



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **119314** (13) **C2**  
(51) МПК  
**C07D 217/22** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

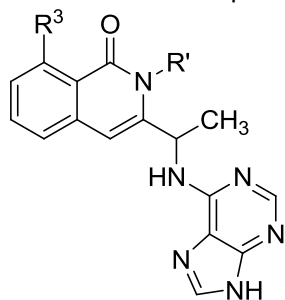
(21) Номер заявки: **а 2014 13020**  
(22) Дата подання заявки: **05.01.2009**  
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **10.06.2019**  
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **61/009,971, 61/194,294, 61/201,146**  
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **04.01.2008, 26.09.2008, 05.12.2008**  
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US, US, US**  
(41) Публікація відомостей про заявку: **10.03.2015, Бюл.№ 5**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.06.2019, Бюл.№ 11**  
(62) Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заявку, позначену кодом (21): **а201009588, 05.01.2009**  
(72) Винахідник(и):  
**Рен Пінгда (US),**  
**Лю І (US),**  
**Вілсон Трой Едвард (US),**  
**Чен Катріна (US),**  
**Роммель Крістіан (US),**  
**Лі Ляншен (US)**  
(73) Власник(и):  
**ІНТЕЛЛІКІНЕ ЛЛК,**  
10931 North Torrey Pines Road, Suite 103,  
92037 La Jolla, USA (US)  
(74) Представник:  
**Кукшина Тетяна Архипівна, реєстр. №88**  
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:  
AMES, DONALD E.; RIBEIRO, ODARTEY,  
"Heterocyclic syntheses from o-haloacids. II.  
Thienopyridinones and thienopyranones from 3-bromothiophene-2- and 4-bromothiophene-3-carboxylic acids", JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1., (19750101), vol. 14, pages 1390 - 139

(56) WO 2005/0113556 A1, 01.12.2005  
US 2006/0019988 A1, 26.01.2006  
WO 2005/0105760 A1, 10.11.2005  
US 2005/0197340 A1, 08.09.2005  
A N Kost ET AL, "RECYCLIZATION OF 3-ALKYL- AND 1,3-DIALKYLISOQUINOLINIUM SALTS TO NAPHTHYLAMINES", Chemistry of Heterocyclic Compounds, doi:10.1007/BF00742847, (19800101), pages 965 - 970  
VASILEVSKY S F ET AL, "Unexpected results in the heterocyclization of 5-acetylenylpyrazole-4-carboxylic acid hydrazides under the influence of CuCl: formation of a diazepinone and dehydrodimerization into the corresponding bis(pyrazolo[4,3-d][1,2]diazepinone)", TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 46, no. 26, (20050627), pages 4457 - 4459  
VASILEVSKY S F ET AL, "Study of the Heterocyclization of vic-Substituted Hydrazides of Acetylenylpyrazolecarboxylic Acids into N-Amino Pyrazolopyridinones", JOURNAL OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING, INC, US, (20021101), vol. 39, pages 1229 - 1233  
KUMAR A ET AL, "KETEN DITHIOACETALS. PART 11. REACTION OF 3-CYANO-4-METHYLTHIO-2(1H)-PYRIDONES WITH HYDRAZINE AND GUANIDINE: SYNTHESIS OF NOVEL SUBSTITUTED AND FUSED PYRAZOLO[4,3-C]PYRIDONE AND PYRIDO[4,3-D]PYRIMIDINE DERIVATIVES", JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1, CHEMICAL SOCIETY, LETCHWORTH; GB, (19780101), vol. 8, pages 857 - 862

**(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ПОХІДНИХ ІЗОХІНОЛІНОНУ (ВАРІАНТИ)****UA 119314 C2**

**(57)** Реферат:

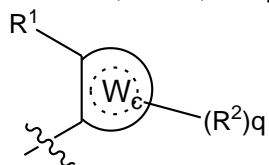
Описано спосіб отримання сполуки Формули **1409**:



**1409**

або її фармацевтично прийнятної солі, в якій

R' - алкіл, аміно, гетероалкіл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або фрагмент Формули II:



, Формула II

де W<sub>c</sub> - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл, або циклоалкіл,

q - це ціле число 0, 1, 2, 3 або 4.

Активність клітин може бути регульована зовнішніми сигналами, які стимулюють або пригнічують внутрішньоклітинну діяльність. Процес, яким стимулюючі або пригнічуючі сигнали передаються у клітину і усередину неї, щоб викликати реакцію, називають трансдукцією сигналу. Протягом останньої декади була досліджена каскадна трансдукція сигналів і була виявлена їх центральна роль у багатьох біологічних реакціях. Було виявлено, що дефекти у різних компонентах шляхів трансдукції сигналу викликають велику кількість хвороб, включаючи численні форми раку, запальних розладів, метаболічних розладів, васкулярних і нервових хвороб (Gaestel et al. *Current Medicinal Chemistry* (2007) 14:2214-2234). Кінази репрезентують клас важливих сигнальних молекул. Кінази можуть бути взагалі класифіковані на протеїнові кінази і ліпідні кінази, і деякі кінази виявляють дуальну специфіку. Протеїнові кінази є ферментами, що фосфорилують інші протеїни і/або самих себе (аутофосфорилування). Протеїнові кінази можуть бути взагалі класифіковані на три головні групи, базуючись на використанні їх субстрату: кінази тирозину, які здебільшого фосфорилують субстрати на тирозинових залишках (наприклад, erb2, рецептор PDGF, рецептор EGF, рецептор VEGF, src, abl), кінази серину/треоніну, які здебільшого фосфорилують субстрати на серинових і/або треонінових залишках (наприклад, mTORC1, mTORC2, ATM, ATR, ДНК-ПК, Akt) і подвійно специфічні кінази, які фосфорилують субстрати на тирозинових, серинових і/або треонінових залишках.

Ліпідні кінази є ферментами, що каталізують фосфорилування ліпідів. Ці ферменти і відповідні фосфорилізовані ліпіди і ліпідні біологічно активні органічні молекули грають роль у багатьох різних фізіологічних процесах, включаючи проліферацію клітин, міграцію, адгезію і диференціацію. Деякі ліпідні кінази пов'язані з мембранами і каталізують фосфорилування ліпідів, що містяться або пов'язані з мембранами клітин. Приклади таких ферментів включають фосфоїнозитидні кінази (наприклад, PI3-кінази, PI4-кінази), діацилгліцерольні кінази і сфінгозинні кінази.

Сигнальний шлях фосфоїнозитидних 3-кіназ (PI3K) є одною з найбільш мутованих систем у раках людини. Сигнальна система PI3K є також ключовим фактором у багатьох інших хворобах людей. Сигнальна система PI3K пов'язана з багатьма хворобливими станами, включаючи алергічний контактний дерматит, ревматоїдний артрит, остеоартрит, запальні кишкові хвороби, хронічний обструктивний пульмонарний розлад, псоріаз, множинний склероз, астму, розлади, пов'язані з діабетичними ускладненнями і запальні ускладнення серцево-судинної системи, наприклад, гострий коронарний синдром. PI3K є членами унікальної родини внутрішньоклітинних ліпідних кіназ, що фосфорилують групу 3'-ОН на фосфатидилінозитолах або фосфоїнозидах. Родина PI3K включає 15 кіназ з різними субстратними специфічностями, типами експресії і способами регуляції (Katso et al., 2001). PI3K класу I (p110 $\alpha$ , p110 $\beta$ , p110 $\delta$  і p110 $\gamma$ ) звичайно активуються кіназами тирозину або приєднаними G-протеїном рецепторами для утворення PIP3, який діє на розташовані нижче на шляху ефектори, наприклад, у шляху Akt/PDK1 mTOR, родину Tec-кіназ і родину Rho-GTPаз. Класи II і III PI3-Ks грають ключову роль у внутрішньоклітинному трафіку через синтез PI(3)P і PI(3,4)P2. PIKK є протеїновими кіназами, які контролюють ріст клітини (mTORC1) або слідкують за цілісністю геному (ATM, ATR, ДНК-ПК і hS).

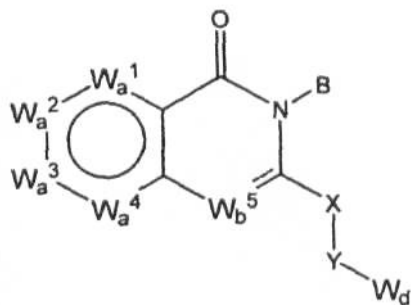
Ізоформа дельта (5) класу I PI3K пов'язана, зокрема, з багатьма хворобами і біологічними процесами. PI3K 8 експресовано, у першу чергу, у гемопоетичних клітинах, включаючи лейкоцити, наприклад Т-клітини, дендритні клітини, нейтрофіли, мастові клітини, В-клітини і макрофаги. PI3K 8 інтегрально пов'язана з функціями імунної системи ссавців, наприклад, функцією Т-клітини, активацією В-клітини, активацією мастової клітини, функцією дендритної клітини і активністю нейтрофілу. Внаслідок цієї ролі в імунній системі PI3K 8 також пов'язана з багатьма хворобами, викликаними небажаною імунною реакцією, наприклад, алергічними реакціями, запальними хворобами, опосередкованими запаленням ангіогенезом, ревматоїдним артритом, аутоіммунними хворобами, наприклад, вовчаком, астмою, емфіземою і іншими респіраторними хворобами. Інший клас IPI3K, пов'язаний з функціями імунної системи, включає PI3K $\gamma$ , яка грає роль у сигналізації лейкоцитів і пов'язана з запаленнями, ревматоїдним артритом і аутоіммунними хворобами, наприклад, вовчаком.

Медіатори трансдукції сигналу PI3K нижче на шляху включають Akt і об'єкт рапаміцину (mTOR) у ссавців. Akt має гомологічний домен пікстрин (PH), який зв'язує PIP3, викликаючи активацію кінази Akt. Akt фосфорилує багато субстратів і є центральним ефектором PI3K для різноманітних клітинних реакцій. Одною важливою функцією Akt є підвищення активності mTOR через фосфорилування TSC2 і інші механізми. mTOR є серин-треоніновою кіназою, пов'язаною з ліпідними кіназами родини PI3K. mTOR бере участь у багатьох біологічних процесах, включаючи ріст клітини, проліферацію клітин, рухомість клітини і її виживання. Дерегуляція

шляху mTOR, згідно з повідомленнями, пов'язана з різними типами раку. mTOR є багатофункціональною кіназою, що комбінує фактор росту і сигнали живлення для регуляції трансляції протеїну, засвоювання живильних речовин, аутофагії і мітохондріальної функції.

Як такі кінази, зокрема PI3K, є головними об'єктами розробників медикаментів. Залишається потреба в інгібіторах PI3K, придатних для медикаментозного використання. Задачею винаходу є задовольнити цю потребу і створити нові класи інгібіторів кінази з більш високими властивостями.

У першому аспекті винахід стосується сполук формули I або їх фармацевтично прийнятних солей:



(I)

де:

$W_{a1}$  -  $CR^3$  або N;

$W_{a2}$  -  $CR^5$  або N;

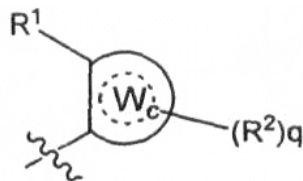
$W_{a3}$  -  $CR^6$  або N;

$W_{a4}$  - N або  $CR^7$ ;  $W_{b5}$  -  $CR^8$ ,  $CHR^8$  або N,

де не більше двох суміжних кільцевих атомів, вибраних з  $W_{a1}$ ,  $W_{a2}$ ,  $W_{a3}$ ,  $W_{a4}$  і  $W_{b5}$ , є гетеро атомами;

$W_d$  - гетероциклоалкіл, арил або гетероарил;

B - алкіл, аміно, гетероалкіл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або компонент формули I:



(II)

де

$W_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл і q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

X відсутня або є  $-(CH(R^9))_z$  і у кожному випадку z незалежно дорівнює 1, 2, 3 або 4;

Y відсутня або є -O-, -S-,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_r$ ,  $-NCR^9$ -,  $-C(=O)-(CHR^9)_r$ ,  $-C(O)-$ ,  $-N(R^9)-C(=O)-$  або  $-N(R^9)-C(=O)NH-$ ,  $-N(R^9)C(R^9)_2-$  або  $-C(=O)-(CHR^9)_z$ , де, коли  $W_{b5}$  - N, не більше ніж одна з X, або Y відсутня;

$R^1$  - гідроген, алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат;

$R^2$  - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат;

$R^3$  - гідроген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси або нітро;

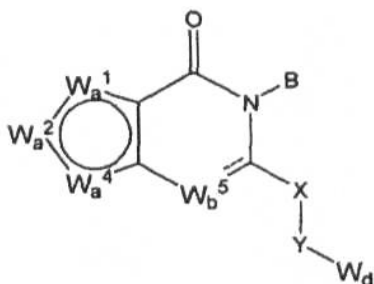
$R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$  і  $R^8$  - незалежно гідроген,  $C_1$ - $C_4$ алкіл,  $C_2$ - $C_6$ алкеніл,  $C_2$ - $C_5$ алкініл,  $C_3$ - $C_5$ циклоалкіл, гетероциклоалкіл,  $C_1$ - $C_4$ гетероалкіл,  $C_1$ - $C_4$ алкокси,  $C_1$ - $C_4$ амід, аміно, ацил,  $C_1$ - $C_4$ ацилокси,  $C_1$ -



$C_4$ сульфонамідо, галоген, ціано, гідрокси або нітро. Кожна  $R^9$  - незалежно гідроген,  $C_1$ - $C_{10}$ алкіл,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкіл або  $C_2$ - $C_{10}$ гетероалкіл.

В іншому аспекті винахід стосується сполук формули IX або їх фармацевтично прийнятних солей:

5



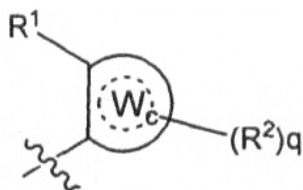
(IX)

де  $W_a^1$  і  $W_a^2$  є незалежно  $CR^5$ , S, N або  $NR^4$  і  $W_a^4$  є незалежно  $CR^7$ , S, N або  $NR^4$ , де не більше ніж два суміжні кільцеві атоми, є нітрогеном або сульфуром, і, коли  $W_a^1$  - S, одна з  $W_a^2$  і  $W_a^4$  є N або  $NR^4$ .

10

$W_b^5$  -  $CR^8$ , N або  $NR^8$ ;

B - алкіл, аміно, гетероалкіл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або компонент формули II:



(II)

15

де:

$W_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл і q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4.

$W_d$  відсутня або є гетероциклоалкільний, арильний або гетероарильний компонент.

20

X - відсутня або є  $-(CHCR^9)_x$  і у кожному випадку z незалежно дорівнює 1, 2, 3 або 4.

Y - відсутня,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-N(R^9)-$ ,  $-C(=O)-(CHR^9)_z-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-N(R^9)-C(=O)-$  або  $-N(R^9)-C(=O)NH-$ ,  $-N(R^9)C(R^9)_2-$  або  $-C(=O)-(CHR^9)_z-$ .

$R^1$  - гідроген, алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамідо, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат.

25

$R^2$  - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамідо, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат.

$R^3$  - гідроген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, сульфонамідо, галоген, ціано, гідрокси або нітро.

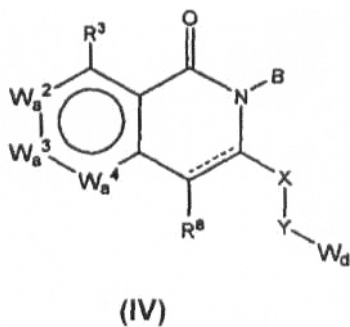
30

$R^4$  - гідроген, ацил,  $C_1$ - $C_4$ алкіл,  $C_2$ - $C_5$ алкеніл,  $C_2$ - $C_5$ алкініл,  $C_3$ - $C_5$ циклоалкіл або  $C_1$ - $C_4$ гетероалкіл;

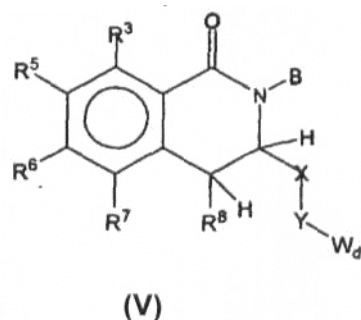
$R^6$ ,  $R^7$  і  $R^8$  є незалежно гідроген,  $C_1$ - $C_4$ алкіл,  $C_2$ - $C_5$ алкеніл,  $C_2$ - $C_5$ алкініл,  $C_3$ - $C_5$ циклоалкіл,  $C_1$ - $C_4$ гетероалкіл, ацил,  $C_1$ - $C_4$ алкокси,  $C_1$ - $C_4$ амід, аміно,  $C_1$ - $C_4$ ацилокси,  $C_1$ - $C_4$ сульфонамідо, галоген, ціано, гідрокси або нітро. У кожному випадку  $R^9$  незалежно є гідроген,  $C_1$ - $C_{10}$ алкіл,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкіл або  $C_2$ - $C_{10}$ гетероалкіл.

35

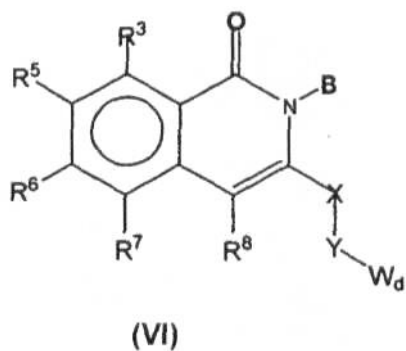
У деяких втіленнях сполука формули I має структуру формули IV:



У деяких втіленнях сполука формули IV має формулу V або VI:

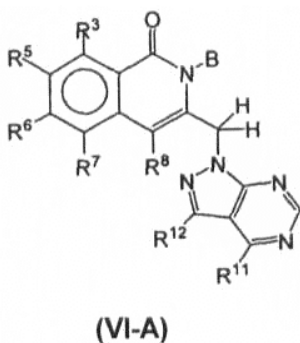


5



У деяких втіленнях сполука формули VI має структуру формули VI-A:

10

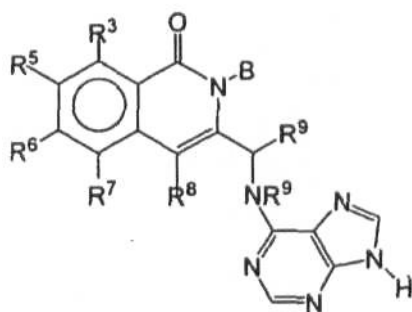


У деяких втіленнях сполуки формули VI-A R¹¹ - аміно.

15 У деяких втіленнях сполуки формули VI-A R¹² - алкіл, алкеніл, алкініл, гетероарил, арил, гетероциклоалкіл, ціано, аміно, карбонова кислота або амід.

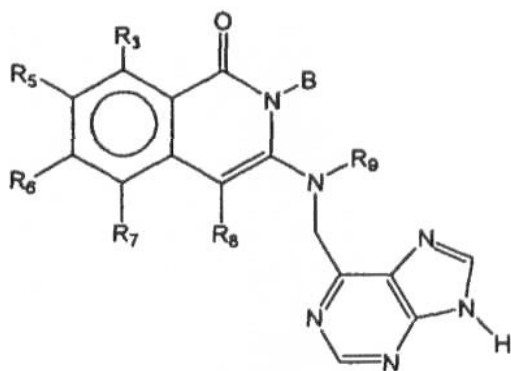
У деяких втіленнях сполуки формули VI-A R¹² - моноциклічний гетероарил або біциклічний гетероарил.

У деяких втіленнях сполука формули VI має структуру формули VI-C:



(VI-C)

У деяких втіленнях формула VI має структуру формули VI-D



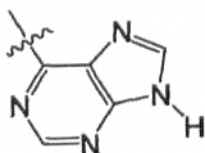
(VI-D)

5

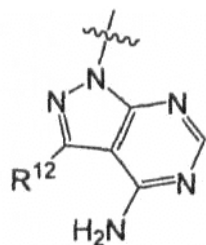
В іншому аспекті винаходу у сполуці або її фармацевтично прийнятній солі формули VI:

B - алкіл, аміно, гетероалкіл або компонент формули II; де W<sub>c</sub> - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл і q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4; X - відсутня або -(CH(R<sup>9</sup>))<sub>z</sub> і z дорівнює 1, 2, 3 або 4; Y - відсутня, -N(R<sup>9</sup>) або -N(R<sup>9</sup>)-CH(R<sup>9</sup>)-;

10

W<sub>d</sub> є

або



15

R<sup>1</sup> - гідроген, алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро або фосфат;

20

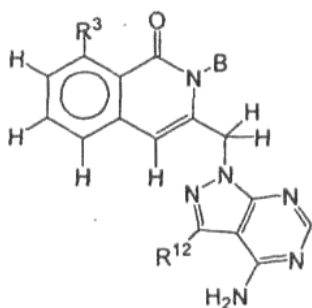
R<sup>2</sup> - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро або фосфат;

$R^3$  - гідроген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, алкокси, амідно, аміно, ацил, ацилокси, сульфонамідно, галоген, ціано, гідрокси, нітро, арил або гетероарил;

Кожна  $R^9$  є незалежно гідроген,  $C_1$ - $C_{10}$ алкіл,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкіл, гетероциклоалкіл або  $C_2$ - $C_{10}$ гетероалкіл; і

5  $R^{12}$  - H, алкіл, алкеніл, алкініл, галоген, гетероарил, арил, гетероциклоалкіл, ціано, аміно, карбонова кислота, алкоксикарбоніл або амідно.

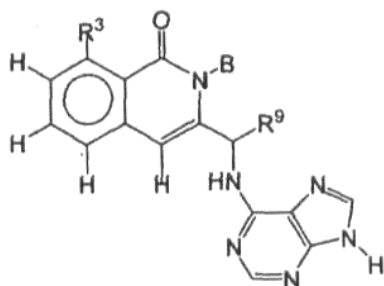
У деяких втіленнях сполука формули VI має структуру формули 6-а:



(6-a)

10

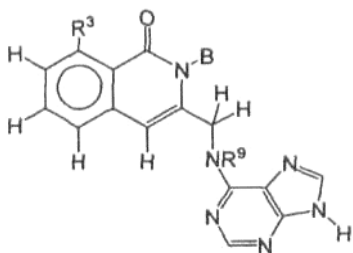
У деяких втіленнях сполука формули VI має структуру формули 6-C1



(6-C1)

15

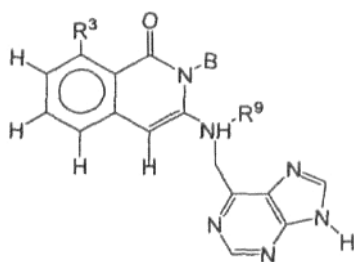
У деяких втіленнях сполука формули VI має структуру формули 6-C2:



(6-C2)

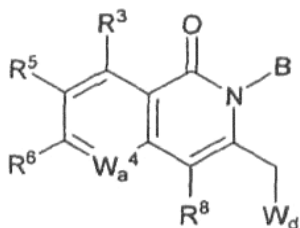
20

У деяких втіленнях сполука формули VI має структуру формули 6-D:



(6-D)

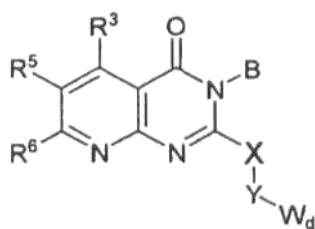
У деяких втіленнях сполука формули I має структуру формули VII:



(VII)

5

У деяких втіленнях сполука формули I має структуру формули VIII:



(VIII)

10

де:

X відсутня і Y - -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -N(R⁹)-, -C(=O)-(CHR⁹)ₓ-, -C(=O)-, -N(R⁹)(C=O)- або -N(R⁹)(C=O)NH-; або

X - -(CHCR⁹)- і Y відсутня; або

15

X - -(CHCR⁹)- і Y - -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NCR⁹-, -C(=O)-(CHR⁹)ₓ-, -C(=O)-, -N(R⁹)-C(=O)- або -N(R⁹)-C(=O)NH-, -N(R⁹)C(R⁹)₂- або -C(=O)-(CHR⁹)ₓ-. У кожному випадку z незалежно дорівнює 1, 2, 3 або 4.

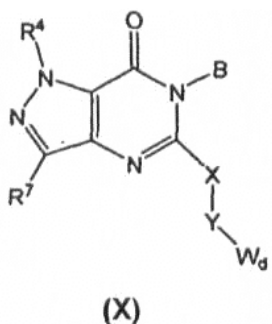
W₄ - біциклічний арил або біциклічний гетероарил.

20

У деяких втіленнях сполуки формули IX ця сполука має структуру, яка є членом групи, яку складають:

(i)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - CR^8$ ; (ii)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (iii)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - N$ ; (iv)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - NR^8$ ; (v)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - CR^8$ ; (vi)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (vii)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - N$ ; (viii)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - NR^8$ ; (ix)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - N$  і  $W_b^5 - CR^8$ ; (x)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - N$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (xi)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - N$  і  $W_b^5 - N$ ; (xii)  $W_a^1 - NR^4$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - N$  і  $W_b^5 - NR^8$ ; (xiii)  $W_a^1 - S$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - N$  і  $W_b^5 - CR^8$ ; (xiv)  $W_a^1 - S$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - N$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (xv)  $W_a^1 - S$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - N$  і  $W_b^5 - N$ ; (xvi)  $W_a^1 - S$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - N$  і  $W_b^5 - NR^8$ ; (xvii)  $W_a^1 - N$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - CR^8$ ; (xviii)  $W_a^1 - N$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (xix)  $W_a^1 - N$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - N$ ; (xx)  $W_a^1 - N$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - NR^8$ ; (xxi)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - CR^8$ ; (xxii)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (xxiii)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - N$ ; (xxiv)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - NR^8$ ; (xxv)  $W_a^1 - S$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (xxvi)  $W_a^1 - S$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - N$ ; (xxvii)  $W_a^1 - S$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - CR^7$  і  $W_b^5 - NR^8$ ; (xxviii)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - NR^4$  і  $W_b^5 - CR^8$ ; (xxix)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - NR^4$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (xxx)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - NR^4$  і  $W_b^5 - N$ ; (xxxi)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - N$ ,  $W_a^4 - NR^4$  і  $W_b^5 - NR^8$ ; (xxxii)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - CHR^8$ ; (xxxiii)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - CR^8$ ; (xxxiv)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - N$ ; і (xxxv)  $W_a^1 - CR^5$ ,  $W_a^2 - CR^5$ ,  $W_a^4 - S$  і  $W_b^5 - NR^8$ .

У деяких втіленнях винаходу сполука формули IX має формулу X:

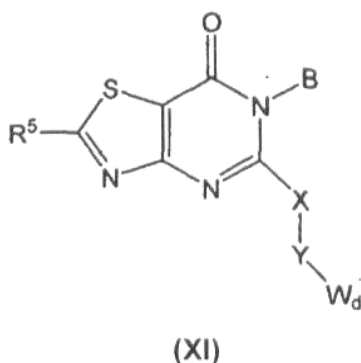


5

У деяких втіленнях винаходу сполука формули IX є сполукою, в якій  $R^4$  -  $C_1$ - $C_4$ алкіл або  $C_3$ - $C_5$ циклоалкіл. У деяких втіленнях винаходу сполука формули IX є сполукою, в якій  $R^4$  - метил або етил.

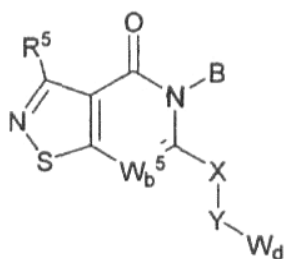
10

У деяких втіленнях винаходу сполука формули IX є сполукою формули XI:



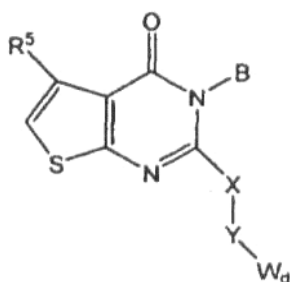
У деяких втіленнях винаходу, сполука формули IX є сполукою формули XII:

15

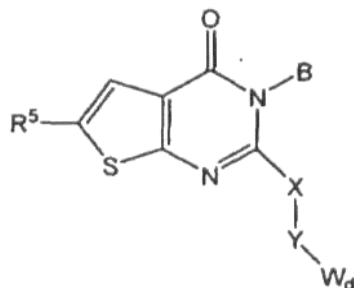


(XII)

У деяких втіленнях винаходу сполука формули VIII є сполукою формули XII або XIII:



(XIII)



(XIV)

5

У деяких втіленнях винаходу сполуки формул I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, 6-A, 6-C1, 6-C2, 6-D, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій В є членом групи, яку складають: компонент формули II, де W<sub>c</sub> - арил, включаючи (не лише) заміщений феніл, гетероарил, включаючи (не лише) моноциклічний гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл, гетероциклоалкіл, алкіл, включаючи (не лише) компонент формули -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NR<sup>a</sup>R<sup>a</sup>, де кожна R<sup>a</sup> - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоциклілалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл, або -NR<sup>a</sup>R<sup>a</sup> разом утворюють циклічний компонент.

10

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, 6-A, 6-C1, 6-C2, 6-D, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій R<sup>1</sup> - год., -F, -Cl, -CN, -CH<sub>3</sub>, ізопропіл, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, нітро або фосфат.

15

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, 6-A, 6-C1, 6-C2, 6-D, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій R<sup>2</sup> - алкіл, галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат і q дорівнює 1 або 2.

20

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, 6-A, 6-C1, 6-C2, 6-D, VII або VIII є сполукою, в якій R<sup>3</sup> - -H, галоген, включаючи (не лише) -Cl або -F, алкіл, включаючи (не лише) -CH<sub>3</sub> або -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, алкокси, циклоалкіл або -CF<sub>3</sub>.

У деяких втіленнях винаходу у сполуках формул IX або X, R<sup>4</sup> вибрано з -H, метилу, етилу, n-пропілу, ізопропілу, циклопропілу, циклобутилу і циклопентилу.

25

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, VII, VIII, IX, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій R<sup>5</sup> - год., -CN, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкокси, -CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> або галоген, включаючи (не лише) -Cl або -F.

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, VII або VIII є сполукою, в якій R<sup>6</sup> - H, -CN, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкокси, -CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub> або галоген.

30

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, VII, VIII, IX або X є сполукою, в якій R<sup>7</sup> - H, -CN, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкокси, -CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> або галоген.

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, VII, IX або XII є сполукою, в якій R<sup>8</sup> - H, -CN, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкокси, -CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> або галоген.

35

У деяких втіленнях сполуки формули I, IV, VI або VII R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> і R<sup>8</sup> є гідроген.

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VI-A, VI-C, VI-D, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій X - -CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)- або -CH(CH<sub>3</sub>)-, включаючи -CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)- і -CH(CH<sub>3</sub>)-, які мають (S) або (R) стереохімічну конфігурацію.

40

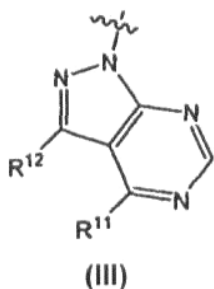
У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій Y відсутня або є -O-, -NH(R<sup>9</sup>)- або -S(=O)<sub>2</sub>-.

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій R<sup>9</sup> - метил або гідроген.

5 У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій X-Y є -CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>), -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -CH(CH<sub>3</sub>)NH-, -CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-NH-, -N(H)CH<sub>2</sub>-, -N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>- або -N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, включаючи (не лише) -CH(CH<sub>3</sub>)NH- або -CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-NH, що мають (S) або (R) стереохімічну конфігурацію.

10 У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій W<sub>d</sub> - піразолопіримідин, включаючи (не лише) 4-аміно-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл або 7-аміно-2-метил-2H-піразоло[4,3-d]піримідин-3-іл, пурин, включаючи (не лише) 6-аміно-9H-пурин-9-іл або 6-метиленіл-9H-пурин-6-іл.

У деяких втіленнях винаходу сполука формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є сполукою, в якій піразолопіримідин має формулу III:



де R<sup>11</sup> - H, алкіл, галоген, аміно, амід, гідрокси або алкокси і R<sup>12</sup> - H, алкіл, алкініл, алкеніл, галоген, арил, гетероарил, включаючи (не лише) моноциклічний або біциклічний гетероарил, гетероциклоалкіл, циклоалкіл, ціано, аміно, карбонову кислоту, алкоксикарбоніл або амід.

20 В іншому аспекті винахід включає спосіб пригнічення кінзи фосфатидилінозиту-3 (кінза PI3), який включає введення кінзи PI3 у контакт з ефективною кількістю одної або більше сполук, описаних тут, наприклад, операція введення у контакт включає використання одної або більше сполук формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII і /або XIV. У деяких втіленнях операція введення у контакт включає контактування клітини, яка містить зазначену кінзу PI3.

25 У деяких втіленнях цього способу, пригнічення відбувається у суб'єкта, що страждає від розладом, пов'язаним з порушенням функціонування одного або більше типів кінзи PI3. Деякі типові хвороби, пов'язані з порушенням функціонування кінзи PI3 належать до групи, яку складають аутоімунні хвороби, ревматоїдний артрит, респіраторна хвороба і різні типи раків. Бажано, щоб сполука, що використовується у цьому способі, мала структуру формули 6-A, де R<sup>11</sup> - аміно і R<sup>12</sup> - заміщений феніл.

У деяких втіленнях цього способу, пригнічення відбувається у суб'єкта, що страждає від ревматоїдного артриту або респіраторної хвороби, причому сполука має структуру формули 6-A, де R<sup>11</sup> - аміно і R<sup>12</sup> - біциклічний гетероарил.

35 У деяких втіленнях цей спосіб включає введення другого терапевтичного агенту суб'єкту.

В іншому аспекті винахід включає спосіб лікування хвороби, що виявляє небажану імунну реакцію, який включає операцію введення суб'єкту, що потребує цього, одної або більше сполук, описаних тут, включаючи сполуку формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII і/або XIV у кількості, яка ефективно послаблює зазначену небажану імунну реакцію. У деяких втіленнях одна або більше сполук пригнічують незалежну від Т-клітин активацію В-клітин, що підтверджується зниженням продукування анти-TNP IgG3 щонайменше у п'ятеро при введенні у кількості менше приблизно 30 мг/кг дози BID у тесті на тваринах.

40 У деяких втіленнях хвороба пов'язана з набряканням або болем суглоба. Цей спосіб може ефективно послаблювати один або більше симптомів ревматоїдного артриту, що підтверджується зменшенням середнього діаметру суглобу на щонайменше приблизно 10 % через 17 днів і/або зменшення діаметру щиколотки на щонайменше 5-10 % або більше через декілька днів або тижнів лікування, включаючи, наприклад, зменшення діаметра щиколотки на щонайменше 5 % після 7 днів лікування. В іншому втіленні, небажана імунна реакція, що виявляє себе збільшеним продукуванням антитіл колагену антитипу II, усувається використанням одної або більше сполук згідно з винаходом, яка знижує рівень колагену антитипу II у сироватці при ID<sub>50</sub> менше приблизно 10 мг/кг.



Іншим аспектом винаходу є композиція, яка містить фармацевтично прийнятний ексципієнт і одну або більше сполук формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII і/або XIV. У деяких втіленнях винаходу композиція є рідкою, твердою, напівтвердою, желеподібною або аерозольною формою.

Усі публікації, патенти і заявки на патент, згадані у цьому документі, включено у цей документ посиланням.

Нові ознаки винаходу визначено у Формулі винаходу. Для кращого розуміння ознак і переваг винаходу далі наведено його детальний опис з посиланнями на креслення, в яких:

фіг. 1 - типовий протокол для вимірювання незалежного від Т-клітин продукування специфічних до TNP антитіл *in vivo*;

фіг. 2 - кратність зниження реакції на антигени специфічного до TNP з IgG3, викликаного сполуками 7 і 53 формули IV у порівняння з контрольним носієм при пероральному введенні;

фіг. 3 - залежна від дози дія сполуки 53 формули IV (введення двічі на день) на зниження збільшення діаметру щиколотки з часом у викликаній колагеном артритній моделі у щурів; показано також результати неартритних контрольних щурів, артритних контрольних щурів, яким був введений негативний контрольний носій, і артритних контрольних щурів, що отримували метотрексат двічі на день;

фіг. 4 - залежна від дози дія сполук 7 і 53 формули IV на поліпшення гістопатології щиколотки у викликаній колагеном артритній моделі у щурів; показано також результати у артритних контрольних щурів, яким вводили негативний контрольний носій або метотрексат;

фіг. 5 - залежна від дози дія сполук 7 і 53 формули IV на поліпшення гістопатології коліна у викликаній колагеном артритній моделі у щурів; показано також результати у артритних контрольних щурів, яким вводили негативний контрольний носій або метотрексат;

фіг. 6 - залежна від дози дія сполук 7 і 53 формули IV на зниження рівня колагенових антитіл антитипу II *in vivo* у викликаній колагеном артритній моделі у щурів; показано також результати у артритних контрольних щурів, яким вводили негативний контрольний носій або метотрексат;

фіг. 7 - залежна від дози дія сполуки 53 формули IV на поліпшення гістопатології щиколотки у викликаній колагеном артритній моделі у щурів; показано також результати у артритних контрольних щурів, яким вводили негативний контрольний носій або метотрексат;

фіг. 8 - залежна від дози дія сполуки 53 формули IV на поліпшення гістопатології щиколотки у викликаній колагеном артритній моделі у щурів; показано також результати у артритних контрольних щурів, що отримували носій і отримували лікування Enbrel;

фіг. 9 - залежна від дози дія сполуки 53 формули IV на поліпшення гістопатології щиколотки у викликаній колагеном сталій артритній моделі у щурів (введення двічі на день); показано також результати у артритних контрольних щурів, що отримували носій і отримували лікування Enbrel;

фіг. 10 - залежна від дози дія сполуки 53 формули IV на збільшення середнього об'єму лапи у викликаній ад'ювантом артритній моделі у щурів;

фіг. 11 - дія сполуки 53 формули IV на середню вагу щурів у викликаній ад'ювантом артритній моделі у щурів.

Описані тут бажані втілення винаходу є лише прикладами. Винахід припускає численні варіації, модифікації і заміни у межах концепцій і об'єму винаходу, визначених Формулою винаходу.

Якщо не зазначено інше, усі технічні і наукові терміни тут мають загальноприйнятні значення і є зрозумілими для фахівця. Усі описані тут патенти і публікації включено у цей опис посиланням.

Тут "агент" або "біологічно активний агент" означає біологічну, фармацевтичну або хімічну сполуку або інший компонент. Необмежуючі приклади включають просту або складну органічну або неорганічну молекулу, пептид, протеїн, олігонуклеотид, антитіло, похідну антитіла, фрагмент антитіла, вітамінну похідну, карбогідрат, токсин або хіміотерапевтичні сполуки. Такі сполуки можуть бути синтезовані, наприклад, невеликі молекули і олігомери (наприклад, олігопептиди і олігонуклеотиди), або можуть бути використані синтетичні органічні сполуки на основі різних серцевинних структур. Різні природні джерела можуть дати сполуки для операцій відбору, наприклад, рослинні або тваринні екстракти тощо. Фахівцю зрозуміла широка різноманітність у структурній природі агентів винаходу.

Термін "агоніст" означає сполуку, здатну ініціювати або поліпшувати біологічну функцію відповідного протеїну, пригнічуючи активність або експресію протеїну. Відповідно, термін "агоніст" визначено у зв'язку з біологічною роллю відповідного поліпептиду. Хоча бажані агоністи тут конкретно взаємодіють (наприклад, приєднуються) з об'єктом, сполуки, що ініціюють або поліпшують біологічну активність відповідного поліпептиду, взаємодіючи з іншими членами того

шляху трансдукції сигналу, членом якого є цей відповідний поліпептид, також включено у це визначення.

Терміни "антагоніст" і "інгібітор" є взаємозамінними і означають сполуку, здатну пригнічувати біологічну функцію відповідного протеїну пригніченням його активності або експресії. Відповідно, ці терміни визначено згідно з біологічною роллю цього протеїну. Хоча бажані антагоністи тут конкретно взаємодіють (наприклад, з'єднуються) з об'єктом, сполуки, що пригнічують біологічну активність відповідного поліпептиду, взаємодіючи з іншими членами того шляху трансдукції сигналу, членом якого є цей відповідний поліпептид, також включено у це визначення. Бажано, щоб біологічна активність, що пригнічується антагоністом, була пов'язана з розвитком, ростом або розповсюдженням пухлини або небажаної імунної реакції, яка виявляє себе в аутоімунній хворобі.

"Антираковий агент", "антипухлинний агент" або "хіміотерапевтичний агент" означають будь-який агент, корисний у лікуванні неопластичного стану. Один з класів антиракових агентів включає хіміотерапевтичні агенти, хіміотерапія означає введення одного або більше хіміотерапевтичних медикаментів і/або інших агентів раковому пацієнту різними способами, включаючи внутрішньовенне, пероральне, внутрішньом'язове, інтраперитонеальне, інтравезикальне, підшкірне, трансдермальне, букальне або інгаляцією, або супозиторієм.

Термін "проліферація клітин" стосується явища, в результаті якого кількість клітин змінюється внаслідок ділення. Цей термін також включає ріст клітин, внаслідок чого морфологія клітини змінюється (наприклад, збільшення у розмірі), що відповідає проліферативному сигналу.

Термін "сумісне введення", "введення у комбінації з" і їх граматичні еквіваленти включає введення двох або більше агентів тварині такти чином, щоб обидва агенти і/або їх метаболіти були присутні у цій тварині одночасно. Сумісне введення включає одночасне введення в окремих композиціях, введення у різні часи в окремих композиціях або введення у композиції, що містить обидва агенти.

Термін "ефективна кількість" або "терапевтично ефективна кількість" означає кількість сполуки, достатня для забезпечення ефективного її застосування, включаючи (не лише) лікування хвороби, як це визначено нижче. Терапевтично ефективна кількість може бути різною залежно від бажаного застосування (in vitro або in vivo) або від суб'єкту і хворобливого стану, що підлягають лікуванню, наприклад, ваги і віку суб'єкту, важкості його стану, способу введення тощо, і може бути визначена фахівцем. Цей термін також стосується дози, яка забезпечує конкретну реакцію у відповідних клітин, наприклад, зменшення адгезії тромбоцитів і/або міграції клітин. Конкретна доза може залежати від конкретної сполуки, режиму дозування, від наявності інших комбінованих сполук, часів введення, тканини, у яку відбувається введення і фізичної системи доставки.

Терміни "лікування" або "послаблення" або "пом'якшення" є взаємозамінними. Ці терміни стосуються дій, спрямованих на отримання сприятливих або бажаних результатів, включаючи (не лише) терапевтичні і/або профілактичні переваги. Терапевтичною перевагою слід вважати усунення або полегшення розладу, що підлягає лікуванню. Крім того, терапевтичну перевагу отримують при усуненні полегшенні одного або більше фізіологічних симптомів, пов'язаних з даним розладом, наприклад, поліпшення. Спостережене у пацієнт, якщо навіть пацієнт ще страждає від цього розладу. Для отримання профілактичних переваг композиції можуть бути введені пацієнту, що ризикує захворіти на конкретну хворобу, або пацієнту, що скаржиться на один або більше фізіологічних симптомів хвороб, навіть за відсутності діагнозу цієї хвороби.

"Терапевтичний ефект" включає терапевтичні і/або профілактичні переваги, як було визначено вище, а також включає затримання або усунення початку хвороб або стану або появи симптомів хвороби або стану, уповільнення, припинення або обернення розвитку хвороби або стану або будь-яку комбінацію цих результатів.

Термін "фармацевтично прийнятна сіль" стосується солей, що походять від різних добре відомих органічних і неорганічних контріонів. Фармацевтично прийнятні кислото-адитивні солі можуть бути отримані з неорганічними і органічними кислотами. Неорганічні кислот, з якими такі солі можуть бути отримані, включають, наприклад, гідрохлорну, гідробромну, сульфурову кислоту, нітрокислоту, фосфорну кислоту тощо. Органічні кислоти, з якими такі солі можуть бути отримані, включають, наприклад, оцтову, пропіонову, гліколеву кислот, піровиноградну, оксалінову, малеїнову, малонову, бурштинову, фумарову, винну, лимонну, бензойну, коричну, манделову, метансульфонову, етансульфонову, р-толуолсульфонову, саліцилову кислоту тощо.

Фармацевтично прийнятні осново-адитивні солі можуть бути утворені з неорганічними і органічними основами. Неорганічні основи з якими такі солі можуть бути отримані, включають,

наприклад, натрій, калій, літій, амоній, кальцій, магній, залізо, цинк, мідь, марганець, алюміній тощо. Органічні основи з якими такі солі можуть бути отримані, включають, наприклад, первинні, вторинні і третинні аміни, заміщені аміни включаючи природні заміщені аміни, циклічні аміни, основні іонообмінні смоли тощо, зокрема, ізопропіламін, триметиламін, діетиламін, триетиламін, трипропіламін і етаноламін. У деяких втіленнях фармацевтично прийнятні осново-адитивні солі вибирають солі амонію, калію, натрію, кальцію і магнію.

"Фармацевтично прийнятний носій" або "фармацевтично прийнятний ексципієнт" означає будь-які і усі розчинники, дисперсійні середовища, покриття, антибактеріальні і антигрибкові агенти, ізотонічні і затримуючі абсорбцію агенти тощо. Використання таких середовищ і агентів для фармацевтично активних речовин є добре відомим. Будь які звичайні середовища або агенти, які не є несумісними з активним інгредієнтом, можуть бути використанні у терапевтичних композиціях винаходу. Допоміжні активні інгредієнти також можуть бути додані у композиції.

"Трансдукцією сигналу" є процес, під час якого стимулюючі або пригнічуючі сигнали передаються до у і усередині клітин для збудження внутрішньоклітинної реакції. Модулятором шляху трансдукції сигналу є сполука, яка модулює активність одного або більше клітинних протеїнів, що входять склад шляху трансдукції цього конкретного сигналу. Модулятор може збільшувати (агоніст) або пригнічувати (антагоніст) активність сигнальних молекул.

Термін "селективне пригнічення" або "селективно пригнічувати" стосується біологічно активного агенту, здатного селективно знижувати відповідну сигнальну активність порівняно з невідповідною сигнальною активністю через взаємодію з об'єктом.

Термін "B-ALL" стосується B-клітинної гострої лімфобластомної лейкемії.

"Суб'єктом" є тварина, наприклад, ссавець, зокрема, людина. Способи, описані тут, можуть бути корисними як у терапевтичних (людських), так і ветеринарних застосуваннях. У деяких втіленнях пацієнтом є ссавець і у деяких втіленнях людина.

"Радіаційна терапія" означає піддання пацієнта з використанням звичайних способів і композицій дії випромінювачів радіації, наприклад, радіонуклідів, що випромінюють альфа-частки (наприклад, актинію і торію), низькоенергетичних випромінювачів (тобто бета-випромінювачів), конверсійно електронних випромінювачів (наприклад стронцію-89 і самарію-153-EDTMP або високоенергетичної радіації, включаючи (не лише) рентгенівські і гамма-промені і нейтрони.

"Проліками" є сполуки, які можуть бути перетворені у фізіологічних умовах або сольволизом у біологічно активні сполуки, описані тут. Отже, термін "проліки" стосується попередника біологічно активних сполук, що є фармацевтично прийнятними. Проліки можуть бути неактивними при введенні суб'єкту, але перетворюються *in vivo* в активну сполуку, наприклад, гідролізом. Проліки сполуки часто мають кращі розчинність і сумісність з тканинами або затримане вивільнення в організмі ссавця (див., наприклад, Bundgard, H, Design of Prodrugs (1985), pp. 7-9, 21-24 (Elsevier, Amsterdam). A discussion of prodrugs is provided in Higuchi, T., et al., "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," A.C.S. Symposium Series, Vol. 14, i in Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, включені посиланням.

Термін "проліки" також включає будь-яких ковалентно з'єднаних носіїв, які вивільняють активну сполуку *in vivo* після введення ссавцю. Проліки активної сполуки можуть бути приготовлені модифікуванням функціональної групи в активній сполуці таким чином, що модифікація розщеплюється при звичайній маніпуляції або *in vivo*, утворюючи вихідну активну сполуку. Проліки включають сполуки, де гідрокси, аміно або меркапто група приєднана до будь-якої групи таким чином, після введення ссавцю проліки активної сполуки розщеплюються, утворюючи вільні гідрокси, аміно або меркапто групи, відповідно. Приклад проліків включають (не лише) ацетатні, форматні і бензоатні похідні спирту або ацетамідні, формамідні і бензамідні похідні аміної групи в активній сполуці.

Термін "*in vivo*" стосується подій, що відбуваються у тілі суб'єкту.

Термін "*in vitro*" стосується подій, що відбуваються поза тілом суб'єкту, наприклад, аналіз *in vitro* включає будь-який аналіз, який проводять поза суб'єктом. Аналізи *in vitro* включають клітинні аналізи у живих або мертвих, або непошкоджених клітинах.

Якщо не зазначено інше, структури, описані тут, також включають сполуки, які відрізняються лише присутністю одного або більше ізотопічно збагачених атомів, наприклад, сполуки певної структури, в яких водород заміщено дейтерієм або тритієм або карбон заміщено <sup>13</sup>C- або <sup>14</sup>C-входять в об'єм винаходу.

Сполуки винаходу можуть також містити неприродну пропорцію атомних ізотопів при одному або більше атомах, що утворюють ці сполуки, наприклад, сполуки можуть бути радіомічені

радіоактивними ізотопами, наприклад, тритієм ( $^3\text{H}$ ), йодом 125 ( $^{125}\text{I}$ ) або карбоном-14 ( $^{14}\text{C}$ ). Всі ізотопні варіанти сполук винаходу, радіоактивні або ні, включено в об'єм винаходу.

Коли наведено межі для фізичних характеристик, наприклад, молекулярної маси, або хімічних властивостей, наприклад, хімічні формули, усі комбінації і субкомбінації цих меж і їх конкретні втілення включено в об'єм винаходу.

Термін "приблизно" стосується кількісних або номерних меж і означає апроксимацію у межах варіабельності експерименту (або статистичної помилки), наприклад, кількість може варіюватись від 1 % до 15 % певного значення.

Термін "включати" (або "включають", або "включає", або "має", або "включаючи") включає ті втілення, наприклад, будь-якої композиції речовин, композицій, способів або процесів тощо, які "складаються з" або "складаються по суті з" описаних ознак.

Абревіатури:

PI3-K = фосфоїнозитидна 3-кіназа; PI = фосфатидилінозитол; PDK = фосфоїнозитидно залежна кіназа;  $\delta$ -PK = залежна від дезоксирибозонуклеїнової кислоти протеїнових кіназ; PTEN = фосфотазний і тензиновий гомолог, стертий на хромосомі 10; PIKK = кіназа, подібна до фосфоїнозитидної кінази; MeI = метилйодид;  $\text{POCl}_3$  = фосфорний оксихлорид; KCNS = ізотіоціанат калію; ТШХ - тонкошарова хроматографія; MeOH = етанол;  $\text{CHCl}_3$  = хлороформ.

Ці абревіатури є загальноприйнятими у хімії і біології.

"Алкілом" є лінійний або розгалужений гідрокарбонівий ланцюговий радикал, що складається з атомів карбону і гідрогену і не містить ненасичених 1-10 атомів карбону (наприклад,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_{10}$ алкіл). Числові межі, наприклад, "1-10" стосуються кожного цілого у цих межах; наприклад, "1-10 атомів карбону" означає, що алкільна група може складатись з 1, 2, 3 і т. д. атомів карбону, до і включаючи 10 атомів карбону, хоча це визначення також включає термін "алкіл" без кількісних меж. У деяких втіленнях це  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  алкільна група. Типову алкільні групи включають (не лише) метил, етил, пропіл, ізопропіл, n-бутил, ізобутил, втор-бутил, ізобутил, трет-бутил, пентил, ізопентил, неопентил, гексил, септил, октил, ноніл, децил тощо. Алкіл приєднано до решти молекули одиночним зв'язком, наприклад, через метил (Me), етил (Et), n-пропіл, 1-метилетил (o-пропіл), n-бутил, w-пентил, 1,1-диметилетил (1-бутил), 3-метилгексил, 2-метилгексил тощо. Якщо не зазначено інше, алкільна група, як варіант, заміщена одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-\text{OR}^a$ ,  $-\text{SR}^a$ ,  $-\text{OC}(\text{O})-\text{R}^a$ ,  $-\text{N}(\text{R}^a)_2$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ ,  $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{R}^a$ ,  $-\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^a)_2$ ,  $\text{N}(\text{R}^a)\text{C}(\text{NR}^a)\text{N}(\text{R}^a)_2$ ,  $-\text{N}(\text{R}^a)\text{S}(\text{O})_t\text{R}^0$  (де t дорівнює 1 або 2),  $-\text{S}(\text{O})_t\text{OR}^a$  (де t дорівнює 1 або 2),  $-\text{S}(\text{O})_t\text{N}(\text{R}^a)_2$  (де t дорівнює 1 або 2) або  $\text{PO}_3(\text{R}^a)_2$ , де кожна  $\text{R}^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоциклілалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Алкіларил" стосується -(алкіл)арильного радикалу, де арил і алкіл описано вище, як варіант, заміщеного одним більше замісниками, подібними описаним для арилу і алкілу.

"Алкілгетарил" стосується -(алкіл)гетарильного радикалу, де гетарил і алкіл описано вище, як варіант, заміщеного одним більше замісниками, подібними описаним для арилу і алкілу.

"Алкілгетероциклоалкіл" стосується -(алкіл)гетероциклільного радикалу, де алкіл і гетероциклоалкіл описано вище, як варіант, заміщеного одним більше замісниками, подібними описаним для гетероциклоалкілу і алкілу.

"Алкеновим" компонентом є група, яку складають щонайменше 2 атоми карбону і щонайменше один карбон-карбонівий подвійний зв'язок і "алкіновим" компонентом є група, яку складають щонайменше 2 атоми карбону і щонайменше один карбон-карбонівий потрійний зв'язок. Алкільний компонент, насичений або ненасичений, може бути розгалужений, лінійний або циклічний.

"Алкенілом" є лінійна або розгалужена гідрокарбонова ланцюгова радикальна група, яка складається лише з атомів карбону і гідрогену, містить щонайменше один подвійний зв'язок і 2-10 атомів карбону ( $\text{C}_2$ - $\text{C}_{10}$ алкеніл). Числові межі, наприклад, "2-10" стосуються кожного цілого у цих межах; наприклад, "2-10 атомів карбону" означає, що алкенільна група може складатись з 2, 3 і т. д. атомів карбону, до і включаючи 10 атомів карбону. У деяких втіленнях алкеніл включає 2-8 атомів карбону. В інших втіленнях алкеніл включає 2-5 атомів карбону (наприклад,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_5$  алкеніл). Алкеніл приєднано до решти молекули одиночним зв'язком, наприклад, через етеніл (вініл), проп-1-еніл (аліл), бут-1-еніл, пент-1-еніл, пента-1,4-діеніл тощо. Якщо не зазначено інше, алкенільну групу, як варіант, заміщено одним або більше замісниками якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро,

триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  є незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Алкеніл-циклоалкілом" є -(алкеніл)циклоалкільний радикал, де алкеніл і циклоалкіл описаного тут, як варіант, заміщений одним або більше замісниками, подібними описаним для алкенілу і циклоалкілу відповідно.

"Алкінілом" є лінійний або розгалужений гідрокарбонівий ланцюговий радикал, що складається з атомів карбону і гідрогену, містить щонайменше один потрійний зв'язок і має 2-10 атомів карбону ( $C_2$ - $C_{10}$  алкініл). Числові межі, наприклад, "2-10" стосуються кожного цілого у цих межах; наприклад, "2-10 атомів карбону" означає, що алкінільна група може складатись з 2, 3 і т. д. атомів карбону, до і включаючи 10 атомів карбону. У деяких втіленнях алкеніл включає 2-8 атомів карбону. В інших втіленнях алкініл включає 2-5 атомів карбону (наприклад,  $C_2$ - $C_5$  алкініл).

Алкініл приєднано до решти молекули через одиночний зв'язок, наприклад, етиніл, пропиніл, бутиніл, пентиніл тощо. Якщо не зазначено інше, алкінільну групу, як варіант, заміщено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Алкініл-циклоалкілом" є -(алкініл)циклоалкільний радикал, де алкініл і циклоалкіл описано тут, як варіант, заміщений одним або більше замісниками, подібними описаним для алкінілу і циклоалкілу відповідно.

"Карбоксальдегід" стосується  $-(C=O)H$  радикалу.

"Карбоксилом" є  $-(C=O)OH$  радикал.

"Ціано" стосується радикалу  $-CN$ .

"Циклоалкілом" є моноциклічний або поліциклічний радикал, який містить лише карбон і гідроген і може бути насичений або частково ненасичений. Циклоалкільні групи включають групи з 3-10 кільцевих атомів ( $C_3$ - $C_{10}$  циклоалкіл). Межі, наприклад, "3-10" стосуються кожного цілого у цих межах, наприклад, "3-10 атомів карбону" означає, що циклоалкільна група може мати 3, 4 і т. д. атомів карбону до і включаючи 10 атомів карбону. У деяких втіленнях це  $C_3$ - $C_8$  циклоалкільний або  $C_3$ - $C_5$  циклоалкільний радикал. Ілюстративними прикладами циклоалкільних груп є (не лише): циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклопентеніл, циклогексил, циклогексеніл, циклосептил, циклооктил, циклононіл, циклодецил, норборніл тощо. Якщо не зазначено інше, циклоалкільну групу, як варіант, заміщено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Циклоалкіл-алкеніл" є -(циклоалкіл)алкенільним радикалом, де циклоалкіл і гетероциклоалкіл описано тут, як варіант, заміщеним одним або більше замісниками, подібними описаним для гетероциклоалкілу і циклоалкілу відповідно.

"Циклоалкіл-гетероциклоалкілом" є -(циклоалкіл)гетероциклічний радикал, де циклоалкіл і гетероциклоалкіл описано тут, як варіант, заміщений одним або більше замісниками, подібними описаним для гетероциклоалкілу і циклоалкілу відповідно.

"Циклоалкіл-гетероарилом" є -(циклоалкіл)гетероарильний радикал, де циклоалкіл і гетероциклоалкіл описано тут, як варіант, заміщений одним або більше замісниками, подібними описаним для гетероциклоалкілу і циклоалкілу відповідно.

Термін "алкокси" стосується групи  $-O$ -алкіл, яка має 1-8 атомів карбону у лінійній, розгалуженій, циклічній конфігурації і їх комбінаціях, приєднаних до головної структури киснем. Приклади включають метокси, етокси, пропокси, ізопропокси, циклопропілокси, циклогексилокси тощо. "Нижча алкокси" стосується алкоксигрупи з 1-6 карбонами. У деяких

втіленнях  $C_1$ - $C_4$  алкіл є алкільною групою, яка включає лінійні і розгалужені ланцюгові алкіли з 1-4 атомами карбону.

Термін "заміщена алкокси" стосується алкоксигрупи, де алкільний компонент є заміщеним (О-(заміщений алкіл)). Якщо не зазначено інше, алкільний компонент алкоксигрупи, як варіант, замінено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

Термін "алкоксикарбоніл" стосується групи формули (алкокси)(C=O)-, приєднаної через карбоніл карбон, де в алкоксигрупі показано кількість атомів карбону. Отже,  $C_1$ - $C_6$  алкоксикарбонільна група є алкоксигрупою з 1-6 атомами карбону, приєднаною через оксиген до карбонільного зв'язку. "Нижчим алкоксикарбонілом" є алкоксикарбонільна група, де алкоксигрупа є нижчою алкоксигрупою. У деяких втіленнях  $C_1$ - $C_4$  алкокси є алкоксигрупою, яка включає лінійні і розгалужені ланцюгові алкоксигрупи з 1-4 атомами карбону.

Термін "заміщений алкоксикарбоніл" стосується групи (заміщений алкіл)-О-С(О)-, приєднаної до головної структур через карбонільну функціональність. Якщо не зазначено інше, алкільний компонент алкоксикарбонілої групи, як варіант, замінено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Ацил" стосується груп (алкіл)-С(О)-, (арил)-С(О)-, (гетероарил)-С(О)-, (гетероалкіл)-С(О)- і (гетероциклоалкіл)-С(О)-, де ця група приєднана до головної структури через карбонільну функціональність. У деяких втіленнях це  $C_1$ - $C_{10}$  ацильний радикал, який визначає повну кількість ланцюгових або кільцевих атомів алкілу, арилу, гетероарилу або гетероциклоалкільної частини ацилоксигрупи плюс карбоніл карбонацилу, тобто три інші кільцеві або ланцюгові атоми плюс карбоніл. Якщо радикал R гетероарилом або гетероциклоалкілом, гетерокільцеві або ланцюгові атоми є внеском у повну кількість ланцюгових або кільцевих атомів. Якщо не зазначено інше, "R" ацилоксигрупи, як варіант, замінено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Ацилокси" стосується радикалу  $R(C=O)O-$ , де "R" - алкіл, арил, гетероарил, гетероалкіл або гетероциклоалкіл. У деяких втіленнях це є  $C_1$ - $C_4$  ацилокси радикал, який стосується повної кількості ланцюгових або кільцевих атомів алкілу, арилу, гетероарилу або гетероциклоалкільної частини ацилоксигрупи плюс карбоніл карбонацилу, тобто три інші кільцеві або ланцюгові атоми плюс карбоніл. Якщо радикал R є гетероарилом або гетероциклоалкілом, гетерокільцеві або ланцюгові атоми входять у повну кількість ланцюгових або кільцевих атомів. Якщо не зазначено інше, "R" ацилоксигрупи, як варіант, замінено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Аміно" або "амін" стосується радикальної групи  $-N(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл,

гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл, якщо не зазначено інше. Коли  $-N(R^a)_2$  має дві  $R^a$ , відмінні від гідрогену, вони можуть бути з'єднані з атомом нітрогену, утворюючи 4-, 5-, 6- або 7-членне кільце, наприклад,  $-N(R^a)_2$  включає (не лише) 1-піролідиніл і 4-морфолініл. Якщо не зазначено інше, аміногрупу, як варіант, заміщено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоциклілалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл, і кожний з цих компонентів може бути, як варіант, заміщений.

Термін "заміщена аміно" також стосується N-оксидів груп  $-NHR^d$  і  $NR^dR^d$ , описаних вище. N-оксиди можуть бути приготовлені обробкою відповідної аміногрупи, наприклад, гідрогенпероксидом або m-хлорпероксибензойною кислотою. Умови цієї реакції є добре відомими.

"Амід" або "амідо" стосується хімічного компоненту формули  $-C(O)N(R)_2$  або  $-NHC(O)R$ , де R вибрано з групи, яку складають гідроген, алкіл, циклоалкіл, арил, гетероарил (приєднаний через кільцевий карбон) і гетероаліцикліл (приєднаний через кільцевий карбон), кожний з яких може, як варіант, бути заміщений. У деяких втіленнях це є  $C_1$ - $C_4$  амід або амідний радикал, який включає амідний карбоніл у повну кількість карбонів у радикалі.  $R_2$  у  $-N(R)_2$  амиду може, як варіант, розглядатись разом з нітрогеном, для якого вона приєднана, утворюючи 4-, 5-, 6- або 7-членне кільце.

Якщо не зазначено інше, амідогрупу, як варіант, заміщено незалежно одним або більше замісниками, описаними для алкілу, циклоалкілу, арилу, гетероарил або гетероциклоалкілу. Амід може бути амінокислотою або пептидною молекулою, приєднаною до сполуки формули (I), утворюючи проліки. Будь-який амінний, гідрокси або карбоксильний бічний ланцюг на сполуках, описаних тут, може бути амідифікований за процедурою, відомою фахівцям, яку можна знайти, наприклад, у Greene, Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3.sup.rd Ed., John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1999, включеному посиланню.

"Ароматичний" або "арил" стосується ароматичного радикалу з 6-10 кільцевими атомами (наприклад,  $C_6$ - $C_{10}$  ароматичний або  $C_6$ - $C_{10}$  арил), який щонайменше одне кільце, кон'юговане з рі електронною системою, яка є карбоциклічною (наприклад, феніл, флуореніл і нафтил). Бівалентні радикали, утворені з заміщених бензольних похідних, які вільні валентності на кільцевих атомах, називають заміщеними феніленовими радикалами. Бівалентні радикали, які отримують з унівалентних поліциклічних гідрокарбонових радикалів, назви яких закінчуються на "-іл", видаленням одного атому гідрогену від атому карбону з вільною валентністю, називають, додаючи "-ідей" до назви відповідного унівалентного радикалу, наприклад, нафтильна група з двома точками приєднання, є нафтиліденом. Числові позначення, наприклад, "6-10" стосуються кожного цілого у цих межах; наприклад, "6-10 кільцевих атомів" означає, що арильна група може мати 6, 7, ... кільцевих атомів, до і включаючи 10 кільцевих атомів. Цей термін включає моноциклічні або злиті поліциклічні кільцеві (тобто, кільця з спільними суміжними парами кільцевих атомів) групи. Якщо не зазначено інше, арильний компонент, як варіант, заміщено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоциклілалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Аралкіл" або "арилалкіл" стосується (арил)алкільного радикалу, де арил і алкіл описано тут, як варіант, заміщеного одним або більше замісниками, подібними описаним для арилу і алкілу відповідно.

"Естером" є хімічний радикал формули  $-COOR$ , де R вибрано з групи, яку складають алкіл, циклоалкіл, арил, гетероарил (приєднаний через кільцевий карбон) і гетероаліцикліл (приєднаний через кільцевий карбон). Будь-який амінний, гідрокси або карбоксильний бічний ланцюг на сполуках, описаних тут, може бути естерифікований. Процедури і конкретні для отримання таких естерів є відомими фахівцям і можуть бути знайдені у, наприклад, Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3.sup Ed., John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1999.

Якщо не зазначено інше, естерну групу, як варіант, заміщено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, трифлуорметил, трифлуорметокси, нітро, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-OC(O)N(R^a)_2$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)C(O)N(R^a)_2$ ,  $N(R^a)C(NR^a)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоциклілалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Флуоралкілом" є алкільний радикал, заміщений одним або більше флуоровими радикалами, визначеними вище, наприклад, трифлуорметилом, дифлуорметилом, 2,2,2-трифлуоретилом, 1-флуорметил-2-флуоретилом тощо. Алкільна частина флуоралкільного радикалу може бути, як варіант, заміщена, як описано для алкільної групи.

"Галоген", "галогенід" означає флуор, хлор, бром або йод. Терміни "галогеналкіл", "галогеналкеніл", "галогеналкініл" і "галогеналкокси" включають алкільні, алкенільні, алкінільні і алкокси структури, заміщені одною більше галогенними групами або їх комбінаціями, наприклад, терміни "флуоралкіл" і "флуоралкокси" включають галогеналкільні і галогеналкокси групи, відповідно, в яких галогеном є флуор.

"Гетероалкіл", "гетероалкеніл" і "гетероалкініл" включають, як варіант, заміщені алкільні, алкенільні і алкінільні радикал з одним або більше скелетними ланцюговими атомами, вибраними з атомів, відмінних від карбону, наприклад, оксигену, нітрогену, сульфуру, фосфору, або їх комбінацій. Можуть бути надані межі, наприклад,  $C_1$ - $C_4$  гетероалкіл означає ланцюг довжиною до 4 атомів, наприклад, радикал  $-CH_2OCH_2CH_3$  є " $C_4$ " гетероалкілом, який включає гетероатомний центр у атомному ланцюгу.

Приєднання до решти молекули може бути через гетероатом або карбон у гетероалкільному ланцюгу. Гетероалкільна група може бути заміщена одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, нітро, оксо, тіоксо, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де  $t$  дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоциклілалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Гетероалкіларил" стосується -(гетероалкіл)арильного радикалу, де гетероалкіл і арил описано тут, як варіант, заміщеного одним або більше замісниками, подібними описаним для гетероалкілу і арилу відповідно.

"Гетероалкілгетероарил" стосується -(гетероалкіл)гетероарильного радикалу, де гетероалкіл і гетероарил описано тут, як варіант, заміщеного одним або більше замісниками, подібними описаним для гетероалкілу і гетероарилу відповідно.

"Гетероалкілгетероциклоалкіл" стосується -(гетероалкіл)гетероциклоалкільного радикалу, де гетероалкіл і гетероарил описано тут, як варіант, заміщеного одним або більше замісниками, подібними описаним для гетероалкілу і гетероциклоалкілу відповідно.

"Гетероалкілциклоалкіл" стосується -(гетероалкіл)циклоалкільного радикалу, де гетероалкіл і циклоалкіл описано тут, як варіант, заміщеного одним або більше замісниками, подібними описаним для гетероалкілу і циклоалкілу відповідно.

"Гетероарил" або "гетероароматичний" стосується 5-18-членного ароматичного радикалу (наприклад,  $C_5$ - $C_{13}$  гетероарилу), який включає один або більше кільцевих гетероатомів, вибраних з нітрогену, оксигену і сульфуру, і який може бути моноциклічною, біциклічною, трициклічною або тетрациклічною кільцевою системою. Числові межі, наприклад, "5-18" стосуються кожного цілого у цих межах; наприклад, "5-18 кільцевих атомів" означає, що гетероарильна група може мати 5, 6, ... кільцевих атомів, до і включаючи 18 кільцевих атомів. Бівалентні радикали, отримані з унівалентних гетероарильних радикалів, назви яких закінчуються на "-іл", видаленням одного атому гідрогену від атому з вільною валентністю, отримують додаток "-іден" до назви відповідного унівалентного радикалу, наприклад, піридилна група з двома точками приєднання є піридиліденом.

N-вмісний "гетероароматичний" або "гетероарильний" компонент стосується ароматичної групи, в якій щонайменше один з скелетних атомів кільця є атомом нітрогену. Поліциклічна гетероарильна група може бути злиною або не злиною. Гетероатоми у гетероарильному радикалі є, як варіант, окисленими. Один або більше атомів нітрогену, якщо вони є, як варіант, кватернізовані. Гетероарил приєднано до решти молекули через будь-який атом кільця.



Приклади гетероарилів включають (не лише) азепініл, акридиніл, бензімідазоліл, бензіндоліл, 1,3-бензодіоксоліл, бензофураніл, бензоксазоліл, бензо[d]тіазоліл, бензотіадіазоліл, бензо[i][1,4]діоксепініл, бензо[b][1,4]оксазиніл, 1,4-бензодіоксаніл, бензонафтофураніл, бензоксазоліл, бензодіоксоліл, бензодіоксиніл, бензоксазоліл, бензопіраніл, бензопіраноніл, бензофураніл, бензофураноніл, бензофуразаніл, бензотіазоліл, бензотієніл (бензотіофеніл), бензотієно[3,2-d]піримідиніл, бензотриазоліл, бензо[4,6]імідазо[1,2-a]піридиніл, карбазоліл, цинолініл, циклопента[d]піримідиніл, 6,7-дигідро-5H-циклопента-[4,5]тієно [2,3-d]піримідиніл, 5,6-дигідробензо[h]хіназолініл, 5,6-дигідробензо[h]цинолініл, 6,7-дигідро-5H-бензо[6,7]циклопента[1,2-c]піридазиніл, дибензофураніл, дибензотіофеніл, фураніл, фуразаніл, фураноніл, фуро[3,2-c]піридиніл, 5,6,7,8,9,10-гексагідроциклоокта [фіримідиніл, 5,6,7,8,9,10-гексагідроциклоокта[d]піридазиніл, 5,6,7,8,9,10-гексагідроциклоокта[d]піридиніл, ізотіазоліл, імідазоліл, індазоліл, індоліл, індазоліл, ізоіндоліл, індолініл, ізоіндолініл, ізохіноліл, індолізиніл, ізоксазоліл, 5,8-метано-5,6,7,8-тетрагідрохіназолініл, нафтиридиніл, 1,6-нафтиридиноніл, оксадіазоліл, 2-оксоазепініл, оксазоліл, оксираніл, 5,6,6a,7,8,9,10,10a-октагідробензо[h]хіназолініл, 1-феніл-1H-піроліл, феназиніл, фенотіазиніл, феноксазиніл, фталазиніл, птеридиніл, пуриніл, піраніл, піроліл, піразоліл, піразоло[3,4-d]піримідиніл, піридиніл, піридо[3,2-d]піримідиніл, піридо[3,4-d]піримідиніл, піразиніл, піримідиніл, піридазиніл, піроліл, хіназолініл, хіноксалініл, хінолініл, ізохінолініл, тетрагідрохінолініл, 5,6,7,8-тетрагідрохіназолініл, 5,6,7,8-тетрагідробензо-[4,5]тієно[2,3-d]піримідиніл, 6,7,8,9-тетрагідро-5H-циклоhepta[4,5]тієно[2,3-d]піримідиніл, 5,6,7,8-тетрагідропіридо[4,5-c]піридазиніл, тіазоліл, тіадіазоліл, тіапіраніл, триазоліл, тетразоліл, триазиніл, тієно[2,3-d]піримідиніл, тієно[3,2-d]піримідиніл, тієно[2,3-c]піридиніл і тіофеніл (тієніл).

Якщо не зазначено інше, гетерарильний компонент, як варіант, заміщено одним або більше замісникам, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, нітро, оксо, тіоксо, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де t дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де t дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де t дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоциклілалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

Заміщений гетероарил також включає кільцеві системи, заміщені одним або більше оксидними (-O-) замісниками, наприклад піридиніл-N-оксидами.

"Гетероарилалкіл" стосується компоненту, що має арильний компонент, приєднаний до алкіленового компоненту, де приєднання до решти молекули здійснюється через алкіленову групу.

"Гетероциклоалкіл" стосується стабільного 3-18-членного неароматичного кільцевого радикалу, який включає 2-12 атомів карбону і 1-6 гетероатомів, вибраних з нітрогену, кисню і сульфору. Числові межі, наприклад, "3-8" стосуються кожного цілого у цих межах; наприклад, "3-18 кільцевих атомів" означає, що гетероциклоалкільна група може мати 3, 4, .... кільцеві атоми до і включаючи 18 кільцевих атомів. У деяких втіленнях це  $C_5$ - $C_{10}$ гетероциклоалкіл або  $C_4$ - $C_{10}$ гетероциклоалкіл, або  $C_3$ - $C_{10}$ гетероциклоалкіл.

Якщо не зазначено інше, гетероциклоалкільний радикал є моноциклічною, біциклічною, трициклічною або тетрациклічною кільцевою системою, яка може включати злиті або з'єднані містком кільцеві системи. Гетероатоми у гетероциклоалкільному радикалі можуть бути, як варіант, окиснені. Один або більше атомів нітрогену, якщо вони є, як варіант, кватернізовані. Гетероциклоалкільний радикал є частково або повністю насичений.

Гетероциклоалкіл може бути приєднаний до решти молекули через будь-який атом кільця. Приклади таких гетероциклоалкільних радикалів включають (не лише) діоксоланіл, тієніл[1,3]дитіаніл, декагідроізохіноліл, імідазолініл, імідазолідиніл, ізотіазолідиніл, ізоксазолідиніл, морфолініл, октагідроіндоліл, октагідроізоіндоліл, 2-оксопіперазиніл, 2-оксопіперидиніл, 2-оксопіролідиніл, оксазолідиніл, піперидиніл, піперазиніл, 4-піперідоніл, піролідиніл, піразолідиніл, хінуклідиніл, тіазолідиніл, тетрагідрофурил, тритіаніл, тетрагідропіраніл, тіоморфолініл, тіаморфолініл, 1-оксо-тіоморфолініл і 1,1-діоксо-тіоморфолініл. Якщо не зазначено інше, гетероциклоалкільний компонент, як варіант, заміщено одним або більше замісниками, якими незалежно є: алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, гідрокси, галоген, ціано, нітро, оксо, тіоксо, триметилсиланіл,  $-OR^a$ ,  $-SR^a$ ,  $-OC(O)-R^a$ ,  $-N(R^a)_2$ ,  $-C(O)R^a$ ,  $-C(O)OR^a$ ,  $-C(O)N(R^a)_2$ ,  $-N(R^a)C(O)OR^a$ ,  $-N(R^a)C(O)R^a$ ,  $-N(R^a)S(O)_tR^a$  (де t дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tOR^a$  (де t дорівнює 1 або 2),  $-S(O)_tN(R^a)_2$  (де t дорівнює 1 або 2) або  $PO_3(R^a)_2$ , де кожна  $R^a$  - незалежно

гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоцикліалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл.

"Гетероциклоалкіл" також включає біциклічні кільцеві системи, де одне неароматичне кільце, звичайно з 3-7 кільцевими атомами, містить щонайменше 2 атоми карбону на додаток до 1-3 гетероатомів, незалежно вибраних з оксигену, сульфуру і нітрогену, а також комбінації, що включають щонайменше один з цих гетероатомів; і інше кільце, звичайно з 3-7 кільцевими атомами, яке, як варіант, містить 1-3 гетероатоми, незалежно вибрані з оксигену, сульфуру і нітрогену, і не є ароматичним.

"Ізомерами" є різні сполуки з однаковою молекулярною формулою. "Стереοізомерами" є ізомери, які розрізняються лише порядком розташування атомів у просторі. "Енантіомером" є пара стереοізомерів, які не мають дзеркальних відображень, що накладаються одне на одне. 1:1 суміш пари енантіомер є "рацемічною" сумішшю. Позначення "(±)" використовують для рацемічних сумішей.

"Діастереοізомерами" є стереοізомери, які мають щонайменше два асиметричні атоми, які не є дзеркальними відображеннями один одного. Абсолютна стереохімія визначається згідно з системою Cahn-Ingold-Prelog R-S. Коли сполука є чистим енантіомером, стереохімія на кожному хіральному карбоні може бути позначена R або S. Розрізнені сполуки з невідомими абсолютними конфігураціями можуть бути позначені (+) або (-) залежно від напрямку (правий або лівий) повертання площини поляризації світла на довжин хвилі лінії D натрію. Деякі з сполук, описаних тут, містять один або більше асиметричних центрів і можуть утворювати енантіомери, діастереοмери і інші стереοізомерні форми, які можуть бути визначені за абсолютною стереохімією як (R)- або (S)-. Ці хімічні об'єкти, фармацевтичні композиції і способи включають усі можливі ізомери, рацемічні суміші, оптично чисті форми і інтермедіати. Оптично активні (R)- і (S)-ізомери можуть бути приготовлені з використанням хіральних синтонів або хіральних реагентів, або розрізнені звичайними способами. Коли сполуки, описані тут, містять олефінові подвійні зв'язки або інші центри геометричної асиметрії, то, якщо не зазначено інше, ці сполуки включають як E, так і Z геометричні ізомери.

"Компонент" означає певний сегмент або функціональну групу молекул. Хімічні компоненти часто є хімічними об'єктами заглибленими або доданими до молекул.

"Нітро" стосується радикалу -NO<sub>2</sub>.

"Окса" стосується радикалу -O-.

"Оксо" стосується радикалу =O.

"Таутомерами" є структурно різні ізомери, які взаємоперетворюються таутомеризацією.

"Таутомеризація" є формою ізомеризації і включає прототропічну або протонозсувну таутомеризацію, які вважають частиною кислотно-основної хімії. "Прототропічна таутомеризація" або "протонозсувна таутомеризація" пов'язана з міграцією протону, яка супроводжується змінами порядку зв'язків, часто взаємозаміною одиночних зв'язків з суміжним подвійним зв'язком.

Якщо таутомеризація є можливою (наприклад, у розчині), може існувати хімічна рівновага таутомеріє. Прикладом таутомеризації є кето-енольна таутомеризація. Прикладом кето-енольної таутомеризації є взаємоперетворення таутомеріє пентан-2,4-діону і 4-гідроксипент-3-ен-2-ону. Іншим прикладом таутомеризації є фенол-кетонна таутомеризація. Прикладом фенол-кетонної таутомеризації є взаємоперетворення таутомеріє піридин-4-олу і піридин-4(1H)-ону.

Сполуки винаходу можуть також містити неприродні пропорції атомних ізоотопів при одному або більше атомах, що утворюють ці сполуки, наприклад, сполуки можуть бути радіомічені радіоактивними ізотопами, наприклад, тритієм (<sup>3</sup>H), йодом 125 (<sup>125</sup>I) або карбоном-14 (<sup>14</sup>C). Всі ізотопічні варіанти сполук винаходу, радіоактивні або ні, включено в об'єм винаходу.

"Відщепною групою або атомом" є будь-які група або атом, які в умовах реакції відщеплюються від вихідного матеріалу, сприяючи реакції у певному сайті. Прикладами таких груп, якщо не зазначено інше, є атоми галогену, мезилокси, р-нітробензолсульфонілокси- і тозилоксигрупи.

"Захисна група" пов'язана з органічним синтезом, тобто селективно блокує один або більше реактивних сайтів у багатофункціональній сполуці, щоб хімічна реакція могла проходити селективно на іншому незахищеному реактивному сайті. Таку групу можна легко видалити після завершення селективної реакції. Захисні групи описано у Greene, Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3<sup>sup</sup>.rd Ed., John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1999, наприклад, гідрокси захищеною є форма, де щонайменше одна з гідрокси груп сполуки захищена гідрокси захисною групою. Аміни і інші реактивні групи також можуть бути захищені.

"Сольватом" є сполука (наприклад, сполука формули I або її фармацевтично прийнятна сіль) у фізичному зв'язку з одною або більше молекулами фармацевтично прийнятного

розчинника. Зрозуміло, що "сполука формули I" означає сполуку формули I і її сольвати, а також їх суміші.

"Заміщена" означає, що певна група може бути заміщена однією або більше додатковими групами, індивідуально і незалежно вибраними з ацилу, алкілу, алкіларилу, циклоалкілу, аралкілу, арилу, карбогідрату, карбонату, гетероарилу, гетероциклоалкілу, гідрокси, алкокси, арилокси, меркапто, алкілтію, арилтію, ціано, галогену, карбонілу, естеру, тіокарбонілу, ізоціанату, тіоціанату, ізотіоціанату, нітро, оксо, пергалогеналкілу, перфлуоралкілу, фосфату, силілу, сульфінілу, сульфонілу, сульфонамідилу, сульфоксили, сульфонату, сечовина і аміно, включаючи моно- і дизаміщені аміно групи і їх захищені похідні. Дизаміщені аміногрупи включають ті, що утворюють кільце разом з нітрогеном аміногрупи, наприклад, морфоліно. Замісники також можуть бути заміщеними, наприклад, циклоалкільний замісник може мати заміщення галогеном на одному або більше кільцевих карбонів тощо. Захисні групи можуть утворювати захисні похідні зазначених замісників (див., наприклад, Greene and Wuts).

"Сульфаніл" стосується таких груп: -S- (як варіант, заміщений алкіл), -S- (як варіант, заміщений арил), -S- (як варіант, заміщений гетероарил) і -S- (як варіант, заміщений гетероциклоалкіл).

"Сульфініл" стосується груп: -S(O)-H, -S(O)- (як варіант, заміщений алкіл), -S(O)- (як варіант, заміщений аміно), -S(O)- (як варіант, заміщений арил), -S(O)- (як варіант, заміщений гетероарил) і -S(O)- (як варіант, заміщений гетероциклоалкіл).

"Сульфоніл" стосується груп: -S(O<sub>2</sub>)-H, -S(O<sub>2</sub>)- (як варіант, заміщений алкіл), -S(O<sub>2</sub>)- (як варіант, заміщений аміно), -S(O<sub>2</sub>)- (як варіант, заміщений арил), -S(O<sub>2</sub>)- (як варіант, заміщений гетероарил) і -S(O<sub>2</sub>)- (як варіант, заміщений гетероциклоалкіл).

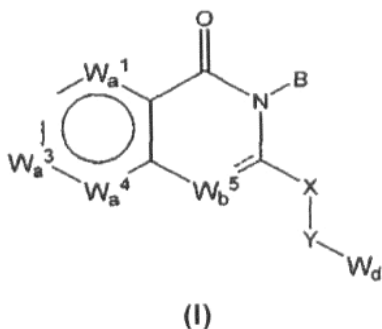
"Сульфонамідил" або "сульфонамідо" стосується радикалу -S(=O)<sub>2</sub>-NRR, де кожна R вибрана незалежно з групи, яку складають гідроген, алкіл, циклоалкіл, арил, гетероарил (приєднаний через кільцевий карбон) і гетероаліцикліл (приєднаний через кільцевий карбон). Групи R у -NRR радикалу -S(=O)<sub>2</sub>-NRR можуть бути разом з нітрогеном, до якого вони приєднані, утворюючи 4-, 5-, 6- або 7-членне кільце.

У деяких втіленнях це C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> сульфонамідо, де кожна R містить 1, 2, 3 або 4 карбони. Сульфонамідогрупу, як варіант, заміщено одним або більше замісниками, описаними для алкілу, циклоалкілу, арилу, гетероарилу відповідно.

Хімічні об'єкти включають (не лише) сполуки формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII і XIV і всі їх фармацевтично прийнятні форми. Фармацевтично прийнятні форми цих сполук включають фармацевтично прийнятні солі, хелати, нековалентні комплекси, проліки і їх суміші. У деяких втіленнях сполуки, описані тут, мають форму фармацевтично прийнятних солей. Отже, терміни "хімічний об'єкт" і "хімічні об'єкти" також включають фармацевтично прийнятні солі, хелати, нековалентні комплекси, проліки і їх суміші.

Якщо сполука формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV є кислото-адитивною сіллю, вільна основа може бути отримана підлужуванням розчину кислотної солі. Якщо продукт є вільною основою, адитивна сіль, зокрема, фармацевтично прийнятна адитивна сіль може бути отримана розчиненням вільної основи у придатному органічному розчиннику і обробкою розчину кислотою за звичайною процедурою приготування кислото-адитивної солі з основної сполуки. Фахівцям відомі різні способи синтезу приготування нетоксичних фармацевтично прийнятні адитивні солі.

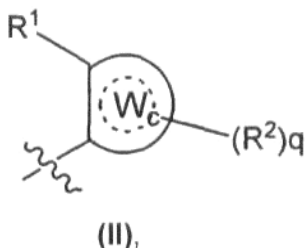
В одному з аспектів винаходу включає сполуку формули I або її фармацевтично прийнятну сіль:



де

$W_a^1$  -  $CR^3$  або N;  $W_a^2$  -  $CR^5$  або N;  $W_a^3$  -  $CR^6$  або N;  $W_a^4$  - N або  $CR^7$ ;  $W_b^5$  -  $CR^8$ ,  $CHR^8$  або N; де не більш, ніж два суміжні кільцеві атоми, вибрані з  $W_a^1$ ,  $W_a^2$ ,  $W_a^3$ ,  $W_a^4$  і  $W_b^5$ , є гетероатомами;  $W_d$  - гетероциклоалкіл, арил або гетероарил; B - алкіл, аміно, гетероалкіл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або компонент формули II:

5



де  $W_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл і q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

X відсутня або є  $-(CH(R^9))_z$  і у кожному випадку z незалежно дорівнює 1, 2, 3 або 4;

10 Y відсутня або є  $S(=O)_2$ -,  $-S(=O)_2$ -,  $-N(R^9)$ -,  $-C(=O)-CHR^9$ -,  $-C(=O)$ -,  $-N(R^9)-C(=O)$ - або  $-N(R^9)-C(=O)NH$ -,  $-N(R^9)C(RV$  або  $-C(=C)-(CHR^9)_z$ ;

$R^1$  - гідроген, алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат;

15  $R^2$  - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат;

$R^3$  - гідроген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, арил або гетероарил;

20  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$  і  $R^8$  - незалежно гідроген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси або нітро; і

у кожному випадку  $R^9$  - незалежно гідроген,  $C_1$ - $C_{10}$ алкіл,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкіл, гетероциклоалкіл або  $C_2$ - $C_{10}$ гетероалкіл.

25 У деяких втіленнях  $W_a^1$  -  $CR^3$ . У деяких втіленнях  $W_a^1$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  і  $R^5$ .

У деяких втіленнях  $W_a^2$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^3$  -  $CR^6$ . У деяких втіленнях  $W_a^3$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^4$  -  $CR^7$ . У деяких втіленнях  $W_a^4$  - N. У деяких втіленнях  $W_b^5$  -  $CR^8$ . У деяких втіленнях  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_b^5$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  -  $CR^6$  і  $W_a^4$  -  $CR^7$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  - N,  $W_a^3$  -  $CR^6$  і  $W_a^4$  -  $CR^7$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  - N і  $W_a^4$  -  $CR^7$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  -  $CR^6$  і  $W_a^4$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  і  $W_a^3$  - N і  $W_a^4$  -  $CR^7$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$  і  $W_a^3$  і  $W_a^4$  - N. У деяких втіленнях  $W_b^5$  -  $CR^8$ . У деяких втіленнях  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_b^5$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  -  $CR^6$ ,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  -  $CR^6$ ,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  - N,  $W_a^3$  -  $CR^6$ ,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  - N,  $W_a^3$  -  $CR^6$ ,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  -  $CR^6$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  -  $CR^6$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  -  $CR^6$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  і  $W_a^3$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  і  $W_a^3$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  - N. У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  і  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ . У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^3$  і  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  - N.

У деяких втіленнях B - незаміщений або заміщений алкіл, включаючи (не лише)  $-(CH_2)_2-NR^aR^a$ , кожна  $R^a$  - незалежно гідроген, алкіл, флуоралкіл, карбоцикліл, карбоциклілалкіл, арил, аралкіл, гетероциклоалкіл, гетероциклоалкілалкіл, гетероарил або гетероарилалкіл або  $NR^aR^a$  разом утворюють циклічний компонент, який включає (не лише) піперідиніл, піперазиніл і морфолініл. У деяких втіленнях B - незаміщена або заміщена аміно. У деяких втіленнях B - незаміщений або заміщений гетероалкіл.

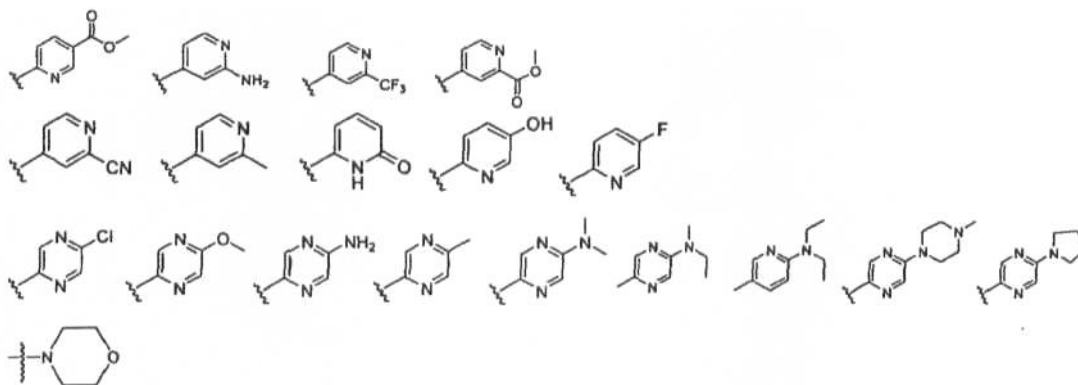
50 У деяких втіленнях B - компонент формули II



10

У деяких втіленнях В - один з таких компонентів:





В заміщено одним або більше алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, гетероарилом алкокси, амідом, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамідом, галогеном, ціано, гідрокси або нітро, причому алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, гетероарил, алкокси, амідом, аміно, ацил, ацилокси або сульфонамідом можуть бути заміщені.

У деяких втіленнях  $R^1$  - член групи, яку складають гідроген, незаміщений або заміщений алкіл, незаміщений або заміщений гетероалкіл, незаміщений або заміщений алкеніл, незаміщений або заміщений алкініл, незаміщений або заміщений циклоалкіл або незаміщений або заміщений гетероциклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^1$  - незаміщений або заміщений арил, незаміщений або заміщений арилалкіл, незаміщений або заміщений гетероарил або незаміщений або заміщений гетероарилалкіл. У деяких втіленнях  $R^1$  - незаміщений або заміщений алкокси, незаміщений або заміщений амід, незаміщений або заміщений аміно. У деяких втіленнях  $R^1$  - незаміщений або заміщений ацил, незаміщений або заміщений ацилокси, незаміщений або заміщений алкоксикарбоніл або незаміщений або заміщений сульфоамід. У деяких втіленнях  $R^1$  - галоген, включаючи -Cl, -F, -I і -Br. У деяких втіленнях  $R^1$  вибрано з групи, яку складають ціано, гідрокси, нітро, незаміщений або заміщений фосфат, незаміщена або заміщена сечовина і карбонат.

У деяких втіленнях, коли  $R^1$  - алкіл,  $R^1$  - метил, етил, пропіл, ізопропіл, n-бутил, трет-бутил, втор-бутил, пентил, гексил або гептил.

У деяких втіленнях, коли  $R^1$  - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід або гідрокси,  $R^1$  заміщено фосфатом або незаміщеною сечовиною, або заміщеною сечовиною, або карбоною кислотою, або карбонатом.

У деяких втіленнях, коли  $R^1$  - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, ариалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамід,  $R^1$  замінено одним або більше алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, ариалкілом, гетероарилом, гетероарилалкілом, алкокси, амід, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамід, галогеном, ціано, гідрокси або нітро, кожний з яких може бути замінений.

У деяких втіленнях  $R^2$  - член групи, яку складають незаміщений або заміщений алкіл, незаміщений або заміщений гетероалкіл, незаміщений або заміщений алкеніл, незаміщений або заміщений алкініл, незаміщений або заміщений циклоалкіл і незаміщений або заміщений гетероциклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^2$  - незаміщений або заміщений арил, незаміщений або заміщений арилалкіл, незаміщений або заміщений гетероарил або незаміщений або заміщений гетероарилалкіл. У деяких втіленнях  $R^2$  - незаміщений або заміщений алкокси, незаміщений або заміщений амід, незаміщений або заміщений аміно. У деяких втіленнях  $R^2$  - незаміщений або заміщений ацил, незаміщений або заміщений ацилокси, незаміщений або заміщений алкоксикарбоніл або незаміщений або заміщений сульфонамід. У деяких втіленнях  $R^2$  - галоген, тобто -I, -F, -Cl або -Br. У деяких втіленнях  $R^2$  вибрано з групи, яку складають ціано, гідрокси, нітро, карбонова кислота і карбонат. У деяких втіленнях  $R^2$  - незаміщений або заміщений фосфат. У деяких втіленнях  $R^2$  - незаміщена або заміщена сечовина. У деяких втіленнях, коли  $R^2$  - алкіл,  $R^2$  - метил, етил, пропіл, ізопропіл, n-бутил, трет-бутил, втор-бутил, пентил, гексил або гептил.

У деяких втіленнях, коли  $R^2$  - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил,

ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамідо або гідрокси,  $R^2$  заміщено фосфатом, заміщеним сечовиною або заміщеним карбонатом.

У деяких втіленнях, коли  $R^2$  - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамідо,  $R^2$  заміщено одним або більше алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, гетероарилом, алкокси, амід, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамідо, галогеном, ціано, гідрокси або нітро, і кожний з алкілу, гетероалкілу, алкенілу, алкінілу, циклоалкілу, гетероциклоалкілу, арилу, гетероарилу, алкокси, амід, аміно, ацилу, ацилокси, алкоксикарбонілу або сульфонамідо може бути заміщений.

У деяких втіленнях  $q = 0$ . У деяких втіленнях  $q = 1$ . У деяких втіленнях  $q = 2$ . У деяких втіленнях  $q = 3$ . У деяких втіленнях  $q = 4$ .

У деяких втіленнях  $R^3$  - член групи, яку складають гідроген, незаміщений або заміщений алкіл, незаміщений або заміщений алкеніл і незаміщений або заміщений алкініл. У деяких втіленнях  $R^3$  - незаміщений або заміщений арил, незаміщений або заміщений гетероарил, незаміщений або заміщений циклоалкіл, або незаміщений або заміщений гетероциклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^3$  - незаміщений або заміщений алкокси, незаміщений або заміщений амід, незаміщений або заміщений аміно. У деяких втіленнях  $R^3$  - незаміщений або заміщений ацил, незаміщений або заміщений ацилокси, незаміщений або заміщений алкоксикарбоніл або незаміщений або заміщений сульфонамідо. У деяких втіленнях  $R$  - галоген, тобто -I, -F, -Cl або -Br.

У деяких втіленнях  $R^3$  вибрано з групи, яку складають ціано, гідрокси і нітро. У деяких втіленнях, коли  $R^3$  - алкіл,  $R^3$  - метил, етил, пропіл, ізопропіл, n-бутил, трет-бутил, втор-бутил, пентил, гексил або гептил. У деяких втіленнях  $R^3$  -  $-CF_3$ .

У деяких втіленнях, коли  $R^3$  - алкіл, алкеніл, алкініл, арил, гетероарил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамідо,  $R^3$  заміщено одним або більше алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, гетероарилом, алкокси, амід, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамідо, галогеном, ціано, гідрокси або нітро і кожний алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, гетероарил, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамідо може бути заміщений.

У деяких втіленнях  $R^5$  - гідроген, незаміщений або заміщений алкіл (включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ алкіл). У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений алкеніл, включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_2$ - $C_5$ алкеніл. У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений алкініл, включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_2$ - $C_5$ алкініл. У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений циклоалкіл, включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_3$ - $C_5$ циклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений гетероциклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ гетероалкіл. У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений алкокси, включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ алкокси. У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений амід, включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ амід. У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений аміно. У деяких втіленнях  $R^5$  - незаміщений або заміщений ацил, незаміщений або заміщений ацилокси, незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ ацилокси, незаміщений або заміщений алкоксикарбоніл, незаміщений або заміщений сульфонамідо, або незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ сульфонамідо. У деяких втіленнях  $R^5$  - галоген, тобто -I, -F, -Cl або -Br. У деяких втіленнях  $R^5$  вибрано з групи, яку складають ціано, гідрокси і нітро. У деяких інших втіленнях  $R^5$  -  $CH_3$ , - $CH_2CH_3$ , n-пропіл, ізопропіл, - $OCH_3$ , - $OCH_2CH_3$  або - $CF_3$ .

У деяких втіленнях, коли  $R^5$  - алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероалкіл, ацил, алкокси, амід, аміно, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамідо,  $R^5$ , як варіант, заміщено одним або більше алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, гетероарилом, алкокси, амід, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамідо, галогеном, ціано, гідрокси або нітро, і кожний алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, гетероарил, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамідо може бути заміщений.

У деяких втіленнях  $R^6$  - гідроген, незаміщений або заміщений алкіл (включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ алкіл). У деяких втіленнях  $R^6$  - незаміщений або заміщений алкеніл, включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_2$ - $C_5$ алкеніл. У деяких втіленнях  $R^6$  - незаміщений або заміщений алкініл, включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_2$ - $C_5$ алкініл. У деяких втіленнях  $R^6$  - незаміщений або заміщений циклоалкіл, включаючи (не лише)





У деяких втіленнях, коли  $R^8$  - алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероалкіл, ацил, алкокси, амід, аміно, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамід,  $R^8$ , як варіант, замінено одним або більше алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, гетероарилом, алкокси, амід, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамідом, галогеном, ціано, гідрокси або нітро, і кожний алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, гетероарил, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамід може бути замінений.

У деяких втіленнях  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$  і  $R^8$  є Н

У деяких втіленнях Х відсутня. У деяких втіленнях Х -  $-(CH(R^9))_z$  і z дорівнює 1, 2, 3 або 4.

У деяких втіленнях  $R^9$  - незаміщений або замінений алкіл, включаючи (не лише) незаміщений або замінений  $C_1$ - $C_{10}$ алкіл. У деяких втіленнях  $R^9$  - незаміщений або замінений циклоалкіл, включаючи (не лише) незаміщений або замінений  $C_3$ - $C_7$ циклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^9$  - метил або гідроген. У деяких втіленнях  $R^9$  - незаміщений або замінений гетероциклоалкіл, включаючи (не лише) незаміщений або замінений  $C_2$ - $C_{10}$ гетероалкіл. У деяких втіленнях  $R^9$  - незаміщений або замінений гетероалкіл, включаючи (не лише) незаміщений або замінений  $C_2$ - $C_{10}$ гетероалкіл.

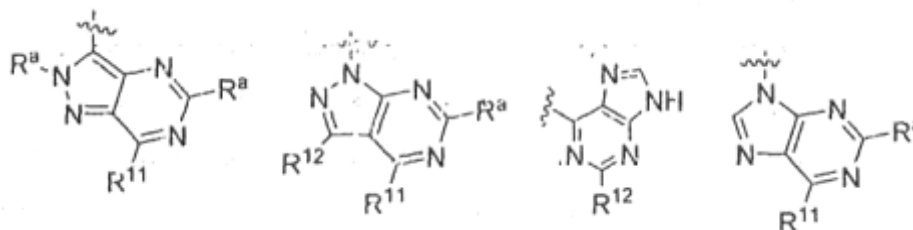
Коли  $R^9$  є будь-якою з наведених вище сполук, у деяких втіленнях Х -  $-CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2-$ ,  $-CH(CH_3)-$  або  $-CH(CH_2CH_3)-$ . У деяких втіленнях, коли Х -  $-CH(CH_3)-$ ,  $-CH(CH_3)-$  має (S)- або (R)-стереохімічну конфігурацію.

У деяких втіленнях сполуки формули I, Y відсутня. У деяких втіленнях Y -  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-N(R^9)(C=O)-$ ,  $-N(R^9)(C=O)NH-$ ,  $-N(R^9)C(R^9)_2$  (наприклад,  $-N(R^9)CH_2-$ , зокрема,  $-N(CH_3)CH_2-$ ,  $N(CH(CH_3)_2)CH_2-$  або  $N(CH_2CH_3)CH_2-$ ),  $-N(R^9)-$ ,  $-N(CH_3)-$ ,  $-N(CH_2CH_3)-$  або  $-N(CH(CH_3)_2)-$ . У деяких втіленнях Y -  $-C(=O)-(CHR^9)_z-$  і z дорівнює 1, 2, 3 або 4.

У деяких втіленнях Х-Y є  $-CH_2-$ ,  $-CH_2-N(CH_3)-$ ,  $-CH(CH_3)-NH-$ , (S)- $CH(CH_3)-NH-$  або (R)- $CH(CH_3)-NH-$ . У деяких втіленнях Х-Y є  $-N(CH_3)CH_2-$ ,  $N(CH_2CH_3)CH_2-$ ,  $-N(CH(CH_3)_2)CH_2-$  або  $-NHCH_2-$ .

У деяких втіленнях  $W_d$  - член групи, яку складають незаміщений або замінений гетероциклоалкіл, незаміщений або замінений арил і незаміщений або замінений гетероарил. У деяких втіленнях  $W_d$  - незаміщений або замінений моноциклічний гетероарил або незаміщений або замінений біциклічний гетероарил. У деяких втіленнях  $W_d$  - біциклічний гетероарил з щонайменше одним гетероатомом, наприклад, біциклічний гетероарил з щонайменше одним нітрогеном як кільцевим атомом. У деяких втіленнях  $W_d$  - біциклічний гетероарил з щонайменше двома гетероатомами, наприклад, біциклічний гетероарил з щонайменше двома нітрогенами у кільці. У деяких втіленнях  $W_d$  - біциклічний гетероарил з двома гетероатомами у кільці, приєднаними до ХY. У деяких втіленнях  $W_d$  - біциклічний гетероарил з двома нітрогенами у кільці, приєднаними до ХY. У деяких втіленнях  $W_d$  - біциклічний гетероарил з 4 гетероатомами, наприклад, біциклічний гетероарил з 4 нітрогенами як кільцевими атомами. У деяких втіленнях  $W_d$  - незаміщений або замінений 4-аміно-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл, незаміщений або замінений 7-аміно-2-метил-2H-піразоло-[4,3-d]піримідин-3-іл, незаміщений або замінений 6-метиленіл-9H-пурин-6-іл або незаміщений або замінений 6-аміно-9H-пурин-9-іл.

У деяких втіленнях  $W_d$  - один з таких компонентів:

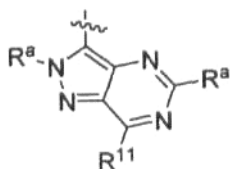


де  $R^a$  - гідроген, галоген, фосфат, сечовина, карбонат, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероалкіл або гетероциклоалкіл;

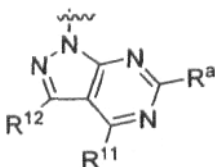
$R^{11}$  - Н, алкіл, галоген, аміно, амід, гідрокси або алкокси і

$R^{12}$  - Н, алкіл, ціано, алкініл, алкеніл, галоген, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл, циклоалкіл, аміно, карбонова кислота, алкоксикарбоніл або амід.

У деяких втіленнях  $W_d$  є:

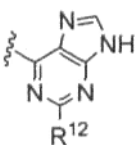


У деяких втіленнях  $W_d$  є:



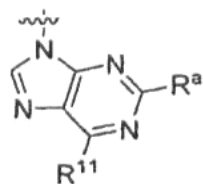
5

У деяких втіленнях  $W_d$  є:



10

У деяких втіленнях  $W_d$  є:



15

У деяких втіленнях  $W_d$   $R^a$  - група, яку складають гідроген, галоген, фосфат, сечовина, карбонат, незаміщений або заміщений алкіл, незаміщений або заміщений алкеніл, незаміщений або заміщений алкініл, незаміщений або заміщений циклоалкіл, незаміщений або заміщений гетероалкіл і незаміщений або заміщений гетероциклоалкіл.

20

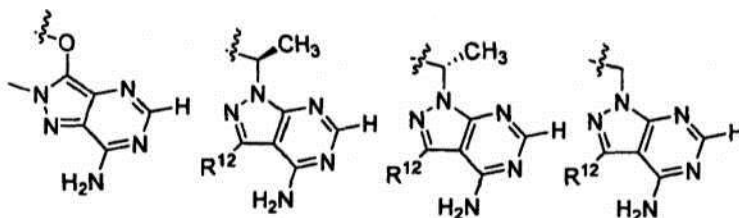
У деяких втіленнях  $W_d$ , коли  $R^a$  - алкіл, алкініл, циклоалкіл, гетероалкіл або гетероциклоалкіл,  $R^a$  заміщено фосфатом, сечовиною або карбонатом.

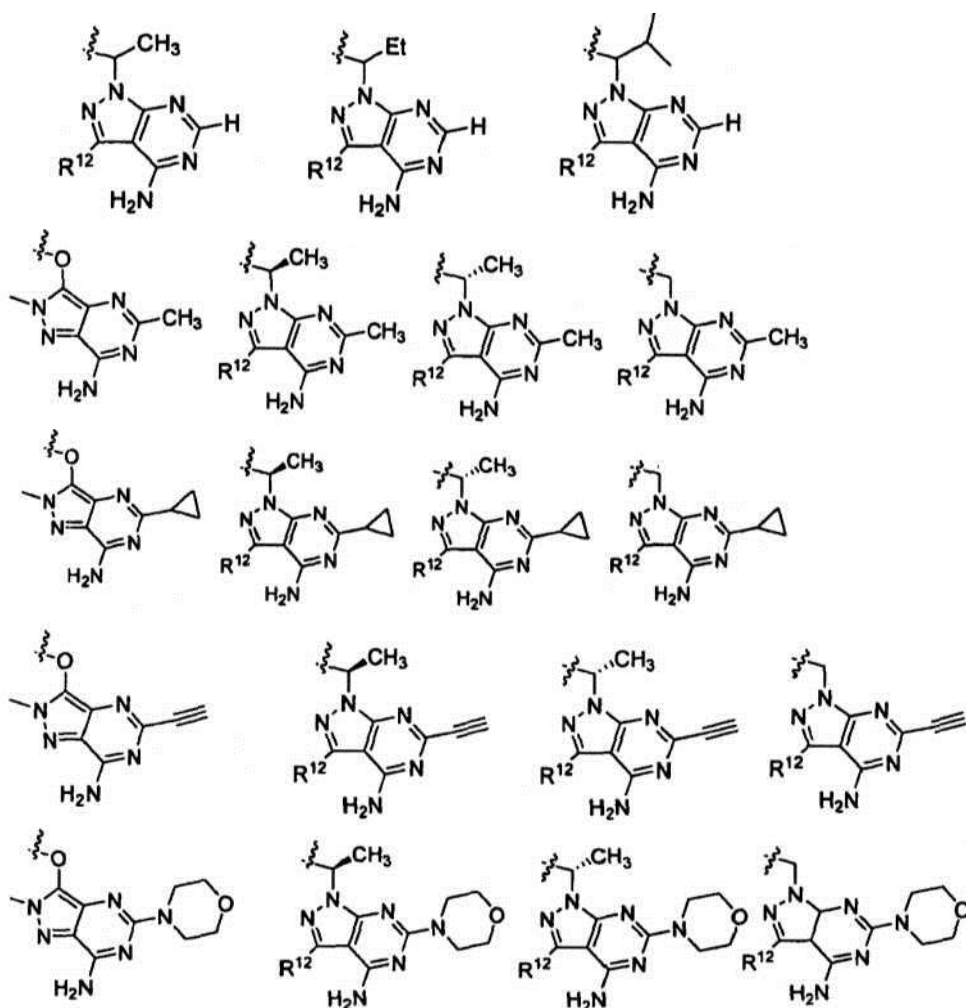
У деяких втіленнях  $R^{11}$  - член групи, яку складають гідроген, незаміщений або заміщений алкіл і галоген, тобто -I, -F, -Cl або -Br. У деяких втіленнях  $R^{11}$  - незаміщений або заміщений аміно, незаміщений або заміщений амід, гідрокси або незаміщений або заміщений алкокси. У деяких втіленнях  $R^{11}$  - фосфат, незаміщена або заміщена сечовина або карбонат.

25

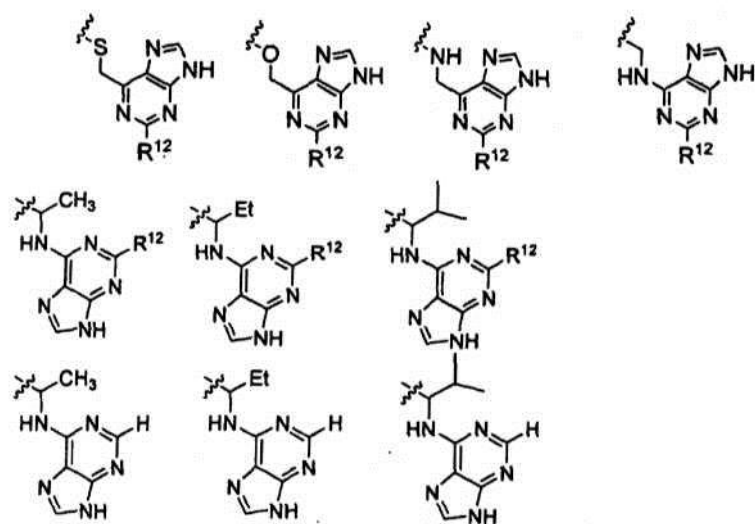
У деяких втіленнях, коли  $R^{11}$  - алкіл, аміно, амід, гідрокси або алкокси,  $R^{11}$  заміщено фосфатом, сечовиною або карбонатом.

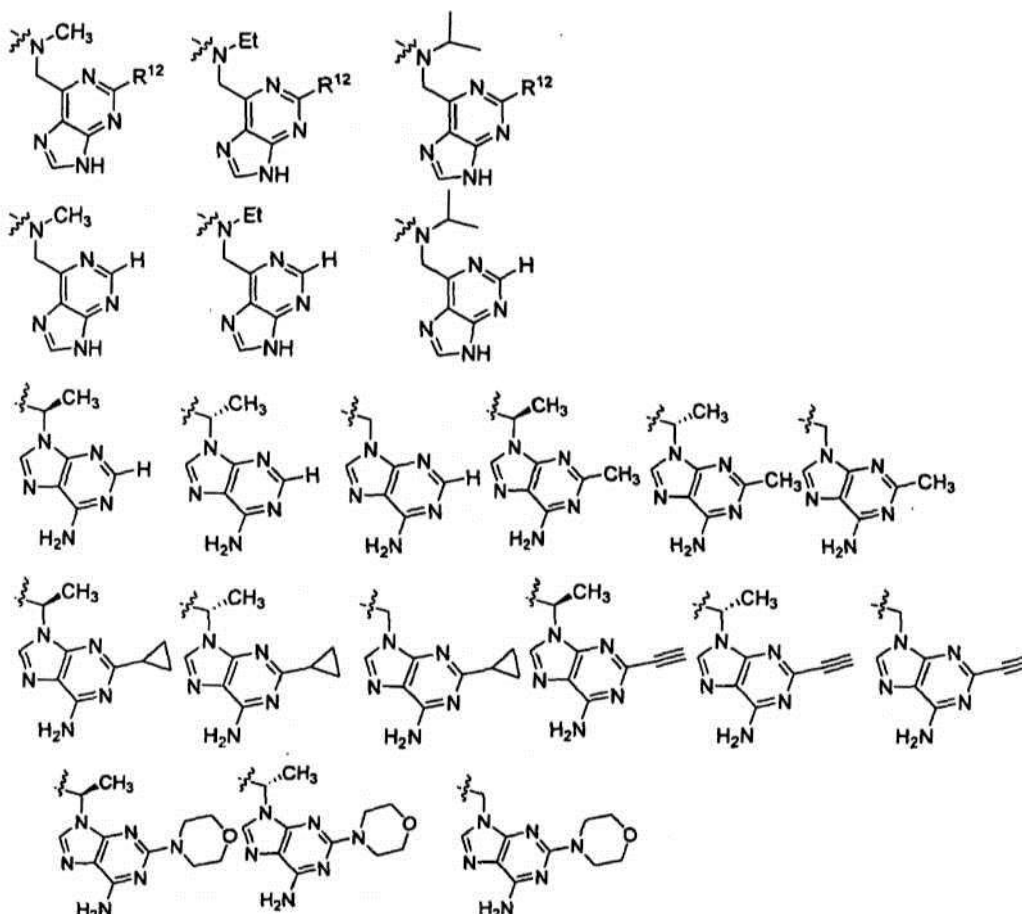
У деяких втіленнях -X-Y- $W_d$  є одним з таких компонентів:





5





- 5 У деяких втіленнях  $R^{12}$  - член групи, яку складають гідроген, ціано, галоген, незаміщений або заміщений алкіл і незаміщений або заміщений алкініл, незаміщений або заміщений алкеніл. У деяких втіленнях  $R^{12}$  - незаміщений або заміщений арил. У деяких втіленнях  $R^{12}$  - незаміщений або заміщений гетероарил, який включає (не лише) гетероарил з 5-членним кільцем, гетероарил з 6-членним кільцем, гетероарил з щонайменше одним нітрогеном як кільцевим атомом, гетероарил з двома нітрогенами як кільцевими атомами, моно циклічний гетероарил і біциклічний гетероарил. У деяких втіленнях  $R^{12}$  - незаміщений або заміщений гетероциклоалкіл, включаючи (не лише) гетероциклоалкіл з одним нітрогеном як кільцевим атомом, гетероциклоалкіл з одним оксигеном як кільцевим атомом, гетероциклоалкіл з одним сульфуром як кільцевим атомом, 5-членний гетероциклоалкіл, 6-членний гетероциклоалкіл, насичений гетероциклоалкіл, ненасичений гетероциклоалкіл, гетероциклоалкіл з ненасиченим компонентом, приєднаним до гетероциклоалкільного кільця, гетероциклоалкіл, заміщений оксо і гетероциклоалкіл, заміщений двома оксо. У деяких втіленнях  $R^{12}$  - незаміщений або заміщений циклоалкіл, включаючи (не лише) циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклоалкіл, заміщений одним оксо, циклоалкіл з ненасиченим компонентом, приєднаним до циклоалкільного кільця. У деяких втіленнях  $R^{12}$  - незаміщений або заміщений амід, карбонова кислота, незаміщений або заміщений ацилокси або незаміщений або заміщений алкоксикарбоніл.

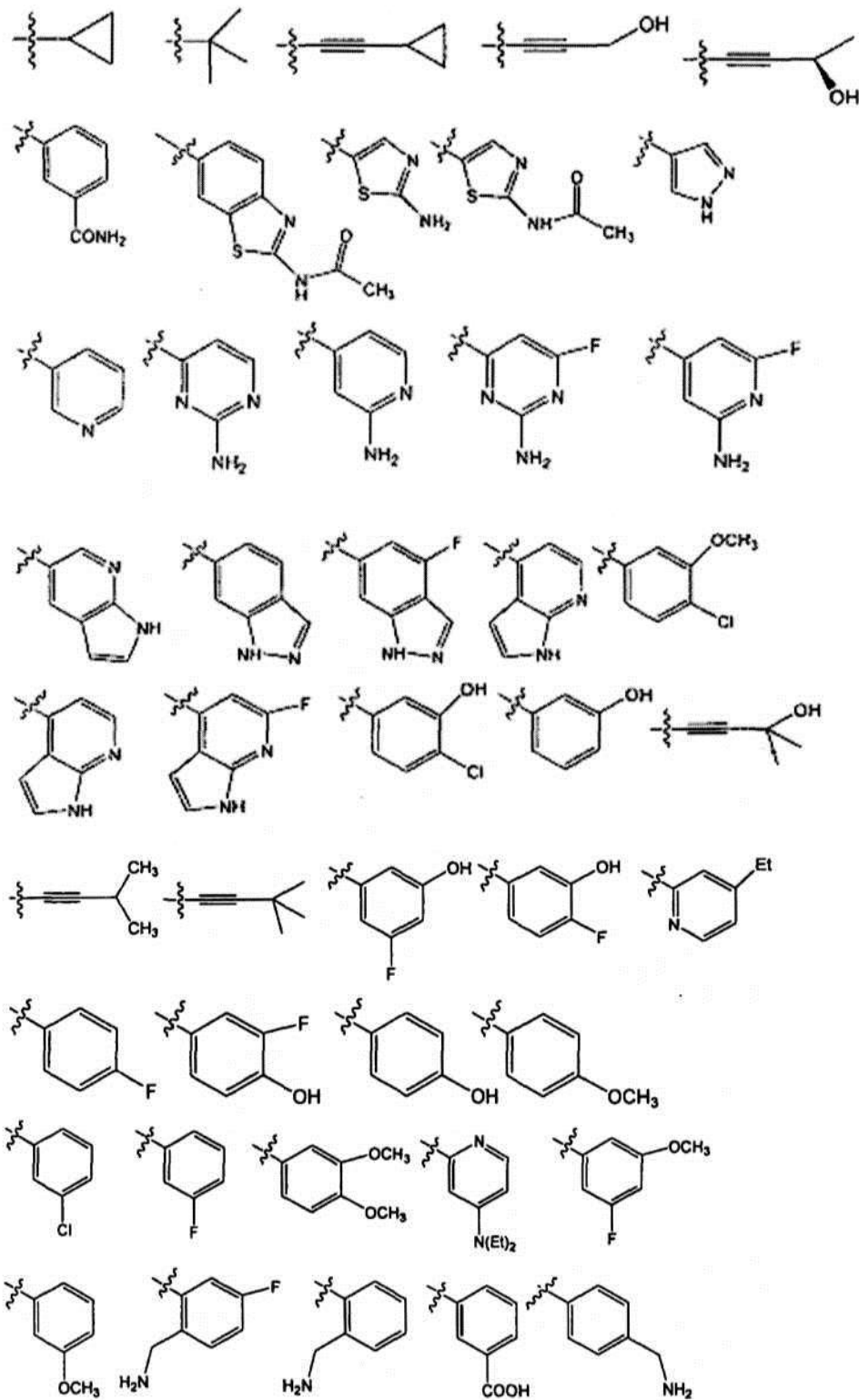
У деяких втіленнях, коли  $R^{12}$  - алкіл, алкініл, алкеніл, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл,  $R^{12}$  заміщено фосфатом. У деяких втіленнях, коли  $R^{12}$  - алкіл, алкініл, алкеніл, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл,  $R^{12}$  заміщено сечовиною. У деяких втіленнях, коли  $R^{12}$  - алкіл, алкініл, алкеніл, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл,  $R^{12}$  заміщено карбонатом.

У деяких втіленнях, коли  $R^{12}$  - алкіл, алкініл, алкеніл, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл, циклоалкіл, алкоксикарбоніл, амід або ацилокси,  $R^{12}$  заміщено одним або більше алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, гетероарилом, алкокси, амідом, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамідом, галогеном, ціано, гідрокси або нітро, і кожний алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл,

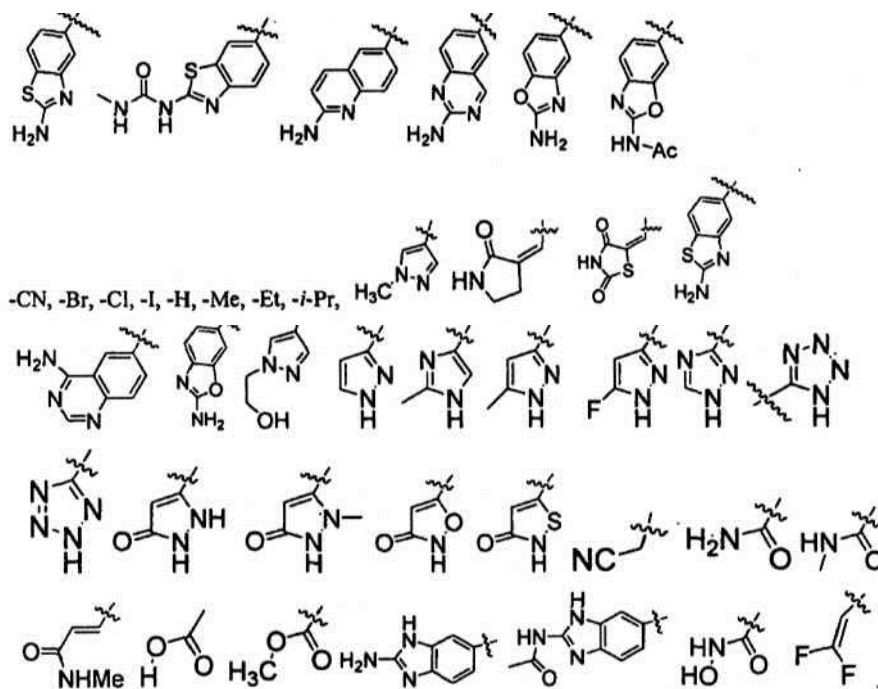
арил, гетероарил, алкокси, амідо, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл або сульфонамідо може бути заміщений.

У деяких втіленнях  $R^{12}$  у  $W_d$  є одним з таких компонентів:

5

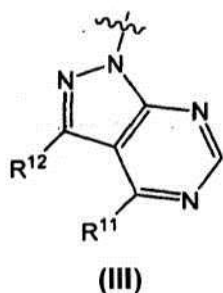


10



У деяких втіленнях  $W_d$  - піразолопіримідин формули III:

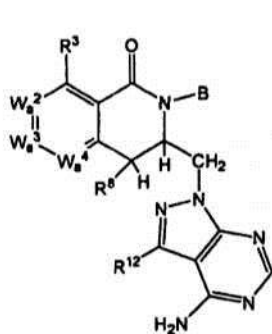
5



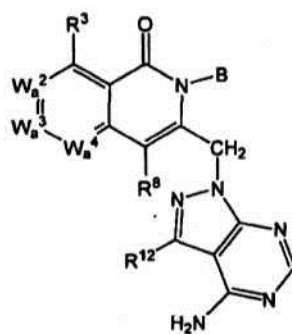
де

- 10  $R^{11}$  - H, алкіл, галоген, аміно, амід, гідрокси або алкокси і  $R^{12}$  - H, алкіл, алкініл, алкеніл, галоген, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^{11}$  - аміно і  $R^{12}$  - H, алкіл, алкініл, алкеніл, галоген, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^{11}$  - аміно і  $R^{12}$  - алкіл, галоген, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл. У деяких втіленнях  $R^{11}$  - аміно і  $R^{12}$  - моноциклічний гетероарил. У деяких втіленнях  $R^{11}$  - аміно і  $R^{12}$  - біциклічний гетероарил. У деяких втіленнях  $R^{11}$  - аміно і  $R^{12}$  - ціано, аміно, карбонова кислота, ацилокси, алкоксикарбоніл або амід.

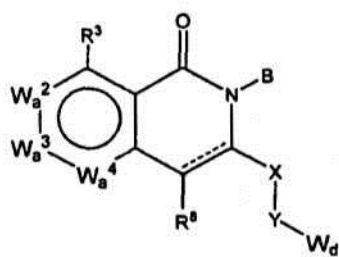
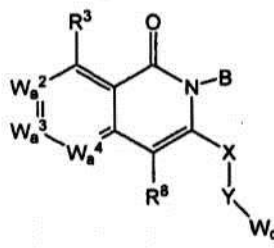
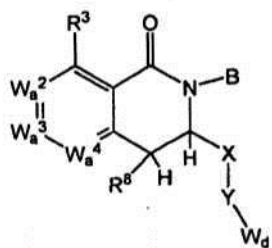
У деяких втіленнях сполукою формули I є сполука, яка має структуру, вибран з групи, яку складають формули 1-A, 1-B, 2-A, 2-B. IV, V, V-A, VI, VI-A, VI-B, VI-C, 6-C1, 6-C2, V-1-D і 6-D:



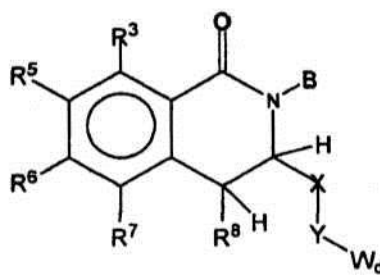
(1-a) (1-B)



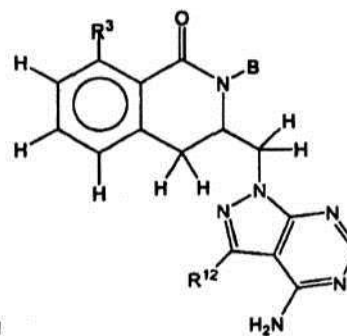
(2-a) (2-B)



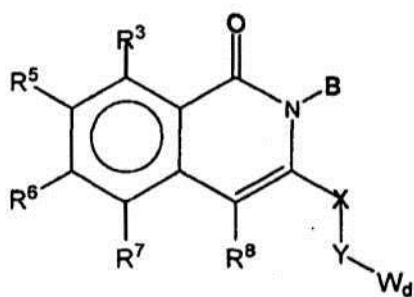
(IV)



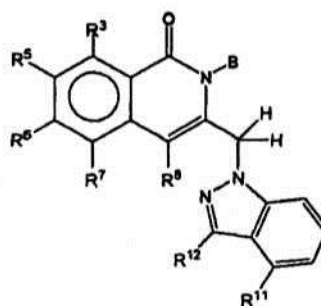
(V)



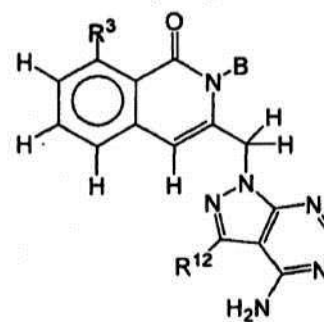
(V-A)



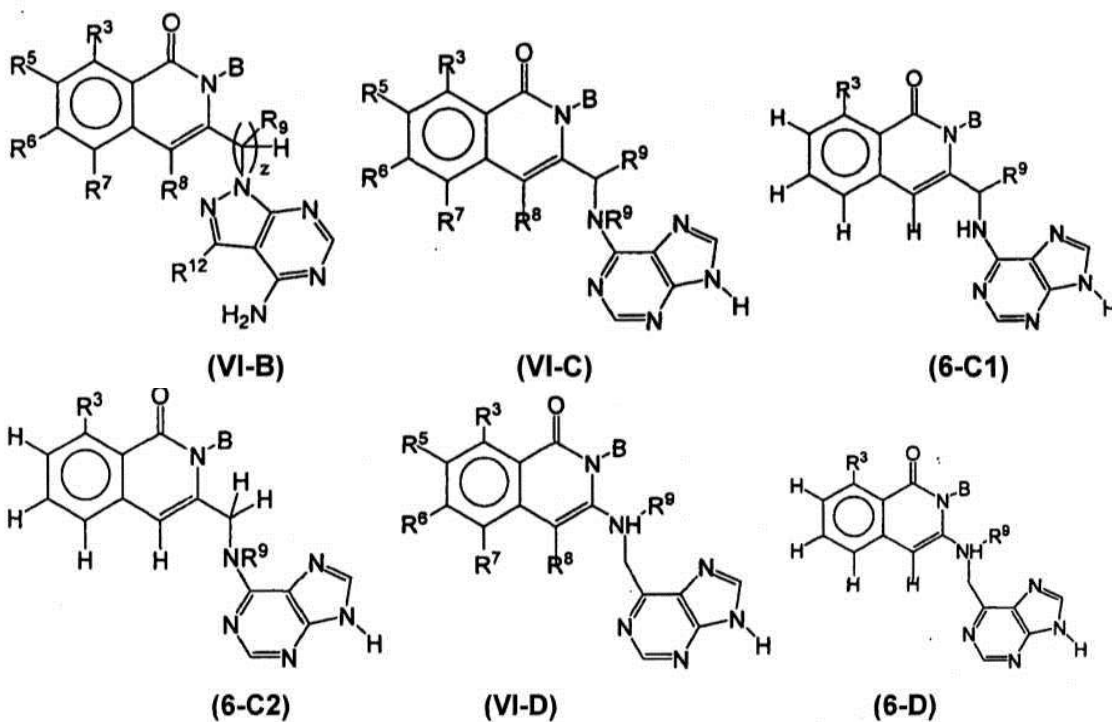
(VI)



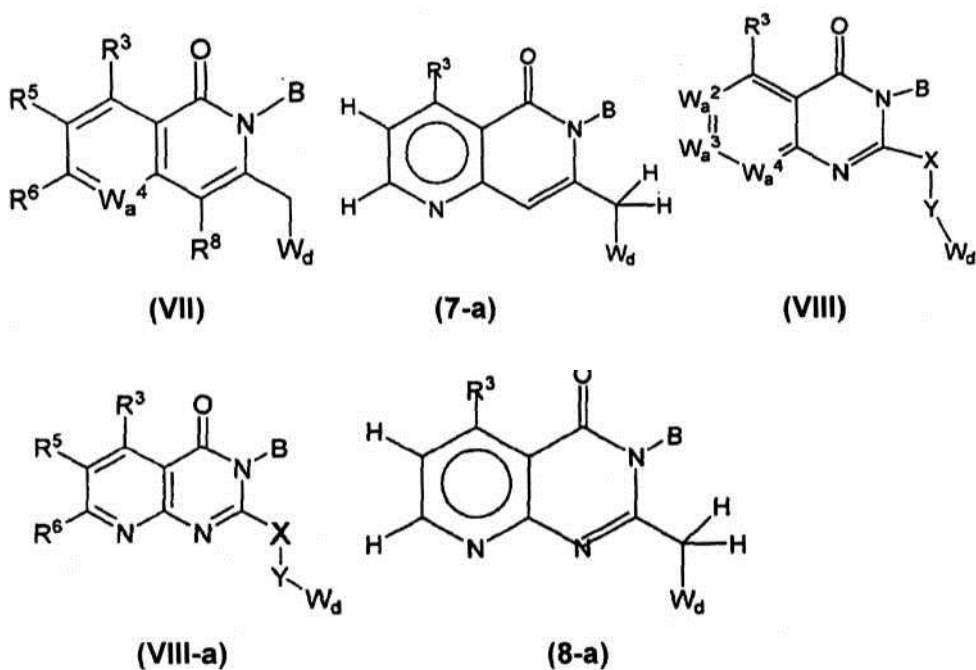
(VI-A)



(6-a)



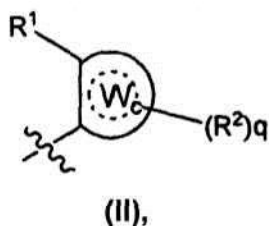
В іншому втіленні, сполукою формули I є сполука з структурою, вибраною з групи, яку складають формули VII, 7-A, VIII, VIII-A і 8-A:



Будь-які з описаних елементів і їх замісників для сполук формули I можуть бути використані у будь-якій комбінації.

В одному з аспектів для сполук формул I, IV, V, VI, VII або VIII R<sub>3</sub> - H, CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, Cl, F, арил або гетероарил; B - алкіл або компонент формули II:





де

5  $W_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $R^1$  - H, -F, -Cl, -CN, -CH<sub>3</sub>, ізопропіл, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, нітро або фосфат;  $R^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат; q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$  і  $R^8$  - H; X відсутня або (CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub> і z = 1; Y відсутня або є -NCR<sup>9</sup>-, або -N(R<sup>9</sup>)CHCR<sup>9</sup>-;  $R^9$  - гідроген, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкіл, C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкіл або C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>гетероалкіл; і  $W_d$  - піразолопіримідин або пурин.

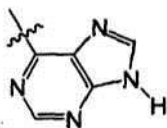
10 В іншому аспекті для сполук формули I, IV, V, VI, VII або VIII  $R_3$  - H, CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, Cl або F; B - алкіл або компонент формули II, яким є арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $R^1$  - H, -F, -Cl, -CN, -CH<sub>3</sub>, ізопропіл, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, нітро або фосфат;  $R^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат; q дорівнює 0, 1 або 2;  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$  і  $R^8$  є H; X відсутня або є (CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub> і z = 1; Y відсутня, або є -NCR<sup>9</sup>-, або -NCR<sup>9</sup>)CH(R<sup>9</sup>)-;  $R^9$  - гідроген, метил або етил;

 $W_d$  є

15



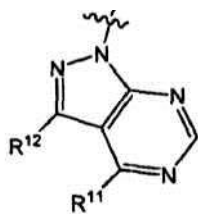
або



20

$R^{11}$  - аміно;  $R^{12}$  - H, алкіл, алкініл, алкеніл, галоген, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл, циклоалкіл, ціано, аміно, карбонова кислота, алкоксикарбоніл або амід.

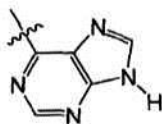
25 В іншому аспекті для сполук формули I, IV, V, VI, VII або VIII  $R_3$  - H, CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, Cl або F; B - алкіл або компонент формули II, яким є арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $R^1$  - H, -F, -Cl, -CN, -CH<sub>3</sub>, ізопропіл, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, нітро або фосфат;  $R^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат; q дорівнює 0,1 або 2;  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  є H; X - (CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub> і z = 1; Y відсутня і  $W_d$  є:



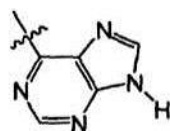
30

$R^{11}$  - аміно; і  $R^{12}$  - H, алкіл, алкініл, алкеніл, галоген, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл, циклоалкіл, ціано, аміно, карбонова кислота, алкоксикарбоніл або амід.

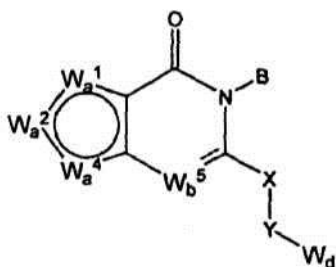
35 В іншому аспекті для сполук формули I, IV, V, VI, VII або VIII  $R_3$  - H, CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, Cl або F; B - алкіл або компонент формули II, яким є арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $R^1$  - H, -F, -Cl, -CN, -CH<sub>3</sub>, ізопропіл, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, нітро або фосфат;  $R^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат; q дорівнює 0,1 або 2;  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  є H; X - (CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub> і z = 1; Y - -N(R<sup>9</sup>)-;  $R^9$  - гідроген, метил або етил; і  $W_d$  є



- В іншому аспекті для сполук формули I, IV, V, VI, VII або VIII  $R_3$  - H,  $CH_3$ ,  $CF_3$ , Cl або F; B - алкіл або компонент формули II, яким є арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $R^1$  - H, -F, -Cl, -CN, - $CH_3$ , ізопропіл, - $CF_3$ , - $OCH_3$ , нітро або фосфат;  $R^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат; q дорівнює 0, 1 або 2;  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  є H; X відсутня; Y -  $-N(R^9)CHCR^9$ -;  $R^9$  - гідроген, метил або етил і  $W_d$  є



Винахід також включає сполуку формули IX або її фармацевтично прийнятну сіль

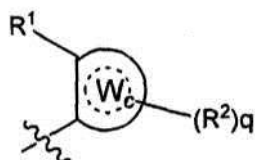


(IX)

де  $W_a^1$  і  $W_a^2$  - незалежно  $CR^5$ , S, N або  $NR^4$  і  $W_a^4$  - незалежно  $CR^7$ , S, N або  $NR^4$ , де не більше ніж два суміжні кільцеві атоми є нітрогеном або сульфуром і, коли  $W_a^1$  - S, одна з  $W_a^2$  і  $W_a^4$  є N або  $NR^4$ ;

$W_b^5$  -  $CR^8$ , N або  $NR^8$ ;

B - алкіл, аміно, гетероалкіл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або компонент формули II:



(II)

де  $W_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл, і

q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

$W_d$  відсутня або є гетероциклоалкілним, арильним або гетероарильним компонентом;

X відсутня або є  $-(CH(R^9))_z$ - і у кожному випадку z незалежно дорівнює 1, 2, 3 або 4;

Y відсутня або є -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -N(R<sup>9</sup>)-, -C(=O)-(CHRV, -C(=O)-, -N(R<sup>9</sup>)-C(=O)- або -NCR<sup>9</sup>)-, C(=O)NH-, -N(R<sup>9</sup>)C(R<sup>9</sup>)<sub>2</sub>- або -C(=O)-(CHR<sup>9</sup>)<sub>2</sub>-;

$R^1$  - гідроген, алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат;

$R^2$  - алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат;

$R^4$  - гідроген, ацил, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>гетероалкіл;

$R^5$ ,  $R^7$  і  $R^8$  - незалежно гідроген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси або нітро; у кожному випадку  $R^9$  - незалежно гідроген,  $C_1$ - $C_{10}$ алкіл,  $C_3$ - $C_7$ циклоалкіл, гетероцикло-алкіл або  $C_2$ - $C_{10}$ гетероалкіл.

Замісники для формули I є подібними замісникам для сполук формули IX, за винятком  $W_a^1$ ,  $W_a^2$ ,  $W_a^4$  і  $W_a^5$  (див. нижче).

У деяких втіленнях  $W_a^1$  -  $CR^5$ , S, N або  $NR^4$ .

У деяких втіленнях  $W_a^2$  -  $CR^5$ , S, N або  $NR^4$ .

У деяких втіленнях  $W_a^4$  -  $CR^7$ , S, N або  $NR^4$ .

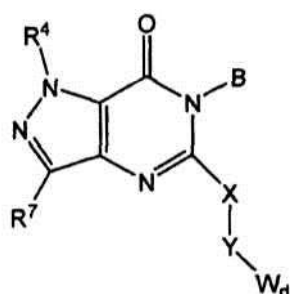
У деяких втіленнях  $W_b^5$  -  $CR^8$ , N або  $NR^8$ .

У деяких втіленнях сполука формули IX має структуру, яка є членом групи, яку складають (i)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (ii)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (iii)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  - N; (iv)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $NR^8$ ; (v)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (vi)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (vii)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  - N; (viii)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $NR^8$ ; (ix)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (x)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (xi)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  - N; (xii)  $W_a^1$  -  $NR^4$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $NR^8$ ; (xiii)  $W_a^1$  - S,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (xiv)  $W_a^1$  - S,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (xv)  $W_a^1$  - S,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  - N; (xvi)  $W_a^1$  - S,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - N і  $W_b^5$  -  $NR^8$ ; (xvii)  $W_a^1$  - N,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (xviii)  $W_a^1$  - N,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (xix)  $W_a^1$  - N,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  - N; (xx)  $W_a^1$  - N,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  -  $NR^8$ ; (xxi)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (xxii)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (xxiii)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  - N; (xxiv)  $W_a^1$  - S,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (xxv)  $W_a^1$  - S,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (xxvi)  $W_a^1$  - S,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  - N; (xxvii)  $W_a^1$  - S,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $CR^7$  і  $W_b^5$  -  $NR^8$ ; (xxviii)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $NR^4$  і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (xxix)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $NR^4$  і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (xxx)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $NR^4$  і  $W_b^5$  - N; (xxxi)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  - N,  $W_a^4$  -  $NR^4$  і  $W_b^5$  -  $NR^8$ ; (xxxii)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  -  $CHR^8$ ; (xxxiii)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  -  $CR^8$ ; (xxxiv)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  - N; і (xxxv)  $W_a^1$  -  $CR^5$ ,  $W_a^2$  -  $CR^5$ ,  $W_a^4$  - S і  $W_b^5$  -  $NR^8$ .

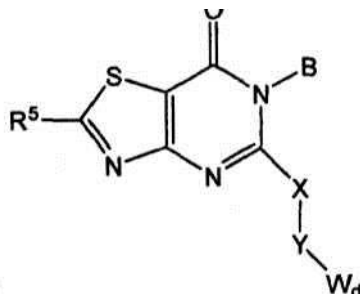
У деяких втіленнях  $R^4$  - член групи, яку складають гідроген, незаміщений або заміщений ацил, незаміщений або заміщений алкіл, який включає (не лише) незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ алкіл, незаміщений або заміщений алкеніл, який включає (не лише)  $C_2$ - $C_5$ алкеніл, незаміщений або заміщений алкініл, включаючи (не лише)  $C_2$ - $C_5$ алкініл, незаміщений або заміщений циклоалкіл, включаючи (не лише)  $C_3$ - $C_5$ циклоалкіл, незаміщений або заміщений гетероциклоалкіл і незаміщений або заміщений гетероалкіл, включаючи (не лише) незаміщений або заміщений  $C_1$ - $C_4$ гетероалкіл.

У деяких втіленнях, коли  $R^4$  - ацил, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або гетероалкіл,  $R^4$  заміщено одним або більше алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, гетероарилом, алкокси, амід, аміно, ацилом, ацилокси, сульфонамід, галогеном, ціано, гідрокси або нітро, і кожний алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, гетероарил, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси або сульфонамід може бути заміщений.

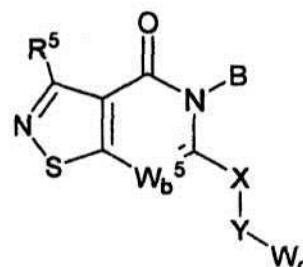
У деяких втіленнях сполукою формули IX є сполука з структурою, вибраний з групи, яку складають формули X, XI, XII, XIII і XIV:



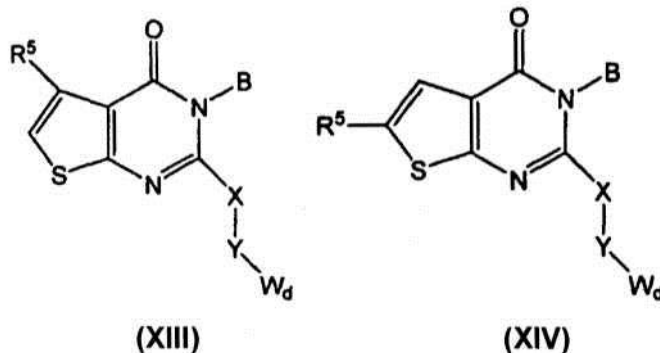
(X)



(XI)

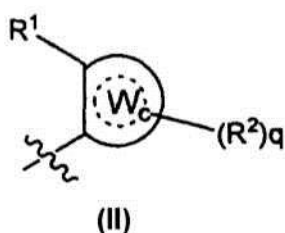


(XII)



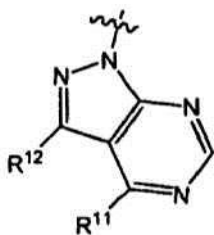
Будь-які з описаних елементів і їх замісників для сполук формули IX можуть бути використані у будь-якій комбінації.

В одному з аспектів для сполук формули IX, X, XI, XII, XIII або XIV В - алкіл або компонент формули II:

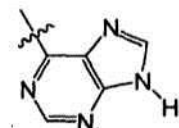


де  
 $W_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $R^1$  - H, -F, -Cl, -CN, -CH<sub>3</sub>, ізопропіл, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, нітро або фосфат;  $R^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат; q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  є H або метил; X відсутня або є (CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub> і z = 1; Y відсутня або є -N(R<sup>9</sup>)- або -NCR<sup>9</sup>); CH(R<sup>9</sup>)-;  $R^9$  - гідроген, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкіл, C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>циклоалкіл або C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>гетероалкіл; і  $W_d$  - піразолопіримідин або пурин.

В іншому аспекті для сполук формули IX, X, XI, XII, XIII або XIV В - алкіл або компонент формули II, де  $W_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $R^1$  - H, -F, -Cl, -CN, -CH<sub>3</sub>, ізопропіл, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, нітро або фосфат;  $R^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат; q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;  $R^4$ ,  $R^5$  і  $R^7$  є H або метил;  $R^8$  - H; X відсутня або є (CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub> і z = 1; Y відсутня або є -N(R<sup>9</sup>)-;  $R^9$  - гідроген, метил або етил;  $W_d$  є



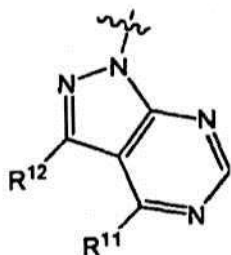
або



$R^{11}$  - аміно і  $R^{12}$  - алкіл, алкеніл, алкініл, галоген, арил, гетероарил, гетероцикло-алкіл, циклоалкіл, ціано, аміно, карбонова кислота, алкоксикарбоніл або амід.

В іншому аспекті для сполук формули IX, X, XI, XII, XIII або XIV В - компонент формули II, в якому  $W_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $R^1$  - H, -F, -Cl, -CN, -CH<sub>3</sub>,

ізопропіл,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OCH}_3$  або нітро;  $\text{R}^2$  - галоген, гідрокси, ціано або нітро;  $q$  дорівнює 0,1 або 2;  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  і  $\text{R}^7$  є Н або метил;  $\text{R}^8$  - Н;  $\text{X} - (\text{CH}_2)_z$  і  $z = 1$ ;  $\text{Y}$  відсутня і  $\text{W}_d$  є



5

$\text{R}^{11}$  - аміно; і  $\text{R}^{12}$  - Н, алкіл, алкініл, алкеніл, галоген, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл.

В іншому аспекті для сполук формули IX, X, XI, XII, XIII або XIV В - алкіл або компонент формули II, де  $\text{W}_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $\text{R}^1$  - Н,  $-\text{F}$ ,  $-\text{Cl}$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CH}_3$ , ізопропіл,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OCH}_3$ , нітро або фосфат;  $\text{R}^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат;  $q$  дорівнює 0,1 або 2;  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  і  $\text{R}^7$  є Н або метил;  $\text{R}^8$  - Н;  $\text{X} - (\text{CH}_2)_z$  і  $z = 1$ ;  $\text{Y}$  відсутня і  $\text{W}_d$  є

10

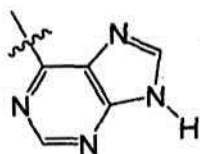


15

$\text{R}^{11}$  - аміно; і  $\text{R}^{12}$  - Н, алкіл, алкініл, алкеніл, галоген, арил, гетероарил, гетероциклоалкіл, циклоалкіл, ціано, аміно, карбонова кислота, алкоксикарбоніл або амід.

В іншому аспекті для сполук формули IX, X, XI, XII, XIII або XIV В - алкіл або компонент формули II, де  $\text{W}_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $\text{R}^1$  - Н,  $-\text{F}$ ,  $-\text{Cl}$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CH}_3$ , ізопропіл,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OCH}_3$ , нітро або фосфат;  $\text{R}^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат;  $q$  дорівнює 0, 1 або 2;  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  і  $\text{R}^7$  є Н або метил;  $\text{R}^8$  - Н;  $\text{X} - (\text{CH}_2)_z$  і  $z = s$  1;  $\text{X} - (\text{CH}_2)_2$ ;  $z = 1$ ;  $\text{Y} - \text{N}(\text{R}^9)-$ ;  $\text{R}^9$  - гідроген, метил або етил; і  $\text{W}_d$  є

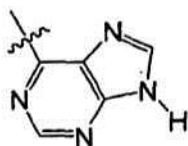
20



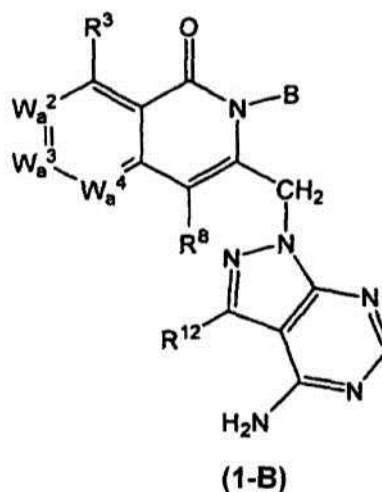
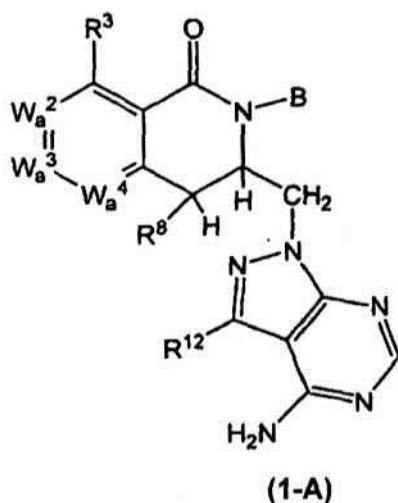
25

В іншому аспекті для сполук формули IX, X, XI, XII, XIII або XIV В - алкіл або компонент формули II, де  $\text{W}_c$  - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл;  $\text{R}^1$  - Н,  $-\text{F}$ ,  $-\text{Cl}$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CH}_3$ , ізопропіл,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OCH}_3$ , нітро або фосфат;  $\text{R}^2$  - галоген, гідрокси, ціано, нітро або фосфат;  $q$  дорівнює 0,1 або 2;  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  і  $\text{R}^7$  є Н або метил;  $\text{R}^8$  - Н;  $\text{X}$  відсутня;  $\text{Y} - \text{N}(\text{R}^9) \text{CH}(\text{R}^9)-$ ;  $\text{R}^9$  - гідроген, метил або етил;  $\text{W}_d$  є

30



У втіленнях формули 1-А і формули 1-В



5 R вибрано з H, Cl, F або метилу, будь-яку з  $W_a^2$  вибрано з CH, N, C-CN або C-OCH<sub>3</sub>; будь-яку з  $W_a^3$  вибрано з CH, N, C-CF<sub>3</sub> або C-CH<sub>3</sub>; будь-яку з  $W_a^4$  вибрано з CH, N або C-F<sub>3</sub>; будь-яку з R<sup>8</sup> вибрано з H, Me або Cl; компоненти B описано у таблиці 1 і будь-які R<sup>12</sup> описано у таблиці 2. Сполуки формули 1-A і формули 1-B можуть містити будь-які замісники, визначені у R<sup>3</sup>,  $W_a^2$ ,  $W_a^3$ ,  $W_a^4$ , R<sup>8</sup>, B і R<sup>12</sup>. Описані втілення не обмежують винаходу і є лише ілюстраціями. Деякі додаткові типові сполуки формул 1-A і 1-B наведено у таблиці 5.

Таблиця 1 містить приклади B сполуки формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV.

10

Таблиця 1

Субклас #	B	Субклас #	B	Субклас #	B
B-1		B-2		B-3	-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
B-4		B-5		B-6	
B-7		B-8		B-9	
B-10		B-11		B-12	
B-13		B-14		B-15	
B-16		B-17		B-18	
B-19		B-20		B-21	

Таблица 1

Субклас #	В	Субклас #	В	Субклас #	В
В-22		В-23		В-24	
В-25		В-26		В-27	
В-28		В-29		В-30	
В-31		В-32		В-33	
В-34		В-35		В-36	
В-37		В-38		В-39	
В-40		В-41		В-42	
В-43		В-44		В-45	
В-46		В-47		В-48	
В-49		В-50		В-51	
В-52		В-53		В-54	
В-55		В-56		В-57	
В-58		В-59		В-60	

Таблиця 1

Субклас #	В	Субклас #	В	Субклас #	В
B-61		B-62		B-63	
B-64		B-65		B-66	
B-67		B-68		B-69	
B-70		B-71		B-72	
B-73		B-74		B-75	
B-76		B-77		B-78	
B-79		B-80		B-81	
B-82		B-83		B-84	
B-85		B-86		B-87	-CH <sub>3</sub>
B-88	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	B-89		B-90	
B-91		B-92		B-93	
B-94		B-95		B-96	



Таблиця 1

Субклас #	B	Субклас #	B	Субклас #	B
B-97		B-98		B-99	
B-100		B-101		B-102	

Таблиця 2

Втілення R<sup>12</sup> сполуки формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV

Субклас	R <sup>12</sup>	Субклас	R <sup>12</sup>	Субклас	R <sup>12</sup>
12-1	-CN	12-2	-Br	12-3	-Cl
12-4	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	12-5	-CH <sub>3</sub>	12-6	-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
12-7		12-8		12-9	
12-10		12-11		12-12	
12-13		12-14		12-15	
12-16		12-17		12-18	
12-19		12-20		12-21	
12-22		12-23		12-24	
12-25		12-26		12-27	

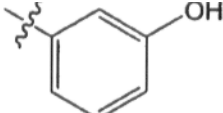
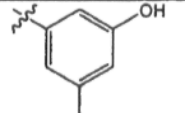
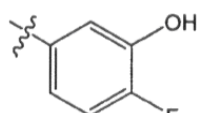
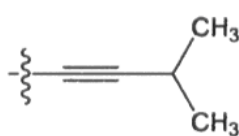
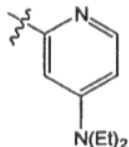
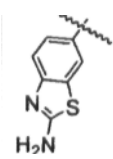
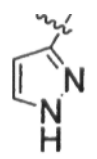
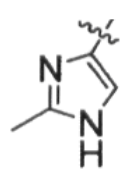
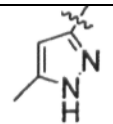
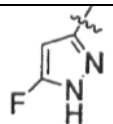
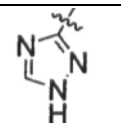
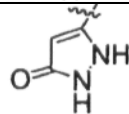
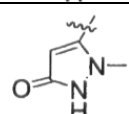
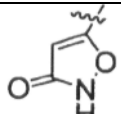
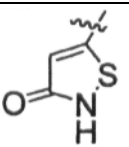
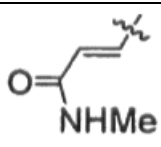
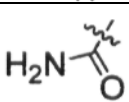
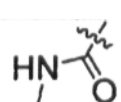
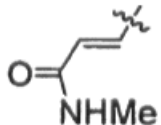
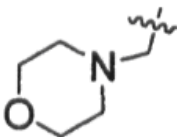
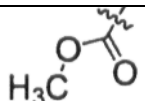
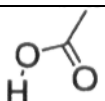
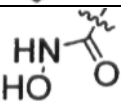
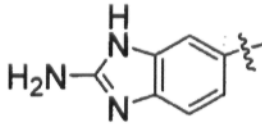
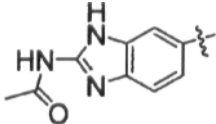
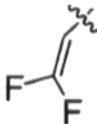
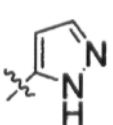
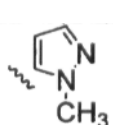
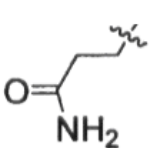
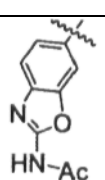
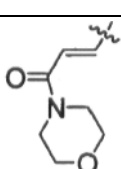
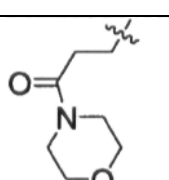
Таблиця 2

Втілення R<sup>12</sup> сполуки формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV

Субклас	R <sup>12</sup>	Субклас	R <sup>12</sup>	Субклас	R <sup>12</sup>
12-28		12-29		12-30	
12-31		12-32		12-33	
12-34		12-35	-H	12-36	
12-37		12-38		12-39	
12-40		12-41		12-42	
12-43		12-44		12-45	
12-46		12-47		12-48	
12-49		12-50		12-51	
12-52		12-53		12-54	
12-55		12-56		12-57	
12-58		12-59		12-60	

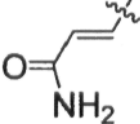
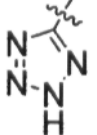
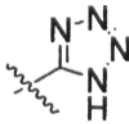
Таблиця 2

Втілення R<sup>12</sup> сполуки формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV

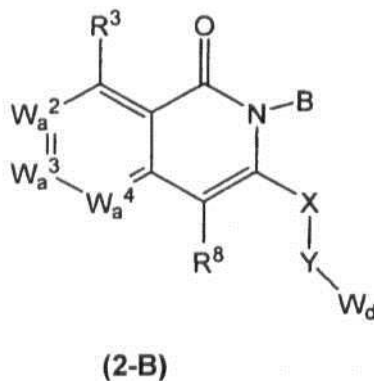
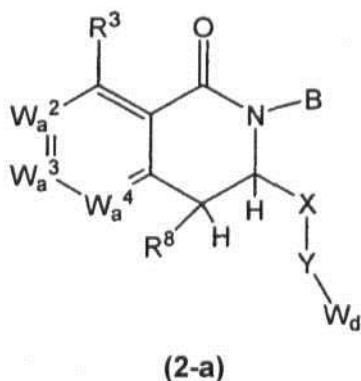
Субклас	R <sup>12</sup>	Субклас	R <sup>12</sup>	Субклас	R <sup>12</sup>
12-61	<b>-I</b>	12-62		12-63	
12-64		12-65		12-66	
12-67		12-68		12-69	
12-70		12-71		12-72	
12-73		12-74		12-75	
12-76		12-77		12-78	
12-79		12-80		12-81	
12-82		12-83		12-84	
12-85		12-86		12-87	
12-88		12-89		12-90	
12-91		12-92		12-93	

Таблиця 2

Втілення  $R^{12}$  сполуки формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV

Субклас	$R^{12}$	Субклас	$R^{12}$	Субклас	$R^{12}$
12-94		12-95		12-96	

У втіленнях формули 2-A і формули 2-B



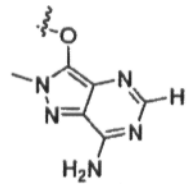
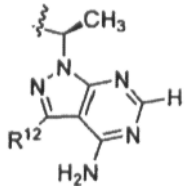
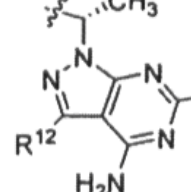
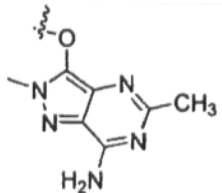
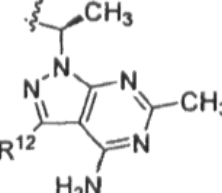
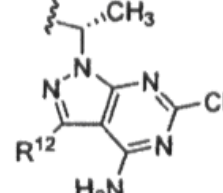
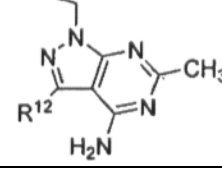
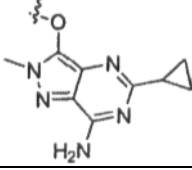
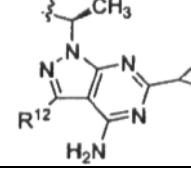
5

$R$  вибрано з H, Cl, F або метилу; будь-яку з  $W_a^2$  вибрано з CH, N, C-CN або C-OCH<sub>3</sub>; будь-яку з  $W_a^3$  вибрано з CH, N, C-CF<sub>3</sub> або C-CH<sub>3</sub>; будь-яку з  $W_a^4$  вибрано з CH, N або C-CF<sub>3</sub>; будь-яку  $R^8$  вибрано з H, Me або Cl; будь-яку з B - див. Таблицю 1; будь-яку з  $R^{12}$  - див. Табл. і будь-яку з X-Y-W<sub>d</sub> - див. Табл. 3. Сполуки формули 2-A і формули 2-B можуть містити будь-які замісники, визначені для  $R^3$ ,  $W_a^2$ ,  $W_a^3$ ,  $W_a^4$ ,  $R^8$ , B,  $R^{12}$  і X-Y-W<sub>d</sub>. Описані втілення не обмежують винаходу і є лише ілюстративними. Деякі додаткові типові сполуки формул 2-A і 2-B наведено у табл. 5.

10

Таблиця 3

Типові втілення X-Y-W<sub>d</sub> для сполук формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV

Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>	Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>	Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>
1		2		3	
4		5		6	
7		8		9	

Таблиця 3

Типові втілення X-Y-W<sub>d</sub> для сполук формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV

Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>	Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>	Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>
10		11		12	
13		14		15	
16		17		18	
19		20		21	
22		23		24	
25		26		27	
28		29		30	
31		32		33	

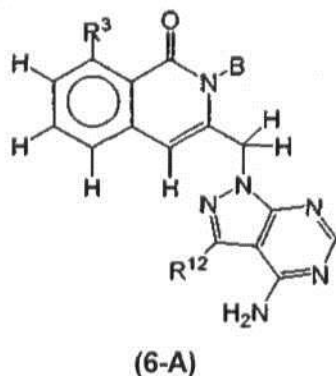
Таблиця 3

Типові втілення X-Y-W<sub>d</sub> для сполук формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV

Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>	Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>	Субклас	X-Y-W <sub>d</sub>
34		35		36	
37		38		39	
40		41		42	
43		44		45	
46		47		48	
49		50		51	
52		53		54	
55					

У втіленнях формули 6-A R<sup>3</sup> вибрано з H, Cl, F або метилу; будь-яку В описано у табл. 1; і будь-яку з R<sup>12</sup> описано у Таблиці 2. Сполуки формули 6-A можуть містити будь-які замісники для

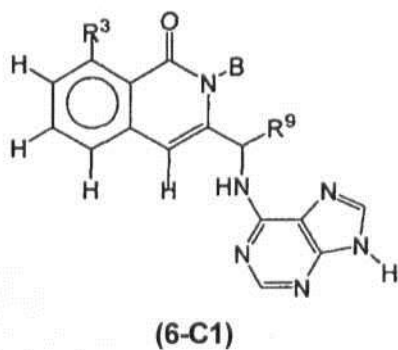
$R^3$ , B і  $R^{12}$ . Описані втілення не обмежують винаходу і є лише ілюстративними. Деякі додаткові типові сполуки формули 6-A наведено у Таблиці 5.



5

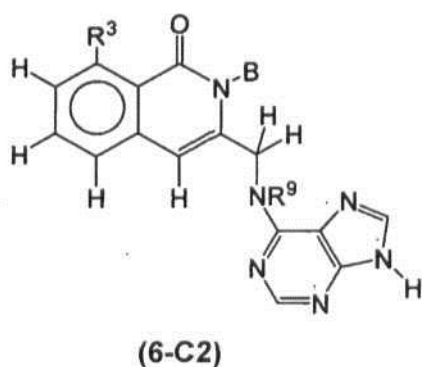
У втіленнях формули 6-C1  $R^3$  вибрано з H, Cl, F або метилу; будь-яку з B описано у Таблиці 1; будь-яку з  $R^9$  вибрано з -H, -CH<sub>3</sub> або -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> і будь-яку з  $R^{12}$  описано у Таблиці 2. Сполуки формули 6-C1 можуть містити будь-які замісники, описані для  $R^3$ , B,  $R^9$  і  $R^{12}$ . Описані втілення не обмежують винаходу і є лише ілюстративними. Деякі додаткові типові сполуки формули 6-C1 наведено у Таблиці 5.

10



У втіленнях формули 6-C2  $R^3$  вибрано з H, Cl, F або метилу; будь-яку з B описано у Таблиці 1; будь-яку з  $R^9$  вибрано з -H, -CH<sub>3</sub> або -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> і будь-яку з  $R^{12}$  описано у Таблиці 2. Сполуки формули 6-C2 можуть містити будь-які замісники, описані для  $R^3$ , B, і  $R^9$ . Описані втілення не обмежують винаходу і є лише ілюстративними. Деякі додаткові типові сполуки формули 6-C2 наведено у Таблиці 5.

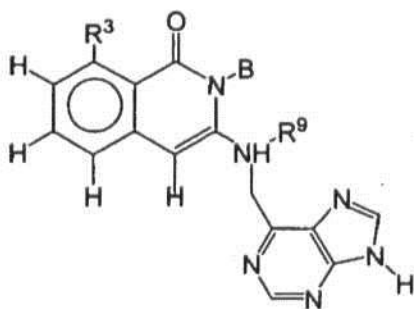
15



20

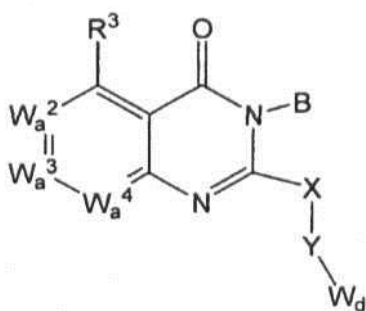
У втіленнях формули 6-D  $R^3$  вибрано з H, Cl, F або метилу; будь-яку з B описано у Таблиці 1; і будь-яку з  $R^9$  вибрано з -H, -CH<sub>3</sub> або -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>. Сполуки формули 6-D можуть містити будь-які замісники, описані для  $R^3$ , B і  $R^9$ . Описані втілення не обмежують винаходу і є лише ілюстративними. Деякі додаткові типові сполуки формули 6-D наведено у Таблиці 5.

25



(6-D)

У втіленнях формули VIII  $R^3$  вибрано з H, Cl, F або метилу; будь-яку з  $W_a^2$  вибрано з CH, N, C-CN або C-OCH<sub>3</sub>; будь-яку з  $W_a^3$  вибрано з CH, N, C-CF<sub>3</sub> або C-CH<sub>3</sub>; будь-яку з  $W_a^4$  вибрано з CH, N або C-CF<sub>3</sub>; будь-яку з B описано у Таблиці 1; будь-яку з  $R^{12}$  описано у Таблиці 2 і будь-яку з X-Y- $W_d$  описано у Таблиці 3. Сполуки формули VIII можуть містити будь-які замісники, описані для  $R^3$ ,  $W_a^2$ ,  $W_a^3$ ,  $W_a^4$ , B,  $R^{12}$  і X-Y- $W_d$ . Описані втілення не обмежують винаходу і є лише ілюстративними. Деякі додаткові типові сполуки формули VIII наведено у Таблиці 5.

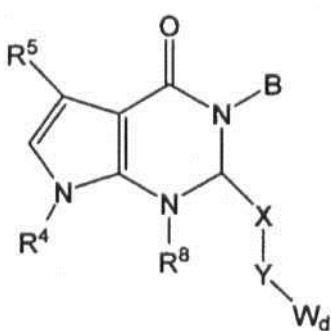


(VIII)

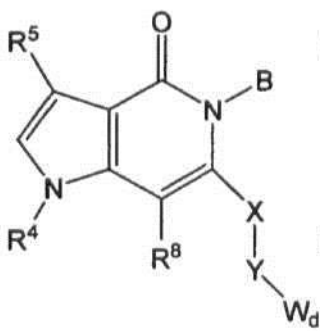
10

У сполуках формул 9A-9BD, які характеризуються субструктурою структури формул IX,  $R^4$  вибрано з -H, метил, етил, n-пропілу, ізопропілу, циклопропілу, циклобутилу і цикlopентилу; будь-яку з  $R^5$  вибрано з H, Cl, F, метилу або трифлуорметилу; будь-яку з  $R^7$  вибрано з H, Cl, F, метилу, трифлуорметилу; ціано, гідроксилу, етилу, ізопропілу і циклопропілу; будь-яку з  $R^8$  вибрано з H, метилу або ізопропілу; будь-яку з B описано у Таблиці 1; будь-яку з X-Y- $W_d$  описано у Таблиці 3 і будь-яку з  $R^{12}$  описано у Таблиці 2. Сполуки формул 9A-9BD можуть містити будь-які замісники, описані для  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ , B, X-Y- $W_d$  і  $R^{12}$ . Описані втілення не обмежують винаходу і є лише ілюстративними. Деякі додаткові типові сполуки формул 9-A -9-BD наведено у Таблиці 5.

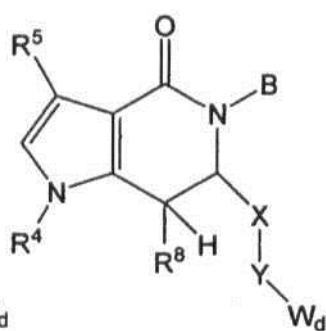
20



(6-B)

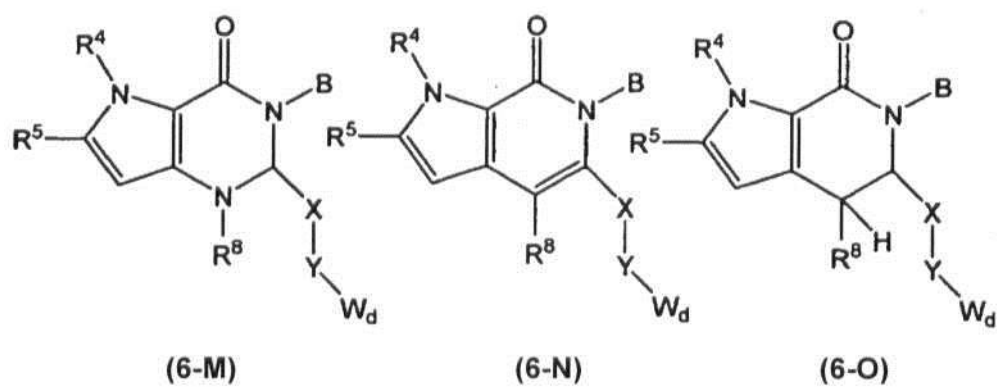
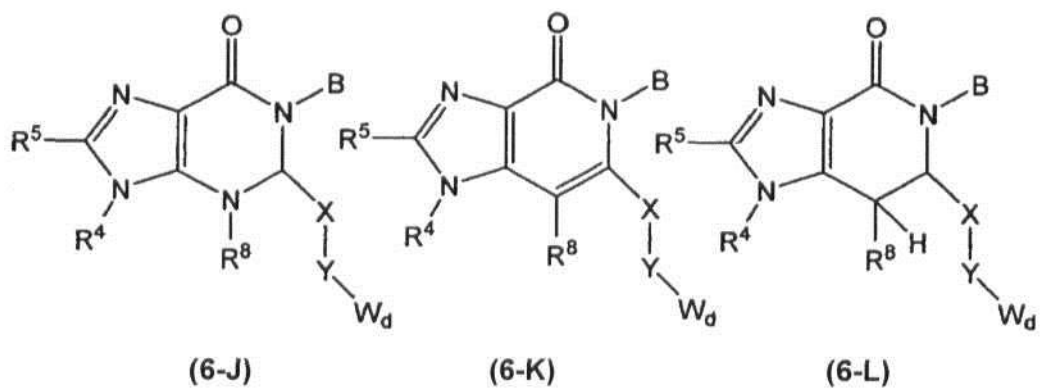
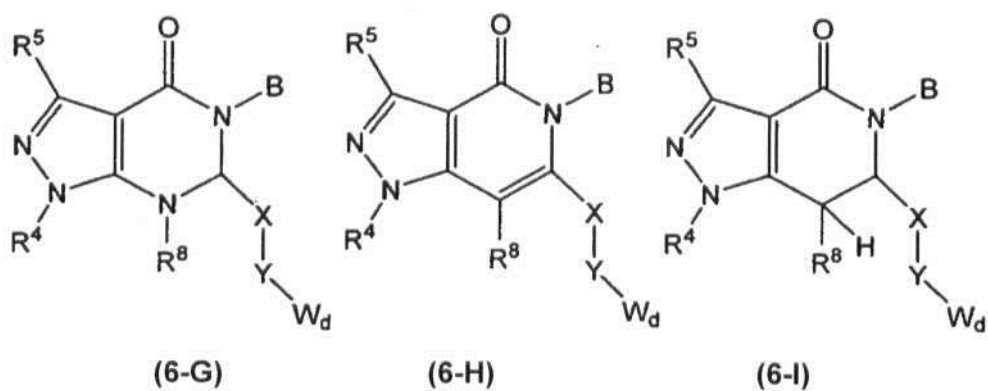
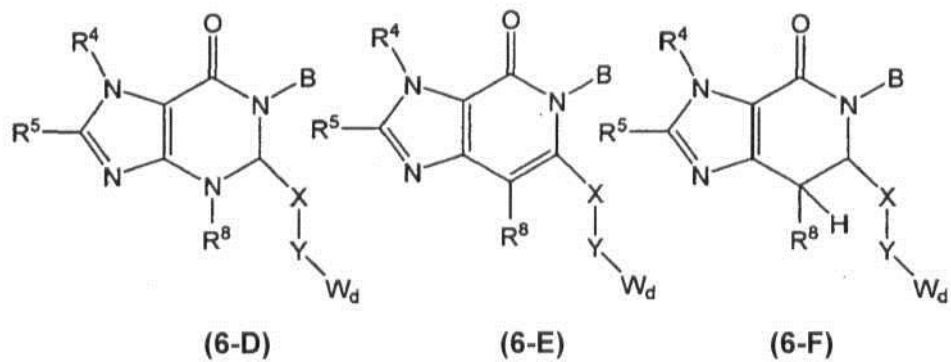


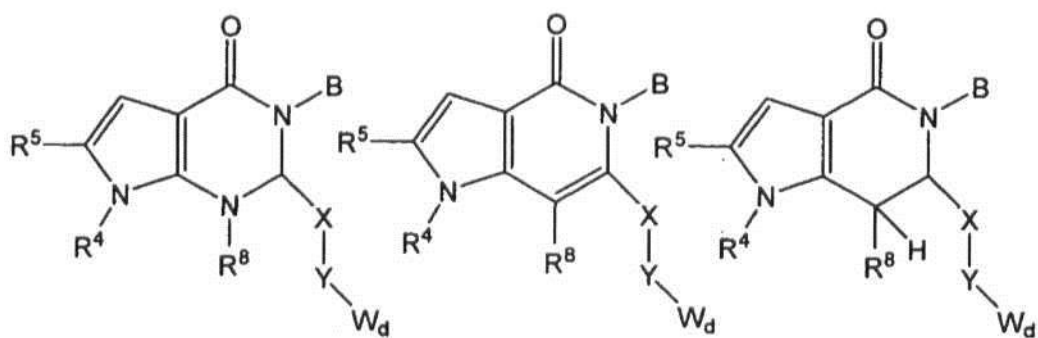
(6-C)



(6-A)



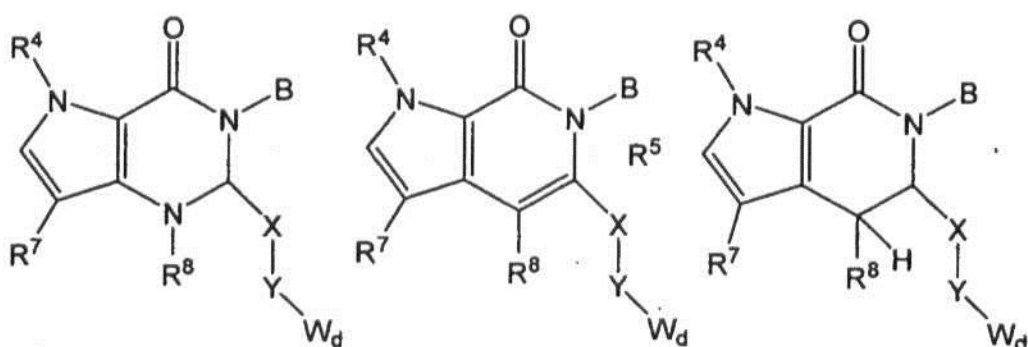




(6-P)

(6-Q)

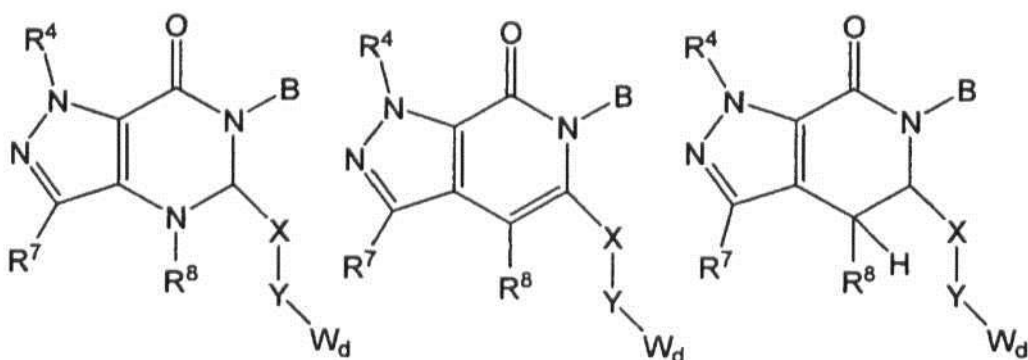
(6-R)



(6-S)

(6-T)

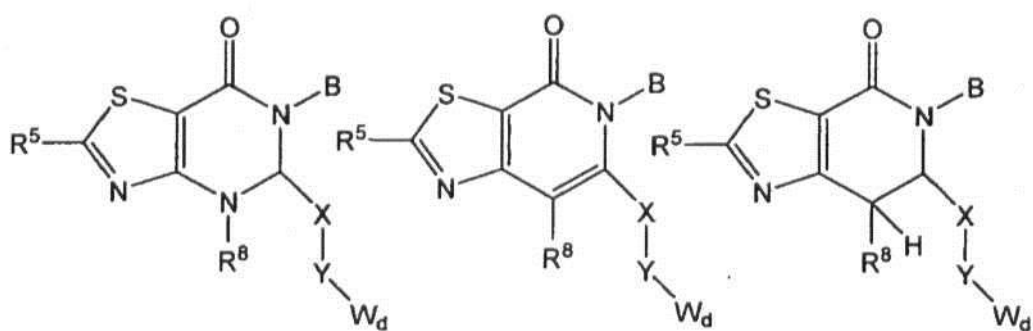
(6-U)



(6-V)

(6-W)

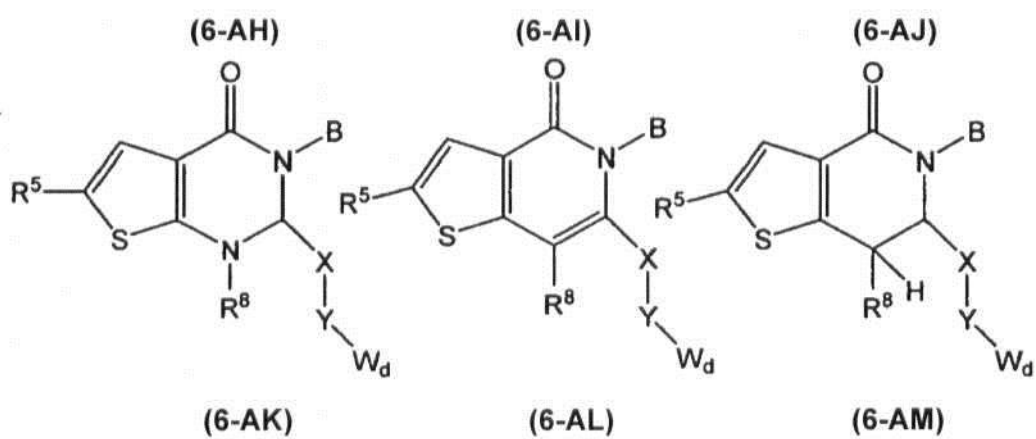
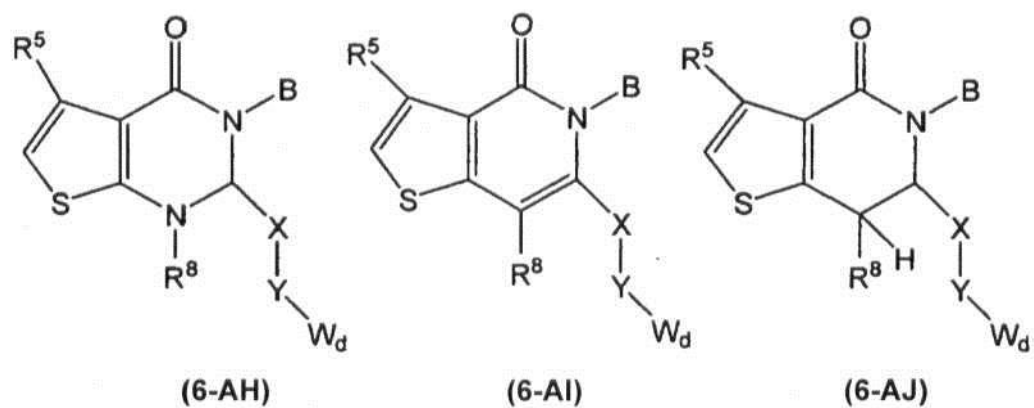
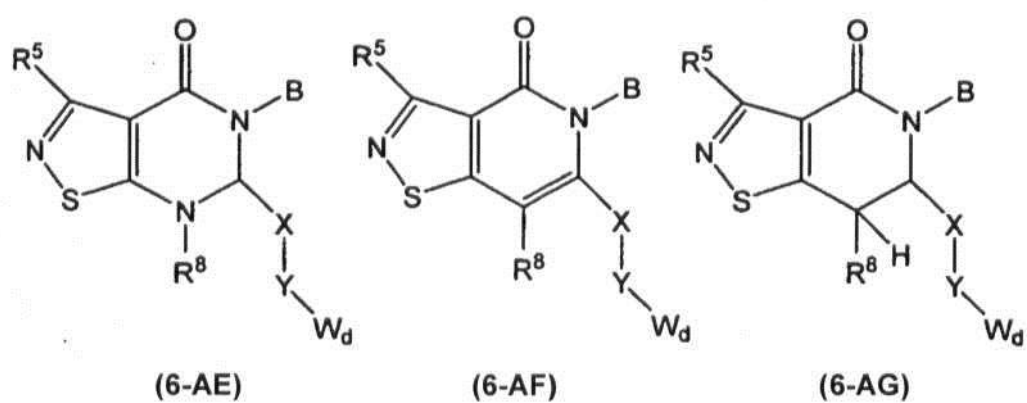
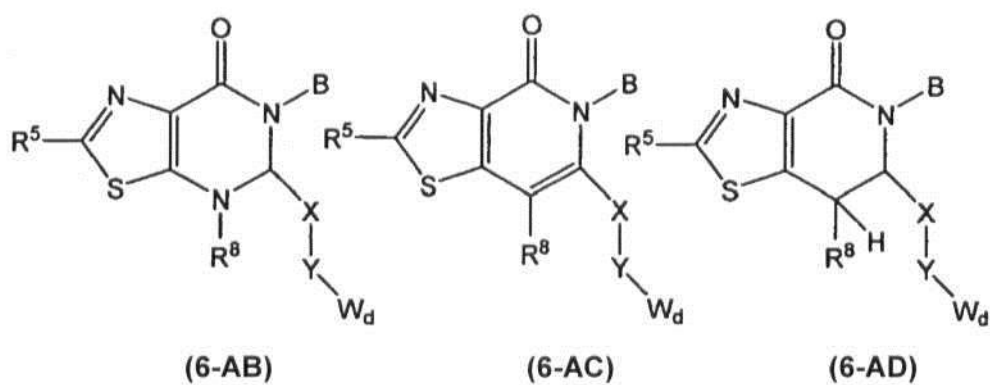
(6-X)

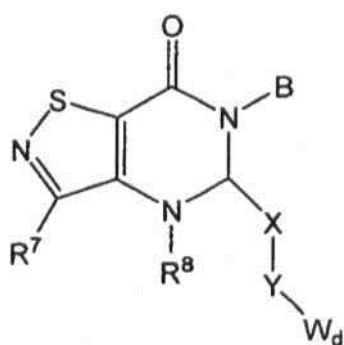


(6-Y)

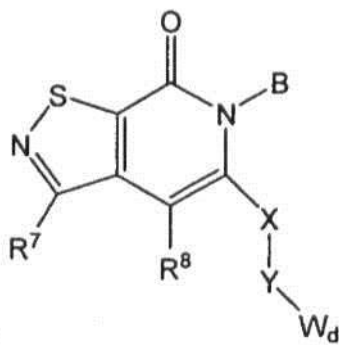
(6-Z)

(6-AA)

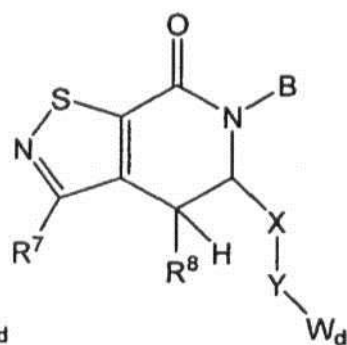




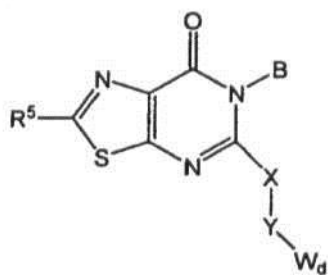
(6-AN)



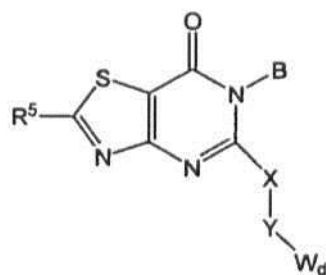
(6-AO)



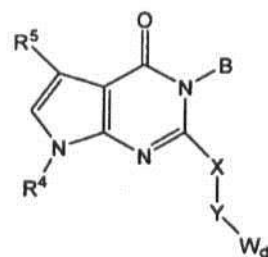
(6-AP)



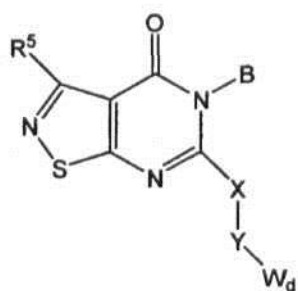
(6-Q)



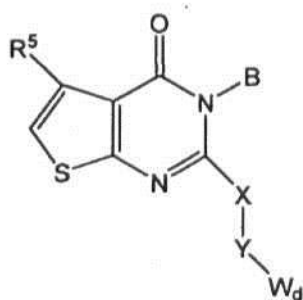
(6-AR)



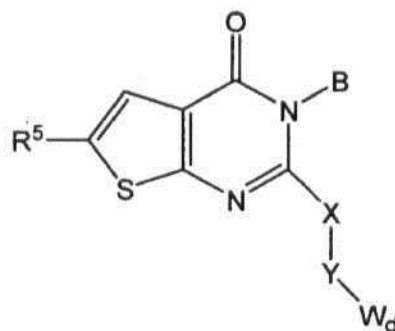
(6-AS)



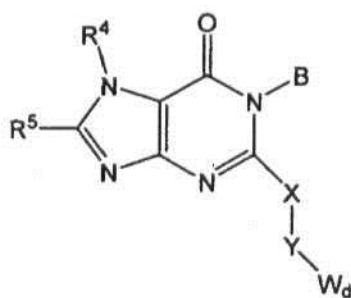
(6-AT)



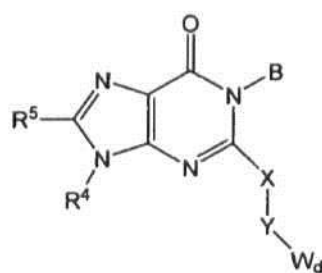
(6-AU)



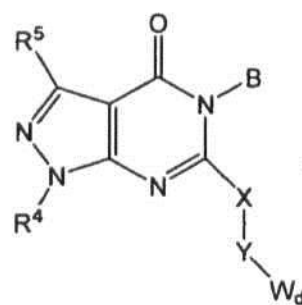
(6-AV)



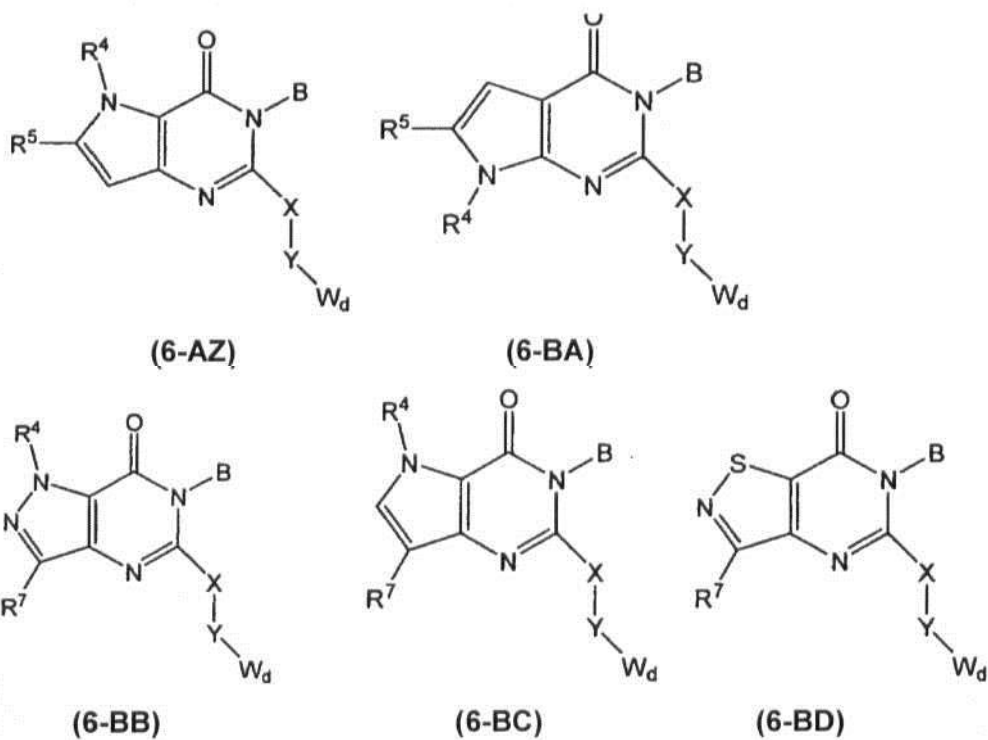
(6-AW)



(6-AX)

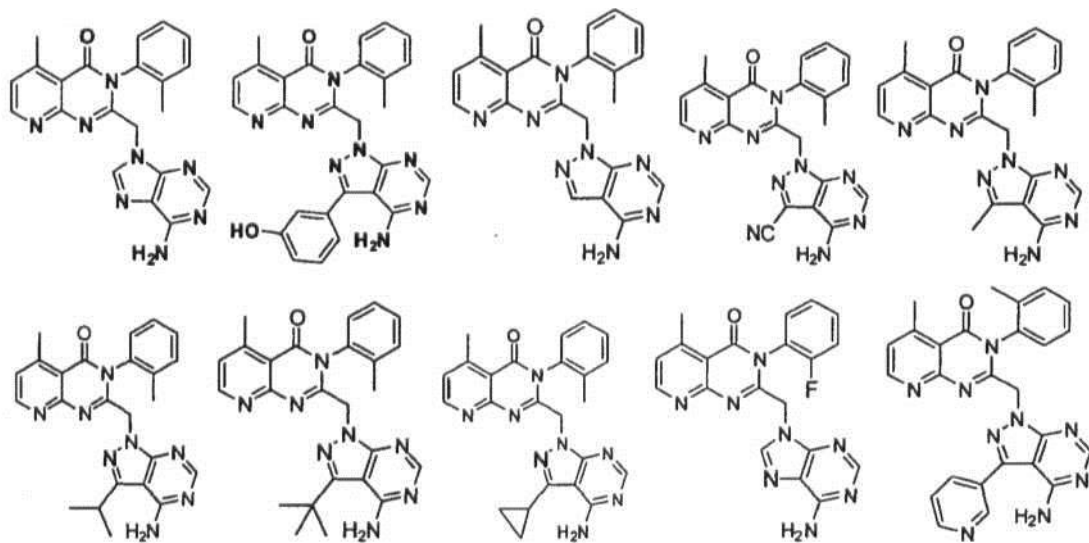


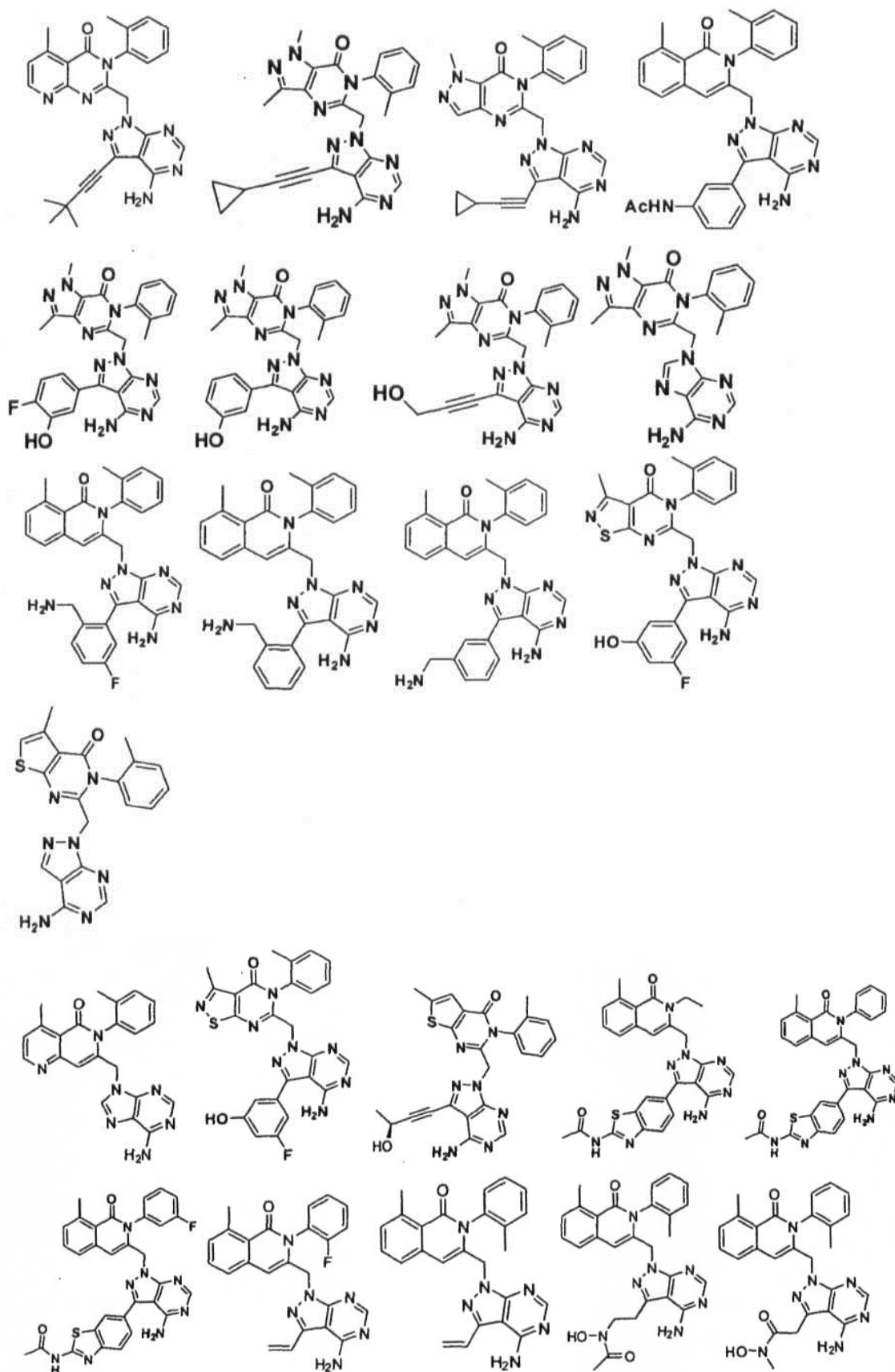
(6-AY)

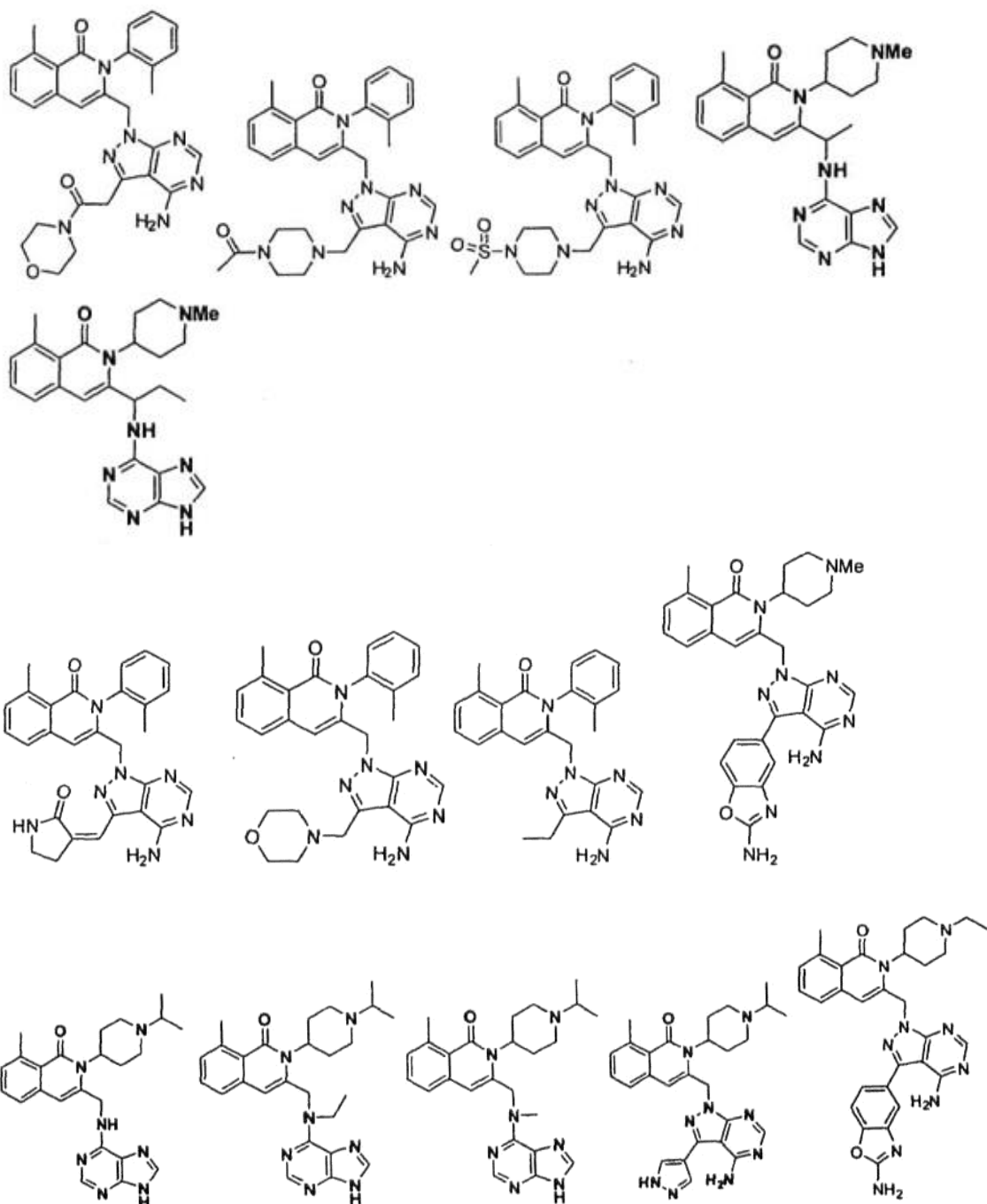


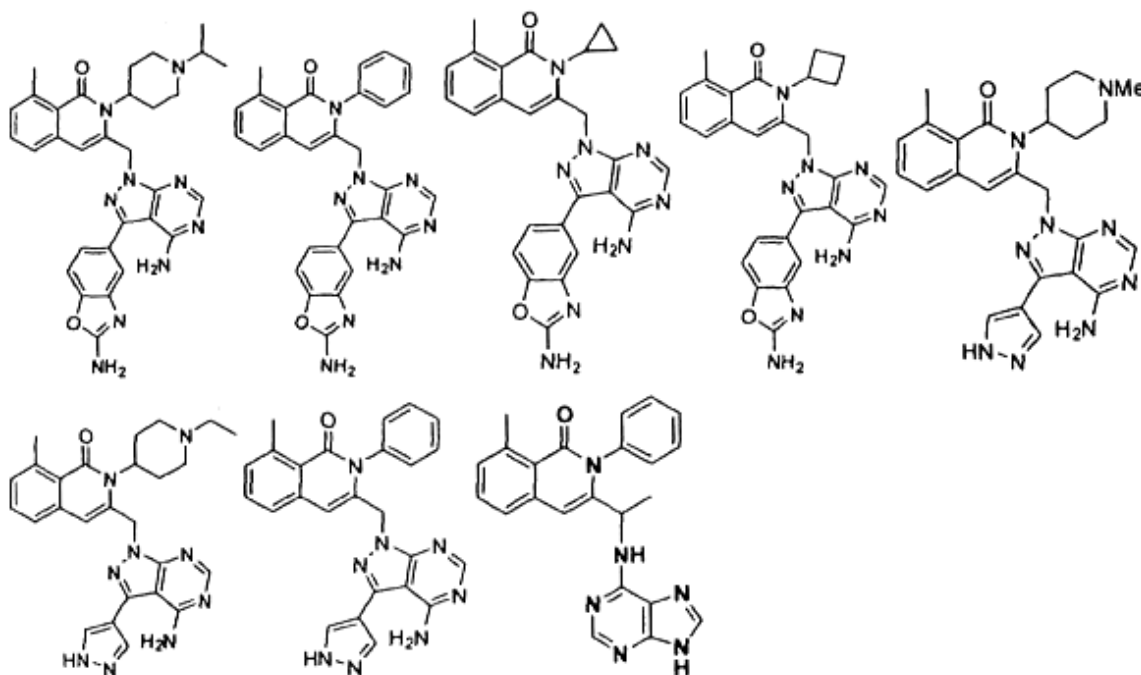
Інші ілюстративні сполуки включають (не лише):

5









Хімічні об'єкти, описані тут, можуть бути синтезовані згідно з одною або більше наведеними тут схемами і/або відомими способами.

Якщо не зазначено інше, реакції, описані тут, проходять при атмосферному тиску, взагалі і при температурі від -10 до 200 °C. Якщо не зазначено інше, часи реакції і умови є приблизними, наприклад, при приблизно атмосферному тиску при температурі від приблизно -10 до приблизно 110 °C протягом приблизно 1-24 год. Реакція, залишена на ніч, триває приблизно 16 год.

Терміни "розчинник", "органічний розчинник" або "інертний розчинник" означають розчинник, інертний в умовах реакції, і включають, наприклад, бензол, толуол, ацетонітрил, тетрагідрофуран ("ТГФ"), ДМФ ("ДМФ"), хлороформ, метилен хлорид (або ДХМ - ДХМ), діетил етер, метанол, N-метилпіролідон ("NMP"), піридин тощо. Якщо не зазначено інше, розчинники, що використовуються у реакціях, описаних тут, є інертними органічними розчинниками. Якщо не зазначено інше, для кожного г реагенту, один мл розчинника є об'ємним еквівалентом.

Ізоляцію і очищення хімічних об'єктів і інтермедіатів, описаних тут, можна проводити, якщо бажано, за будь-якою придатною процедурою, наприклад, фільтрацією, екстракцією, кристалізацією, колонною хроматографією, тонкошаровою хроматографією (ТШХ) або товстошаровою хроматографією або їх комбінаціями процедур. Придатні процедури сепарації і ізоляції ілюструються наведеними далі прикладами. Однак, можуть також бути використані і інші еквівалентні процедури сепарації і ізоляції.

За бажання (R)- і (S)-ізомери сполук винаходу, якщо вони є, можуть бути розрізнені відомими способами, наприклад, утворенням діастереоізомерних солей або комплексів які можуть бути розділені, наприклад, кристалізацією; утворенням діастереоізомерних похідних, які можуть бути розділені, наприклад, кристалізацією, газорідинною або рідинною хроматографією; селективною реакцією енантіомером з специфічним до цього енантіомеру реагентом, наприклад, ензимним окисленням або відновленням, з подальшим розділенням модифікованих і немодифікованих енантіомерів або газорідинною або рідинною хроматографією у хіральному середовищі, наприклад, на хіральній основі, наприклад, кремнеземі з приєднаним хіральним лігандом або у присутності хіального розчинника. В іншому варіанті, специфічний енантіомер може бути синтезований асиметричним синтезом, з використанням оптично активних реагентів, субстратів, каталізаторів або розчинників або перетворенням одного енантіомер в іншим асиметричним перетворенням.

Сполуки, описані тут, можуть бути, як варіант, введені у контакт з фармацевтично прийнятною кислотою для утворення відповідної кислото-адитивної солі.

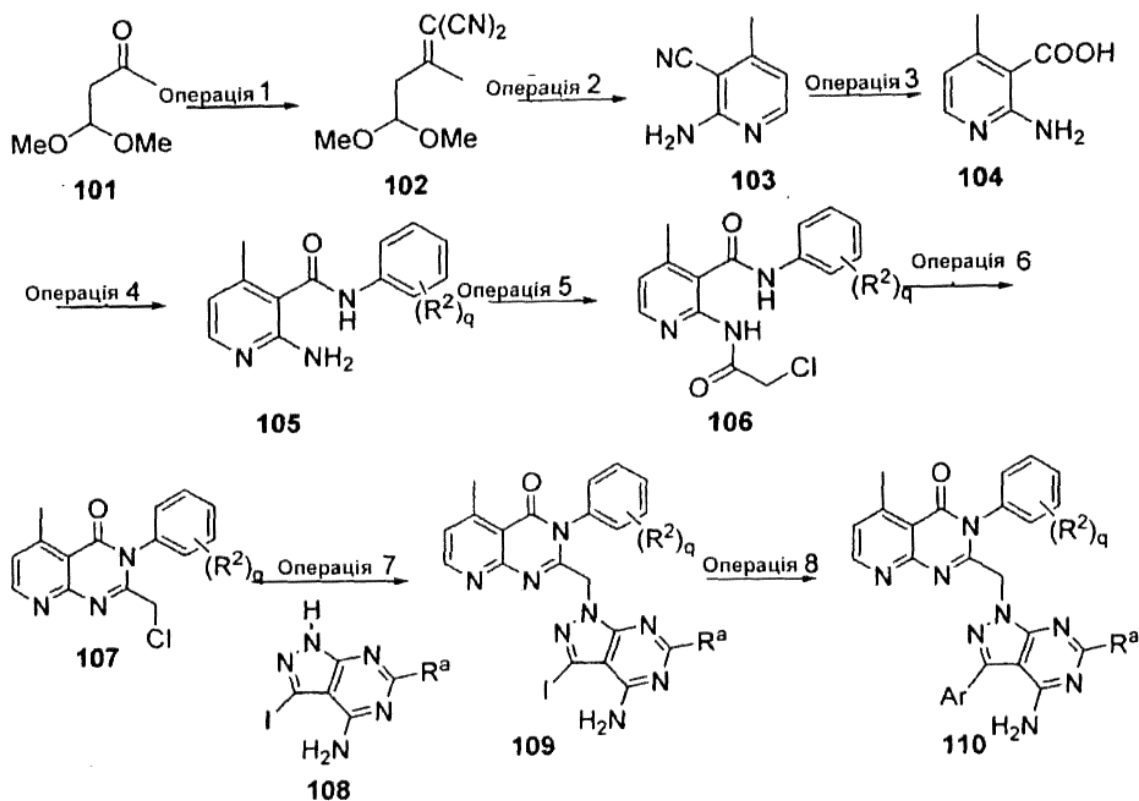
Багато, як варіант, заміщених вихідних сполук і інших реагентів є комерційно доступними, наприклад, від Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI) або можуть бути приготовлені відомими способами.



Сполуки винаходу можуть взагалі бути синтезовані належною комбінацією добре відомих способів синтезу, які можуть бути виконані фахівцем, базуючись на описі.

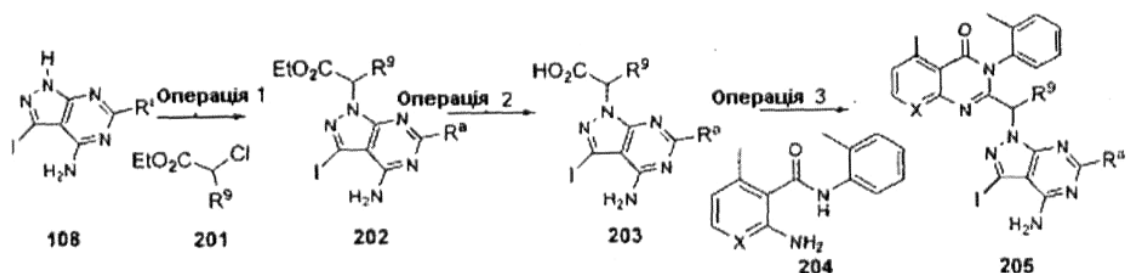
Сполуки винаходу можуть бути синтезовані належною комбінацією відомих способів синтезу і далі розглядаються деякі з різних способів, придатних для приготування сполук винаходу, які не обмежують можливої сукупності реакцій, які можуть бути використані у приготування сполук винаходу.

Реакційна Схема 1



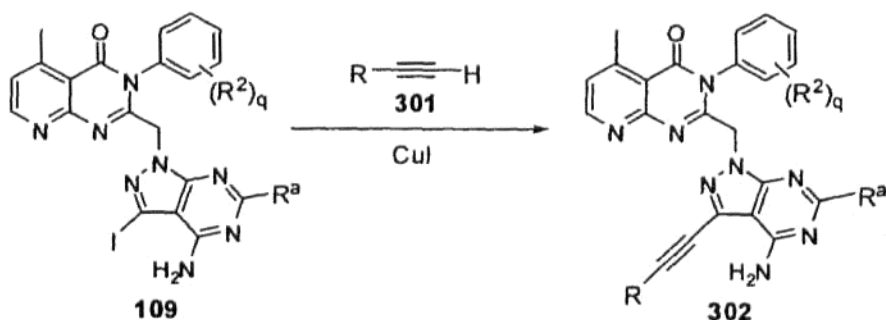
На Схемі 1, Операцією 1 кетон 101 перетворюється у відповідний алкен з використанням, наприклад, малононітрил і піперидин в оцтовій кислоті. Продукт, сполуку формули 102, ізолюють. Операцією 2 сполука формули 102 циклізується до піридину з використанням, наприклад, амонію у метанолі. Сполуку формули 103, ізолюють. Операцією 3 сполуку формули 103 гідролізують до відповідної карбонової кислоти. Продукт, сполуку формули 104, ізолюють. Операцією 4 сполука формули 104 перетворюється у амід з використанням, наприклад, стандартного амідного сполучаючого реагенту, наприклад, EDCI. Продукт, сполуку формули 105, ізолюють. Операцією 5 сполука формули 105 перетворюється у відповідний амід з використанням, наприклад, хлорацетил хлориду. Продукт, сполуку формули 106, ізолюють. Операцією 6 сполука формули 106 перетворюється у сполуку формули 107 з використанням, наприклад, оцтової кислоти. Продукт, сполуку формули 107, ізолюють. Операцією 7 сполука формули 107 зазнає зміщення на хлорі при реакції з нуклеофілом і основою, наприклад, піразолопіримідином 108 і карбонатом калію. Продукт, сполуку формули 109 ізолюють. Операцією 8 сполуку формули 109 сполучають з арилом або гетероарил-борною кислотою або похідною борної кислоти, наприклад, бороланом, з використанням, наприклад, з каталізом паладієм. Продукт, сполук формули 110, ізолюють.

## Реакційна Схема 2



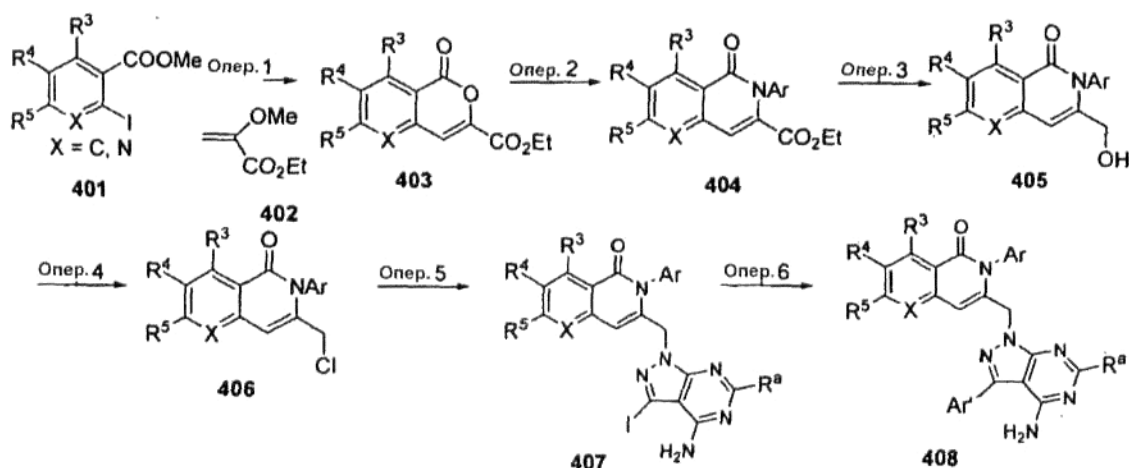
- 5 На Схемі 2 Операцією 1 сполука формули 108 перетворюється у сполуку формули 202, наприклад, алкілюванням сполуки формули 201. Продукт, сполуку формули 202, ізолюють. Операцією 2, сполука формули 202 перетворюється у сполуку формули 203, наприклад, сапоніфікацією. Продукт, сполуку формули 203, ізолюють. Операцією 3 сполуку формули 203
- 10 циклізується до хіназоліну формули 205, наприклад, у герметичній трубці реакцією з сполукою формули 204 і дегідратуючим агентом, наприклад, PCl<sub>5</sub>. Продукт, сполуку формули 205, ізолюють.

## Реакційна Схема 3



- 15 На Схемі 3 сполука формули 109 перетворюється у сполуку формули 302, наприклад, сполученням Соанагашіра (Sonagashira) з сполукою формули 301. Продукт, сполуку формули 302, ізолюють.

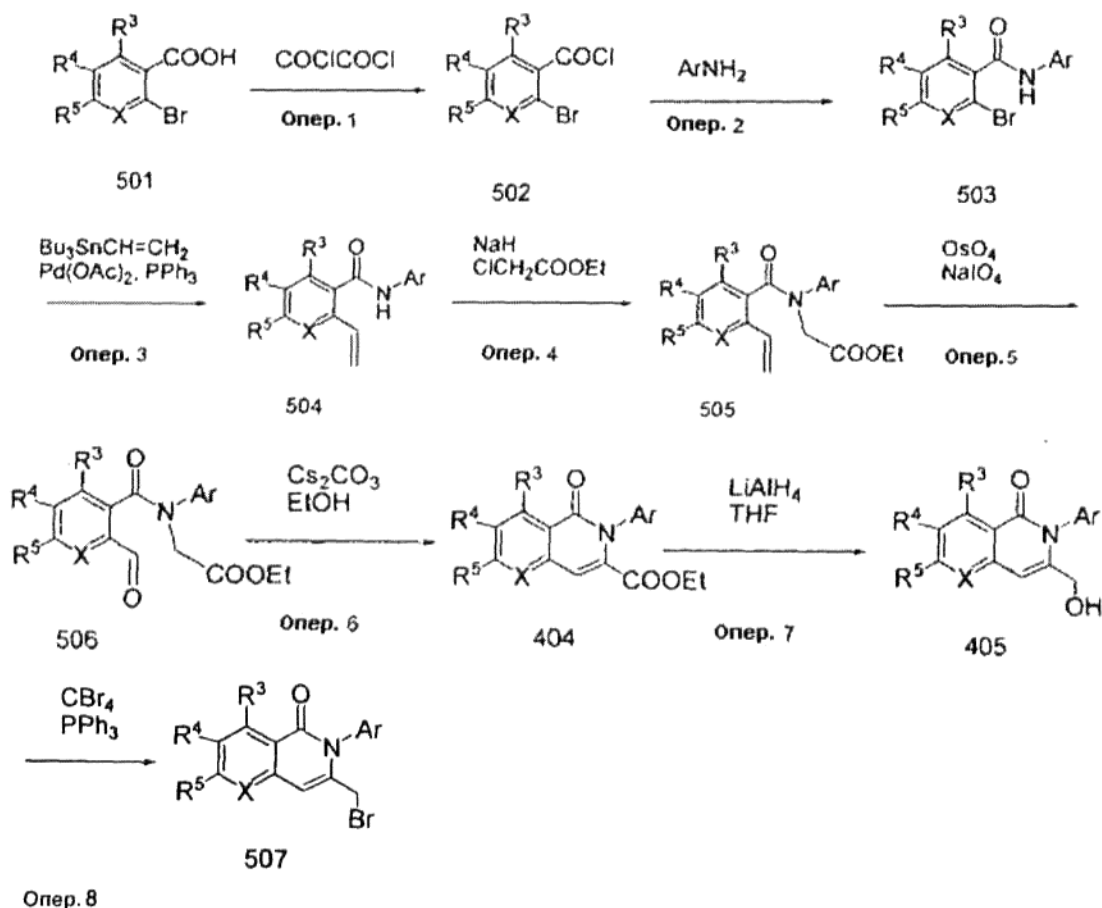
## Реакційна Схема 4



- 25 На Схемі 4 Операцією 1 сполука формули 401 перетворюється у сполуку формули 403, наприклад, двома операціями процесу Гека (Некк), сполученням з сполукою формули 402, і потім каталізованою кислотою циклізацією у метанолі. Продукт, сполуку формули 403, ізолюють. Операцією 2 сполука формули 403 перетворюється у сполуку формули 404, наприклад, реакцією з заміщеним аніліном. Продукт, сполуку формули 404, ізолюють. Операцією 3 сполука формули 404 перетворюється у сполуку формули 405, наприклад,

відновленням алюмогідридом літію. Продукт, сполуку формули 405, ізолюють. Операцією 4 сполука формули 405 перетворюється у сполуку формули 406, наприклад, реакцією з тіоніл хлоридом. Продукт, сполуку формули 406, ізолюють. Операцією 5 сполука формули 406 перетворюється у сполуку формули 407, наприклад, алкілюванням піразолопіримідином з використанням основи, наприклад, карбонату калію. Продукт, сполуку формули 407, ізолюють. Операцією 6 сполука формули 407 перетворюється у сполуку формули 408, наприклад, реакцією Сузуки. Продукт, сполуку формули 408, ізолюють.

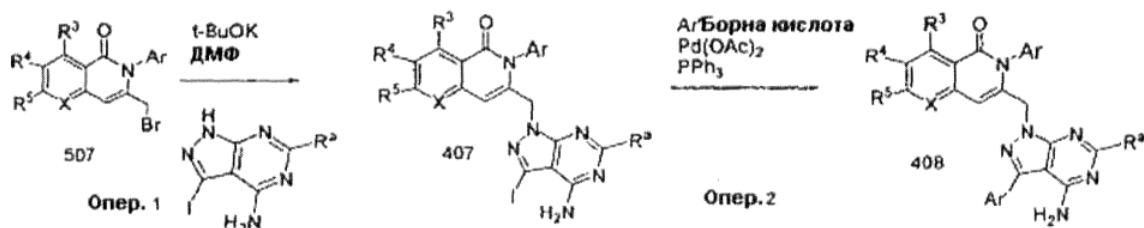
Реакційна Схема 5:



На Схемі 5, Операцією 1 сполука формули 501 перетворюється у сполуку формули 502, наприклад, реагентом, придатним для введення кислотного хлориду, наприклад, оксалілхлориду. Продукт, сполуку формули 502, як варіант, ізолюють. Операцією 2 сполука формули 502 перетворюється у сполуку формули 503, наприклад, реакцією з арил аміном.

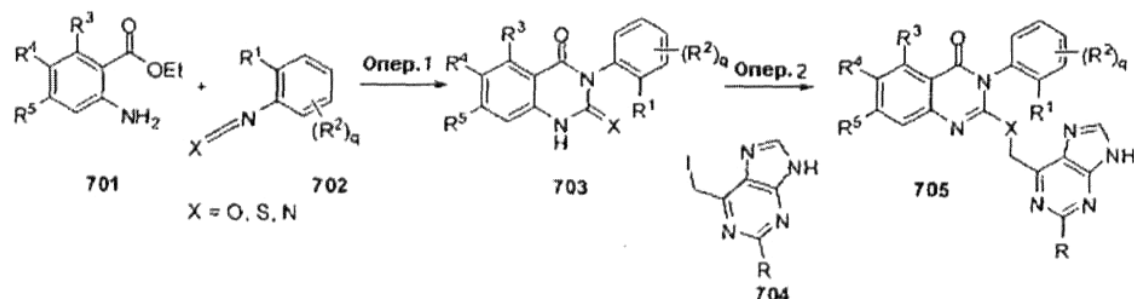
Продукт, сполуку формули 503, ізолюють. Операцією 3 сполука формули 503 перетворюється у сполуку формули 504, наприклад, сполученням Штілле (Stille) з використанням вінілстанану. Продукт, сполуку формули 504, ізолюють. Операцією 4 сполука формули 504 перетворюється у третинний амід, сполуку формули 505, реакцією з хлоретилацетатом і гідрид натрію. Сполуку формули 505 ізолюють. Операцією 5 сполука формули 505 окислюється до альдегіду з використанням, наприклад, тетраоксиду осмію і перйодинату натрію. Продукт, сполуку формули 506, ізолюють. Операцією 6 сполука формули 506 перетворюється у сполуку формули 404, наприклад, альдольною реакцією у етанолі з основою, наприклад, карбонатом цезію. Продукт, сполуку формули 404, ізолюють. Операцією 7 сполука формули 404 відновлюється до первинного спирту, наприклад, алюмогідрид літію, з отриманням сполуки формули 405, яку ізолюють. Операцією 8 сполука формули 405 перетворюється у сполуку формули 507 реакцією з карбон тетрабромідом і трифенілфосфін. Сполуку формули 507, як варіант, ізолюють. Ця сполука може бути центральним інтермедіатом у синтезі сполук винаходу.

## Реакційна Схема 6:



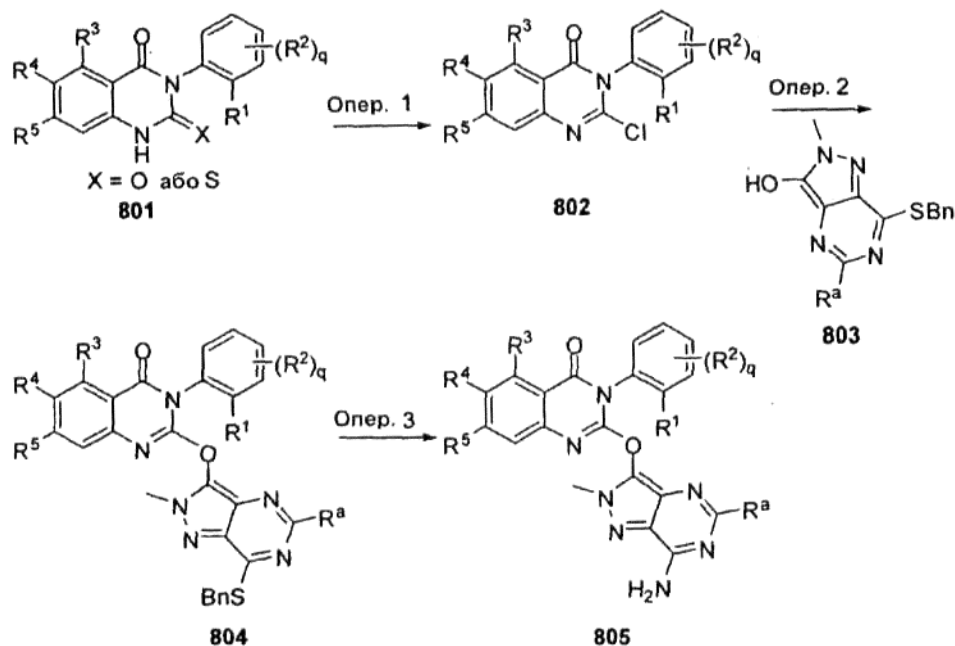
- 5 На Схемі 6 Операцією 1 сполука формули 507 синтезується, як у Реакційній Схемі 5, перетворюючись у сполуку формули 407 сполученням з сполукою формули 108 у присутності основи, наприклад, бутокси калію. Сполуку формули 407 ізолюють. Операцією 2 сполука формули 407 перетворюється у сполуку формули 408 сполученням з, наприклад, арилборною кислотою у присутності каталізаторів і основи, наприклад, ацетату паладію, трифенілфосфіну і карбонату натрію. Сполуку формули 408 ізолюють.

## Реакційна Схема 7:



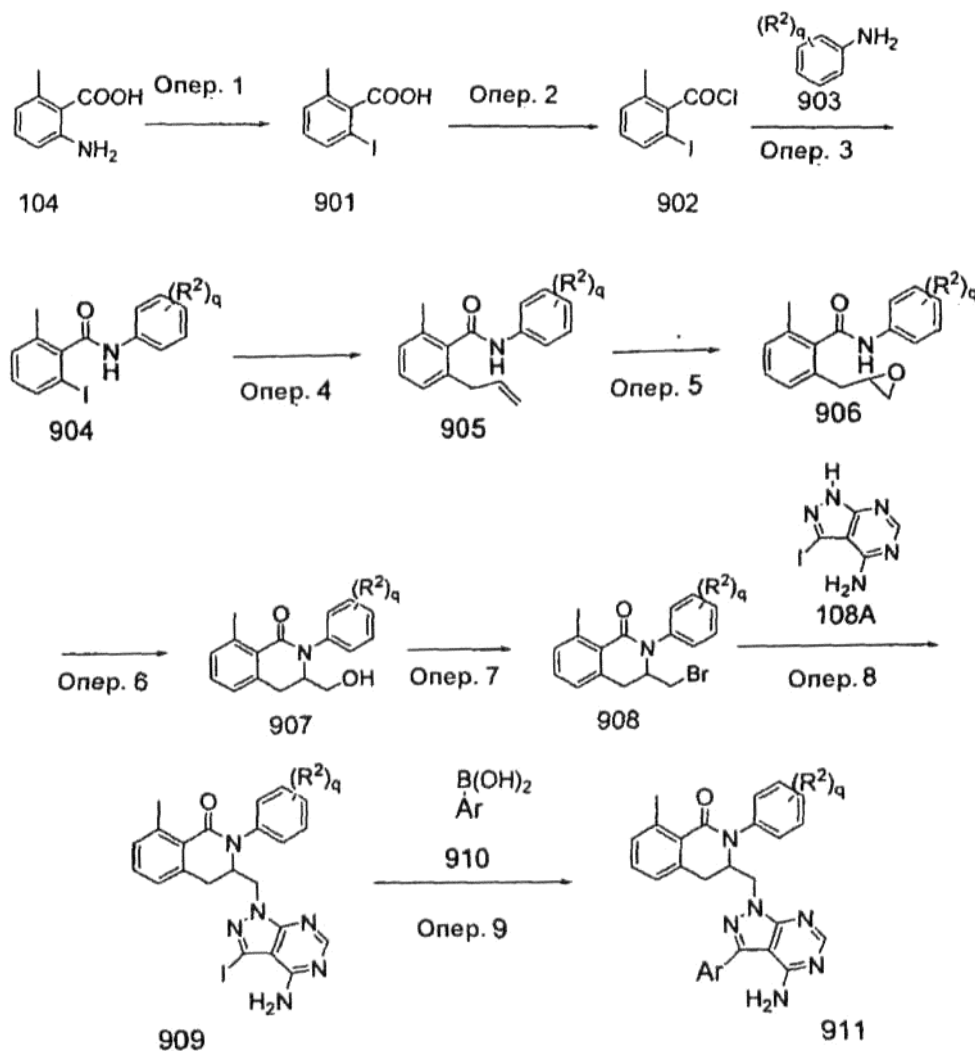
- 15 На Схемі 7 Операцією 1 сполуку формули 701 вводять у реакцію з сполукою формули 702. Продукт, сполуку формули 703, ізолюють. Операцією 2 сполуку формули вводять у реакцію з, як варіант, заміщеним пурином, наприклад, сполукою формули 704. Продукт, сполуку формули 705, ізолюють.

## Реакційна Схема 8:



На Схемі 8 Операцією 1 сполуку формули 801 обробляють, наприклад, тіонілхлоридом для отримання сполуки формули 802, яку ізолюють. Операцією 2 сполуку формули 802 і сполуку формули 803 комбінують у присутності основи. Продукт, сполуку формули 804, ізолюють. Операцією 3 сполука формули 804 перетворюється у сполуку формули 805, яку ізолюють.

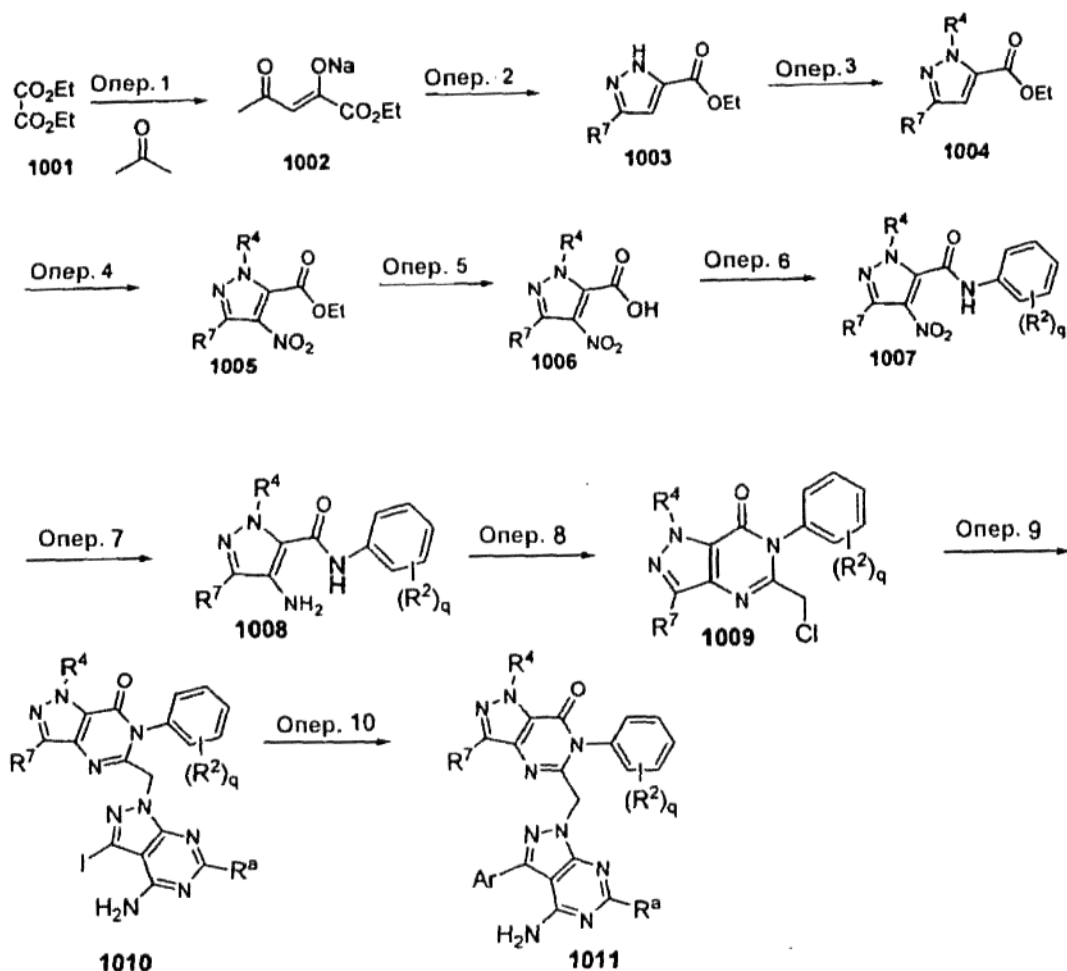
5 Реакційна Схема 9:



На Схемі 9 Операцією 1 сполуку формули 104 вводять у реакцію, наприклад, з нітритом натрію і йодидом калію у кислотних умовах для отримання сполуки формули 901, яка може бути ізолювана. Операцією 2 сполука формули 901 перетворюється у її кислотний хлорид реакцією з, наприклад, оксалілхлоридом для отримання сполуки формули 902, яка може бути ізолювана. Операцією 3 кислотний хлорид формули 902 вводять у реакцію з, як варіант, заміщеним аміноарилем або аміногетарилем, сполукою 903, отримуючи сполуку формули 904, яку ізолюють. Операцією 4 сполуку формули 904 сполучають, наприклад, з алілстананом, отримуючи сполуку формули 905, яку ізолюють. Операцією 5 сполука формули 905 перетворюється у її етоксид обробкою, наприклад, мета-хлорпербензойною кислотою і дає сполуку формули 906, яка може бути ізолювана. Операцією 6 сполука формули 906 циклізується обробкою, наприклад, гідридом натрію у ДМФ з отриманням сполуки формули 907, яку ізолюють.

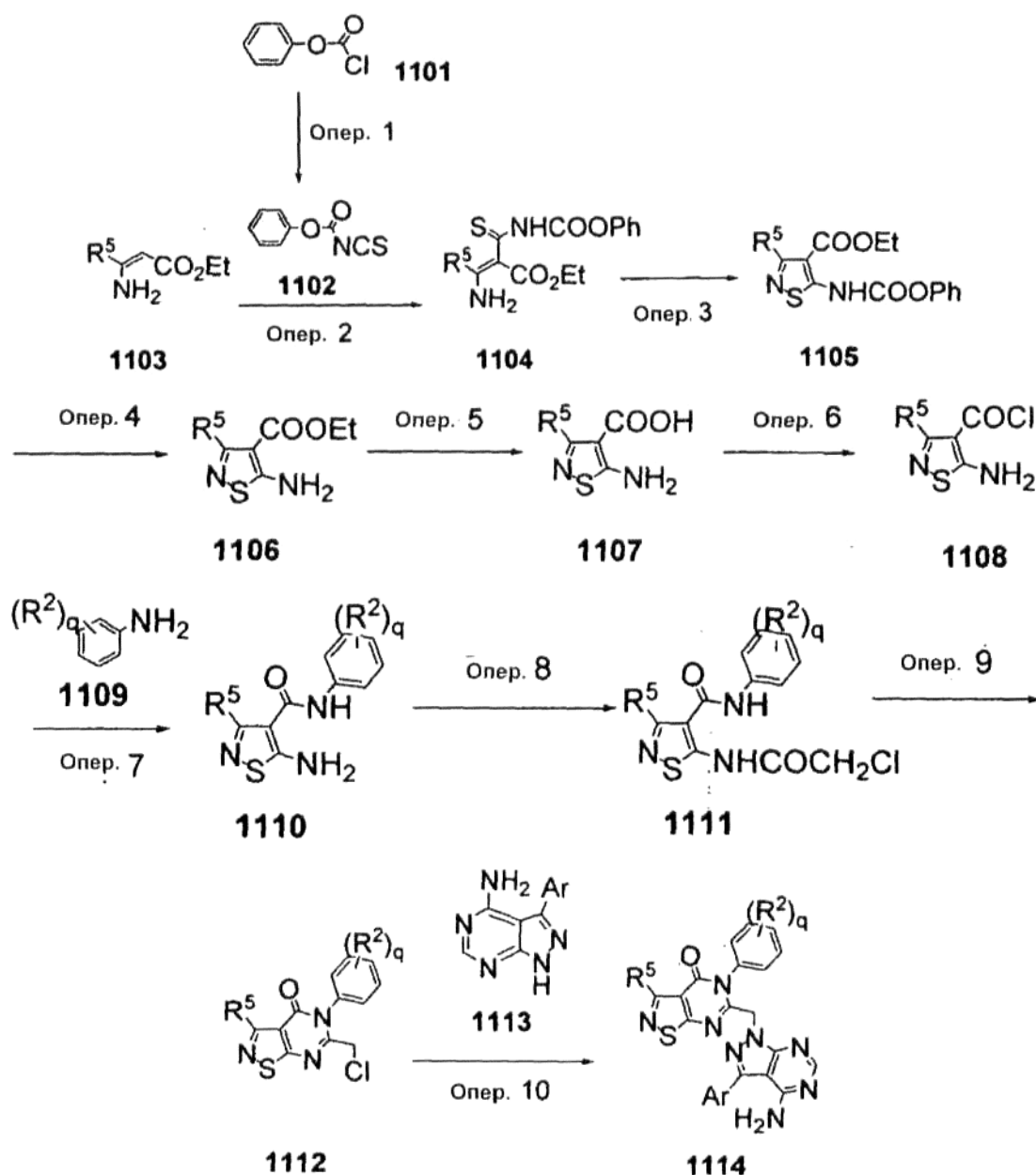
Операцією 7 первинний гідроксил сполуки Формули 907 перетворюється у бромід обробкою, наприклад, карбон тетрабромідом і трифенілфосфіном і дає сполуку формули 908, яку ізолюють. Операцією 8 сполуку формули 908 з'єднують з піразолопіримідином формули 108A обробкою, наприклад, карбонатом калію у ДМФ і отримують сполуку формули 909, яку ізолюють. Операцією 9 дигідроізохінолон формули 909 з'єднують з, як варіант, заміщеним арил- або гетарил-борною кислотою формули 910 і отримують сполуку формули 911, яку ізолюють.

Реакційна Схема 10:



- 5 На Схемі 10 Операцією сполуку формули 1001 обробляють ацетатом натрію і ацетоном. Продукт, сполуку формули 1002, ізолюють. Операцією 2 сполука формули 1002 циклізується до відповідного піразолу, наприклад, гідазином в оцтовій кислоті і воді. Продукт, сполуку формули 1003, ізолюють. Операцією 3 сполуку формули 1003, наприклад, алкілюють з використанням диметил сульфату. Продукт, сполуку формули 1004, ізолюють. Операцією 4 сполуку формули 1004 нітрують з використанням, наприклад, розчину нітрокислоти і сульфурової кислоти. Продукт, сполуку формули 1005, ізолюють. Операцією 5 сполуку формули 1005 сапоніфікують з використанням основи, наприклад, гідроксиду натрію. Продукт, сполуку формули 1006, ізолюють. Операцією 6 сполука формули 1006 спочатку перетворюється у кислотний хлорид з використанням тіоніл хлориду, потім реагує з заміщеним аніліном з утворення відповідного аміду. Продукт, сполуку формули 1007, ізолюють. Операцією 7 сполука формули 1007 відновлюється до відповідного амінопіразолу з в умовах гідрогенування з Pd/C як каталізатором. Продукт, сполуку формули 1008, ізолюють. Операцією 8 сполуку формули 1008 циклізують до відповідний хіназолінон з використанням, наприклад, хлорацетилхлориду і оцтової кислоти. Продукт, сполуку формули 1009, ізолюють. Операцією 9 сполуку формули 1009 сполучають з піразолопіримідином формули 108, наприклад, з використанням t-бутоксиду калію у ДМФ при кімнатній температурі. Продукт, сполуку формули 1010, ізолюють. Операцією 9, сполуку формули 1010 сполучають з арил-борною кислотою формули 910, наприклад, з використанням каталізатора ацетату паладію у присутності трифенілфосфіну і карбонату натрію у ДМФ, отримуючи сполуку формули 1011. Продукт, сполуку формули 1011, ізолюють.

Реакційна Схема 11:



5

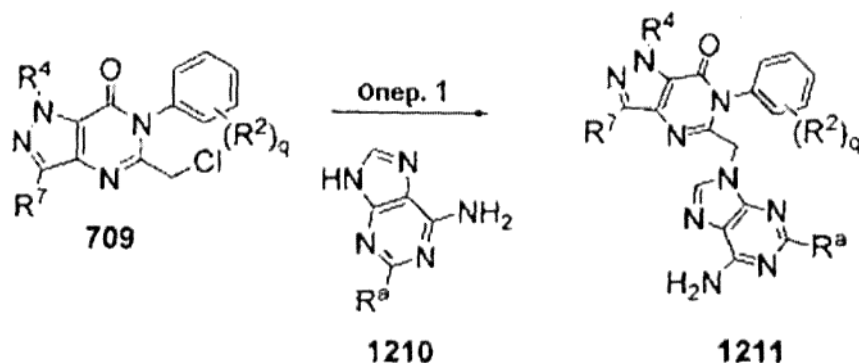
На Схемі 11 Операцією 1 сполуку формули 1101 вводять у реакцію з тіоціанідом калію в ацетонітрилі для отримання сполуки формули 1102, яка може бути ізольована. Операцією 2 сполуку формули 1102 вводять у реакцію з кон'югованим естером формули 1103 і отримують сполуку формули 1104, яку ізольовують. Операцією 3 сполуку формули 1104 циклізують, наприклад, обробкою бромом в етанолі, і отримують тiazол формули 1105, який ізольовують. Операцією 4 сполуку формули 1105 позбавляють захисту, наприклад, карбонатом калію у водному ДМФ, отримуючи сполуку формули 1106, яку ізольовують. Операцією 5 естер сполуки формули 1106 сапоніфікують, наприклад, гідроксидом натрію у воді і отримують сполуку формули 1107, яку ізольовують. Операцією 6 вільна кислота сполуки формули 1107 перетворюється у кислотний хлорид обробкою її, наприклад, тiонiл хлоридом, з отриманням сполуки формули 1108, яка може бути ізольована. Операцією 7 кислотний хлорид сполуки формули 1108 вводять у реакцію з, як варіант, заміщеним аміноарилом або аміногетероарилом формули 1109, для отримання сполуки формули 1110, яку ізольовують. Операцією 8, первинний амін сполуки формули 1110 вводять у реакцію з галогенацетилхлоридом, наприклад, хлорацетилхлоридом, у піридині і метилен хлориді і отримують сполуку формули 1111, яку ізольовують. Операцією 9 сполуку формули 1111 циклізують, наприклад, нагріванням у герметичній трубці у присутності фосфорилхлориду, і отримують сполуку формули 1112, яку

20

ізолюють. Операцією 10, тіазолопіримідон формули 1112 вводять у реакцію з тіазолопіримідином формули 1113 у присутності основи, наприклад Д-бутоксидом калію у ДМФ, і отримують сполуку формули 1114, яку ізолюють.

Реакційна Схема 12:

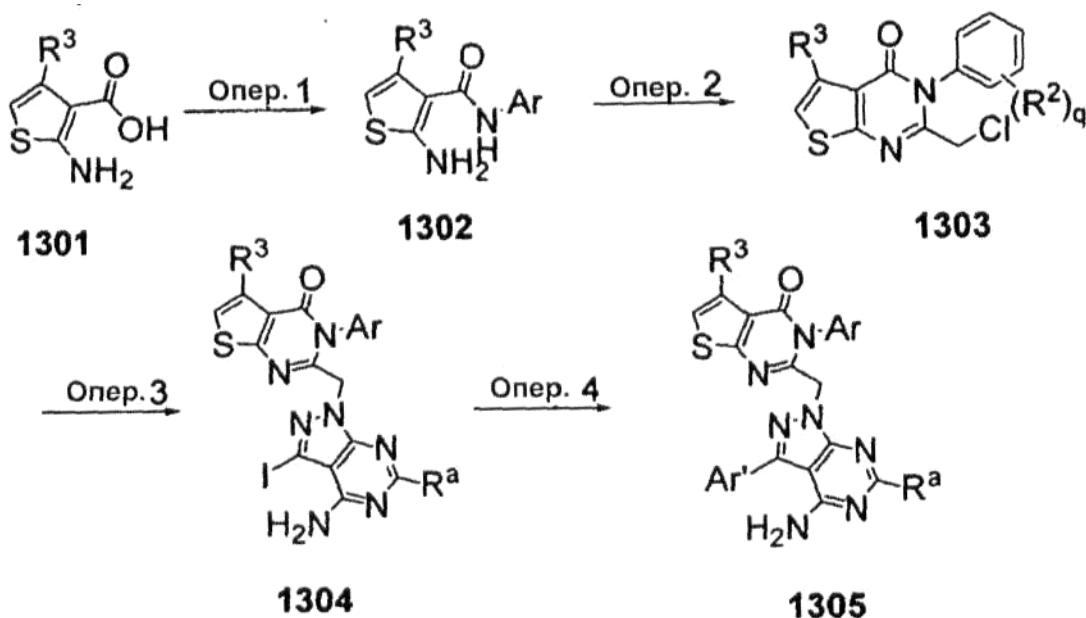
5



На Схемі 12 Операцією 1 сполуку формули 709 алкілюють, як варіант, заміщеним пурином формули 1210. Продукт, сполуку формули 1211, ізолюють.

10

Реакційна Схема 13:



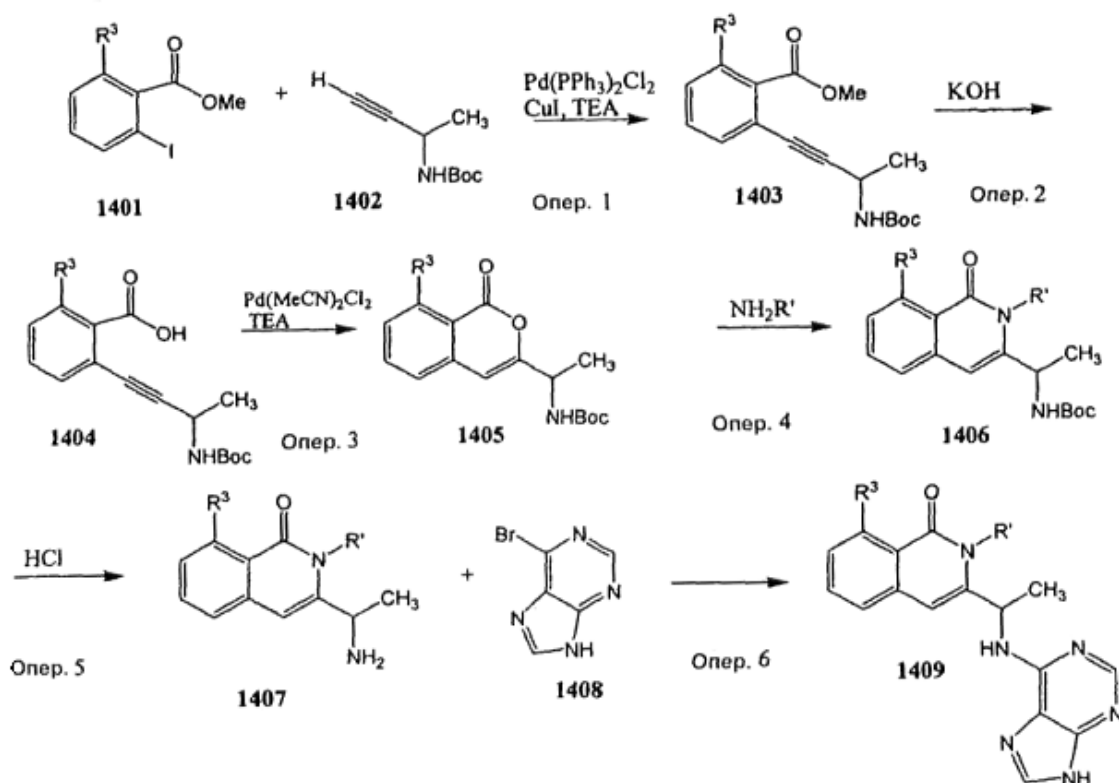
На Схемі 13 Операцією 1 сполука формули 1301 перетворюється у кислотний хлорид з використанням тіоніл хлориду, потім реакцією з заміщеним аніліном. Продукт, сполуку формули 1302, ізолюють Операцією 2 сполука формули 1302 циклізується до відповідного тієно-піримідинону, наприклад, хлорацетилхлоридом в оцтовій кислоті. Продукт, сполуку формули 1303, ізолюють. Операцією 3 сполуку формули 1303, наприклад, алкілюють з використанням заміщеного піразолопіримідину. Продукт, сполуку формули 1304, ізолюють. Операцією 4 сполуку формули 1304, наприклад, арилюють з використанням заміщеної борної кислот. Продукт, сполуку формули 1305, ізолюють.

15

20

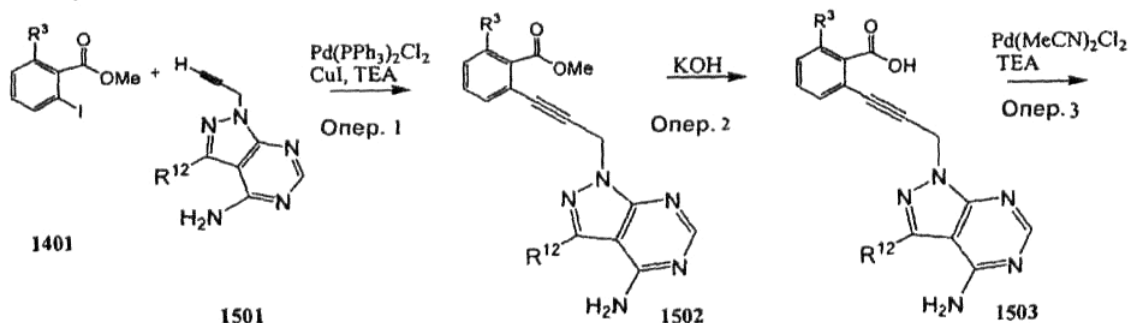


Реакційна Схема 14:



- 5 На Схемі 14, Операцією 1 йодний естер 1401 вводять у реакцію з алкіном 1402 у присутності паладієвого каталізатора, йодиду міді і триетиламіну (TEA) для з'єднання алкіну арильної серцевини 1401 і отримання сполуки формули 1403. Сполуку формули 1403 ізолюють. Операцією 2 сполуку формули 1403 обробляють гідроксидом калію і отримують карбонову кислоту, сполуку формули 1404, якщо продукт реакції підкислено, або її сіль. Сполуку формули 1404 ізолюють. Операцією 3 сполуку формули 1404 обробляють біс(ацетонітрил)дихлорпаладієм (II) і TEA для замкнення внутрішнього молекулярного кільця і отримують сполуку формули 1405. Сполуку формули 1405 ізолюють. Операцією 4 сполуку формули 1405 вводять у реакцію з первинним аміном для отримання сполуки формули 1406. Сполуку формули 1406 ізолюють. Операцією 5 сполуку формули 1406 обробляють гідрохлорною кислотою, видаляючи захисну групу на нітрогені, і отримують сполуку формули 1407, яка може бути ізольована. Операцією 6 сполуку формули 1407 вводять у реакцію з сполукою формули 1408 і отримують сполуку формули 1409. Сполуку формули 1409 ізолюють.

Реакційна Схема 15:



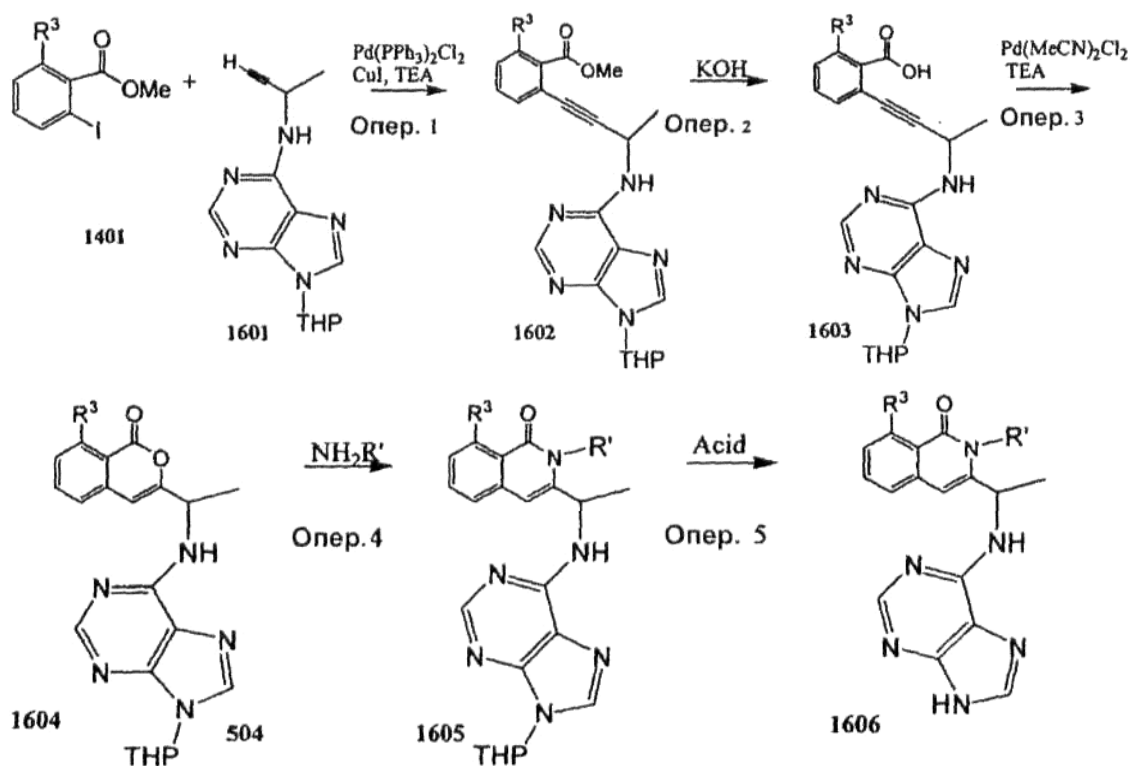
20

- На Схемі 15 Операцією 1 йодний естер 1401 вводять у реакцію з алкіном 1501 у присутності паладію як сполучаючого каталізатора, йодиду міді і TEA для отримання сполуки формули 1502. Сполуку формули 1502 ізолюють. Операцією 2 сполуку формули 1502 обробляють гідроксид калію для отримання карбоксилату або вільної кислоти сполуки формули 1503.

25

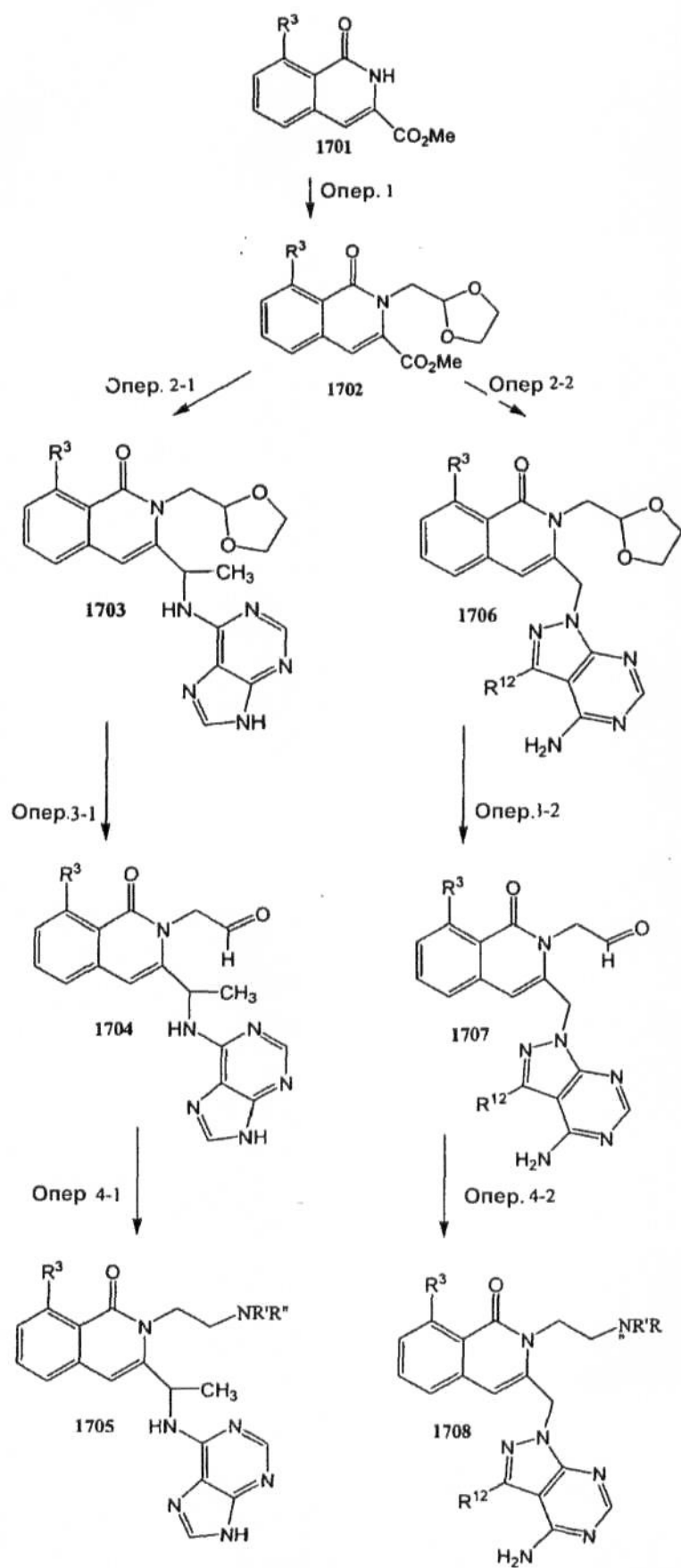
Операцією 3 сполуку формули 1503 обробляють біс(ацетонітрил)дихлорпаладієм (II) і TEA для замкнення внутрішньомолекулярного кільця і отримують сполуку формули 1504. Сполуку формули 1504 ізолюють. Операцією 4 сполуку формули 1504 обробляють первинним аміном і отримують сполуку формули 1505. Сполуку формули 1505 ізолюють.

5 Реакційна Схема 16:



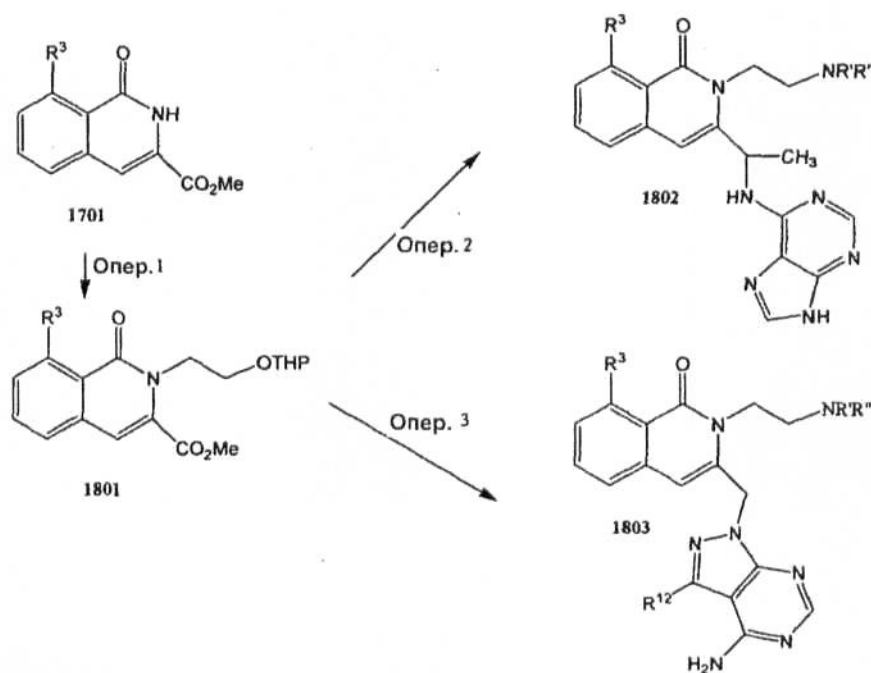
10 На Схемі 16 Операцією 1 йодний естер 1401 вводять у реакцію з алкіном 1601 у присутності паладію, як каталізатора, йодиду міді і TEA і отримують сполуку формули 1602. Сполуку формули 1602 ізолюють. Операцією 2 сполуку формули 1602 обробляють гідроксидом калію для отримання карбоксилату або вільної кислоти сполуки формули 1603. Операцією 3 сполуку формули 1603 обробляють біс(ацетонітрил)дихлорпаладієм (II) і TEA для замкнення внутрішньомолекулярного кільця і отримують сполуку формули 1604. Сполуку формули 1604 ізолюють. Операцією 4 сполуку формули 1604 обробляють первинним аміном і отримують сполуку формули 1605, яку ізолюють. Операцією 5 сполуку формули 1605 обробляють кислотою для видалення захисної групи THP і отримують сполуку формули 1606, яку ізолюють.

Реакційна Схема 17:



На Схемі 17 Операцією 1 сполуку формули 1701 синтезують різними шляхами, включаючи варіанти Схем 1 або 2, де, наприклад, бензиламін використовується в операції перетворення сполуки формули 403 у сполуку формули 404. Бензильна захисна група аміну може бути видалена стандартним способом для отримання сполуки 1701. Сполука формули 1701 перетворюється у сполуку формули 1702 алкілюванням амідного нітрогену 2-карбоновими синтонами, які можуть бути позбавлені захисту, окислені і знову захищені на відповідному кеталі 1702. Сполука формули 1702 може бути ізольована. Операцією 2-1 сполука формули 1702 перетворюється, наприклад, відновлювальним амінуванням естерного компонента для введення пуринільного компонента сполуки формули 1703 або, в іншому варіанті, алкілюванням для введення пуринільного компонента і отримання сполуки формули 1703. Операцією 3-1 сполуку формули 1703 обробляють кислотою для видалення кетальної захисної групи і отримання сполуки формули 1704, яку ізолюють. Операцією 4-1 сполуку формули 1704 відновлюють амінуванням аміном для отримання сполуки формули 1705. Сполуку формули 1705 ізолюють. Операцією 2-2 сполука формули 1702 перетворюється операціями 7 і 8 Схеми 5 і операцією 1 Схеми 6 для введення піразолопіримідинового компонента сполуки формули 1706. Сполуку формули 1706 ізолюють. Операцією 3-2 сполуку формули 1706 обробляють кислотою для видалення кетальної захисної групи і отримання сполуки формули 1707. Сполука формули 1707 може бути ізольована. Операцією 4-2 сполуку формули 1707 відновлюють амінуванням аміном для отримання сполуки формули 1708. Сполуку формули 1708 ізолюють.

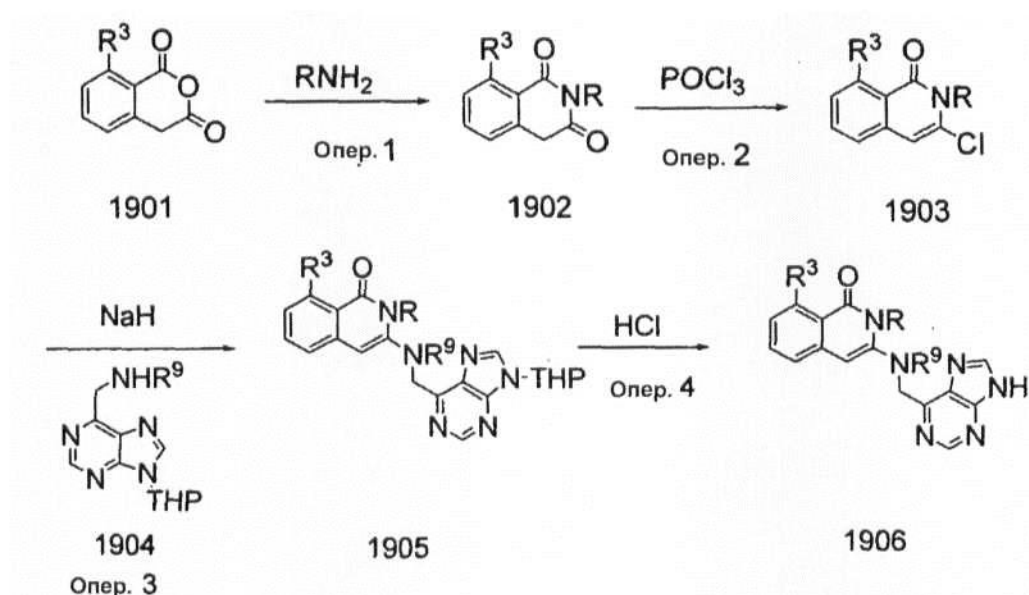
Реакційна Схема 18:



На Схемі 18 Операцією 1 сполуку формули 1701 синтезують, як на Схемі 17 або будь-яким іншим відомим способом. Сполуку формули 1701 перетворюють алкілюванням амідного нітрогену 2-карбоновими синтонами, які можуть бути позбавлені захисту і перетворені у захищені алкокси компоненти, які показані у сполуці формули 1801, яка може бути ізольована. Операцією 2 сполука формули 1801 перетворюється Операцією 2-1 Схеми 17 для введення пуринільного компонента і отриману сполуку перетворюють, позбавляючи захисту, активуючи і анімуючи аміном, у сполуку формули 1802, яку ізолюють.

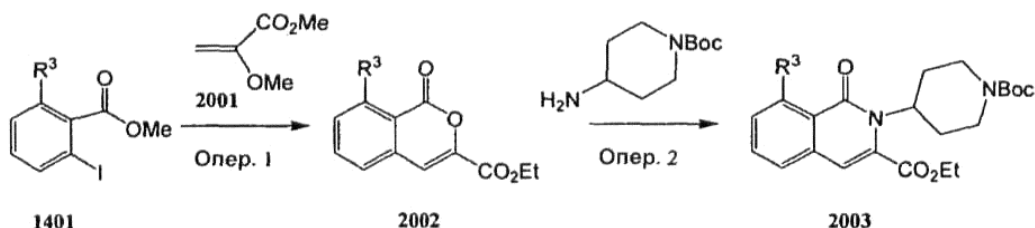
Операцією 3 сполука формули 1801 перетворюється Операцією 2-2 Схеми 17 з введенням піразолопіримідинового компонента і отриману сполуку позбавляють захисту, активують і анімують аміном, отримуючи сполуку формули 1803, яку ізолюють.

Реакційна Схема 19:



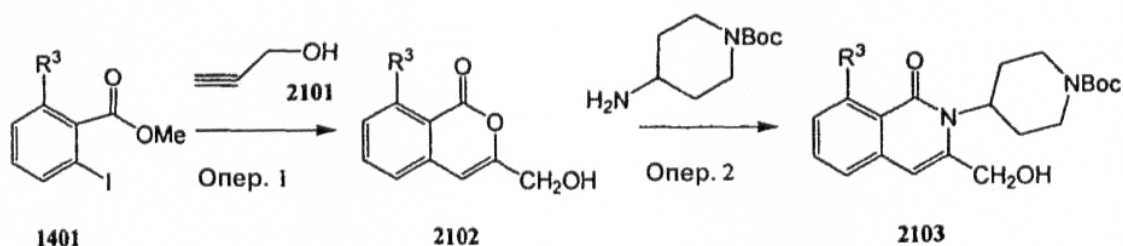
- 5 На Схемі 19 Операцією 1 сполуку формули 1901 обробляють аміном і отримують сполуку формули 1902. Сполуку формули 1902 ізолюють. Операцією 2 сполуку формули 1902 обробляють фосфорним оксихлоридом і отримують сполуку формули 1903, яку ізолюють. Операцією 3 сполуку формули 1903 вводять у реакцію з амінопурином формули 1904 і отримують сполуку формули 1905, яку ізолюють. Операцією 4 сполуку формули 1905 обробляють гідрохлорною кислотою для видалення захисної групи на нітрогені пуринового компоненту і отримують сполуку формули 1906. Сполуку 1906 ізолюють.

Реакційна Схема 20:



- 15 На Схемі 20 Операцією 1, сполуку формули 1401 обробляють вініловим естером 2001 з використанням, наприклад, реакції Гека з подальшою циклізацією для отримання сполуки формули 2002. Сполуку формули 2002 ізолюють. Операцією 2 сполуку формули 2002 вводять у реакцію з 4-аміно N-Вос піперидином і отримують сполуку формули 2002. Сполуку формули 2003 ізолюють і вона може бути використана як інтермедіат у синтезі сполуки винаходу.

Реакційна Схема 21:



- 25 На Схемі 21 Операцією 1 сполуку формули 1401 обробляють алкініловим спиртом, наприклад, формули 2101, у присутності йодиду міді і паладію на карбоні як каталізатора, для

отримання сполуки формули 2102. Сполуку формули 2102, як варіант, ізолюють і, як варіант, очищають. Операцією 2 сполуку формули 2102 вводять у реакцію з 4-аміно N-Вос піперидином і отримують сполуку формули 2103. Сполуку формули 2103 ізолюють. Сполука формули 2103 може бути використана як інтермедіат у синтезі сполук винаходу.

5 Будь-які з сполук формули I, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII або XIV можуть бути синтезовані з використанням реакційних схем, описаних вище, або варіантів добре відомих способів.

Хімічні об'єкти можуть бути синтезовані належною комбінацією відомих способів синтезу.

10 У деяких втіленнях один або більше сполук згідно з винаходом з'єднуються специфічно з кіназою PI3 або протеїновою кіназою, вибраною з групи, яку складають mTog, залежна від ДНК протеїнова кіназа (Pubmed № (PPAN) AAA79184), Abl кіназа тирозину (CAA52387), Bcr-Abl, гомопоетична клітинна кіназа (PPAN CAM 9695), Src (PPAN CAA24495), рецептор васкулярного ендотеліального фактора росту 2 (PPAN ABB82619), рецептор епідермального фактора росту (PPAN AG43241), рецептор B4 EPH (PPAN EAL23820), рецептор фактора стовбурових клітин (PPAN AAF22141), рецептор тирозин-протеїнової кінази TIE-2 (PPAN Q02858), пов'язана з fms кіназою тирозину 3 (PPAN NP\_004110), рецептор альфа фактора росту тромбоцитів (PPAN NP\_990080), RET (PPAN CAA73131) і будь-які інші протеїнові кінази, наведені у Таблицях і кресленнях, а також будь-які функціональні їх мутанти. У деяких втіленнях  $IK_{50}$  сполуки винаходу для p110a, p110o, p110y або p1108 становить менше приблизно 1 мкМ, менше приблизно 100 нМ, менше приблизно 50 нМ, менше приблизно 10 нМ, менше 1 нМ або навіть менше приблизно 0,5 нМ. У деяких втіленнях  $IK_{50}$  сполуки винаходу для mTog становить менше приблизно 1 мкМ, менше приблизно 100 нМ, менше приблизно 50 нМ, менше приблизно 10 нМ, менше 1 нМ або навіть менше приблизно 0,5 нМ.

25 У деяких інших втіленнях одна або більше сполук винаходу виявляють подвійну специфічність зв'язування і можуть пригнічувати кіназу PI3 (наприклад, клас I кінази PI3) і протеїнову кіназу (наприклад, mTog) при  $IK_{50}$  менше приблизно 1 мкМ, менше приблизно 100 нМ, менше приблизно 50 нМ, менше приблизно 10 нМ, менше 1 нМ або навіть менше приблизно 0,5 нМ. Одна або більше сполук винаходу можуть пригнічувати кінази тирозину, включаючи, наприклад, залежну від ДНК протеїнову кіназу (Pubmed № (PPAN) AAA79184), Abl кіназу тирозину (CAA52387), Bcr-Abl, гомопоетичну клітинну кіназу (PPAN CAM 9695), Src (PPAN CAA24495), рецептор васкулярного ендотеліального фактора росту 2 (PPAN ABB82619), рецептор епідермального фактора росту (PPAN AG43241), рецептор B4 EPH (PPAN EAL23820), рецептор фактора стовбурових клітин (PPAN AAF22141), рецептор тирозин-протеїнової кінази TIE-2 (PPAN Q02858), пов'язану з fms кіназу тирозину 3 (PPAN NP\_004110), рецептор альфа фактора росту тромбоцитів (PPAN NP\_990080), RET (PPAN CAA73131) і будь-які інші протеїнові кінази, наведені у Таблицях і кресленнях, а також будь-які функціональні їх мутанти.

30 У деяких втіленнях сполуки винаходу виявляють одну або більше функціональних характеристик, описаних тут., наприклад, одна або більше сполук винаходу зв'язуються специфічно з кіназою PI3. У деяких втіленнях,  $IK_{50}$  сполуки винаходу для p110a, p110p, p110y або p1108 становить менше приблизно 1 мкМ, менше приблизно 100 нМ, менше приблизно 50 нМ, менше приблизно 10 нМ, менше приблизно 1 нМ, менше приблизно 0,5 нМ, менше приблизно 100 пкМ або менше приблизно 50 пкМ.

45 У деяких втіленнях одна або більше сполук винаходу можуть селективно пригнічувати один або більше членів типу I або класу I фосфатидилінозитольних 3-кіназ (PI3-кіназ) при  $IK_{50}$  приблизно 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 100 пкМ, 10 пкМ або 1 пкМ, або менше ніж показник аналізу кіназ in vitro.

50 У деяких втіленнях одна або більше сполук винаходу можуть селективно пригнічувати один або два члени типу I або класу I фосфатидилінозитольних 3-кіназ (PI3-кіназ), який складається з PI3-кінази  $\alpha$ , PI3-кінази  $\beta$ , PI3-кінази  $\gamma$  і PI3-кінази  $\delta$ . У деяких аспектах деякі з сполук винаходу селективно пригнічують PI3-кіназу  $\delta$  порівняно з усіма іншими типами I PI3-кіназ. В інших аспектах деякі з сполук винаходу селективно пригнічують PI3-кіназу  $\delta$  і PI3-кіназу  $\gamma$  порівняно з рештою типу I PI3-кіназ. В інших аспектах деякі з сполук винаходу селективно пригнічують PI3-кіназу  $\alpha$  і PI3-кіназу  $\beta$  порівняно з рештою PI3-кіназ типу I. В деяких інших аспектах деякі з сполук винаходу селективно пригнічують PI3-кіназу  $\delta$  і PI3-кіназу  $\alpha$  порівняно з рештою PI3-кіназ типу I, або селективно пригнічують PI3-кіназу  $\delta$  і PI3-кіназу  $\gamma$  порівняно з рештою PI3-кіназ типу I, або селективно пригнічують PI3-кіназу  $\alpha$  і PI3-кіназу  $\gamma$  порівняно з рештою PI3-кіназ типу I, або селективно пригнічують PI3-кіназу  $\gamma$  і PI3-кіназу  $\beta$  порівняно з рештою PI3-кіназ типу I.

В іншому аспекті пригнічення або селективне пригнічення одного або більше членів типу I РІЗ-кіназ, або пригнічення або селективне пригнічення одного або більше опосередкованих РІЗ-кіназами типу I сигнальних шляхів, в іншому варіанті можуть стосуватись сполуки, що виявляє 50 %-ну пригнічуючу концентрацію ( $IK_{50}$ ) для даної кінази РІЗ типу I, яка є щонайменше у 10 разів, щонайменше 20 разів, щонайменше 50 раз, щонайменше 100 разів, щонайменше 1000 разів, щонайменше 10000 разів або менше за пригнічуючу  $IK_{50}$  решти РІЗ-кіназ типу I.

#### Фармацевтичні Композиції

Винахід включає фармацевтичні композиції, які включають одну або більше сполук винаходу.

У деяких втіленнях винахід включає фармацевтичні композиції для лікування хвороб або станів, пов'язаних з небажаною, занадто активною, шкідливою або небезпечною імунною реакцією у ссавця. Такі небажані імунні реакції можуть бути пов'язані або викликають, наприклад, астму, емфізему, бронхіт, псоріаз, алергію, анафілаксію, аутоімунні хвороби, ревматоїдний артрит, хворобу несприйняття трансплантату і червоний вовчак. Фармацевтичні композиції винаходу можуть бути використані для лікування інших респіраторних хвороб, включаючи (не лише) хвороби, що вражають легеневі долі, плевральну порожнину, бронхіальні трубки, трахеї, верхні респіраторні шляхи або нерви і м'язи, що забезпечують дихання.

У деяких втіленнях винахід включає фармацевтичні композиції для лікування, наприклад, гіперпроліферативного розладу, включаючи (не лише) рак, наприклад, гостру мієлоїдну лейкемію, рак тимусу, мозку, легені, сквамозних клітин, шкіри, ока, ретинобластому, інтраокулярну меланому, рак оральної порожнини і глоточної перепонки, сечового міхура, шлунку, підшлункової залози, сечового міхура, грудей, шийки матки, голови, шиї, нирки, печінки, яєчника, простати, товстої або прямої кишки, стравоходу, яєчка, гінекологічних раків, щитовидної залози, ЦНС, ПНС, пов'язаних з СНІД (наприклад, лімфоми і саркоми Капоші) або рак вірусного походження. У деяких втіленнях зазначену фармацевтичну композицію застосовують для лікування неракових гіперпроліферативних розладів, наприклад, доброякісної гіперплазії шкір (наприклад, псоріазу), рестенозу або простатиту (наприклад, доброякісного розростання простати (ВРН)).

Винахід також включає композиції для лікування хвороб печінки (включаючи діабет), панкреатиту або хвороб нирки (включаючи проліферативний гломерулонефрит і викликаний діабетом нефрит) або болі у ссавця.

Винах, крім того, включає композицію для відвернення бластоцитної імплантації у ссавця. Винахід також включає композицію для лікування хвороб, пов'язаних з васкулогенезом або ангіогенезом у ссавців, які можуть проявлятися як пухлинний ангіогенез, хронічної запальної хвороби, наприклад, ревматоїдного артриту, запальної кишкової хвороби, атеросклерозу, шкірних хвороб, наприклад, псоріазу, екземи і склеродерми, діабету, діабетичної ретинопатії, передчасної ретинопатії, вікової макулярної дегенерації, гемангіоми, гліоми, меланоми, саркоми Капоші і раку яєчника, грудей, легені, підшлункової залози, простати, прямої кишки і епідермоїду.

Фармацевтичні композиції згідно з винаходом звичайно приготують таким чином, щоб забезпечити у ній терапевтично ефективну кількість сполуки винаходу як активного інгредієнту або її фармацевтично прийнятної солі, естеру, проліків, сольвату, гідрату або похідної. За бажання фармацевтичні композиції можуть містити фармацевтично прийнятну сіль і/або її координаційний комплекс і один або більше фармацевтично прийнятних ексципієнтів, носіїв, включаючи інертні тверді розріджувачі і наповнювачі, розріджувачі, включаючи стерильні водні розчини і різні органічні розчинники, поліпшувачі проникності, солюбілізатори і ад'юванти.

Фармацевтичні композиції згідно з винаходом можна вводити індивідуально або у комбінації з одним або більше іншими агентами, які також звичайно вводять у формі фармацевтичної композиції. За бажання сполуки винаходу і інші агенти можуть бути змішані і утворювати препарат або обидва компоненти можуть бути окремими препаратами для використання у комбінації окремо або одночасно.

У деяких втіленнях концентрація одної або більше сполук у фармацевтичних композиціях винаходу становить менше 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0009, 0,0008, 0,0007, 0,0006, 0,0005, 0,0004, 0,0003, 0,0002 або 0,0001 % (маса/маса, маса/об'єм або об'єм/об'єм).

У деяких втіленнях концентрація одної або більше сполук винаходу перевищує 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 19,75, 19,50, 19,25, 19, 18,75, 18,50, 18,25, 18, 17,75, 17,50, 17,25, 17, 16,75, 16,50, 16,25, 16, 15,75, 15,50, 15,25, 15, 14,75, 14,50, 14,25, 14, 13,75, 13,50, 13,25, 13, 12,75, 12,50, 12,25, 12, 11,75, 11,50, 11,25, 11, 10,75, 10,50, 10,25, 10, 9,75, 9,50, 9,25, 9, 8,75, 8,50, 8,25,

8, 7,75, 7,50, 7,25, 7, 6,75, 6,50, 6,25, 6, 5,75, 5,50, 5,25, 5, 4,75, 4,50, 4,25, 4, 3,75, 3,50, 3,25, 3, 2,75, 2,50, 2,25, 2, 1,75, 1,50, 1,25, 1, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,09, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, 0,009, 0,008, 0,007, 0,006, 0,005, 0,004, 0,003, 0,002, 0,001, 0,0009, 0,0008, 0,0007, 0,0006, 0,0005, 0,0004, 0,0003, 0,0002 або 0,0001 % (маса/маса, маса/об'єм або об'єм/об'єм).

5 У деяких втіленнях концентрація одної або більше сполук винаходу становить від приблизно 0,0001 % до приблизно 50 %, приблизно 0,001 % до приблизно 40 %, від приблизно 0,01 % до приблизно 30 %, від приблизно 0,02 % до приблизно 29 %, від приблизно 0,03 % до приблизно 28 %, від приблизно 0,04 % до приблизно 27 %, від приблизно 0,05 % до приблизно 26 %, від приблизно 0,06 % до приблизно 25 %, від приблизно 0,07 % до приблизно 24 %, від приблизно 0,08 % до приблизно 23 %, від приблизно 0,09 % до приблизно 22 %, від приблизно 0,1 % до приблизно 21 %, від приблизно 0,2 % до приблизно 20 %, від приблизно 0,3 % до приблизно 19 %, від приблизно 0,4 % до приблизно 18 %, від приблизно 0,5 % до приблизно 17 %, від приблизно 0,6 % до приблизно 16 %, від приблизно 0,7 % до приблизно 15 %, від приблизно 0,8 % до приблизно 14 %, від приблизно 0,9 % до приблизно 12 %, від приблизно 1 % до приблизно 10 % w/w, w/v або об'єм/об'єм. Об'єм/об'єм. 5

10 У деяких втіленнях концентрація одної або більше сполук винаходу становить від приблизно 0,001 % до приблизно 10 %, від приблизно 0,01 % до приблизно 5 %, від приблизно 0,02 % до приблизно 4,5 %, від приблизно 0,03 % до приблизно 4 %, від приблизно 0,04 % до приблизно 3,5 %, від приблизно 0,05 % до приблизно 3 %, від приблизно 0,06 % до приблизно 2,5 %, від приблизно 0,07 % до приблизно 2 %, від приблизно 0,08 % до приблизно 1,5 %, від приблизно 0,09 % до приблизно 1 %, від приблизно 0,1 % до приблизно 0,9 % (маса/маса, маса/об'єм або об'єм/об'єм).

20 У деяких втіленнях кількість одної або більше сполук винаходу не перевищує 10 г, 9,5 г, 9,0 г, 8,5 г, 8,0 г, 7,5 г, 7,0 г, 6,5 г, 6,0 г, 5,5 г, 5,0 г, 4,5 г, 4,0 г, 3,5 г, 3,0 г, 2,5 г, 2,0 г, 1,5 г, 1,0 г, 0,95 г, 0,9 г, 0,85 г, 0,8 г, 0,75 г, 0,7 г, 0,65 г, 0,6 г, 0,55 г, 0,5 г, 0,45 г, 0,4 г, 0,35 г, 0,3 г, 0,25 г, 0,2 г, 0,15 г, 0,1 г, 0,09 г, 0,08 г, 0,07 г, 0,06 г, 0,05 г, 0,04 г, 0,03 г, 0,02 г, 0,01 г, 0,009 г, 0,008 г, 0,007 г, 0,006 г, 0,005 г, 0,004 г, 0,003 г, 0,002 г, 0,001 г, 0,0009 г, 0,0008 г, 0,0007 г, 0,0006 г, 0,0005 г, 0,0004 г, 0,0003 г, 0,0002 г або 0,0001 г.

25 У деяких втіленнях кількість одної або більше сполук винаходу перевищує 0,0001 г, 0,0002 г, 0,0003 г, 0,0004 г, 0,0005 г, 0,0006 г, 0,0007 г, 0,0008 г, 0,0009 г, 0,001 г, 0,0015 г, 0,002 г, 0,0025 г, 0,003 г, 0,0035 г, 0,004 г, 0,0045 г, 0,005 г, 0,0055 г, 0,006 г, 0,0065 г, 0,007 г, 0,0075 г, 0,008 г, 0,0085 г, 0,009 г, 0,0095 г, 0,01 г, 0,015 г, 0,02 г, 0,025 г, 0,03 г, 0,035 г, 0,04 г, 0,045 г, 0,05 г, 0,055 г, 0,06 г, 0,065 г, 0,07 г, 0,075 г, 0,08 г, 0,085 г, 0,09 г, 0,095 г, 0,1 г, 0,15 г, 0,2 г, 0,25 г, 0,3 г, 0,35 г, 0,4 г, 0,45 г, 0,5 г, 0,55 г, 0,6 г, 0,65 г, 0,7 г, 0,75 г, 0,8 г, 0,85 г, 0,9 г, 0,95 г, 1 г, 1,5 г, 2 г, 2,5, 3 г, 3,5, 4 г, 4,5 г, 5 г, 5,5 г, 6 г, 6,5 г, 7 г, 7,5 г, 8 г, 8,5 г, 9 г, 9,5 г або 10 г.

30 У деяких втіленнях кількість одної або більше сполук винаходу лежить у межах 0,0001-10 г, 0,0005-9 г, 0,001-8 г, 0,005-7 г, 0,01-6 г, 0,05-5 г, 0,1-4 г, 0,5-4 г або 1-3 г.

35 Сполуки згідно з винаходом є ефективними у широких межах доз, наприклад, у лікуванні дорослої людини, дози становлять від 0,01 до 1000 мг, від 0,5 до 100 мг, від 1 до 50 мг на день і від 5 до 40 мг на день. Типовою дозою є 10-30 мг на день. Точна доза залежить від способу введення, форми сполуки, пацієнта, маси його тіла і міркувань і досвіду лікаря.

40 Далі розглядаються типові фармацевтичні композиції і способи їх приготування.

Фармацевтичні композиції для перорального введення

45 У деяких втіленнях винахід включає фармацевтичну композицію для перорального введення, яка містить сполук винаходу і фармацевтичний ексципієнт, придатний для перорального введення.

У деяких втіленнях винахід включає тверду фармацевтичну композицію для перорального введення яка містить: (i) ефективну кількість сполуки винаходу; як варіант, (ii) ефективну кількість другого агента; і (iii) фармацевтичний ексципієнт, придатний для перорального введення. У деяких втіленнях композиція також містить (iv) ефективну кількість третього агента.

50 У деяких втіленнях фармацевтична композиція може бути рідиною, придатною для перорального вживання. Фармацевтичні композиції винаходу, придатні для перорального введення, можуть бути виготовлені як дискретні дозовані форми, наприклад, капсули, облатки або таблетки або рідинні або аерозольні спреї, які містять заздалегідь визначену кількість активного інгредієнту у вигляді порошку або у гранулах, розчині або суспензії у воді або неводній рідині, у масляно-водній або водно-масляній емульсії. Такі дозовані форми можуть бути приготовлені будь-яким з способів фармацевтики, але усі ці способи включають операцію введення активного інгредієнту у контакт з носієм, який складається з одного або більше необхідних інгредієнтів. Взагалі композиції приготують однорідним ретельним змішуванням 55 активного інгредієнту з рідкими носіями або з тонко подрібненими твердими носіями або обома і 60



потім, якщо необхідно, надають продукту бажаний вигляд. Наприклад, таблетки можуть бути приготовлені пресуванням або формуванням, як варіант, з одним або більше допоміжними інгредієнтами. Таблетки можуть бути приготовлені пресуванням у відповідній машині активного інгредієнту у текучу форму, наприклад, порошок або гранул, як варіант, змішаних з експіцієнтом, наприклад, (не лише), зв'язуючим агентом, змащувачем, інертним розріджувачем і/або ПАР або диспергатором. Таблетки формують на належній машині з цієї порошкової суміші, зволоженої інертним рідким розріджувачем.

Винахід також включає безводні фармацевтичні композиції і дозовані форми, що включають активний інгредієнт, оскільки вода може викликати розкладення деяких сполук, наприклад, вода може бути додана (наприклад, 5 %) як засіб моделювання довготермінового зберігання для визначення характеристик (наприклад, тривалості зберігання або стабільності рецептури).

Безводні фармацевтичні композиції і дозовані форми винаходу можуть бути приготовлені з використанням безводних або низьковологих інгредієнтів в умовах низької вологості. Фармацевтичні композиції і дозовані форми винаходу, які містять лактозу, можуть бути зроблені безводними, якщо під час виготовлення, пакування і/або зберігання очікується суттєвий контакт з вологістю. Безводні фармацевтичні композиції можуть бути приготовлені і зберігатись з підтриманням їх безводності. Відповідно, безводні композиції можуть бути упаковані з використанням матеріалів, що відвертають проникнення води, і можуть бути включені у придатний рецептурний комплект. Приклади придатних упаковок включають (не лише) герметично пакувальну фольгу, пластик тощо, контейнери одиничних доз, блістерні пакети і контурні упаковки.

Активний інгредієнт може бути об'єднаний у тісній суміш з фармацевтичним носієм згідно з звичайною фармацевтичною практикою. Носій може приймати різні форми залежно від форми препарату, придатної для введення. При приготуванні композицій для пероральних дозованих форм як носій може бути використане будь-яке фармацевтичне середовище, наприклад, вода, гліколі, масла, спирти, ароматизатори, консерванти, забарвлювачі тощо.

У випадку пероральних рідинних препаратів (наприклад, суспензій, розчинів і еліксирів) або аерозолів можуть бути використані носії, наприклад, крохмалі, цукри, мікрокристалічна целюлоза, розріджувачі, гранулятори, змащувачі, зв'язуючі агенти і дезінтегратори. У деяких втіленнях, де не використовується лактоза, наприклад, придатні носії включають порошки, капсули і таблетки. За бажання таблетки можуть бути покриті з застосуванням стандартних водних або безводних процедур.

Зв'язуючі агенти, придатні для використання у фармацевтичних композиціях і дозованих формах, включають (не лише) кукурудзяний крохмаль, картопляний крохмаль або інші крохмалі, желатин, природні і синтетичні гуми, наприклад, гуміарабік, альгінат натрію, альгінінову кислоту і інші альгірати, порошок траган, гуарову гуму, целюлозу і її похідні (наприклад, етил целюлозу, целюлозний ацетат, карбоксиметил целюлозний кальцій, натрієву карбоксиметил целюлозу), полівініл піролідон, метил целюлозу, желатинований крохмаль, гідроксипропіл метил целюлозу, мікрокристалічну целюлозу і їх суміші.

Приклади придатних наповнювачів для фармацевтичних композицій і дозованих форм включають (не лише) тальк, карбонат кальцію (наприклад, гранули або порошки), мікрокристалічну целюлозу, порошкову целюлозу, декстрати, каолін, манітол, саліцилову кислоту, сорбітол, крохмаль, желатинований крохмаль і їх суміші.

Дезінтегратори можуть бути використані у композиціях винаходу для виготовлення таблеток, що швидко руйнуються у водному середовищі. Надлишок дезінтегратора дозволяє отримати таблетки, які розпадаються у пляшці. Брак може бути недостатнім для руйнування і може вплинути на швидкість і рівень вивільнення активних інгредієнтів з дозованої форми. Отже, достатня кількість (не занадто велика і не занадто мала, щоб вплинути на вивільнення активних інгредієнтів) може бути використані для формування дозованих форм сполук згідно з винаходом. Кількість дезінтегратора може бути різною залежно від типу рецептури і способу введення і може бути визначена фахівцем. У фармацевтичній композиції можуть бути від приблизно 0,5 до приблизно 15 % або приблизно від 1 до приблизно 5 % (за масою) дезінтегратора.

Дезінтегратори, які можуть бути використані у фармацевтичних композиціях і дозованих формах винаходу включають (не лише) агар-агар, альгінінову кислоту, карбонат кальцію, мікрокристалічну целюлозу, кроскамелозний натрій, кросповідон, полакриліновий калій, натрію крохмаль гліколат, картопляний або тапіоковий крохмаль і інші крохмалі, желатинований крохмаль, глини і інші альгіни і інші целюлози, гуми або їх суміші.

Змащувачі, які можуть бути використані у фармацевтичних композиціях і дозованих формах винаходу, включають (не лише) стеарат кальцію, стеарат магнію, мінеральне масло, світле

мінеральне масло, гліцерин, сорбітол, манітол, поліетилен гліколь і інші гліколі, стеаринову кислоту, лаурилсульфат натрію, тальк, гідрогеноване рослинне масло (наприклад, арахісове масло, бавовникове масло, соняшникове масло, кунжутне масло, оливкове масло, кукурудзяне масло і соєве масло), стеарат цинку, етилолеат, етилсечовина, агар або їх суміші. Змашувачі також включають, наприклад, силоїдний силікагель, коагульований аерозоль синтетичного силікату або їх суміші. Змашувач можна, як варіант, додавати у кількості менше приблизно 1 % (за масою) фармацевтичної композиції.

Коли водні суспензії і/або еліксири є бажаними для перорального введення, активний інгредієнт у них може бути комбінований з різними підсолоджувачами або ароматизаторами, кольоровими речовинами, забарвлювачами і, якщо бажано, емульгаторами і/або суспендуючими агентами, разом такими розріджувачами, як вода, етанол, пропілен гліколь, гліцерин і їх різні комбінації.

Таблетки можуть бути непокритими або покритими для затримання дезінтеграції і абсорбції у шлунково-кишковому тракті і цим забезпечують дію протягом довшого часу. Наприклад, затримуючим матеріалом може бути гліцерил моностеарат або гліцерил дістеарат. Рецептури для перорального використання можуть також мати форму жорстких желатинових капсул, де активний інгредієнт змішано з інертним твердим розріджувачем, наприклад, карбонатом кальцію, фосфатом кальцію або каоліном, або у формі м'яких желатинових капсул, де активний інгредієнт змішано з водою або маслом, наприклад, арахісовим маслом, рідким парафіном або оливковим маслом.

ПАР, які можуть бути використані у фармацевтичних композиціях і дозованих формах винаходу включають (не лише) гідрофільні ПАР, ліпофільні ПАР і їх суміші. Можуть бути використані суміш гідрофільних ПАР, суміш ліпофільних ПАР або суміш щонайменше одної гідрофільної ПАР і щонайменше одної ліпофільної ПАР.

Придатна гідрофільна ПАР може взагалі мати значення HLB щонайменше 10, а придатна ліпофільна ПАР може взагалі мати HLB не менше приблизно 10. HLB є емпіричним параметром, що характеризує відносну гідрофільність і гідрофобність неіонних амфільних сполук як гідрофільно-ліпофільний баланс. ПАР з нижчим значенням HLB є більш ліпофільними або гідрофобними і мають більшу розчинність у маслах, а ПАР вищими значеннями HLB є більш гідрофільними і мають кращу розчинність у водних розчинах. Гідрофільні ПАР взагалі вважаються сполуками з HLB більше приблизно 10, а також аніонними, катіонними або цвітеріонними сполуками, для яких HLB взагалі не застосовують. Ліпофільні (тобто, гідрофобні) ПАР є сполуками з HLB не більше приблизно 10. Однак, значення ПАР є приблизним показником, який взагалі використовують у рецептурах промислових, фармацевтичних і косметичних емульсій.

Гідрофільні ПАР можуть бути іонними або неіонними. Придатні іонні ПАР включають (не лише) алкіламонієві солі; солі фусидної кислоти; жирно-кислотні похідні амінокислот, олігопептиди і поліпептиди; гліцеридні похідні амінокислот, олігопептиди і поліпептид; лецитини і гідрогенізовані лецитини; лізолецитини і гідрогеновані лізолецитини; фосфоліпіди і їх похідні; лізофосфоліпіди і їх похідні; карнітинові солі естерів жирних кислот; солі алкілсульфатів; солі жирних кислот; докзат натрію; ацилактилати; моно- і діацетиловані виннокам'янокислотні естери моно- і дигліцеридів; сукциніловані моно- і дигліцериди; лимонно-кислотні естери моно- і дигліцеридів і їх суміші.

У зазначеній групі іонні ПАР включають, наприклад: лецитини, лізолецитин, фосфоліпіди, лізофосфоліпіди і їх похідні; естерні солі карнітинової жирної кислоти; солі алкілсульфатів; солі жирних кислот; докзат натрію; ацилактилати; моно- і діацетиловані естери виннокам'яної кислоти, моно- і дигліцериди; сукциніловані моно- і дигліцерид; лимонна кислота, виннокам'янокислотні естери моно- і дигліцеридів; і їх суміші.

Іонні ПАР можуть бути іонізованими формами лецитину, лізолецитину, фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну, фосфатидилгліцеролу, фосфатидної кислот, фосфатидилсерину, лізофосфатидилхоліну, лізофосфатидилетаноламіну, лізофосфатидилгліцеролу, лізофосфатидної кислоти, лізофосфатидилсерину, PEG-фосфатидилетаноламіну, PVP-фосфатидилетаноламіну, лактилінових естерів жирних кислот, стеароїл-2-лактилату, стеароїллактилату, сукцинілованих моногліцеридів, моно/діацетилованих винно-кам'янокислотних естерів моно- і дигліцеридів, лимонно-кислотних естерів моно/дигліцеридів, холі-лсаркозину, капроату, каприлату, капрату, лаурату, міристану, пальмітату, олеату, рицино-леату, лінолеату, ліноленату, стеарату, лаурил сульфату, терацецил сульфату, докзату, лауроїл карнітинів, пальмітоїл карнітинів, міристоїл карнітинів і їх солей і сумішей.

Гідрофільні неіонні ПАР можуть включати (не лише) алкілглюкозиди; алкілмальтозиди; алкілтіоглюкозиди; лаурил макрогліцериди; поліоксигліцериди; алкіл-етери, наприклад,

поліетилен гліколеві алкіл-етери; поліоксиалкілен алкілфеноли, наприклад, поліетилен гліколь алкіл феноли; поліоксиалкілен алкіл фенол-естери жирної кислоти, наприклад, поліетилен гліколеві моноестери жирних кислот і поліетилен гліколеві діестери жирних кислот; поліетилен гліколь гліцерол-естери жирної кислоти; полігліцерольні естери жирної кислоти; поліоксиалкілен сорбітанові естери жирної кислоти, наприклад, поліетилен гліколь сорбітан-естери жирної кислоти; гідрофільні трансестерифікаційні продукти поліолу з щонайменше одним членом групи, яку складають гліцериди, рослинні масла, гідрогеновані рослинні масла, жирні кислоти і стероли; поліоксиетилен стероли, їх похідні і аналоги; поліоксиетилізовані вітаміни і їх похідні; поліоксиетилен-поліоксипропілен блочні співполімери; і їх суміші; поліетилен гліколь сорбітан-естери жирної кислоти і гідрофільні трансестерифікаційні продукти поліолу з щонайменше одним членом групи, яку складають тригліцериди, рослинні масла і гідрогеновані рослинні масла. Поліолями можуть бути гліцерол, етилен гліколь, поліетилен гліколь, сорбітол, пропілен гліколь, пентаеритритол або сахаориди.

Інші гідрофільні-неіонні ПАР включають (не лише) PEG-10 лаурат, PEG-12 лаурат, PEG-20 лаурат, PEG-32 лаурат, PEG-32 дилаурат, PEG-12 олеат, PEG-15 олеат, PEG-20 олеат, PEG-20 діолеат, PEG-32 олеат, PEG-200 олеат, PEG-400 олеат, PEG-15 стеарат, PEG-32 дистеарат, PEG-40 стеарат, PEG-100 стеарат, PEG-20 дилаурат, PEG-25 гліцерил тріолеат, PEG-32 діолеат, PEG-20 гліцерил лаурат, PEG-30 гліцерил лаурат, PEG-20 гліцерил стеарат, PEG-20 гліцерил олеат, PEG-30 гліцерил олеат, PEG-30 гліцерил лаурат, PEG-40 гліцерил лаурат, PEG-40 пальмове масло, PEG-50 гідрогеноване касторове масло, PEG-40 касторове масло, PEG-35 касторове масло, PEG-60 касторове масло, PEG-40 гідрогеноване касторове масло, PEG-60 гідрогеноване касторове масло, PEG-60 кукурудзяне масло, PEG-6 капрат/каприлатні гліцериди, PEG-8 капрат/каприлатні гліцериди, полігліцерил-10 лаурат, PEG-30 холестерол, PEG-40 фітостерол, PEG-30 соєвий стерол, PEG-20 тріолеат, PEG-40 сорбітан олеат, PEG-80 сорбітан лаурат, полісорбат 20, полісорбат 80, POE-9 лаурил етер, POE-23 лаурил етер, POE-10 олеїл-етер, POE-20 олеїл-етер, POE-20 стеарил-етер, токоферил PEG-100 сукцинат, PEG-24 холестерол, полігліцерил-10 олеат, Tween 40, Tween 60, моностеарат сахарози, монолаурат сахарози, монопальмітат сахарози, PEG 10-100 ноніл фенольну серію, PEG 15-100 октил фенольну серію і полоксамери.

Придатні ліпофільні ПАР включають, наприклад: жирні спирти; гліцерол-естери жирної кислоти; ацетиловані гліцерольні естери жирної кислоти; нижні спиртові естери жирних кислот; пропілен гліколеві естери жирної кислоти; сорбітанові естери жирної кислоти естер; поліетилен гліколь сорбітанові естери жирної кислоти; стероли і стерольні похідні поліокси-етилізовані стероли і стерольні похідні; поліетилен гліколь алкільні етери; цукрові естери; цукрові етери; молочно-кислотні похідні моно- і дигліцеридів; гідрофобні трансестерифікаційні продукти поліолу з щонайменше одним членом групи, яку складають гліцериди, рослинні масла, гідрогеновані рослинні масла, жирні кислоти і стероли; маслорозчинні вітаміни/вітамінні похідні; і їх суміші. У цих групах бажані ліпофільні ПАР включають гліцерольні естери жирної кислоти, пропілен гліколеві естери жирної кислоти і їх суміші або є гідрофобними трансестерифікаційними продуктами поліолу з щонайменше одним членом групи, яку складають рослинні масла, гідрогеновані рослинні масла і тригліцериди.

В одному з втілень композиція може включати солюбілізатор для забезпечення високої солюбілізації і/або розчинності сполуку винаходу мінімізації осадження сполуку винаходу. Це може бути особливо важливим для композицій для неперорального введення, наприклад, композицій для ін'єкцій.

Солюбілізатор можна також додавати для підвищення розчинності гідрофільного медикаменту і/або інших компонентів, наприклад, ПАР або підтримувати композицію як стабільний або гомогенний розчин або дисперсію.

Приклади придатних солюбілізаторів включають (не лише): спирти і полібіс-, наприклад, етанол, ізопропанол, бутанол, бензиловий спирт, етиленгліколь, пропіленгліколь, бутандіолі і їх ізомери, гліцерол, пентаеритритол, сорбітол, манітол, транскутол, диметил ізо-сорбід, поліетилен гліколь, поліпропіленгліколь, полівініловий спирт, гідроксипропіл метилцелюлозу і інші целюлозні похідні, циклодекстрини і циклодекстринові похідні; етери поліетилен гліколів з середньою молекулярною масою від приблизно 200 до приблизно 6000, наприклад, тетрагідрофурфуріловий спиртовий PEG етер (глікофурол) або метокси PEG; аміді і інші нітрогеновмісні сполуки, наприклад, 2-піролідон, 2-піперидон, епсилон-капролактан, N-алкілпіролідон, N-гідроксиалкілпіролідон, N-алкілпіперидон, N-алкілкапролактан, диметилацетамід і полівінілпіролідон; естери, наприклад, етилпропіонат, трибутилцитрат, ацетилтриетилцитрат, ацетилтрибутилцитрат, триетилцитрат, етилолеат, етилкаприлат, етилбутират, триацетин, пропіленгліколь моноацетат, пропіленгліколь діацетат, епсилон-

капролактон і їх ізомери, 8-валеролактон і його ізомери, р-бутиролактон і його ізомери і інші відомі солюбілізатори, наприклад, диметилацетамід, диметилізосорбід, N-метилпіролідон, монооктаноїн, діетиленглікольмоноетилетер і воду.

Можна використовувати суміші солюбілізаторів. Приклади включають (не лише) триацетин, триетилцитрат, етил олеат, етил каприлат, диметилацетамід, N-метилпіролідон, N-гідроксиетилпіролідон, полівінілпіролідон, гідроксипропіл метилцелюлозу, гідроксипропіл циклодекстрини, етанол, поліетилен гліколь 200-100, глікофурол, транскутол, пропілен гліколь і диметил ізосорбід. Зокрема, бажаними солюбілізаторами є сорбітол, гліцерол, триацетин, етиловий спирт, PEG-400, глікофурол і пропіленгліколь.

Кількість солюбілізатору, що може бути включена, взагалі не обмежена. Кількість даного солюбілізатору може бути обмежена до біоприйнятної кількості, яка може бути легко визначена фахівцем. Іноді може бути бажано включати солюбілізатори з надлишком відносно біоприйнятної кількості, наприклад, максимізувати концентрацію медикаменту, з видаленням надлишку солюбілізатору перед введенням композиції пацієнту з використанням звичайних процедур, наприклад, дистиляції або випарювання. Отже, якщо солюбілізатор може бути присутній у масовій пропорції 10 %, 25 %, 50 %, 100 % або до приблизно 200 % від повної маси медикаменту і інших ексципієнтів. За бажання, дуже малі кількості солюбілізатору можуть також бути використані, наприклад, 5 %, 1 % або менше. Звичайно солюбілізатор може бути присутній у кількості від приблизно 1 % до приблизно 100 %, бажано, від приблизно 5 % до приблизно 25 % за масою.

Композиція може також включати один або більше фармацевтично прийнятних добавок і ексципієнтів. Такі добавки і ексципієнти включають (не лише) антиадгезиви, антиспінювачі, буфери, полімери, антиоксиданти, консерванти, хелатні добавки, модулятори в'язкості, тонізатори, ароматизатори, забарвлювачі, одоранти, висвітлювачі, суспенгатори, зв'язуючі агенти, наповнювачі, пластифікатори, змащувачі і їх суміші.

Крім того, кислоти або основи можуть бути включені у композицію для сприяння обробці, підвищення стабільності і з інших причин. Приклади фармацевтично прийнятних основ включають амінокислоти, амінокислотні естери, амоній гідроксид, гідроксид калію, гідроксид натрію, гідрокарбонат натрію, гідроксид алюмінію, карбонат кальцію, гідроксид магнію, алюмосилікат магнію, синтетичний силікат алюмінію, синтетичний гідрокальцит, алюмогідроксид магнію, діізопропілетиламін, етаноламін, етилендіамін, триетаноламін, триетиламін, триізопропаноламін, триметиламін, тріс(гідроксиметил)амінометан (TRIS) тощо. Придатними є основи, які є солями або фармацевтично прийнятними кислотами, наприклад, оцтовою кислотою, акриловою кислотою, адипиновою кислотою, альгіноювою кислотою, алкансульфоноювою кислотою, амінокислотою, аскорбіноювою кислотою, бензойною кислотою, борною кислотою, бутировою кислотою, карбоноювою кислотою, лимонною кислотою, жирними кислотами, мурашиною кислотою, фумаровою кислотою, глюконовою кислотою, гідрохіносульфоноювою кислотою, ізоаскорбіноювою кислотою, молочною кислотою, малеїноювою кислотою, оксаліноювою кислотою, пара-бромфенілсульфоноювою кислотою, пропіоноювою кислотою, р-толуолсульфоноювою кислотою, саліциловою кислотою, стеариноювою кислотою, бурштиноювою кислотою, дубильною кислотою, винно-кам'яною кислотою, тіогліколевою кислотою, толуолсульфоноювою кислотою, сечовою кислотою тощо. Солі поліпротонних кислот, наприклад, фосфат натрію, гідрофосфат динатрію і дигідрофосфат натрію також можуть бути використані. Коли основою є сіль, катіоном може бути будь-який зручний фармацевтично прийнятний катіон, наприклад, амоній, лужні метали, лужно-земельні метали тощо. Приклади можуть включати (не лише) натрій, калій, літій, магній, кальцій і амоній.

Придатними є фармацевтично прийнятні органічні або неорганічні кислоти. Приклади придатних неорганічних кислот включають гідрохлорну кислоту, гідробромну кислоту, гідройодну кислоту, сульфурову кислоту, нітрокислоту, борну кислоту, фосфорну кислоту тощо. Приклади придатних органічних кислот включають оцтову кислоту, акрилову кислоту, адипову кислоту, альгінову кислоту, алкансульфонові кислоти, амінокислоти, аскорбінову кислоту, бензойну кислоту, борну кислоту, бутирову кислоту, карбонову кислоту, лимонну кислоту, жирні кислоти, мурашину кислоту, фумарову кислоту, гліконову кислоту, гідрохіносульфонову кислоту, ізоаскорбінову кислоту, молочну кислоту, малеїнову кислоту, метансульфонову кислоту, оксалілову кислоту, пара-бромфенілсульфонову кислоту, пропіонову кислоту, р-толуолсульфонову кислоту, саліцилову кислоту, стеаринову кислоту, бурштинову кислоту, дубильну кислоту, винно-кам'яну кислоту, тіогліколеву кислоту, толуолсульфонову кислоту, сечову кислоту тощо.

Фармацевтичні композиції для ін'єкцій

У деяких втіленнях винахід включає фармацевтичну композицію для ін'єкцій, яка містить сполуку винаходу і фармацевтичний ексципієнт, придатний для ін'єкції. Далі описано компоненти і кількості агентів у композиціях.

5       Форми, які можуть бути надані композиціям винаходу для ін'єкцій, включають водні або масляні суспензії або емульсії з кунжутним, кукурудзяним, бавовниковим або арахісовим маслом, а також еліксири, манітол, декстрозу або стерильний водний розчин і подібні фармацевтичні носії.

10       Водні розчини у розсолі також звичайно використовують для ін'єкцій. Можуть бути використані також етанол, гліцерол, пропілен гліколь, рідкий поліетилен гліколь тощо (і їх суміші), циклодекстринні похідні і рослинні масла. Належну текучість можна забезпечити, наприклад, використанням покриття, наприклад, лецитину, для підтримання бажаного розміру часток у дисперсіях, і використанням ПАР. Відвернути дію мікроорганізмів можна застосуванням різних антибактеріальних і антигрибкових агентів, наприклад, парабенів, хлорбутанолу, фенолу, сорбітової кислоти, тимерозалу тощо.

15       Стерильні ін'єкційні розчини приготують введенням сполуки винаходу у потрібній кількості у належний розчинник з різними іншими інгредієнтами, згаданими вище, з подальшими фільтрацією і стерилізацією. Взагалі дисперсії приготують доданням різних стерилізованих активних інгредієнтів до стерильного носія, який містить базове дисперсійне середовище і інші потрібні інгредієнти з зазначених вище. Стерильні порошки для приготування стерильних ін'єкційних розчинів піддають сушінню у вакуумі і сушінню виморожуванням, отримуючи порошок активного інгредієнту разом з будь-якими додатковими бажаними інгредієнтами з раніше стерилізованого фільтрованого розчину.

20       Фармацевтичні композиції топічного (наприклад, трансдермального введення) У деяких втіленнях винахід включає фармацевтичну композицію для трансдермального введення, яка містить сполуку винаходу і фармацевтичний ексципієнт, придатний для трансдермального введення. Композиції винаходу можуть мати тверду, напівтверду або рідку форму, придатну для локального або топічного введення, наприклад, желе, водорозчинного желатину, кремів, лосьйонів, суспензій, пін, порошків, шламів, мазей, розчинів, масел, паст, супозиторіїв, спреїв, емульсій, сольових розчинів, диметилсульфоксидних (ДМСО) розчинів. Взагалі носії з вищими щільностями можуть забезпечити зону для подовженої дії активних інгредієнтів. На відміну від цього розчинна рецептура може забезпечити більше негайну дію активного інгредієнту у вибраній зоні.

25       Фармацевтичні композиції також можуть включати придатні твердо- або желе-фазні носії або ексципієнти, які є сполуками, що підвищують проникнення або сприяють проходженню терапевтичних молекул через бар'єр stratum corneum шкіри. Відомими є багато таких поліпшувачих проникнення молекул для топічних рецептур. Приклади таких носіїв і ексципієнтів включають (не лише) зволожувачі (наприклад, сечовину), гліколі (наприклад, пропілен гліколь), спирти (наприклад, етанол), жирні кислоти (наприклад, олеїнову кислоту), ПАР (наприклад, ізопропіл міристан і лаурил сульфат натрію), піролідони, гліцерол монолаурат, сульфоксиди, терпени (наприклад, ментол), аміни, аміді, алкани, алканоли, воду, карбонат кальцію, фосфат кальцію, різні цукри, крохмалі, целюлозні похідні, желатин і полімери, наприклад, поліетилен гліколі.

30       Інші типові рецептури для використання у способах винаходу передбачають використання трансдермальних засобів ("накладок"). Такі трансдермальні накладки можуть бути використані для створення безперервної або переміжної інфузії сполуки винаходу у контрольованій кількості, з іншим агентом або без нього.

35       Конструкція і використання трансдермальних накладок для доставки фармацевтичних агентів є відомими, (див., наприклад, патенти США 5023252, 4992445 і 5001139). Такі накладки можуть бути виготовлені для безперервного, імпульсного або за вимогою введення фармацевтичних агентів.

40       Фармацевтичні композиції для інгаляції

45       Композиції інгаляції або інсуфляції включають розчини і суспензії у фармацевтично прийнятних водних або органічних розчинниках або їх сумішах і порошки. Рідкі або тверді композиції можуть містити придатні фармацевтично прийнятні ексципієнти, описані вище. Композиції бажано вводити перорально або назальним респіраторним шляхом для локального або системного результату. Композиції у фармацевтично прийнятних розчинниках можуть бути розпилення з використанням інертних газів. Розпилені розчини можуть бути інгальовані безпосередньо з розпилювача або цей пристрій може бути приєднаний до лицьової маски або до дихальної машини позитивного тиску переміжної дії.

Розчини, суспензії або порошкові композиції можуть бути введені, бажано, перорально або назально, з пристрою, що подає рецептуру належним чином.

Інші фармацевтичні композиції

Фармацевтичні композиції можуть також бути приготовлені з композицій, описаних тут, і  
 5 одного або більше фармацевтично прийнятних ексципієнтів, придатних для під'язичного, букального, ректального, ендостального, інтраокулярного, інтраназального, епідурального або інтраспинального введення. Препарати для таких фармацевтичних композицій є добре відомими. Див., наприклад, Anderson, Philip O.; Knoben, James E.; Troutman, William G, eds., Handbook of Clinical Drug Data, Tenth Edition, McGraw-Hill, 2002; Pratt and Taylor, eds., Principles  
 10 of Drug Action, Third Edition, Churchill Livingstone, New York, 1990; Katzung, ed., Basic and Clinical Pharmacology, Ninth Edition, McGraw Hill, 2003ybg; Goodman and Gilman, eds., The Pharmacological Basis of Therapeutics, Tenth Edition, McGraw Hill, 2001; Remington: Pharmaceutical Sciences, 20th Ed., Lippincott Williams & Wilkins., 2000; Martindale, The Extra Pharmacopoeia, Thirty-Second Edition (The Pharmaceutical Press, London, 1999); всі ці джерела включено посиланням.

Введення сполуки або фармацевтичної композиції винаходу може бути проведене будь-яким способом, який забезпечує доставку сполук у місце їх дії. Ці способи включають пероральне введення, інтрадуоденальне введення, парентеральні ін'єкції (включаючи внутрішньовенні, інтраартеріальні, підшкірні, внутрішньом'язові, інтраваскулярні,  
 20 інтраперитонеальні ін'єкції або інфузії), топічне (наприклад, трансдермальною накладкою), ректальне, введення катетером або стентом або інгаляцією. Сполуки можуть також бути введені інтраадипозно або інтратекально.

Кількість сполуки для введення залежить від ссавця, що отримує лікування, важкості розладу або стану, швидкості введення, типу сполуки і міркувань лікаря. Ефективна доза становить від приблизно 0,001 до приблизно 100 мг на кг маси тіла на день, бажано, від  
 25 приблизно 1 до приблизно 35 мг/кг/день, одиночними або розділеними дозами. Для людини масою 70 кг це становитиме приблизно 0,05-7 г/день, бажано, від приблизно 0,05 до приблизно 2,5 г/день.

У деяких випадках, можуть бути достатніми дози нижче нижньої межі, а в інших випадках потрібні значно більші дози, без будь-яких шкідливих побічних явищ. Такі великі дози можна ділити на меші і вводити через день.

У деяких втіленнях сполуку винаходу вводять одиночними дозами. Звичайно такі введення проводять ін'єкцією, наприклад, внутрішньовенно, для швидкого введення агента. Придатними є і інші способи введення. Одиночні дози сполуки винаходу можуть також бути використані для  
 35 лікування гострих станів.

У деяких втіленнях сполуку винаходу вводять багатьма дозами, а саме, один, два, три, чотири, п'ять, шість або більше разів на день. Таке дозування можна проводить приблизно один раз на місяць, один раз на два тижні, один раз на тиждень або через день. В іншому втіленні сполуку винаходу і інший агент вводять разом від приблизно одного разу на день до приблизно  
 40 6 разів на день. В іншому втіленні введення сполуки винаходу і агенту триває менше приблизно 7 днів. У ще одному втіленні введення триває більше приблизно 6, 10, 14, 28 днів, двох місяців, шести місяців або одного року. У деяких випадках безперервне дозування проводять стільки часу, скільки потрібно.

Введення агентів винаходу може тривати стільки, скільки необхідно. У деяких втіленнях агент винаходу вводять протягом більше 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 або 28 днів. У деяких втіленнях агент винаходу вводять протягом менше 28, 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 або 1 днів. У деяких втіленнях агент винаходу вводять хронічно і безперервно, наприклад, для лікування хронічних станів.

Ефективну кількість сполуки винаходу можна вводити одиночними або множинними дозами будь-якими рівноцінними шляхами введення агентів, включаючи ректальне, букальне,  
 50 інтраназальне і трансдермальне введення, інтраартеріальною ін'єкцією, внутрішньовенно, інтраперитонеально, парентерально, внутрішньом'язово, підшкірно, перорально, топічно або інгаляцією.

Композиції винаходу можна також вводити через імпрегнований або покритий пристрій, наприклад, стент або введений в артерію циліндричний полімер. Такі способи введення можуть,  
 55 наприклад, допомогти у відверненні або полегшенні рестенозу з використанням таких процедур, як, наприклад, балонна ангіопластика. Не звертаючись до теорії, можна вважати, що сполуки винаходу можуть уповільнювати або пригнічувати міграцію і проліферацію клітин м'язів в артеріальну стінку, які сприяють рестенозу.

Сполуку винаходу можна вводити, наприклад, локально через розпорку стенту, з стентового  
 60 трансплантату, з трансплантатів або з оболонки або кожуху стенту. У деяких втіленнях сполуку

винаходу змішують з матрицею, якою може бути полімерна матриця, і яка може зв'язувати сполуку з стентом. Полімерні матриці, придатні для цього, включають, наприклад, лактонові поліестери або співполіестери, наприклад, полілактид, полікапролактонгліколід, поліортоестери, поліангідриди, поліамінокислоти, полісахариди, поліфосфазени, полі(етер-естерні) співполімери (наприклад, PEOPLLA); полідиметилсилоксан, полі(етилен-вінілацетат), акрилатні полімери або співполімери (наприклад полігідроксиетил метилметакрилат, полівініл піролідинон), флуоровані полімери, наприклад, політетрафлуоретилен і целюлозні естери.

Придатні матриці можуть бути не здатними або здатними розкладатись з часом, вивільняючи сполуку або сполуки. Сполуки винаходу можуть бути нанесені на поверхню стенту різними способами, наприклад, покриттям зануренням/обертанням, наприскуванням, зануренням і/або щіткою. Сполуки можуть бути нанесені у розчиннику і розчинник може бути потім випарений, з утворенням шару сполуки на стенті. В іншому варіанті сполука може бути закріплена у тілі стенту або трансплантату, наприклад, у мікроканалах або мікропорах. У випадку трансплантату, сполук дифундує з тіла стенту контактуючої артеріальної стінки. Такі стенти можуть бути приготовлені зануренням стенту з такими мікропорами або мікроканалами у розчин сполуки винаходу у придатному розчиннику з подальшим випарюванням розчинника. Надлишок медикаменту на поверхні стенту може бути видалений додатковим змиванням. В іншому втіленні сполуки винаходу можуть бути ковалентно з'єднані з стентом або трансплантатом. Може бути використаний ковалентний зв'язуючий елемент, який розкладається *in vivo* і забезпечує вивільнення сполуки винаходу. Для цього може бути використаний будь-який біолабільний зв'язок, наприклад, естером, амідом або ангідридом. Сполуки винаходу можуть також бути введені інтраваскулярно з балону під час ангіопластики. Можливим є екстраваскулярне введення сполук через перикард або адвенціальним введенням для зниження рестенозу.

Різні стентові пристрої описано, наприклад, у патентах США 5451233, 5040548, 5061273; 5496346; 5292331; 5674278; 3657744; 4739762; 5195984; 5292331; 5674278; 5879382; 6344053, включених посиланням.

Сполуки винаходу можна вводити у дозах. Відомо, що завдяки різноманітності суб'єктів для оптимальної терапії необхідно варіювати фармакокінетику сполук, індивідуалізувати режими дозування. Дозування сполуки винаходу може бути виявлене у процесі експериментування.

Коли сполуку винаходу вводять у композиції, що включає один або більше агентів і агент має коротше напівжиття, ніж сполука винаходу, одиниці дозованих форм цього агента і сполуки винаходу можуть бути відповідним чином кориговані.

Фармацевтична композиція згідно з винаходом може, наприклад, мати форму, придатну для перорального введення, тобто форму таблетки, капсули, пігулки, порошку, рецептури з затриманим вивільненням, суспензії для парентеральних ін'єкцій як стерильного розчину, суспензії або емульсії для топічного введення як мазі або крему або для ректального введення супозиторієм. Фармацевтична композиція може мати форму одиничної дози, придатної для одиночного введення точною дозою.

Фармацевтична композиція включає звичайні фармацевтичні носії або ексципієнти і сполуку винаходу як активний інгредієнт. Крім того, вона може включати інші медичні або фармацевтичні агенти, носії, ад'юванти тощо.

Типові форми для парентерального введення включають розчини або суспензії активної сполуки у стерильних водних розчинах, наприклад, водному пропілен гліколі або розчинах декстрази. Такі дозовані форми можуть буферовані.

Активність сполуки винаходу може бути визначена описаними далі процедурами і процедурами, описаними у прикладах. Активність кінази оцінюють вимірюванням вмісту  $\gamma$ -<sup>33</sup>P-фосфату з  $\gamma$ -<sup>33</sup>P-АТФ у N-терміналі позначеного His субстрату, експресованого у *E. coli* і очищеного звичайними способами у присутності кінази. Аналіз проводять 96-комірковому поліпропіленовому планшеті. Інкубаційна суміш (100 мкл) включає 25 мМ Hepes, pH 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ P-гліцеролфосфат, 100 мкМ Na-ортофосфат, 5 мМ DTT, 5 нМ кіназу і 1 мкМ субстрат. Інгібітори суспендують у ДМСО і всі реакції, включаючи контрольні, проводять у кінцевій концентрації 1 % ДМСО.

Реакції ініціюють додаванням 10 мкМ АТФ (з 0,5 ім.  $\gamma$ -<sup>33</sup>P-АТФ/комірка) і інкубують при зовнішній температурі 45 хвил. Додають однаковий об'єм 25 % ТСА для припинення реакції і осадження протеїнів. Осаджені протеїни захоплюються скловолоконними фільтрувальними платами В і надлишок міченого АТФ змивають Tomtec MACH III збирають. Планшети залишають сохнути у повітрі, потім додають 30 мкл/комірка Packard Microscint 20 і планшети зчитують з використанням Packard TopCount.

Винахід також включає комплекти. Комплект включає сполуку або сполуки винаходу, описані тут, у відповідній упаковці з текстом, який може включати інструкції з застосування, дані клінічних випробувань, перелік побічних ефектів тощо. Такі комплекти можуть також включати інформацію, наприклад, про посилання на літературу, пакувальні матеріали, дані випробувань і/або підсумки, які вказують на дію і/або переваги композиції і/або вказують дозування, введення, побічні ефекти, взаємодію з медикаментами або іншу корисну інформацію. Така інформація може базуватись на результатах різних досліджень, наприклад, на експериментальних тваринах з використанням *in vivo* моделей, і досліджень, базованих на клінічних випробуваннях. Комплект може також містити інші агенти. У деяких втіленнях сполука винаходу і агент є окремими композиціями в окремих контейнерах у комплекті.

У деяких втіленнях сполука винаходу і агент утворюють єдину композицію. У комплект можуть бути додані належні упаковки і предмети для використання (наприклад, мірну чашку для рідинних препаратів, фольгову обгортку для мінімізації контакту з повітрям тощо). Комплекти, описані тут, можуть бути надіслані, продані і/або рекламовані для постачальників, а також лікарів медсестер, фармакологів, офіційних персон тощо. Комплекти можуть також, у деяких втіленнях, надходити у продаж безпосередньо для споживача.

#### СПОСОБИ

Винахід також включає способи використання сполук або фармацевтичних композицій винаходу у лікуванні хворобливих станів, включаючи (не лише) хвороби, пов'язані з дисфункцією одного або більше типів кінази PI3. Опис станів і розладів, опосередкованих активністю кінази PI3 можна знайти у WO 01/81346, включеному посиланням.

Способи лікування включають введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу. В одному з втілень винахід включає спосіб лікування запального розладу, включаючи аутоімунні хвороби у ссавців. Цей спосіб включає введення зазначеному ссавцю терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, естеру, проліків, сольвату, гідрату або похідної. Приклади аутоімунних хвороб включають (не лише) гострий дисемінований енцефаломієліт (ADEM), хворобу Аддисона, синдром антифосфоліпідного антитіла (APS), апластичну анемію, аутоімунний гепатит, черевну хворобу, хворобу Крона, цукровий діабет (тип 1), синдром Гудпастора, хворобу Грейвза, ідеопатичний поліневрит (GBS), хворобу Хашимото, еритематоз, множинний склероз, *myasthenia gravis*, синдром опосклатонії міоклонії (OMS), оптичний неврит, тироїдит Орда, емфігус, поліартрит, первинний біліарний цироз, псоріаз, ревматоїдний артрит, синдром Рейтера, артерит Такаюсу, скроневий артерит ("артерит гігантських клітин"), теплу аутоімунну гемолітичну анемію, грануломатоз Вегенера, облісіння, хворобу Шагаса, хронічний синдром втоми, дисаутоїзм, ендометріоз, гідраденіт, інтерстиціальний цистит, нейроміотонію, саркоїдоз, склеродермію, виразковий коліт, вітіліго і вульводинію. Інші розлади включають кісткові ресорбційні розлади і тромбоз.

У деяких втіленнях спосіб лікування запальних або аутоімунних хвороб включає введення суб'єкту (наприклад, ссавцю) терапевтично ефективної кількості одної або більше сполук винаходу, які селективно пригнічують PI3K-5 і/або PI3K- $\gamma$  порівняно з усіма іншими типами кіназ PI3. Таке селективне пригнічення PI3K-8 і/або PI3K- $\gamma$  може бути корисним для лікування будь-якої з хвороб або станів, описаних тут. Наприклад, селективне пригнічення PI3K-5 може пригнічувати запальні реакції, пов'язані з запальними хворобами, аутоімунною хворобою або хворобами, пов'язаними з небажаною імунною реакцією, включаючи (не лише) астму, емфізему, алергію, дерматит, ревматоїдний артрит, псоріаз, червоний вовчак або несприяття трансплантату реципієнтом.

Селективне пригнічення PI3K-5 може сприяти відновленню у запальних або небажаних імунних реакціях без супроводжуючого зниження здатності знижувати бактеріальну, вірусну і/або грибкову інфекцію. Селективне пригнічення PI3K-8 і PI3K- $\gamma$  може бути корисним у пригніченні запальної реакції у суб'єкта до більшої міри, ніж це забезпечується інгібіторами, що селективно пригнічують PI3K-5 або PI3K- $\gamma$  окремо. В одному з аспектів один або більше способів згідно з винаходом є ефективними у зниженні продукування специфічних до антигену антитіл *in vivo* у приблизно 2 рази, 3 рази, 4 рази, 5 разів, 7,5 разів, 10 разів, 25 разів, 50 разів, 100 разів, 250 разів, 500 разів, 750 разів або приблизно 1000 разів або більше. В іншому аспекті один або більше способів згідно з винаходом ефективно знижує продукування специфічних до антигену IgG3 і/або IgGM *in vivo* у приблизно 2 рази, 3 рази, 4 рази, 5 разів, 7,5 разів, 10 разів, 25 разів, 50 разів, 100 разів, 250 разів, 500 разів, 750 разів або приблизно 1000 разів або більше.

В одному з аспектів один або більше способів згідно з винаходом ефективно послаблюють симптоми, пов'язані з ревматоїдним артритом, включаючи (не лише) зменшення опухання суглобів, зниження у сироватці рівня антиколагену і/або зниження патології у суглобі,



наприклад, ресорбції кістки, пошкодження зв'язок, панусу і/або запалення. В іншому аспекті способи згідно з винаходом ефективно знижують запалення щиколотки на щонайменше приблизно 2 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 50 %, 60 % або приблизно 75 % - 90 %. В іншому аспекті способи ефективно знижують запалення коліна на щонайменше приблизно 2 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 50 %, 60 % або приблизно 75 % - 90 % або більше. В іншому аспекті способи згідно з винаходом ефективно знижують у сироватці рівень колагену антитипу II на щонайменше приблизно 10 %, 12 %, 15 %, 20 %, 24 %, 25 %, 30 %, 35 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 86 %, 87 % або приблизно 90 % або більше. В іншому аспекті способи згідно з винаходом ефективно знижують гістопатологію щиколотки на приблизно 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 90 % або більше. В іншому аспекті способи згідно з винаходом ефективно знижують показники гістопатології коліна на приблизно 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 90 % або більше.

В інших втіленнях винахід включає способи використання сполук або фармацевтичних композицій у лікуванні респіраторних хвороб, включаючи (не лише) хвороби долей легенів, плевральної порожнини, бронхіальних труб, трахей, верхнього респіраторного тракту або нервів і м'язів для дихання. Наприклад, ці способи дозволяють лікувати обструктивну пульмонарну хворобу. Хронічна обструктивна пульмонарна хвороба (COPD) є загальним терміном для групи респіраторних хвороб, які характеризуються перешкоджанням або обмеженням дихання. Станами, що відповідають цьому терміну, хронічний бронхіт, емфізема і бронхоектаз.

В іншому втіленні сполуки, описані тут, використовують для лікування астми. Крім того, сполуки або фармацевтичні композиції, описані тут, можуть бути використані для лікування ендотоксемії і сепсису. В одному з втілень сполуки або фармацевтичні композиції, описані тут, використовують для лікування ревматоїдного артриту (RA). У ще одному втіленні, сполуки або фармацевтичні композиції, описані тут, використовують для лікування контактного або atopічного дерматиту. Контактний дерматит включає подразнювальний дерматит, фототоксичний дерматит, алергічний дерматит, фотоалергічний дерматит, контактну уртикарію, системний контактний дерматит тощо. Подразнювальний дерматит може виникати внаслідок надмірної дії речовин на шкіру, чутливу до деяких речовин. Атопічний дерматит, який іноді називають екземою, типом atopічної шкірної хвороби.

Винахід також стосується способів лікування гіперпроліферативного розладу у ссавців, які включають введення зазначеному ссавцю терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, естеру, проліків, сольвату, гідрату або похідної. У деяких втіленнях зазначений спосіб стосується лікування раку, наприклад, гострої мієлоїдної лейкемії, раку тимусу, мозку, легенів, сквамозних клітин, шкіри, ока, ретинобластоми, інтраокулярної меланоми, раку ротової порожнини і глоточної перепонки, сечового міхура, шлунку, підшлункової залози, грудей, шийки матки, голови, шиї, нирки, печінки, яєчника, простати, колоректального, стравоходу, яєчок, гінекологічного, раку щитовидної залози, ЦНС, ПНС, викликаного СНІД (наприклад, лімфоми і саркоми Капосі) або викликаного вірусом раку. У деяких втіленнях зазначений спосіб стосується лікування неракових гіперпроліферативних розладів, наприклад, доброякісної гіперплазії шкіри (наприклад, псоріазу), рестенозу або простатиту (наприклад, доброякісного розростання простати (BPH)).

Винахід також стосується способу лікування хвороб, пов'язаних з васкулогенезом або ангіогенезом у ссавців, який включає введення зазначеному ссавцю терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, естеру, проліків, сольвату, гідрату або похідної. У деяких втіленнях зазначений спосіб призначено для лікування хвороб, вибраних з групи, яку складають пухлинний ангіогенез, хронічна запальна хвороба, наприклад, ревматоїдний артрит, атеросклероз, запальна кишкова хвороба, шкірні хвороби, наприклад, псоріаз, екзема і склеродерма, діабет, діабетична ретинопатія, ретинопатія підлітків, вікова макулярна дегенерація, гемангіома, гліома, меланома, саркома Капосі і рак яєчника, грудей, легенів, підшлункової залози, простати, товстої кишки і епідермоїду.

Пацієнти, які можуть отримувати лікування сполуками винаходу або фармацевтично прийнятної сіллю, естером, проліками, сольватом, гідратом або похідною зазначеної сполуки згідно з способами винаходу, є, наприклад, пацієнтами з діагнованим псоріазом; рестенозом; атеросклерозом; BPH; раком грудей, наприклад, проточної карциноми у тканині протоку молочної залози, медулярною карциномою, колоїдними карциномами, тубулярними карциномами і запальним раком грудей, яєчника, включаючи епітеліальні пухлини яєчника, наприклад, аденокарциному у яєчнику і аденокарциному, що мігрувала з яєчника у черевну порожнину; раком матки; раком шийки матки, наприклад, аденокарциномою у сервікальному епітелії, включаючи карциному сквамозних клітин і аденокарциному; раком простати, наприклад, вибраним з групи, яку складають аденокарцинома або аденокарцинома, що

мігрувала у кістку; раком підшлункової залози, наприклад, епітеліальної карциномою у підшлунковому тракті і аденокарциномою тканини у підшлунковому тракті; раком сечового міхура, наприклад, перехідною карциномою клітин у протоці сечового міхура, уротеліальної карциноми (перехідними клітинними карциномами, пухлинами уротеліальних клітин, що вистилають сечовий міхур, карциномами сквамозних клітин, аденокарциномами і раками малих клітин; лейкомією, наприклад, гострою мієлоїдною лейкомією (AML), гострою лімфоцитною лейкомією, хронічною лімфоцитною лейкомією, хронічною мієлоїдною лейкомією, волосисто-клітинною лейкомією, мієлодисплазією, мієлопроліферативними розладами, гострою мієлогенною лейкомією (AML), хронічною мієлогенною лейкомією (CML), мастоцитозом, хронічною лімфоцитозною лейкомією (CLL), множинною мієломою (MM) і мієлодиспластичним синдромом (MDS); раком кістки; раком легенів, наприклад, легеневий рак немалих клітин (NSCLC), який розділяють на карциному сквамозних клітин, аденокарциноми і недиференційовані карциноми великих клітин і легеневий рак малих клітин; раком шкіри, наприклад, карциномою базальних клітин, акитинним кератозом, тобто станом, який іноді розвивається у карциному сквамозних клітин; ретинобластомою ока; шкірною або інтраскулярною меланомою; первинним раком печінки (раком, що починається у печінці); раком нирки; раком щитовидної залози, папілярним, фолікулярним, медулярним і анапластичним; пов'язаною з СНІД лімфомою, наприклад, дифізною лімфомою великих В-клітин, імунобластичною лімфомою В-клітин і лімфомою малих нерозщеплених клітин; саркомою Капосі; викликаними вірусом раками включаючи вірусний гепатит В (HBV), гепатит С (HCV) і гепатоклітинну карциному; лімфотропічною лейкомією/лімфомою вірусу типу 1 (HTLV-1) і дорослих Т-клітин; і папіломним вірусом (HPV) і раком шийки матки; раками ЦНС, наприклад, первинною пухлиною мозку, включаючи гліоми (астроцитому, анапластичну астроцитому або мультиформну гліобластому), олігодендрогліомою, епендимомою, менінгіомою, лімфомою, шванномою і медулобластомою; раками ПНС, наприклад, акустичною нейромою і злоякісною пухлиною оболонки периферійного нерву (MPNST), включаючи нейрофіброми і шванноми, злоякісні фіброцити, злоякісні фіброгістіоцити, злоякісну менінгіому, злоякісну мезотеліому і злоякісну змішану пухлину Мулеріану; рак ротової і глоточної порожнини, наприклад, підглоточний рак, рак гортані, назофарингіальний і орофарингеальний рак; раком шлунку, наприклад, лімфомами, гастростромальними пухлинами і карциноїдними пухлинами; раком яєчок, наприклад, пухлинами ембріонних клітин (GCTs), включаючи семіноми і несеміноми і гонадні стромальні пухлини, включаючи пухлини клітин Лейдига і клітин Сертолі; раком тимусу, наприклад, тимомами, тимічними карциномами, хворобою, ходжкіна, лімфомними карциноїдами не Ходжкіна або карциноїдними пухлинами; ректальним раком; і раком прямої кишки.

Винахід також стосується способу лікування діабету у ссавця, який включає введення зазначеному ссавцю терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, естеру, проліків, сольовату, гідрату або похідної. Крім того, сполуки, описані тут, можуть бути використані у лікуванні акне.

Сполуки, описані тут, можуть також бути використані для лікування артеріосклерозу, включаючи атеросклероз. Артеріосклероз є загальним терміном, що описує будь-яке затвердіння середовища або великих артерій. Атеросклерозом є твердіння артерії, викликане атеромними бляшками.

Сполуки, описані тут, можуть бути використані також для лікування гломерулонефриту, який є первинною або вторинною аутоімунною нирковою хворобою, що характеризується запаленням гломерул. Він може бути безсимптомним або супроводжуватись гематурією і/або протеїнурією. Існують гострий, субгострий або хронічний гломерулонефрити. Причини є інфекційними (бактеріального, вірусного або паразитарного патогенезу), аутоімунними або паранеопластичними.

Крім того, сполуки, описані тут, можуть бути використані для лікування бурситу, вовчаку, гострого дисемінованого енцефаломієліту (ADEM), хвороби Аддисона, синдрому антифосфоліпідного антитіла (APS), апластичної анемії, аутоімунного гепатиту, черевної хвороби, хвороби Крона, цукрового діабету (типу 1), синдрому Гудпастора, хвороби Грейвза, синдрому Гієна-Барре (GBS), хвороби Хашимото, запальної кишкової хвороби, червоного вовчаку myasthenia gravis, опсклоно-міоклонного синдрому (OMS), оптичного неврити, тироїдиту Орда, остеоартриту, увеоретиніту, пемфігусу, поліартриту, первинного біліарного цирозу, синдрому Рейтера, артериту Такаюсу, скроневого артериту, теплої аутоімунної гемолітичної анемії, грануломатозу Вегенера, загального облісіння, хвороби Чагаса, синдрому хронічної втоми, дизаутономії, ендометріозу, гідрогеніту, інтерстиціального циститу, нейроміотонії, саркоїдозу, склеродермії, виразкового коліту, віртіго, вульводирії, апендициту, артериту, артрити, блефариту, бронхіоліту, бронхіту, сервициту, холангіту, холецистити,

хоріоаміоніту, коліту, кон'юнктивіту, циститу, дакріоаденіту, дерматоміозиту, ендокардиту, ендометриту, ентериту, ентероколіту, епікондиліту, епідидиміту, фасциту, фіброзиту, гастриту, гастроентериту, гінгівіту, гепатиту, гідраденіту, ілеїту, іриту, ларингіту, маститу, менінгіту, мієліту, міокардиту, міозиту, нефриту, омфаліту, оофориту, орхіту, остеїту, отиту, панкреатиту, паротиту, перикардиту, перитоніту, фарингіту, плевриту, флебіту, пневмоніту, проктиту, простатиту, пієлонефриту, риніту, сальпінгіту, синуситу, стоматиту, синовіту, тендоніту, тонзиліту, увеїту, вагініту, васкуліту або вульвіту.

Винахід також стосується способу лікування серцево-судинної хвороби у ссавців, який включає введення зазначеному ссавцю терапевтично ефективної кількості сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, естеру, проліків, сольвату, гідрату або похідної. Приклади серцево-судинних станів включають (не лише) атеросклероз, рестеноз, васкулярну оклюзію і каротидну обструктивну хворобу.

В іншому аспекті винахід включає способи переривання функції лейкоцитів або переривання функції остеокласту. Цей спосіб включає введення у контакт лейкоциту або остеокласту з кількістю сполуки винаходу, достатньою для порушення їх функцій.

В іншому аспекті винахід включає способи лікування офтальмологічної хвороби введенням одної або більше сполук винаходу або фармацевтичних композицій в око суб'єкту.

Запропоновано способи введення сполуки винаходу очної піпеткою, інтраокулярною ін'єкцією, ін'єкцією у склоподібне тіло, топічно або через використання пристрою елюювання медикаменту, мікрокапсулою, імплантом або мікрофлюїдальним пристроєм. У деяких випадках сполуки винаходу вводять з носієм або ексципієнтом, які підвищують інтраокулярне проникнення сполук, наприклад, з маслом і водною емульсією з колоїдними частками, що мають масляну серцевину, оточену проміжною плівкою.

У деяких випадках колоїдні частки включають щонайменше один катіонний агент і щонайменше одну неіонну ПАВ, наприклад, полуксамер, тілоксапол, полісорбат, поліоксietиленову похідну касторового масла, сорбітановий естер або поліоксил стеарат. У деяких випадках катіонним агентом є алкіламін, третинний алкіл амін, сполука четвертинного амонію, катіонний ліпід, аміноспирт, бігуанідинову сіль, катіонну сполуку або їх суміші. У деяких випадках катіонним агентом є бігуанідинова сіль, наприклад, хлорекседрин, поліамінопропіл бігуанідин, фенформін, алкілбігуанідин або їх суміші. У деяких випадках сполукою четвертинного амонію є галогенід бензалконію, галогенід ауралконію, центримід, галогенід гекса-децилтриметиламонію, галогенід тетрадецилтриметиламонію, галогенід додецилтриметиламонію, галогенід цетрамонію, галогенід бензетонію, галогенід бегеналконію, галогенід цеталконію, галогенід цететилдіамонію, галогенід цетилпіридинію, галогенід бензодедоцинію, галогенід хіпєрораліл метенаміну, галогенід міристилалконію, галогенід стеаралконію або їх суміші.

У деяких випадках катіонним агентом є хлорид бензалконію, хлорид лауралконію, бромід бензодедецинію, хлорид бензетонію, бромід гексадецилтриметиламонію, бромід тетрадецилтриметиламонію, бромід додецилтриметиламонію або їх суміші.

У деяких випадках масляною фазою є мінеральне масло і світле мінеральне масло, ланцюгові тригліцериди (МСТ), кокосове масло; гідрогеновані масла, включаючи гідрогеноване бавовникове масло, гідрогеноване пальмове масло, гідрогеноване касторове масло або гідрогеноване соєве масло; поліоксietиленові похідні гідрогенованого касторового масла, включаючи поліоксил-40 гідрогенованого касторового масла, поліоксил-60 гідрогенованого касторового масла або поліоксил-100 гідрогенованого касторового масла.

Винахід також включає способи модуляції активності кінази контактуванням кінази з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб модулювати активність кінази. Модуляція може пригнічувати або активувати активність кінази. У деяких втіленнях винахід надає способи пригнічення активності кінази контактуванням кінази з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб пригнічувати активність кінази.

У 40 деяких втіленнях, винахід включає способи пригнічення активності кінази у розчині контактуванням зазначеного розчину з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб пригнічувати активність кінази in зазначеному розчині. У деяких втіленнях винахід включає способи пригнічення активності кінази у клітині контактуванням зазначеної клітини з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб пригнічувати активність кінази у зазначеній клітині.

У деяких втіленнях винахід надає способи пригнічення активності кінази у тканині контактуванням зазначеної тканини з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб пригнічувати активність кінази у зазначеній тканині. У деяких втіленнях винахід включає способи пригнічення активності кінази в організмі контактуванням зазначеного організму з такою

кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб пригнічувати активність кінази у зазначеному організмі. У деяких втіленнях винахід надає способи пригнічення активності кінази у тварини контактуванням зазначеної тварини з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб пригнічувати активність кінази у зазначеної тварини. У деяких втіленнях винахід надає способи пригнічення активності кінази у ссавця контактуванням зазначеного ссавця з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб пригнічувати активність кінази у зазначеного ссавця.

У деяких втіленнях винахід включає способи пригнічення активності кінази у людини контактуванням зазначеної людини з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою, щоб пригнічувати активність кінази у зазначеної людини.

У деяких втіленнях % активності кінази після контакту кінази з сполукою винаходу становить 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 90, 95 або 99 % активності кінази за відсутності зазначеного контакту.

У деяких втіленнях кіназа є ліпідною кіназою або протеїновою кіназою. У деяких втіленнях кіназу вибрано з групи, яку складають кіназа PI3, включаючи різні ізоформи, наприклад, кіназу PI3  $\phi$ , кіназу PI3  $\beta$ , кіназу PI3  $\gamma$ , кіназу PI3  $\delta$ ; DNA-PK; mTor; Abl, VEGFR, рецептор Ephrin B4 (EphB4); рецептор ТЕК кінази тирозину (TIE2); FMS-кіназа тирозину 3 (FLT-3); рецептор тромбоцитного фактора росту (PDGFR); RET; ATM; ATR; hS мр-1; Hck; Src; рецептор епідермального фактора росту (EGFR); комплект; інсуліновий рецептор (IR) і IGF1R.

Винахід також включає способи модуляції активності кінази PI3 контактуванням кінази PI3 з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою для модуляції активності кінази PI3. Модуляція може пригнічувати або підвищувати активність кінази PI3. У деяких втіленнях винахід включає способи пригнічення активності кінази PI3 контактуванням кінази PI3 з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою для пригнічення активності кінази PI3.

У деяких втіленнях винахід надає способи пригнічення активності кінази PI3. Таке пригнічення може мати місце у розчині, у клітині, що експресує одну або більше кіназ PI3, або в організмі, що експресує одну або більше кіназ PI3. У деяких втіленнях винахід надає способи пригнічення активності кінази PI3 у тварини (включаючи ссавців, наприклад, людину) контактуванням кінази PI3 з такою кількістю сполуки винаходу, яка є достатньою для пригнічення активності кінази PI3 у зазначеній тварині.

#### КОМБІНОВАНЕ ЛІКУВАННЯ

Винахід також включає способи комбінованих терапій, в яких агент, здатний модулювати іншими шляхами або інші компоненти такого ж шляху або навіть декілька бажаних ферментів, що перекриваються за їх дією, використовується у комбінації з сполукою винаходу або її фармацевтично прийнятною сіллю, естером, проліками, сольватом, гідратом або похідною. В одному з аспектів така терапія включає (не лише) комбінацію сполуки згідно з винаходом з хіміотерапевтичними агентами, терапевтичними антитілами і радіаційним лікуванням для отримання синергічного або додаткового ефекту.

В одному з аспектів сполуки або фармацевтичні композиції винаходу можуть створювати синергічну або додаткову ефективність при введенні у комбінації з агентами, пригнічують продукування або активність IgE. Така комбінація може знизити небажані наслідки високого рівня IgE, пов'язаного з використанням одного або більше інгібіторів PI3K6, якщо це має місце. Це може бути, зокрема, корисним у лікуванні аутоімунних і запальних розладів (AID), наприклад, ревматоїдного артриту. Крім того, введення інгібіторів PI3K8 або PI3K8/ $\gamma$  згідно з винаходом у комбінації з інгібіторами mTOR може також створити синергію шляхом поліпшення пригнічення PI3K.

В іншому аспекті винахід включає комбіноване лікування хвороби, пов'язаної з PI3K8, яке включає введення інгібітору PI3K8 і агента, що пригнічує продукування або активність IgE. Інші типові інгібітори PI3K8 також є придатними для цієї комбінації, як описано, наприклад, у патенті США 6 800 620. Таке комбіноване лікування є, зокрема, корисним для лікування аутоімунних і запальних хвороб (AID), включаючи (не лише) ревматоїдний артрит.

Агенти, що пригнічують продукування IgE, є відомими і включають (не лише) одне або більше TEI-9874.2-(4-(6-циклогексилокси-2-нафтилокси)фенілацетамід)бензойну кислоту, рапаміцин, аналоги рапаміцину (тобто рапалоги), інгібітори TORC1 і TORC2 і будь-які інші сполуки, що пригнічують mTORC1 і mTORC2. Агенти, що пригнічують активність IgE, включають, наприклад, анти-IgE антитіла, наприклад, Omalizumab і TNX-901.

Для лікування аутоімунних хвороб сполуки винаходу або фармацевтичні композиції можуть бути використані у комбінації з традиційними медикаментами, включаючи (не лише) Enbrel®, Remicade®, Humira®, Avonex® і Rebif®. Для лікування респіраторних хвороб сполуки винаходу або фармацевтичні композиції можуть бути введені у комбінації з традиційними медикаментами, включаючи (не лише) Xolair®, Advair®, Singulair® і Spiriva®.

Сполуки винаходу можуть бути приготовлені разом або введені у комбінацію з іншими агентам, здатними полегшувати симптоми запальних станів, наприклад, енцефаломієліту, астми і інших хвороб, описаних тут. Ці агенти включають нестероїдні анти-запальні медикаменти (NSAID), наприклад, ацетилсаліцилову кислоту; ібупрофен; напроксен; індометацин; набуметон; толметин тощо. Кортикостероїди використовують для зниження запалення і пригнічення активності імунної системи. Найбільш поширеним медикаментом цього типу є преднізолон. Хлорхін (Aralen) або гідроксихлорхін (Plaquenil) можуть також бути дуже корисними у лікуванні вовчаку. Їх найчастіше використовують для лікування шкірних і суглобних симптомів вовчаку. Азатиоприн (Imuran) і циклофосфамід (Cytoksan) пригнічують запалення і сприяють пригніченню імунної системи. Інші агенти, наприклад, метотрексат і циклоспорин, використовують для контролю симптомів вовчаку. Антикоагулянти використовують для відвернення швидкого згортання крові. Вони відрізняються від аспірину дуже малими дозами, що запобігає злипанню тромбоцитів.

В іншому аспекті винах також стосується фармацевтичної композиції для пригнічення абнормального росту клітин у ссавців, яка включає сполуку винаходу або її фармацевтично прийнятну сіль, естер, проліки, сольват, гідрат або похідну у комбінації з антираковим агентом (наприклад, хіміотерапевтичним агентом). Хіміотерапевтичні агенти є добре відомими і можуть бути використані у комбінації з сполуками винаходу.

У деяких втіленнях хіміотерапевтичні агенти вибирають з групи, яку складають мітотичні інгібітори, алкілувальні агенти, анти-метаболіти, стандартні антибіотики, інгібітори фактора росту, інгібітори клітинного циклу, ферменти, інгібітори топоізомерази, модифікатори біологічних реакцій, анти-гормони, інгібітори ангиогенезу і анти-андрогени. Необмежуваними прикладами хіміотерапевтичних агентів, цитотоксичних агентів і непептидних малих молекул, наприклад, Gleevec (імаїніб мезилат), Velcade (бортезоміб), Casodex (бікалутамід), Iressa (геїтініб) і Adriamіцин, а також як хіміотерапевтичні агенти реципієнта. Приклади хіміотерапевтичних агентів включають алкілувальні агенти, наприклад, тіотера і циклофосфамід (CYTOKSAN™); алкіл сульфонати, наприклад, бусульфан, імпросульфан і піпосульфан; азиридины, наприклад, бензодоба, карбокон, метуредоба і уредоба; етиленіміни і метила-меламіни, включаючи альтретамін, триетиленмеламін, триетиленфосфогамід, триетилентіофосфамід і триметилломеламін; нітрогенний іприт, наприклад, хлорамбуцил, хлор-нафазин, холофосфамід, естрамустин, іфосфамід, мехлоретамін, мехлоретамін оксид гідрохлорид, мелфалан, новебікін, фенестерин, преднімустин, трофосфамід, урациловий іприт; нітросечовина, наприклад, кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, німустин, ранімустин; антибіотики, наприклад, аклациноміцини, актиноміцин, аутраміцин, азасерин, блеомицини, кактинооміцин, калікеаміцин, карабіцин, карміноміцин, карцинофілін, Casodex™, хромоміцини, дактиноміцин, даунорубіцин, деторубіцин, 6-діазо-5-оксо-1-норлейцин, доксорубіцин, епірубіцин, езорубіцин, ідарубіцин, марцеломіцин, мітоміцини, мікофенольна кислота, ногаламіцин, олівоміцини, пепломіцин, потфіроміцин, пуроміцин, келаміцин, родорубіцин, стрептонігрин, стрептозоцин, туберцидин, убенімекс, зиностатин, зорубіцин; анти-метаболіти, наприклад, метотрексат і 5-флуоруратид (5-FU); аналоги фолієвої кислоти, наприклад, деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурину, наприклад, флударабін, 6-меркаптопурин, тіаміприн, тіогуанін; аналоги піримідину, наприклад, анцитабін, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабін, дідеоксиуридин, доксифуридин, еноцитабін, флоксуридин, андрогени, наприклад, калустерон, дромостанолон пропіонат, епітостанол, мепітостан, тестолактон; анти-адренали, наприклад, аміноглютетимід, мітотан, трилостан; підкріплювач фолієвої кислот, наприклад, фролінова кислота; ацеглатон; альдофосфамід глікозид; амінолевулінова кислота; амзакрин; бестрабуцил; бісантрен; едотраксат; дефофамін; демеколцин; діазикон; ельфомітрин; еліптиній ацетат; етоглуцид; нітрат галію; гідроксисечовина; лентинан; лонідамін; мітокуазон; мітоксантрон; молідамон; нітракрин; пентостатин; фенамет; пірарубіцин; подофілінова кислота; 2-етилгідразид; прокарбазин; PSK.R™; разоксан; сизофран; спірогерманій; тенуазонова кислота; триазикон; 2,2',2"-трихлортриетиламін; уретан; віндезин; дакарбазин; маномустин; мітобронітол; мітолактол; піпоброман; гацитозин; арабінозид ("Ara-C"); циклофосфамід; тіотепа; таксани, наприклад, пацитаксел (TAXOL™, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) і доцетаксел (TAXOTERE™, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); ретинова кислота; еспераміцини; капєцитабін; і фармацевтично прийнятні солі, кислоти або похідні сполук, перелічених вище. Можна додати як придатні хіміотерапевтичні модулятори анти-гормональні агенти, які регулюють або пригнічують дію гормонів на пухлини, наприклад, анти-естрогени, включаючи, наприклад, такі препарати: тамоксифен (Nolvadex™), ралоксифен, пригнічуючі ароматазу 4(5)-імідазоли, 4-гідрокситамоксифен, тріоксифен, кеоксифен, LY 117018, онапристон і тореміфен (Fareston); і анти-андрогени, наприклад, алутамід, нілутамід, бікалутамід, лейпролід і гозерелін;

хлорамбуцил; гемцитабін; 6-тіогуанін; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платини, наприклад, цисплатин і карбоплатин; вінбластин; платина; етопозид (VP-16); іфосфамід; мітоміцин С; мітоксантрон; вінкристин; вінолрельбін; навельбін; новатрон; теніпозид; дауноміцин; аміноптерин; кселода; ібандронат; камптотецин-11 (CPT-11); інгібітор топоізомерази RFS 2000; дифлуорметиломітин (ДМФО). За бажання сполуки або фармацевтичні композиції винаходу можуть бути використані у комбінації з традиційними антираковими медикаментами, наприклад, Herceptin®, Avastin®, Erbitux®, Rituxan®, Taxol®, Arimidex®, Taxotere і Velcade®.

Винахід також стосується способу використання сполук або фармацевтичних композицій у комбінації з радіаційною терапією для пригнічення абнормального росту клітин або лікування гіперпроліферативного розладу ссавців. Способи радіаційної терапії є відомими і ці способи можуть бути використані у комбінаційній терапії, описаній тут. Введення сполуки винаходу у цій комбінованій терапії є подібними описаним вище.

Радіаційну терапію можна проводити одним з декількох способів або комбінованими способами, включаючи (без обмеження) зовнішньо-променеву терапію, внутрішню радіаційну терапію, імплантовану радіацію, стереотактичну радіохірургію, системну радіаційну терапію, радіотерапію і перманентну або тимчасову інтерстиціальну брахітерапію.

Термін "брахітерапія" тут стосується радіаційною терапію, що здійснюється просторово обмеженим радіоактивним матеріалом, введеним у тіло або поблизу пухлин або іншого місця у тканині при проліферативній хворобі. Цей термін включає піддання дії радіоактивних ізотопів (наприклад At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-86, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32 і радіоактивних ізотопів Lu). Придатні радіаційні джерела для використання згідно з винаходом включають тверді речовини і рідини. Наприклад, радіаційним джерелом може бути радіонуклід, наприклад, I-125, I-131, Yb-169, Ir-192 (тверді джерела), або інші радіонукліди, які випромінюють протони, бета-частки, гамма-випромінювання або інше терапевтичне випромінювання. Радіоактивний матеріал може також бути рідким, приготовленим як будь-який розчин радіонуклідів, наприклад, розчин I-125 або I-131, або радіоактивна рідина може бути отримана як суспензія у рідині малих часток твердих радіонуклідів, наприклад, Au-198, Y-90. Радіонукліди можуть бути приготовлені як желе або радіоактивні мікросфери.

Не звертаючись до теорії, можна припустити, що сполуки винаходу можуть робити абнормальні клітини більш чутливими до обробки радіацією для знищення і/або пригнічення росту таких клітин. Отже, винахід також стосується способу сенсibiliзації абнормальних клітин у ссавців до обробки радіацією, який включає введення ссавцю сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, естеру, проліків, сольвату, гідрату або похідної у кількості, яка ефективно сенсibiliзує абнормальні клітини до обробки радіацією. Ця кількість сполуки, солі або сольвату у цьому способі може бути визначена засобами, описаними вище.

Сполуки або фармацевтичні композиції винаходу можуть бути використані у комбінації з одною або більше речовинами, вибраними з анти-ангіогенезних агентів, інгібіторів трансдукції сигналу і антипроліферативних агентів.

Анти-ангіогенезні агенти, наприклад, інгібітори MMP-2 (матрична металопротеїназа 2), інгібітори MMP-9 (матрична металопротеїназа 9) і інгібітори COX-11 (циклооксигеназа 11) можуть бути використані разом з сполукою винаходу і фармацевтичними композиціями, описаними тут. Прикладами інгібіторів COX-II включають CELEBREX™ (алекоксиб), вальдекоксиб і рофекоксиб. Приклади корисних інгібіторів матричної металопротеїнази описано у WO 96/33172, WO 96/27583, заявці No. 97304971.1 (від 8/07/1997), заявці No. 99308617.2 (від 29/10/1999), WO 98/07697, WO 98/03516, WO 98/34918, WO 98/34915, WO 98/33768, WO 98/30566, 1998), європейській публікації 606046, заявці 931 788 (від 28/07/1999), WO 90/05719, WO 99/52910, WO 99/52889, WO 99/29667, PCT/IB98/01113, заявці No. 99302232.1 (від 25/03/1999), британській заявці No. 9912961.1 (від 3/06/1999), тимчасовій заявці США No. 60/148,464, патенті США 5 863 949, патенті США 5 861 510 і європейській публікації 780386, включених посиланням.

Бажаними інгібіторами MMP-2 і MMP-9 є ті, що незначно або не пригнічують MMP-1. Більш бажаними є ті, що селективно пригнічують MMP-2 і/або AMP-9 порівняно з іншими матричними металопротеїназами (тобто MAP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP- 7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12 і MMP-13). Деякі окремі інгібітори MMP є корисними для винаходу, а саме, AG-3340, RO 32-3555 і RS 13-0830.

Винахід також стосується способу і фармацевтичної композиції для лікування серцево-судинних хвороб у ссавців, який включає певну кількість сполуки винаходу або її фармацевтично прийнятної солі, естеру, проліків, сольвату, гідрату або похідної або ізотопічно

міченої похідної і певну кількість одного або більше терапевтичних агентів, що використовуються для лікування серцево-судинних хвороб.

Прикладами препаратів, що використовуються у лікуванні серцево-судинних хвороб є анти-тромбозні агенти, наприклад, простациклін і саліцилати, тромболітичні агенти, наприклад, стрептокіназа, урокіназа, тканинний активатор плазміногену (ТРА) і анізольований активуючий комплекс для плазміногену-стрептокінази (APSAC), анти-тромбоцитні агенти, наприклад, ацетил-саліцилова кислота (ASA) і клопідогрель, вазодилататори, наприклад, нітрати, блокери каналу кальцію, анти-проліферативні агенти, наприклад, колхіцин і алкілувальні агенти, інтеркаляційні агенти, модулятори фактора росту, наприклад, інтерлейкіни, перетворюючий бета-фактор росту і споріднений тромбоцитний фактор росту, моноклональні антитіла, спрямовані проти факторів росту, анти-запальні агенти, як стероїдні, так і не-стероїдні, і інші агенти, що можуть модулювати тонус судин, артеріосклерозну функцію і загоювальні реакції судин, або постопераційні травматичні реакції. Антибіотики можуть також бути включені у комбінації або покриття, включені у винахід. Крім того покриття можуть бути використані для терапевтичної доставки фокально у стінці судини. При введенні активного агента у здатний до розбухання полімер цей активний агент вивільняється після розбухання цього полімеру.

Сполуки, описані тут, можуть бути приготовлені або введені разом з рідинним або твердим тканинним бар'єром, також відомим як змашувач. Приклади тканинних бар'єрів включають (не лише) полісахариди, поліглікани, сепрафілм, інтерсид і гіалуронову кислоту.

Медикаменти, які можуть бути введені разом з сполуками, описаними тут, включають будь-які медикамент, які можна вводити інгаляцією, наприклад, анальгетики, наприклад, кодеїн, дигідроморфін, ерготамін, фентаніл або морфін; ангінальні препарати, наприклад, дільтіазем; антиалергіки, наприклад, кромоглікат, кетотифен або недокроміл; антиінфекційні, наприклад, сергалоспорини, пеніциліни, стрептоміцин, сульфонаміди, тетрацикліни або пентамідин; антигістаміни, наприклад, метопірилен; антизапальні, наприклад, беклометазон, флунізолід, будесонід, типредан, тріамцінолон ацетонід або флутиказон; протикашльові, наприклад, носкапін; бронходилататори, наприклад, ефедрин, адреналін, фенотерол, формотерол, ізопреналін, метапротеренол, фенілефрин, фенілпропаноламін, пірбутерол, репротерол, гімтерол, сальбутамол, сальметерол, тербуталін, ізетарин, тулобутерол, орсіпреналін або (-)-4-аміно-3,5-дихлор-а-[[[6-[2-(2-піридиніл)етокси]гексил]-аміно]метил]-бензолметанол; діуретики, наприклад, амilorид; антихолінергетики, наприклад, іпраторій, атропін або окситропій; гормони, наприклад, кортизон, гідрокортизон або преднізолон; ксантини, наприклад, амінофілін, холін теофілінат, лізин теофілінат або теофілін, теофілін і терапевтичні протеїни і пептиди, наприклад, інсулін або глюкагон. Ці медикаменти можуть бути використані у формі солей (наприклад, лужних металів або аміну або як кислото-адитивні солі) або як естери (наприклад, нижчі алкіл естери) або як сольвати (наприклад гідрати) для оптимізації активності і/або стабільності медикаменту.

Інші типові терапевтичні агенти, які можуть бути використані у комбінаційній терапії, включають (не лише) агенти, описані вище для радіаційної терапії, антагоністи гормонів, гормони і фактори їх вивільнення, тироїдні і анти tiroїдні медикаменти, естрогени і прогестини, андрогени, адренокортикальні гормони; адренокортикальні стероїди і їх синтетичні аналоги; інгібітори синтезу і дії адренокортикальних гормонів, інсулін, пероральні гіпоглікемічні агенти і агенти, що впливають на кальцифікацію і обмін у кістках: кальцій, фосфат, паратироїдний гормон, вітамін D, кальцитонін, вітаміни, наприклад, водорозчинні вітамін, комплекс вітаміну В, аскорбінову кислоту, розчинні у жирах вітаміни, вітаміни А, К і Е, фактори росту, цитокіни, хемокіни, агоністи і антагоністи мускаринового рецептора; антихолінергестерозні агенти; агенти, що діють на нейром'язові синапси і/або аутономні ганглії; катехоламіни, симпатоміметичні медикаменти і агоністи або антагоністи адренергічного рецептора; і агоністи і антагоністи рецептора 5-гідрокситриптаміну (5-НТ, серотоніну).

Терапевтичні агенти можуть також включати агенти для болі і запалення, наприклад, гістамін і антагоністи гістаміну, брадикінін і антагоністи брадикініну, 5-гідрокситриптамін (серотонін), ліпідні речовини, що утворюються біоперетворенням продуктів селективного гідролізу мембранних фосфоліпідів, ейкозаноїди, простагландини, тромбосани, лейкотрієни, аспірин, нестероїдні антизапальні агенти, анальгетики-антипиретики, агенти, що пригнічують синтез простагландинів і тромбосанів, селективні інгібітори адаптивної циклооксигенази, селективні інгібітори адаптивної циклооксигенази-2, аутокоїди, паракринні гормони, соматостатики, гастрин, цитокіни, що опосередковують взаємодії, пов'язані з гуморальними і клітинними імунними реакціями, ліпідні аутокоїди, ейкозаноїди, адренергічні агоністи, іпраторій, глюোকортикоїди, метилксантини, блокери каналу натрію, агоністи опіоїдного рецептора, блокери каналу натрію кальцію, стабілізатори мембрани і інгібітори лейкотрієну.

Додаткові терапевтичні агенти включають діуретики, вазопресин, агенти, що діють на ниркову консервацію води, ренін, ангіотензин, агенти лікування ішемії міокарду, антигіпертонічні агенти, інгібітори ферменту перетворення ангіотензину, антагоністи 3-адренергічного рецептора, агенти лікування гіперхолестеролемії і агенти лікування дисліпідемії.

Інші придатні терапевтичні агенти включають медикаменти для контролю шлункової кислотності, агенти лікування пептичних виразок, агенти лікування гастроезофагіального рефлюксу, прокінетичні агенти, антиеметики, агенти лікування синдрому подразнення кишечника, агенти лікування діареї, агенти лікування констипації, агенти лікування запальної кишкової хвороби, агенти лікування біліарної хвороби, агенти лікування панкреатичної хвороби, терапевтичні агенти лікування протозоальних інфекцій, медикаменти лікування малярії, амебіази, гіардіази, трихомоназу і/або лейшманіозу, і/або медикаменти для лікування хіміотерапією гельмінтозу.

Інші терапевтичні агенти включають антимікробні засоби, сульфонаміди, триметоприм-сульфаметоксазол ксинолони і агенти лікування інфекцій сечового тракту, пеніциліни, сергалоспорини тощо, Р-лактамові антибіотики, включаючи аміноглікозид, інгібітори синтезу протеїну, медикаменти для хіміотерапії туберкульозу, мікобактеріального комплексу хвороб і лепри, антигрибкові агенти, антивірусні агенти, включаючи неретровірусні агент і антиретровірусні агенти.

Приклади терапевтичних антитіл, які можуть бути комбіновані з сполукою винаходу, включають (не лише) антирецепторні антитіла кінази тирозину (цетуксимаб, панітумумаб, трастуцумаб), анти CD20 антитіла (ритуксимаб, тозитумумаб) і інші антитіла, наприклад, алемтицумаб, беваціцумаб і гемтицумаб.

У способі згідно з винаходом можуть бути використані терапевтичні агенти для імунomodulaції, наприклад, імунomodulatory, імуніngібітори, толерогени і імуностимулятори, а також терапевтичні агенти, що діють на кров і кровотворні органи, гематopoетичні агенти, фактори росту, мінерали і вітаміни, антикоагулянти, тромболітики і антитромбозні медикаменти.

Інші терапевтичні агенти, які можна комбiнувати з сполукою винаходу, описано у Goodman and Gilman's "The Pharmacological Basis of Therapeutics" 10-th ed. by Hardman, Limbird and Gilman або Physician's Desk Reference, включених посиланням.

Сполуки, описані тут, можуть бути використані у комбiнації з описаними вище агентами або іншими придатними агентами, залежно від стану, що підлягає лікуванню. У деяких втіленнях сполуки винаходу вводять разом з іншими агентами, як це описано вище. При використанні у комбiнованій терапії, сполуки, описані тут, можуть бути введені з другим агентом одночасно або окремо. Таке введення у комбiнації може включати одночасне введення двох агентів в одній дозованій формі, 35 одночасне введення в окремих дозованих формах і індивідуальне введення. Отже, сполука, описана тут, і будь-які агенти, описані вище, можуть бути об'єднані в одній дозованій формі і введені одночасно. В іншому варіанті сполука винаходу і будь-який з агентів, описаних вище, можуть бути одночасно введені як окремі рецептури. Сполука винаходу може бути також введена безпосередньо перед будь-яким агентів, описаних вище, або навпаки. При індивідуальному введенні сполука винаходу і будь-який з агентів, описаних вище можуть бути введені з кількахвилинним або кількагодинним або кількаденним інтервалом.

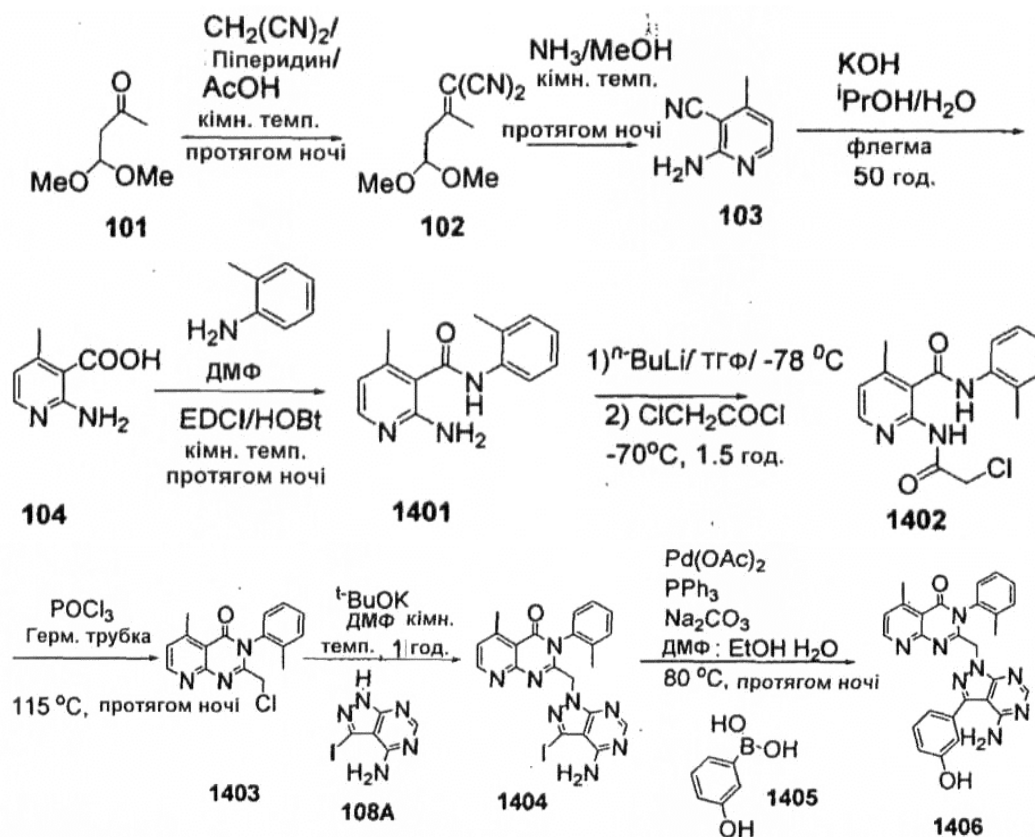
Приклади і препарати, наведені нижче, ілюструють сполуки винаходу і способи їх приготування. Об'єм винаходу не обмежується цими прикладами і препаратами. У прикладах молекули з одиночним хіральним центром, якщо не зазначено інше, існують як рацемічна суміш. Молекули з двома або більше хіральними центрами, якщо не зазначено інше, існують як рацемічна суміш діастереомерів. Одиночні енантіомери/діастереомери можуть бути отримані відомими способами.

#### ПРИКЛАДИ

Приклад 1: Синтез 2-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-о-толїлпіридо[2,3-d]піримідин-4(3H)-ону (Сполука 1406).



Схема 14. Синтез 2-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-о-толілпіридо[2,3-d]піримідин-4(3H)-ону (Сполука 1406)



До перемішаного розчину 4,4-диметокси-2-бутанону (101) (61 г, 85 %, 0,393 моль), оцтової кислоти (2,2 мл, 0,038 ммоль) і піперидину (3,8 мл, 0,038 моль) у толуолі (150 мл), додають порціями малонітрил (25 г, 0,394 ммоль) протягом 20 хвил. Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Отриманий темнокоричневий розчин промивають H<sub>2</sub>O (50 мл), сушать над MgSO<sub>4</sub> і концентрують *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт 2-(4,4-диметоксибутан-2-іліден)малонітрил (102) (70 г, 99 %), який використовують у наступній операції.

Амонієвий газ пропускають бульбашками через розчин 102 (32 г, 0,178 ммоль) у MeOH (500 мл) протягом 3 год., отриманий червоний розчин перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Суміш концентрують і залишок розподіляють між розчином HCl (2 N, 600 мл) і EtOAc (600 мл). Водний шар відділяють і підлучують льодяним концентрованим розчином NaHCO<sub>3</sub> (600 мл). Тверду речовину осаджують з розчину і збирають фільтрацією, отримуючи бажаний продукт 2-аміно-4-метилнікотинітрил (103) (3,0 г, 33 %).

Сполуку 103 (5,32 г, 40 ммоль) суспендують у розчині гідроксиду калію (26,88 г, 480 ммоль) у воді (26,85 мл) і ізопропанолі (9,6 мл). Реакційну суміш нагрівають до температури флегми протягом 50 год., потім охолоджують до кімнатної температури і розріджують льодяною водою (100 мл) і нейтралізують концентрованим розчином HCl до pH = 6-7. Суміш концентрують *in vacuo* і отриманий залишок очищують флеш-хроматографією, елюючи етанолом і отримуючи бажаний продукт 2-аміно-4-метилнікотинінову кислоту (104) (3,284 г, 54,7 %).

До перемішаного розчину 104 (3,2 г, 21,2 ммоль) у ДМФ (40 мл) і ДХМ (80 мл) додають EDCI (8,12 г, 42,4 ммоль), HOBt (2,86 г, 21,4 ммоль) і о-толуїдин (4,53 мл, 42,4 ммоль). Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі і потім вливають у воду (120 мл). Водну фазу екстрагують ДХМ (60 мл × 2). Об'єднані органічні фази промивають розсолем, сушать над MgSO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують. Тверду речовину осаджують з розчину, збирають фільтрацією і сушать, отримуючи бажаний продукт 2-аміно-4-метил-N-о-толілнікотинамід (1401) (3,6 г, 70,4 %).

До суспензії 1401 (1,2 г, 4,96 ммоль) у сухому ТГФ (60 мл) краплями додають бутиллітій (2,5M, 2,38 мл, 5,96 ммоль) під аргонем при -40 °C і перемішують при цій температурі 1 год.

Потім реакційну суміш охолоджують до  $-78^{\circ}\text{C}$  і додають хлорацетил хлорид (0,432 мл, 5,4 ммоль). Після перемішування протягом 2 год. при  $-78^{\circ}\text{C}$ , реакційну суміш вливають у лід-воду (100 мл). ТГФ видаляють in vacuo, тверду речовину осаджують з розчину, збирають фільтрацією і промивають етером, отримуючи бажаний продукт 2-(2-хлорацетамідо)-4-метил-N-о-толілнікотинамід (1402) (890 мг, 56,4 %).

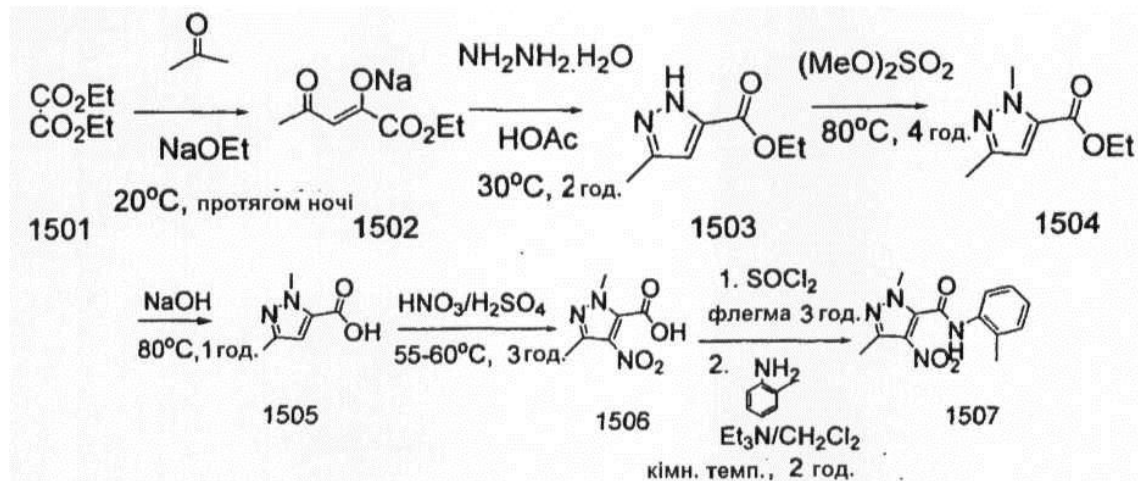
Суміш 1402 (320 мг, 1 ммоль) і фосфорного оксихлориду (20 мл, 214 ммоль) нагрівають при  $115^{\circ}\text{C}$  протягом ночі у герметичній трубці. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і концентрують in vacuo. Залишок вливають у лід-воду і нейтралізують насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  до pH 8-9, отриманий твердий осад збирають фільтрацією і промивають етером, отримуючи бажаний продукт 2-(хлорметил)-5-метил-3-о-толілпіридо[2,3-d]піримідин-4(3H)-он (1403) (200 мг, 66,8 %).

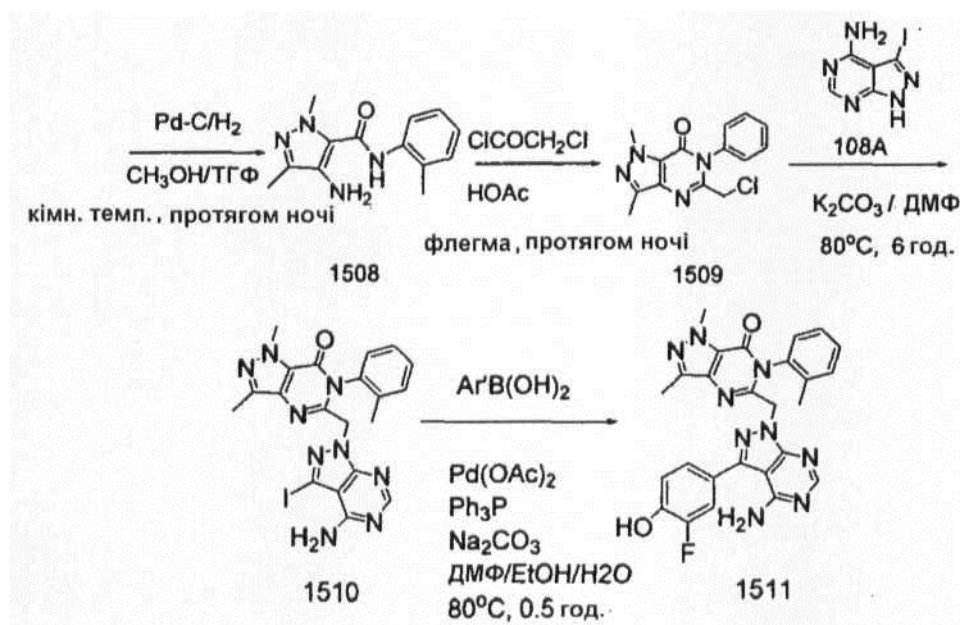
До розчину 3-йод-4-амін-1H-піразоло[3,4-d]піримідину (108A) (261 мг, 1,2 ммоль) у сухому ДМФ (9 мл) під нітрогеном додають трет-бутоксид калію (123 мг, 1,1 ммоль) при  $0^{\circ}\text{C}$ . Отриману суміш перемішують при цій температурі 45 хвил. Додають розчин 1403 (300 мг, 1 ммоль) у сухому ДМФ (5 мл). Реакційну суміш перемішують 1 год. при  $0^{\circ}\text{C}$  і потім 1 год. при кімнатній температурі. Суміш концентрують in vacuo і отриманий залишок очищають флеш-хроматографією, отримуючи бажаний продукт 2-((4-аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-о-толілпіридо[2,3-d]піримідин-4(3H)-он (1404) (450 мг, 83,3 %).

До розчину 1404 (36 мг, 0,069 ммоль) і 3-гідроксифенілборної кислоти (1405) (12 мг, 0,083 ммоль) у ДМФ (2 мл), EtOH (1 мл) і води (1 мл) додають  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (7 мг, 0,006 ммоль) і  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1M, 0,5 мл, 0,5 ммоль) під аргон. Отриману суміш дегазують і тричі пропускають аргон і потім нагрівають протягом ночі при  $80^{\circ}\text{C}$ . Реакційну суміш залишають охолонути до кімнатної температури і концентрують. Залишок розріджують водою (20 мл), нейтралізують HCl (1M) до pH 6-7 і екстрагують ДХМ (10 мл  $\times$  3). Об'єднані органічні шари промивають розсолон, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією, отримуючи бажаний продукт 2-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-о-толілпіридо[2,3-d]піримідин-4(3H)-он (1406) (8 мг, 23,7 %).

Приклад 2: Синтез 5-((4-аміно-3-(3-флуор-4-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-1,3-диметил-6-о-толіл-1H-піразоло[4,3-d]піримідин-7(6H)-ону (Сполука 1511)

Схема 15. Синтез 5-((4-аміно-3-(3-флуор-4-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-1,3-диметил-6-о-толіл-1H-піразоло[4,3-d]піримідин-7(6H)-он (Сполука 1512)





Натрій (5,2 г, 0,226 моль) розчиняють у безводному етанолі (120 мл). Додають суміш діетил оксалату (1501) (31,8 мл, 0,235 моль) і ацетону (16,0 мл, 0,218 моль) при температурі нижче 10 °С. Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Отриманий осад збирають фільтрацією, промивають петроетером і сушать, отримуючи бажаний продукт 1502 як жовту тверду речовину. (30,4 г, 77,5 %).

Гідразингідрат (9,7 мл, 85 %, 0,200 моль) краплями додають до оцтової кислоти (34 мл). Додають порціями сполуку 1502 (30,4 г, 0,169 моль) при 25 °С. Отриману суміш перемішують 2 год. при кімнатній температурі, потім підлучують насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  до pH 8 і екстрагують ДХМ (200 мл  $\times$  3). Об'єднані органічні фази промивають розсолем, сушать і концентрують, отримуючи бажаний продукт, сполуку 1503, як жовту тверду речовину (22 г, 84,6 %).

Диметилсульфат (3,2 мл, 33,8 ммоль) краплями додають до розчину сполуки 1503 (4,2 г, 29,9 ммоль) у толуолі (20 мл). Реакційну суміш перемішують 4 год. при 80 °С, потім залишають охолонути до кімнатної температури і концентрують. Додають 40 %-й розчин  $\text{NaOH}$  (15 мл) і отриману суміш перемішують 1 год. при 80 °С, потім охолоджують до кімнатної температури і розріджують  $\text{H}_2\text{O}$  (30 мл), підкислюють концентрованою  $\text{HCl}$  до pH 3-4. Осаджену тверду речовину збирають фільтрацією, промивають холодною водою і сушать, отримуючи бажаний продукт, сполуку 1505, як білувату тверду речовину. (3,54 г, 84,4 %).

До перемішаної суміші концентрованої  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (3,6 мл) і димлячої  $\text{HNO}_3$  (3,1 мл, 73,9 ммоль) додають кислоту 1505 (2,813 г, 20 ммоль) при 70-80 °С. Реакційну суміш перемішують 6 год. при 70 °С і охолоджують до кімнатної температури і потім вливають у лід-воду. Осаджену тверду речовину збирають фільтрацією, промивають водою і сушать, отримуючи бажаний продукт, сполуку 1506, як жовту тверду речовину (0,795 г, 21,5 %).

Суміш сполуки 1506 (1,508 г, 8,15 ммоль) і  $\text{SOCl}_2$  (6 мл) витримують під зворотним холодильником протягом 3 год., потім концентрують для видалення  $\text{SOCl}_2$ . Залишок розчиняють у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (8 мл). Додають  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,13 мл) і о-толуїдин (1,12 г, 12,23 ммоль) при 0 °С. Отриману суміш перемішують 2 год. при 10 °С, концентрують і розріджують водою. Тверду речовину збирають фільтрацією, промивають вод і петроетером, сушать, отримуючи бажаний продукт, сполуку 1507, як жовту тверду речовину (1,74 г, 77,6 %).

До перемішаної суміші сполуки 1507 (1,73 г, 6,31 ммоль) у  $\text{MeOH}$  (100 мл) і ТГФ (10 мл) додають 5 %  $\text{Pd/C}$  (0,2 г). Суміш дегазують і продувають воднем тричі. Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі і потім фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і тверду речовину сушать, отримуючи бажаний продукт, сполуку 1508, як білу тверду речовину (1,47 г, 95,4 %).

Хлорацетил хлорид (1,44 мл, 1,99 ммоль) додають до розчину сполуки 1508 (1,46 г, 5,98 ммоль) в оцтовій кислоті (20 мл) і реакційну суміш нагрівають до температури флегми протягом 4 год. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і концентрують in vacuo. Залишок розріджують у ДХМ (100 мл), промивають насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  і розсолем, сушать і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією, елюючи петроетером в етил

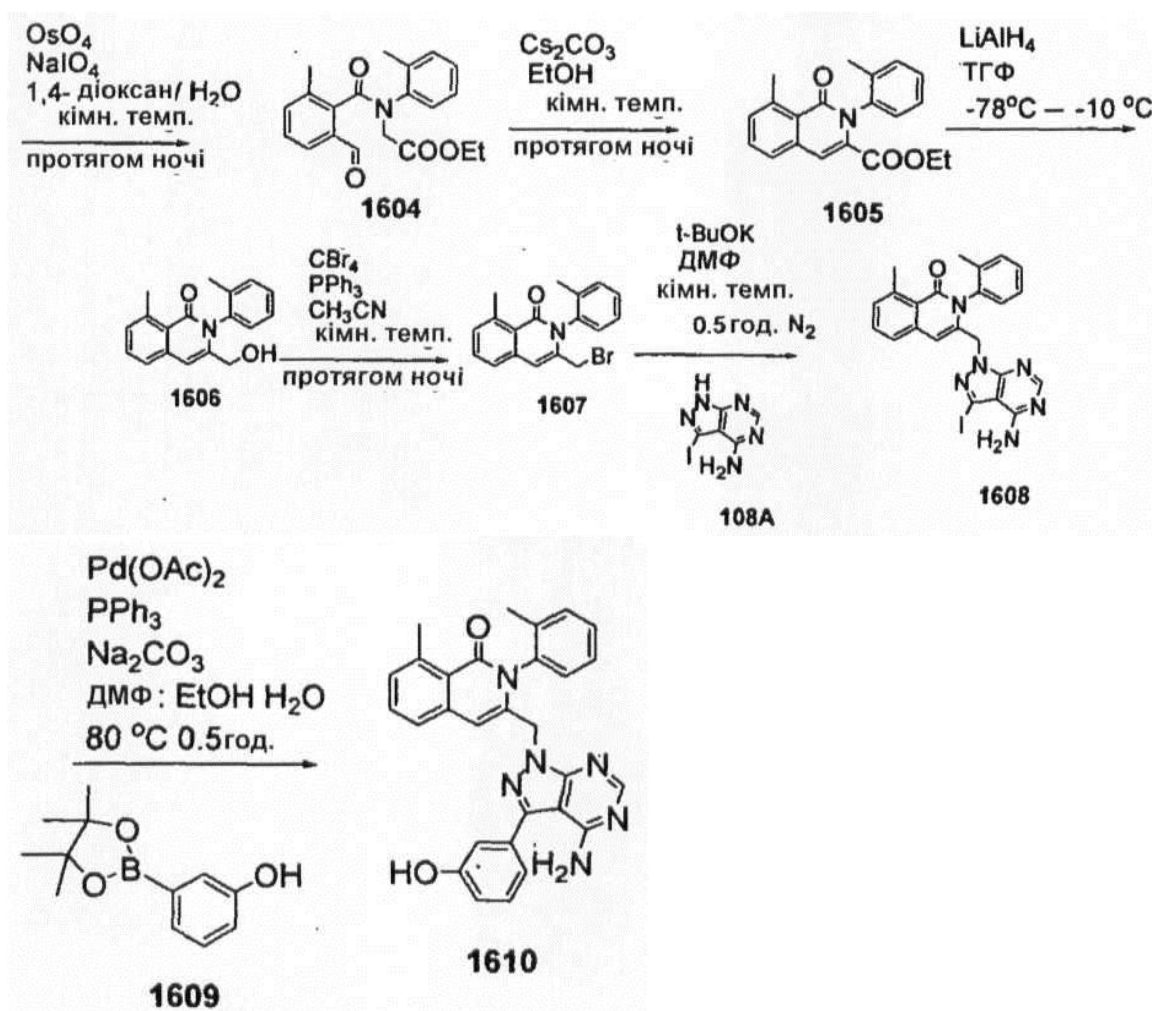
ацетати (10/1), і отримують бажаний продукт, сполуку 1509, як білувату тверду речовину (0,48 г, 26,7 %).

Розчин 3-йод-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-4-аміну (108А) (311 мг, 1,19 ммоль) і  $K_2CO_3$  (330 мг, 2,39 ммоль) у ДМФ (10 мл) перемішують при кімнатній температурі 15 хвил., краплями додають розчин сполуки (1509) (180 мг, 1,15 ммоль, 1 екв.) у ДМФ (5 мл) при кімнатній температурі. Отриману суміш перемішують 2 год. при 80 °С. Реакційну суміш концентрують *in vacuo* для видалення органічного розчинника. Отриманий залишок очищують силікагелевою колонною хроматографією, отримуючи бажаний продукт, сполуку 1509, (142 мг, 44,9 %), як блідо-жовту тверду речовину.

Сполуку 1510 (40 мг, 0,076 ммоль),  $Na_2CO_3$  (40 мг, 0,38 ммоль),  $Pd(PPh_3)_4$  (17,6 мг, 0,015 ммоль) і 3-флуор-4-гідроксифенілборну кислоту (15,8 мг, 0,101 ммоль) розчиняють у розчині ДМФ, етанолу і води (4 мл/2 мл /2 мл). Отриману суміш дегазують і продувають аргон тричі і потім нагрівають до 80 °С 4 год. з перемішуванням. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, нейтралізують 1N HCl до pH 7, концентрують *in vacuo* і екстрагують етил ацетатом. Об'єднані органічні фази сушать над  $Na_2SO_4$ , фільтрують і концентрують. Залишок очищують колонною флеш-хроматографією, елюючи ДХМ/MeOH = 50/1, і отримуючи бажаний продукт 1511 (32 мг, 82 %).

Приклад 3: Синтез 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2Н)-он (Сполук 1610) (спосіб А).

Схема 16: Синтез 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2Н)-он (Сполук 1610) (спосіб А).



Розчин 2-аміно-6-метилбензойної кислоти (104) (106,5 г, 705 ммоль) у  $H_2O$  (200 мл) охолоджують 0-5 °С, повільно додають конц. HCl (250 мл). Розчин перемішують 15 хвил. при 0-5 °С. Краплями додають розчин нітриту натрію (58,4 г, 6,85 моль) у  $H_2O$  (120 мл) при 0-5 °С і отриману суміш перемішують 30 хвил. Потім цей розчин додають до розчину KI (351 г, 2,11 моль) у  $H_2O$  (200 мл) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 16 год. Розчин

вливають у льодяну воду (2000 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 1000 мл). Об'єднаний органічний шар промивають водним NaOH (15 %, 3 × 200 мл). Водний шар підкислюють до pH = 1 і екстрагують етил ацетат (3 × 1000 мл). Об'єднаний органічний шар сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 2-йод-6-метилбензойну кислоту (901) (145 г, 79 %), як жовту тверду речовину.

До перемішаної суміші 2-йод-6-метилбензойної кислоти (901) (105 г, 400 ммоль), Pd(OAc)<sub>2</sub> (27 г, 120 ммоль) і PPh<sub>3</sub> (63 г 240 ммоль) у ТГФ (1000 мл) при кімнатній температурі додають трибутил(вініл)тин (152 г, 480 ммоль). Отриману суміш нагрівають до температури флегми протягом ночі. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і потім концентрують in vacuo. Залишок вливають у льодяну воду (1000 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 1000 мл). Об'єднаний органічний шар промивають водним NaOH (15 %, 5 × 200 мл). Об'єднаний водний шар підкислюють до pH = 1 і екстрагують етил ацетатом (3 × 1000 мл), потім сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 2-метил-6-вінілбензойну кислоту (902) (61 г, 95 %) як жовту тверду речовину.

Суміш 2-метил-6-вінілбензойної кислоти (902) (56 г, 350 ммоль) і тіоніл хлорид (208 г, 1750 ммоль) у толуолі (400 мл) перемішують під зворотним холодильником 2 год. Суміш концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 2-метил-6-вінілбензоїл хлорид (1601) (63 г, 95 %), як жовте масло. Продукт використовують безпосередньо у наступній операції без очищення.

Суміш о-толуїдину (45 г, 420 ммоль) і тріетиламіну (71 г, 70 ммоль) у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 мл) перемішують 10 хвил. при кімнатній температурі. Додають 2-метил-6-вінілбензоїлхлорид (1601) (63 г, 35 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Розчин вливають у воду (300 мл) і екстрагують CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 200 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo, отримуючи сирий продукт, який суспендують у IPE (ізопропіл етер) (300 мл), перемішують під зворотним холодильником 30 хвил. і потім охолоджують до 0-5 °C. Осад збирають фільтрацією і сушать in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 2-метил-N-о-толіл-6-вінілбензамід (1602) (81 г, 80 %), як жовту тверду речовину.

До розчину 2-метил-N-о-толіл-6-вінілбензаміду (1602) (80 г, 320 ммоль) у ДМФ (250 мл) при кімнатній температурі повільно додають NaN (60 % у мінеральному маслі, 25,6 г, 640 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил.

До цієї суміші додають етил хлорацетат (78 г, 640 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 2 год. Цей розчин вливають у воду (500 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 200 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo. Сирий продукт суспендують у MeOH (160 мл), перемішують під зворотним холодильником 10 хвил. і потім охолоджують до 0-5 °C. Осад збирають фільтрацією і сушать in vacuo, отримуючи бажаний продукт, етил 2-(2-метил-N-о-толіл-6-вінілбензамідо)ацетат (1603) (67 г, 62 %), як білу тверду речовину.

До перемішаної суміші етил 2-(2-метил-N-о-толіл-6-вінілбензамідо)ацетату (1603) (67 г, 200 ммоль) у 1, 4-діоксані (300 мл) і H<sub>2</sub>O (100 мл) при кімнатній температурі додають тетроксид осмію (20 мг) і перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Додають перйодат натрію (86 г, 400 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 16 год. Реакційну суміш фільтрують через силікагель (10 г), фільтрат екстрагують етил ацетатом (3 × 200 мл). Об'єднані органічні шари промивають розсоллом (100 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і залишок сушать in vacuo, отримуючи бажаний продукт, етил 2-(2-форміл-6-метил-N-о-толілбензамідо)ацетат (1604) (38 г, 57 %) як жовту тверду речовину.

До перемішаного розчину етил 2-(2-форміл-6-метил-N-о-толілбензамідо)ацетату (1604) (38 г, 112 ммоль) в EtOH (200 мл) і етил ацетату (100 мл) при кімнатній температурі додають карбонат цезію (22 г, 112 ммоль). Отриману суміш дегазують і продувають аргонном тричі і потім перемішують при 50 °C 5 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і фільтрат концентрують in vacuo. Залишок вливають у H<sub>2</sub>O (200 мл), екстрагують етил ацетат (3 × 200 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсоллом (50 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo. Сирий продукт суспендують у IPE (120 мл), нагрівають до температури флегми 10 хвил. і потім охолоджують до 0-5 °C. Осад збирають фільтрацією і сушать in vacuo, отримуючи бажаний продукт, етил-8-метил-1-оксо-2-о-толіл-1,2-дигідроізохінолін-3-карбоксилат (1605) (28 г, 77 %), як білу тверду речовину.

До перемішаного розчину алюмогідриду літію (8,28 г, 218 ммоль) у безводному ТГФ (500 мл) при -78 °C під нітрогеном повільно додають етил 8-метил-1-оксо-2-о-толіл-1,2-дигідроізохінолін-3-карбоксилат (1605) (28 г, 87 ммоль) протягом 10 хвил. Отриману суміш залишають нагрітись

до -30 °С, перемішують 30 хвил. і ТШХ показує завершення реакції. Потім суміш охолоджують до -78° С і повільно додають воду (50 мл). Суміш залишають нагрітись до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і фільтрат концентрують *in vacuo*. Сирий продукт вливають у H<sub>2</sub>O (200 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 200 мл). Об'єднаний

5 органічний шар промивають розсолем (50 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo*. Сирий продукт суспендують в етил ацетаті (30 мл) і перемішують 10 хвил. Тверду речовину збирають фільтрацією і сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, 3-(гідроксиметил)-8-метил-2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (1606) (22 г, 92 %), як білу тверду речовину.

10 PBr<sub>3</sub> (25,6 г, 95 ммоль) повільно додають до перемішаного розчину ДМФ (11,5 г, 158 ммоль) і ацетонітрилі (200 мл) при 0 °С і отриману суміш перемішують при 0 °С 30 хвил. Повільно додають 3-(гідроксиметил)-8-метил-2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (1606) (22 г, 78,8 ммоль) і реакційну суміш залишають нагрітись до кімнатної температури і перемішують 30 хвил. Повільно додають насичений водний розчин NaHCO<sub>3</sub> (50 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 ×

15 200 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем, сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo*. Сирий продукт суспендують у IPE (50 мл) і потім перемішують 10 хвил. Осад збирають фільтрацією і сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, 3-(бромметил)-8-метил-2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (1607) (21 г, 80 %) як білу тверду речовину.

3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-4-амін (108A) (10,8 г, 41,4 ммоль) і трет-бутоксид калію (4,4 г, 40 ммоль) розчиняють у безводному ДМФ (150 мл) і перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Додають 3-(бромметил)-8-метил-2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (1607) (13,7 г, 40 ммоль). Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил., вливають у льодяну воду (300 мл) і потім екстрагують етил ацетатом (3 × 200 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (50 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують до

20 приблизно 100 мл *in vacuo*, осад збирають фільтрацією, отримуючи першу частину бажаного продукту, 3-((4-аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (1608) (12 г, 60 %) як білу тверду речовину. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-20 % MeOH/ДХМ), отримуючи другу частину бажаного продукту, 3-((4-аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-

25 2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (1608) (6 г, 30 %) як білу тверду речовину.

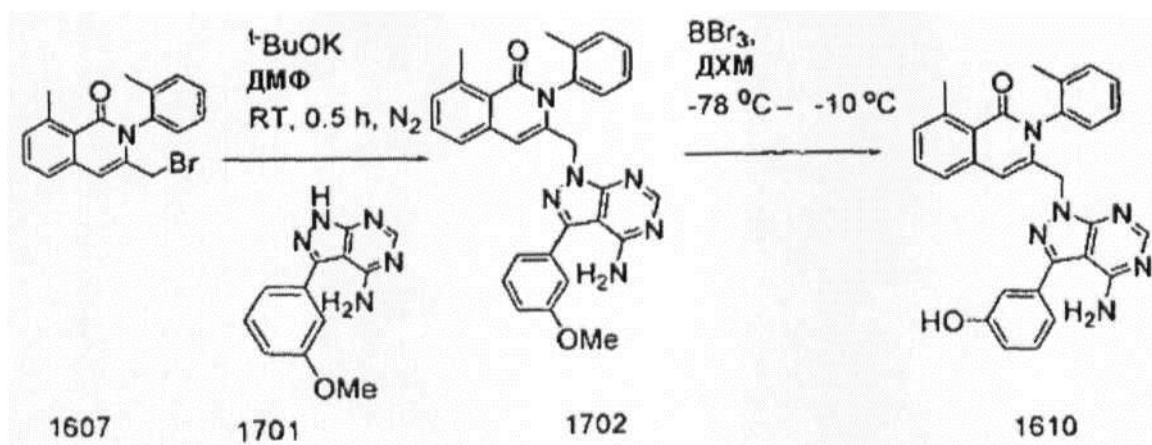
3-((4-аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (1608) (13 г, 24,9 ммоль) і 3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)фенол (1609) (6,6 г, 30 ммоль) розчиняють у ДМФ-EtOH-H<sub>2</sub>O (120 мл, 40 мл, 40 мл). Додають послідовно Pd(OAc)<sub>2</sub> (1,684 г, 7,5 ммоль), PPh<sub>3</sub> (3,935 г 15 ммоль) і Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (13,25 г 125 ммоль). Отриману суміш

35 дегазують і продувають аргонном тричі і потім перемішують при 100 °С протягом 1 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і концентрують *in vacuo*. Залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-20 % MeOH/ДХМ), отримуючи продукт (1610) (9 г, 76 %) як жовтувату тверду речовину, яку потім суспендують у EtOH (100 мл) і нагрівають до температури флегми 30 хвил. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури і тверду речовину збирають фільтрацією, потім суспендують у EA (100 мл) і перемішують протягом ночі. Осад збирають фільтрацією і сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (1610) (8,4 г, 69 %), як білу тверду речовину.

Приклад 4: Синтез 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толїлізохінолін-1(2H)-он (Сполука 1610) (Спосіб В).

45

Схема 17. Синтез 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 1610), спосіб В.



5

3-(3-метоксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-4-амін (1701)(964 мг, 4 ммоль) і трет-бутоксид калію (0,44 г, 4 ммоль) розчиняють у безводному ДМФ (150 мл) і перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Додають 3-(бромметил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2H)-он (1607) (1,37 г, 4,0 ммоль). Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил., вливають у льодяну воду (30 мл) і потім екстрагують етилацетатом ( $3 \times 50$  мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолон (25 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-20 %  $\text{MeOH}/\text{ДХМ}$ ), отримуючи бажаний продукт, 3-((4-аміно-3-(3-метоксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2H)-он (1702) (1,4 г, 70 %), як білу тверду речовину.

10

15

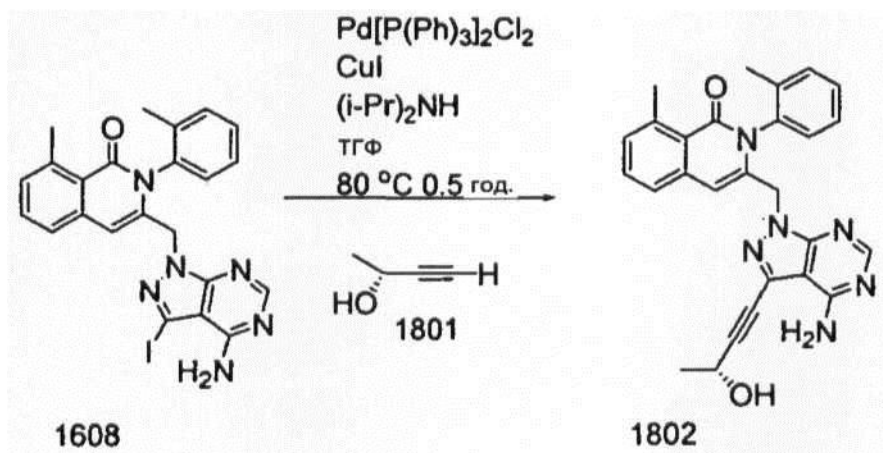
До розчину 3-((4-аміно-3-(3-метоксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)-метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2H)-ону (1702)(100 мг, 0,2 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 мл) при  $-78^\circ\text{C}$  під нітрогеном додають  $\text{BBr}_3$  (1 мл) і отриману суміш перемішують при  $-78^\circ\text{C}$  3 год. Суміш залишають нагрітись до кімнатної температури, вливають у лід-воду (200 мл) і екстрагують етил ацетатом ( $3 \times 50$  мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолон (20 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (10-50 %  $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), отримуючи бажаний продукт, 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2H)-он (1610)(87 мг, 91 %), як білу тверду речовину.

20

25

Приклад 5: Синтез (R)-3-((4-аміно-3-(3-гідроксибут-1-уніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 1802)

Схема 18. Синтез (R)-3-((4-аміно-3-(3-гідроксибут-1-уніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 1802)



30

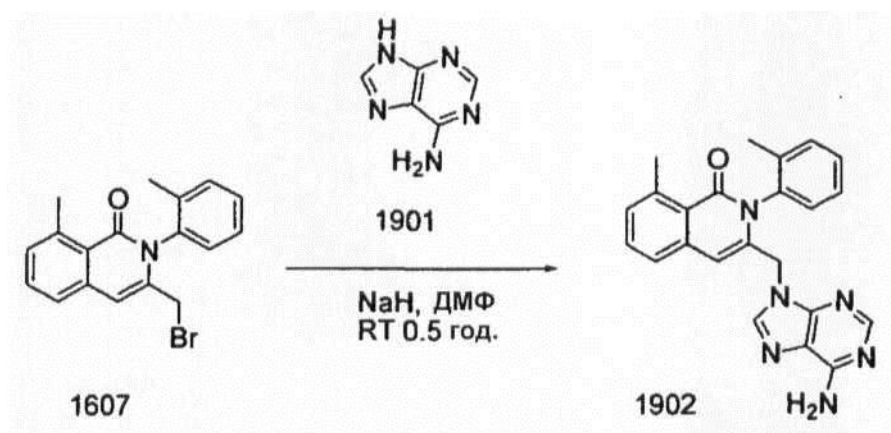
3-((4-аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толilізохінолін-1(2H)-он (1608) (522 мг, 1 ммоль) і (R)-бут-3-ін-2-ол (84 мг, 1,2 ммоль) розчиняють у безводному ТГФ



(40 мл). Суміш дегазують і продувають нітрогеном тричі. Додають  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (12 мг, 0,1 ммоль),  $\text{CuI}$  (47 мг 0,25 ммоль) і  $(i\text{-Pr})_2\text{NH}$  (505 мг, 5 ммоль). Отриману суміш дегазують і продувають аргеном тричі і потім перемішують під зворотним холодильником 4 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і концентрують *in vacuo*. Залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-20 %  $\text{MeOH}/\text{ДХМ}$ ), отримуючи продукт, 3-((4-аміно-3-(3-гідроксибут-1-ініл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (1802) (324 мг, 70 %), як жовтувату тверду речовину.

Приклад 6: Синтез 3-((6-аміно-9H-пурін-9-іл)метил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 1902)

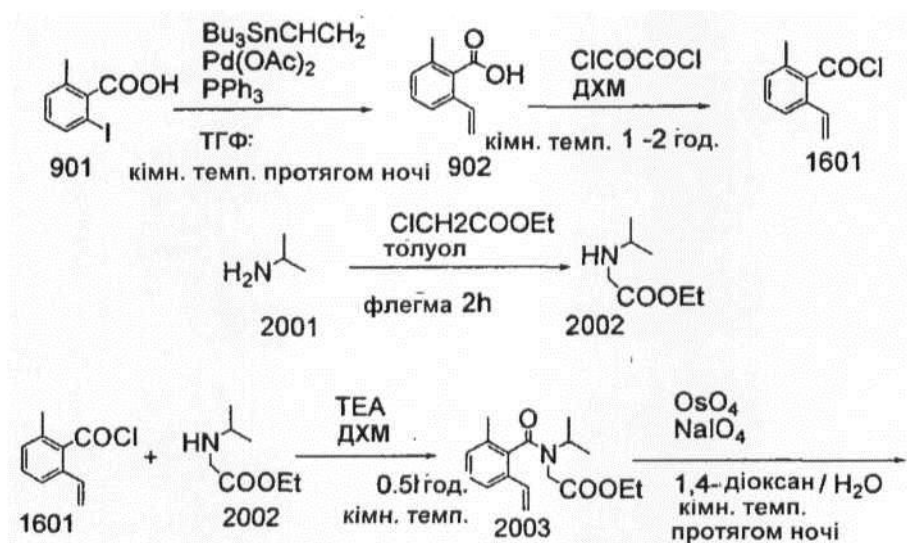
Схема 19. Синтез 3-((6-аміно-9H-пурін-9-іл)метил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 1902)



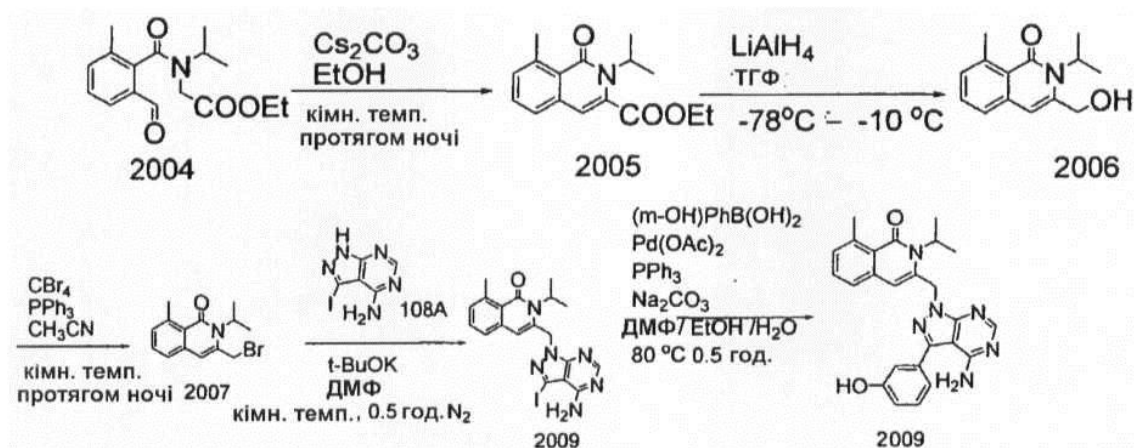
9H-пурін-6-амін (1901) (540 мг, 4,0 ммоль) розчиняють у безводному ДМФ (20 мл). Додають  $\text{NaH}$  (60 % у мінеральному маслі, 160 мг, 4,0 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Додають 3-(бромметил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (1607) (1,37 г, 4,0 ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил., вливають у лід-воду (30 мл) і потім екстрагують етил ацетатом ( $3 \times 50$  мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (25 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-20 %  $\text{MeOH}/\text{ДХМ}$ ), отримуючи бажаний продукт, 3-((6-аміно-9H-пурін-9-іл)метил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (1902) (1,1 г, 70 %), як білу тверду речовину.

Приклад 7: Синтез 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-2-ізопропіл-8-метилізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 2009).

Схема 20. Синтез 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-2-ізопропіл-8-метилізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 2009).







До перемішаної суміші 2-йод-6-метилбензойної кислоти (901) (105 г, 400 ммоль),  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (27 г, 120 ммоль) і  $\text{PPh}_3$  (63 г, 240 ммоль) у ТГФ (1000 мл) при кімнатній температурі додають трибутил(вініл)тин (152 г, 480 ммоль). Отриману суміш нагрівають до температури флегми протягом ночі. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і потім концентрують *in vacuo*. Залишок вливають у льодяну воду (1000 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 1000 мл). Об'єднаний органічний шар промивають водним  $\text{NaOH}$  (15 %, 5 × 200 мл), потім підкислюють до  $\text{pH} = 1$  і екстрагують етил ацетатом (3 × 1000 мл). Об'єднаний органічний шар сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, 2-метил-6-вінілбензойну кислоту (902) (61 г, 95 %) як жовту тверду речовину.

Суміш 2-метил-6-вінілбензойної кислоти (902) (56 г, 350 ммоль) і тіоніл хлориду (208 г, 750 ммоль) у толуолі (400 мл) перемішують під зворотним холодильником 2 год. Суміш концентрують *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, 2-метил-6-вінілбензоїлхлорид (1601) (63 г, 95 %), як жовте масло. Продукт використовують без очищення.

Пропан-2-амін (2001) (59 г, 1,0 моль) і етил хлорацетат (122 г, 1,0 моль) розчиняють у толуолі (200 мл) і суміш перемішують під зворотним холодильником 2 год. Реакційну суміш залишають охолонути до кімнатної температури, вливають у лід-воду (500 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 250 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (50 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (10-50 %  $\text{EA/PE}$ ), отримуючи продукт, етил 2-(ізопропіламіно)ацетат (2002) (70 г, 51 %) як масло.

Етил-2-(ізопропіламіно)ацетат (2002) (14,5 г, 100 ммоль) і триетиламін (200 г, 200 ммоль) розчиняють у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (300 мл) і суміш перемішують 10 хвил. при кімнатній температурі. Додають 2-метил-6-вінілбензоїл хлорид (1601) (18 г, 100 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Реакційну суміш вливають у воду (300 мл) і екстрагують  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 × 200 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (50 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo*, отримуючи сирий продукт, який суспендують у ІРЕ (ізопропіл етері) (300 мл), перемішують під зворотним холодильником 30 хвил. і потім охолоджують до 0-5 °С. Осад збирають фільтрацією і сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, етил 2-(N-ізопропіл-2-метил-6-вінілбензамідо)ацетат (2003) (14,5 г, 50 %), як жовту тверду речовину.

До перемішаного розчину етил 2-(N-ізопропіл-2-метил-6-вінілбензамідо)ацетату (2003) (14,0 г, 48,0 ммоль) у 1,4-діоксані (100 мл) і  $\text{H}_2\text{O}$  (30 мл) додають тетроксид осмію (20 мг) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Додають перйодат натрію (22 г, 100 ммоль) і потім перемішують при кімнатній температурі 16 год. Реакційну суміш фільтрують через силікагель (10 г), фільтрат екстрагують етил ацетатом (3 × 200 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (50 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, етил 2-(2-форміл-N-ізопропіл-6-метилбензамідо)ацетат (2004) (8,33 г, 57 %), як жовту тверду речовину.

До перемішаного розчину етил 2-(2-форміл-N-ізопропіл-6-метилбензамідо)ацетату (2004) (8,3 г, 28,0 ммоль) у  $\text{EtOH}$  (100 мл) і етил ацетаті (50 мл) при кімнатній температурі, додають карбонат цезію (5,9 г, 30 ммоль). Отриману суміш дегазують і продувають аргонном трічі і потім перемішують при 50 °С 5 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і фільтрат концентрують *in vacuo*. Залишок вливають у  $\text{H}_2\text{O}$  (200 мл), екстрагують етил ацетатом (3 × 200 мл). Об'єднаний органічний шар промивають

розсолем (50 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo*. Сирий продукт суспендують у ІРЕ (120 мл), перемішують під зворотним холодильником 10 хвил. і потім охолоджують до 0-5 °С. Осад збирають фільтрацією і сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, етил 2-ізопропіл-8-метил-1-оксо-1,2-дигідроізохінолін-3-карбоксилат (2005) (5,35 г, 70 %), як білу тверду речовину.

До перемішаного розчину алюмогідриду літію (2,88 г, 76 ммоль) у безводному ТГФ (200 мл) при -78 °С під нітрогеном додають етил 2-ізопропіл-8-метил-1-оксо-1,2-дигідроізохінолін-3-карбоксилат (2005) (5,2 г, 19 ммоль) протягом 10 хвил. Отриману суміш залишають нагрітись до -30 °С, перемішують 30 хвил. і ТШХ показує завершення реакції. Потім суміш охолоджують до -78 °С і повільно додають воду 50 мл). Суміш залишають нагрітись до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і фільтрат концентрують *in vacuo*. Сирий продукт вливають у  $\text{H}_2\text{O}$  (200 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 200 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (50 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo*. Сирий продукт суспендують в етил ацетаті (30 мл) і перемішують 19 хвил. Тверду речовину збирають фільтрацією і сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, 3-(гідроксиметил)-2-ізопропіл-8-метилізохінолін-1(2Н)-он (2006) (3,51 г, 80 %), як білу тверду речовину.

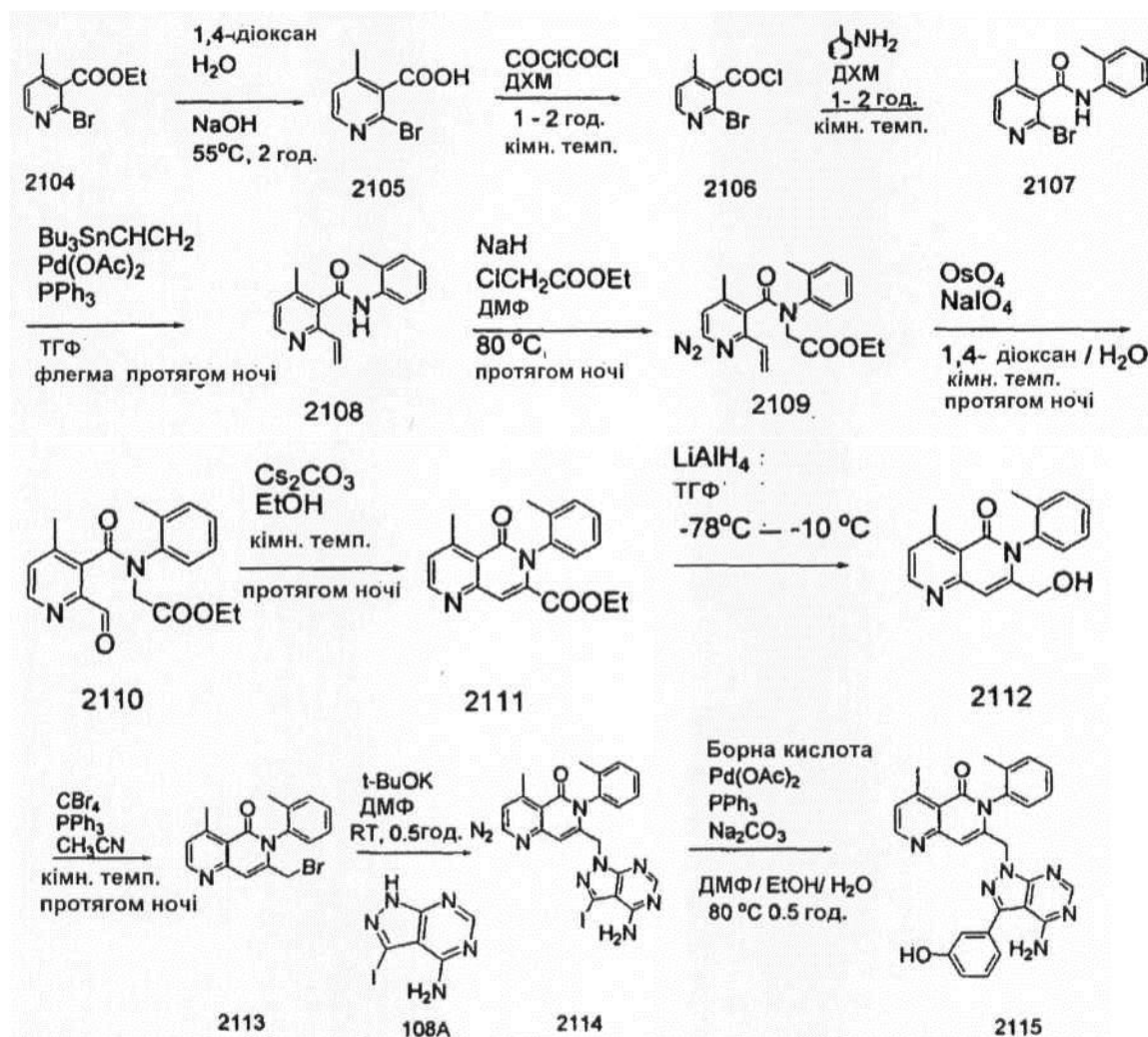
До розчину 3-(гідроксиметил)-2-ізопропіл-8-метилізохінолін-1(2Н)-ону (2006) (1,61 г, 7,0 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , додають  $\text{PPh}_3$  (3,67 г, 14,0 ммоль) і суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Суміш охолоджують до 0 °С і додають порціями  $\text{CBr}_4$  (4,64 г, 14,0 ммоль). Отриману суміш перемішують від 0 °С до кімнатної температури протягом 30 хвил. і потім концентрують *in vacuo*. Сирий продукт очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (30-50 % ЕА/РЕ), отримуючи бажаний продукт, 3-(бромметил)-2-ізопропіл-8-метилізохінолін-1(2Н)-он (2007) (1,65 г, 80 %), як білу тверду речовину.

Суміш 3-йод-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-4-аміну (108А) (1,3 г, 5 ммоль) і трет-бутоксиду калію (0,55 г, 5 ммоль) у безводному ДМФ (20 мл) перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. і потім додають 3-(бромметил)-2-ізопропіл-8-метилізохінолін-1(2Н)-он (2007) (1,47 г, 5 ммоль). Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил., вливають у лід-воду (30 мл) і потім екстрагують етил ацетатом (3 × 50 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (25 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-20 %  $\text{MeOH}/\text{ДХМ}$ ), отримуючи бажаний продукт, 3-((4-аміно-3-йод-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-2-ізопропіл-8-метилізохінолін-1(2Н)-он (2008) (1,66 г, 70 %), як білу тверду речовину.

До перемішаної суміші 3-((4-аміно-3-йод-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-2-ізопропіл-8-метилізохінолін-1(2Н)-ону (2008) (95 мг, 0,2 ммоль) і 3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)фенолу (66 мг, 0,3 ммоль) у ДМФ-ЕтОН- $\text{H}_2\text{O}$  (3:1:1, 20 мл), додають  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (16 мг, 0,075 ммоль),  $\text{PPh}_3$  (39,3 мг, 0,15 ммоль) і  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (132 мг, 1,25 ммоль) послідовно. Отриману суміш дегазують і продувають аргоном тричі і потім перемішують при 100 °С протягом 1 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і концентрують *in vacuo*. Залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-20 %  $\text{MeOH}/\text{ДХМ}$ ), отримуючи продукт, 3-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-2-ізо-пропіл-8-метилізохінолін-1(2Н)-он (2009) (53 мг, 61 %), як жовтувату тверду речовину.

Приклад 8: Синтез 7-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6Н)-ону (Сполука 2115)

Схема 21. Синтез 7-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6H)-ону (Сполука 2115)



5

До суміші етил 2-ціаноацетату (2101)(45,2 г, 400 ммоль) і ацетону (46,4 г, 800 ммоль) у льодяній оцтовій кислоті (50 мл) додають піперидин (2 мл, 20 ммоль) і отриману суміш перемішують під зворотним холодильником 24 год. Реакційну суміш залишають охолонути до кімнатної температури і потім концентрують *in vacuo*. Залишок розріджують водою (200 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 200 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (50 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищують колонною флеш-хроматографією на силікагелі (0-2 % EA/PE), отримуючи бажаний продукт, етил 2-ціано-3-метилбут-2-еноат (2102) (49,6 г, 81 %), як білу тверду речовину.

До розчину етил 2-ціано-3-метилбут-2-еноату (2102) (43,6 г, 285 ммоль) в абсолютному EtOH (300 мл) краплями додають N,N-ДМФ-диметил ацеталь (37,3 г, 313 ммоль) і отриману суміш перемішують під зворотним холодильником 6 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, концентрують *in vacuo*, отримуючи сирий бажаний продукт, етил 2-ціано-5-(диметиламіно)-3-метилпента-2,4-діеноат (2103) (39,8 г, 67 %), як жовту тверду речовину.

Етил 2-ціано-5-(диметиламіно)-3-метилпента-2,4-діеноат (2103) (30,8 г, 148 ммоль) розчиняють у AcOH (120 мл) і суміш перемішують при 40 °C. Краплями додають розчин 45 % HBr-AcOH (120 мл) і потім суміш перемішують при 55 °C 2 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, вливають у лід, нейтралізують твердим Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> і екстрагують етил ацетатом (3 × 150 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (50 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищують колонною флеш-хроматографією на силікагелі (5-20 % EA/PE), отримуючи бажаний продукт, етил 2-бром-4-метилнікотинат (2104) (17,6 г, 49 %), як жовте масло.

До розчину етил 2-бром-4-метилнікотинату (2104) (12,8 г, 52 ммоль) у 1,4-діоксані (15 мл) додають розчин NaOH (8,0 г, 200 ммоль) у H<sub>2</sub>O (15 мл) і отриману суміш перемішують під зворотним холодильником 12 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, розріджують H<sub>2</sub>O, промивають етил ацетатом (3 × 30 мл), водний шар підкислюють концентрованою гідрохлорною кислотою до pH=1 і екстрагують етил ацетатом (3 × 50 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (25 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 2-бром-4-метилнікотинову кислоту (2105) (9,7 г, 85 %), як білу тверду речовину.

До розчину 2-бром-4-метилнікотинової кислоти (2105) (13 г, 60 ммоль) і ДМФ (3 краплі) у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150 5 мл) краплями додають оксалілхлорид (11,4 г, 90 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 2 год. Реакційну суміш концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 2-бром-4-метилнікотинноїл хлорид (2106) (13,4 г, 95 %), як жовте масло. Продукт використовують без очищення.

О-толуїдин (7,7 г, 72 ммоль) і тріетиламін (9,1 г, 90 ммоль) розчиняють у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 мл) перемішують 10 хвил. при кімнатній температурі. Додають 2-бром-4-метилнікотинноїл хлорид (2106) (13,4 г, 57 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 1 год. Суміш вливають у воду (200 мл) і екстрагують CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 50 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (20 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo, отримуючи сирий продукт, який суспендують у IPE (ізопропілєтері) (50 мл). Суміш перемішують під зворотним холодильником 30 хвил. і потім охолоджують 0-5 °C. Осад збирають фільтрацією і сушать in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 2-бром-4-метил-N-о-толїлнікотинамід (2107), (13 г, 75 %) як жовту тверду речовину.

До розчину 2-бром-4-метил-N-о-толїлнікотинаміду (2107) (13 г, 43 ммоль) і трибутил(вініл)тину (16,4 г, 52 ммоль) у ТГФ (200 мл) під нітрогеном додають Pd(OAc)<sub>2</sub> (2,9 г, 13 ммоль) і PPh<sub>3</sub> (6,8 г, 26 ммоль). Отриману суміш перемішують під зворотним холодильником 16 год., потім залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (10 г) і концентрують in vacuo. Залишок вливають у воду (200 мл), екстрагують етил ацетатом (3 × 50 мл), об'єднаний органічний шар промивають розсолем (30 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (20-50 % EA/PE), отримуючи бажаний продукт, 4-метил-N-о-толїл-2-вінілнікотинамід (2108) (8,7 г, 80 %), як жовту тверду речовину.

До перемішаного розчину 4-метил-N-о-толїл-2-вінілнікотинаміду (2108) (8,1 г, 32 ммоль) у ДМФ (50 мл) при кімнатній температурі повільно додають NaN (60 % у мінеральному маслі, 2,6 г, 65 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Краплями додають етил хлорацетат (78 г, 640 ммоль) при кімнатній температурі і перемішують 2 год. Розчин вливають у воду (300 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 80 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (25 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo. Сирий продукт суспендують у MeOH (60 мл) і перемішують під зворотним холодильником 10 хвил., потім охолоджують до 0-5 °C. Осад збирають фільтрацією і сушать in vacuo, отримуючи бажаний продукт, етил 2-(4-метил-N-о-толїл-2-вінілнікотинамідо)ацетат (2109) (6,3 г, 58 %), як білу тверду речовину.

До розчину етил 2-(4-метил-N-о-толїл-2-вінілнікотинамідо)ацетату (2109) (6,1 г, 18 ммоль) у 1,4-діоксані (90 мл) і H<sub>2</sub>O (30 мл) при кімнатній температурі додають тетроксид осмію (5 мг) і отриману суміш перемішують 30 хвил. Додають періодат натрію (7,7 г, 36 ммоль) і суміш перемішують при кімнатній температурі 16 год. Суміш фільтрують через силікагель (5 г) і фільтрат екстрагують етил ацетатом (3 × 50 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (25 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і залишок сушать під зниженим тиском, отримуючи бажаний продукт, етил 2-(2-форміл-4-метил-N-о-толїлнікотинамідо)ацетат (2110) (4,4 г, 72 %), як жовту тверду речовину.

До перемішаного розчину етил-2-(2-форміл-4-метил-N-о-толїлнікотинамідо)ацетату (2110) (4,4 г, 13 ммоль) у EtOH (30 мл) і етил ацетату (10 мл) при кімнатній температурі додають карбонат цезію (4,3 г, 13 ммоль). Отриману суміш дегазують і продувають аргоном тричі і потім перемішують при 50 °C 5 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (5 г) і фільтрат концентрують in vacuo. Залишок вливають у H<sub>2</sub>O (200 мл), екстрагують етил ацетатом (3 × 50 мл). Об'єднаний органічний шар сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo. Сирий продукт суспендують у IPE (30 мл), перемішують під зворотним холодильником 10 хвил. і потім охолоджують до 0-5 °C. Осад збирають фільтрацією і сушать in vacuo, отримуючи бажаний продукт, етил 4-метил-5-оксо-6-о-толїл-5,6-дигідро-1,6-нафтиридин-7-карбоксилат (2111) (3,0 г, 72 %), як білу тверду речовину.

До перемішаного розчину алюмогідриду літію (0,86 г, 23 моль) у безводному ТГФ (100 мл) при -78 °С під нітрогеном краплями додають розчин етил 4-метил-5-оксо-6-о-толіл-5,6-дигідро-1,6-нафтиридин-7-карбоксилату (2111) (2,9 г, 9,0 ммоль) у безводному ТГФ (20 мл). Отриману суміш залишають нагрітись до -10 °С, перемішують 30 хвил. і ТШХ показує завершення реакції.

5 Потім суміш охолоджують до  $-78^{\circ}\text{C}$  і повільно додають воду (50 мл). Суміш залишають нагрітись до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (5 г) і фільтрат концентрують *in vacuo*. Сирий продукт вливають у  $\text{H}_2\text{O}$  (100 мл) і екстрагують етил ацетатом ( $3 \times 50$  мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолон (25 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo*. Сирий продукт суспендують в етил ацетаті (10 мл) і  
10 перемішують 10 хвил. Тверду речовину збирають фільтрацією і сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, 7-(гідроксиметил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6H)-он (2112) (2,1 г, 83 %), як білу тверду речовину.

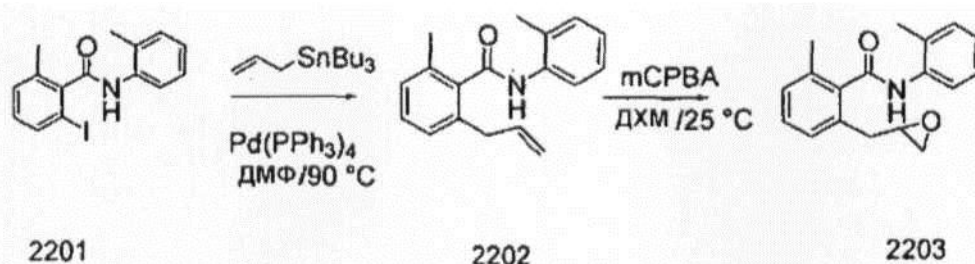
До розчину 7-(гідроксиметил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6H)-он (2112) (1,96 г, 7,0 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  додають  $\text{PPh}_3$  (3,67 г, 14,0 ммоль) і перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Додають  $\text{CBr}_4$  (4,64 г, 14,0 ммоль) порціями при 0 °C. Отриману суміш залишають нагрітись до кімнатної температури, перемішують 30 хвил. і концентрують *in vacuo*. Залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (30-50 % ЕА/РЕ), отримуючи бажаний продукт, 7-(бромметил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6H)-он (2113) (1,92 г, 80 %), як білу тверду речовину.

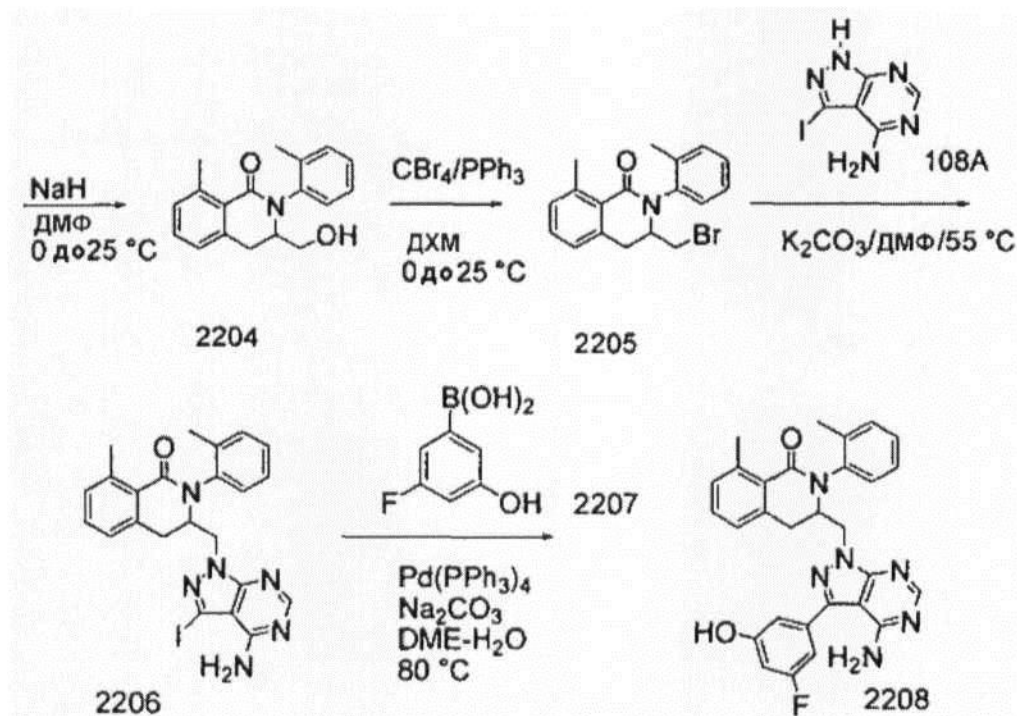
Суміш 3-йод-1Н-піразоло[3,4-д]піримідин-4-аміну (108А) (1,08 г, 4,14 ммоль) і трет-бутоксиду калію (0,44 г, 4,0 ммоль) у безводному ДМФ (50 мл) перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. і потім додають 7-(бромметил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6Н)-он (2113) (1,37 г, 4,0 ммоль). Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил., вливають у льодяну вод (300 мл) і потім екстрагують етил ацетатом 3 × 100 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолон (30 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (0-2 % MeОН/ДХМ), отримуючи бажаний продукт, 7-((4-аміно-3-йод-1Н-піразоло[3,4-д]піримідин-1-іл)метил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6Н)-он (2114) (1,07 г, 50 %), як білу тверду речовину.

До перемішаної суміші 7-((4-аміно-3-йод-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6Н)-ону (2114) (1,05 г, 2,0 ммоль) і 3-гідроксифенілборної кислоти (0,33 г, 2,4 ммоль) у ДМФ-EtOH-H<sub>2</sub>O (3:1:1, 50 мл) додають Pd(OAc)<sub>2</sub> (0,14 г, 0,60 ммоль), PPh<sub>3</sub> (0,31 г, 1,2 ммоль) і Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,06 г, 10,0 ммоль). Отриману суміш дегазують і продувають аргонном тричі і потім перемішують при 80 °С 1 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, фільтрують через силікагель (5 г) і концентрують *in vacuo*. Залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-5 % MeOH/ДХМ), отримуючи бажаний продукт, 7-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6Н)-он (2115) (0,68 г, 69 %) як жовтувату тверду речовину. Потім продукт розчиняють у EtOH (5 мл) і перемішують під зворотним холодильником 30 хвил. Розчин залишають охолонути до кімнатної температури і тверду речовину збирають фільтрацією. Тверду речовину суспендують в етил ацетаті (5 мл) і перемішують при кімнатній температурі 16 год. Осад збирають фільтрацією і сушать *in vacuo*, отримуючи бажаний продукт, 7-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)метил)-4-метил-6-о-толіл-1,6-нафтиридин-5(6Н)-он (2115) (0,59 г, 60 %), як білу тверду речовину.

Приклад 9: 3-((4-аміно-3-(3-флуор-5-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-d]-піримідин-1-іл)метил)-  
8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2H)-он (Сполука 2208).

Схема 22. 3-((4-аміно-3-(3-флуор-5-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-*d*]-піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2Н)-он (Сполука 2208)





2-йод-6-метил-N-о-толілбензамід (2201) (1,8 г, 4,27 ммоль), приготовлений з реакції сполук 902 і 2-метил аніліну і алілтрибутилтину (2,10 г, 1,5 ммоль) розчиняють у безводному ДМФ (12 мл). Розчин дегазують і продувають аргонном (тричі). Додають  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (148 мг, 0,13 ммоль). Реакційну суміш дегазують і продувають аргонном (тричі) і потім перемішують при 0 °С 16 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури і розподіляють між етилацетатом і  $\text{H}_2\text{O}$ . Органічний шар промивають розсолон, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і залишок очищають колонною хроматографією на силікагелі, елюючи  $\text{EtOAc}$  і гексанами, і отримують бажаний продукт, 2-аліл-6-метил-N-о-толілбензамід (2202) (1,1 г, 95 %).

2-Аліл-6-метил-N-о-толілбензамід (2202) (800 мг, 3,01 ммоль) розчиняють у безводному ДХМ (20 мл). Додають mCPBA (70 %, 1,11 г, 4,52 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 24 год. Додають  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (1,0 г) і перемішують 1 год. Суміш розподіляють між  $\text{EtOAc}$  і водою. Органічний шар промивають розсолон, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і залишок очищають колонною хроматографією на силікагелі, елюючи  $\text{EtOAc}$  і гексанами, і отримують бажаний продукт, 2-метил-6-(оксиран-2-ілметил)-N-о-толілбензамід (2203) (660 мг, 83 %).

2-Метил-6-(оксиран-2-ілметил)-N-о-толілбензамід (2203) (860 мг, 3,06 ммоль) розчиняють у безводному ДМФ (15 мл) і охолоджують до 0 °С під аргонном. Додають порціями  $\text{NaNH}$  (60 % у мінеральному маслі, 245 мг, 6,12 ммоль) і отриману суміш перемішують при 0 °С 3 год. Повільно додають  $\text{H}_2\text{O}$  (30 мл) і суміш екстрагують  $\text{EtOAc}$  (3 × 25 мл). Об'єднані органічні шари промивають розсолон, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і залишок очищають колонною хроматографією на силікагелі, елюючи  $\text{EtOAc}$  і гексанами, і отримують бажаний продукт, 3-(гідроксиметил)-8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2H)-он (2204) (435 мг, 51 %).

3-(Гідроксиметил)-8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2H)-он (2204) (430 мг, 1,53 ммоль) розчиняють у безводному ДХМ (25 мл) і охолоджують до 0 °С під аргонном. Додають  $\text{PPh}_3$  (600 мг, 2,295 ммоль) і  $\text{CBr}_4$  (761 мг, 2,29 ммоль) і отриману суміш перемішують при від 0 °С до кімнатної температури протягом 16 год. Реакційну суміш розподіляють між  $\text{EtOAc}$  і водою. Органічний шар промивають розсолон, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo і залишок очищають колонною хроматографією на силікагелі, елюючи  $\text{EtOAc}$  і гексанами, і отримують бажаний продукт, 3-(бромметил)-8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2H)-он (2205) (480 мг, 91 %).

3-(Бромметил)-8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2H)-он (2205) (387 мг, 1,12 ммоль) і 3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-4-амін (108A) (440 мг, 1,69 ммоль) розчиняють у безводному ДМФ (20 мл). Додають  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (309 мг, 2,24 ммоль) і отриману суміш перемішують при 50 °С 3 год. Реакційну суміш розподіляють між  $\text{EtOAc}$  і водою. Органічний шар промивають розсолон,

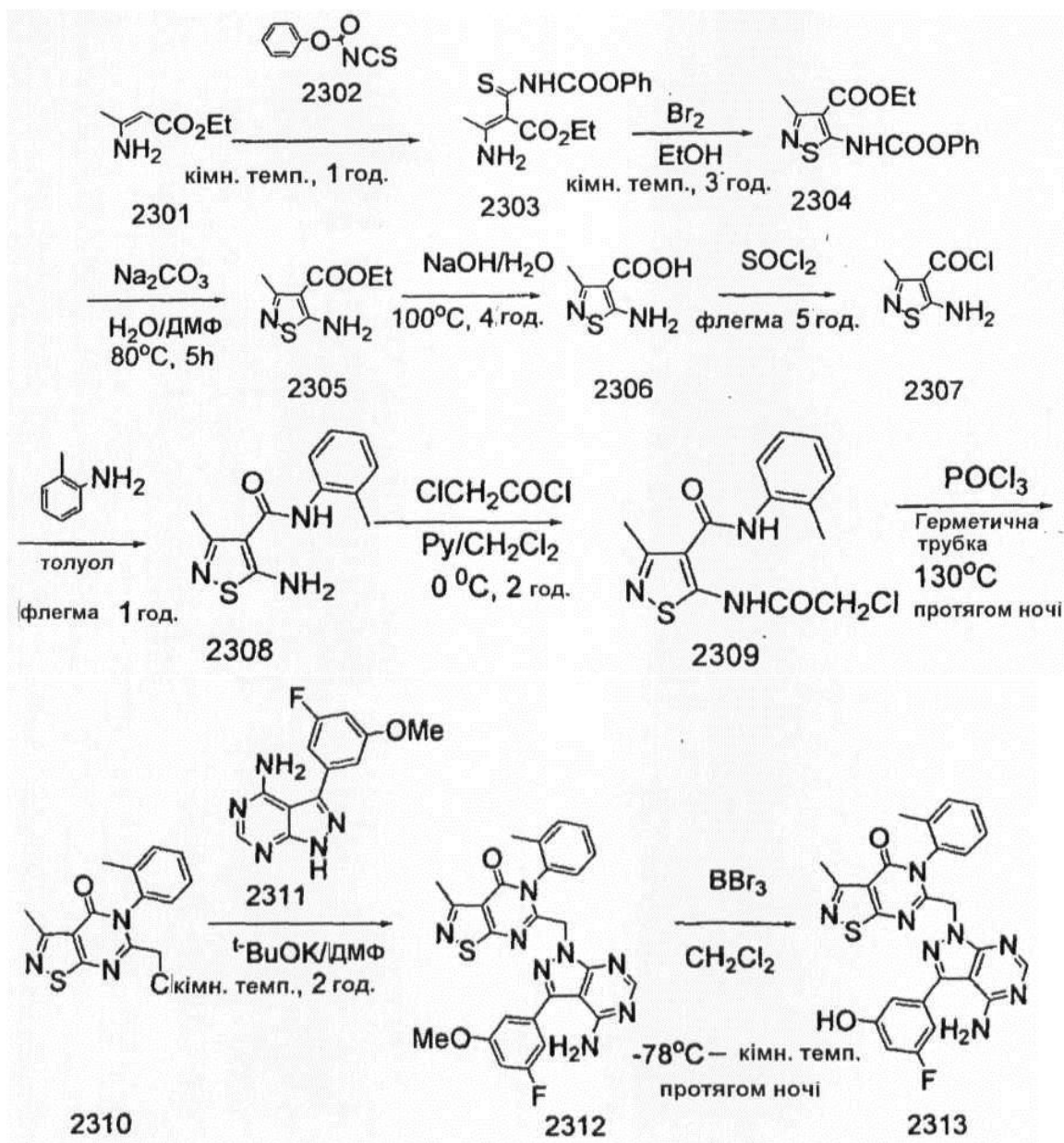


сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною хроматографією на силікагелі, елюючи метанолом і ДХМ і отримують бажаний продукт, 3-((4-аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2H)-он (2206) (100 мг, 17 %).

3-((4-Аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2H)-он (2206) (100 мг, 0,11 ммоль) і 3-флуор-5-гідроксифенілборну кислоту (2207) (36 мг, 0,23 ммоль) розчиняють у DME (4 мл). Розчин дегазують і продувають аргонем (тричі). Додають  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (6,4 мг, 5,5 мкмоль) і водний розчин  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1,0 М, 0,44 мл, 0,44 ммоль). Реакційну суміш дегазують і продувають аргонем (тричі) і потім перемішують при 80 °C 24 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури, розподіляють між етил ацетатом і розсолем, органічний шар сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрують і концентрують *in vacuo*. Залишок очищають колонною хроматографією на силікагелі, елюючи метанолом і ДХМ і отримуючи бажаний продукт, 3-((4-аміно-3-(3-флуор-5-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толіл-3,4-дигідроізохінолін-1(2H)-он (2208) (12 мг, 22 %).

Приклад 10: Синтез 6-((4-аміно-3-(3-флуор-5-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-3-метил-5-о-толілізотіазоло[5,4-d]піримідин-4(5H)-ону (Сполука 2313)

Схема 23. Синтез 6-((4-аміно-3-(3-флуор-5-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-3-метил-5-о-толілізотіазоло[5,4-d]піримідин-4(5H)-ону (Сполука 2313)



Розчин сполук 2302 (24,9 г, 0,19 моль) у  $\text{CH}_3\text{CN}$  (50 мл) додають до розчину сполуки 2301 (30 г, 0,19 моль) при 0 °С. Суміш перемішують 1 год. при кімнатній температурі і вливають у 500 мл води. Реакційну суміш залишають відстоюватись на 1 год. Тверду речовину осаджують з розчину, збирають фільтрацією, промивають водою і сушать, отримуючи бажану сполуку 2303 як червоно-оранжеву тверду речовину (50 г, 85,5 %).

До розчину сполуки 2303 (54 г, 0,175 моль) в етил ацетаті (200 мл) краплями додають розчин  $\text{Br}_2$  (56 г, 0,35 моль) в етил ацетаті (50 мл) при кімнатній температурі. Отриману суміш перемішують 3 год. при кімнатній температурі. Тверду речовину збирають фільтрацією, промивають етил ацетатом, отримуючи бажаний продукт, сполуку 2304 (40 г, 74,6 %).

Суміш сполуки 2304 (40 г, 0,13 моль) і насиченого розчину  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (10 мл) у ДМФ (100 мл) нагрівають 5 год. при 80 °С. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і додають 1 л води. Тверду речовину збирають фільтрацією і сушать, отримуючи бажаний продукт, сполуку 2305 (16 г, 66 %).

Суміш сполуки 2305 (16 г, 0,086 моль),  $\text{NaOH}$  (6,88 г, 0,172 моль) у вод (50 мл) нагрівають 4 год. під зворотним холодильником. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і підкислюють 1N  $\text{HCl}$  до  $\text{pH} = 3-4$ . Тверду речовину збирають фільтрацією і сушать, отримуючи бажаний продукт, сполуку 2306 (12 г, 88 %).

Суміш сполуки 2306 (1 г, 0,0063 моль) з  $\text{SOCl}_2$  (15 мл) перемішують 5 год. під зворотним холодильником, реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і концентрують для видалення надлишку  $\text{SOCl}_2$ . Додають безводний толуол (30 мл) і залишок концентрують. Цей процес повторюють двічі для видалення залишків  $\text{SOCl}_2$ .

Сиру сполуку 2307 розчиняють у сухому толуолі (5 мл). Додають 2-метиланілін (2 г, 0,0187 моль). Отриману суміш нагрівають 1 год. під зворотним холодильником, охолоджують до кімнатної температури і фільтрують. Фільтрат концентрують до сухості і розподіляють між етил ацетатом і розсоллом. Водну фазу екстрагують етил ацетатом. Об'єднані органічні фази промивають розсоллом, сушать з  $\text{MgSO}_4$  і фільтрують. Залишок очищають флеш-хроматографією, елюючи петроетером - етилацетатом від 50:1 до 5:1, і отримують бажаний продукт, сполуку 2308 (600 мг, 38,55 %).

Розчин сполуки 2308 (600 мг, 2,43 ммоль) і піридину (0,78 мл) у ДХМ (30 мл) перемішують 10 хвил. при 0 °С. Додають хлорацетил хлорид (423 мг, 3,74 ммоль). Реакційну суміш перемішують 2 год. і гасять водою. Органічну фаз відділяють і промивають водою і розсоллом, сушать, фільтрують і концентрують, отримуючи бажаний продукт, сполуку 2309 (700 мг, 89 %).

Суміш сполуки 2309 (600 мг, 1,85 ммоль) і  $\text{POCl}_3$  (10 мл) нагрівають протягом ночі при 120-130 °С (масляна ванна) у герметичній посудині. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і концентрують. Залишок розподіляють між етил ацетатом і водою і потім підлужують насиченим  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  до  $\text{pH} 7-8$ . Органічний шар відділяють, промивають розсоллом, сушать над  $\text{MgSO}_4$  і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією, елюючи петроетером в етил ацетаті (PE/EA=20/1) і отримуючи бажаний продукт, сполуку 2310 як жовтий порошок (300 мг, 53,0 %).

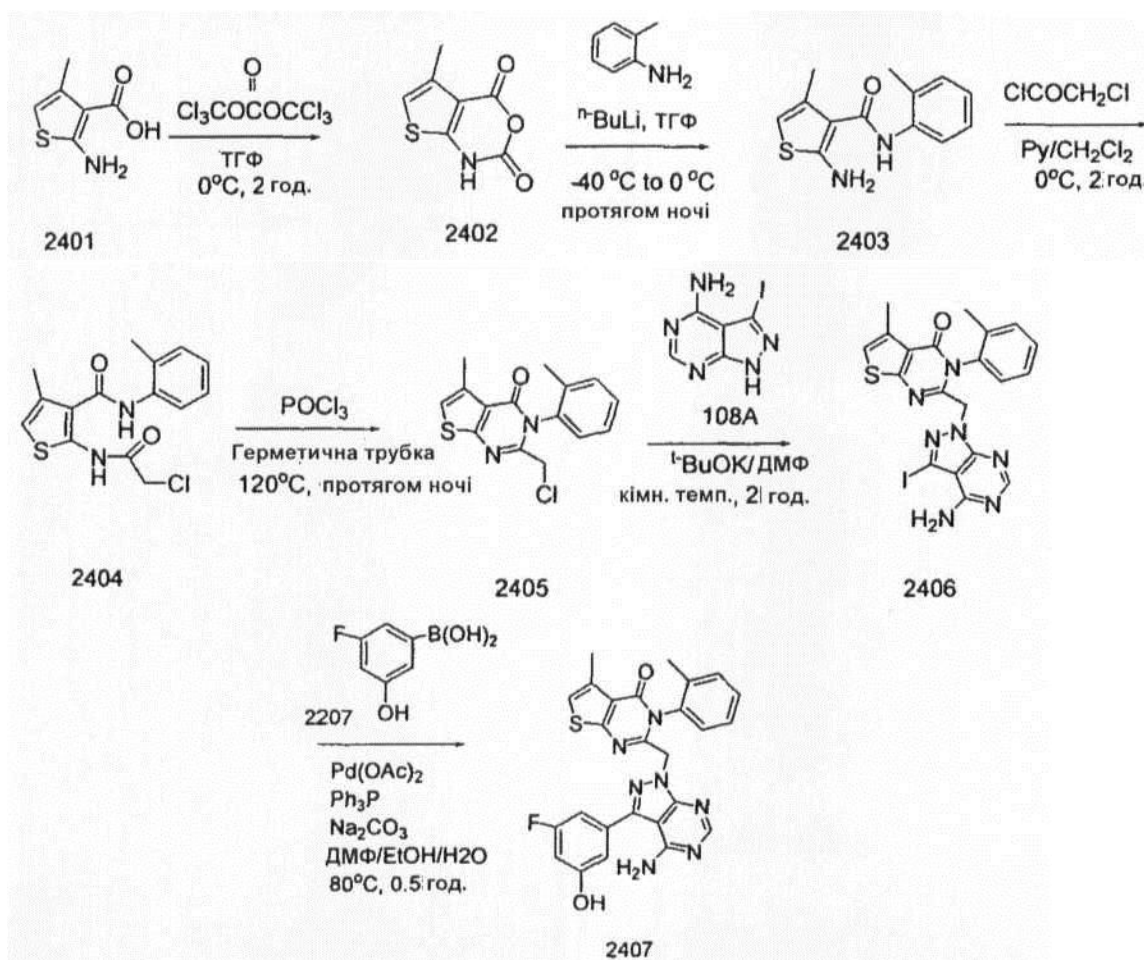
Трет-БуОК (28,7 мг, 0,256 ммоль) додають до розчину сполуки 2311 (76 мг, 0,295 ммоль) у сухому ДМФ (3 мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішують 30 хвил. і краплями додають розчин сполуки 2310 (60 мг, 0,196 ммоль) у ДМФ (2 мл). Отриману суміш перемішують 2 год. і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією, елюючи (ДХМ/MeOH=50/1) і отримуючи бажаний продукт 2312 як білувату тверду речовину (65 мг, 62,7 %).

До розчину сполуки 2312 (40 мг, 0,076 ммоль) у сухому ДХМ (10 мл) краплями додають  $\text{BBr}_3$  (190,4 мг, 0,76 ммоль) при -78 °С, потім реакційну суміш залишають нагрітись до кімнатної температури і перемішують протягом ночі. Реакційну суміш вливають у лід-воду, підлужують насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  до  $\text{pH} 8-9$  і екстрагують ДХМ. Об'єднані органічні фази сушать над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрують і концентрують. Залишок очищають флеш-хроматографією, елюючи ДХМ/MeOH = 30/1 і отримуючи бажаний продукт, сполуку 2313 (15 мг, 38,5 %).

Приклад 11: Синтез 2-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-с-толілтієно[2,3-d]піримідин-4(3H)-ону (Сполука 2407)



Схема 24. Синтез 2-((4-аміно-3-(3-гідроксифеніл)-1Н-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-с-толілтієно[2,3-d]піримідин-4(3H)-ону (Сполука 2407)



5

До перемішаного розчину 2-аміно-4-метилтієфен-3-карбонової кислоти (2401) (2,4 г, 15,2 ммоль) у ТГФ (50 мл) краплями повільно додають розчин трифосгену (9,0 г, 30 ммоль, 2 екв.) у ТГФ (10 мл) при  $0^\circ\text{C}$  протягом 20 хвил. Отриману суміш перемішують при  $0^\circ\text{C}$  2 год. Реакційну суміш гасять водою (20 мл) при  $0^\circ\text{C}$  і потім концентрують in vacuo для видалення органічного розчинника. Коричневу тверду речовину осаджують з розчину. Тверду речовину збирають фільтрацією, промивають водою (5 мл  $\times$  2) і сушать in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 5-метил-1Н-тієно[2,3-d][1,3]оксазин-2,4-діон (2402) (2,5 г, 89,3 %), як коричневу тверду речовину.

До перемішаного розчину о-толуїдину (1,4 г, 12,8 ммоль, 1,2 екв.) у сухому ТГФ (20 мл), краплями додають  $n\text{-BuLi}$  (2,5 N, 7,7 мл, 19,3 ммоль, 1,8 екв.) при  $-40^\circ\text{C}$  під аргоном протягом 30 хвил. Отриману суміш перемішують при  $-40^\circ\text{C}$  30 хвил. Краплями додають розчин 5-метил-1Н-тієно[2,3-d][1,3]оксазин-2,4-діону (2402) (1,95 г, 10,7 ммоль, 1 екв.) у сухому ТГФ (50 мл) при  $-40^\circ\text{C}$  протягом 20 хвил. Реакційну суміш перемішують при  $-40^\circ\text{C}$  1 год. і потім залишають нагрітись до кімнатної температури протягом ночі. Реакційну суміш гасять водою (20 мл) при  $0^\circ\text{C}$  і потім нейтралізують концентрованою  $\text{HCl}$  до pH 8-9. Суміш концентрують in vacuo для видалення органічного розчинника. Залишок екстрагують етил ацетатом (25 мл  $\times$  3). Об'єднані органічні фаз промивають розсолем (10 мл), сушать над  $\text{MgSO}_4$  і концентрують in vacuo. Отриманий залишок очищають силікагелевою колонною хроматографією з використанням 5 % - 20 % етил ацетату у петроетері як елюента, отримуючи бажаний продукт, 2-аміно-4-метил-N-о-толілтієфен-3-карбоксамід (2403), (0,74 г, 28,1 %) як жовту тверду речовину.

До перемішаного розчину 2-аміно-4-метил-N-о-толілтієфен-3-карбоксаміду (2403) (740 мг, 3 ммоль) і піридину (406,8 мг, 3,6 ммоль, 1,2 екв.) у сухому ДХМ (20 мл), краплями додають 2-хлорацетил хлорид (284,8 мг, 3,6 ммоль, 1,2 екв.) при  $0^\circ\text{C}$  протягом 30 хвил. Отриману суміш перемішують при  $0^\circ\text{C}$  2 год. Реакційну суміш гасять водою (20 мл) при  $0^\circ\text{C}$  і екстрагують ДХМ. Об'єднані органічні фази промивають 1N розчином  $\text{HCl}$  (10 мл), розсолем (10 мл), сушать над

MgSO<sub>4</sub> і концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт 2-(2-хлорацетамідо)-4-метил-N-о-толілтіофен-3-карбоксамід (2404) (950 мг, 98,1 %), як жовту тверду речовину.

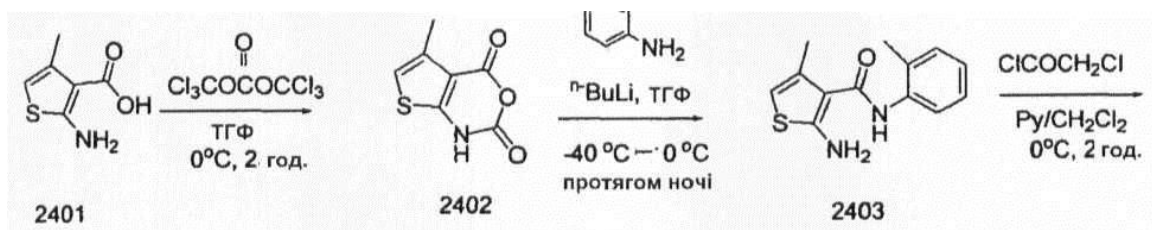
Суміш 2-(2-хлорацетамідо)-4-метил-N-о-толілтіофен-3-карбоксаміду (2404) (1,07 г, 3,32 ммоль) і POCl<sub>3</sub> (25 мл) перемішують протягом ночі у герметичній трубці при 120 °С. Реакційну суміш концентрують in vacuo для видалення надлишку POCl<sub>3</sub>. Залишок розподіляють між ДХМ (30 мл) і насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> (10 мл). Органічний шар відділяють і промивають насич. NaHCO<sub>3</sub> (10 мл), розсолон (10 мл), сушать над MgSO<sub>4</sub> і концентрують in vacuo. Отриманий залишок очищають силікагелевою колонною хроматографією, отримуючи бажаний продукт 2-(хлорметил)-5-метил-3-о-толілтієно[2,3-d]піримідин-4(3H)-он (2405) (760 мг, 75,2 %) як жовту тверду речовину.

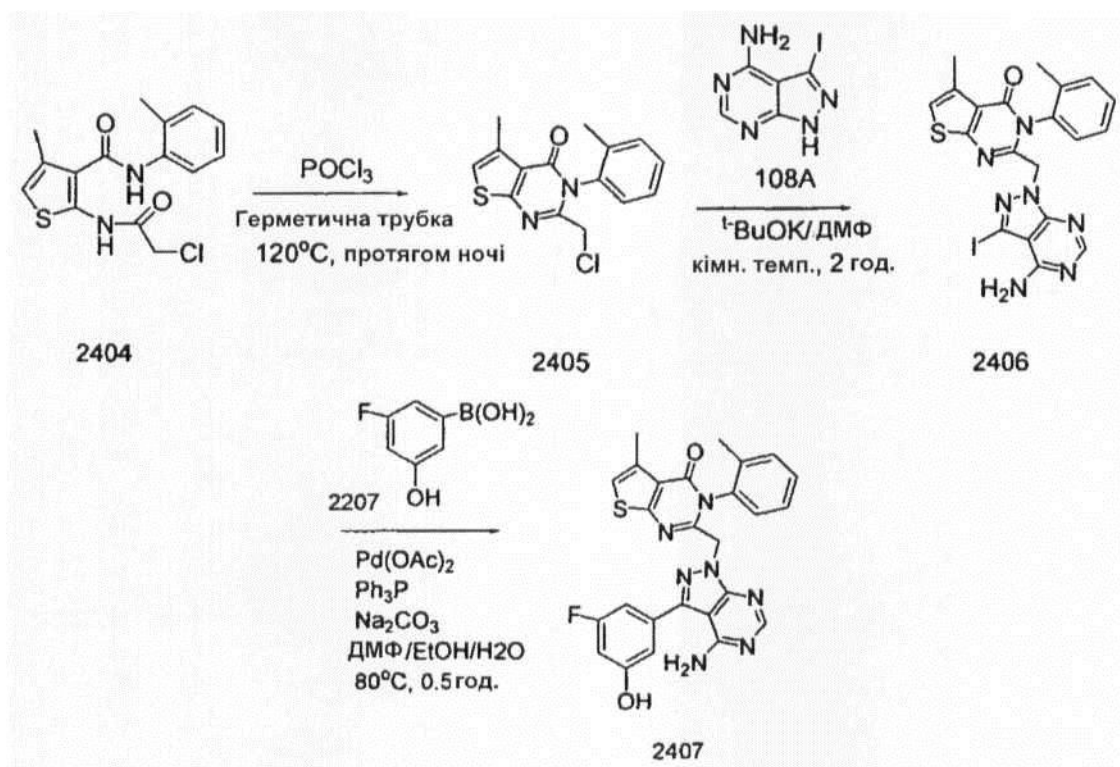
Розчин 3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-4-аміну (108A) (314,3 мг, 1,2 ммоль, 1,5 екв.) і t-BuOK (155 мг, 1,38 ммоль, 1,2 екв.) у ДМФ (10 мл) перемішують при кімнатній температурі 15 хвил., краплями додають розчин 2-(хлорметил)-5-метил-3-о-толілтієно[2,3-d] піримідин-4(3H)-ону (2405) (350 мг, 1,15 ммоль, 1 екв.) у ДМФ (35 мл) при кімнатній температурі. Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 2 год. Реакційну суміш концентрують in vacuo для видалення органічного розчинника. Отриманий залишок очищають силікагелевою колонною хроматографією, отримуючи бажаний продукт 2-((4-аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-о-толілтієно[2,3-d]піримідин-4(3H)-он (2406) (250 мг, 41,1 %) як жовту тверду речовину.

2-((4-аміно-3-йод-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-о-толілтієно[2,3-d]піримідин-4(3H)-он (2406) (50 мг, 0,092 ммоль), PPh<sub>3</sub> (14,5 мг, 0,056 ммоль, 0,6 екв.) і 3-флуор-5-гідроксифенілборну кислоту (2207) (17,2 мг, 0,11 ммоль, 1,2 екв.) розчиняють у розчині ДМФ, етанолу і води (5 мл/2 мл/2 мл). Додають Pd(OAc)<sub>2</sub> (4,14 мг, 0,018 ммоль, 0,2 екв.) і карбонат натрію (48,7 мг, 0,46 ммоль, 5 екв.). Отриману суміш дегазують і продувають аргонном тричі і потім нагрівають до 80 °С протягом 0,5 год. з перемішуванням. Реакційну суміш концентрують in vacuo для видалення органічного розчинника. Отриманий залишок очищають силікагелевою колонною хроматографією, отримуючи бажаний продукт, 2-((4-аміно-3-(3-флуор-5-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-5-метил-3-о-толілтієно[2,3-d]піримідин-4(3H)-он (2407) (22,8 мг, 48,2 %), як жовту тверду речовину.

Приклад 12: Синтез 8-метил-3-((метил(9H-пурин-6-іл)аміно)метил)-2-о-толіл-ізохінолін-1(2H)-ону

Схема 25: Синтез 8-метил-3-((метил(9H-пурин-6-іл)аміно)метил)-2-о-толіл-ізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 4004)





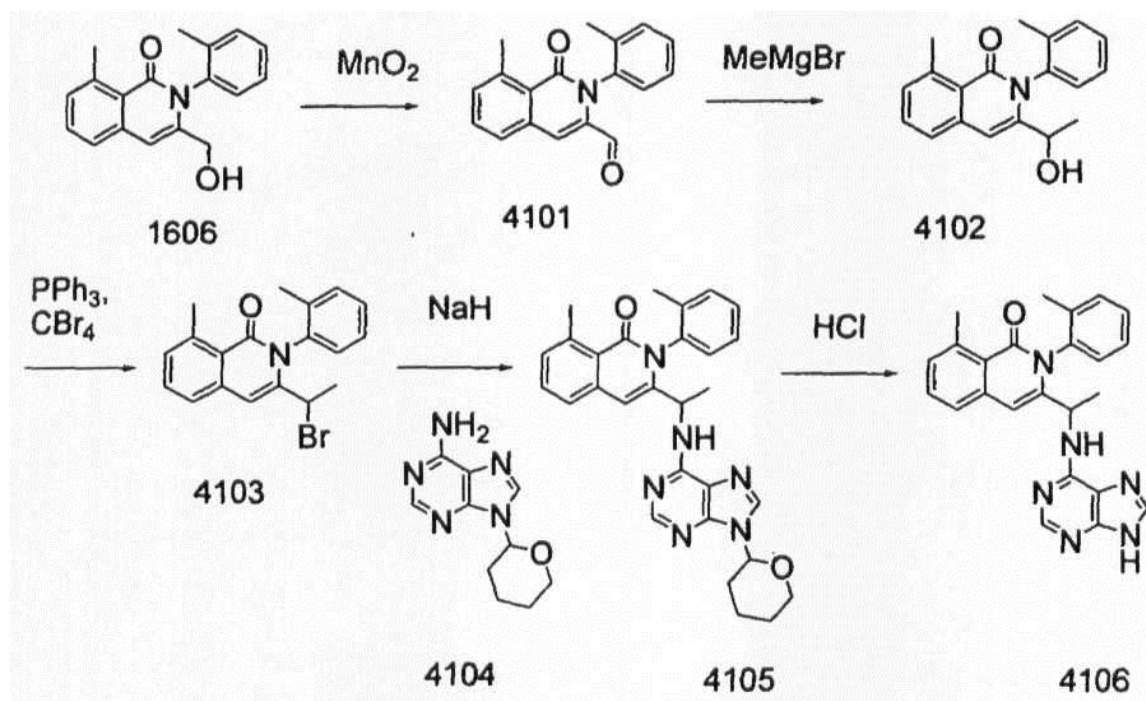
3-(бромметил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (342 мг, 1,0 ммоль) (1607) розчиняють у метиламіні (100 мл) і перемішують 2 год. Суміш вливають у лід-воду (200 мл) і екстрагують етил ацетатом (3 × 50 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолем (20 мл), сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрують. Фільтрат концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 8-метил-3-((метиламіно)метил)-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (4001) (250 мг, 86 %), як жовту тверду речовину. Продукт використовують без очищення.

8-метил-3-((метиламіно)метил)-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (233 мг, 0,8 ммоль) (4001) і 6-хлор-9-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-9H-пурин (4002) (238 мг, 1,0 ммоль) розчиняють у EtOH (50 мл) і отриману суміш перемішують під зворотним холодильником 2 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури і концентрують in vacuo. Залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (2-20 % MeOH/ДХМ), отримуючи продукт, 8-метил-3-((метил(9-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-9H-пурин-6-іл)аміно)метил)-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (4003) (200 мг, 51 %) як жовтувату тверду речовину.

8-метил-3-((метил(9-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-9H-пурин-6-іл)аміно)метил)-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (4003) (180 мг 0,36 ммоль) розчиняють у MeOH (HCL) (50 мл) і суміш перемішують при кімнатній температурі 2 год. Додають водний розчин NaHCO<sub>3</sub> і pH доводять до 9. Суміш фільтрують і фільтрат концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 8-метил-3-((метил(9H-пурин-6-іл)аміно)метил)-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он (4004) (80 мг, 54 %), як жовту тверду речовину.

Приклад 13: Синтез 3-(1-(9H-пурин-6-іламіно)етил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-ону

Схема 26: Синтез 3-(1-(9H-пурин-6-іламіно)етил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-ону (Сполука 4106)



5

До перемішаного розчину 3-(гідроксиметил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-ону 1606 (2,79 г, 10 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 мл) додають  $\text{MnO}_2$  (5 г) і отриману суміш перемішують під зворотним холодильником 3 год. Суміш залишають охолонути до кімнатної температури і концентрують *in vacuo*. Залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (10-50 % EA/PE), отримуючи продукт, 8-метил-1-оксо-2-о-толіл-1,2-дигідроізохінолін-3-карбальдегід 4101 (2,5 г, 90 %), як білу тверду речовину.

10

8-метил-1-оксо-2-о-толіл-1,2-дигідроізохінолін-3-карбальдегід 4101 (2,4 г, 8,6 ммоль) розчиняють у безводному ТГФ (280 мл) і охолоджують до  $-78^\circ\text{C}$  під нітрогеном. Повільно додають метил  $\text{MgBr}$  (2 М, 5 мл, 10 ммоль) і отриману суміш перемішують при  $-78^\circ\text{C}$  2 год. Додають  $\text{H}_2\text{O}$  (5 мл) і потім розчин вливають у лід-воду (200 мл) і екстрагують етил ацетатом (3  $\times$  50 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолон, сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (10-50 % EA/PE), отримуючи продукт, 3-(1-гідроксіетил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он 4102 (1,8 г, 71 %) як білу тверду речовину.

15

До розчину 3-(1-гідроксиетил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-ону 4102 (1,6 г, 5,5 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  додають  $\text{PPh}_3$  (2,88 г, 11,0 ммоль) і отриману суміш перемішують при кімнатній температурі 30 хвил. Потім додають  $\text{CBr}_4$  (3,64 г, 11,0 ммоль) при  $0^\circ\text{C}$ . Отриману суміш залишають нагрітись до кімнатної температури, перемішують 30 хвил. і концентрують *in vacuo*. Сирий продукт очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (30-50 % EA/PE), отримуючи бажаний продукт, 3-(1-брометил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он 4103 (1,8 г, 91 %) як білу тверду речовину.

20

До перемішаного розчину 9-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-9H-пурин-6-аміну 4103 (436 мг 2 ммоль) у безводному ДМФ (10 мл) додають  $\text{NaH}$  (60 % у мінеральному маслі, 77 мг, 2 ммоль) і суміш перемішують 30 хвил. Додають 3-(1-брометил)-8-метил-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он 4104 (700 мг, 2 ммоль). Суміш перемішують 2 год., вливають у лід-воду (200 мл) і екстрагують етил ацетатом (3  $\times$  50 мл). Об'єднаний органічний шар промивають розсолон (20 мл), сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і фільтрують. Фільтрат концентрують *in vacuo* і залишок очищають колонною флеш-хроматографією на силікагелі (10-50 % MeOH/ДХМ), отримуючи продукт, 8-метил-3-(1-(9-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-9H-пурин-6-іламіно)етил)-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он 4105 (500 мг, 51 %), як білу тверду речовину.

25

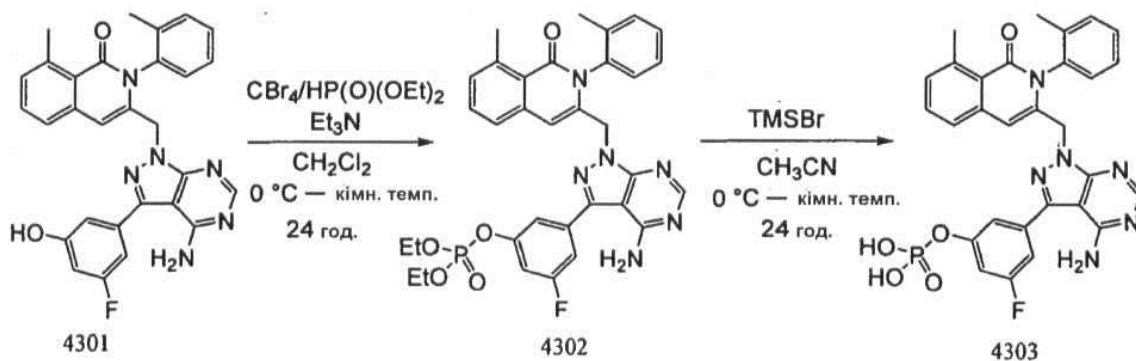
35

8-метил-3-(1-(9-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-9H-пурин-6-іламіно)етил)-2-о-толілізохінолін-1(2H)-он 4105 (180 мг, 0,36 ммоль) розчиняють у MeOH ( $\text{HCl}$ ) (50 мл) і перемішують 2 год. Додають водний розчин  $\text{NaHCO}_3$  і pH доводять до 9. Суміш фільтрують і фільтрат концентрують

in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 3-(1-(9H-пурин-6-іламіно)етил)-8-метил-2-о-толлізохінолін-1(2H)-он 4106 (80 мг, 54 %), як жовту тверду речовину.

Приклад 14: Синтез 3-(4-аміно-1-((8-метил-1-оксо-2-о-толліл-1,2-дигідроізохінолін-3-іл)метил)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-3-іл)-5-флуорфеніл дигідроген фосфату

5 Схема 27. Синтез 3-(4-аміно-1-((8-метил-1-оксо-2-о-толліл-1,2-дигідроізохінолін-3-іл)метил)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-3-іл)-5-флуорфеніл дигідроген фосфату (Сполук 4903)



10 3-((4-аміно-3-(3-флуор-5-гідроксифеніл)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)метил)-8-метил-2-о-толлізохінолін-1(2H)-он 4301 (250 мг, 0,5 ммоль) розчиняють у безводному ТГФ (15 мл) у круглодонній колбі у темряві (закритій алюмінієвою фольгою) і охолоджують до 0 °C під аргонном. Додають CBr<sub>4</sub> (498 мг, 1,5 ммоль) і потім діетилфосфіт (129 мкл, 1,0 ммоль) і тріетиламін (417 мкл, 1,5 ммоль). Отриману суміш перемішують у темряві при температурі від

15 0 °C до кімнатної протягом 16 год. Суміш розподіляють між етил ацетатом і розсолон. Органічний шар сушать над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрують і концентрують in vacuo. Залишок очищають колонною хроматографією на силікагелі, елюючи метанолом і ДХМ і отримуючи бажаний продукт,

20 3-(4-аміно-1-((8-метил-1-оксо-2-о-толліл-1,2-дигідроізохінолін-3-іл)метил)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-3-іл)-5-флуорфеніл діетил фосфат 4302 (200 мг, 62 %), як білувату

тверду речовину. 3-(4-аміно-1-((8-метил-1-оксо-2-о-толліл-1,2-дигідроізохінолін-3-іл)метил)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-3-іл)-5-флуорфеніл діетил фосфат 4302 (170 мг, 0,26 ммоль) розчиняють у безводному CH<sub>3</sub>CN (5 мл) і охолоджують до 0 °C під аргонном. Повільно шприцом додають TMSBr (0,34 мл, 2,64 ммоль) і отриману суміш перемішують при температурі від 0 °C до кімнатної 16 год. Якщо РХ-МС показує невелику кількість вихідного матеріал, додають ще TMSBr (0,1 мл) і перемішують при кімнатній температурі 5 год. Рх-МС покаже повне перетворення.

25 Суміш концентрують in vacuo і залишок розчиняють у Et<sub>2</sub>O (10 мл) і H<sub>2</sub>O (0,5 мл) і перемішують 30 хвил., потім концентрують in vacuo, отримуючи бажаний продукт, 3-(4-аміно-1-((8-метил-1-оксо-2-о-толліл-1,2-дигідроізохінолін-3-іл)метил)-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-3-іл)-5-флуорфеніл дигідроген фосфат 4903 (140 мг, 91 %).

30 Приклад 15: ІК<sub>50</sub> для вибраних сполук

Таблиця 4

IK<sub>50</sub> для вибраних сполук In vitro

IK50 (нМ)	+ (більше 10 нМ)	++ (менше 10 нМ)	+++ (менше 1 нМ)	++++ (менше 100 нМ)
РІЗК5	Сполука No.	Сполука No.	Сполука No.	Сполука No.
		1, 5, 22, 27, 38, 39, 40, 41, 46, 92, 117, 118, 120, 129, 132, 164, 165, 172, 188, 190, 197, 198, 205, 208, 210, 212, 214, 217, 218, 220, 222, 237, 263, 285, 294, 298	4, 14, 15, 17, 18, 21, 26, 29, 31, 32, 34, 35, 36, 42, 43, 44, 45, 47, 49, 57, 69, 71, 85, 87, 94, 106, 107, 140, 143, 175, 179, 183, 184, 191, 193, 196, 199, 200, 201, 202, 206, 207, 211, 213, 215, 219, 224, 225, 228, 229, 230, 232, 233, 239, 241, 243, 245, 253, 254, 255, 260, 262, 270, 293, 299	2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 19, 20, 23, 24, 25, 28, 30, 33, 37, 48, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 70, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 86, 88, 89, 90, 91, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 119, 123, 124, 125, 126, 128, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 141, 142, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 173, 174, 176, 177, 178, 180, 189, 192, 194, 195, 203, 204, 209, 216, 221, 223, 226, 227, 231, 234, 235, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 256, 257, 258, 259, 261, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 286, 287, 288,

Таблиця 4

IK<sub>50</sub> для вибраних сполук In vitro

IK50 (нМ)	+ (більше 10 мМ)	++ (менше 10 мМ)	+++ (менше 1 мМ)	++++ (менше 100 нМ)
				289, 290, 291, 292, 295, 296, 297, 300, 301, 302, 303, 304
PI3K $\gamma$	Сполука № 1, 4, 5, 18, 38, 43, 60, 69, 169, 172, 196, 197, 198, 200, 201, 202, 204, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 225, 228, 230, 236, 237, 239, 245, 266, 285, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304	Сполука № 17, 34, 35, 37, 38, 40, 42, 57, 61, 65, 91, 92, 94, 105, 107, 140, 164, 170, 175, 179, 184, 188, 190, 191, 193, 199, 203, 216, 224, 229, 232, 235, 241, 243, 244, 251, 253, 254, 255, 263, 264, 268, 270, 272, 276, 282, 287	Сполука № 2, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 20, 22, 27, 28, 39, 41, 46, 47, 49, 51, 55, 58, 66, 70, 71, 73, 76, 78, 80, 93, 98, 99, 100, 103, 104, 106, 108, 109, 161, 162, 163, 165, 166, 180, 192, 205, 226, 227, 231, 233, 240, 242, 249, 250, 252, 256, 257, 259, 262, 265, 273, 274, 275, 278, 280, 286, 288, 291	Сполука № 3, 6, 7, 12, 13, 16, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 29, 30, 31, 33, 36, 44, 45, 48, 50, 52, 53, 54, 56, 59, 62, 63, 64, 67, 68, 72, 74, 75, 77, 79, 81, 82, 83, 84, 86, 87, 88, 89, 90, 95, 96, 97, 101, 102, 142, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 160, 167, 168, 171, 173, 174, 176, 177, 178, 183, 189, 194, 195, 234, 238, 246, 247, 248, 258, 260, 261, 267, 269, 271, 277, 279, 281, 283, 284, 289, 290, 292
PI3K $\alpha$	Сполука № 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 64, 65, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 79, 80, 81,	Сполука № 3, 7, 63, 66, 84, 86, 89, 90, 97, 108, 113, 115, 152, 168, 171, 173, 189, 194, 296	Сполука № 53, 95, 101, 102, 145, 147, 149, 151, 177	Сполука № 142, 148, 150, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 176

Таблиця 4

IK<sub>50</sub> для вибраних сполук In vitro

IK50 (нМ)	+ (більше 10 мМ)	++ (менше 10 мМ)	+++ (менше 1 мМ)	++++ (менше 100 нМ)
	82, 83, 85, 87, 88, 91, 93, 96, 98, 99, 100, 103, 104, 105, 106, 107, 109, 110, 111, 112, 114, 140, 146, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 169, 170, 172, 174, 175, 179, 180, 183, 184, 188, 190, 191, 192, 193, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304			



Таблиця 4

IK<sub>50</sub> для вибраних сполук In vitro

IK <sub>50</sub> (нМ)	+ (більше 10 мМ)	++ (менше 10 мМ)	+++ (менше 1 мМ)	++++ (менше 100 нМ)
РІЗК β	Сполука №	Сполука №	Сполука №	Сполука №
	8, 9, 10, 11, 14, 21, 22, 24, 26, 27, 28,	3, 12, 13, 23, 25, 53, 55, 58, 61, 63, 65,	7, 62, 66, 82, 89, 90, 95, 97, 100, 102,	101, 142, 155, 156, 157
	29, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 52, 54, 56, 57, 59, 60, 64, 68, 69, 70, 73, 76, 78, 79, 80, 87, 88, 91, 93, 98, 103, 104, 105, 107, 109, 112, 140, 146, 152, 162, 163, 164, 165, 166, 169, 170, 172, 175, 179, 180, 183, 184, 188, 190, 191, 192, 193, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 268, 270, 272, 273, 274, 276, 280, 285, 287, 293, 294, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304	67, 71, 72, 74, 75, 77, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 96, 99, 106, 108, 110, 111, 113, 114, 115, 145, 147, 149, 151, 154, 158, 160, 161, 167, 168, 171, 173, 174, 177, 178, 194, 195, 267, 269, 271, 275, 277, 278, 279, 281, 282, 283, 284, 286, 288, 290, 291, 295, 297	150, 153, 159, 176, 189, 289, 292, 296	

Таблиця 4

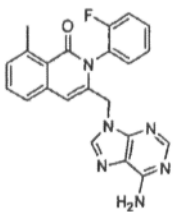
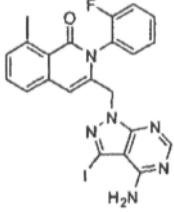
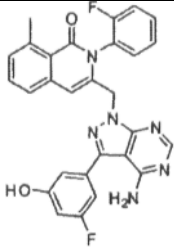
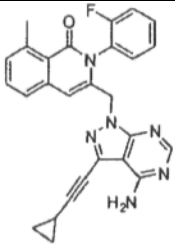
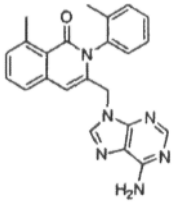
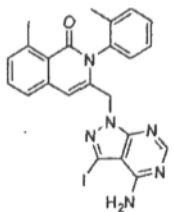
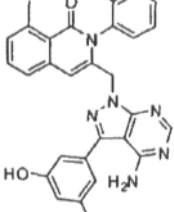
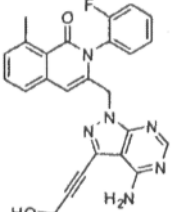
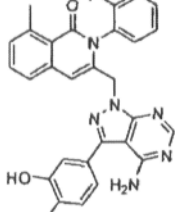
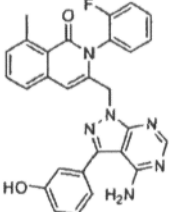
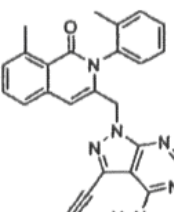
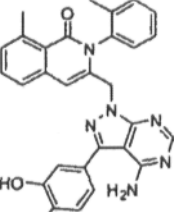
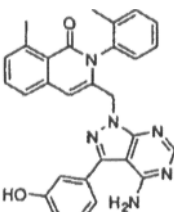
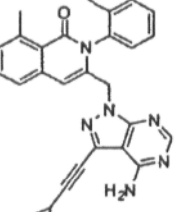
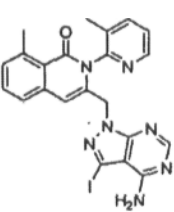
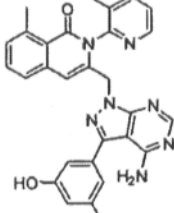
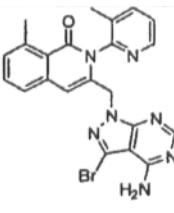
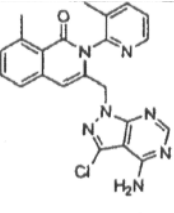
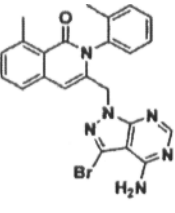
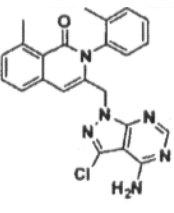
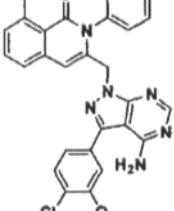
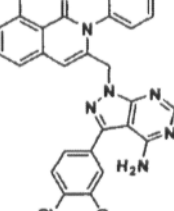
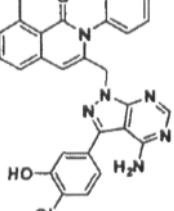
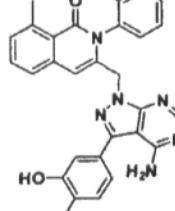
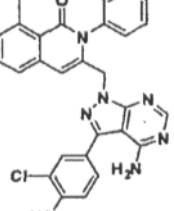
IK<sub>50</sub> для вибраних сполук In vitro

IK <sub>50</sub> (нМ)	+ (більше 10 мМ)	++ (менше 10 мМ)	+++ (менше 1 мМ)	++++ (менше 100 нМ)
Проліферація В-клітин IK <sub>50</sub> (нМ)	Сполука № 38, 162, 205, 228, 229	Сполука № 1, 2, 5, 22, 26, 27, 39, 40, 43, 49, 57, 71, 87, 112, 200, 201, 202, 208, 209,	Сполука № 4, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 18, 19, 20, 21, 24, 25, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36,	Сполука № 3, 6, 7, 12, 13, 16, 17, 23, 33, 37, 44, 48, 53, 54, 55, 62, 63, 66, 67, 68, 72,
		210, 211, 212, 213, 214, 215, 217, 218, 219, 220, 222, 223, 232, 233, 237, 262, 263, 293	41, 42, 45, 46, 47, 50, 51, 61, 69, 70, 76, 77, 78, 79, 80, 85, 86, 91, 98, 100, 103, 104, 105, 106, 107, 110, 111, 114, 119, 124, 133, 135, 145, 152, 161, 162, 163, 169, 203, 204, 206, 207, 216, 221, 224, 225, 226, 230, 243, 245, 246, 251, 252, 253, 254, 256, 257, 260, 261, 264, 265, 272, 276, 287, 288	73, 74, 75, 81, 82, 83, 84, 88, 89, 90, 93, 95, 96, 97, 99, 101, 102, 108, 109, 113, 115, 123, 125, 126, 128, 134, 136, 137, 138, 139, 141, 142, 144, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 166, 167, 168, 170, 171, 173, 174, 176, 177, 178, 180, 189, 192, 194, 195, 199, 227, 231, 234, 235, 236, 238, 242, 244, 247, 248, 249, 250, 255, 258, 259, 266, 268, 271, 275, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 286, 289, 290, 291, 292, 295, 296, 297

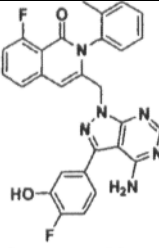
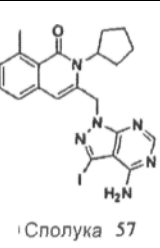
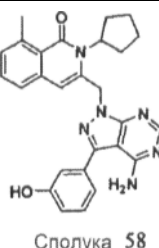
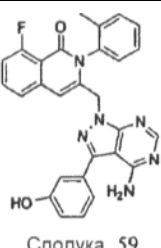
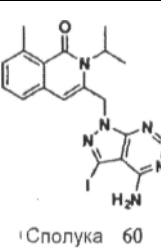
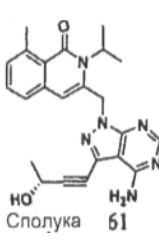
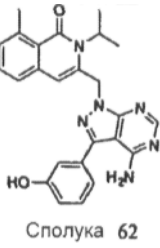
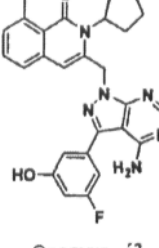
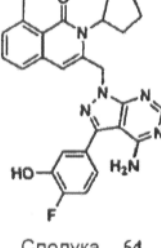
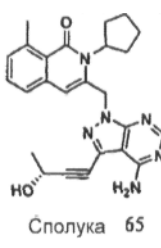
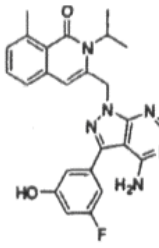
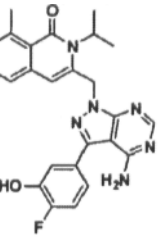
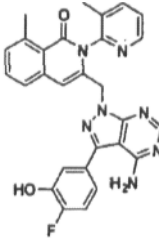
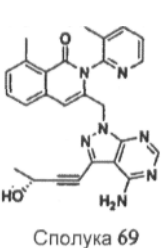
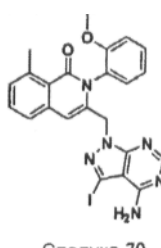
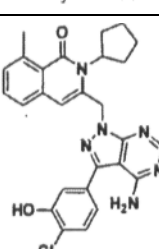
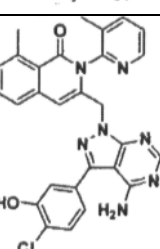
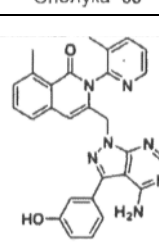
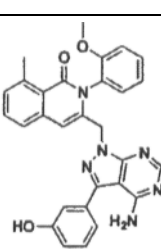
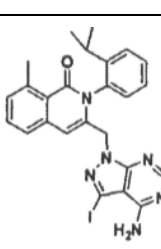
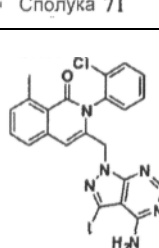
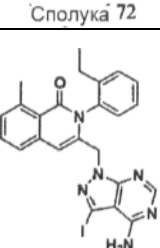
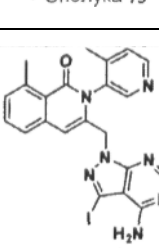
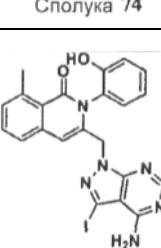
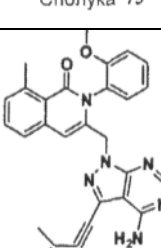
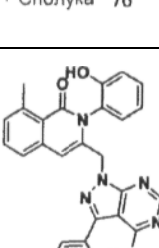
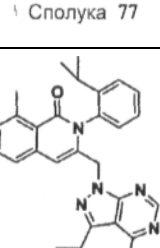
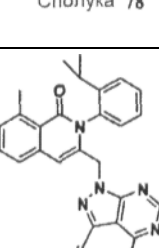
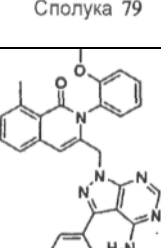
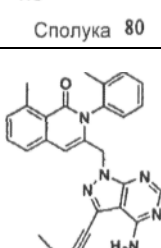
>

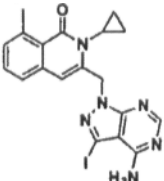
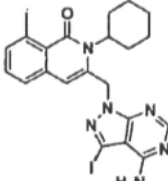
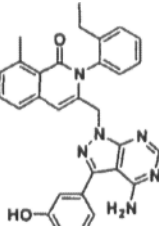
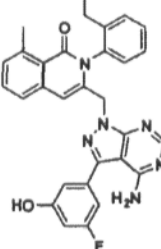
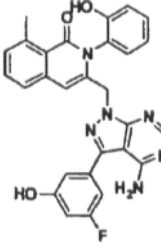
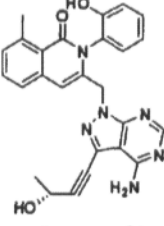
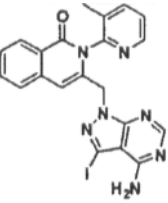
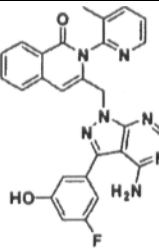
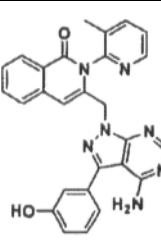
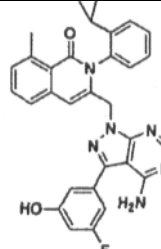
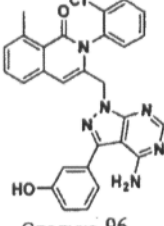
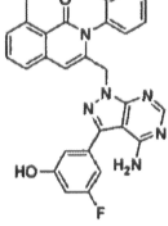
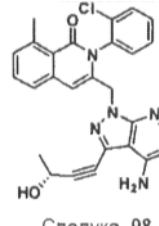
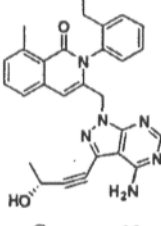
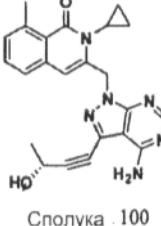
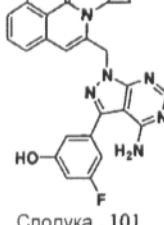
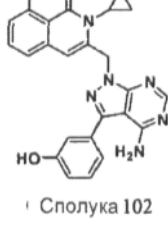
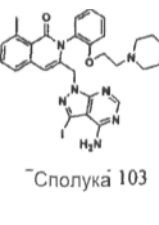
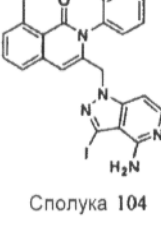
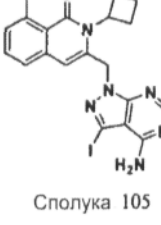
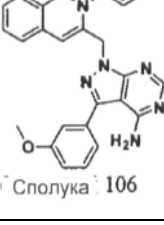
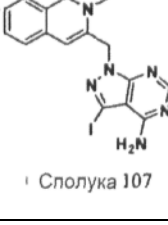
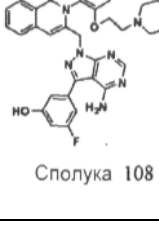
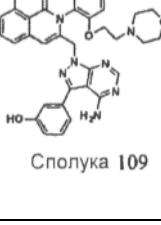
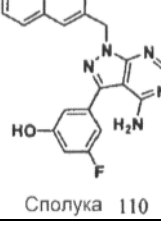
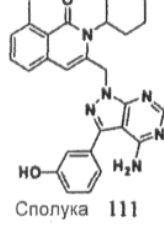
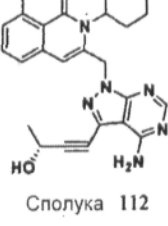
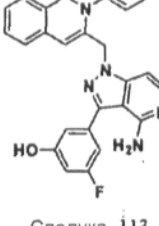
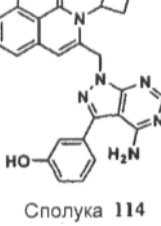
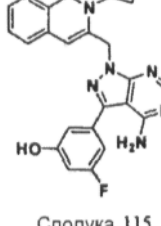
Таблиця 5

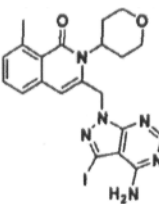
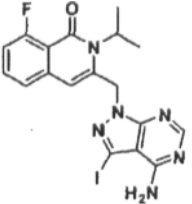
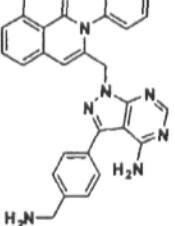
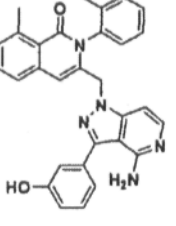
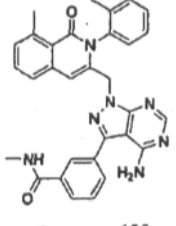
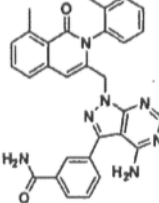
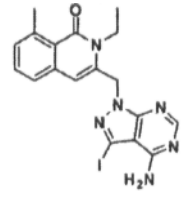
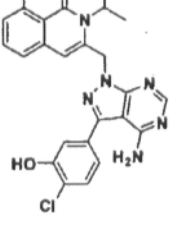
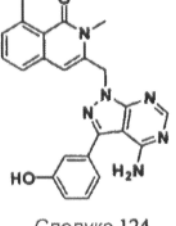
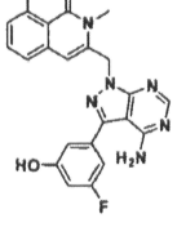
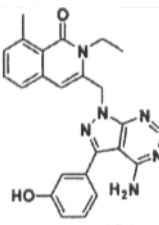
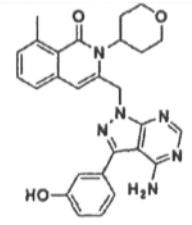
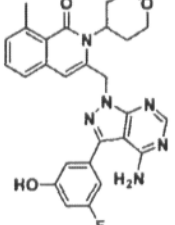
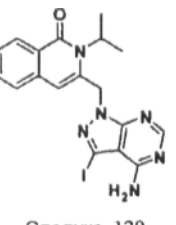
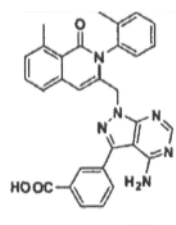
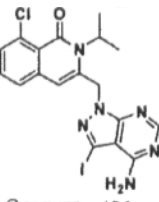
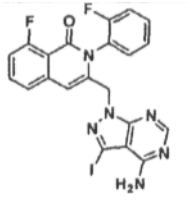
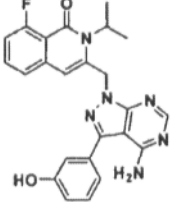
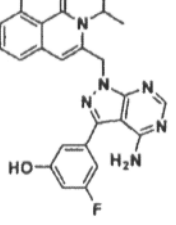
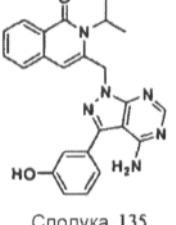
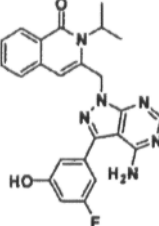
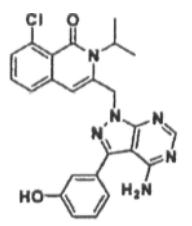
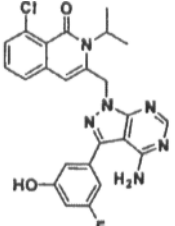
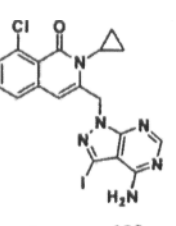
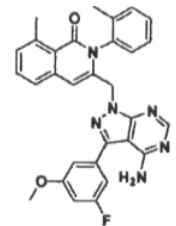
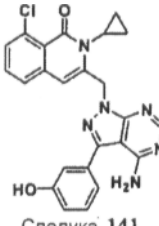
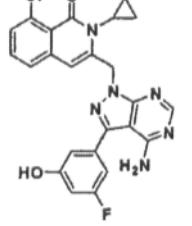
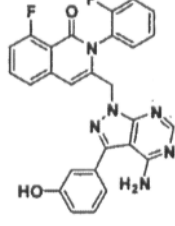
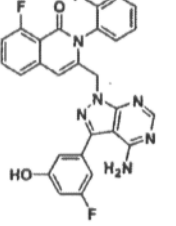
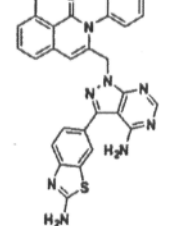
Структури Сполук, відповідних результатам  $IK_{50}$ , наведених у Табл. 4.

Структура				
 Сполука 1	 Сполука 2	 Сполука 3	 Сполука 4	 Сполука 5
 Сполука 6	 Сполука 7	 Сполука 8	 Сполука 9	 Сполука 10
Структура				
 Сполука 11	 Сполука 12	 Сполука 13	 Сполука 4	 Сполука 15
 Сполука 16	 Сполука 17	 Сполука 18	 Сполука 19	 Сполука 20
 Сполука 21	 Сполука 22	 Сполука 23	 Сполука 24	 Сполука 25

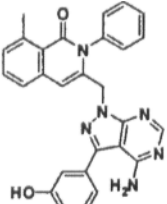
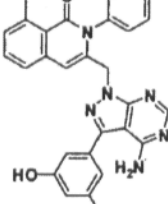
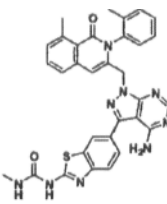
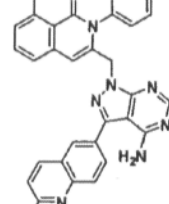
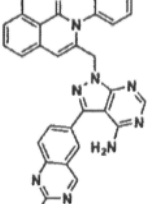
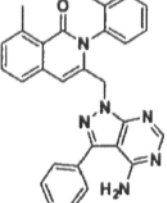
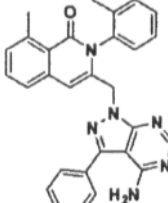
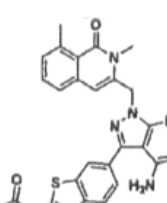
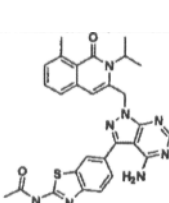
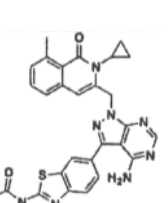
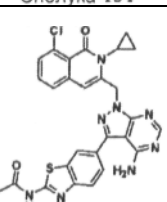
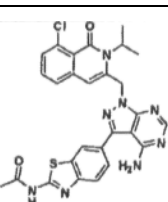
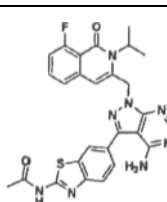
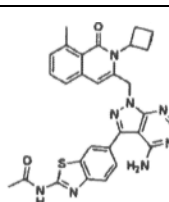
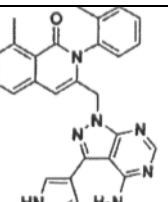
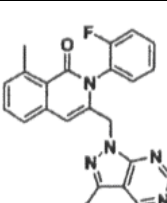
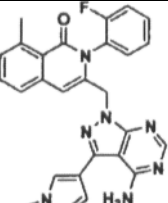
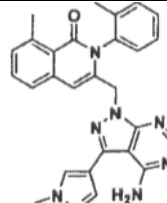
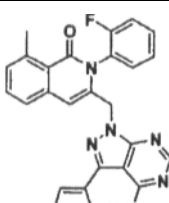
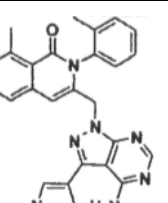
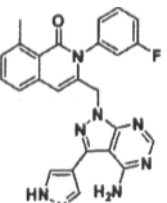
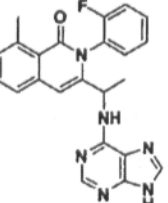
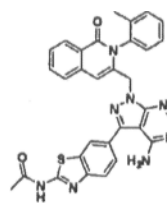
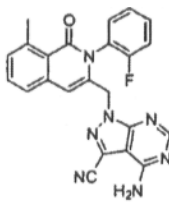
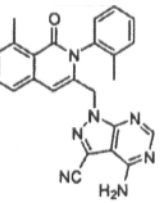
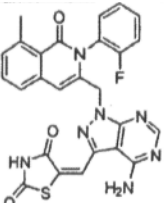
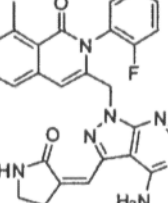
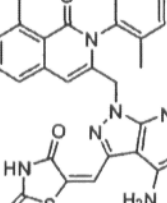
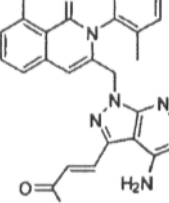
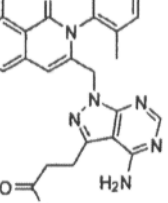
Сполука 26	Сполука 27	Сполука 28	Сполука 29	Сполука 30
Сполука 31	Сполука 32	Сполука 33	Сполука 34	Сполука 35
Структура				
Сполука 36	Сполука 37	Сполука 38	Сполука 39	Сполука 40
Сполука 41	Сполука 42	Сполука 43	Сполука 44	Сполука 45
Сполука 46	Сполука 47	Сполука 48	Сполука 49	Сполука 50
Сполука 51	Сполука 52	Сполука 53	Сполука 54	Сполука 55

 Сполука 56	 Сполука 57	 Сполука 58	 Сполука 59	 Сполука 60
Структура				
 Сполука 61	 Сполука 62	 Сполука 63	 Сполука 64	 Сполука 65
 Сполука 66	 Сполука 67	 Сполука 68	 Сполука 69	 Сполука 70
 Сполука 71	 Сполука 72	 Сполука 73	 Сполука 74	 Сполука 75
 Сполука 76	 Сполука 77	 Сполука 78	 Сполука 79	 Сполука 80
 Сполука 81	 Сполука 82	 Сполука 83	 Сполука 84	 Сполука 85

Структура				
 Сполука 86	 Сполука 87	 Сполука 88	 Сполука 89	 Сполука 90
 Сполука 91	 Сполука 92	 Сполука 93	 Сполука 94	 Сполука 95
 Сполука 96	 Сполука 97	 Сполука 98	 Сполука 99	 Сполука 100
 Сполука 101	 Сполука 102	 Сполука 103	 Сполука 104	 Сполука 105
 Сполука 106	 Сполука 107	 Сполука 108	 Сполука 109	 Сполука 110
Структура				
 Сполука 111	 Сполука 112	 Сполука 113	 Сполука 114	 Сполука 115

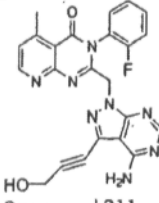
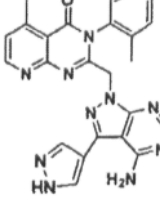
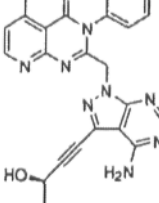
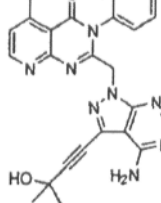
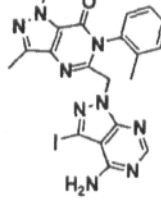
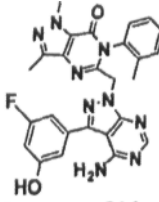
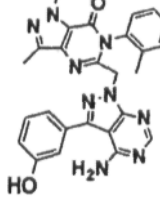
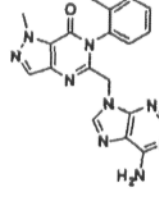
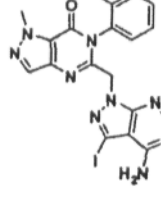
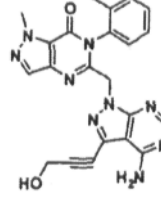
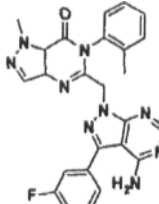
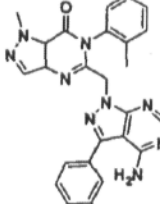
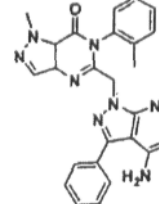
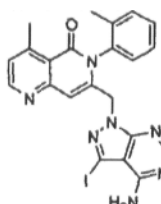
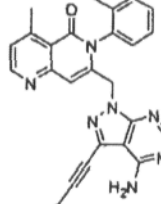
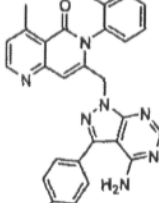
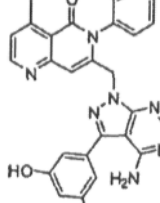
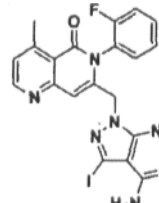
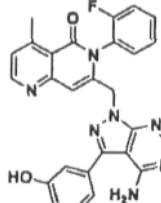
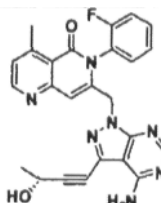
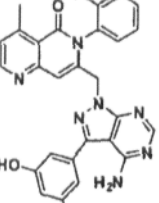
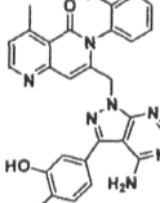
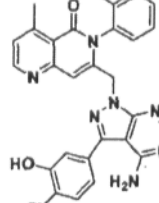
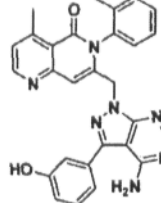
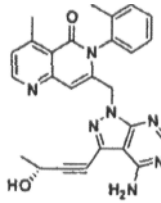
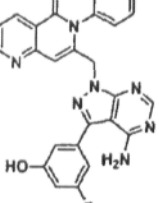
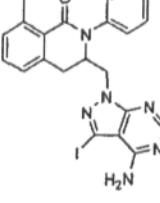
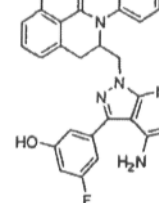
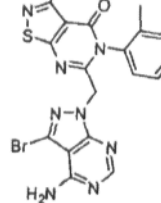
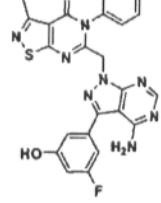
 Сполука 116	 Сполука 117	 Сполука 118	 Сполука 119	 Сполука 120
 Сполука 121	 Сполука 122	 Сполука 123	 Сполука 124	 Сполука 125
 Сполука 126	 Сполука 127	 Сполука 128	 Сполука 129	 Сполука 130
 Сполука 131	 Сполука 132	 Сполука 133	 Сполука 134	 Сполука 135
Структура				
 Сполука 136	 Сполука 137	 Сполука 138	 Сполука 139	 Сполука 140
 Сполука 141	 Сполука 142	 Сполука 143	 Сполука 144	 Сполука 145

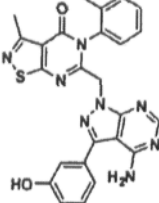
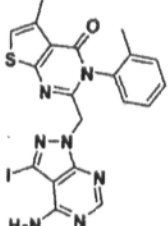
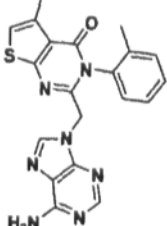
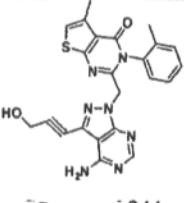
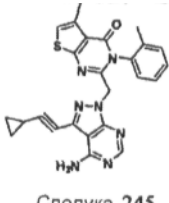
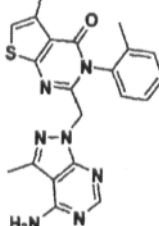
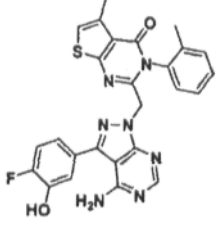
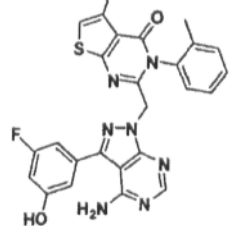
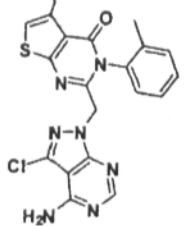
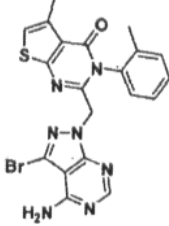
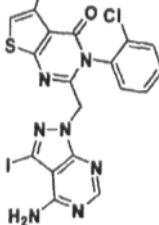
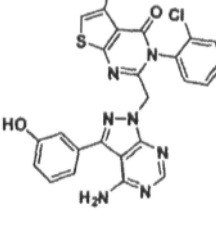
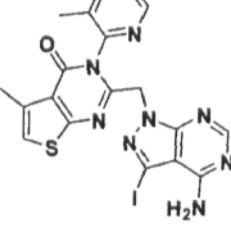
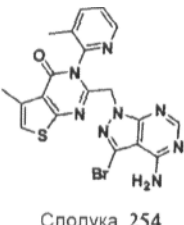
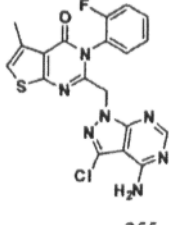
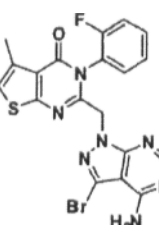
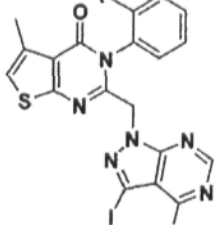
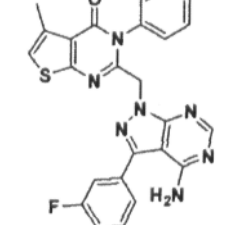
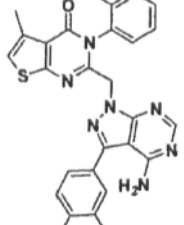
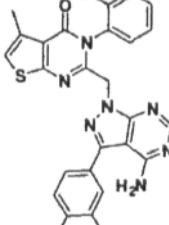
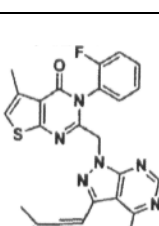
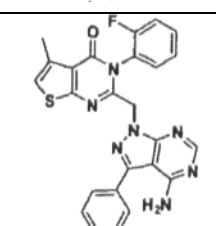
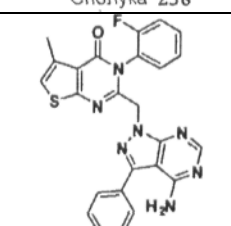
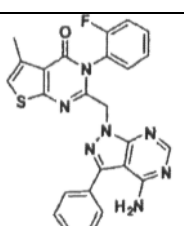
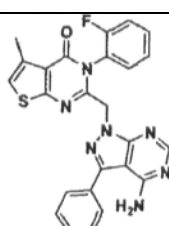
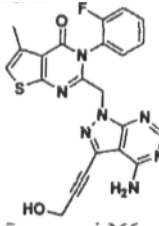
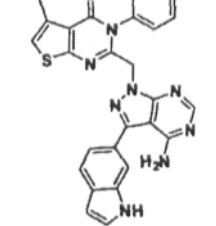
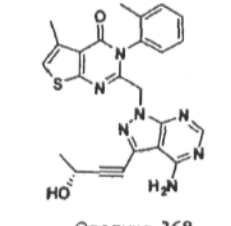
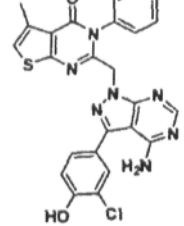
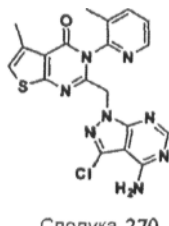


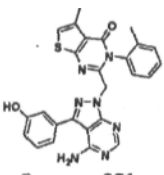
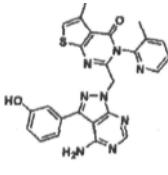
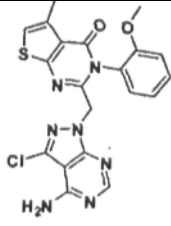
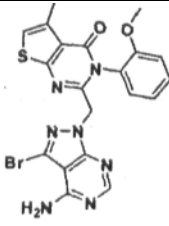
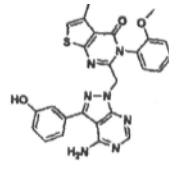
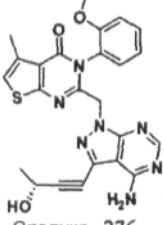
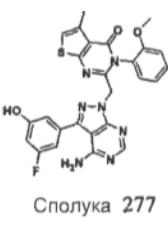
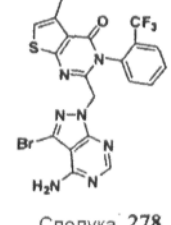
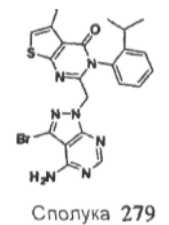
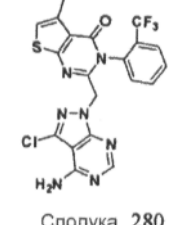
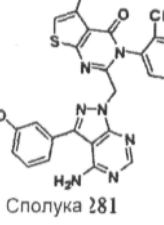
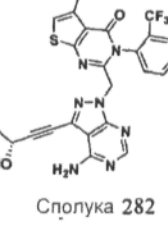
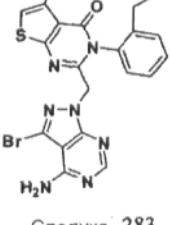
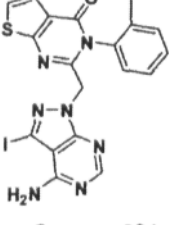
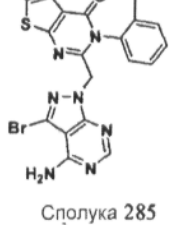
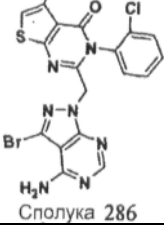
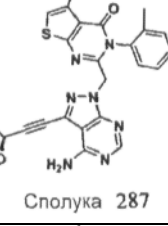
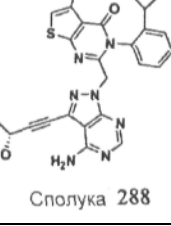
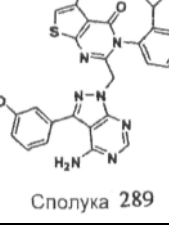
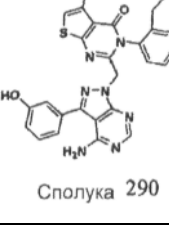
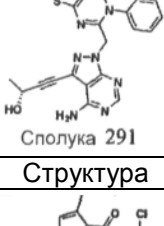
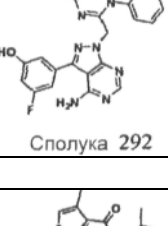
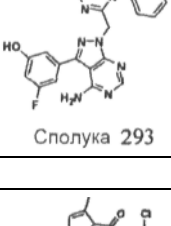
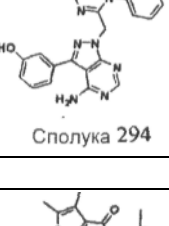
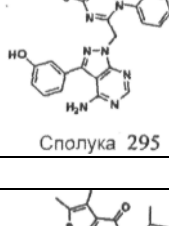
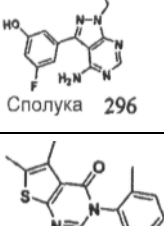
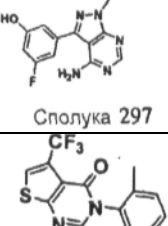
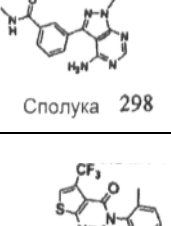
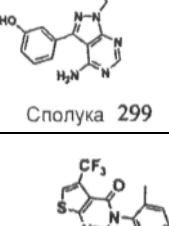
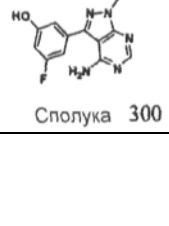
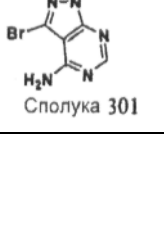
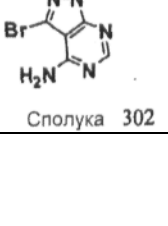
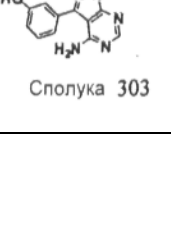
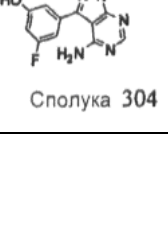
 Сполука 146	 Сполука 147	 Сполука 148	 Сполука 149	 Сполука 150
 Сполука 151	 Сполука 152	 Сполука 153	 Сполука 154	 Сполука 155
 Сполука 156	 Сполука 157	 Сполука 158	 Сполука 159	 Сполука 160
Структура				
 Сполука 161	 Сполука 162	 Сполука 163	 Сполука 164	 Сполука 165
 Сполука 166	 Сполука 167	 Сполука 168	 Сполука 169	 Сполука 170
 Сполука 171	 Сполука 172	 Сполука 173	 Сполука 174	 Сполука 175



Сполука 176	Сполука 177	Сполука 178	Сполука 179	Сполука 180
Сполука 183	Сполука 184	Сполука 188	Сполука 189	Сполука 190
Структура				
Сполука 191	Сполука 192	Сполука 193	Сполука 194	Сполука 195
Сполука 196	Сполука 197	Сполука 198	Сполука 199	Сполука 200
Сполука 201	Сполука 202	Сполука 203	Сполука 204	Сполука 205
Сполука 206	Сполука 207	Сполука 208	Сполука 209	Сполука 210

 Сполука 1211	 Сполука 212	 Сполука 213	 Сполука 214	 Сполука 215
Структура				
 Сполука 216	 Сполука 217	 Сполука 218	 Сполука 219	 Сполука 220
 Сполука 221	 Сполука 222	 Сполука 223	 Сполука 224	 Сполука 225
 Сполука 226	 Сполука 227	 Сполука 228	 Сполука 229	 Сполука 230
 Сполука 231	 Сполука 232	 Сполука 233	 Сполука 234	 Сполука 235
 Сполука 236	 Сполука 237	 Сполука 238	 Сполука 239	 Сполука 240

Структура				
 <p>Сполука 241</p>	 <p>Сполука 242</p>	 <p>Сполука 243</p>	 <p>Сполука 244</p>	 <p>Сполука 245</p>
 <p>Сполука 246</p>	 <p>Сполука 47</p>	 <p>Сполука 248</p>	 <p>Сполука 249</p>	 <p>Сполука 250</p>
 <p>Сполука 251</p>	 <p>Сполука 252</p>	 <p>Сполука 253</p>	 <p>Сполука 254</p>	 <p>Сполука 255</p>
 <p>Сполука 256</p>	 <p>Сполука 257</p>	 <p>Сполука 258</p>	 <p>Сполука 259</p>	 <p>Сполука 260</p>
 <p>Сполука 261</p>	 <p>Сполука 262</p>	 <p>Сполука 263</p>	 <p>Сполука 264</p>	 <p>Сполука 265</p>
Структура				
 <p>Сполука 266</p>	 <p>Сполука 267</p>	 <p>Сполука 268</p>	 <p>Сполука 269</p>	 <p>Сполука 270</p>

 Сполука 271	 Сполука 272	 Сполука 273	 Сполука 274	 Сполука 275
 Сполука 276	 Сполука 277	 Сполука 278	 Сполука 279	 Сполука 280
 Сполука 281	 Сполука 282	 Сполука 283	 Сполука 284	 Сполука 285
 Сполука 286	 Сполука 287	 Сполука 288	 Сполука 289	 Сполука 290
 Сполука 291	 Сполука 292	 Сполука 293	 Сполука 294	 Сполука 295
Структура				
 Сполука 296	 Сполука 297	 Сполука 298	 Сполука 299	 Сполука 300
 Сполука 301	 Сполука 302	 Сполука 303	 Сполука 304	

Приклад 16: Аналіз експресії і пригнічення p110 $\alpha$ /p85 $\alpha$ , p110 $\beta$ /p85 $\alpha$ , p110 $\delta$ /p85 $\alpha$  і p110 $\gamma$ :

Клас I PI3-K може бути придбаний (p110 $\alpha$ /p85 $\alpha$ , p110 $\beta$ /p85 $\alpha$ , p110 $\delta$ /p85 $\alpha$  від Upstate і p110 $\gamma$  від Sigma) або експресовані, як описано у (Knight et al., 2004).  $IK_{50}$  виміряють з використанням стандартного ТШХ аналізу для активності ліпідної кінази (описано нижче або аналізом з захопленням через мембрану с. Кіназні реакції проводять приготуванням реакційну суміші, що містить кіназу, інгібітор (2 % ДМСО у кінцевій концентрації), буфер (25 mM HEPES, pH 7,4, 10 mM MgCl<sub>2</sub>) і щойно оброблений ультразвуком фосфатидилінозитол (100 мкг/мл). Реакції ініціюють додаванням АТФ, що містить 10 мкімп  $\gamma$ -32P-АТФ до кінцевої концентрації 10 або 100 мкМ і залишають на 5 хвил. при кімнатній температурі. Для аналізу ТШХ реакції потім припиняють додаванням 105 мкл 1N HCl і потім 160 мкл CHCl<sub>3</sub>:MeOH (1:1). Біфазну суміш перемішують, центрифугують і органічну фазу переносять у нову трубку піпеткою, покритою CHCl<sub>3</sub>. Цей наносять на плати ТШХ і обробляють 3-4 год. 65:35 розчином n-пропанол:1M оцтова кислота. Плати ТШХ сушать і експонують на фосфорному екрані (Storm, Amersham) і квантують. Для кожної сполуки активність кінази виміряють при 10-12 і концентраціях інгібітору, які репрезентують двократні розрідження найвищої концентрації (звичайно 200 мкМ). Для сполук з значною активністю, визначення  $IK_{50}$  повторюють 2-4 рази і беруть їх середнє.

Інші комерційні комплекти або системи для аналізу активностей PI3-K є також доступними. Такі комплекти системи можуть бути використані для скринінгу інгібіторів і/або агоністів PI3-K, включаючи (не лише) PI3-кінази  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  і  $\gamma$ . Типовою є система HTRF™ аналізу PI3-кінази (людини) від Upstate. Аналіз можна на проводити за процедурами, запропонованими виробником. Цей аналіз є аналізом у часі FRET, який непрямо виміряє продукт PIP3, утворений активністю PI3-K. Кіназну реакцію проводять у мікротитрувальному планшеті (наприклад, 384-комірковому). Повний реакційний об'єм становить приблизно 20 мкл на комірку. У першій операції кожна комірка отримує 2 мкл випробуваної сполуки 20 % ДМСО, отриманого у 2 %-й кінцевій концентрації. Потім приблизно 14,5 мкл суміші кіназа/PIP2 (розрідженій у 1X реакційному буфер) додають у кожен комірку для кінцевої концентрації кінази 0,25-0,3 мкг/мл кінази і 10 мкМ PIP2. Планшет герметизують і інкубують 15 хвил. при кімнатній температурі. Щоб почати реакцію 3,5 мкл АТФ (розрідженому у 1X реакційному буфері) додають у кожен комірку для кінцевої концентрації 10 мкМ АТФ. Планшет герметизують і інкубують 1 год. при кімнатній температурі. Реакцію припиняють додаванням 5 мкл стоп-розчину у кожен комірку і потім 5 мкл Detection Mix. Планшет герметизують, інкубують 1 год. при кімнатній температурі і потім проводять зчитування належним планшетним зчитувачем. Дані аналізують і визначають  $IK_{50}$  з використанням GraphPad Prism 5.

Приклад 17: Аналіз експресії і пригнічення Abl

Передресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти кінази Abl може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рекомбінантної повнодовжинної Abl або Abl (T315I) (Upstate) в аналізі, що включає 25 mM HEPES, pH 7,4, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 мкМ АТФ (2,5 мкімп  $\gamma$ -32P-АТФ) і 0,5 мг/мл BSA. Оптимізований пептидний субстрат Abl EAIYAAPFAKKK використовують як фосфоакцептор (200 мкМ). Реакції припиняють нанесенням на фосфоцелюлозні листи, які промивають 0,5 %-ю фосфорною кислот (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожний). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 18: Аналіз експресії і пригнічення Hck

Передресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти кінази Hck може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рекомбінантної повнодовжинної Hck в аналізі, що включає 25 mM HEPES, pH 7,4, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 мкМ АТФ (2,5 мкімп  $\gamma$ -32P-АТФ) і 0,5 мг/мл BSA. Оптимізований пептидний субстрат EI YGEFKKK використовують як фосфоакцептор (200 мкМ). Реакції припиняють нанесенням на фосфоцелюлозні листи, які промивають 0,5 %-ю фосфорною кислот (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожний). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 19: Аналізи експресії і пригнічення інсулінового рецептора (IR)

Передресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти рецептора кінази IR може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рекомбінантного інсулінового рецептора в аналізі, що включає 25 mM HEPES, pH 7,4, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 мкМ АТФ (2,5 мкімп  $\gamma$ -32P-АТФ) і 0,5 мг/мл BSA. Полі E-Y (Sigma; 2 мг/мл) використовують як субстрат. Реакції припиняють нанесенням на нітроцелюлозу, яку

промивають 1М NaCl/1 %-ю фосфорною кислот (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожний). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 20: Аналізи експресії і пригнічення Src

5 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти рецептора кінази IR може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рекомбінантного інсулінового рецептора в аналізі, що включає 25 мМ HEPES, pH 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 200 мкМ АТФ (2,5 мкімп γ-32P-АТФ) і 0,5 мг/мл BSA. Оптимізований пептидний субстрат кінази родини Src використовують як фосфоакцептор (200 мкМ). Реакції припиняють нанесенням на фосфоцелюлозні листи, які промивають 0,5 %-ю фосфорною кислот (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожний). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 21: Аналізи експресії і пригнічення ДНК-РК (ДНКК)

15 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти рецептора кінази IR може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами ДНК-РК можна придбати від Promega і аналізувати з використанням ДНК-РК згідно з інструкціями виробника.

Приклад 22: Аналізи експресії і пригнічення mTOR

20 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти mTOR може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти mTOR в аналізі, що включає 50 мМ HEPES, pH 7,5, 1 мМ EGTA, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2,5 мМ, 0,01 % Tween, 10 мкМ АТФ (2,5 мкімп μ-32P-АТФ) і 3 мкг/мл BSA. Сполуки, описані тут, можуть бути тестовані на рекомбінантний mTOR (Invitrogen) в аналізі, що містить щурячу рекомбінантну PHAS-1/4EBP1 (Calbiochem; 2 мг/мл) як субстрат. Реакції припиняють нанесенням на нітроцелюлозу, яку промивають 1М NaCl/1 %-фосфорною кислотою (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожна). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

25 Комерційно доступними є інші комплекти або системи для аналізу активності mTOR, наприклад, можна використати LanthaScreen™ Invitrogen. Тут описано аналіз кінази для тесту інгібіторів mTOR. Цей аналіз є розрізною у часі платформою FRET, яка виміряє фосфорилізацію міченої GFP 4EBP1 через кіназу mTOR. Кіназну реакцію проводять у білій 384-комірковому мікротитрувальному планшеті. Повний реакційний об'єм становить 20 мкл на кожен комірок і реакційний буфер містить 50 мМ HEPES pH 7,5, 0,01 % Полісорбат 20, 1 мМ EGTA, 10 мМ MnCl<sub>2</sub> і 2 мМ DTT. У першій операції кожна комірка отримує 2 мкл випробуваної сполуки у 20 % ДМСО, отриманому у кінцевій концентрації 2 % ДМСО. Потім 8 мкл mTOR, розрідженої у реакційному буфері, додають до кожної комірки до кінцевої концентрації 60 нг/мл. Для початку реакції додають 10 мкл суміш АТФ/GFP-4EBP1 (розріджену у реакційному буфер) у кожен комірок для кінцевої концентрації 10 мкМ АТФ і 0,5 мкМ GFP-4EBP1.

30 Планшет герметизують і інкубують 1 год. при кімнатній температурі. Реакцію припиняють доданням у кожен комірок 10 мкл суміші антитіла Tb-анти-pT46 4EBP1/EDTA (розрідженої у буфері TR-FRET) для кінцевої концентрації 1,3 нМ антитіла і 6,7 мМ EDTA. Планшет герметизують, інкубують 1 год. при кімнатній температурі і потім проводять зчитування на планшеті зчитувачем TR-FRET LanthaScreen™. Дані аналізують і отримують IK<sub>50</sub> з використанням GraphPad Prism 5.

Приклад 23: Аналізи експресії і пригнічення рецептора росту васкулярного ендотелію

45 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти рецептора VEGF може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти кіназного домену рецептора рекомбінантної KDR (Invitrogen) в аналізі, що включає 50 мМ HEPES, pH 7,5, 1 мМ EGTA, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2,5 мМ, 0,01 % Tween, 10 мкМ АТФ (2,5 мкімп μ-32P-АТФ) і 3 мкг/мл BSA. Полі Е-Υ (Sigma; 2 мг/мл) використовують як субстрат. Реакції припиняють нанесенням на нітроцелюлозу, яку промивають 1М NaCl/1 %-ю фосфорною кислотою (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. на кожен). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 24: Аналізи експресії і пригнічення ефринового рецептора B4 (EphB4)

55 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти EphB4 може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рекомбінантної ефринового рецептора (Invitrogen) в аналізі, що включає 50 мМ HEPES, pH 7,5, 1 мМ EGTA, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2,5 мМ, 0,01 % Tween, 10 мкМ АТФ (2,5 мкімп μ-32P-АТФ) і 3 мкг/мл BSA. Полі Е-Υ (Sigma; 2 мг/мл) використовують як субстрат. Реакції припиняють нанесенням на

нітроцелюлозу, яку промивають 1М NaCl/1 %-ю фосфорною кислотою (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожну). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 25: Аналізи експресії і пригнічення рецептора епідермального фактора росту (EGFR)

- 5 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти кінази EGFR може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рецептора кіназного домену рекомбінантної EGF (Invitrogen) в аналізі, що включає 25 мМ HEPES, pH 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1 % BME, 10 мкМ АТФ (2,5 мкімп μ-32P-АТФ) і 3 мкг/мл BSA. Полі
- 10 E-Y 40 (Sigma; 2 мг/мл) використовують як субстрат. Реакції припиняють нанесенням на нітроцелюлозу, яку промивають 1М NaCl/1 %-ю фосфорною кислотою (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожну). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 26: Аналізи експресії і пригнічення комплектного аналізу

- 15 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти комплектною кінази може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рецептор рекомбінантного кіназного домену (Invitrogen) в аналізі, що включає 25 мМ HEPES, pH 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ DTT, 10 мМ MnCl<sub>2</sub>, 10 мкМ АТФ (2,5 мкімп μ-32P-АТФ) і 3 мкг/мл BSA. Полі E-Y (Sigma; 2 мг/мл) використовують як субстрат. Реакції
- 20 припиняють нанесенням на нітроцелюлозу, яку промивають 1М NaCl/1 %-ю фосфорною кислотою (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожну). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 27: Аналізи експресії і пригнічення RET

- 25 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти RET може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рецептора кіназного домену рекомбінантної RET (Invitrogen) в аналізі, що включає 25 мМ HEPES, pH 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2,5 мМ DTT, 10 мкМ АТФ (2,5 мкімп μ-32P-АТФ) і 3 мкг/мл BSA. Оптимізований пептидний субстрат Abl EAIYAAPFAKKK використовують як фосфоакцептор (200 мкМ). Реакції
- 30 припиняють нанесенням на фосфоцелюлозні листи, які промивають 0,5 %-ю фосфорною кислотою (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожний). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

Приклад 28: Аналізи експресії і пригнічення рецептора тромбоцитного фактора росту (PDGFR)

- 35 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти PDGFR може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рецептора кіназного домену рекомбінантної PDG (Invitrogen) в аналізі, що містить 25 мМ HEPES, pH 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2,5 мМ DTT, 10 нМ АТФ (2,5 мкімп μ-32P-АТФ) і 3 мкл/мл BSA. Оптимізований пептидний субстрат Abl EAIYAAPFAKKK використовують як фосфоакцептор (200 мкМ). Реакції припиняють нанесенням на фосфоцелюлозні листи, які промивають 0,5 %-ю фосфорною кислотою (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожний). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.
- 40

Приклад 29: Аналізи експресії і пригнічення пов'язаної з FMS кіназою тирозину 3 (FLT-3)

- 45 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти FLT-3 може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рецептора кіназного домену рекомбінантної FLT-3 (Invitrogen) в аналізі, що містить 25 мМ HEPES, pH 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2,5 мМ DTT, 10 нМ АТФ (2,5 мкімп μ-32P-АТФ) і 3 мкг/мл BSA. Оптимізований пептидний субстрат Abl EAIYAAPFAKKK використовують як фосфоакцептор (200 мкМ). Реакції припиняють нанесенням на фосфоцелюлозні листи, які промивають 0,5 %-ю фосфорною кислотою (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожний). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.
- 50

Приклад 30: Аналізи експресії і пригнічення рецептора кінази тирозину TEK (TIE2)

- 55 Перехресна активність одної або більше сполук винаходу або її відсутність проти TIE2 може бути виміряна згідно з будь-якими відомими процедурами або способами, описаними нижче. Сполуки, описані тут, можуть бути аналізовані у трьох екземплярах на дію проти рецептора кіназного домену рекомбінантної TIE2 (Invitrogen) в аналізі, що містить 25 мМ HEPES, pH 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2 мМ DTT, 10 мМ MnCl<sub>2</sub>, 10 мкМ АТФ (2,5 мкімп α-32P-АТФ) і 3 нг/мл BSA. Полі E-Y
- 60 40 (Sigma; 2 мг/мл) використовують як субстрат. Реакції припиняють нанесенням на



нітроцелюлозу, яку промивають 1М NaCl/1 %-ю фосфорною кислот (приблизно 6 разів, 5-10 хвил. кожен). Листи сушать і перенесену радіоактивність квантують фосфорним відображенням.

#### Приклад 31: Аналіз активації і проліферації В-клітин

Здатність одної або більше сполук винаходу пригнічувати активацію і проліферацію В-клітин визначають за стандартними процедурами, наприклад, аналізом *in vitro* клітинної проліферації, яким вимірюють метаболічну активність живих клітин. Аналіз проводять у 96-комірковому мікротитрувальному планшеті з використанням Alamar Blue. Спленові В-клітини Balb/c очищають над градієнтом Ficoll-Paque™ PLUS з подальшою магнітною сепарацією клітин, використовуючи комплект для ізоляції В-клітин MACS (Miletenil). Клітини вносять у планшет по 90 мкл 50000 клітин/комірка В-клітинному середовищі (ОБ./ХВИЛ.І + 10 %FBS + Penn/Strep + 50 мкМ bME + 5 мМ HEPES). Сполуку винаходу розріджують В-клітинному середовищі і додають 10 мкл об'єм. Планшети інкубують 30 хвил. при 37 °C і 5 % CO<sub>2</sub> (кінцева концентрація ДМСО 0,2 %). Додають 50 мкл стимуляційної суміші для В-клітин з 10 мкг/мл LPS або 5 мкг/мл F(ab')<sub>2</sub> Donkey anti-mouse IgM плюс 2 нг/мл рекомбінантного мишачого IL4 у В-клітинному середовищі. Планшети інкубують 72 год. при 37 °C і 5 % CO<sub>2</sub>. Додають 15 мкл реагенту Alamar Blue у кожен комірку і планшети інкубують 5 год. при 37 °C і 5 % CO<sub>2</sub>. Проводять зчитування флуоресценції Alamar Blue при 560Ex/590Em і обчислюють IK<sub>50</sub> або EC<sub>50</sub> з використанням GraphPad Prism 5.

#### Приклад 32: Аналіз проліферації пухлинних клітин

Здатність одної або більше сполук винаходу пригнічувати проліферацію лінії пухлинних клітин визначають за стандартними процедурами, наприклад, аналізом *in vitro* клітинної проліферації може бути виміряна метаболічна активність живих клітин. Аналіз проводять у 96-комірковому мікротитрувальному планшеті з використанням Alamar Blue. Лінії людських пухлинних клітин, отриманих від ATCC (наприклад, MCF7, U-87 MG, MDA-MB-468, PC-3), вирощених у конфлюєнції у колбах T75, трипсинізують 0,25 %-м трипсином, промивають Середовищем Пухлинних Клітин (DMEM + 10 %FBS) і планшетують у 90 мкл при 5000 клітин/комірка у Середовищі Пухлинних Клітин. Сполуку винаходу розріджують у Середовищі Пухлинних Клітин і додають у 10 мкл об'ємі. Планшети інкубують 72 год. при 37 °C і 5 % CO<sub>2</sub>. Додають 10 мкл реагенту Alamar Blue у кожен комірку і планшет інкубують 3 год. при 37 °C і 5 % CO<sub>2</sub>. Проводять зчитування флуоресценції Alamar Blue при 560Ex/590Em і обчислюють IK<sub>50</sub> або EC<sub>50</sub> з використанням GraphPad Prism 5.

#### Приклад 33: Антипухлинна активність *in vivo*

Сполуки, описані тут, можуть бути оцінені у панелі людських і мишачих пухлинних моделей.

Паклітаксельні рефракторні пухлині моделі

##### 1. Клінічна модель карциноми яєчника

Цю пухлину модель створюють з біопсії пухлини пацієнта з раком яєчника. Від пацієнта беруть біопсію пухлини.

Сполуки, описані тут, вводять голій миші, що має пухлини, з розкладом 2 дні × 5.

##### 2. Ксенотрансплантат людської карциноми яєчника A2780Tax (Mutated Tubulin).

A2780Tax є резистентною до паклітакселю моделлю людської карциноми яєчника. Її отримують від чутливої батьківської лінії A2780 співінкубацією клітин з паклітакселем і верапамілем, MDR-реверсним агентом. Було показано, що механізм резистентності не пов'язаний з MDR і зумовлений мутацією у гені, що кодує протеїн бета-тубулін.

Сполуки, описані тут, можуть бути введені мишам з розвиненою пухлиною кожні 2 дні × 5.

##### 3. Ксенотрансплантат карциноми товстої кишки людини HCT116/VM46 (мультимедикаментна резистентність).

HCT116/VM46 є мультимедикаментно резистентною карциномою товстої кишки, отриманою від батьківської лінії HCT116. *In vivo* у мишах HCT116A/M46 мала постійно високу резистентність до паклітакселю.

Сполуки, описані тут, можуть бути введені мишам з розвиненою пухлиною з розкладом кожні 2 дні × 5.

##### 5. Модель саркоми мишей M5076

M5076 є мишачою фібросаркомою з природною рефракторністю до паклітакселю *in vivo*.

Сполуки, описані тут, можуть бути введені мишам з розвиненою пухлиною з розкладом кожні 2 дні × 5.

Одна або більше сполук винаходу можуть бути використані у комбінації з іншими терапевтичними агентами *in vivo* у мультимедикаментно резистентному ксенотрансплантаті карциноми товстої кишки людини HCT/VM46 або у будь-якій іншій відомій моделі, включаючи описану тут.

#### Приклад 34: Аналіз мітосомної стабільності



Стабільність одної або більше сполук винаходу визначають згідно з стандартними процедурами, наприклад, стабільність одної або більше сполук винаходу визначають *in vitro* аналізом. Зокрема, аналізом *in vitro* мікросомної стабільності вимірюють стабільність одної або більше сполук винаходу у мікросомах печінки миші, щура або людини. Реакцію мікросом з

сполуками проводять у 1,5-мілілітровій трубці Епендорфа. Кожна трубка містить 0,1 нл 10,0 мг/мл NADPH; 75 мкл 20,0 мг/мл мікросом печінки миші, щура або людини; 0,4 мкл 0,2М фосфатного буферу і 425 мкл дистильованої H<sub>2</sub>O.

Трубка негативного контролю (без NADPH) містить 75 мкл 20,0 мг/мл мікросом печінки миші, щура або людини; 0,4 мкл 0,2М фосфатного буферу і 525 мкл H<sub>2</sub>O. Реакцію починають доданням 1,0 мкл 10,0 мМ випробуваної сполуки. Реакційні трубки інкубують 37 °С. 100 мкл зразка збирають у нову трубку Епендорфа з 300 мкл холодного метанолу на 0, 5, 10, 15, 30 і 60 хвил. реакції. Зразки центрифугують при 15000 об./хвил. для видалення протеїну. Надосадову рідину центрифугованого зразка переносять у нову трубку. Концентрацію стабільної сполуки після реакції з мікродсомною надосадовою рідиною вимірюють рідинною хроматографією/мас-спектрометрією (LC-MS).

#### Приклад 35: Аналіз стабільності плазми

Стабільність одної або більше сполук винаходу у плазмі визначають згідно з стандартними процедурами. Див., наприклад, Rapid Commun. Mass Spectrom., 10: 1019-1026. Можуть використовуватись процедури з аналізом ВЕРХ-МС/МС плазми людини, а також інших ссавців, включаючи мавпу, собаку, щура і мишу. Заморожену гепаринізовану людську плазму розморожують у холодній водяній ванні і центрифугують 10 хвил. при 2000 об./хвил. і 4 °С перед використанням. Сполуку винаходу додають з 400 мкМ об'єму розчину до аліквоти нагрітої плазми до кінцевого об'єму 400 мкл (або 800 мкл для визначення напівжиття), що містить 5 мкМ випробуваної сполуки і 0,5 % ДМСО. Реакції інкубують з струшуванням на 0 хвил. і 60 хвил. при 37 °С або на 0, 15, 30, 45 і 60 хвил. при 37 °С визначення напівжиття. Реакції припиняють перенесенням 50 мкл інкубаційної суміші у 200 мкл льодяного ацетонітрилу і змішуванням струшуванням протягом 5 хвил.

Зразки центрифугують при 6000 × g 15 хвил. при 4 °С і 120 мкл надосадової рідини видалають у чисті трубки. Зразки потім випарюють до сухості і аналізують ВЕРХ-МС/МС.

За бажання тестують одночасно одну або більше контрольних або еталонних сполук (5 мкМ), наприклад, пропоксилуїн з низькою стабільністю плазми і пропантелін з середньою стабільністю плазми.

Зразки відтворюють в ацетонітрилі/метанолі/воді (1/1/2, об'єм/об'єм/об'єм) і аналізують (RP) ВЕРХ-МС/МС з моніторингом вибраної реакції (SRM). ВЕРХ складається з бінарного насосу для РХ 40 з автоматичним відбором зразків, з змішаним режимом, і колонкою C12, 2 × 20 мм з використанням градієнту. Пікові зони, що відповідають аналітам реєструються ВЕРХ-МС/МС. Відношення батьківської сполуки, що залишилась через 60 хвил., до кількості у момент 0 (%) є стабільністю плазми. Для визначення півжиття використовують нахил початкової лінійної ділянки логарифмічної кривої сполуки, що залишається (%), у функції часу.

#### Приклад 36: Хімічна стабільність

Хімічну стабільність одної або більше сполук винаходу визначають згідно з стандартними процедурами. Далі розглядаються деталі типові процедури оцінювання хімічної стабільності сполуки винаходу. Буфером для аналізу хімічної стабільності є буферований фосфатом розсіл (PBS) з рН 7,4; інші придатні буфери також можуть бути використані. Сполуку винаходу додають до аліквоти PBS (у двох екземплярах) для отримання кінцевого об'єму 400 мкл з 5 мкМ випробуваною сполукою і 1 % ДМСО (для визначення півжиття приготують зразок повним об'ємом 700 мкл).

Реакції інкубують, з струшуванням на 0 хвил. і 24 год. при 37 °С; для визначення півжиття зразки інкубують 0, 2, 4, 6 і 24 год. Реакції припиняють доданням 100 мкл інкубаційної суміші до 100 мкл ацетонітрилу і перемішуванням протягом 5 хвил. Зразки зберігають при -20 °С до аналізу ВЕРХ-МС/МС. За бажання одночасно тестують контрольну або еталонну сполуку, наприклад, хлорамбуцил (5 мкМ), оскільки ця сполука майже повністю гідролізується за 24 год. Зразки аналізують (RP) ВЕРХ-МС/МС з моніторингом вибраної реакції (SRM). ВЕРХ складається з бінарного насосу для РХ 40 з автоматичним відбором зразків, з змішаним режимом, і колонкою C12, 2 × 20 мм з використанням градієнту. Пікові зони, що відповідають аналітам реєструються ВЕРХ-МС/МС. Відношення батьківської сполуки, що залишилась через 60 хвил., до кількості у момент 0 (%) є хімічною стабільністю сполуки.

#### Приклад 37: Аналіз кінази Akt

Клітини включають компоненти шляху Akt/mTOR шлях, включаючи (не лише) міобласти L6, клітини В-ALL, В-клітини, Т-клітини, лейкомічні клітини, клітини кісткового мозку, трансдуковані

клітини р190, філадельфійські хромосомопозитивні клітини (Ph+) і ембріонні фібробласти миші, звичайно вирощують у клітинному вирощувальному середовищі, наприклад, DMEM, з сироваткою бичачого зародка і/або антибіотиками, і вирощують до конфлюентності.

Для порівняння дії одної або більше сполук винаходу на активацію Akt зазначені клітини позбавляють сироватки протягом ночі і інкубують з одною або більше сполуками винаходу або приблизно 0,1 % ДМСО протягом від приблизно 1 хвил. до приблизно 1 год. і потім стимулюють інсуліном (наприклад 100 нМ) протягом від приблизно 1 хвил. до приблизно 1 год. Клітини лізують скоблінням у льодяний лізисний буфер з ПАР, наприклад, додецилсульфатом натрію інгібіторами протеази (наприклад, PMSF).

Після контактування клітин з лізисним буфер, розчин короткочасно обробляють ультразвуком, очищають на центрифугі, розрізняють SDS-PAGE, переносять на нітроцелюлозу або PVDF і імуноблотують з використанням антитіл до фосфо-Akt S473, фосфо-Akt T308, Akt і р-актину (Cell Signaling Technologies).

Результати показують, що одна або більше сполук згідно з винаходом пригнічують стимульовану інсуліном фосфорилізацію Akt при S473. В іншому варіанті, деякі сполуки винаходу, крім того, пригнічували стимульовану інсуліном фосфорилізацію Akt при T308. Такий клас сполук може пригнічувати Akt більш ефективно, ніж рапаміцин, і можуть бути індикатором інгібіторів mTORC2 або інгібіторів вище розташованої кінази, наприклад, PI3K або Akt.

Приклад 38: Кіназна сигналізація у крові

Сигналізацію PI3K/Akt/mTog виміряють у кров'яних клітинах з використанням способу phosflow (Methods Enzymol. 2007; 434:131-54). Перевагою цього способу є те, що він за природою є аналізом одиночної клітини і тому може бути виявлена клітинна гетерогенність, а не середні для популяцій. Це дозволяє одночасно розрізняти умови сигналізації у різних популяціях, визначених іншими маркерами. Спосіб Phosflow є також кількісним. Для визначення дії одної або більше сполук, описаних тут, нефракціоновані спленоцити або мононуклеарні клітини периферійної крові стимулюють анти-CD3 для ініціювання сигнальних клітин Т-клітинного рецептора, які потім фіксують і мітять поверхневими маркерами і внутрішньоклітинними фосфопротеїнами. Можна сподіватись, що інгібітори, описані тут, пригнічують опосередковану анти-CD3 фосфорилізацію Akt S473 і S6, а рапаміцин пригнічує фосфорилізацію S6i і поліпшує фосфорилізацію Akt в умовах тесту.

Подібним чином, аліквоти цільної крові інкубують 15 хвил. з носієм (наприклад 0,1 % ДМСО) або інгібіторами кінази при різних концентраціях, і потім додають стимулятори для поперечного зв'язування Т-клітинного рецептора (TCR) (анти-CD3 з вторинним антитілом) або В-клітинного рецептора (BCR) з використанням анти-каппа легколанцюгового антитіла (фрагменти Fab'2).

Через приблизно 5 і 15 хвил. зразки фіксують (наприклад, холодним 4 %-м параформальдегідом) і використовують для phosflow. Поверхневі мітки використовують для розрізнення Т- і В-клітин з використанням антитіл, спрямованих до клітинних поверхневих маркерів, відомих фахівцям. Рівень фосфорилізації кіназного субстрату, наприклад, Akt і S6 потім виміряють інкубацією фіксованих клітин з міченими антитілами, специфічними до фосфорильованих ізоформ цих протеїнів. Популяцію клітин потім аналізують потоковою цитометрією.

Приклад 39: Аналіз формування колонії

Клітини мишачого кісткового мозку, щойно трансформованого ретровірусом 90 BCR-Abl (трансдуковані р190 клітини) планштують у присутності різних медикаментозних комбінацій у метилцелюлозному середовищі M3630 протягом приблизно 7 днів з рекомбінантною людського IL-7 у приблизно 30 % сироватки, і кількість утворених колоній визначають візуально під мікроскопом.

В іншому варіанті, людські мононуклеарні клітини периферійної крові отримують від хромосомопозитивних (Ph+) і негативних (Ph-) пацієнтів після початкового діагнозу або рецидиву. Живі клітини ізолюють і збагачують предками CD19+ CD34+ В-клітини. Через ніч клітини планштують у метокультурі GF+ H4435, Stem Cell Technologies) з цитокінами (IL-3, IL-6, IL-7, G-CSF, GM-CSF, CF, лігандом Flt3 і еритропоетином) і різними концентраціями відомих хіміотерапевтичних агентів або у комбінації з сполуками винаходу. Колонії підраховують під мікроскопом через 12-14 днів. Цей спосіб може бути використаний для виявлення додаткової або синергічної активності.

Приклад 40: Дія інгібіторів кінази на лейкемійні клітини in vivo

Реципієнтів - самиць миші опромінювали летальною двома летальними дозами від  $\gamma$ -джерела з інтервалом приблизно 4 год., приблизно 5Gy кожну. Приблизно через 1 год. після другої радіаційної дози, мишам вводили внутрішньовенно приблизно  $1 \times 10^6$  лейкемійних клітин (наприклад, Ph+ людських або мишачих клітин або трансдукованих р190 клітин кісткового

мозку). Ці клітини вводили разом радіозахисною дозою приблизно  $5 \times 10^6$  нормальних клітин кісткового мозку від донорної миші віком 3-5 тижнів. Реципієнтам вводили антибіотики у воді і спостерігали щоденно. Мишей, що захворіли, приблизно через 14 днів вбивали і лімфоїдні органи вилучали для аналізу. Лікування інгібітором кінази починається приблизно через 10 днів після ін'єкції лейкемічних клітин і продовжують щоденно до захворювання мишей або до приблизно 35-го дня після трансплантації. Інгібітори вводять перорально.

Клітини периферійної крові збирають приблизно на 10 день (до лікування) і після еутанізації (після лікування), вводять у контакт з міченими анти-hCD4 антитілами і підраховують потоковою цитометрією. Цей спосіб може бути використаний для демонстрації, що синергічна дія одної або більше сполук, описаних, тут у комбінації відомими хіміотерапевтичними агентами значно знижує кількість лейкемічних кров'яних клітин порівняно з лікуванням одними лише відомими хіміотерапевтичними агентами (наприклад Gleevec) в умовах тесту.

Приклад 41: Лікування вовчаку на мишачій моделі хвороби

Миші з FcyRIIb, які не мали інгібіторного рецептора, що протидіє сигналізації PI3K у B-клітинах, захворювали вовчаком з високою пенетрантністю. Миші з FcyRIIb (R2KO, Jackson Labs) вважаються повноцінною моделлю людської хвороби, оскільки деякі хворі на вовчак показують знижену експресію або функцію FcyRIIb (S. Bolland, J.V. Ravtech 2000. Immunity 12:277-285).

У мишей R2KO розвилась вовчакоподібна хвороба з антинуклеарними антитілами, гломерулонефритом і протеїною сечовиною у віці приблизно 4-6 місяців. Для цих експериментів був використаний аналог рапаміцину RAD001 (від LC 5 Laboratories) як еталонна сполука і з введенням перорально. Було показано, що ця сполука полегшує симптоми вовчаку у моделі B6.Slel<sup>z</sup>.Sle3<sup>z</sup> (T. Wu et al. J. Clin Invest. 117:2186-2196).

Вовчак у моделі хвороби мишей, наприклад, R2KO, BXSb або MLR/lpr, лікують приблизно 2 місяці, мишам дають дози: носія, RAD001 - приблизно 10 мг/кг, або сполуки, описані тут - від приблизно 1 мг/кг до приблизно 500 мг/кг. Зразки крові і сечі беруть приблизно протягом періоду тестів і аналізують на антинуклеарні антитіла (розріджені сироваткою) або на концентрацію протеїну (у сечі). Сироватку також тестують на анти-ssДНК і анти-dsДНК антитіла ELISA. Тварин вбивають на 60-й день і тканини відбирають для вимірювання маси селезінки і хвороби нирки. Гломерулонефрит оцінюють у секції нирки міченням H&E. Інші тварини досліджують протягом приблизно двох місяців після припинення лікування, з використанням тих же органів.

Ця модель може бути використана для демонстрації того, що інгібітори кінази, описані тут, можуть пригнічувати або затримувати розвиток симптомів вовчаку у мишачій моделі вовчаку.

Приклад 42: Аналіз трансплантації кісткового мозку у мишей

Реципієнтів - самиць миші опромінювали летальною двома летальними дозами від уджерела. Приблизно через 1 год. після отримання радіаційної дози, мишам вводили ін'єкцією  $1 \times 10^6$  лейкемічних клітин від раннього розвитку трансдукованих p190 культур (наприклад, як описано in Cancer Genet Cytogenet. 2005 Амкг;161(1):51-6). Ці клітини вводили разом з радіозахисною дозою приблизно  $5 \times 10^6$  нормальних клітин кісткового мозку від миші-донора віком 3-5 тижнів. Реципієнтам вводили антибіотики у воді і спостерігали щоденно. Мишей, що захворіли, приблизно через 14 днів вбивали і лімфоїдні органи вилучали для аналізу. Лікування інгібітором кінази починається приблизно через 10 днів після ін'єкції лейкемічних клітин і продовжують щоденно до захворювання мишей або до приблизно 35-го дня після трансплантації. Інгібітори вводять перорально.

У пілотному експерименті хіміотерапевтичні дози, що не були лікувальними, затримували розвиток лейкемії приблизно на 1 тиждень або менше; контролюми були ті що отримували носій або лікування хіміотерапевтичним агентом, який, як було встановлено, не лікує лейкемогенезу у цій моделі (наприклад, іматиніб, приблизно 70 мг/кг двічі на день). Для першої фази використано p190 клітини, що експресують eGFP і аутопсійний аналіз обмежено обчисленням % лейкемічних клітин у кістковому мозку, селезінці і лімфовузлах (LN) потоковою цитометрією. У другій фазі використано p190 клітини, що експресують безхвостову форму людської CD4 і аутопсійний аналіз включає магнітне сортування клітин hCD4+ селезінки з подальшим імуноблотним аналізом ключових сигнальних кінцевих вузлів: pAkt -T308 і S473; pS6 і p4EBP-1.

Як контролю для імуноблотного виявлення сортовані клітини інкубують у присутності або відсутності інгібіторів кінази згідно з винаходом перед лізисом, як варіант, використовують "phosflow" для виявлення pAkt-S473 і pS6-S235/236 у керованих hCD4 клітинах без попереднього сортування. Ці дослідження сигналізації є, зокрема, корисними, якщо, наприклад, миші, що отримували медикамент, не показали розвитку клінічної лейкемії на 35 день. Були побудовані графіки Каплана-Мейєра (Kaplan-Meier) виживання і виконаний статистичний аналіз відомими способами. Результати від p190 клітин відділено як кумулятивні.

Зразки периферійної крові (100-200 мкл) отримували щотижня від усіх мишей, починаючи з 10-го дня перед початком лікування. Плазму, використану для вимірювання концентрацій медикамент у клітині, аналізували на маркери лейкемії (eGFP або hCD4) і сигнальні біомаркери.

Цей загальний аналіз може бути використаний для демонстрації того, що ефективні терапевтичні дози сполук, описаних тут, можуть бути використані для пригнічення проліферації лейкемічних клітин.

Приклад 43: Клітинна культура епітеліальних клітин очного походження

Окулярні епітеліальні клітини отримують через 5 днів з роговиць, збережених у холоді в Optisol (Bausch і Lomb, Irvine, CA) або рогівкової біопсії від живих донорів. Тканини промивають буферованим фосфатом розсолу і інкубують у Dispase II (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) при 37 °C протягом 30 хвил. і епітеліальну поверхню обережно скоблють, щоб відділити епітелій від строми. Відділений епітелій інкубують і вносять піпеткою у трипсин-етилендіамінтетраоцтову кислоту для отримання суспензії одиночних клітин. Трипсин потім нейтралізують епітеліальним (рогівковим) культурним середовищем. Рогівкове епітеліальне культурне середовище складається з Dulbecco модифікованого Eagle середовища: базальне середовище F12 у відношенні 2:1 містить 10 %-ну опромінену сироватку бичачого зародка, гідрокортизон - 0,4 мкг/мл, холерний токсин - 0,1 нмоль, рекомбінантний людський інсулін - 5 мкг/мл і епідермальний фактор росту - 10 нг/мл, антимікробний пеніцилін (100 один./мл), стрептоміцин (100 мкг/мл) і амфотерицин В (0,25 мкг/мл). Клітини утримують у субкультурі у відношення 1:4 після досягнення 80 %-ї конфлюентності. Окулярні епітеліальні клітин перевіряють на пригнічення проліферації або токсичність контактуванням випробуваної сполуки з клітин і аналізують на життєздатність, використовуючи комерційний аналіз MTT (Promega).

Приклад 44: Клітинна культура ендотеліальних клітин очного походження

Усі тканини витримують при 4 °C у середовищі зберігання (Optisol; Chiron Vision, Irvine, CA) протягом менше 10 днів перед дослідженням. Тканини промивають тричі DMEM з 50 мг/мл гентаміцину і 1,25 мкг/мл амфотерицину В. Центральну роговицю видаляють тріфінном діаметром 8 мм. Потім мембрану Десемета (Descemet) і рогівкові ендотеліальні клітини очищають від задньої поверхні периферальної рогівкової тканин під анатомічним мікроскопом і визрівають при 37 °C протягом 1,5-16 год. з 2 мг/мл колагенази А у додатковому гормональному епітеліальному середовищі (SHEM), приготовленому з однакових об'ємів буферованого HEPES DMEM і F12 Гема (Ham), доповненого 5 % FBS, 0,5 % ДМСО, 2 нг/мл мишачого EGF, 5 мкг/мл інсуліну, 5 мкг/мл трансферину, 5 нг/мл селену, 0,5 (мкг/мл гідрокортизону, 1 нМ холерного токсину, 50 мкг/мл гентаміцину і 1,25 мкг/мл амфотерицину В. Після визрівання HSEC агрегуються, їх збирають центрифугою при 2000 об./хвил. протягом 3 хвил. для видалення розчину визрівання. Як контроль стрічки мембран Десемета також дозрівали у 10 мг/мл Dispase II SHEM і трипсин/EDTA протягом не більше 3 год.

Консервація ізолюваних агрегатів HSEC.

Отримані агрегати HSEC консервують у KSFM з повним доповненням (середовище зберігання 1), DMEM/F12 з додатковими KSFM (середовище зберігання 2) або DMEM/F12 з додатковим SHEM без FBS (середовище зберігання 3). Усі ці середовища не містять сироватки, головною різницею між ними є концентрація кальцію, яка становить 0,09 мМ у середовищі зберігання 1, але 1,05 мМ у середовищах зберігання 2 і 3. Агрегати HSEC зберігаються в інкубаторі тканинної культури при 37 °C до 3 тижнів. Визначають життєздатність клітин (Live and Dead assay; Invitrogen) і також оцінюють субкультуванням їх у SHEM.

Експансія ізолюваних агрегатів HSEC

Отримані агрегати HSEC негайно після визрівання або після періоду консервації у середовищі зберігання культивують у SHEM з додаванням (або без) факторів росту, наприклад, 40 нг/мл bFGF, 0,1 мг/мл BPE і 20 нг/мл ngF на пластиковому лотку при 37 °C і 5 % CO<sub>2</sub>. Середовище заміняють кожні 2-3 дні. Деякі агрегати HSEC попередньо обробляють трипсином/EDTA при 37 °C протягом 10 хвил. для розщеплення ендотеліальних клітин перед цією культивацією.

Імунозабарвлення

Агрегати HSEC заглиблюють у OCT і піддають дисекції у замороженому стані. Кріосекції по 4 мкм сушать повітрям при кімнатній температурі (RT) 30 хвил. і фіксують у холодному ацетоні 10 хвил. при -20 °C. Секції, призначені для імунозабарвлення, регідрують PBS і інкубують у 0,2 % Triton X-100 10 хвил. Після трьох промивань PBS протягом 5 хвил. кожне і інкубації з 2 % BSA для блокування неспецифічного забарвлення, секції інкубують з антиамініном 5, колагеном типу IV, неплеканом, ZO-1 і антитілами конексину 43 (всі при 1:100) протягом год.

Після трьох промивань PBS протягом 15 хвил. секції інкубують з FITC-кон'югованим вторинним антитілом (козячим анти-кролячим або анти-мишачим IgG при 1:100) протягом 45

хвил. Після трьох додаткових промивань PBS, кожне протягом 10 хвил., їх піддають контрастуючому забарвленню пропідійодидом (1:1000) або Hoechst 33342 (10 мкг/мл), потім змішують з розчином проти блякнення і аналізують флуоресцентним мікроскопом. Культуру HCEC у 24-комірковому планшеті або камерних слайдах фіксують у 4 %-му параформальдегіді 15 хвил. при кімнатній температурі і забарвлюють анти-ZO-1 і антитілами конексину 43, як описано. Для імуногістохімічного забарвлення Ki67, активність ендогенної пероксидази блокують 0,6 %-м гідроген пероксидом протягом 10 хвил. Неспецифічне забарвлення блокують 1 %-ю нормальною козячою сироваткою протягом 30 хвил. Клітини потім інкубують з анти-Ki67 антитілом (1:100) протягом 1 год. Після трьох промивань PBS протягом 15 хвил. клітини інкубують біотинілованим кролячим анти-мишачим IgG (1:100) 30 хвил., потім інкубують з ABC протягом 30 хвил. Реакційний продукт проявляють з DAB протягом 5 хвил. і перевіряють світловим мікроскопом.

#### Життєздатність клітин і аналізи TUNEL

Аналіз (TUNEL) життєздатності клітин і термінальної дезоксирибонуклеотидильної опосередкованої трансферазою з'єднаною FITC dUTP ДНК використовують для визначення апоптотичних клітин, відповідно. Агрегати HCEC інкубують з реагентами аналізу життєздатності клітин протягом 15 хвил. при кімнатній температурі. Живі клітини мітять зеленим флуоресцентним забарвленням цитоплазми клітини і мертві клітини забарвлюють червоною флуоресценцією у ядрі. Аналіз TUNEL проводять згідно з інструкціями виробника. Поперечні перетини агрегатів HCEC фіксують у 4 %-му параформальдегіді протягом 20 хвил. при кімнатній температурі і підвищують проникність 1 %-м Triton X-100. Зразки потім інкубують протягом 60 хвил. при 37 °C з екзогенним TdT і флуоресцеїновим dUTP для відновлення пошкоджених 3'-гідроксильних кінців ДНК.

Клітини обробляють DNase I як позитивний контроль, а негативні контрольні клітини інкубують з буфером без ферменту rTdT. Апоптотичні ядра мітять зеленою флуоресценцією.

#### Приклад 45: Клітинна культура ретинальних клітин

Очі розрізають навпіл по екватору і нейронну сітчатку відтинають від передньої частини ока у буферованому сольовому розчині стандартними способами. Сітчатку, циліарне тіло і склоподібне тіло відділяють від передньої половини ока як одне ціле і сітчатку обережно відділяють. Кожну сітчатку дисоціюють папаїном (Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, N.J.), потім деактивують сироваткою бичачого зародка (FBS) і додають 134 Kunitz один./мл DNaseI. Ферментативно дисоційовані клітини перетирають і збирають центрифугуванням, суспендують модифікованому Dulbecco середовищі Eagle (середовище DMEM)/F12 (Gibco BRL, Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, Calif.) з 25 мкг/мл інсуліну, 100 мкг/мл трансферину, 60 мкМ путресцину, 30 нМ селену, 20 нМ прогестерону, 100 один./мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину, 0,05 М Нерес і 10 % FBS. Дисоційовані клітини первинної сітчатки 1 планшетуєть на покриті Poly-D-lysine- і Matrigel- (BD, Franklin Lakes, N.J.) скляні покривні стекла, які вносять у 24-комірковий планшет для тканинних культур (Falcon Tissue Culture Plates, Fisher Scientific, Pittsburgh, Pa.). Клітини витримують у культурі від 5 днів до 1 місяця 0,5 мл середовища (як описано вище, але з лише 1 % FBS) при 37 °C і 5 % CO<sub>2</sub>.

#### Імуноцитохімічний аналіз

Нейронні клітини сітчатки 1 культивують протягом 1, 3, 6 і 8 тижнів у присутності і відсутності випробуваних сполук винаходу і клітини аналізують імуногістохімією кожного разу. Імуноцитохімічний аналіз проводять за стандартними процедурами. Стрижневі фоторецептори ідентифікують, помічаючи специфічним до родопсину антитілом (мишаче моноклональне, розрідження 1:500; Chemicon, Temecula, Calif). Антитіло до середнього нейроволокна (NFM кроляче поліклональне, розрідження 1:10000, Chemicon) використовують для ідентифікації гангліонних клітин; антитіло до [53-тубулін (G7121 мишаче моноклональне, розрідження 1:1000, Promega, Madison, Wis.) використовують для загальної ідентифікації інтернейронів і гангліонних клітин і антитіло до кальбіндину (AB1778 кроляче поліклональне, розрідження 1:250, Chemicon) і кальретиніну (AB5054 кроляче поліклональн, розрідження 1:5000, Chemicon) використовують для ідентифікації субпопуляцій інтернейронів, що експресують кальбіндин і кальретинін у внутрішньому нуклеарному шарі.

Клітинні культури сітчатки 1 фіксують 4 %-м параформальдегідом (Polysciences, Inc, Warrington, Pa.) і/або етанолом, промивають у буферованому фосфатом розсолі (DPBS) Dulbecco і інкубують первинним антитілом протягом 1 год. при 37 °C. Потім клітини промивають DPBS, інкубують з вторинним антитілом (Alexa 488- або Alexa 568-кон'юговані вторинні антитіла (Molecular Probes, Eugene, Oreg.) і промивають DPBS. Ядра забарвлюють 4',6-діамідино-2-феніліндолом (DAPI, Molecular Probes) і культури промивають DPBS і потім видалають покривні

стекла і розміщують на Fluoromount-G (Southern Biotech, Birmingham, Ala.) на скляних слайдах для огляду і аналізу.

#### Приклад 46: Матригельний аналіз ангиогенезу

Матригеловмісні випробувані сполуки вводять ін'єкцією підшкірно або інтраокулярно, де вони твердіють, утворюючи пробку, яку видаляють через 7-21 і гістологічним дослідженням визначають, наскільки кров'яні судини проникли у неї. Ангіогенез вимірюють квантуванням судин у гістологічних зрізах.

В іншому варіанті проводять флюоресцентне вимірювання об'єму плазми з використанням міченого флуоресцеїном ізотіоціанатом (FITC) декстрану 150. Результати можуть показати, що одна або більше сполук, описаних тут, пригнічують ангиогенез і, як вважають, можуть бути корисними у лікуванні очних розладів, пов'язаних з аберантним ангиогенезом і/або васкулярною проникністю.

#### Приклад 47: Аналіз ангиогенезу роговиці

У роговиці роблять кишеньку і вносять у кишеньку пробка, що містить рецептуру, що викликає ангиогенез (наприклад VEGF, FGF або пухлинні клітини), викликають вrostання нових судин з периферійної судинної мережі. Для внесення речовини, що сприяє ангиогенезу, у роговкову кишеньку використовують матеріали повільного вивільнення, наприклад, EL VAX (етилен-вініловий співполімер) або гідрон. В іншому варіанті використовують губчастий матеріал.

Дію очікуваних інгібіторів на локально індуковану (наприклад, губчастим імплантатом) ангиогенну реакцію у роговиці (наприклад, FGF, VEGF або пухлинні клітини) викликають випробуваною сполукою, яку вводять перорально, системно або безпосередньо в око. Системне введення здійснюють болюсною ін'єкцією або, більш ефективно, використовуючи затримане вивільнення, наприклад, імплантацією осмотичного насоса, зарядженого інгібітором. Введення в око проводять будь-яким з описаних тут способів, включаючи (не лише) очні краплі, топічне введення крему, емульсії або желе, ін'єкцією у склоподібне тіло.

Моніторинг васкулярної реакції проводять прямим спостереженням протягом експерименту з використанням стереомікроскопу у мишах. Вирішальну візуалізацію роговкових судин проводять введенням міченого флуорохромом високомолекулярного декстрану. Квантування проводять вимірюванням зони проникнення судин, прогресу судин у відповідь на ангиогенну стимуляцію з часом або, у випадку флуоресценції, гістограмним аналізом або підрахунком пікселів вище заздалегідь визначеного (фонового) порогу.

Результати вказують, що одна або більше сполук, описаних тут, пригнічують ангиогенез і можуть бути корисними у лікуванні очних розладів, пов'язаних з аберантним ангиогенезом і/або васкулярною проникністю.

#### Приклад 48: Мікротитрувальний планшет для аналізу ангиогенезу

Аналітичний планшет приготують внесенням на дно кожної комірки колагенної пробки з 5-10 клітинними сфероїдами у кожній. Кожний сфероїд містить 400-500 клітин. Кожну колагенну пробку покривають 1100 мл середовища зберігання у кожній комірці і зберігають для подальшого використання (1-3 дні при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>). Планшет герметизують. Випробувані сполуки розчиняють у 200 мкл аналітичного середовища, причому щонайменше одна комірка містить VEGF-позитивний контроль і щонайменше одна комірка не містить VEGF або випробуваної сполуки і є негативним контролем. Аналітичний планшет виймають з інкубатор і середовище зберігання обережно видаляють піпеткою. Аналітичне середовище, що містить випробувані сполуки піпеткою вносять на колагенну пробку. Пробку вносять у зволожений інкубатор (37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>) на 24-48 год. Ангіогенез квантують підрахунком кількості паростків, вимірюванням середньої довжини паростка або визначенням кумулятивної довжини паростка. Аналіз може бути законсервований на майбутнє видаленням аналітичного середовища, доданням 1 мл 10 %-го параформальдегіду Hanks BSS у кожну комірку і зберіганням при 4 °C. Результати дозволяють ідентифікувати сполуки, що пригнічують ангиогенез у тестованих клітинах різних типів, включаючи клітини окулярного походження.

#### Приклад 49: Аналіз активації В-клітин, незалежно від Т-клітин TNP-Ficoll

Для випробування дії сполук винаходу у пригніченні продукування антитіла, незалежного від Т-клітин використовують описаний тут аналіз активації В-клітин TNP-Ficoll. Сполуки винаходу розчиняють у належному носії (наприклад 5 %-му 1-метил-2-піролідіноні, 85 %-му поліетилен гліколі 400, 10 %-му Solutor). Сполуки вводять перорально приблизно за годину до 1 год. перед введенням TNP-Ficoll 4-10-тижневим мишам. Для вивчення дії сполук на активацію В-клітин, одну сукупність мишей згрупували згідно з Таблицею:

№ групи	Мишей у групі	Введений преп.	Група	Ін'єкція Антигену у день 1		Введення сполуки з дня 1 до дня 7		
				TNP-F	Шлях	мг/кг	Шлях	Режим
1	4	Носії	Лише антиген	200 мкл (0,5 мг/мл)	інтра-перит.	0	перо-рально	BID протягом 7 днів
2	8	-	Лише антиген			0		
3	8	Сполука 7	еталон			30		
4	8	Сполука 53	Антиген + препарат			1		
5	8					3		
6	8					10		
7	8					30		
8	8					60		

Чотири тварини у групі 1 і 8 тварин у групах 2-7 були вбиті у CO<sub>2</sub> через 2 год. після останнього введення сполуки у ден 7. Кров негайно зібрали кардіопунктурою і витримували при 37 °С 1 год. для її згортання, потім протягом ночі інкубували при 4 °С для скорочення згустків. Наступного дня сироватку збирали зливанням і центрифугували при 3000 об./хвил. протягом 10 хвил. Зібрану сироватку заморозили при -80 °С для майбутнього аналізу.

Зразки сироватки аналізували на титри анти-TNP антитіла ELISA. TNP-BSA накладали на мікротитрувальний планшет Nunc Maxisorb (100 мкл/комірка) при концентрації 10 мкг/мл буферованого фосфатом розсолу (PBS). Планшет Maxisorb інкубували 1,5 год. при кімнатній температурі і розчин видаляли. Додали 200 мкл/комірка блокувального буферу (наприклад 1 % BSA у PBS) і інкубували 1 год. при кімнатній температурі. Планшет промивали 200 мкл/комірка PBS 0,05 % Tween-20 (промивний буфер). Розріджену (1:2) сироватку від кожної миші у блокувальному буфері додавали у кожну комірку першої колонки (1) мікро-титрувального планшету. Сироватку у кожній комірці колонки 1 розріджували 3 рази у блокувальному буфері і додавали у колонку 2. Сироватку кожній комірці колонки 2 розріджували 3 рази у блокувальному буфері і додавали у колонку 3.

Процедуру повторили для 12 колонок мікротитрувального планшету. Мікротитрувальний планшет інкубували 1 год. при кімнатній температурі. Сироватку видаляли з планшету і планшет промивали тричі промивним буфером. Додавали 100 мкл/комірка козячого анти-мишачого IgG3-HRP з розрідженням 1:250 у блокувальному буфері у кожну комірку і інкубували 1 год. при кімнатній температурі. Анти-мишачий IgG3-HRP видаляли і планшет промивали 6 разів промивним буфером. HRP субстрат (200 мкл розчину ABTS+30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+10 мл цитратного буферу) додавали у кожну комірку (100 мкл/комірка), інкубували 2-20 хвил. у темряві і кількість анти-TNP IgG3 визначали спектрофотометрією при 405 нм. Анти-TNP IgM і повний анти-TNP Ab визначали з використанням анти-мишачого IgM-HRP і анти-мишачого Ig-HRP відповідно.

Результати показано на фіг. 2, де в умовах тесту сполуки 7 і 3 показують 3-, 4- і 6,5-разове зниження рівня IgG3 відносно носійних контрольних мишей при дозі 30 мг/кг. Фіг. 2 також показує, що сполука 3 показує s 29,9-разове зниження рівнів IgG3 відносно носійних контрольних мишей при дозі 60 мг/кг.

Приклад 50: Аналіз розвитку артриту, індукованого колагеном Типу II у щура

Для вивчення дії сполук винаходу на аутоімунну хворобу артрит, використовують модель індукованого колагеном артриту. Самицям щура Lewis ін'єкцією вводили колаген у день 0. Колаген бичачого типу II приготувляли як 4 мг/мл розчин у 1N оцтовій кислоті. Однакові об'єми колагену і неповного ад'юванту Фройнда емульсифікували ручним змішуванням до формування емульсифікованого матеріалу у воді. Кожна тварина отримала 300 мкл ін'єкцією суміші у трьох місцях на спині.

Пероральне введення сполук починали у день 0 і продовжували до дня 16 з носієм (5 % NMP, 85 % PEG 400,10 % Solutol) або сполуками винаходу у носії, або контролем (наприклад, метотрексат) з 12 год. інтервалами щоденно. Щурів зважували у дні 0, 3, 6, 9-17 і вимірювали щиколотки у дні 9-17. Виміряли кінцеву вагу тіла і тварин вбивали у день 17. Після цього відбирали кров і видаляли лапи і коліна. Кров обробляли для фармакокінетичних експериментів а також для аналізу ELISA антитіла анти-20 колагену типу II. Задні лапи зважували і коліна консервували у 10 %-му формаліні. Лапи і коліна обробляли для мікроскопії. Печінку, селезінку і тимус також зважували. Сідничні нерви приготувляли для гістопатології.

Колінні і щиколоткові суглоби фіксували протягом 1-2 днів і декальцифікували протягом 4-5 днів. Щиколоткові суглоби розрізали навпіл поздовжньо, коліна розрізали навпіл уздовж

фронтальної площини. Суглоби обробляли, закріплювали, розсікали і забарвлювали толуїдиною синькою. Оцінювання суглобів виконували згідно з такими критеріями:

Запалення коліна і щиколотки

0 = нормальний стан

5 1 = Мінімальна інфільтрація запальних клітин у синовіальну/навколосуглобну тканину

2 = Незначна інфільтрація

3 = Помірна інфільтрація з помірним набряком

4 = Помітна інфільтрація з помітним набряком

5 = Значна інфільтрація з значним набряком

10 Панус щиколотки

0 = Норма

1 = Мінімальна інфільтрація панусу у хрящ і субхондральну кістку

2 = Незначна інфільтрація (<1/4 великої голінкової кістки або передплюсна у маргінальних зонах)

15 3 = Помірна інфільтрація (від 1/4 до 1/3 великої голінкової кістки або малої передплюсна у маргінальних зонах)

4 = Помітна інфільтрація (1/2-3/4 великої голінкової кістки або передплюсна у маргінальних зонах)

5 = Значна інфільтрація (>3/4 великої голінкової кістки або передплюсна у маргінальних зонах, значна деформація усієї архітектури)

20 Панус коліна

0 = Норма

1 = Мінімальна інфільтрація запальних клітин у хрящ і субхондральну тканину

25 2 = Незначна інфільтрація (покриває 1/4 поверхні або субхондральної зони великої голінкової кістки або стегна)

3 = Помірна інфільтрація (покриває >1/4, але < 1/2 поверхні або субхондральної зони великої голінкової кістки або стегна)

4 = Помітна інфільтрація (покриває 1/2-3/4 великої голінкової кістки або поверхні стегна)

5 = Значна інфільтрація (покриває >3/4 поверхні)

30 Пошкодження хряща (щиколотка, особливо малі передплюсна)

0 = Норма

1 = Мінімальне (мінімальна або незначна втрата толуїдиною синьки без очевидної втрати хондроциту або руйнування колагену)

35 2 = Незначне (незначна втрата толуїдиною синьки з мультифокальними незначними (середня зона) втратою хондроциту і/або руйнуванням колагену, і враженням менших передплюсен до 1/2-3/4 глибини)

3 = Помірне (помітна втрати толуїдиною синьки з мультифокальними помірними (глибина - середня зона) втратою хондроциту і/або руйнуванням колагену, або більше малих передплюсен мають часткову втрату товщини хряща)

40 4 = Помітне (помітна втрати толуїдиною синьки з мультифокальними помітними (глибинна зона) втратою хондроциту і/або руйнуванням колагену, або більше малих передплюсен мають повну втрату товщини хряща)

5 = Значне (значна дифузна втрата толуїдиною синьки з значними (з глибини до точки зміни) втратою хондроциту і/або руйнуванням колагену)

45 Пошкодження хряща (Коліно, особливо стегнові кондили)

0 = Норма

1 = Мінімальне (мінімальна або незначна втрата толуїдиною синьки без очевидної втрати хондроциту або руйнування колагену)

50 2 = Незначне (незначна втрата толуїдиною синьки з фокальними незначними (поверхневими) втратою хондроциту і/або руйнуванням колагену)

3 = Помірне (помірна втрата толуїдиною синьки з фокальними незначними (глибинна зона) втратою хондроциту і/або руйнуванням колагену)

4 = Помітне (помітна втрата толуїдиною синьки з фокальними незначними (глибина-глибинна зона) втратою хондроциту і/або руйнуванням колагену, або повна або майже повна втрата на одній стегновій поверхні)

55 5 = Значне (значна дифузна втрата толуїдиною синьки з мультифокальними значними (з глибини до точки зміни) втратами хондроциту і/або руйнуванням колагену на обох стегнах і/або великій голінковій кістці.

Ресорбція кістки (Щиколотка)

60 0 = Норма



1 = Мінімальна (невеликі зони ресорбції, не дуже помітні при малому збільшенні, рідкі остеокласти)

2 = Незначна (більше зон ресорбції, не дуже помітних при малому збільшенні, більше остеокластів, ресорбція у <1/4 великої голінкової кістки або передплюсен у маргінальних зонах)

5 3 = Помірна (очевидна ресорбція медулярної трабекулярної і кортикальної кістки без повних дефектів у корі, втрата деяких медулярних трабекул, пошкодження, помітні при низькому збільшенні, більше остеокластів, 1/4-1/3 великої голінкової кістки або передплюсен пошкоджені у маргінальних зонах)

10 4 = Помітна (дефекти на повній товщині у кортикальній кістці, часто з деформацією профілю залишку кортикальної поверхні, помітна втрата медулярної кістки, численні остеокласти, 1/2-3/4 великої голінкової кістки або передплюсен пошкоджено у маргінальних зонах)

15 5 = Значна (дефекти на усій товщині у кортикальній кістці, часто з деформацією профілю залишку кортикальної поверхні, помітна втрата медулярної кістки, численні остеокласти, >3/4 великої голінкової кістки або передплюсен пошкоджено у маргінальних зонах, значна деформація усієї архітектури)

Ресорбція кістки (Коліно)

0 = Норма

1 = Мінімальна (невеликі не дуже помітні при малому збільшенні, рідкі остеокласти)

20 2 = Незначна (численні зони ресорбції, явна втрата субхондральної кістки, включаючи 1/4 великої голінкової кістки або стегнової поверхні (серединна або бічна)

3 = Помірна (очевидна ресорбція субхондральної кістки, включаючи >1/4 - <1/2 великої голінкової кістки або стегнової поверхні (серединна або бічна)

4 = Помітна (очевидна ресорбція субхондральної кістки, включаючи >1/4 - <3/4 великої голінкової кістки або стегнової поверхні (серединна або бічна)

25 5 = Значна (деформація усього суглоба внаслідок руйнування, яке включає >3/4 великої голінкової кістки або стегнової поверхні (серединна або бічна)

30 Статистичний аналіз ваги тіла/лапи, площі під кривою параметрів і гістопатологічних параметрів проводили з використанням критерію Стюдента або іншого придатного критерію (ANOVA з пост-тестом) значущістю з довірчим інтервалом 5 % рівня значущості. Пригнічення (%) маси лапи і площі під кривими обчислювали з використанням формул:

% пригнічення =  $A - B/A \times 100$

A = Середнє контролів - Середня норма

B = Середнє оброблених - Середня норма

35 Фіг. 3 - дія сполуки 3 при дозах 10, 30 і 60 мг/кг з 12-годинним інтервалом на середньому діаметрі щиколотки у функції часу у моделі індукованого колагеном типу II артриту у щура. Відносно контролю з лише носієм і метотрексатного контролю сполуки винаходу показують значне зниження викликаного артритом збільшення діаметру щиколотки.

40 Фіг. 4 - дія сполук 7 і 53 на гістопатологію щиколотки у категоріях запалення, панусу, пошкодження хряща і ресорбції кістки. Результати показують значне зниження в одній або більше категоріях одною з сполук винаходу (сполукою при 53); показано також, що при 60 мг/кг є статистично значуще зниження в усіх категоріях гістопатології щиколотки для одної з сполук винаходу (сполуки 53), тобто одна або більше сполук винаходу можуть бути корисними для лікування і полегшення симптомів артриту.

45 Фіг. 5 - дія сполук 7 і 53 на гістопатологію коліна, де показано залежне від дози зниження у гістопатології коліна, тобто одна або більше сполук винаходу можуть бути корисними для лікування і полегшення симптомів артриту.

50 Фіг. 6 - дія сполук 7 і 53 на рівні колагену антитипу II у сироватці і також значне зниження при дозах 10, 20 і 60 мг/кг цих рівнів для сполуки 53, тобто одна або більше сполук винаходу можуть бути корисними для лікування і полегшення симптомів артриту для пригнічення самої аутоімунної реакції.

Фіг. 7 - дія сполуки 7 при дозах 10, 30 і 60 мг/к Відносно контролю з лише носієм і метотрексатного контролю сполуки винаходу показують значне зниження викликаного артритом збільшення діаметру щиколотки.

Приклад 51: Аналіз артриту у щура, викликаного колагеном типу II

55 Для виявлення доз сполук винаходу, що ефективно пригнічують запалення, у день 7 виміряють руйнування хряща і ресорбцію кістки при викликаному колагеном типу II артриті у щурів. Сполуки вводять перорально один або два рази на день протягом 6 днів.

60 Самиць щура Lewis анестезували і ін'єкцією вводили колаген, як описано вище, у день 0. У день 6 тварин анестезували і вводили колаген другою ін'єкцією. Виміряли у день 9 нормальні (до хвороби) суглоби лівої і правої щиколотки. У дні 10-11 розвивався артрит, щурів

рандомізовано розподіляли на експериментальні групи після явного набрякання щиколоткового суглоба і спостерігали явну двосторонню хворобу.

Після вибору тварини для дослідження ініціювали лікування пероральним введенням. Тваринам вводили носій, контроль (енбрел) або дози сполуки, один або два рази на день (BID або QD відповідно). Дози вводили у дні 1-6 у розмірі 2,5 мл/кг (BID) або 5 мл/кг (QD) як пероральні розчини. Щурів зважували у дні 1-7 після появи артрит і вимірювали щиколотки щоденно. Остаточну вагу тіла виміряли у день 7 і тварин вбивали. Результати наведено на Фіг. 8, де показано значне зменшення збільшення діаметра щиколотки з часом для сполуки 53 при дозуванні один раз на день.

Фіг. 9 показує значне зниження збільшення діаметру щиколотки для сполуки 53 при введенні дози двічі на день. Це означає, що сполуки винаходу можуть бути корисними для лікування аутоімунних хвороб, наприклад, артриту.

Приклад 52: Аналіз індукованого ад'ювантом артриту

Інtrateкальна катетеризація щурів

Анестезованим ізофлураном щурам Lewis (200-250 г) імплантували інtrateкальний (IT) катетер. Після 6 днів відновлення усі тварини за винятком тих, що мали сенсорні або моторні абнормальності (менше 5 % від повної кількості), були використані для експериментів. Через катетер ін'єкцією вводили 10 мкл медикаменту або розсолу і потім 10 мкл ізотонічного розсолу.

Ад'ювантний артрит і медикаментозне лікування

Щурів Lewis імунізували в основі хвоста 0,1 мл повного ад'юванта Фройнда (CFA) у день 0 через декілька днів після імплантації катетера (n=6/груп). Медикаментозне (наприклад, одною або більше сполуками винаходу або носієм) лікування взагалі починали у день 8 і продовжували щоденно до дня 20. Клінічні ознаки артриту з'явилися у день 10 і набряк лапи визначали через день водозміщуючою плетизмометрією.

Результати наведено на Фіг. 10 як середню зміну об'єму лапи в умовах режиму дозування. Сполука 53 показує залежне від дози зниження збільшення середнього об'єму лапи, виміряне систем моделювання артриту, індукованого ад'ювантом. Ці результати показують, що одна або більше сполук винаходу можуть бути використані для лікування одної або більше хвороб або станів, описаних тут.

Результати, наведені на Фіг. 11 показують, що сполука 53 не виявляє токсичності або інших шкідливих реакцій, що підтверджується виміряною відсутністю втрати ваги.

Приклад 53: Аналіз фармакокінетики у гризунів

Для вивчення фармакокінетики сполук винаходу 4-10-тижневі миші були згруповані згідно з Таблицею:

Група	Мишей у групі	Сполука	Сполуки, введенні у дні 1-7		
			(мг/кг)	Шлях	Режим
1	3		1	перорально	BID 7 днів
2	3		3		
3	3		10		
4	3		30		
5	3		60		

Сполуки винаходу розчиняли у належному носії (наприклад, 5 %-му 1-метил-2-піролідіноні, 85 %-му поліетилен гліколі 400, 10 %-му Solutor) і вводили перорально з 12-годинним інтервалом щоденно. Усіх тварин вбивають у CO<sub>2</sub> через 2 год. після останнього введення сполуки. Кров збирали негайно і утримували на льоду для ізоляції плазми. Плазму ізолюють центрифугуванням при 5000 об./хвил. протягом 10 хвил. Зібрану плазму заморожували для фармакокінетичного дослідження.

Результати дають фармакокінетичні параметри, наприклад, абсорбцію, розподілення, метаболізм, екскрецію і токсичність для сполук винаходу.

Приклад 54: Базотестовий аналіз

Базотестовий аналіз проводять з використанням комплекту реагентів Orpigen Pharma Basotest реагент комплект. Гепаринізовану цільну кров інкубують з випробуваною сполукою або розчинником при 37 °C протягом 20 хвил. Кров потім інкубують з аналітичним стимуляційним буфером (для підготування клітин до реакції) і потім обробляють алергеном (екстракт пилового кліща трав'яний екстракт) протягом 20 хвил. Процес дегрануляції припиняють інкубацією зразків крові на льоду. Клітини потім мітять анти-IgE-PE для виявлення базофільних гранулоцитів і анти-gr53-FITC для виявлення gr53 (глікопротеїн, експресований на активованих базофілах). Після забарвлення червоні кров'яні клітини лізують доданням Lysing Solution. Клітини

промивають і аналізують потоковою цитометрією. У цьому аналізі сполуки 7 і 53 аналізі пригнічували індуковану алергеном активацію базофільних гранулоцитів при субмікромолярних концентраціях.

5 Приклад 55: Комбіноване використання інгібіторів PI3K8 і агентів, що пригнічують продукування або активність IgE

Сполуки винаходу можуть проявляти синергію або додаткову ефективність при введенні у комбінації з агентами, що пригнічують продукування або активність IgE. Агенти, що пригнічують продукування IgE, включають, наприклад, одну або більше таких сполук: TEI-9874,2-(4-(6-циклогексилокси-2-нафтилокси)фенілацетамід)бензойна кислота, рапаміцин, аналоги рапаміцину (тобто рапалоги), інгібітори TORC1, інгібітори TORC2 і будь-які інші сполуки, що пригнічують mTORC1 і mTORC2. Агенти, що пригнічують активність IgE, включають, наприклад, анти-IgE антитіла, наприклад, омальцумаб і TNX-901.

10 Одна або більше сполук винаходу, які мають здатність пригнічувати PI3K6, є ефективними у лікуванні аутоімунних і запальних розладів (AIID), наприклад, ревматоїдний артрит. Якщо будь-яка з сполук викликає небажаний рівень продукування IgE, її можна вводити у комбінації з агентом, що пригнічує продукування або активність IgE. Введення інгібіторів PI3K8 або PI3K5/γ згідно з винаходом у комбінації з інгібіторами mTOR можуть також забезпечити синергічність через поліпшене пригнічення шляху PI3K.

20 Різні in vivo і in vitro моделі можуть бути використані для виявлення ефективності такого комбінованого лікування на AMD, включаючи (не лише) (a) аналіз in vitro продукування В-клітинного антитіла, (b) аналіз in vivo TNP і (c) модель артриту, індукованого колагеном, у гризунів.

#### (a) Аналіз В-клітин

25 Мишей вбивають і селезінку видаляють диспергують через нейлонну сітку для отримання суспензії одиночних клітин. Спленцити промивають (після видалення еритроцитів осмотичним шоком) і інкубують з кон'югованими з антитілом мікрокульками анти-CD43 і анти-Mac-1 (Miltenil Biotec). З'єднані з кульками клітини відділяють від незв'язаних клітин, використовуючи магнітний сортувальник клітин. Намагнічена колонка утримує небажані клітин, а решту В клітин збирають у потоці. Очищені В-клітини стимулюють ліпополісахаридом або анти-CD40 антитілом і інтерлейкіном 4. Стимульовані В-клітини обробляють носієм або носієм з інгібіторами PI3K5 винаходу, наприклад, сполукою 53 з інгібіторами mTOR (або без них), наприклад, рапаміцином, рапалогом або інгібіторами mTORC1/C2. Результати показують, що у присутності лише інгібіторів mTOR (наприклад, рапаміцину), не спостерігається помітної дії IgG і реакцію IgE. Однак, у присутності інгібіторів PI3K8 і mTOR можна очікувати, що В-клітини знижуватимуть реакцію IgG порівняно з реакціями В-клітин, оброблених лише носієм, і В-клітини виявлятимуть знижену реакцію IgE порівняно з реакцією від В-клітин, оброблених лише інгібіторами PI3K8.

#### (b) Аналіз TOR

40 Мишей імунізують TNP-Ficoll або TNP-KHL і обробляють: носієм, інгібітором PI3K8, наприклад, сполукою 53 винаходу, інгібітором mTOR, наприклад, рапаміцином або інгібітором PI3K8 у комбінації з інгібітором mTOR, наприклад, рапаміцином. Специфічність сироватки до антигену IgE виміряють ELISA з використанням покритого TNP-BSA планшету і ізотипно специфічних мічених антитіл. Можна очікувати, що миші, оброблені лише інгібітором mTOR покажуть незначну або відсутню дію на специфічну до антигену реакцію IgG3 і не покажуть статистично значущого підвищення реакції IgE порівняно з контрольним носієм. Також очікується, що миші, оброблені інгібітором PI3K8 і інгібітором mTOR покажуть зниження специфічної до антигену реакції IgG3 порівняно з мишами, обробленими лише носієм. Крім того, миші оброблені інгібітором PI3K8 і інгібітором mTOR виявляють зниження реакції IgE порівняно з мишами, обробленими лише інгібітором PI3K8.

#### (c) Модель артриту, індукованого колагеном, у щура

50 Самиць щура Lewis анестезували і вводили колаген ін'єкцією, як описано вище, у день 0. У день 6 тварин анестезували і робили другу ін'єкцію колагену. У день 9 виміряли нормальні (до хвороби) праву і ліву щиколотки. У дні 10-11 звичайно виявляється артрит і щурів рандомізовано розподіляють на експериментальні групи (після явної появи набряку щиколоткового суглоба і виявлення двосторонності хвороби).

55 Після цього для тварин, вибраних для експериментів, починали обробку. Тваринам давали носій, інгібітор PI3K8 або інгібітор PI3K8 у комбінації з рапаміцином. Препарати вводили у дні 1-6. Щурів зважували і у дні 1-7 після виявлення артриту вимірювали щиколотки щоденно. Остаточну вагу тіла виміряли у день 7 і тварин вбивали.

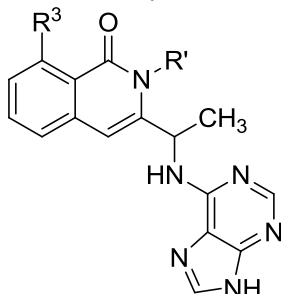
60 Вважається, що комбіноване лікування з використанням інгібітору PI3K8 і рапаміцину забезпечить вищу ефективність, ніж лікування лише інгібітором PI3K8.

Отже, були описані бажані втілення винаходу, але зрозуміло, що ці втілення є лише прикладам. Припустимими є різні варіації, зміни і заміни без виходу за межі об'єму винаходу. На практиці можуть бути використані альтернативні втілення винаходу. Супроводжуюча Формула винаходу визначає об'єм винаходу і способи і структури у межах цього об'єму.

5

# ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб отримання сполуки Формули **1409**:

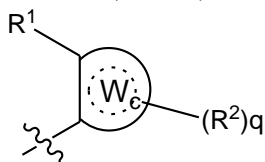


10

**1409**

або її фармацевтично прийнятної солі, в якій

R' - алкіл, аміно, гетероалкіл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або фрагмент Формули II:



, Формула II

15

де W<sub>c</sub> - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл,

q - це ціле число 0, 1, 2, 3 або 4;

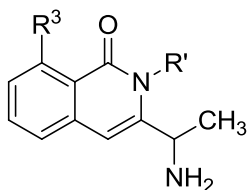
R¹ - гідроген, алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат;

20

в кожному випадку R² незалежно є алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, арилалкілом, гетероарилом, гетероарилалкілом, алкокси, амід, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамід, галогеном, ціано, гідрокси або нітро; та

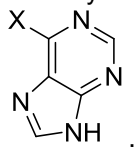
25

R³ - гідроген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, арил або гетероарил; який включає взаємодію сполуки Формули **1407**:



**1407**

зі сполукою формули:

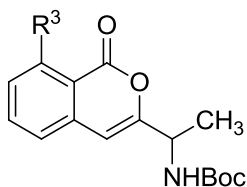
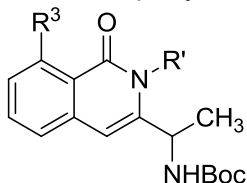
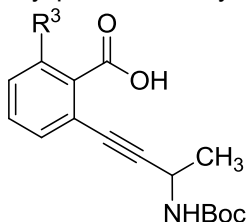


30

в якій X - галоген.

2. Спосіб за п. 1, де X - бром.

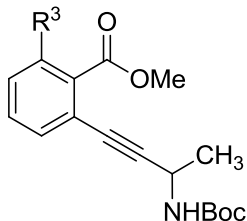
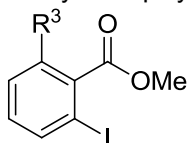
3. Спосіб за п. 1 або 2, де сполуку Формули **1407** отримують за способом, який включає: операцію взаємодії сполуки Формули **1405**:

**1405**з  $\text{NH}_2\text{R}'$ , отримуючи сполуку Формули **1406**:5 , **1406**та операцію зняття захисту зі сполуки Формули **1406**, отримуючи сполуку Формули **1407**.4. Спосіб за п. 3, де операцію зняття захисту здійснюють в присутності  $\text{HCl}$ .5. Спосіб за п. 3 або 4, де сполуку Формули **1405** отримують за способом, який включає внутрішньомолекулярне замикання кільця сполуки Формули **1404** або її солі:

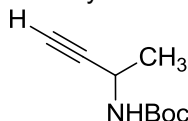
10

. **1404**6. Спосіб за п. 5, де внутрішньомолекулярне замикання кільця здійснюють в присутності  $\text{Pd}(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2$  та TEA.

15

7. Спосіб за п. 5 або 6, де сполуку Формули **1404** або її сіль отримують за способом, який включає взаємодію сполуки Формули **1403** з  $\text{KOH}$ :. **1403**8. Спосіб за п. 7, де сполуку Формули **1403** отримують за способом, який включає сполучення сполуки Формули **1401**:

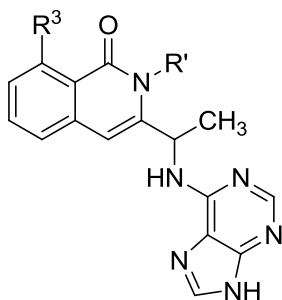
20

**1401**зі сполукою Формули **1402**:. **1402**

25

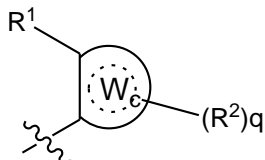
9. Спосіб за п. 8, де сполучення здійснюють в присутності паладієвого каталізатора, йодиду купруму та триетиламіну.

10. Спосіб за п. 9, де паладієвий каталізатор є  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ .11. Спосіб отримання сполуки Формули **1606**:

**1606**

або її фармацевтично прийнятної солі, де

R' - алкіл, аміно, гетероалкіл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл або фрагмент Формули II:



5

, Формула II

в якій W<sub>c</sub> - арил, гетероарил, гетероциклоалкіл або циклоалкіл,

q - це ціле число 0, 1, 2, 3 або 4;

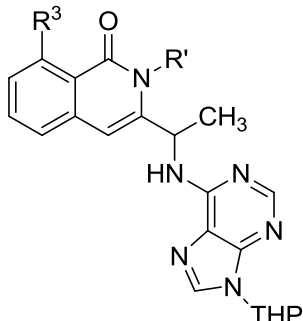
R¹ - гідроген, алкіл, гетероалкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, гетероарил, гетероарилалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, фосфат, сечовина або карбонат;

10

в кожному випадку R² незалежно є алкілом, гетероалкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, арилом, арилалкілом, гетероарилом, гетероарилалкілом, алкокси, амід, аміно, ацилом, ацилокси, алкоксикарбонілом, сульфонамід, галогеном, ціано, гідрокси або нітро; та

15

R³ - гідроген, алкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, алкокси, амід, аміно, ацил, ацилокси, алкоксикарбоніл, сульфонамід, галоген, ціано, гідрокси, нітро, арил або гетероарил; який включає зняття захисту зі сполуки Формули **1605**:

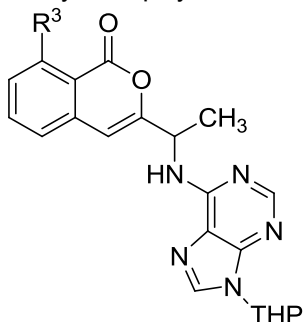


20

**1605**

де зняття захисту здійснюють в присутності кислоти.

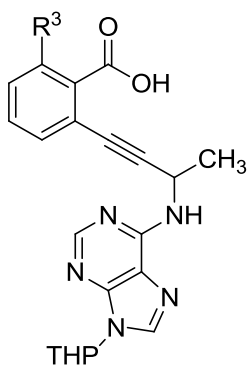
12. Спосіб за п. 11, де сполуку Формули **1605** отримують за способом, який включає взаємодію сполуки Формули **1604** з NH<sub>2</sub>R':



25

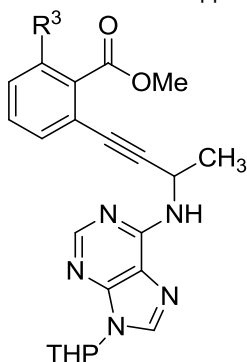
**1604**

13. Спосіб за п. 12, де сполуку Формули **1604** отримують за способом, який включає внутрішньомолекулярне замикання кільця сполуки Формули **1603** або її солі:

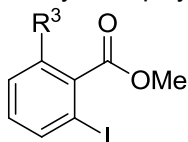
. **1603**

14. Спосіб за п. 13, де внутрішньомолекулярне замикання кільця здійснюють в присутності  $\text{Pd}(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2$  та TEA.

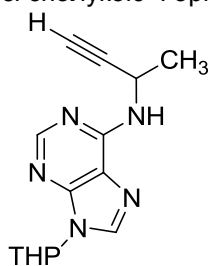
- 5 15. Спосіб за п. 13 або 14, де сполуку Формули **1603** або її сіль отримують за способом, який включає взаємодію сполуки Формули **1602** з KOH:

. **1602**

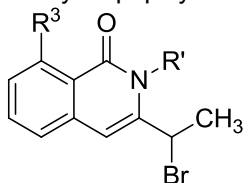
- 10 16. Спосіб за п. 15, де сполуку Формули **1602** отримують за способом, який включає сполучення сполуки Формули **1401**:

**1401**

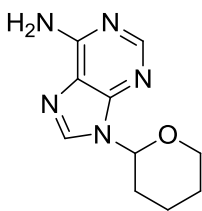
зі сполукою Формули **1601**:

. **1601**

- 15 17. Спосіб за п. 16, де сполучення здійснюють в присутності паладієвого каталізатора, йодиду купруму та триетиламіну.
18. Спосіб за п. 17, де паладієвий каталізатор -  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ .
- 20 19. Спосіб за п. 11, де сполуку Формули **1605** отримують за способом, який включає взаємодію сполуки формули:



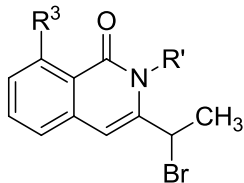
зі сполукою Формули **4104**:



. 4104

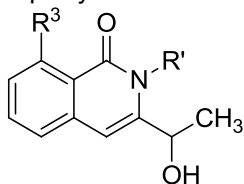
20. Спосіб за п. 19, де отримання сполуки Формули **1605** здійснюють в присутності NaH.

21. Спосіб за п. 19, де сполуку формули:



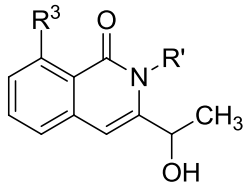
5

отримують за способом, який включає взаємодію сполуки формули:



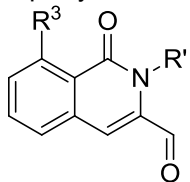
з  $\text{PPh}_3$  та  $\text{CBr}_4$ .

22. Спосіб за п. 21, де сполуку формули:



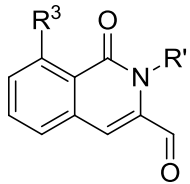
10

отримують за способом, який включає взаємодію сполуки формули:



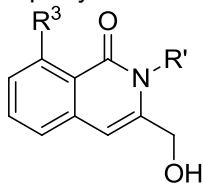
з  $\text{MeMgBr}$ .

23. Спосіб за п. 22, де сполуку формули:



15

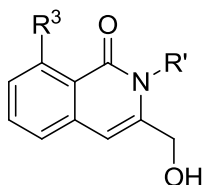
отримують за способом, який включає взаємодію сполуки формули



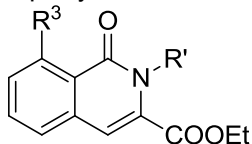
з  $\text{MnO}_2$ .

24. Спосіб за п. 23, де сполуку формули:



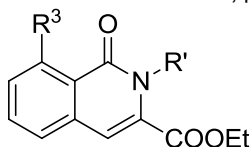


отримують за способом, який включає взаємодію сполуки формули:

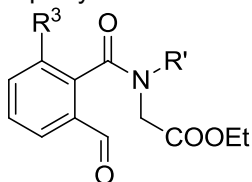


з  $\text{LiAlH}_4$ .

- 5 25. Спосіб за п. 24, де сполуку формули:

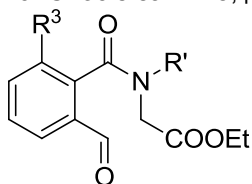


отримують за способом, який включає взаємодію сполуки формули:

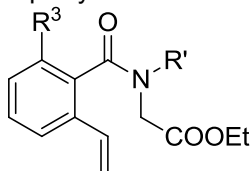


в присутності  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ .

- 10 26. Спосіб за п. 25, де сполуку формули:

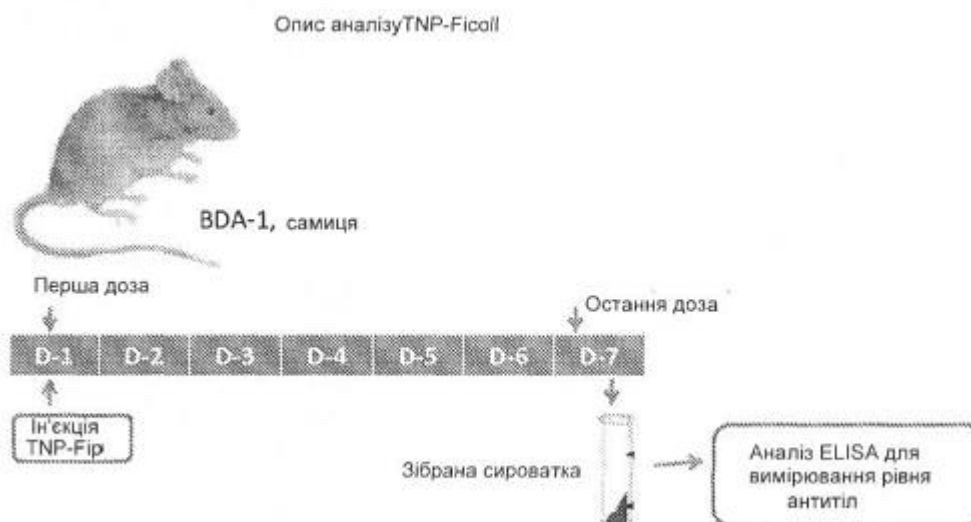


отримують за способом, який включає взаємодію сполуки формули:



з  $\text{OsO}_4$  та  $\text{NaIO}_4$ .

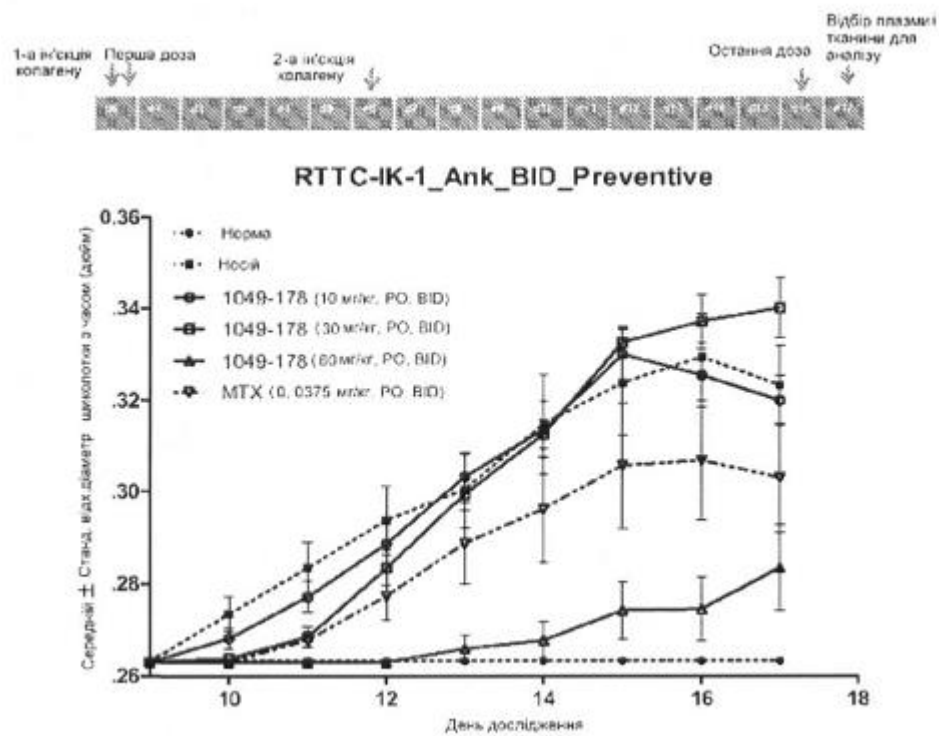
- 15 27. Спосіб за будь-яким одним з пп. 1-26, де  $\text{R}^1$  - гідроген, алкіл або галоген.  
 28. Спосіб за п. 27, де  $\text{R}^1$  - гідроген, метил, ізопропіл або флуор.  
 29. Спосіб за будь-яким одним з пп. 1-28, де  $\text{R}^3$  - гідроген, галоген, алкіл, алкокси або циклоалкіл.  
 30. Спосіб за п. 29, де  $\text{R}^3$  - гідроген, метил, етил,  $-\text{CF}_3$ , хлор або флуор.  
 20 31. Спосіб за п. 30, де  $\text{R}^3$  - метил або хлор.  
 32. Спосіб за будь-яким одним з пп. 1-31, де  $\text{W}_c$  - арил або гетероциклоалкіл.  
 33. Спосіб за будь-яким одним з пп. 1-32, де  $\text{R}'$  - незаміщений феніл.



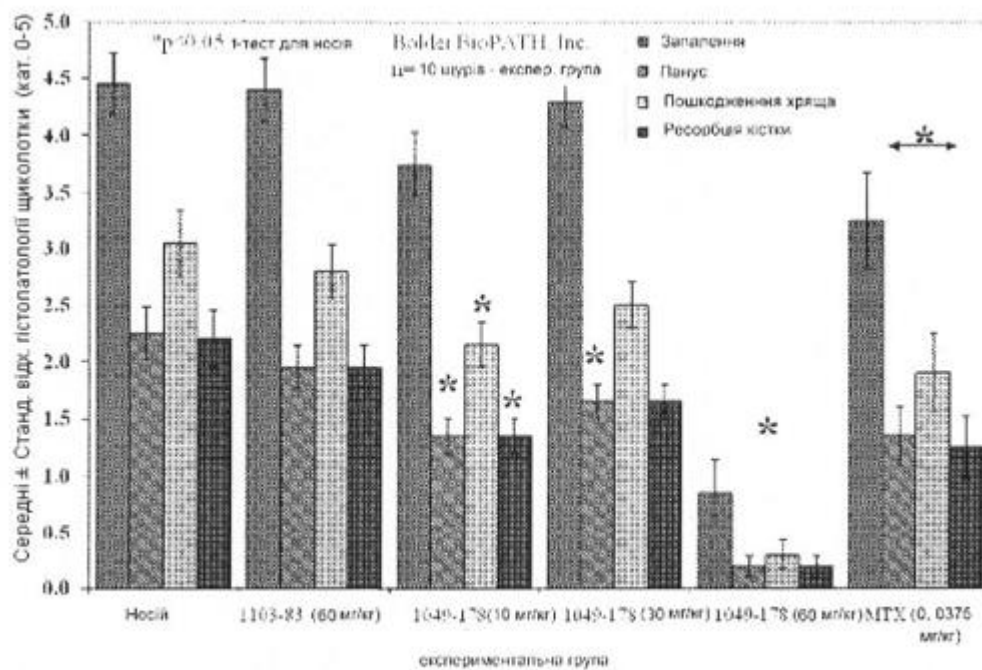
Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4

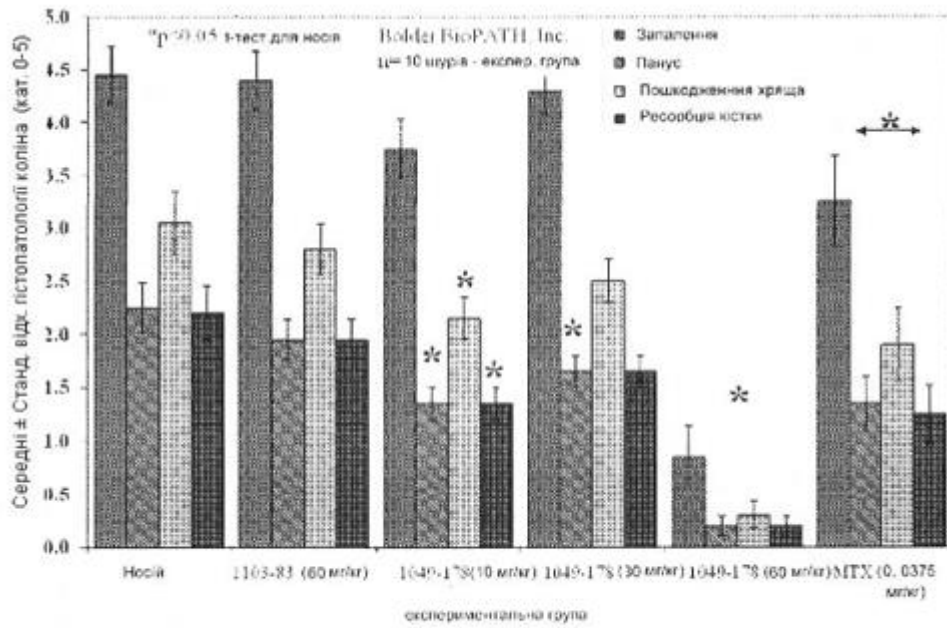


Fig. 5

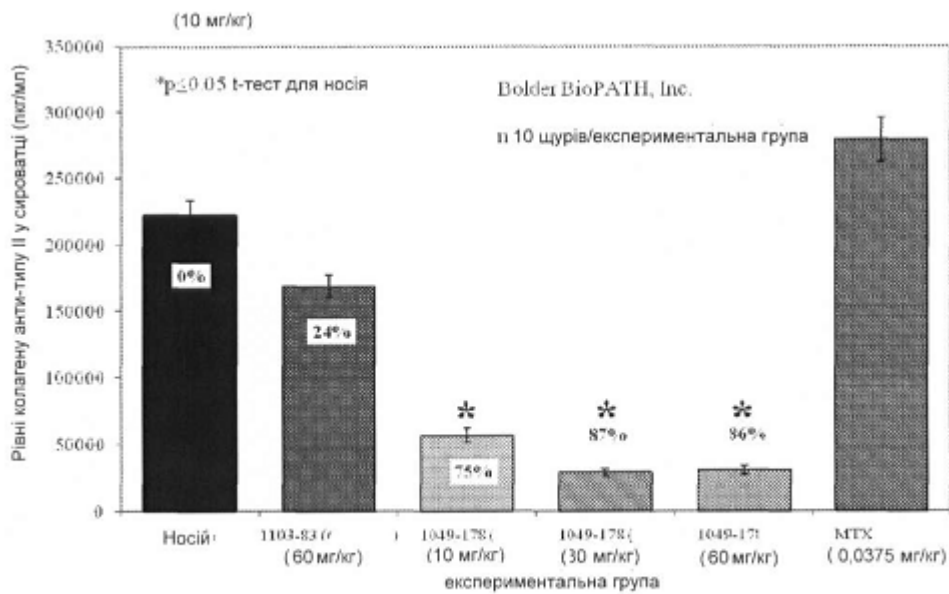


Fig. 6

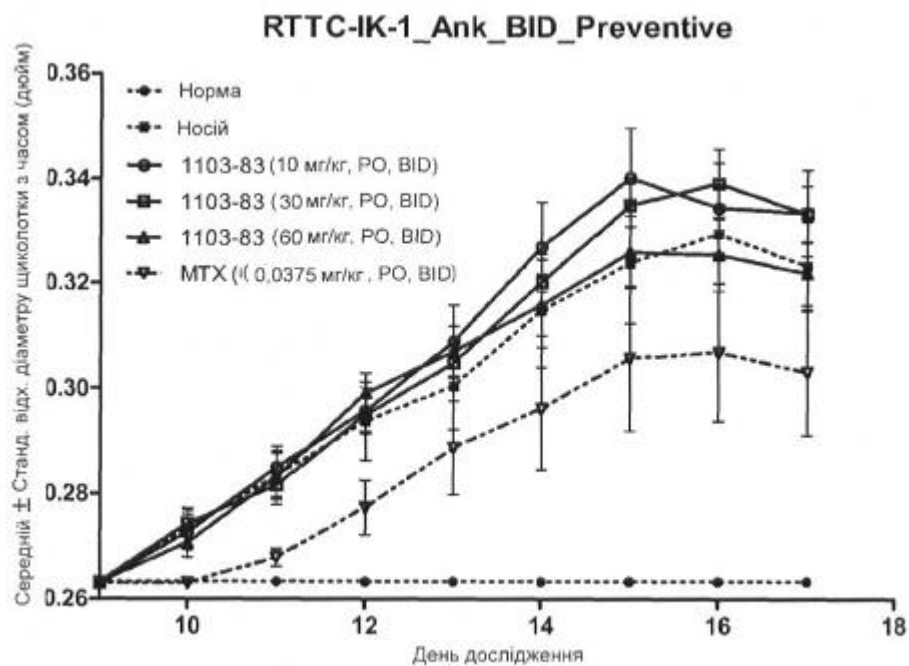


Fig. 7

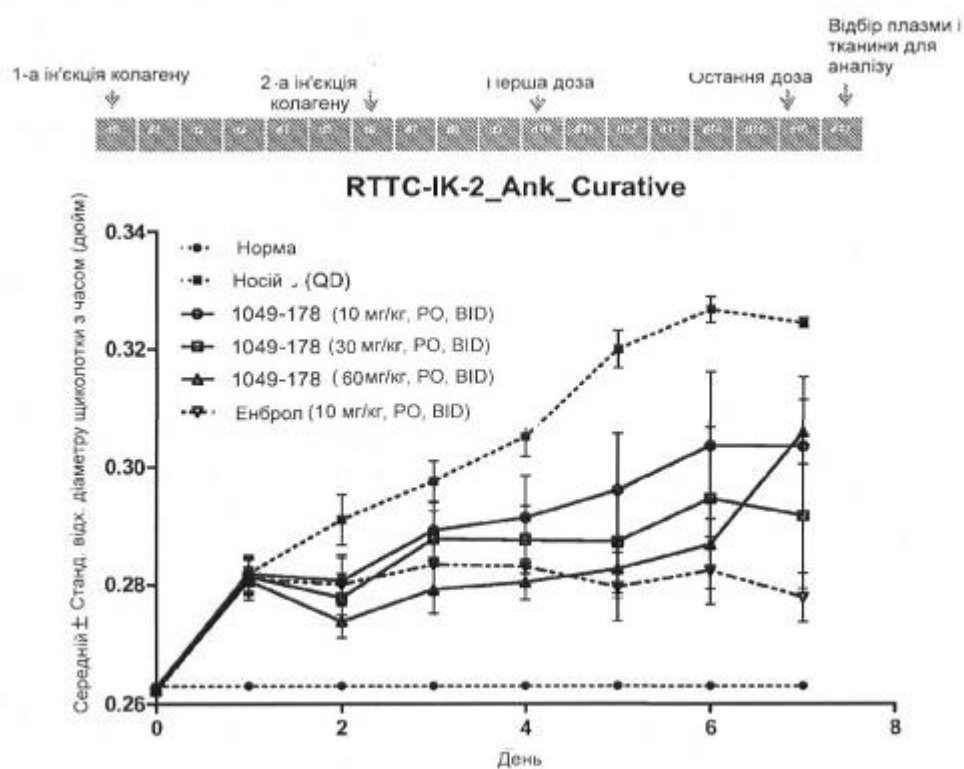


Fig. 8

## RTTC-IK-2\_Ank\_Curative

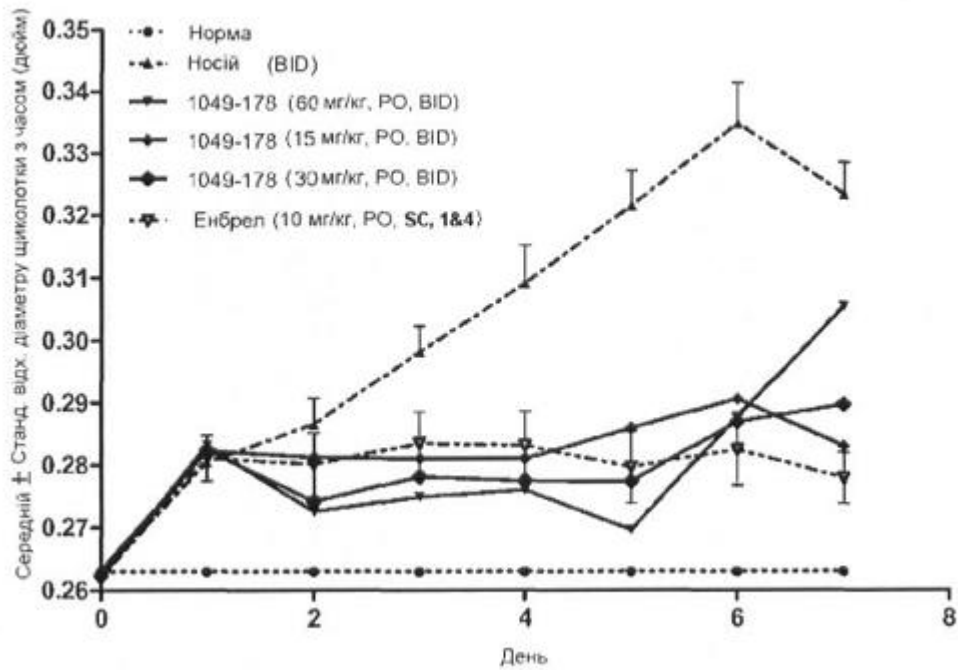


Fig. 9

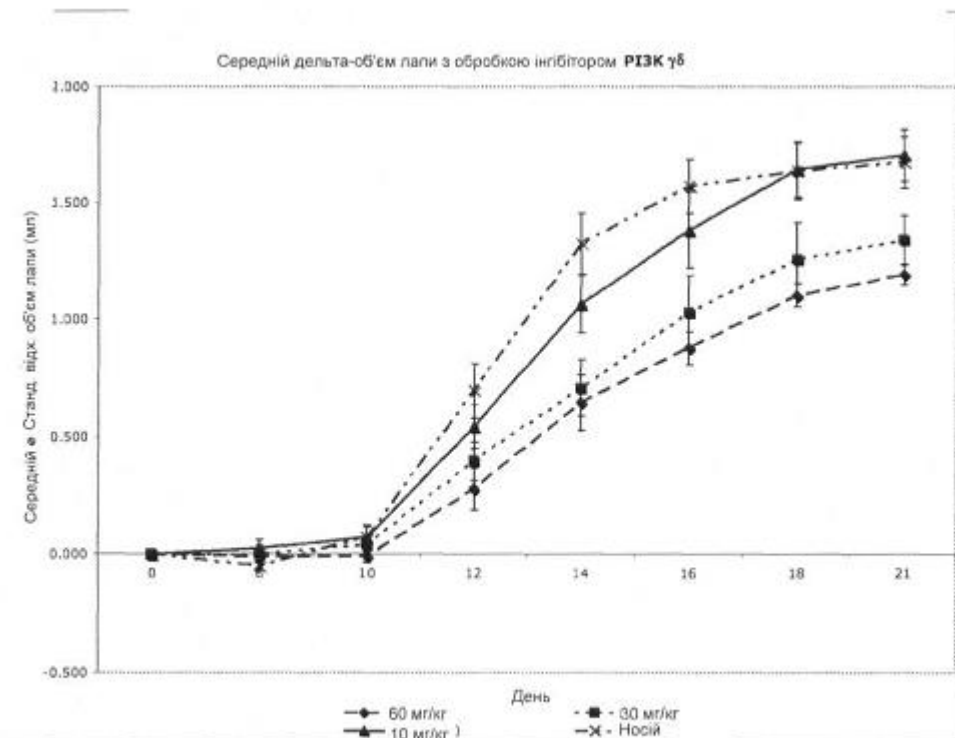


Fig. 10

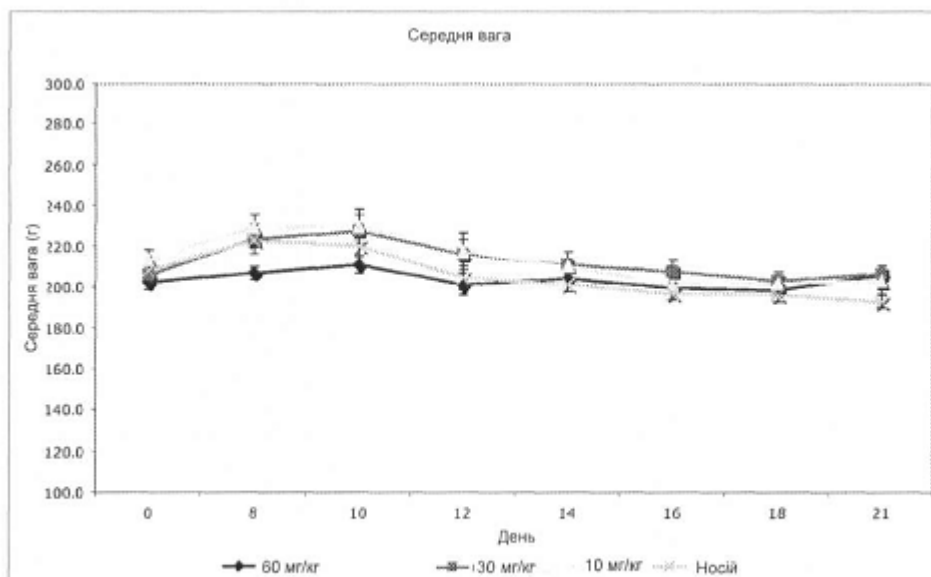


Fig. 11

---

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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