін'єкцій або інфузій можуть містити як носій стерильну воду, або, переважно, вони можуть бути в формі стерильних водних ізотонічних сольових розчинів, або вони можуть містити пропіленгліколь як носій.

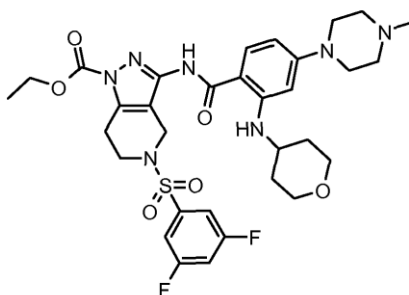
Супозиторії можуть містити, разом з активною сполукою, фармацевтично прийнятний носій, наприклад, олію какао, поліетиленгліколь, поверхнево-активну речовину на основі складного ефіру жирної кислоти поліоксіетиленсорбітану або лецитину.

Приклади

Приклади, що ідуть далі, призначені для ілюстрації, а не для будь-якого обмеження винаходу. Хоча винахід описаний з посиланням на конкретні способи і варіанти втілення, повинно бути зрозуміло, що можливі різні модифікації без відступу від даного винаходу.

Приклад 1

Етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-2-(тетрагідропіран-4-іламіно)-бензоїламіно]-4,5,6,7-тетрагідро-піразоло[4,3-с]піридин-1-карбонової кислоти (D02)

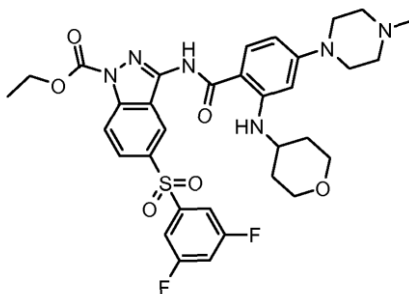


До розчину N-[5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-4,5,6,7-тетрагідро-1H-піразоло[4,3-с]піридин-3-іл]-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-2-(тетрагідропіран-4-іламіно)-бензаміду (1,38 г, 2,24 ммоль) в безводному ТГФ (150 мл), охолодженого до -40°C , в атмосфері аргону, додавали біс(триметилсиліл)амід літію 1,0 М в ТГФ (2,35 мл, 2,35 ммоль). Суміш перемішували протягом 5 хвилин. Потім додавали етилхлорформіат (0,225 мл, 2,35 ммоль). Реакційну суміш перемішували при -40°C протягом 1 години, потім виливали у воду і екстрагували етилацетатом. Органічну фазу промивали водою, насиченим сольовим розчином і сушили за допомогою сульфату натрію. Після фільтрування і упарювання неочищену речовину розтирали в порошок з простим ефіром з одержанням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини (1,32 г, 86 %).

^1H -ЯМР (400 МГц), δ (м.ч., $\text{DMSO}-d_6$): 10,49 (ушир.с, 1H), 8,27 (д, $J=7,56$ Гц, 1H), 7,75 (д, $J=9,15$ Гц, 1H), 7,70 (м, 1H), 7,57 (м, 2H), 6,22 (дд, $J_1=2,07$ Гц, $J_2=9,15$ Гц, 1H), 6,12 (д, $J=2,07$ Гц, 1H), 4,39 (кв., $J=7,07$ Гц, 2H), 4,08 (ушир.с, 2H), 3,82 (м, 2H), 3,73 (м, 1H), 3,55-3,49 (м, 4H), 3,28 (т, $J=5,12$ Гц, 4H), 3,02 (т, $J=5,61$ Гц, 2H), 2,43 (т, $J=5,12$ Гц, 4H), 2,23 (с, 3H), 1,96 (м, 2H), 1,38 (м, 2H), 1,32 (т, $J=7,07$ Гц, 3H).

Приклад 2

Етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-2-(тетрагідропіран-4-іламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти (E01)



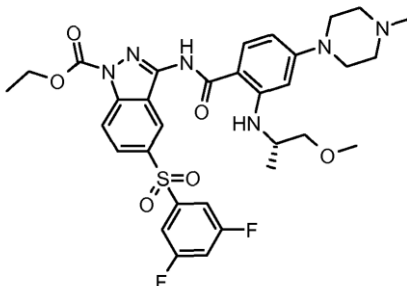
Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 1, одержували вказану в заголовку сполуку.

^1H -ЯМР (400 МГц), δ (м.ч., $\text{DMSO}-d_6$): 10,99 (ушир.с, 1H), 8,59 (д, $J=1,71$ Гц, 1H), 8,35 (д, $J=9,02$ Гц, 1H), 8,28 (д, $J=7,68$ Гц, 1H), 8,25 (дд, $J_1=1,71$ Гц, $J_2=9,02$ Гц, 1H), 7,88 (д, $J=9,15$ Гц,

1H), 7,77 (м, 2H), 7,68 (м, 1H), 6,32 (дд, J1=2,07 Гц, J2=9,15 Гц, 1H), 6,19 (д, J=2,07 Гц, 1H), 4,53 (кв., J=7,07 Гц, 2H), 3,85 (м, 2H), 3,77 (м, 1H), 3,53 (м, 2H), 3,40 (м, 4H), 2,76 (м, 4H), 2,47 (с, 3H), 2,00 (м, 2H), 1,45-1,36 (м, 5H).

Приклад 3

- 5 Етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-((S)-2-метокси-1-метил-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти (E040)



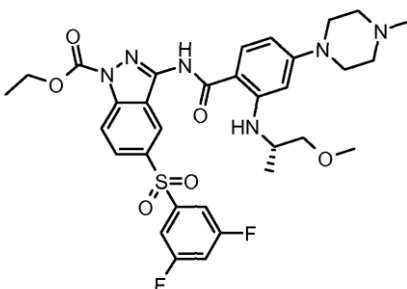
- 10 Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 1, одержували вказану в заголовку сполуку.

- ¹H-ЯМР (400 МГц), δ (м.ч., DMSO-d₆): 10,93 (ушир.с, 1H), 8,60 (д, J=1,83 Гц, 1H), 8,35 (д, J=9,02 Гц, 1H), 8,24 (дд, J1=1,83 Гц, J2=9,02 Гц, 1H), 8,20 (д, J=7,80 Гц, 1H), 7,83 (д, J=9,02 Гц, 1H), 7,78 (м, 2H), 7,67 (м, 1H), 6,30 (дд, J1=2,32 Гц, J2=9,02 Гц, 1H), 6,15 (д, J=2,32 Гц, 1H), 4,53 (кв., J=7,07 Гц, 2H), 3,86 (м, 1H), 3,39 (м, 2H), 3,31-3,30 (м, 5H), 2,44 (м, 4H), 2,24 (с, 3H), 1,41 (т, J=7,07 Гц, 3H), 1,19 (д, J=6,46 Гц, 3H).

Приклад 4

- Етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-((R)-2-метокси-1-метил-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти (E060)

20

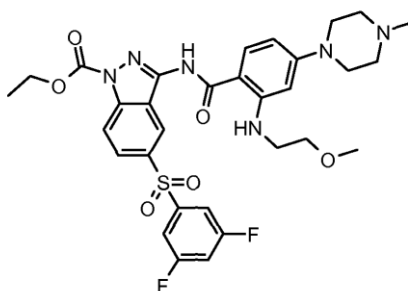


- Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 1, одержували вказану в заголовку сполуку.

- 25 ¹H-ЯМР (400 МГц), δ (м.ч., DMSO-d₆): 10,93 (ушир.с, 1H), 8,60 (д, J=1,83 Гц, 1H), 8,35 (д, J=9,02 Гц, 1H), 8,24 (дд, J1=1,83 Гц, J2=9,02 Гц, 1H), 8,20 (д, J=7,80 Гц, 1H), 7,83 (д, J=9,02 Гц, 1H), 7,78 (м, 2H), 7,67 (м, 1H), 6,30 (дд, J1=2,32 Гц, J2=9,02 Гц, 1H), 6,15 (д, J=2,32 Гц, 1H), 4,53 (кв., J=7,07 Гц, 2H), 3,86 (м, 1H), 3,39 (м, 2H), 3,31-3,30 (м, 5H), 2,44 (м, 4H), 2,24 (с, 3H), 1,41 (т, J=7,07 Гц, 3H), 1,19 (д, J=6,46 Гц, 3H).

- 30 Приклад 5

- Етиловий ефір 5-(3,5-дифтор-бензолсульфоніл)-3-[2-(2-метоксі-етиламіно)-4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти (E080)

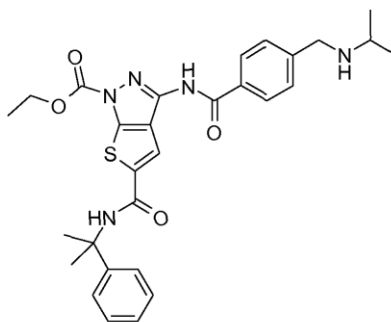


Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 1, одержували вказану в заголовку сполуку.

- 5 ^1H -ЯМР (400 МГц), δ (м.ч., DMSO-d_6): 10,94 (ушир.с, 1H), 8,62 (д, $J=1,83$ Гц, 1H), 8,35 (д, $J=9,02$ Гц, 1H), 8,24-8,20 (м, 2H), 7,85 (д, $J=9,15$ Гц, 1H), 7,78 (м, 2H), 7,68 (м, 1H), 6,30 (дд, $J_1=2,19$ Гц, $J_2=9,15$ Гц, 1H), 6,10 (д, $J=2,20$ Гц, 1H), 4,52 (кв., $J=7,07$ Гц, 2H), 3,58 (т, $J=5,37$ Гц, 2H), 3,37-3,30 (м, 9H), 2,44 (т, $J=5,0$ Гц, 4H), 2,24 (с, 3H), 1,41 (т, $J=7,07$ Гц, 3H).

Приклад 6

- 10 етиловий ефір 3-[4-(ізопропіламіно-метил)-бензоїламіно]-5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-тієно[2,3-с]піразол-1-карбонової кислоти (C068)



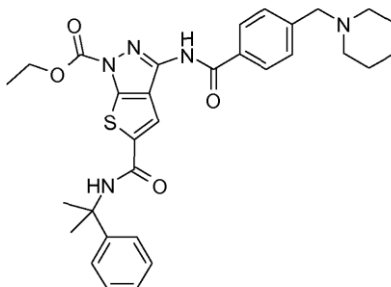
- 15 Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 1, одержували вказану в заголовку сполуку.

^1H -ЯМР (400 МГц), δ (м.ч., DMSO-d_6): 1,02 (д, 6H), 1,38 (т, 3H), 1,68 (с, 6H), 2,72 (м, 1H), 3,78 (ушир.с, 2H), 4,48 (кв., 2H), 7,18 (м, 1H), 7,29 (м, 2H), 7,38 (м, 2H), 7,51 (м, 2H), 8,08 (м, 2H), 8,36 (с, 1H), 8,87 (ушир.с, 1H), 11,66 (ушир.с, 1H).

- 20 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 548; HRMS (ES^+) розраховано 548,2326, знайдено 548,2310.

Приклад 7

Етиловий ефір 5-(1-метил-1-феніл-етилкарбамоїл)-3-(4-піперидин-1-ілметил-бензоїламіно)-тієно[2,3-с]піразол-1-карбонової кислоти (C02)



25

- До розчину (1-метил-1-феніл-етил)-аміду 3-(4-піперидин-1-ілметил-бензоїламіно)-1H-тієно[2,3-с]піразол-5-карбонової кислоти (500 мг, 1 ммоль) в безводному ТГФ (20 мл) додавали діізопропілетиламін (1,027 мл, 6 ммоль) по краплях при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували протягом 5 хвилин і потім також по краплях додавали етилхлорформіат (130 мг, 0,115 мл, 1,2 ммоль). Після перемішування протягом 1 години розчинник випарювали, неочищену речовину, поглинену в дихлорметан, ретельно промивали водою, насиченим
- 30

сольовим розчином і сушили за допомогою сульфату натрію. Після фільтрування і упарювання неочищену речовину розтирали в порошок з простим етиловим ефіром з одержанням вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

¹H-ЯМР (400 МГц), δ (м.ч., DMSO-d₆): 1,39 (т, 3H), 1,47-1,91 (м, 12H), 2,27-2,99 (м, 4H), 3,53 (м, 1H), 4,38 (м, 1H), 4,52 (кв., 2H), 7,19 (м, 1H), 7,31 (м, 2H), 7,39 (м, 2H), 7,73 (м, 2H), 8,20 (м, 2H), 8,37 (с, 1H), 8,88 (ушир.с, 1H), 11,80 (ушир.с, 1H).

[M+H]⁺ 574; HRMS (ES⁺) розраховано 574,2483, знайдено 574,2463.

Приклад 8

Метилловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A023)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 2,22 (с, 3H), 2,43 (м, 4H), 3,31 (м, 4H), 3,34 (дс, 3H), 3,94 (дс, 3H), 4,36-4,99 (м, 4H), 5,12 (дс, 1H), 6,96 (д, 2H), 7,32-7,45 (м, 5H), 7,93 (дд, 2H), 11,11 (ушир.с, 1H).

[M+H]⁺ 533; HRMS (ES⁺) розраховано 533,2507, знайдено 533,2515

Приклад 9

Вініловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A025)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 2,23 (с, 3H), 2,45 (м, 4H), 3,34 (м, 4H), 3,35 (дс, 3H), 4,54-4,99 (м, 4H), 5,14 (м, 3H), 6,97 (д, 2H), 7,27 (дд, 1H), 7,33-7,45 (м, 5H), 7,95 (дд, 2H), 11,20 (д, 1H).

[M+H]⁺ 545; HRMS (ES⁺) розраховано 545,2507, знайдено 545,2508

Приклад 10

н-Пропіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A026)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 0,97 (т, 3H), 1,88 (м, 2H), 2,22 (с, 3H), 2,43 (м, 4H), 3,30 (м, 4H), 3,35 (дс, 3H), 4,30 (кв., 2H), 4,53-4,95 (м, 4H), 5,00, 5,13 (с, 13H), 6,96 (д, 2H), 7,33-7,45 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,13 (д, 1H).

[M+H]⁺ 561; HRMS (ES⁺) розраховано 561,2820, знайдено 561,2816

Приклад 11

Аліловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A028)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 2,22 (с, 3H), 2,43 (м, 4H), 3,31 (м, 4H), 3,35 (дс, 3H), 4,54-4,96 (м, 6H), 5,09, 5,1 (с, 13H), 5,35 (дд, 1H), 5,45 (дд, 1H), 6,02 (м, 1H), 6,95 (д, 2H), 7,34-7,45 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,14 (д, 1H).

[M+H]⁺ 559; HRMS (ES⁺) розраховано 559,2664, знайдено 559,2651

Приклад 12

Пропаргіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A029)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 2,22 (с, 3H), 2,44 (м, 4H), 3,31 (м, 4H), 3,35 (дс, 3H), 3,76 (с, 2H), 4,45-5,14 (м, 6H), 6,98 (д, 2H), 7,34-7,47 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,17 (д, 1H).

[M+H]⁺ 557; HRMS (ES⁺) розраховано 557,2507, знайдено 557,2504

Приклад 13

Ізопропіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A027)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 1,35 (д, 6H), 2,22 (с, 3H), 2,43 (м, 4H), 3,31 (м, 4H), 3,35 (дс, 3H), 4,53-4,96 (м, 4H), 5,06-5,15 (м, 2H), 6,97 (д, 2H), 7,32-7,45 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,13 (д, 1H).

[M+H]⁺ 561; HRMS (ES⁺) розраховано 561,2820, знайдено 561,2823

Приклад 14

н-Бутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A030)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 0,94 (м, 3H), 1,41 (м, 2H), 1,69 (м, 2H), 2,22 (с, 3H), 2,43 (м, 4H), 3,30 (м, 4H), 3,35 (дс, 3H), 4,34 (м, 2H), 4,53-4,94 (м, 4H), 5,09 5,13 (дс, 1H), 6,97 (д, 2H), 7,32-7,44 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,13 (д, 1H).

[M+H]⁺ 575; HRMS (ES⁺) розраховано 575,2977, знайдено 575,2953

Приклад 15

Ізобутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A032)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 0,97 (д, 6H), 2,03 (м, 1H), 2,22 (с, 3H), 2,42 (м, 4H), 3,29 (м, 4H), 3,35 (дс, 3H), 4,13 (м, 2H), 4,54-4,95 (м, 4H), 5,09 5,13 (дс, 1H), 6,98 (д, 2H), 7,32-7,45 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,13 (д, 1H).

[M+H]⁺ 575; HRMS (ES⁺) розраховано 575,2977, знайдено 575,2967

Приклад 16

трет-Бутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A033)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 1,56 (с, 9H), 2,22 (с, 3H), 2,42 (м, 4H), 3,31 (м, 4H), 3,34 (с, 3H), 4,13 (м, 2H), 4,56-4,95 (м, 4H), 5,10 5,12 (дс, 1H), 6,96 (д, 2H), 7,32-7,45 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,11 (д, 1H).

[M+H]⁺ 575; HRMS (ES⁺) розраховано 575,2977, знайдено 575,2972

Приклад 17

2-метоксietiловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A041)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 2,22 (с, 3H), 2,42 (м, 4H), 3,29-3,35 (м, 10H), 3,64 (м, 2H), 4,45-4,97 (м, 6H), 5,08 5,13 (дс, 1H), 6,96 (д, 2H), 7,34-7,44 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,11 (д, 1H).

[M+H]⁺ 577; HRMS (ES⁺) розраховано 577,2769, знайдено 577,2766

Приклад 18

Неопентильовий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A035)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 1,00 (с, 9H), 2,22 (с, 3H), 2,44 (м, 4H), 3,29-3,33 (м, 4H), 3,35, 3,36 (дс, 3H), 4,09 (с, 2H), 4,56-4,96 (м, 4H), 5,07, 5,14 (дс, 1H), 6,98 (д, 2H), 7,34-7,46 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,13 (д, 1H).

[M+H]⁺ 589; HRMS (ES⁺) розраховано 589,3133, знайдено 589,3135

Приклад 19

н-Гексиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A036)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.ч. 0,88 (м, 3H), 1,29-1,41 (м, 6H), 1,90 (м, 2H), 2,22 (с, 3H), 2,42 (м, 4H), 3,27-3,32 (м, 4H), 3,33, 3,34 (дс, 3H), 4,34 (м, 2H), 4,54-4,95 (м, 4H), 5,09 5,13 (дс, 1H), 6,96 (д, 2H), 7,32-7,44 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,13 (д, 1H).

[M+H]⁺ 603; HRMS (ES⁺) розраховано 603,3290, знайдено 603,3289

Приклад 20

(1R, 2S, 5R)-2-ізопропіл-5-метил-циклогексиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A042)

Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ м.ч. 0,76 (м, 3H), 0,92, (м, 6H), 1,46-1,96 (м, 7H), 2,06 (м, 2H), 2,23 (с, 3H), 2,44 (м, 4H), 3,29-3,33 (м, 4H), 3,35, 3,37 (дс, 3H), 4,53-4,98 (м, 5H), 5,13 (с, 1H), 6,97 (д, 2H), 7,33-7,45 (м, 5H), 7,94 (м, 2H), 11,15 (д, 1H).

$[M+H]^+$ 657; HRMS (ES^+) розраховано 657,3759, знайдено 657,3781

5 Приклад 21

Бензиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-феніл-ацетил)-3-[4-(4-метил-піперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4H-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти (A038)

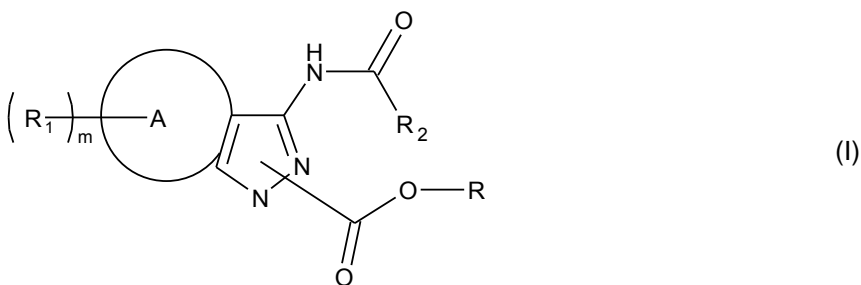
Дотримуючись процедури, аналогічної описаній в Прикладі 7, одержували вказану в заголовку сполуку.

10 ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ м.ч. 2,24 (с, 3H), 2,46 (м, 4H), 3,30 (м, 4H), 3,34 (с, 3H), 4,49-4,94 (м, 4H), 5,01, 5,13 (дс, 1H), 5,42 (с, 2H), 6,97 (д, 2H), 7,31-7,55 (м, 10H), 7,94 (м, 2H), 11,13 (д, 1H)

$[M+H]^+$ 608; HRMS (ES^+) розраховано 609,2820, знайдено 609,2823.

15 ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

1. Застосування сполуки формули (I):



20 де R являє собою лінійну або розгалужену C₁-C₁₂алкільну групу, R₁ являє собою атом водню або замісник, приєднаний до будь-якого доступного атома кільця A і являє собою групу, вибрану з: галогену, нітро, оксогрупи (=O), карбокси, ціано, алкілу, поліфторованого алкілу, алкенілу, алкінілу, циклоалкілу, циклоалкенілу; арилу, гетероциклілу, алкілгетероциклілу, гетероциклілалкілу, аміногруп та їх похідних, таких як, наприклад, алкіламіно, діалкіламіно, ариламіно, діариламіно, уреїдо, алкілуреїдо або арилуреїдо; карбоніламіногруп та їх похідних, таких як, наприклад, форміламіно, алкілкарбоніламіно, алкенілкарбоніламіно, арилкарбоніламіно, алкоксикарбоніламіно; гідроксигруп та їх похідних, таких як, наприклад, алкокси, поліфторований алкокси, арилокси, гетероциклілокси, алкілкарбонілокси, арилкарбонілокси, циклоалкенілокси або алкіліденамінокси; карбонільних груп та їх похідних, таких як, наприклад, алкілкарбоніл, арилкарбоніл, алкоксикарбоніл, арилоксикарбоніл, циклоалкілоксикарбоніл, амінокарбоніл, алкіламінокарбоніл, діалкіламінокарбоніл; сульфурованих похідних, таких як, наприклад, алкілтіо, арилтіо, алкілсульфоніл, арилсульфоніл, алкілсульфініл, арилсульфініл, арилсульфонілокси, аміносульфоніл, алкіламіносульфоніл або діалкіламіносульфоніл, і де кожен з вищевказаних замісників може бути додатково заміщений однією або більше групами з вищевказаних;

30 R₂ являє собою необов'язково заміщений арил або арилC₁-C₆алкіл, де замісники R₂ визначені вище як замісники R₁, кільце A являє собою феніл або 5-членний насичений або ароматичний гетероцикл, що містить один гетероатом, вибраний з кисню, сірки, азоту, або 6-членний насичений гетероцикл, який

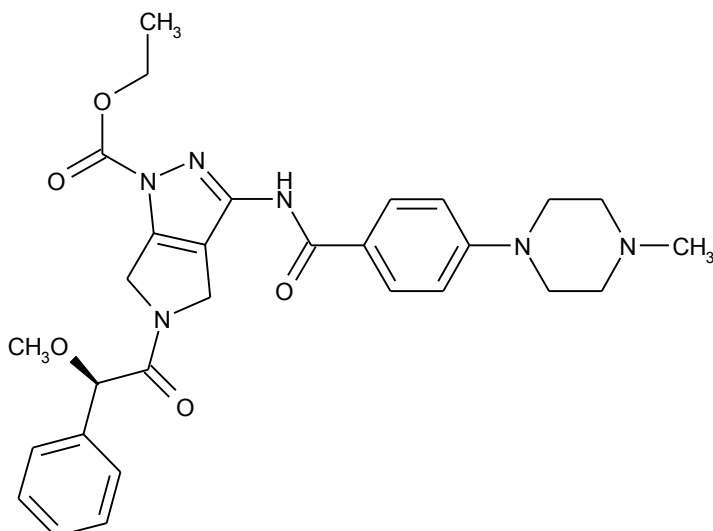
40 містить атом азоту; і m має значення від 1 до 6, або її фармацевтично прийнятної солі як проліків.

2. Застосування за п. 1, яке **відрізняється** тим, що проліки призначені для лікування клітинно-проліферативних розладів, викликаних і/або пов'язаних зі зміною активності протеїнкінази.

45 3. Застосування за п. 2, яке **відрізняється** тим, що проліки призначені для лікування раку.

4. Фармацевтична композиція, призначена для застосування як проліків, що містить сполуку формули (I) за п. 1 або її фармацевтично прийнятну сіль в асоціації з фармацевтично прийнятним ексципієнтом.

5. Застосування сполуки формули A024



або її фармацевтично прийнятної солі для застосування як лікарського засобу.

6. Застосування за п. 5 для застосування як проліків.

7. Застосування за п. 6, де проліки призначені для лікування клітинно-проліферативних розладів, викликаних і/або пов'язаних зі зміною активності протеїнкінази.

8. Застосування за п. 7, де проліки призначені для лікування раку.

9. Застосування сполуки, що вибрана з групи, яка включає:

- A01 метиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- 10 A04 пропіловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A05 ізопропіловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A08 бутиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- 15 A09 ізобутиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A010 втор-бутиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- 20 A011 трет-бутиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A012 пентиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A013 неопентиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- 25 A014 гексиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A015 гептиловий ефір 5-(2,6-діетилфенілкарбамоїл)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- 30 A023 метиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-фенілацетил)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A026 пропіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-фенілацетил)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A027 ізопропіловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-фенілацетил)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- 35 A030 бутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-фенілацетил)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A031 втор-бутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-фенілацетил)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- 40 A032 ізобутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-фенілацетил)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;
- A033 трет-бутиловий ефір 5-((R)-2-метокси-2-фенілацетил)-3-[4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-5,6-дигідро-4Н-піроло[3,4-с]піразол-1-карбонової кислоти;

- [illegible]

- [illegible]

[illegible]

[illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- E048 метиловий ефір S-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламінопропіл)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E049 етиловий ефір S-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламінопропіл)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- 5 E052 метиловий ефір S-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламіноетокси)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E053 етиловий ефір S-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламіноетокси)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- 10 E056 метиловий ефір S-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(піролідін-1-ілметил)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E057 етиловий ефір S-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(піролідін-1-ілметил)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E060 етиловий ефір 5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[2-((R)-2-метокси-1-метилетиламіно)-4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- 15 E064 метиловий ефір R-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламіноетил)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E065 етиловий ефір R-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламіноетил)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E068 метиловий ефір R-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламінопропіл)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- 20 E069 етиловий ефір R-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламінопропіл)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E072 метиловий ефір R-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламіноетокси)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- 25 E073 етиловий ефір R-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(2-диметиламіноетокси)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E076 метиловий ефір R-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(піролідін-1-ілметил)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- E077 етиловий ефір R-5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[4-(піролідін-1-ілметил)-2-(2-метокси-1-метилетиламіно)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти;
- 30 E080 етиловий ефір 5-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-3-[2-(2-метоксietiламіно)-4-(4-метилпіперазин-1-іл)-бензоїламіно]-індазол-1-карбонової кислоти,
як лікарського засобу.

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

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

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