

Цей винахід стосується використання групи арильних сечовин для лікування спричинених RAF захворювань, а також фармацевтичних композицій, призначених для такого лікування.

Онкоген P21^{ras} є головним чинником виникнення та прогресування твердих ракоподібних утворень і піддається мутації у 30% усіх випадків ракоподібних утворень у людському організмі (Bolton et al. Ann. Rep. Med. Chem. 1994, 29, 165-74; Bos. Cancer Res. 1989, 49, 4682-9). У своїй нормальній немутованій формі, білок ras є основним елементом каскаду сигнальної трансдукції, що контролюється рецепторами фактору росту у майже всіх тканинах (Avruch et al. Trends Biochem. Sci. 1994, 19, 279-83). З погляду на біохімію, ras являє собою білок, що зв'язує гуаніновий нуклеотид і циклює між GTP-зв'язаною активованою та GDP-зв'язаною "спокійною" формами, що жорстко контролюється ендогенною GTPазною активністю gas та іншими регуляторними білками. У мутантах gas ракових клітин ендогенна GTPа3Ha активність послаблюється і, отже, білок передає постійні сигнали росту нижчим ефекторам, таким як фермент кіназа raf. Це призводить до канцерогенного росту клітин, що несуть таку мутацію (Magnuson et al. Semin. Cancer Biol. 1994, 5, 247-53). Виявлено, що інгібування дії активної ras за рахунок інгібування сигнального шляху кінази raf введенням нейтралізуючих антитіл до кінази raf або коекспресією домінантно-негативної кінази raf або домінантно-негативної MEK, що є субстратом кінази raf, призводить до реверсії трансформованих клітин до фенотипу нормального росту (див.: Damn et al. Trends Biochem. Sci. 1994, 19, 474-80; Fridman et al. J. Biol. Chem. 1994, 269, 30105-8. Kolch et al. (Nature 1991, 349, 426-28) додатково зазначають, що інгібування експресії raf антизмисловою РНК блокує проліферацію клітин у пов'язаних із мембраною онкогенах. Аналогічним чином, інгібування кінази raf (за допомогою антизмислових олігодезоксинуклеотидів) було пов'язане in vitro та in vivo з інгібуванням росту різноманітних пухлин людей (Monia et al., Nat. Med. 1996, 2, 668-75).

Цей винахід стосується сполук, що є інгібіторами ферменту кінази raf. Оскільки фермент є нижнім ефектором P21^{ras}, миттєві інгібітори є корисними у фармацевтичних композиціях для лікування людей або тварин, де призначене інгібування шляху кінази raf, наприклад, для лікування пухлин та/або росту канцерогенних клітин, спричиненого кіназою raf. Зокрема, такі сполуки є корисними для лікування людей або тварин, наприклад, рака у мишей, оскільки розвиток подібних ракових пухлин залежить від каскаду шляху сигнальної трансдукції білка gas і, таким чином, є чутливим до лікування перериванням каскаду, наприклад, інгібуванням кінази raf. Відповідно, сполуки цього винаходу є корисними для лікування "солідних" раків, таких як, наприклад, карциноми (наприклад, легенів, підшлункової залози, щитовидної залози, сечового міхура або товстої кишки), мієломатозів (наприклад, мієломної лейкемії) або аденом (наприклад, вілезної аденоми товстої кишки).

Отже, цей винахід стосується сполук, загалом описаних як арильні сечовини, включаючи як арильні, так і гетероарильні аналоги, що інгібують шлях raf. Винахід також стосується способу лікування опосередкованого raf хворобливого стану у людей або ссавців. Таким чином, винахід стосується сполук та способів лікування росту канцерогенних клітин, спричинених кіназою raf, включаючи введення сполуки формули I



де В в основному являє собою незаміщений або заміщений, аж до трициклічного, арил або гетероарил із кількістю атомів вуглецю до 30 і принаймні однією 5- або 6-членною ароматичною структурою, що містить 0-4 членів групи, до якої належать азот, кисень та сірка. А являє собою гетероарильну складову, яку більш детально буде розглянуто далі за текстом.

Арильна та гетероарильна складова В містить окремі циклічні структури і може включати комбінацію арильних, гетероарильних та циклоалкільних структур. Замісниками для цих арильних та гетероарильних складових можуть бути найрізноманітніші, включаючи галоген, водень, гідросульфід, ціано, нітро, аміни та різні складові на базі вуглецю, у тому числі ті, які містять один або декілька атомів сірки, азоту, кисню та/або галогену і котрі більш детально буде розглянуто далі за текстом.

До відповідних арильних та гетероарильних складових для В формули I належать, крім іншого, ароматичні кільцеві структури, що містять 4-30 атомів вуглецю та 1-3 кільця, принаймні одне з котрих являє собою 5-6-членне ароматичне кільце. Одне або декілька із цих кілець можуть містити 1-4 атомів вуглецю, що заміщуються атомами кисню, азоту та/або сірки.

Прикладами відповідних ароматичних кільцевих структур є феніл, піридиніл, нафтил, піримідиніл, бензотіазоліл, хінолін, ізохінолін, фталімідиніл та їх комбінації, такі як дифенільний ефір (фенілоксифеніл), дифенільний тіоефір (фенілтіофеніл), дифенільний амін (феніламінофеніл), фенілпіридинільний ефір (піридинілоксифеніл), піридинілметилфеніл, фенілпіридинільний тіоефір (піридинілтіофеніл), фенілбензотіазолільний ефір (бензотіазолілоксифеніл), фенілбензотіазолільний тіоефір (бензотіазолілтіофеніл), фенілпіримідинільний ефір, фенілхіноліновий тіоефір, фенілнафтиловий ефір, піридинілнафтильний ефір, піридинілнафтильний тіоефір, а також фталімідилметилфеніл.

Прикладами відповідних гетероарильних групи є, крім іншого, ароматичні кільця із 5-12 атомами вуглецю або кільцеві системи, що містять 1-3 кільця, принаймні одне з яких є ароматичним, в якому один або декілька, наприклад, 1-4 атомів вуглецю, у одному або декількох кільцях можуть заміщатися атомами кисню, азоту або сірки. Кожне кільце зазвичай має 3-7 атомів.

Наприклад, В може бути 2- або 3-фурилом, 2- або 3-тієнілом, 2- або 4-тріазинілом, 1-, 2- або 3-піроліл, 1-, 2-, 4- або 5-імідазолілом, 1-, 3-, 4- або 5-піразолілом, 2-, 4- або 5-оксазолілом, 3-, 4- або 5-ізоксазолілом, 2-, 4- або 5-тіазолілом, 3-, 4- або 5-ізотіазолілом, 2-, 3- або 4-піридилом, 2-, 4-, 5- або 6-піримідинілом, 1,2,3-тріазол-1-, -4- або -5-ілом, 1,2,4-тріазол-1-, -3- або -5-ілом, 1- або 5-тетразолілом, 1,2,3-оксадіазол-4- або -5-ілом, 1,2,4-оксадіазол-3- або -5-ілом, 1,3,4-тіадіазол-2- або -5-ілом, 1,2,4-оксадіазол-3- або -5-ілом, 1,3,4-тіадіазол-2- або -5-ілом, 1,3,4-тіадіазол-3- або -5-ілом, 1,2,3-тіадіазол-4- або -5-ілом, 2-, 3-, 4-, 5- або 6-2Н-тіопіраніл, 2-, 3- або 4-4Н-тіопіранілом, 3- або 4-піридазинілом, піразинілом, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- або 7-бензофурилом, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- або 7-бензотієнілом, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- або 7-індолілом, 1-, 2-, 4- або 5-бензімідазолілом, 1-, 3-, 4-, 5-, 6- або 7-бензопіразолілом, 2-, 4-, 5-, 6- або 7-бензохазолілом, 3-, 4-, 5- 6- або 7-бензізоксазолілом, 1-, 3-, 4-, 5-, 6- або 7-бензотіазолільний, 2-, 4-, 5-, 6- або 7-бензізотіазолілом, 2-, 4-, 5-,

6- або 7-бенз-1,3-оксадіазолілом, -2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- або 8-хінолінілом, 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-ізохінолінілом, 1-, 2-, 3-, 4- або 9-карбазолілом, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8- або 9-акридинілом, або 2-, 4-, 5-, 6-, 7- або 8-хіназолінілом, або додатково, як варіант, заміщений феніл, 2- або 3-тієніл, 1,3,4-тіадіазоліл, 3-пірил, 3-піразоліл, 2-тіазоліл або 5-тіазоліл тощо. Наприклад, В являють собою 4-метил-феніл, 5-метил-2-тієніл, 4-метил-2-тієніл, 1-метилпірил, 1-метил-3-піразоліл, 5-метил-2-тіазоліл або 5-метил-1,2,4-тіадіазол-2-іл.

До відповідних алкільних груп та алкільних фрагментів груп, наприклад, алкокси і т.п., у повній мірі належать метил, етил, пропіл, бутил тощо, включаючи всі ізо мери з простим та розгалуженим ланцюгом, такі як ізопропіл, ізобутил, втор-бутил, трет-бутил тощо.

До відповідних арильних груп належать, наприклад, феніл та 1- та 2-нафтил.

До відповідних циклоалкільних груп належать циклопропіл, циклобутил, циклогексил тощо. Термін "циклоалкіл" у контексті цього винаходу стосується циклічних структур із або без алкільних замісників таких як, наприклад, "C₄ циклоалкіл", що включає заміщену метилом циклопропілну групу, а також циклобутильну групу. Термін "циклоалеїл" також включає насичені гетероцикли.

До відповідних галогенів належать F, Cl, Br та/або I, від одного до "перзаміщення" (тобто коли всі атоми H у групі заміщаються атомом галогену), причому вони всі є можливими, змішане заміщення типів атомів галогену також є можливим в заданій складовій.

Як зазначено вище, ці кільцеві системи можуть бути незаміщеними або заміщеними замісниками, такими як галоген, аж до пергалозаміщення. До інших відповідних замісників складових В належать алкіл, алкокси, карбокси, циклоалкіл, арил, гетероарил, ціано, гідрокси та амін. До цих інших замісників, які у цьому тексті загалом називають X та X', належать -CN, -CO₂R⁵, -C(O)NR⁵R⁵, -C(O)R⁵, -NO₂, -OR⁵, -SR⁵, -NR⁵R⁵, -NR⁵C(O)OR⁵, -NR⁵C(O)R⁵, C₁-C₁₀ алкіл, B₂-10-алкеніл, C₁-10-алкокси, C₃-C₁₀ циклоалкіл, C₆-C₁₄ арил, C₇-C₂₄ алкарил, C₃-C₁₃ гетероарил, C₄-C₂₃ алкгетероарил, заміщений C₁-C₁₀ алкіл, заміщений B₂+10-алкеніл, заміщений B₂-10-алкокси, заміщений C₃-C₁₀ циклоалкіл, заміщений C₄-C₂₃ алкгетероарил та -Y-Ag.

У тому випадку, коли замісник, X або X', являє собою заміщену групу, в оптимальному варіанті він заміщається одним або кількома замісниками, що їх незалежно вибирають з групи, до якої належать -CN, -CO₂R⁵, -C(O)R⁵, -C(O)NR⁵R⁵, -OR⁵, -SR⁵, -NR⁵R⁵, -NO₂, -NR⁵C(O)R⁵, -NR⁵C(O)OR⁵ та галоген аж до пергалозаміщення.

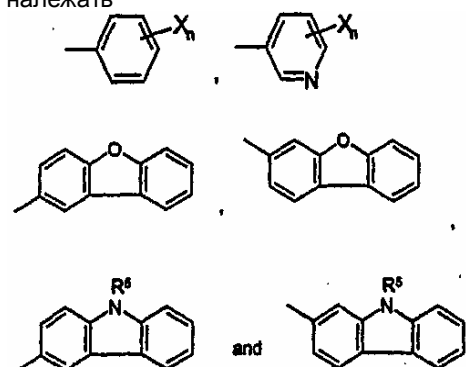
Складові R⁵ та R⁵ в оптимальному варіанті незалежно вибирають із H, C₁-C₁₀ алкілу, C₂-C₁₀-алкенілу, C₃-C₁₀ циклоалкілу, C₆-C₁₄ арилу, C₃-C₁₃ гетероарилу, C₇-C₂₄ алкарилу, C₄-C₂₃ алкгетероарилу, аж до пергалозаміщеного C₁-C₁₀ алкілу, аж до пергалозаміщеного C₂-C₁₀-алкенілу, аж до пергалозаміщеного C₃-C₁₀ циклоалкілу, аж до пергалозаміщеного C₆-C₁₄ арилу, а також аж до пергалозаміщеного C₃-C₁₃ гетероарилу.

Місткова група Y в оптимальному варіанті являє собою -O-, -S-, -N(R⁵)-, -(CH₂)_m-, -C(O)-, -CH(OH)-, -NR⁵C(O)NR⁵R⁵-, -NR⁵C(O)-, -C(O)NR⁵-, -(CH₂)_mO-, -(CH₂)_mS-, -(CH₂)_mN(R⁵)-, -O(CH₂)_m-, -CHX^a-, -CX^a₂-, -S(CH₂)_m- та -N(R⁵)(CH₂)_m-, де m = 1-3, а X^a являє собою галоген.

Складова Ag в оптимальному варіанті являє собою 5-10-членну ароматичну структуру, що містить 0-2 члена з групи, до якої належать азот, кисень та сірка, який незаміщений або заміщений галогеном аж до пергалозаміщення і як варіант заміщений Z_{n1}, де n1 дорівнює від 0 до 3.

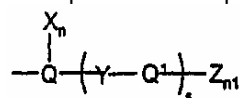
Кожний замісник Z в оптимальному варіанті незалежно вибирають з групи, до якої належать -CN, -CO₂R⁵, -C(O)NR⁵R⁵, -C(O)NR⁵-, -NO₂, -OR⁵, -SR⁵, -NR⁵R⁵, -NR⁵C(O)OR⁵, -C(O)R⁵, -NR⁵C(O)R⁵, C₁-C₁₀ алкіл, C₃-C₁₀ циклоалкіл, C₆-C₁₄ арил, C₃-C₁₃ гетероарил, C₇-C₂₄ алкарил, C₄-C₂₃ алкгетероарил, заміщений C₁-C₁₀ алкіл, заміщений C₃-C₁₀ циклоалкіл, заміщений C₇-C₂₄ алкарил та заміщений C₄-C₂₃ алкгетероарил. Якщо Z являє собою заміщену групу, її заміщають одним або кількома замісниками, що їх незалежно вибирають з групи, до якої належать -CN, -CO₂R⁵, -C(O)NR⁵R⁵, -OR⁵, -SR⁵, -NO₂, -NR⁵R⁵, -NR⁵C(O)R⁵ та -NR⁵C(O)OR⁵.

Арильні та гетероарильні складові В Формули I в оптимальному варіанті вибирають з групи, до якої належать



незаміщений або заміщений галогеном, аж до пергалозаміщення. X є таким, як зазначено вище, і n = 0-3.

Арильні та гетероарильні складові В в оптимальному варіанті мають формулу:



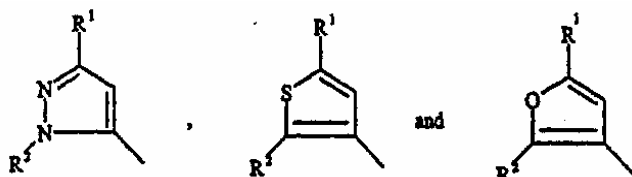
де Y вибирають з групи, до якої належать -O-, -S-, -CH₂-, -SCH₂-, -CH₂S-, -CH(OH)-, -C(O)-, -CX^a₂-, -CX^aH-, -CH₂O- та -OCH₂- та X^a являє собою галоген.

Q є шестичленною ароматичною структурою, що містить 0-2 атомів азоту, заміщені або незаміщені галогеном, аж до пергалозаміщення, а Q¹ є моно- або біциклічною ароматичною структурою з 3-10 атомами вуглецю і 0-4 членами з групи, до якої належать N, O та S, незаміщений або незаміщений галогеном аж до пергалозаміщення. X, Z, n та n1 описано вище і s=0 або 1.

В оптимальних варіантах реалізації винаходу Q являє собою феніл або піридиніл, заміщений або

незаміщений галогеном, аж до пергалозаміщення, а Q^1 вибирають з групи, до якої належать феніл, піридиніл, нафтил, піримідиніл, хінолін, ізохінолін, імідазол та бензотіазол, заміщений або незаміщений галогеном, аж до пергалозаміщення, або $Y-Q^1$ являє собою фталімідиніл, заміщений або незаміщений галогеном аж до пергалозаміщення. Z та X в оптимальному варіанті незалежно вибирають з групи, до якої належать $-R^6$, $-OR^6$ та $-NHR^7$, де R^6 являє собою водень, C_1-C_{10} -алкіл або C_3-C_{10} -циклоалкіл, а R^7 в оптимальному варіанті вибирають з групи, до якої належать водень, C_3-C_{10} -алкіл, C_6-C_6 -циклоалкіл та C_6-C_{10} -арил, де R^6 та R^7 або заміщені галогеном, або заміщені аж до пергалозаміщення.

Гетероарил A формули I в оптимальному варіанті вибирають з групи, до якої належать



де R^1 в оптимальному варіанті вибирають з групи, до якої належать C_3-C_{10} алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, аж до пергалозаміщеного C_1-C_{10} алкілу і аж до пергалозаміщеного C_3-C_{10} циклоалкілу, а R^2 являє собою C_6-C_{14} арил, C_3-C_{14} гетероарил, заміщений C_6-C_{14} арил або заміщений C_3-C_{14} гетероарил.

Коли R^2 являє собою заміщену групу, замісники в оптимальному варіанті незалежно вибирають з групи, до якої належать галоген, аж до пергалозаміщення, і V_n , де $n = 0-3$.

Кожний V в оптимальному варіанті незалежно вибирають з групи, до якої належать $-CN$, $-OC(O)NR^5R^5$, $-CO_2R^5$, $-C(O)NR^5R^5$, $-OR^5$, $-SR^5$, $-NR^5R^5$, $-C(O)R^5$, $-NR^5C(O)OR^5$, $-SO_2R^5$, $-SOR^5$, $-NR^5C(O)R^5$, $-NO_2$, C_1-C_{10} алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, C_6-C_{14} арил, C_3-C_{13} гетероарил, C_7-C_{24} алкарил, C_4-C_{24} алкгетероарил, алкгетероарил, заміщений C_1-C_{10} алкіл, заміщений C_3-C_{10} циклоалкіл, заміщений C_6-C_{14} арил, заміщений C_3-C_{13} гетероарил, заміщений C_7-C_{24} алкарил та заміщений C_4-C_{24} алкгетероарил.

Якщо V являє собою заміщену групу, в оптимальному варіанті він заміщається одним або кількома замісниками, що їх незалежно вибирають з групи, до якої належать галоген, аж до пергалозаміщення, $-CN$, $-CO_2R^5$, $-C(O)R^5$, $-C(O)NR^5R^5$, $-NR^5NR^5$, $-OR^5$, $-SR^5$, $-NR^5C(O)R^5$, $-NR^5C(O)OR^5$ та $-NO_2$.

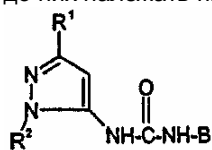
В оптимальному варіанті кожний із замісників R^5 та R^5 вибирають з групи, до якої належать H, C_1-C_{10} алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, C_6-C_{14} арил, C_3-C_{13} гетероарил, C_7-C_{24} алкарил, C_4-C_{23} алкгетероарил, аж до пергалозаміщеного C_1-C_{10} алкілу, аж до пергалозаміщеного C_3-C_{10} циклоалкілу, аж до пергалозаміщеного C_6-C_{14} арилу і аж до пергалозаміщеного C_3-C_{13} гетероарилу.

R^2 в оптимальному варіанті являє собою заміщений або незаміщений феніл або піридиніл, де замісники R^2 вибирають з групи, до якої належать галоген, аж до пергалозаміщення, і V_n^1 , де $n = 0-3$. Кожний V^1 в оптимальному варіанті незалежно вибирають з групи, до якої належать заміщений та незаміщений C_1-C_6 алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, C_6-C_{10} арил, $-NO_2$, $-NH_2$, $-C(O)-C_{1-6}$ алкіл, $-C(O)N-(C_{1-6}$ алкіл) $_2$, $-C(O)NH-C_{1-6}$ алкіл, $-O-C_{1-6}$ алкіл, $-NHC(O)H$, $-NHC(O)OH$, $-N(C_{1-6}$ алкіл) $C(O)-C_{1-6}$ алкіл, $-N-(C_{1-6}$ алкіл) $C(O)-C_{1-6}$ алкіл, $-NHC(O)-C_{1-6}$ алкіл, $-OC(O)NH-C_6-C_{14}$ арил, $-NHC(O)O-C_{1-6}$ алкіл, $-S(O)-C_{1-6}$ алкіл та $-SO_2-C_{1-6}$ алкіл. Якщо V^1 являє собою заміщену групу, в оптимальному варіанті він заміщається одним або кількома галогенами, аж до пергалозаміщення.

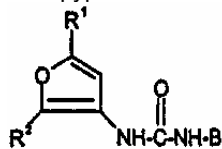
У кращому варіанті R^2 вибирають з групи заміщеного та незаміщеного фенілу або піридинілу, де замісниками є галоген та W ($n = 0-3$).

W в оптимальному варіанті вибирають з групи, до якої належать $-NO_2$, $-C_{1-3}$ алкіл, $-NH(O)CH_3$, $-CF_3$, $-OCH_3$, $-F$, $-Cl$, $-NH_2$, $-OC(O)NH$ аж до пергалозаміщеного фенілу, $-SO_2CH_3$, піридиніл, феніл, аж до пергалозаміщеного фенілу, і заміщений C_1-C_6 алкілом феніл.

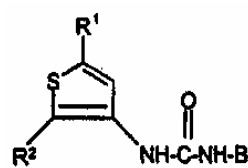
Винахід також стосується сполук в обсязі загальної формули I, описаної вище. Якщо більш конкретно, до них належать піразолільні сечовини формули



фурильні сечовини формули



та тієнільні сечовини формули



де R^1 , R^2 та B описано вище.

Цей винахід також стосується фармацевтично прийнятних солей формули I. Відповідні фармацевтично прийнятні солі добре відомі фахівцям і включають основні солі неорганічних та органічних кислот, таких як соляна кислота, бромистоводнева кислота, сірчана кислота, фосфорна кислота, метансульфонова кислота, сульфоронова кислота, оцтова кислота, трифтороцтова кислота, яблучна кислота, винна кислота, лимонна

кислота, молочна кислота, щавлева кислота, бурштинова кислота, фумарова кислота, малеїнова кислота, бензойна кислота, саліцилова кислота, фенілоцтова кислота та мигдалева кислота. Крім того, до фармацевтично прийнятних солей належать кислі солі неорганічних основ, такі як солі з вмістом лужних катіонів (наприклад, Li^+ , Na^+ або K^+), лужноземельних катіонів (наприклад, Mg^{+2} , Ca^{+2} або Ba^{+2}), катіону амонію, а також кислі солі органічних основ, включаючи аліфатичний та ароматичний заміщений амоній, катіони четвертинного амонію, наприклад ті, що утворюються внаслідок протонування або пералкілювання триетиламіну, N,N-діетиламіну, N,N-дициклогексиламіну, піридину, N,N-диметиламінопіридину (DMAP), 1,4-діазабіцикло[2,2,2]октану (DABCO), 1,5-діазабіцикло[4,3,0]нон-5-ену (DBN) та 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундек-7-ену (DBU).

Деякі зі сполук Формули I мають асиметричні атоми вуглецю і, таким чином, можуть існувати в рацемічній та оптично активній формах. Способи розділення енантіомерних та діастереомерних сумішей добре відомі фахівцям.

Цей винахід охоплює будь-яку окрему рацемічну або оптично активну форму сполук, описаних у Формулі I, які містять інгібітори кінази Raf.

Сполуки Формули I приготують з використанням відомих хімічних реакцій та процедур, деякі з котрих застосовуються серійно. Однак нижче наведено загальні способи допомоги фахівцям щодо синтезування цих сполук, причому більш детальні приклади наведено в експериментальному розділі, де описуються робочі приклади.

Загальні способи приготування

Гетероциклічні аміни синтезують з використанням відомої технології (Katritzky, et al. Comprehensive Heterocyclic Chemistry; Pergamon Press: Оксфорд, Сполучене Королівство (1984). March. Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed.; John Wiley: Нью-Йорк (1985)). Наприклад, як показано на Схемі, 1,5-амінопіразоли, заміщені в положенні N-1 арилом або гетероариллом, синтезують шляхом реакції α -ціанокетону (2) з відповідним арил- або гетероарилгідразином (3, R^2 є арилом або гетероариллом). Ціанокетон 2, у свою чергу, одержують в результаті реакції іону ацетамідату із відповідною ацильною похідною, такою як естер, галогенангідрид, або ап ангідрид карбонової кислоти. У випадках, коли складова R^2 забезпечує відповідну стабілізацію аніону, 2-арил- та 2-гетероарилфурани синтезують за допомогою реакції Міцунобу ціанокетону 2 зі спиртом 5 з подальшою циклізацією енольного ефіру 6, каталізованою основою, з одержанням фуриламіну 7.

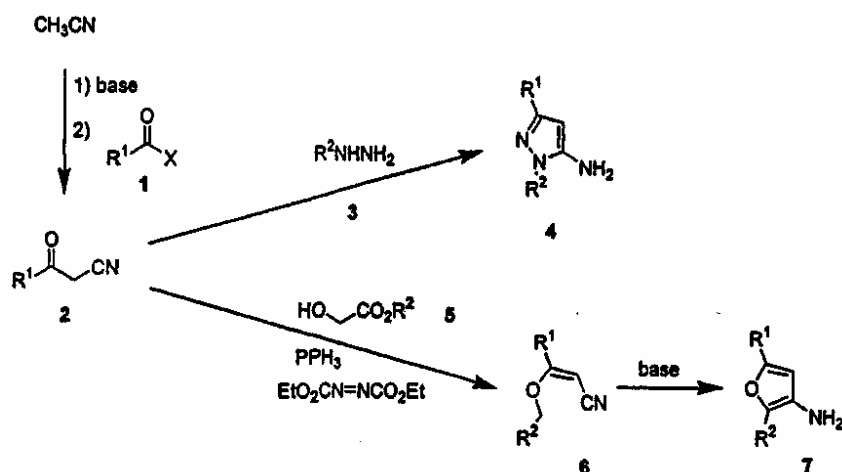


Схема I. Вибрані загальні способи синтезування гетероциклічного аміну

Заміщені аніліни одержують з використанням стандартних способів (March. Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed.; John Wiley: Нью-Йорк (1985). Larock. Comprehensive Organic Transformations; VCH Publishers: Нью-Йорк (1989)). Як показано на Схемі II, арильні аміни звичайно синтезують шляхом відновлення нітроарилів з використанням металічного каталізатора, наприклад, Ni, Pd або Pt, та H_2 , або гідридного агента передавання ланцюга, такого як формат, циклогексادیєн або боргідрид (Rylander. Hydrogenation Methods Academic Press: Лондон, Сполучене Королівство (1985)). Нітроарили також безпосередньо відновлюють з використанням потужного гідридного джерела, такого як LiAlH_4 (Seyden-Penne. Reductions by the Alumina- and Borohydrides in Organic Synthesis, VCH Publishers: Нью-Йорк (1991)), або з використанням металу з нульовою валентністю, такого як Fe, Sn або Ca, часто у кислому середовищі. Існує багато способів синтезування нітроарилу (March. Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed.; John Wiley: Нью-Йорк (1985). Larock. Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers: Нью-Йорк (1989)).

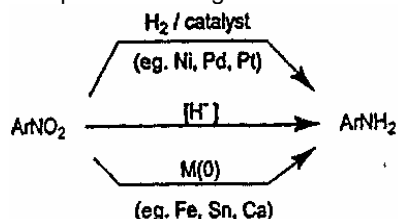
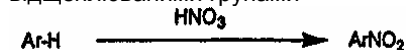


Схема II Відновлення нітроарилу до ариламінів

Нітроарили загалом одержують шляхом електрофільного ароматичного нітрування з використанням HNO_3 або альтернативного джерела NO_2^+ .

Нітроарили далі приготують перед відновленням. Таким чином, нітроарили, заміщені потенційними

відщеплюваними групами



(наприклад, F, Cl, Br тощо) піддають реакціям заміщення після обробки нуклеофілами, такими як тіолат (приклад наведено на Схемі III) або феноксид. Нітроарили також піддають реакціям зв'язування типу Уллмана (Ullman-type coupling reactions) (Схема III).

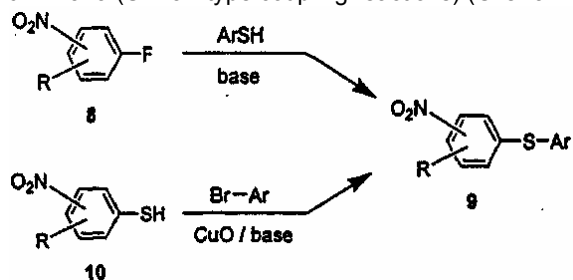


Схема III Вибране нуклеофільне ароматичне заміщення з використанням нітроарилів

Як показано на Схемі IV, утворення сечовини включає реакцію гетероарилізоціанату (12) з ариламином (11). Гетероарилізоціанат синтезують з гетероариламіну шляхом обробки фосгеном або еквівалентом фосгену, таким як трихлорметил хлороформат (дифосген), біс(трихлорметил) карбонат (трифосген) або N,N'-карбонілдіімідазол (CDI). Ізоціанат також одержують з похідної гетероциклічної карбонової кислоти, такої як естер, галогенангідрид або ангідрид шляхом реакції перепорядкування (Curtius-type rearrangement). Таким чином, реакція похідної кислоти 16 з джерелом азиду з подальшим перепорядкуванням дає на виході ізоціанат. Відповідну карбонову кислоту (17) також піддають перепорядкуванню з використанням дифенілфосфорилазиду (DPPA) або аналогічного реагенту. Сечовину також одержують в результаті реакції арилізоціанату (15) з гетероциклічним аміном.

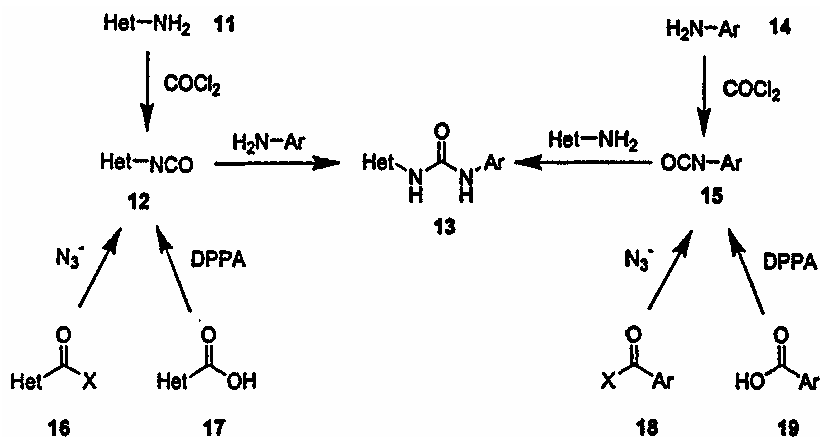


Схема IV Вибрані способи утворення сечовини (Het = гетероцикл)

Зрештою сечовинами додатково можна маніпулювати з використанням способів, відомих фахівцям. Наприклад, 2-арильні та 2-гетероарилтієнільні сечовини можна одержати з відповідної 2-галотієнільної сечовини шляхом реакцій перехресного зв'язування з використанням перехідного металу (на прикладі 2-бромтіофену 25, Схема V). Таким чином, реакція нітриту 20 із α -тіоацетатестером дає на виході 5-заміщений-3-аміно-2-тіофенукарбоксилат 21 (Ishizaki et al. JP 6025221). Декарбоксилування естеру 21 досягають шляхом захисту аміну, наприклад, як у випадку з трет-бутоксидом (BOC) карбаматом (22), з подальшим омиленням та обробкою кислотою. Якщо застосовують захист BOC, декарбоксилування супроводжують депротектуванням з одержанням заміщеної солі 3-тіофенуамонію 23. Як варіант, сіль амонію 23 безпосередньо одержують шляхом омилення естеру 21 з подальшою обробкою кислотою. Після утворення сечовини, як описано вище, бромовання дає на виході пенультіматгалотіофен 25. Опосередковане паладієм перехресне зв'язування тіофену 25 відповідно із трибутил- або триметилполовом (R^2 =арпп або гетероарил) після цього дає на виході потрібну 2-арил- або 2-гетероарилтієнілсечовину.

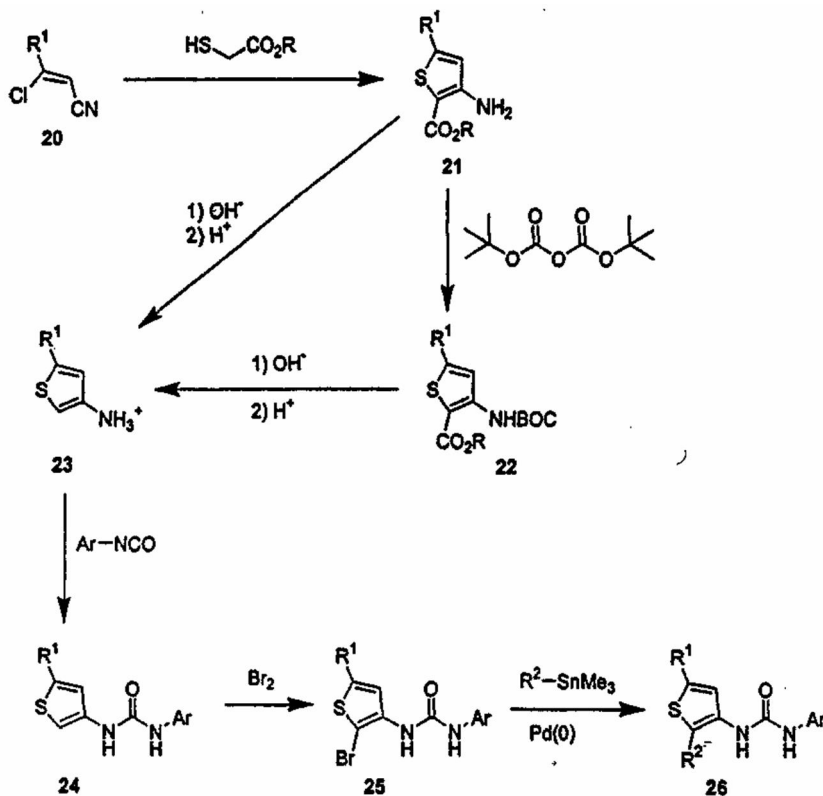


Схема V Синтез та взаємоперетворення сечовин

Винахід також охоплює фармацевтичні композиції, що включають сполуки Формули і, а також фізіологічно прийнятний носій.

Сполуки вводять оральним, поверхневим, парентеральним шляхом, за допомогою інгаляції або розпилення, або вагінальним, під'язичним шляхом, або ж ректальним шляхом у вигляді розподілених на дозовані одиниці препаратів. Термін "введення шляхом ін'єкції" включає внутрішньовенні, внутрішньом'язові, підшкірні та парентеральні ін'єкції, а також застосування технології інфузій. Дермальне введення включає поверхнєве застосування або трансдермальне введення. Одну або декілька сполук можуть використовувати разом із одним або кількома нетоксичними фармацевтично прийнятними носіями і - за потребою - іншими активними компонентами.

Композиції, призначені для орального застосування, приготують згідно з будь-яким відповідним відомим у галузі способом приготування фармацевтичних композицій. Такі композиції містять один або декілька агентів, що їх вибирають з групи, до якої належать розріджувачі, підсолоджувальні агенти, ароматизатори та агенти для надання смаку, барвники та консерванти, призначені для створення приємних на погляд препаратів із задовільними смаковими якостями. Таблетки містять активний компонент у суміші із нетоксичними фармацевтично прийнятними наповнювачами, придатними для приготування таблеток. Такими наповнювачами можуть бути, наприклад, інертні розріджувачі, такі як карбонат кальцію, карбонат натрію, лактоза, фосфат кальцію або фосфат натрію; агенти для гранулювання та розкладання, наприклад, зерновий крохмаль або альгінова кислота, а також зв'язувальні агенти, наприклад стеарат магнію, стеаринова кислота або тальк. Таблетки бувають непокритими або покритими за допомогою відомих технологій - з метою затримки розкладання та адсорбції у шлунково-кишковому тракті і, отже, здатні діяти уповільненим чином протягом довшого періоду часу. Наприклад, використовують речовину, що діє із затримкою в часі, таку як гліцерил моностеарат або гліцерил дистеарат. Ці сполуки приготують також у твердій, швидко вивільнюваній формі.

Композиції для орального застосування також бувають представлені у вигляді твердих желатинових капсул, в яких активний компонент змішують із інертним твердим "розріджувачем", наприклад, карбонатом кальцію, фосфатом кальцію або каоліном, або у вигляді м'яких желатинових капсул, в яких активний компонент змішують з водою або олійним середовищем, наприклад арахісовою олією, рідким парафіном або оливковою олією.

Водні суспензії містять активні речовини у суміші із наповнювачами, придатними для приготування водних суспензій. Такими наповнювачами є агенти для суспендування, наприклад карбоксиметилцелюлоза натрію, метилцелюлоза, гідроксипропілметилцелюлоза, альгінат натрію, полівінілпіролідон, трагакантова камедь та аравійська камедь; диспергатори або зволожувачі можуть являти собою природний фосфатид, наприклад, лецитин або продукти конденсації, або алкіленоксид із жирними кислотами, наприклад поліоксіетилен стеарат або продукти конденсації етиленоксиду з довголанцюговими аліфатичними спиртами, наприклад, гептадекаетилен оксидетанол або продукти конденсації етиленоксиду із частковими естерами, одержаними із жирних кислот та гексitolу, такі як моноолеат поліоксіетиленсорбітолу, або продукти конденсації етиленоксиду із частковими естерами, одержаними із жирних кислот та ангідридів гексitolу, наприклад, моноолеат поліетиленсорбітану. Водні суспензії також містять один або декілька консервантів, наприклад, етил, або n-пропіл-гідроксибензоат, один або декілька барвників, один або декілька ароматизаторів та агентів для надання смаку, а також один або декілька підсолоджувальних агентів, таких як сахароза або сахарин.

Дисперговані порошки та гранули, придатні для приготування водної суспензії шляхом додавання води,

містять активний компонент у суміші із диспергатором або зволожувачем, суспендувальним агентом та одним або кількома консервантами. Придатні диспергатори або зволожувачі та суспендувальні агенти як приклади наведено вище. Також можуть бути присутніми додаткові наповнювачі, наприклад, підсолоджувальні, смакові агенти та барвники.

Сполуки також бувають у вигляді нерозчинних у воді рідких композицій, наприклад, олійних суспензій, що їх приготують шляхом суспендування активних компонентів у рослинній олії, наприклад, арахісовій олії, оливковій олії, кунжутівій олії або олії земляного горіха, або у мінеральній олії, наприклад, у рідкому парафіні. Олійні суспензії містять загусник, наприклад, бджолиний віск, твердий парафін або цетиловий спирт. Для створення приємних на смак та на запах композицій додають підсолоджувальні агенти, згадані вище, а також ароматизатори та агенти для надання смаку. Ці композиції консервують шляхом додавання антиоксиданту, наприклад, аскорбінової кислоти.

Фармацевтичні композиції цього винаходу також бувають у вигляді водно-олійних емульсій. Олійна фаза може бути представленою рослинною олією, наприклад, оливковою олією або арахісовою олією, або мінеральною олією, наприклад, рідким парафіном або сумішами цих олій. До відповідних емульгаторів належать природні камеді, наприклад аравійська камедь або трагакантова камедь, природні фосфатиди, наприклад, соя, лецитин, а також естери або часткові естери, одержані з жирних кислот та ангідридів гекситолу, наприклад сорбітанмоноолеат, а також продукти конденсації згаданих часткових естерів з етиленоксидом, наприклад, моноолеат поліоксіетиленсорбітану. Емульсії також містять підсолоджувачі та ароматизатори, а також агенти для надання смаку.

Сиропо та еліксири приготують із підсолоджувальними агентами, наприклад, гліцерином, пропіленгліколем, сорбітолом або сахарозою. Подібні композиції також містять деземульгатор, консервант, ароматизатори та барвники.

Сполуки вводять також у вигляді супозиторіїв для ректального або вагінального введення препарату. Ці композиції приготують шляхом змішування препарату з відповідним наповнювачем, що не викликає подразнення, який є твердим при нормальних температурах, але рідким при температурах ректальної або вагінальної порожнини і, таким чином, розплавляється у ректальній або вагінальній порожнинах з вивільненням препарату. До таких речовин належать кокосове масло та поліетиленгліколі.

Сполуки цього винаходу вводять також трансдермальним шляхом з використанням відомих фахівцям способів (див., наприклад: Chien; Transdermal Controlled Systemic Medications; Marcel Dekker, Inc.; 1987. Lipp et al. WO94/04157 3 березня 1994р.). Наприклад, розчин або суспензію сполуки Формули I у відповідному леткому розчиннику, що як варіант містить агенти для підсилення проникності, комбінують із додатковими відовими фахівцям присадками, такими як матеріалами матриці та бактерицидами. Після стерилізації одержану суміш приготують у вигляді композиції за відомою процедурою як лікарські форми. Крім того - після обробки емульгаторами та водою - розчин або суспензію сполуки Формули I приготують у вигляді лосьйону або вазеліну.

Відповідні розчинники для реалізації кризьшкірних систем введення в організм добре відомі фахівцям, у тому числі нижчі спирти, такі як етиловий або ізопропіловий спирт, нижчі кетони, такі як ацетон, нижчі естери карбонової кислоти, такі як етилацетат, полярні ефіри, такі як тетрагідрофуран, нижчі вуглеводні, такі як гексан, циклогексан або бензол, або галогеновані вуглеводні, такі як дихлорметан, хлороформ, трихлортрифторетан, або трихлорфторетан. До відповідних розчинників також належать суміші однієї або кількох речовин, що їх вибирають з нижчих спиртів, нижчих кетонів, нижчих естерів карбонової кислоти, полярних ефірів, нижчих вуглеводнів, галогенованих вуглеводнів.

Відповідні речовини для підсилення проникності для системи кризьшкірного введення препаратів в організм добре відомі фахівцям, включаючи, наприклад, моногідрокси- або полігідроксиспирти, такі як етиловий, пропіленгліколевий або бензильний спирт, насичені або ненасичені C₈-C₁₈ жирні спирти, такі як лауриловий спирт або цетиловий спирт, насичені або ненасичені C₈-C₁₈ жирні кислоти, такі як стеаринова кислота, насичені або ненасичені жирні естери з вмістом до 24 атомів вуглецю, такі як метилові, етилові, пропілові, ізопропілові, н-бутилові, втор-бутилові, ізобутилові, третбутилові або моногліцеринові естери оцтової кислоти, капронової кислоти, лауринової кислоти, міристинової кислоти, стеаринової кислоти або пальмітинової кислоти, або діестери насичених або ненасичених бікарбонових кислот з кількістю атомів вуглецю до 24, такі як діізопропіладипат, діізобутиладипат, діізопропілсебакат, діізопропілмалеат або діізопропілфумарат. До додаткових речовин для підсилення проникності належать похідні фосфатидилу, такі як лецитин або цефалін, терпени, аміди, кетони, сечовини та їх похідні, а також ефіри, такі як диметилізорсорбидовий та діетиленглікольмоноетиловий ефір. До відповідних композицій для підсилення проникності також належать суміші однієї або декількох речовин, вибраних з моногідрокси- або полігідроксиспиртів, насичених або ненасичених C₈-C₁₈ жирних спиртів, насичених або ненасичених C₈-C₁₈ жирних кислот, насичених або ненасичених жирних естерів із кількістю атомів вуглецю до 24, діестерів насичених або ненасичених бікарбонових кислот із сумарною кількістю атомів вуглецю до 24, похідних фосфатидилу, терпенів, амідів, кетонів, сечовин та їх похідних, а також ефірів.

Відповідні зв'язувальні речовини для систем кризьшкірного введення препаратів в організм добре відомі фахівцям, включаючи поліакрилати, сілікони, поліуретани, блокспівполімери, стиролбутадієнові співполімери, а також природні та синтетичні каучуки. Як матричні компоненти також використовують целюлозні ефіри, дериватизовані поліетиленом, а також силікати.

Додаткові присадки, такі як віскозні смоли або олії, також додають для збільшення в'язкості матриці.

Для всіх описаних у цьому тексті режимів застосування сполук Формули I, денна схема приймання лікарського засобу оральним шляхом в оптимальному варіанті становитиме від 0,01 до 200мг/кг загальної ваги тіла. Денна доза для введення шляхом ін'єкції, включаючи внутрішньовенну, внутрішньом'язову, підшкірну та парентеральну ін'єкції, а також введення шляхом інфузії в оптимальному варіанті становитиме від 0,01 до 200мг/кг загальної ваги тіла. Денна схема приймання лікарського засобу вагінальним шляхом в оптимальному варіанті становитиме від 0,01 до 200 мг/кг загальної ваги тіла. Денна схема приймання лікарського засобу ректальним шляхом в оптимальному варіанті становитиме від 0,01 до 200 мг/кг загальної ваги тіла. Денна схема приймання лікарського засобу поверхневим шляхом в оптимальному варіанті становитиме від 0,1 до 200мг, за умови введення від одного до чотирьох разів на добу. Кризьшкірна

концентрація в оптимальному варіанті повинна бути такою, щоб підтримувати денну дозу від 0,01 до 200мг/кг. Денна схема приймання лікарського засобу шляхом інгаляції в оптимальному варіанті становитиме від 0,01 до 10мг/кг загальної ваги тіла.

Фахівцям добре відомо, що конкретний спосіб введення залежатиме від різних факторів, з котрих всі є стандартними щодо введення ліків. Однак, слід також розуміти, що специфічний рівень доз для кожного конкретного пацієнта залежатиме від різних факторів, включаючи активність конкретної застосовуваної сполуки, вік пацієнта, вагу тіла пацієнта, загальний стан здоров'я пацієнта, стать пацієнта, дієту пацієнта, час введення, шлях введення, швидкість виділення, комбінування препаратів, а також інтенсивність та жорсткість умов лікування.

Фахівцям також відомо, що оптимальний курс лікування, тобто спосіб лікування і денна кількість доз сполуки Формули I або її фармацевтично прийнятної солі, задана для визначеної кількості діб, встановлюються фахівцями з використанням стандартних лікувальних тестів.

Проте слід зрозуміти, що конкретний рівень доз для будь-якого конкретного пацієнта залежатиме від різних факторів, включаючи активність конкретної застосовуваної сполуки, вік, вагу тіла, загальний стан здоров'я, стать, дієту, час введення, шлях введення та швидкість виділення, комбінацію препаратів і інтенсивність та жорсткість умов лікування.

Вичерпний перелік всіх патентних заяв, патентів та публікацій, згаданих вище та нижче у тексті, включено у цьому тексті шляхом посилання, включаючи попередню заявку [Attorney Docket Bayer 9V1], зареєстровану 22 грудня 1997 року під номером SN 08/996,181 та перетворену 22 грудня 1998 року.

Сполуки можуть виготовляти з відомих сполук (або з вихідних речовин, які, у свою чергу, можуть виготовляти з відомих сполук), наприклад, за допомогою загальних способів приготування, описаних нижче. Активність конкретної сполуки щодо інгібування кінази raf тестують стандартним способом, наприклад, згідно з процедурами, описаними нижче. Наведені нижче приклади мають ілюстративний характер і жодним чином не повинні обмежувати обсяг цього винаходу.

ПРИКЛАДИ

Всі реакції виконували у висушеному вогні або у печі скляному посуді під додатним тиском сухого аргону або сухого азоту і перемішували за допомогою магнітного поля (якщо не зазначено інших умов). Чутливі рідини та розчини подавали через шприц або канюлю і вводили в посудини для реакції через допоміжний мембранний екран. Якщо не зазначено інших умов, термін "концентрація у вакуумі" стосується використання роторного випарника (Buchi rotary evaporator) в умовах тиску 15мм рт. ст.

Всі температури наведено у некоригованому вигляді в градусах Цельсія (°C). Якщо не зазначено іншого, всі частки та відсотки наведено за вагою.

Реагенти та розчинники з товарними знаками використовували без додаткового очищення. Хроматографію тонких шарів (ХТШ) виконували на попередньо покритих силікагелевих пластинках із скляним зворотнім боком (60A F-254 250мкм, Whatman®). Візуалізацію пластинок здійснювали одним або кількома з таких способів: (а) УФ-освітлення, (б) обробка паром йоду, (в) імєрсія пластинки в 10%-ому розчині фосфомолібденової кислоти в етанолі з подальшим нагріванням, (г) імєрсія пластинки в розчині сульфату церію з подальшим нагріванням та/або (д) імєрсія пластинки у кислому етанольному розчині 2,4-динітрофенілгідразину з подальшим нагріванням. Колонкову хроматографію ("флеш-хроматографію") виконували з використанням силікагелю з параметрами зернистості 230-400меш (EM Science®).

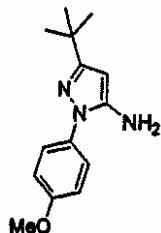
Температури плавлення (т.п.) визначали з використанням приладу для визначення точок плавлення Томаса-Гувєра (або автоматичного приладу для визначення точок плавлення Mettler FP66) і не коригували. Спектри ядерно-магнітного резонансу (¹H) (ЯМР) вимірювали за допомогою спектрометра General Electric GN-Omega 300 (300МГц) з використанням або Me₄Si (δ 0,00) або залишкового протонованого розчинника (CHCl₃ δ 7,26; MeOH δ 3,30; DMSO δ 2,49) як еталон. Спектри ЯМР вуглецю (¹³C) вимірювали за допомогою спектрометра General Electric GN-Omega 300 (75МГц) з використанням розчинника (CHCl₃ δ 77,0; MeOD-d₃ δ 49,0; DMSO-d₆ δ 39,5) як еталон. Мас-спектрометрію з низькою роздільною здатністю (МС) і мас-спектрометрію з високою роздільною здатністю (МСВР) одержували або як мас-спектрометрію електронного удару (ЕУ), або як мас-спектрометрію швидкісного бомбардування атомами (ШБА). Мас-спектрометрію електронного удару (ЕУ-МС) одержували за допомогою мас-спектрометра Hewlett Packard 5989A, обладнаного іонізаційним зондом Vacumetrics Desorption Chemical Ionization Probe для введення зразка. Температуру джерела іонів підтримували на рівні 250°C. Іонізацію електронним ударом виконували з використанням енергії електронів 70еВ і струму 300мкА. Мас-спектрометрію з використанням вторинного іону рідкого цезію (FAB-MS) - модифіковану версію мас-спектрометрії з використанням швидкого бомбардування атомами, одержували за допомогою спектрометра Kratos Concept 1-H. Мас-спектрометрію з використанням хімічної іонізації (ХІ-МС) одержували за допомогою приладу Hewlett Packard MS-Engine (5989A) з використанням метану як газу-реагента (від 1x10⁻⁴тор до 2,5x10⁻⁴тор). Пілоподібну лінійну характеристику зонда хімічної іонізації десорбції прямого вставлення (DCI) (Vacumetrics, Inc.) задавали від 0-1,5 ампера за 10сек і витримували при 10 амперах доти, доки всі сліди зразка не зникають (~1-2хв). Спектри сканували від 50-800 атомних одиниць маси при 2сек на скан. Мас-спектрометрії ВЕРХ - "електророзпилення" (ВЕРХ ЕР-МС) одержували за допомогою приладу Hewlett-Packard 1100 HPLC, обладнаного четвертинним насосом, детектором зі змінною довжиною хвилі, колонкою C-18, а також Finnigan LCQ мас-спектрометром з іонною пасткою з електророзпилювальною іонізацією. Спектри сканували від 120-800 атомних одиниць маси з використанням змінного часу іонів згідно з кількістю іонів у джерелі. Газову хроматографію - мас-спектрометрію з вибором іонів (ГХ-МС) одержували за допомогою газового хроматографа Hewlett Packard 5890, обладнаного метилсиліконовою колонкою HP-1 (покриття 0,33мМ; 25мх0,2мм) та приладом Hewlett Packard 5971 Mass Selective Detector (енергія іонізації 70еВ).

Елементний аналіз виконували у Robertson Microlit Labs, Медісон, штат Нью-Джерсі. Для всіх сполук вивчали спектри ЯМР, МСНР; як жодний вид елементного аналізу, так і МСВР не протирічили заданим структурам.

Перелік скорочень та акронімів:

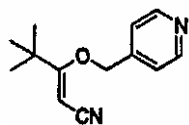
АсОН оцтова кислота

AnH безводний
 BOC трет-бутоксикарбоніл
 Конц. концентрований
 дек. декомпозиція
 DMPU 13-диметил-3,4,5,6-тетрагідро-2(1H)-піримідинон
 ДМФ N,N-диметилформамід
 ДМСО диметилсульфоксид
 DPPA дифенілфосфорилазид
 EtOAc етилацетат
 EtOH етанол (100%)
 Et O діетиловий ефір
 Et N тріетиламін
 m-CPBA 3-хлорпероксибензойна кислота
 MeOH метанол
 пет ефір петролейний ефір (діапазон температур кипіння 30-60°C)
 ТГФ тетрагідрофуран
 TFA трифтороцтова кислота
 Tf Трифторметансульфоніл
 А. Загальні способи синтезування гетероциклічних амінів
 А1. Загальна процедура приготування N'-арил-5-амінопіразолів

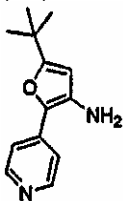


N'-(4-метоксифеніл)-5-аміно-3-трет-бутилпіразол: Суміш 4-метоксифенілгідазингідрохлориду (3,5г), 4,4-диметил-3-оксепентаннітрил (2,5г), EtOH (30мл) та AcOH (1мл) нагрівали при температурі дефлегмування протягом 3год, охолоджували до кімнатної температури і виливали в суміш Et₂O (100мл) та 10% розчин Na₂CO₃ (100мл). Органічний шар промивали насиченим розчином NaCl, висушували (MgSO₄) і концентрували у вакуумі. Твердий залишок промивали пентаном з одержанням потрібного піразолу у вигляді світло-коричневої твердої речовини. (4,25г): ¹H-ЯМР (ДМСО-d₆) δ 1,18 (s, 9H); 3,78 (s, 3H); 5,02 (шир. s, 2H); 5,34 (s, 1H); 6,99 (d, J=8Гц, 2H); 7,42 (d, J=8Гц, 2H).

А2. Загальний спосіб синтезу 2-арил-3-амінофуранів на базі способу Міцунобу

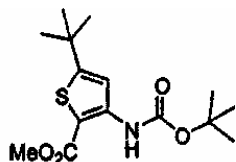


Стадія. 4,4-диметил-3-(4-піридинілметокси)-2-пентеннітрил: Розчин трифенілфосфіну (2,93г, 11,2ммоль) у безводному ТГФ (50мл) обробляли діетилазодикарбоксилатом (1,95г, 11,2ммоль) та 4-піридинілметанолом (1,22г, 11,2ммоль), після чого перемішували протягом 15хв. Одержаний дрібнозернистий сорбент білого кольору обробляли 4,4-диметил-3-оксепентаннітрилом (1,00г, 7,99ммоль), після чого перемішували протягом 15хв. Реакційну суміш концентрували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії (30% EtOAc/70% гексан) з одержанням потрібного нітрилу у вигляді твердої речовини жовтого кольору (1,83г, 76%): ХТШ (20% EtOAc/80% гексан) R_f 0,13; ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 1,13 (s, 9H), 4,60 (s, 1H), 5,51 (s, 2H), 7,27 (d, J=5,88Гц, 2H), 8,60 (d, J=6,25Гц, 2H); ¹³C-ЯМР (CDCl₃) δ 27,9 (3C), 38,2, 67,5, 70,8, 117,6, 121,2 (2C), 144,5, 149,9 (2C), 180,7; Cl-MS m/z (відн. вміст) 217 ((M+H)⁺ 100%).

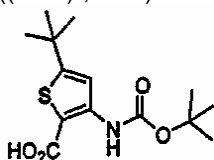


Стадія 2. 3-аміно-2-(4-піридиніл)-5-трет-бутилфуран: Розчин 4,4-диметил-3-(4-піридинілметокси)-2-пентеннітрилу (1,55г, 7,14ммоль) у безводному ДМСО (75мл) обробляли т-бутоксидом калію (0,88г, 7,86ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 10хв. Одержану суміш обробляли EtOAc (300мл), далі послідовно промивали водою (2x200мл) і насиченим розчином NaCl (100мл). Об'єднані розчинні у воді фази зворотно екстрагували EtOAc (100мл). Об'єднані органічні фази висушували (Na₂SO₄) і концентрували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії (градієнт від 30% EtOAc/70%гексан до 100% EtOAc) з одержанням потрібного продукту у вигляді оранжевої олії (0,88г, 57%): ХТШ (40% EtOAc/60% гексан) R_f 0,09; ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 1,28 (s,9H), 3,65 (шир. s, 2H), 5,79 (s, 1H), 7,30 (d, J=6,25Гц, 2H), 8,47 (d, J=6,25Гц, 2H); EI-MS m/z (відн. вміст) 216 (M⁺, 30%).

Синтез 3-аміно-5-алкілтіофенів з естерів N-BOC 3-аміно-5-алкіл-2-тіофенкарбоксилату

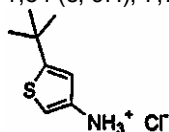


Стадія 1. Метил 3-(трет-бутоксикарбоніламіно)-5-трет-бутил-2-тіофенукарбоксилат: До розчину метил 3-аміно-5-трет-бутил-2-тіофенукарбоксилату (150г, 0,70моль) у піридині (2,8л) при 5°C додавали ди-трет-бутил бікарбонат (171,08г, 0,78моль, 1,1екв.) та N,N-диметиламінопіридин (86г, 0,70моль, 1,00екв.) і одержану суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 7 діб. Одержаний темний розчин концентрували у вакуумі (приблизно 0,4мм рт. ст.) при близько 20°C. Одержані тверді частинки червоного кольору розчиняли у CH_2Cl_2 (3л) і послідовно промивали розчином 1М H_3PO_4 (2x750мл), насиченим розчином NaHCO_3 (800мл) і насиченим розчином NaCl (2x800мл), висушували (Na_2SO_4) і концентрували у вакуумі. Одержані тверді частинки оранжевого кольору розчиняли в абс. EtOH (2л) шляхом нагрівання до 49°C, далі обробляли водою (500мл) з одержанням потрібного продукту у вигляді білуватої твердої речовини (163г, 74%): ^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 1,38 (s, 9H), 1,51 (s, 9H), 3,84 (s, 3H), 7,68 (s, 1H), 9,35 (шир. s, 1H); FAB-MS m/z (відн. вміст) 314 ((M+H)⁺, 45%).



Стадія 2. 3-(трет-бутоксикарбоніламіно)-5-трет-бутил-2-тіофенкарбонової кислоти:

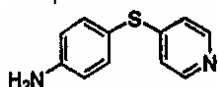
До розчину метил 3-(трет-бутоксикарбоніламіно)-5-трет-бутил-2-тіофенукарбоксилату (90,0г, 0,287моль) у ТГФ (630мл) та MeOH (630мл) додавали розчин NaOH (42,5г, 1,06мл) у воді (630мл). Одержану суміш нагрівали при 60°C протягом 2год, концентрували приблизно до об'єму 700мл у вакуумі і охолоджували до 0°C. pH доводили приблизно до 7 розчином 1,0N HCl (приблизно 1л) зі збереженням внутрішньої температури приблизно 0°C. Одержану суміш обробляли EtOAc (4л). pH доводили приблизно до 2 1,0N розчином HCl (500мл). Органічну фазу промивали насиченим розчином NaCl (4x1,5л), висушували (Na_2SO_4) і концентрували приблизно до об'єму 200мл у вакуумі. Залишок обробляли гексаном (1л) з утворенням світлорозового кольору (41,6 г). Повторне піддавання первинного розчину процедурам концентрування-осаджування дало на виході додатковий продукт (38,4г, сумарний вихід 93%): ^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 1,94 (s, 9H), 1,54 (s, 9H), 7,73 (s, 1H), 9,19 (шир. s, 1H); FAB-MS m/z (відн. вміст) 300 ((M+H)⁺, 50%).



Стадія 3. Хлорид 5-трет-бутил-3-тіофенуамонію: Розчин 3-(трет-бутоксикарбоніламіно)-5-трет-бутил-2-тіофенкарбонової кислоти (3,0г, 0,010моль) в діоксані (20мл) обробляли розчином HCl (4,0М в діоксані, 12,5мл, 0,050моль, 5,0екв.) і одержану суміш нагрівали при 80°C протягом 2год. Одержаному каламутному розчину дали охолонути до кімнатної температури з утворенням певної кількості осаду. Дрібнозернисті частинки (супензію) розбавляли EtOAc (50мл) і охолоджували до -20°C. Одержані тверді частинки збирали і висушували до наступного дня у вакуумі з одержанням потрібної солі у вигляді білуватої твердої речовини (1,72г, 90%); ^1H -ЯМР (DMSO-d_6) δ 1,31 (s, 9H), 6,84 (d, =1,48Гц, 1H), 7,31 (d, J=1,47Гц, 1H), 10,27 (шир. s, 3H).

Б. Загальні способи синтезування заміщених анілінів

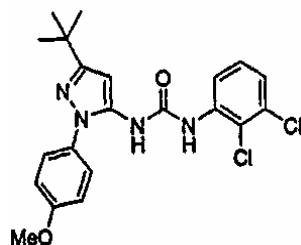
Б1. Загальний спосіб синтезу заміщеного аніліну через нуклеофільне ароматичне заміщення з використанням галопіридину



3-(4-піридиніланілін: до розчину 3-амінотіофену (3,8мл, 34ммоль) у безводному ДМФ (90мл) додавали 4-хлорпіридингідрохлорид (5,4г, 35,6ммоль) з подальшим додаванням K_2CO_3 (16,7г, 121ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1,5год, після чого розбавляли EtOAc (100мл) і водою (100мл). Розчинний у воді шар зворотно екстрагували EtOAc (2x100мл). Об'єднані органічні шари промивали насиченим розчином NaCl (100мл), висушували (MgSO_4) і концентрували у вакуумі. Залишок фільтрували через шар кремнезему (градієнт від 50% EtOAc/50% гексан до 70% EtOAc/30% гексан) і одержану речовину розтирали до порошку з розчином Et O/гексан з одержанням потрібного продукту (4,6г, 66%): ХТШ (100% етил ацетат) R_f 0,29; ^1H -ЯМР (DMSO-d_6) δ 5,41 (s, 2H), 6,64-6,74 (m, 3H), 7,01 (d, J=4,8, 2H), 7,14 (t, J=7,8Гц, 1H), 8,32 (d, J=4,8, 2H).

В. Загальні способи утворення сечовини

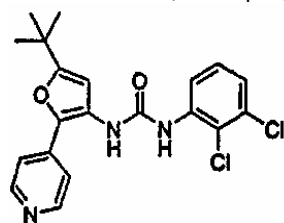
В1а. Реакція гетероциклічного аміну з арилізоціанатом



N-(1-(4-метоксифеніл)-3-трет-бутил-5-піразоліл)-N'-(2,3-дихлорфеніл)сечовина:

До перемішаного розчину 1-(4-метоксифеніл)-3-трет-бутил-5-амінопіразолу (0,342г, 1,39ммоль) у безводному толуолі (9мл) додавали 2,3-дихлорфенілізоціанат (0,276мл, 2,09ммоль). Розчин щільно закривали і перемішували у темноті протягом 96год при 60°C. Після цього реакційну суміш розбавляли EtOAc (200мл). Одержану суміш послідовно промивали 1М розчином HCl (2x125мл) і насиченим розчином NaCl (50мл), висушували (MgSO₄) і концентрували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії (20% EtOAc/80% гексан) з одержанням продукту у вигляді твердої речовини білого кольору (0,335г, 56%): ХТШ (20% EtOAc/80% гексан) R_f 0,22; ¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 1,24 (s, 9H), 3,79 (s, 3H), 6,33 (s, 1H), 7,05 (d, J=9Гц, 2H), 7,28 (m, 2H), 7,38 (d, J=9Гц, 2H), 8,05 (dd, J=3,6Гц, 1H), 8,75 (s, 1H), 9,12 (s, 1H); FAB-MS m/z 433 ((M+H)⁺).

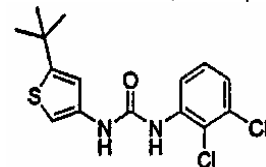
В16. Реакція гетероциклічного аміну з арилізоціанатом



N-(2-(4-піридиніл)-5-трет-бутил-3-фурил)-N'-(2,3-дихлорфеніл)сечовина:

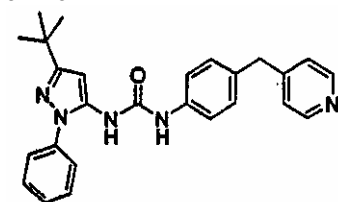
розчин 3-аміно-2-(4-піридиніл)-5-трет-бутилфурану (Спосіб А2; 0,10г, 0,46ммоль) та 2,3-дихлорфенілізоціанату (0,13г, 0,69ммоль) в CH₂Cl₂ перемішували при кімнатній температурі протягом 2год, після чого обробляли 2-(диметиламіно)етиламіном (0,081г, 0,92ммоль) і перемішували впродовж ще 30хв. Одержану суміш розбавляли EtOAc (50мл), після чого послідовно промивали 1N розчином HCl (50мл), насиченим розчином NaHCO₃ (50мл) і насиченим розчином NaCl (50мл), висушували (Na₂SO₄) і концентрували у вакуумі. Залишок очищали з використанням колонкової хроматографії (градієнт від 10% EtOAc/90% гексан до 40% EtOAc/60% гексан) з одержанням потрібної сполуки у вигляді твердої речовини білого кольору (0,12г, 63%): т.п. 195-198°C; ХТШ (60% EtOAc/40% гексан) R_f 0,47; ¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 1,30 (s, 9H); 6,63 (s, 1H); 7,30-7,32 (m, 2H), 7,58 (dm, J=6,62Гц, 2H), 8,16 (dd, J=2,57, 6,99Гц, 1H), 8,60 (dm, J=6,25Гц, 2H), 8,83 (s, 1H), 9,17 (s, 1H); ¹³C ЯМР (DMCO-d₆) δ 28,5 (3C), 32,5, 103,7, 117,3 (2C), 119,8, 120,4, 123,7, 125,6, 128,1, 131,6, 135,7, 136,5, 137,9, 150,0 (2C), 152,2, 163,5; CI-MS m/z (відн. вміст) 404 ((M+H)⁺, 15%), 406 ((M+H+2)⁺, 8%).

В1в. Реакція гетероциклічного аміну з ізоціанатом



N-(5-трет-бутил-3-тієніл)-N'-(2,3-дихлорфеніл)сечовина: піридин (0,163мл, 2,02ммоль) додавали до суспензії хлориду 5-трет-бутилтіофенуамонію (Спосіб А4в; 0,30г, 1,56ммоль) і 2,3-дихлорфенілізоціанату (0,32мл, 2,02ммоль) у CH₂Cl₂ (10мл) до утворення прозорої суміші і одержаний розчин перемішували при кімнатній температурі до наступного дня. Реакційну суміш після цього концентрували у вакуумі, а залишок розділяли між EtOAc (15мл) і водою (15мл). Органічний шар послідовно промивали насиченим розчином NaHCO₃ (15мл), 1N розчином HCl (15мл) і насиченим розчином NaCl (15мл), висушували (Na₂SO₄) і концентрували у вакуумі. Частину залишку піддавали препаративній ВЕРХ (колонка C-18; 60% ацетонітрил/40% вода/0,05% ТФА) з одержанням потрібної сечовини (0,180г, 34%): т.п. 169-170°C; ХТШ (20% EtOAc/80% гексан) R_f 0,57; ¹H-ЯМР (DMCO-d₆) δ 1,31 (s, 9H), 6,79 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,24-7,33 (m, 2H), 8,16 (dd, J=1,84, 7,72Гц, 1H), 8,35 (s, 1H), 9,60 (s, 1H); ¹³C-ЯМР (DMCO-d₆) δ 31,9 (3C), 34,0, 103,4, 116,1, 119,3, 120,0, 123,4, 128,1, 131,6, 135,6, 138,1, 151,7, 155,2; FAB-MS m/z (відн. вміст) 343 ((M+H)⁺, 83%), 345 ((M+H+2)⁺, 56%), 347 ((M+H+4)⁺, 12%).

В2. Реакція заміщеного аніліну з N,N'-карбонілдіімідазол з подальшою реакцією з гетероциклічним аміном



N-(1-феніл-3-трет-бутил-5-піразолт)-N'-(4-(4-піридинілметил)феніл)сечовина:

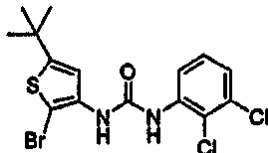
розчин 4-(4-піридинілметил)аніліну (0,25г, 1,38ммоль) та N,N'-карбонілдіімідазолу (0,23г, 1,42ммоль) в

CH₂Cl₂, 11мл) при кімнатній температурі перемішували протягом 2год, далі обробляли 5-аміно-1-феніл-3-трет-бутил-5-піразолом (0,30г, 1,38ммоль) і одержану суміш перемішували при 50°C до наступного дня. Реакційну суміш розбавляли EtOAc (25мл), далі послідовно промивали водою (30мл) і насиченим розчином NaCl (30мл), висушували (MgSO₄) і концентрували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії (градієнт від 100% CH₂Cl₂ до 30% ацетон/70% CH₂Cl₂) і одержану речовину рекристалізували (EtOAc/Et₂O) з одержанням потрібного продукту в комплексі з 0,25екв. H₂O (0,30г): ХТШ (60% ацетон/40% CH₂Cl₂) R_f 0,56; ¹H-ЯМР (DMCO-d₆) δ 1,25 (s, 9H); 3,86 (s, 2H), 6,34 (s, 1H), 7,11 (d, J=8,82Гц, 2H), 7,19 (dm, J=6,25Гц, 2H), 7,31 (d, J=1,84Гц, 2H), 7,35-7,51 (m, 5H), 8,34 (s, 1H), 8,42 (dm, 5,98Гц, 2H), 8,95 (s, 1H);

FAB-MS m/z (відн. вміст) 426 ((M+H)⁺, 100%).

Г. Взаємоперетворення сечовин

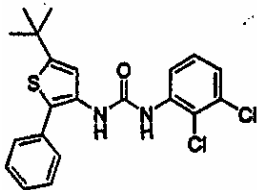
Г1. Загальний спосіб електрофільного галогенування арильних сечовин



N-(2-бром-5-трет-бутил-тієніл)-N'-(2,3-дихлорфеніл)сечовина:

до суспензії N-(5-трет-бутил-3-тієніл)-N'-(2,3-дихлорфеніл)сечовина (Спосіб В1в; 3,00г, 8,74ммоль) у CHCl₃ (200мл) за кімнатної температури поволі додавали розчин Br₂ (0,46мл, 1,7ммоль) у CHCl₃ (150мл) через лійку для додавання протягом 2,5год, роблячи реакційну суміш однорідною. Перемішування продовжували протягом 20хв, після чого аналіз за допомогою ХТШ показав завершення реакції. Реакційну суміш концентрували у вакуумі, залишок перетирали на порошок (Et₂O/гексан) і утворені тверді частинки промивали (гексан) з одержанням бромованого продукту у вигляді порошку рожевого кольору (3,45г, 93%): т.п. 180-183°C; ХТШ (10% EtOAc/90% гексан) R_f 0,68; ¹H-ЯМР (DMCO-d₆) δ 1,28 (s, 9H), 7,27-7,31 (m, 2H), 7,33 (s, 1H), 8,11 (dd, J=3,3, 6,6Гц, 1H), 8,95 (s, 1H), 9,12 (s, 1H); ¹³C ЯМР (DMCO-d₆) δ 31,5 (3C), 34,7, 91,1, 117,9, 120,1, 120,5, 123,8, 128,0, 131,6, 135,5, 137,9, 151,6, 155,3; FAB-MS m/z (відн. вміст) 421 ((M+H)⁺, 7%), 423 (M+2+H)⁺, 10%).

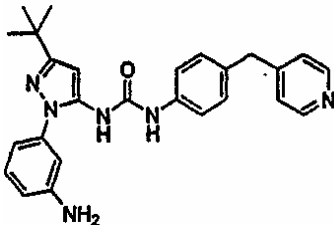
Г2. Загальний спосіб опосередкованих металами реакцій перехресного зв'язування з галоген-заміщеними сечовинами



N-(2-феніл-5-трет-бутил-тієніл)-N'-(2,3-дихлорфеніл)сечовина:

до розчину N-(3-(2-бром-5-трет-бутилтієніл)-N'-(2,3-дихлорфеніл) сечовини (0,50г, 1,18ммоль) і фенілтриметиллово (0,21мл, 1,18ммоль) у ДМФ (15мл) додавали Pd (PPh₃)₂Cl₂ (0,082г, 0,12ммоль) і одержану суспензію нагрівали при 80°C до наступного дня. Реакційну суміш розбавляли EtOAc (50мл) і водою (50мл) і органічний шар послідовно промивали водою (3x50мл) і насиченим розчином NaCl (50мл), після чого висушували (Na₂SO₄) і концентрували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою ВЕРХ (Biotage®; градієнт від 100% гексану до суміші 5%EtOAc/95%гексан), після чого виконували препаративну ВЕРХ (колонка C-18; 70%CH₃CN/30%вода/0,05%ТФА). Фракції ВЕРХ концентрували у вакуумі і одержану розчинну у воді суміш екстрагували EtOAc (2x50мл). Об'єднані органічні шари висушували (Na₂SO₄) і концентрували у вакуумі з одержанням смолоподібної напівтвердої речовини, яку розтирали з гексаном з одержанням потрібного продукту у вигляді твердої речовини білого кольору (0,050г, 10%): т.п. 171-173°C; ХТШ (5% EtOAc/95% гексан) R_f 0,25; ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 1,42 (s, 9H), 6,48 (шир. s, 1H), 7,01 (s, 1H), 7,10-7,18 (т, 2H), 7,26-7,30 (т, 1H), 7,36 (ап. t, J=7,72Гц, 2H), 7,39 (шир. s, 1H), 7,50 (dm, J=6,99Гц, 2H), 7,16 (dd, J=2,20, 7,72Гц, 1H); ¹³C ЯМР (CDCl₃) δ 32,1 (3C), 34,8, 118,4, 118,8, 120,7, 121,1, 124,2, 127,7, 127,9, 128,2 (2C), 128,5, 129,0 (2C), 132,4, 132,5, 136,9, 153,1, 156,3; FAB-MS m/z (відн. вміст) 419 ((M+H)⁺, 6%), 421 ((M+H+2), 4%).

Г3. Загальні способи відновлення арильних сечовин з вмістом нітро



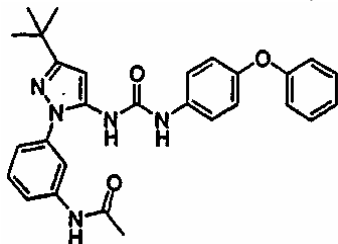
N-(1-(3-амінофеніл)-3-трет-бутил-5-піразоліл)-N'-(4-(4-піридинілтїо)феніл)сечовина:

розчин

N-(1-(3-нітрофеніл)-3-трет-бутил-5-піразоліл)-N'-(4-(4-піридинілтїо)феніл)сечовини (приготовлений способами А1 та В1а; 0,310г, 0,635ммоль) в оцтовій кислоті (20мл) поміщали у штучну атмосферу газу Ar з використанням процедур вакуумування та очищення аргону. До цієї суміші додавали воду (0,2мл) і далі порошок залізо (325меш; 0,354г, 6,35ммоль). Реакційну суміш інтенсивно перемішували у штучній аргонівій атмосфері при кімнатній температурі протягом 18год, після чого ХТШ показав відсутність початкового матеріалу. Реакційну суміш фільтрували і тверді частинки промивали великою кількістю води (300мл). Розчин оранжевого кольору після цього доводили до рН 4,5 шляхом додавання гранул NaOH (утворюється осад білого кольору). Одержану суспензію екстрагували Et₂O (3x250мл) і об'єднані органічні шари промивали насиченим розчином NaHCO₃ (2x300мл) до припинення

пінкоутворення. Одержаний розчин висушували (MgSO_4) і концентрували у вакуумі. Одержану тверду речовину білого кольору очищали за допомогою колонкової хроматографії (градієнт від 30% ацетон/70% CH_2Cl_2 до 50% ацетон/50% CH_2Cl_2) з одержанням продукту у вигляді твердої речовини білого кольору (0,165г, 57%): ХТШ (50% ацетон/50% CH) R_f 0,50; ^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 1,24 (s, 9H), 5,40 (шир. s, 2H), 6,34 (s, 1H), 6,57 (d, $J=8\text{Гц}$, 2H), 6,67 (s, 1H), 6,94 (d, $J=6\text{Гц}$, 2H), 7,12 (ап. t, $J=8\text{Гц}$, 1H), 7,47 (d, $J=9\text{Гц}$, 2H), 7,57 (d, $J=9\text{Гц}$, 2H), 8,31 (d, $J=6\text{Гц}$, 2H), 8,43 (s, 1H), 9,39 (s, 1H); FAB-MS m/z 459 (($\text{M}+\text{H}$)).

Г4. Загальні способи ацилювання арильних сечовин з вмістом аміну

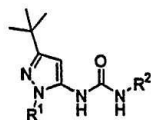


N-(3-ацетамідофеніл)-3-трет-бутил-5-піразоліл)-N'-(4-феноксифеніл)сечовина:







до розчину N-(1-(3-амінофеніл)-3-трет-бутил-5-піразоліл)-N'-(4-феноксифеніл)сечовини (приготовленого з використанням способів, аналогічних А1, В1а та Г3; 0,154г, 0,349ммоль) в CH_2Cl_2 (10мл) додавали піридин (0,05мл) з подальшим додаванням ацетилхлориду (0,030мл, 0,417ммоль). Реакційну суміш перемішували у штучній атмосфері аргону при кімнатній температурі протягом 3год, після чого аналіз ХТШ показав відсутність початкової речовини. Реакційну суміш розбавляли CH_2Cl_2 (10мл), після чого одержаний розчин послідовно промивали водою (30мл) і насиченим розчином NaCl (30мл), висушували (MgSO_4) і концентрували у вакуумі. Одержаний залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії (градієнт від 5% EtOAc /95% гексан до 75% EtOAc /25% гексан) з одержанням продукту у вигляді твердої речовини білого кольору (0,049г, 30%): ХТШ (70% EtOAc /30% гексан) R_f 0,32; ^1H ЯМР (DMCO-d_6) δ 1,26 (s, 9H), 2,05 (s, 3H), 6,35 (s, 1H), 6,92-6,97 (m, 4H), 7,05-7,18 (m, 2H), 7,32-7,45 (m, 5H), 7,64-7,73 (m, 2H), 8,38 (s, 1H), 9,00 (s, 1H), 10,16 (s, 1H); FAB-MS m/z 484 (($\text{M}+\text{H}$)).











Наведені нижче сполуки синтезовано згідно із загальними способами, переліченими вище у тексті:









Таблиця 1. 2-заміщені-5-трет-бутилпіразолільні сечовини











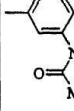











Позиція	R'	R ²	т.п. (°C)	ХТШ R_f	Сист. розчинника	Мас- спектр. [джерела]	Спосіб синтезув.
1				0,42	20% EtOAc / 80% гексан	403 ($\text{M}+\text{H}$)+ [FAB]	А1, В1а
2				0,50	67% EtOAc / 33% гексан	418 ($\text{M}+\text{H}$)+ [FAB]	А1, В1а, Г3
3				0,27	20% EtOAc / 80% гексан	417 ($\text{M}+\text{H}$)+ [FAB]	А1, В1а
4				0,47	20% EtOAc / 80% гексан	404 ($\text{M}+\text{H}$)+ [FAB]	А1, В1а

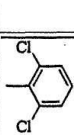





5				0,30	33% EtOAc/ 67% гексан	473 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a
6				0,27	100% EtOAc	421 (M+H)+ [FAB1]	A1, B1a
7				0,50	20% EtOAc/	437 (M+H)+	A1, B1a

















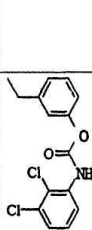
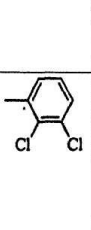
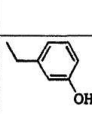
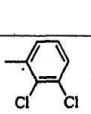
					80% гексан	[FAB]	
8				0,60	50% EtOAc/ 50% гексан	481 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a
9				0,37	20% EtOAc/ 80% гексан	448 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a
10				0,35	20% EtOAc/ 80% гексан	433 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a
11				0,40	20% EtOAc/ 80% гексан	471 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a
12				0,22	20% EtOAc/ 80% гексан	433 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a

13				0,51	20% EtOAc/ 80% гексан	445 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a
14				0,39	50% EtOAc/ 50% гексан	418 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a, Г3
15				0,31	30% EtOAc/ 70% гексан	448 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a
16			195 200			437 (M+H)+ [FAB1]	A1, B1a

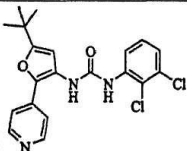
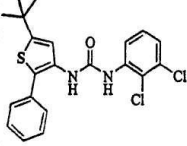
17			97-100			403 (M+H)+	A1, B1a
18			84-85			371 (M+H)+	A1, B1a
19			156 159			353 (M+H)+	A1, B1a
20			168 169			360 (M+H)+	A1, B1a
21			131 135			380 (M+H)+	A1, B1a
22				0,31	70% EtOAc/ 30% гексан	484 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a, Г3, Г4

23				0,14	50% EtOAc/ 50% гексан	442 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a, Г3
24				0,19	30% EtOAc/ 70% гексан	472 (M+H)+ [FAB]	A1, B1a
25				0,56	60% ацетон / 40% CH ₂ Cl ₂	426 (M+H)+ [FAB]	A1, B2
26				0,34	10% MeOH/ 90% CH ₂ Cl ₂	427 (M+H)+ [FAB]	A1,B2

27				0,44	2 40% ацетон / 60% CH ₂ Cl ₂	494 (M+H)+ [FAB]	A1, B2
28				0,44	40% ацетон / 60% CH ₂ Cl ₂	444 (M+H)+ [FAB]	A1, B2
29				0,46	40% ацетон / 60% CH ₂ Cl ₂	440 (M+H)+ [FAB]	A1.B2

30			0,48	40% ацетон / 60% CH ₂ Cl ₂	444 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2
31			0,34	40% ацетон / 60% CH ₂ Cl ₂	504 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2
32			0,47	40% ацетон / 60% CH ₂ Cl ₂	471 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2
33			0,51	60% ацетон / 40% CH ₂ Cl ₂	456 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2
34			0,50	50% ацетон / 50% CH ₂ Cl ₂	441 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2, Г3
35			0,43	30% ацетон / 70% CH ₂ Cl ₂	471 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2
36			0,50	50% ацетон / 50% CH ₂ Cl ₂	459 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2, Г3
37			0,47	30% ацетон / 70% CH ₂ Cl ₂	489 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2
38			0,47	50% EtOAc/ 50% гексан	620 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2
39			0,34	50% EtOAc/ 50% гексан	433 (M+H) ⁺ [FAB]	A1, B2

Таблиця 2. Додаткові сечовини

Позиція		Т.п. °C	ХТШ R _f	Система розчинника	Мас- спектр.	Спосіб Синтезув.
40		195- 198	0,47	60% EtOAc/ 40% гексан	404 (M+H)+ [FAB]	A2, B16
41		171- 173	0,25	5% EtOAc/ 95% гексан	419 (M+H)+ [FAB]	A3, B1в, Г1, Г2

БІОЛОГІЧНІ ПРИКЛАДИ

Кількісний аналіз кінази raf in vitro:

Під час виконання кількісного аналізу кінази in vitro raf інкубують з MEK в Tris-HCl (20mM), pH 8,2, що містить 2-меркаптоетанол (2mM) та NaCl (100mM). Цей розчин білка (20л) змішують із водою (5мкл) або зі сполуками, розбавленими дистильованою водою з початкових розчинів (10mM) сполук, розчинених у DMSO. Реакцію кінази ініціюють шляхом додавання 25мкл [γ - ^{33}P] АТФ (1000-3000дпм/пмоль) у Tris-HCl (80mM), pH 7,5, NaCl (120mM), ДТТ (1,6mM), MgCl_2 (16mM). Реакційні суміші інкубують при 32°C, зазвичай протягом 22хв. Уведення ^{33}P в білок кількісно оцінюють за допомогою збирання реакційної суміші на фосфоцелюлозних фільтрах, вимиваючи вільний рахунок 1%-им розчином фосфорної кислоти і підраховуючи фосфорилування за допомогою рідинного сцинтиляційного лічильника. Для підвищення продуктивності скринінгу застосовують АТФ (10мкМ) та MEK (0,4мкМ). В деяких експериментах реакцію кінази припиняють шляхом додавання еквівалентної кількості відповідного буфера для зразка Laemmli. Зразки кип'ятять 3хв і білки розганяють за допомогою електрофорезу на 7,5%-их гелях. Гелі фіксують, висушують і проявляють на фотопластинці (Fuji). Фосфорилування аналізують з використанням системи Fujix Bio-Imaging Analyzer System.

Всі наведені як приклади сполук характеризувалися значеннями IC_{50}s від 1нМ до 10мкМ.

Клітинна проба

Для кількісного дослідження росту клітин in vitro клітинні лінії пухлин людського організму, включаючи, крім іншого, HCT116 та DLD-1, що містять мутовані гени K-ras, використовують в стандартних кількісних аналізах розмноження на пластику - для якр-залежного росту, або у м'якому агарі - для якр-незалежного росту. Клітинні лінії пухлин людського організму придбавали у ATCC (Роквілл, штат Меріленд) і зберігали у RPMI разом із 10%-ою термоінактивованою сироваткою коров'ячого ембріону і глутаміном (200mM). Культуральне середовище та присадки придбають у Gibco/BRL (Геїтерсбург, штат Меріленд), за винятком сироватки коров'ячого ембріону (JRH Biosciences, Ленекса, штат Канзас). У разі виконання кількісного аналізу розмноження для якр-залежного росту 3×10^3 клітин висівали у 96-лункові культуральні планшети, залишали для приєднання до наступного дня при 37°C в інкубаторі із середовищем 5%-го CO_2 . Сполуки титрували у середовищі за допомогою серії розведень і додавали до клітинних культур у 96-лункових планшетах. Клітинам зазвичай давали рости протягом 5 днів, на третій день підживлюючи їх свіжою сполукою з вмістом середовища. Розмноження контролювали шляхом вимірювання активності метаболізму з використанням стандартного кількісного колориметричного аналізу ХТТ (Boehringer Mannheim), виконуючи виміри за допомогою стандартного планшет-рідера для ELISA (ферментного імуносорбентного аналізу) при оптичній густині 490/560, або шляхом вимірювання введення ^3H -тимідину в ДНК після росту культури протягом 8год разом із ^3H -тимідином (1мкCu), збираючи клітини на фільтрах із скловолосна з використанням клітинного харвестера і виконуючи виміри введення ^3H -тимідину за допомогою рідинного сцинтиляційного лічильника.

У разі якр-незалежного росту клітини поміщали на планшети в кількості від 1×10^3 до 3×10^3 в 0,4%-ій агарозі у повних середовищах RPMI, перекиваючи донний шар, що містить лише 0,64%-ий агар у повному середовищі RPMI у 24-лункових культуральних планшетах. Додавали повні середовища плюс серію розбавлень сполук, і культуру інкубували при 37°C в інкубаторі з 5%-им CO_2 впродовж 10-14 днів з повторними підживленнями свіжим середовищем із вмістом сполуки з інтервалом 3-4 дні. За утворенням колонії спостерігали, а сумарну масу клітин, середній розмір колонії та кількість колоній вимірювали з використанням технології отримання зображення і програмного забезпечення для візуального аналізу (Image Pro Plus, операційні середовища Cybernetics).

За допомогою цих кількісних аналізів встановлюють, що сполуки формули I ефективно інгібують активність кінази raf і інгібують ріст канцерогенних клітин.

Аналіз in vivo:

Аналіз in vivo інгібувального ефекту сполук щодо пухлин (наприклад, "солідних" раків), пов'язаних їх кіназою raf, виконували у такий спосіб:

Мишам CD1 nu/nu (віком 6-8 тижнів) у бік підшкірно вводили 1×10^6 клітин з клітинної лінії аденокарциноми товстої кишки людини. Мишам вводили дози внутрішньочеревним, внутрішньовенним або оральним шляхом з розрахунку 10, 30, 100 або 300мг/кг, починаючи приблизно з 10 дня, коли розмір пухлини становить приблизно 50-100мг. Тваринам давали дози впродовж 14 днів поспіль один раз на добу; за розміром пухлини спостерігали вимірюванням циркулем двічі на тиждень.

Інгібувальний вплив сполуки на кіназу raf і, таким чином, на пухлини (наприклад, "солідні" раки), пов'язані з кіназою raf, далі виявляли in vivo згідно з технологією Monia et al. (Nat. Med. 1996, 2,668-75).

Попередні приклади можуть бути повторені з аналогічним успіхом шляхом заміщення взагалі або конкретно описаних реагентів та/або заміни робочих умов цього винаходу тими, що їх використовували для попередніх прикладів.

З наведеного вище опису фахівець без ускладнень оцінить основні характеристики цього винаходу і - без відхилення від об'єму і суті цього винаходу - може впроваджувати різні зміни та модифікації з метою пристосування їх до різних режимів застосування та умов.