

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 040055

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.04.14

(21) Номер заявки
201890903

(22) Дата подачи заявки
2005.09.02

(51) Int. Cl. C07D 213/81 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 409/12 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01)
C07D 417/04 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)
A61K 31/4418 (2006.01)
A61K 31/4427 (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БАЗАЛЬНОКЛЕТОЧНОЙ
КАРЦИНОМЫ

(31) 60/607,367

(32) 2004.09.02

(33) US

(43) 2019.02.28

(62) 201100604; 2005.09.02

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖЕНЕНТЕК, ИНК.; КЬЮРИС,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Бао Лян, Ван Шумэй, Гунцнер
Джанет, Дайна Майкл, Кастанедо
Джорджетт, Лалонд Ребекка, Малески
Кимберли, Рейнолдс Марк, Сатерлин
Даниэл, Стэнли Марк, Сэвидж Скотт
(US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) US-A-4851414
WO-A1-1996023783
US-A1-20040048891
GERARD LECLERC et al. Cardiotonic agents.

1. Synthesis and structure-activity relationships in a

new class of 3-, 4-, and 5-pyridyl-2(1H)-quinolone derivatives. Journal of Medicinal Chemistry, 1986, vol. 29, No. 12, с. 2430, таблица

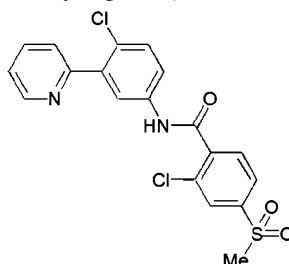
RUDOLPH A. ABRAMOVITCH et al. Benzisoxazolo [2,3- α] pyridinium tetrafluoroborates. Possible generation of an aryloxenium ion. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 1978, (3), 149, с. 149, соединения (7), (8)

HEILBRON I.M. et al. Arylpyridines. Part IV. 3- and 4-Pyridyldiphenyls. Journal of the Chemical Society (Resuned), 1279, с. 1280-1281

STEVEN M. BROMIDGE et al. Biarylcarbamoyleindolines are novel and selective 5-HT(2C) receptor inverse agonists: identification of 5-methyl-1-[[2-[(2-methyl-3-pyridyl)oxy]-5-pyridyl]carbamoyle]-6-trifluoromethylindoline (SB-243213) as a potential antidepressant/anxiolytic agent. J. Med. Chem. 2000, vol. 43, pp. 1123-34 схемы 1-5, с. 1128, таблицы 4-5, примеры, с. 1129-1133

V.A. PETROW et al. New syntheses of heterocyclic compounds. Part II. 2-Phenyl-3:4:6:7-dibenzo-1:5-naphthyridine. Journal of the Chemical Society (Resuned), 316
GB-A-2163423

(57) Изобретение направлено на фармацевтическую композицию для лечения базальноклеточной карциномы, содержащую фармацевтически эффективное количество соединения 2-хлоро-N-(4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)фенил)-4-(метилсульфонил)бензамида, имеющего следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемой соли, и фармацевтически приемлемый носитель.

B1

040055

040055

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение направлено на органические соединения, полезные при лечении и/или профилактике у млекопитающих, в особенности на пиридиловые соединения, которые ингибируют сигнальный путь hedgehog и могут быть полезны для лечения гиперпролиферативных заболеваний и болезней, опосредуемых процессом ангиогенеза.

Уровень техники

Протеин hedgehog (Hh) впервые обнаружили у мушек *Drosophila melanogaster*. Соответствующий ген обеспечивал поляризацию сегментов и участвовал в эмбриональном паттернировании (Nusslein-Volhard et al., Roux. Arch. Dev. Biol. 193: 267-282 (1984)). Три обнаруженных у дрозофил ортолога белка hedgehog (Sonic - звуковой, Desert - пустынный и Indian - индийский) были затем найдены у всех позвоночных, включая рыб, птиц и млекопитающих. Белок desert hedgehog (DhH) экспрессируется в основном в яичках, причем это происходит как в мышинных эмбрионах, так и у взрослых грызунов и людей; Indian hedgehog (IhH) участвует в развитии костной ткани на этапе эмбриогенеза и в образовании костей у взрослых; наконец, Sonic hedgehog (ShH) в большом количестве экспрессируется в хорде и вентральной пластине при развитии эмбрионов позвоночных. Эксперименты с животной тканью, культивируемой *in vitro*, а также эктопическая экспрессия ShH в трансгенных животных показали, что ShH играет ключевую роль в паттернировании нейрональной трубки (Echelard et al., там же; Ericson et al., Cell. 81: 747-56 (1995); Marti et al., Nature 375: 322-5 (1995); Krauss et al., Cell 75, 1432-44 (1993); Riddle et al., Cell. 75:1401-16 (1993); Roelink et al., Cell 81:445-55(1995); Hynes et al., Neuron 19: 15-26(1997)). Hh принимает также участие в развитии конечностей (Krauss et al., Cell 75: 1431-44 (1993); Laufer et al., Cell 79, 993-1003 (1994)), сомитов (Fan and Tessier-Lavigne, Cell 79, 1175-86 (1994); Johnson et al., Cell 79: 1165-73(1994)), легких (Bellusci et al., Develop. 124: 53-63 (1997) и кожи (Oro et al., Science 276: 817-21 (1997)). Белки IhH и DhH также принимают участие в развитии клеток костей, кишечника и зародышевых клеток (Apelqvist et al., Curr. Biol. 7: 801-4 (1997); Bellusci et al., Dev. Suppl. 124: 53-63(1997); Bitgood et al., Curr. Biol. 6: 298-304 (1996); Roberts et al., Development 121: 3163-74 (1995)).

Человеческий ShH синтезируется в виде белка-предшественника размером 45 кДа, после автокаталитического расщепления которого образуется 20 кДа N-терминальный фрагмент, отвечающий за нормальную сигнальную активность hedgehog, и 25 кДа C-терминальный фрагмент, отвечающий за процесс дальнейшей модификации, при которой N-терминальный фрагмент конъюгируется с холестерином (Lee, J.J., et al. (1994) Science 266, 1528-1536; Bumcrot, D.A., et al. (1995), Mol. Cell Biol. 15, 2294-2303; Porter, J.A., et al. (1995) Nature 374, 363-366). N-терминальный фрагмент состоит из аминокислотных остатков 24-197 последовательности белка-предшественника; он поддерживает связь с мембраной с помощью прикрепляемого к C-концу холестерина (Porter, J.A., et al. (1996) Science 274, 255-258; Porter, J.A., et al. (1995) Cell 86, 21-34). Конъюгация с холестерином отвечает за тканевую локализацию сигнала hedgehog.

Полагают, что на поверхности клетки сигнал Hh передается на протеин Patched (Ptc), состоящий из 12 трансмембранных доменов (Hooper and Scott, Cell 59: 751-65 (1989); Nakano et al., Nature 341: 508-13 (1989)) и рецептор Smoothened (Smo), сопряженный с G-белком (Alcedo et al., Cell 86: 221-232 (1996); van den Heuvel and Ingham, Nature 382: 547-551 (1996)). В соответствии с моделью, поддерживаемой данными генетических и биохимических исследований, Ptc и Smo входят в состав многокомпонентного рецепторного комплекса (Chen and Struhl, Cell. 87: 553-63 (1996); Marigo et al., Nature 384: 176-9 (1996); Stone et al., Nature 384: 129-34 (1996)). При связывании Hh с Ptc последний ингибирует Smo в меньшей степени, в результате Smo передает сигнал Hh по плазматической мембране. Однако точный механизм, по которому Ptc регулирует активность Smo, до конца еще не выяснен.

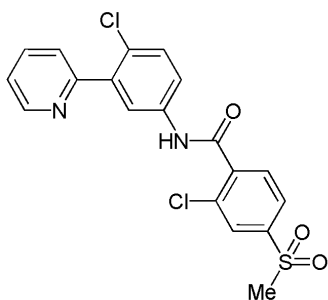
Инициированный Smo каскад передачи сигнала приводит к активации факторов транскрипции Gli, которые проникают в ядро, где и контролируют транскрипцию целевых генов. Показано, что Gli влияют на транскрипцию ингибиторов пути Hh, таких как Ptc и Hip1, по принципу отрицательной обратной связи. Это означает, что для правильной дифференциации клеток и формирования органов необходим тщательный контроль сигнального пути Hh. Неконтролируемая активация последнего связана с различными заболеваниями, особенно головного мозга, кожи и мышц, а также с проблемами ангиогенеза. Дело в том, что показано, что сигнальный путь Hh регулирует пролиферацию клеток у взрослых путем активации таких участвующих в клеточном цикле генов, как циклин D, который вовлечен в переход G1-S. Кроме того, Hh блокирует остановку клеточного цикла, опосредуемого p21, ингибитором циклин-зависимых киназ. Сигнальный путь Hh задействован также в онкологических заболеваниях, индуцируя компоненты пути EGFR (EGF, Her2), участвующие в пролиферации, а также компоненты путей PDGF (PDGF α) и VEGF, участвующие в ангиогенезе. Мутации гена Ptc, приводящие к потере его функций, были обнаружены у больных синдромом невуса базальных клеток basal cell nevus syndrome (BCNS), наследственным заболеванием, характеризующимся множественными карциномами базальных клеток (basal cell carcinomas, BCC). Нарушающие функции Ptc мутации его гена связаны также с более высоким процентом спорадических карцином базальных клеток (Chidambaram et al., Cancer Research 56: 4599-601 (1996); Gailani et al., Nature Genet. 14: 78-81 (1996); Hahn et al., Cell 85: 841-51 (1996); Johnson et al., Science 272: 1668-71 (1996); Unden et al., Cancer Res. 56: 4562-5; Wicking et al., Am. J. Hum. Genet. 60: 21-6 (1997)). Полагают, что утрата функции Ptc приводит к неконтролируемой передаче сигнала Smo в карциномах базальных

клеток. Аналогично, активирующие Smo мутации были обнаружены в спорадических опухолях ВСС (Xie et al., Nature 391: 90-2 (1998)), что подчеркивает роль Smo как сигнальной единицы рецепторного комплекса для SHh.

Были изучены различные ингибиторы передачи сигнала hedgehog, такие как циклопамин (Cyclopamine), природный алкалоид, останавливающий клеточный цикл при G0-G1 и индуцирующий апоптоз в SCLC. Полагают, что циклопамин ингибирует Smo, связываясь с его пакетом из семи спиралей. Показано, что форсколин (forskolin) ингибирует путь Hh после Smo, активируя протеин киназу A (protein kinase A (PKA)), которая поддерживает факторы транскрипции Gli в неактивном состоянии. Несмотря на открытие этих и других соединений, остается потребность в сильных ингибиторах сигнального пути hedgehog.

Раскрытие изобретения

Один аспект настоящего изобретения направлен на фармацевтическую композицию для лечения базальноклеточной карциномы, содержащую фармацевтически эффективное количество соединения 2-хлоро-N-(4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)фенил)-4-(метилсульфонил)бензамида, имеющего следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый носитель.

Осуществление изобретения

Термин "ацил" означает карбонил с заместителем, соответствующий формуле $-C(O)-R$, где R соответствует H, алкилу, карбоциклу, гетероциклу, карбоциклзамещенному алкилу или гетероциклзамещенному алкилу, где алкил, алкокси, карбоцикл и гетероцикл определены в этой заявке. Ацильные группы включают алканойл (например, ацетил), ароил (например, бензоил) и гетероаройл.

Термин "алкил" означает разветвленную или неразветвленную, насыщенную или ненасыщенную (то есть алкенил, алкинил) алифатическую углеводородную группу, содержащую до 12 атомов углерода, если не указано иначе. При использовании в составе другого термина, например "алкиламино", слово "алкил" предпочтительно означает насыщенную углеводородную цепочку, но охватывает также и ненасыщенные углеводородные цепи, такие как алкениламино и алкиниламино. "Алкилфосфинат" означает $R(O)R$ -алкильную группу, где R соответствует H, алкилу, карбоцикл-алкилу или гетероцикл-алкилу. К числу предпочтительных алкильных групп относятся метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, сек-бутил, трет-бутил, н-пентил, 2-метилбутил, н-гексил, 2-метилпропил, н-гептил, 2,2-диметилпропил, 2,2-диметилбутил, н-октил, 3-гептил, 2-метилгексил и подобные. Термины "низший алкил" "C₁-C₄-алкил" и "алкил, содержащий от 1 до 4 атомов углерода" являются синонимами и взаимозаменяемо используются, обозначая метил, этил, 1-пропил, изопропил, циклопропил, 1-бутил, сек-бутил или трет-бутил. Если не указано иначе, замещенная алкильная группа может содержать один (предпочтительно), два, три или четыре заместителя, которые могут быть одинаковыми или различными. Примеры таких замещенных алкильных групп включают, но не ограничиваются следующими: цианометил, нитрометил, гидроксиметил, тритилоксиметил, пропионилоксиметил, аминометил, карбоксиметил, карбоксиэтил, карбоксипропил, алкилоксикарбонилметил, аллилоксикарбониламинометил, карбамоилоксиметил, метоксиметил, этоксиметил, третбутоксиметил, ацетоксиметил, хлорометил, бромометил, иодометил, трифторометил, 6-гидрогексил, 2,4-дихлоро(н-бутил), 2-амино(изопропил), 2-карбамоилоксиэтил и подобные им. В качестве заместителя алкильная группа может содержать карбоциклическую группу. Примеры включают циклопропилметил, циклобутилметил, циклопентилметил и циклогексилметил группы, а также соответствующие -этил, -пропил, -бутил, -пентил, -гексил группы и т.д. Предпочтительными замещенными алкилами являются замещенные метилы, например метильная группа с теми же заместителями, что и "замещенная C_n-C_m-алкильная" группа. Примеры замещенной метильной группы включают такие группы, как гидроксиметил, защищенный гидроксиметил (например, тетрагидропиранилоксиметил), ацетоксиметил, карбамои локсиметил, трифторометил, хлорометил, карбоксиметил, бромометил и иодометил.

Термины "амидин" или "амидино" означают группу $-C(NH)-NRR$, где каждая R-группа независимо соответствует H, OH, алкилу, алкокси, карбоциклу, гетероциклу, карбоциклзамещенному алкилу или гетероциклзамещенному алкилу; или обе R-группы совместно формируют гетероцикл. Предпочтительным амидином является группа $-C(NH)-NH_2$.

Термин "амино" соответствует первичным (то есть $-NH_2$), вторичным (то есть $-NRH$) и третичным (то есть $-NRR$) аминам, где R группа независимо соответствует алкилу, карбоциклу (например, арилу),

гетероциклу (например, гетероарилу), карбоциклзамещенному алкилу (например, бензилу) или гетероциклзамещенному алкилу, или две R-группы совместно с атомом азота, к которому они прикреплены, составляют гетероцикл. Примерами вторичных и третичных аминов являются алкиламин, диалкиламин, ариламин, диариламин, аралкиламин и диаралкиламин. В качестве конкретных примеров вторичных и третичных аминов можно назвать метиламин, этиламин, пропиламин, изопропиламин, фениламин, бензиламин диметиламин, диэтиламин, дипропиламин и диизопропиламин.

"Амино-защитная группа" здесь означает производную какой-либо группы, обычно используемой для блокировки или защиты аминогруппы, пока реакция протекает с участием других функциональных групп соединения. Примеры таких защитных групп включают карбаматы, амиды, алкильные и арильные группы, имины, а также разнообразные N-гетероатомные производные, которые можно удалить, регенерировав желаемую аминогруппу. Предпочтительными защитными аминогруппами являются Boc, Fmoc и Cbz. Дополнительные примеры таких групп содержатся в книге T.W. Greene and P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, 1991, chapter 7; E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J.G.W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, NY, 1973, Chapter 5, и T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, NY, 1981. Термин "защищенная амина" относится к аминогруппе, замещенной одной или более аминозащитной группой.

Термин "арил" один или в составе другого термина здесь означает карбоциклическую ароматическую группу, конденсированную или нет, содержащую указанное число атомов углерода или, если их количество не указано, до 14 атомов углерода. Арильные группы включают фенил, нафтил, бифенил, фенантренил, нафтаценил и подобные им (см., например, Lang's Handbook of Chemistry (Dean, J.A., ed) 13th ed. Table 7-2 [1985]). В конкретном аспекте изобретения арил может означать фенил. Замещенный фенил или замещенный арил соответствует фенильной или арильной группе, содержащей один, два, три, четыре или пять, например 1-2, 1-3 или 1-4, заместителей, выбранных из группы, содержащей, если не указано иначе, галоген (F, Cl, Br, I), гидроксильную, защищенную гидроксильную группу, циано, нитро, алкил (например, C₁-C₆-алкил), алкокси (например, C₁-C₆-алкокси), бензилокси, карбокси, защищенную карбоксильную группу, карбоксиметильную, защищенную карбоксиметильную группу, гидроксиметильную, защищенную гидроксиметильную группу, аминометильную, защищенную аминометильную группу, трифторометил, алкилсульфониламино, арилсульфониламино, гетероциклилсульфониламино, гетероциклил, арил или другие указанные группы. Одна или больше метановых (CH) и/или метиленовых (CH₂) групп в этих заместителях может, в свою очередь, содержать заместители, выбранные из числа приведенных выше групп. Примеры замещенных фенилов включают, но не ограничиваются, моно- и ди(гало)фенильные группы, такие как 2-хлорофенил, 2-бромфенил, 4-хлорофенил, 2,6-дихлорофенил, 2,5-дихлорофенил, 3,4-дихлорофенил, 3-хлорофенил, 3-бромфенил, 4-бромфенил, 3,4-дибромфенил, 3-хлоро-4-фторфенил, 2-фторфенил и подобные им; моно- или ди(гидроксифенильные группы, такие как 4-гидроксифенил, 3-гидроксифенил, 2,4-дигидроксифенил, их защищенные гидроксипроизводные и подобные им; нитрофенильные группы, такие как 3- или 4-нитрофенил; цианофенильные группы, например 4-цианофенил; а моно- или ди(низший алкил)фенильные группы, такие как 4-метилфенил, 2,4-диметилфенил, 2-метилфенил, 4-(изопропил)фенил, 4-этилфенил, 3-(н-пропил)фенил и подобные им; моно- или ди(алкокси)фенильные группы, например 3,4-диметоксифенил, 3-метокси-4-бензилоксифенил, 3-метокси-4-(1-хлорометил)бензилоксифенил, 3-этоксифенил, 4-(изопропокси)фенил, 4-(трет-бутокси)фенил, 3-этокси-4-метоксифенил и подобные им; 3- или 4-трифторометилфенил; моно- или ди-карбоксифенильные или (защищенный карбокси)фенильные группы, такие как 4-карбоксифенил; моно- или ди(гидроксиметил)фенил или (защищенный гидроксиметил)фенильные группы, такие как 3-(защищенный гидроксиметил)фенил или 3,4-ди(гидроксиметил)фенил; моно- или ди(аминометил)фенил или (защищенный аминометил)фенил, такой как 2-(аминометил)фенил или 2,4-(защищенный аминометил)фенил; или моно- или ди(N-(метилсульфониламино))фенил, такой как 3-(N-(метилсульфониламино))фенил. Термин "замещенный фенил" соответствует также дизамещенным фенильным группам с различными заместителями, например 3-метил-4-гидроксифенил, 3-хлоро-4-гидроксифенил, 2-метокси-4-бромфенил, 4-этил-2-гидроксифенил, 3-гидроксифенил-4-нитрофенил, 2-гидроксифенил-4-хлорофенил и подобные им, а также тризамещенным фенильным группам с различными заместителями, например 3-метокси-4-бензилокси-6-метилсульфониламино, 3-метокси-4-бензилокси-6-фенил сульфоамино, и тетразамещенным фенильным группам с различными заместителями, например 3-метокси-4-бензилокси-5-метил-6-фенил сульфоамино. Замещенные фенильные группы включают 2-хлорофенил, 2-аминофенил, 2-бромфенил, 3-метоксифенил, 3-этоксифенил, 4-бензилоксифенил, 4-метоксифенил, 3-этокси-4-бензилоксифенил, 3,4-диэтоксифенил, 3-метокси-4-бензилоксифенил, 3-метокси-4-(1-хлорометил)бензилоксифенил и 3-метокси-4-(1-хлорометил)бензилокси-6-метилсульфонил аминофенил. Конденсированные арильные циклы также могут содержать любое количество (например, 1, 2 или 3) заместителей, выбранных из числа указанных выше, причем выбор заместителей происходит так же, как и для замещенных алкильных групп.

Термин "карбамоил" означает аминокарбонил с заместителем, соответствующий формуле C(O)N(R)₂, где R означает H, гидроксил, алкокси, алкил, карбоцикл, гетероцикл, карбоциклзамещенный

алкил или алкокси, или гетероциклзамещенный алкил или алкокси, где алкил, алкокси, карбоцикл и гетероцикл определены в этой заявке. К числу карбамоильных групп относятся алкиламинокарбонил (например, этиламинокарбонил, Et-NH-CO-), ариламинокарбонил (например, фениламинокарбонил), аралкиламинокарбонил (например, бензоиламинокарбонил), гетероцикламинокарбонил (например, пиперидиламинокарбонил) и, в особенности, гетероариламинокарбонил (например, пиридиламинокарбонил).

Термины "карбоциклильная группа", "карбоциклическая группа", "карбоцикл" и "карбоцикло" самостоятельны или в составе более сложной группы, такой как карбоциклоалкильная группа, соответствует моно-, би-, или трициклическому ароматическому циклу, содержащему от 3 до 14 атомов углерода (предпочтительно от 3 до 7 атомов углерода), который может быть насыщенным или ненасыщенным, ароматическим или неароматическим. Предпочтительные насыщенные карбоциклические группы включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил, еще более предпочтительными группами являются циклопропил и циклогексил, причем циклогексил наиболее предпочтителен. Предпочтительными ненасыщенными карбоциклами являются ароматические группы, определенные ранее, из них наиболее предпочтительным является фенил. Термины "замещенный карбоциклил", "замещенный карбоцикл" и "замещенная карбоциклогруппа", если не указано иначе, означает эти группы, содержащие такие же заместители, что и в "замещенных алкилах".

"Карбокси-защитная группа" здесь означает одну из сложноэфирных производных группы карбоновой кислоты, обычно используемую для блокады или защиты этой группы, пока реакция протекает с участием других функциональных групп соединения. Примеры таких защитных групп включают 4-нитробензил, 4-метоксибензил, 3,4-диметоксибензил, 2,4-диметоксибензил, 2,4,6-триметоксибензил, 2,4,6-триметилбензил, пентаметилбензил, 3,4-метилendioксибензил, бензгидрил, 4,4'-диметоксибензгидрил, 2,2',4,4'-тетраметоксибензгидрил, алкилы, такие как трет-бутил или трет-амил, тритил, 4-метокситритил, 4,4'-диметокситритил, 4,4',4"-триметокситритил, 2-фенилпроп-2-ил, триметилсилил, трет-бутилдиметилсилил, фенацил, 2,2,2-трихлорэтил, бета-(триметилсилил)этил, бета-(ди(н-бутил)метилсилил)этил, п-толуолсульфонилэтил, 4-нитробензилсульфонилэтил, аллил, циннамил, 1-(триметилсилилметил)проп-1-ен-3-ил и подобные структуры. Выбор конкретной разновидности карбокси-защитной группы не критичен до тех пор, пока дериватизированная карбоновая кислота сохраняет стабильность в условиях последующих реакций по другим положениям молекулы, и в соответствующий момент защита может быть снята без повреждения остальной части молекулы. В особенности важно не подвергать карбоксизащищенную молекулу действию сильных нуклеофильных оснований, таких как гидроксид лития или NaOH , а также не помещать ее в восстановительную среду, содержащую высокоактивные гидриды металлов, такие как LiAlH_4 (подобных жестких условий для снятия защиты следует избегать также при снятии аминозащитных и гидроксизащитных групп, это будет описано ниже). Предпочтительными карбоксизащитными группами являются алкильные (например, метил, этил, трет-бутил), аллильные, бензильные и паранитробензильные группы. Для защиты карбоксильных заместителей можно использовать также похожие карбоксизащитные группы, применяемые при работе с цефалоспорином, пенициллином и пептидами. Другие примеры таких групп представлены в работах T.W. Greene и P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., 1991, глава 5; E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J.G.W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, N.Y., 1973, глава 5 и T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, NY, 1981, глава 5. Термин "защищенная карбоксигруппа" означает карбоксигруппу, содержащую в качестве заместителя одну из описанных выше карбоксизащитных групп.

Термин "гуанидин" означает группу $-\text{NH-C}(\text{NH})-\text{NHR}$, где R представляет собой H, алкил, карбоцикл, гетероцикл, карбоциклзамещенный алкил или гетероциклзамещенный алкил. Примером гуанидина новой группы является $-\text{NH-C}(\text{NH})-\text{NH}_2$.

Термины "гетероциклическая группа", "гетероциклический", "гетероцикл", "гетероциклильный", или "гетероцикло", используемые самостоятельно или в составе более сложной группы, такой как гетероциклоалкильная группа, используются взаимозаменяемо и соответствуют любому моно-, би- или трициклическому, насыщенному или ненасыщенному, ароматическому (гетероарил) или неароматическому циклу, содержащему указанное количество атомов, обычно от 5 до 14, причем в цикл входят атомы углерода и по меньшей мере один гетероатом (азот, сера или кислород), предпочтительно от 1 до 4 гетероатомов.

Термин "гетероциклосульфонил" соответствует $-\text{SO}_2$ -гетероциклической группе; "гетероциклосульфинил" соответствует $-\text{SO}$ -гетероциклической группе. Как правило, пятичленный цикл содержит от 0 до 2 двойных связей, 6- или 7-членные циклы содержат от 0 до 3 двойных связей, гетероатомы азота или серы могут быть окислены (например, до SO , SO_2), любой гетероатом азота может быть кватернизован. Предпочтительные неароматические гетероциклы включают морфолинил (морфолино), пирролидинил, оксиранил, оксетанил, тетрагидрофуранил, 2,3-дигидрофуранил, 2Н-пиранил, тетрагидропиранил, тирианил, тиэтанил, тетрагидротииэтанил, азиридилил, азетидинил, 1-метил-2-пирролил, пиперазинил и пиперидинил. Термин "гетероциклоалкильная" группа означает гетероциклическую группу, как описано выше, ковалентно связанную с алкильной группой, также описанной выше. Предпочтительные пятичленные гетероциклы, содержащие атомы серы или кислорода и от одного до трех атомов азота, вклю-

чают тиазолил, в особенности тиазол-2-ил и тиазол-2-ил N-оксид, тиадиазолил, в особенности 1,3,4-тиадиазол-5-ил и 1,2,4-тиадиазол-5-ил, оксазолил, предпочтительно оксазол-2-ил, и оксадиазолил, такой как 1,3,4-оксадиазол-5-ил и 1,2,4-оксадиазол-5-ил. Предпочтительные 5-членные гетероциклы, содержащие от 2 до 4 атомов азота, включают имидазолил, предпочтительно имидазол-2-ил; триазолил, предпочтительно 1,3,4-триазол-5-ил; 1,2,3-триазол-5-ил, 1,2,4-триазол-5-ил и тетразолил, предпочтительно 1Н-тетразол-5-ил. Предпочтительными бензоконденсированными 5-членными гетероциклами являются бензоксазол-2-ил, бензтиазол-2-ил и бензимидазол-2-ил. Предпочтительные 6-членные гетероциклы содержат от одного до трех атомов азота и, возможно, атом серы или кислорода, например это пиридил, такой как пирид-2-ил, пирид-3-ил, и пирид-4-ил; пиримидил, предпочтительно пиримид-2-ил и пиримид-4-ил; триазирил, предпочтительно 1,3,4-триазин-2-ил и 1,3,5-триазин-4-ил; пиридазинил, в особенности пиридазин-3-ил, и пиразинил.

Предпочтительными группами являются пиридин N-оксиды и пиридазине N-оксиды, а также пиридил, пиримид-2-ил, пиримид-4-ил, пиридазинил и 1,3,4-триазин-2-ил. Заместители, возможно, замещенных гетероциклов и дополнительные примеры описанных выше 5- и 6-членных циклических систем содержатся в работе W. Druckheimer et al., патент США № 4278793.

Термин "гетероарил", используемый самостоятельно или в составе более сложной группы, такой как гетероаралкильная группа, означает любую моно-, би- или трициклическую ароматическую систему, содержащую от одного до четырех гетероатомов, выбранных из числа азота, кислорода или серы, причем предпочтительно, чтобы по меньшей мере один из этих гетероатомов представлял собой азот (Lang's Handbook of Chemistry, supra). В данное определение входят любые бициклические группы, в которых один из описанных выше гетероарильных циклов конденсирован с бензольным циклом. Предпочтительны такие гетероарилы, в которых гетероатомом является азот или кислород. Приведенные далее циклические системы являются примерами гетероарильных (замещенных или незамещенных) групп, все они обозначаются термином "гетероарил": тиенил, фурил, имидазолил, пиазолил, тиазолил, изотиазолил, оксазолил, изоксазолил, триазолил, тиадиазолил, оксадиазолил, тетразолил, тиатриазолил, оксатриазолил, пиридил, пиримидил, пиразинил, пиридазинил, тиазинил, оксазинил, триазинил, тиадазинил, оксадазинил, дитиазинил, диоксазинил, оксатиазинил, тетразинил, тиатриазинил, оксатриазинил, дитиадазинил, имидазолинил, дигидропиримидил, тетрагидропиримидил, тетразоло[1,5-b]пиридазинил и пуририл, а также такие бензоконденсированные производные, как, например, бензоксазолил, бензофурил, бензотиазолил, бензотиадиазолил, бензотриазолил, бензоимидазолил и индолил. Особо предпочтительными представителями группы гетероариллов являются 1,3-тиазол-2-ил, 4-(карбоксиметил)-5-метил-1,3-тиазол-2-ил, натриевая соль 4-(карбоксиметил)-5-метил-1,3-тиазол-2-ила, 1,2,4-тиадиазол-5-ил, 3-метил-1,2,4-тиадиазол-5-ил, 1,3,4-триазол-5-ил, 2-метил-1,3,4-триазол-5-ил, 2-гидрокси-1,3,4-триазол-5-ил, натриевая соль 2-карбокси-4-метил-1,3,4-триазол-5-ила, 2-карбокси-4-метил-1,3,4-триазол-5-ил, 1,3-оксазол-2-ил, 1,3,4-оксадиазол-5-ил, 2-метил-1,3,4-оксадиазол-5-ил, 2-(гидроксиметил)-1,3,4-оксадиазол-5-ил, 1,2,4-оксадиазол-5-ил, 1,3,4-тиадиазол-5-ил, 2-тиол-1,3,4-тиадиазол-5-ил, 2-(метилтио)-1,3,4-тиадиазол-5-ил, 2-амино-1,3,4-тиадиазол-5-ил, 1Н-тетразол-5-ил, 1-метил-1Н-тетразол-5-ил, 1-(1-(диметиламино)эт-2-ил)-1Н-тетразол-5-ил, 1-(карбоксиметил)-1Н-тетразол-5-ил, натриевая соль 1-(карбоксиметил)-1Н-тетразол-5-ила, 1-(метилсульфоновая кислота)-1Н-тетразол-5-ил, натриевая соль 1-(метилсульфоновая кислота)-1Н-тетразол-5-ила, 2-метил-1Н-тетразол-5-ил, 1,2,3-триазол-5-ил, 1-метил-1,2,3-триазол-5-ил, 2-метил-1,2,3-триазол-5-ил, 4-метил-1,2,3-триазол-5-ил, пирид-2-ил N-оксид, 6-метокси-2-(N-оксид)-пиридаз-3-ил, 6-гидроксипиридаз-3-ил, 1-метилпирид-2-ил, 1-метилпирид-4-ил, 2-гидроксипиримид-4-ил, 1,4,5,6-тетрагидро-5,6-диоксо-4-метилазтриазин-3-ил, 1,4,5,6-тетрагидро-4-(формилметил)-5,6-диоксоазтриазин-3-ил, 2,5-дигидро-5-оксо-6-гидроксиазтриазин-3-ил, натриевая соль 2,5-дигидро-5-оксо-6-гидроксиазтриазин-3-ила, натриевая соль 2,5-дигидро-5-оксо-6-гидрокси-2-метилазтриазин-3-ила, 2,5-дигидро-5-оксо-6-гидрокси-2-метилазтриазин-3-ил, 2,5-дигидро-5-оксо-6-метокси-2-метилазтриазин-3-ил, 2,5-дигидро-5-оксоазтриазин-3-ил, 2,5-дигидро-5-оксо-2-метилазтриазин-3-ил, 2,5-дигидро-5-оксо-2,6-диметилазтриазин-3-ил, тетразоло[1,5-b]пиридазин-6-ил или 8-аминотетразоло[1,5-b]пиридазин-6-ил. Альтернативная группа "гетероариллов" включает 4-(карбоксиметил)-5-метил-1,3-тиазол-2-ил, натриевую соль 4-(карбоксиметил)-5-метил-1,3-тиазол-2-ила, 1,3,4-триазол-5-ил, 2-метил-1,3,4-триазол-5-ил, 1Н-тетразол-5-ил, 1-метил-1Н-тетразол-5-ил, 1-(1-(диметиламино)эт-2-ил)-1Н-тетразол-5-ил, 1-(карбоксиметил)-1Н-тетразол-5-ил, натриевую соль 1-(карбоксиметил)-1Н-тетразол-5-ила, 1-(метилсульфоновая кислота)-1Н-тетразол-5-ил, натриевую соль 1-(метилсульфоновая кислота)-1Н-тетразол-5-ила, 1,2,3-триазол-5-ил, 1,4,5,6-тетрагидро-5,6-диоксо-4-метилазтриазин-3-ил, 1,4,5,6-тетрагидро-4-(2-формилметил)-5,6-диоксоазтриазин-3-ил, натриевую соль 2,5-дигидро-5-оксо-6-гидрокси-2-метилазтриазин-3-ила, 2,5-дигидро-5-оксо-6-гидрокси-2-метилазтриазин-3-ил, тетразоло[1,5-b]пиридазин-6-ил и 8-аминотетразоло[1,5-b]пиридазин-6-ил.

Термин "гидроксизащитная группа" здесь означает производное гидроксигруппы, обычно используемое для блокады или защиты этой группы, пока реакция протекает с участием других функциональных групп соединения. Примеры таких защитных групп включают тетрагидропирианилокси, бензоил, ацетокси, карбамоилокси, бензил и силэфиновую (например, TBS, TBDPS) группы. Дополнительные примеры таких защитных групп содержатся в работах T.W. Greene и P.G.M. Wuts, "Protective Groups in

Organic Synthesis", 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, 1991, главы 2-3; E. Haslam, "Protective группы in Organic Chemistry", J.G.W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, NY, 1973, глава 5, и T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley и Sons, New York, NY, 1981. Термин "защищенная гидроксигруппа" означает гидроксигруппу, содержащую в качестве заместителя одну из описанных выше гидроксизащитных групп.

Фармацевтически приемлемые соли включают соли присоединения как кислот, так и оснований. Фармацевтически приемлемая соль присоединения кислоты означает такую соль, которая сохраняет биологическую эффективность и свойства свободного основания и не является нежелательной в биологическом или каком-либо другом смысле. Для ее образования используют неорганические кислоты, такие как соляная, бромоводородная, серная, азотная, фосфорная, карбоновые кислоты и т.д., или органические кислоты, выбранные из классов алифатических, циклоалифатических, ароматических, арилатических, гетероциклических, карбоциклических и сульфоновых органических кислот. Например, это могут быть следующие органические кислоты: муравьиная, уксусная, пропионовая, гликолевая, глюконовая, молочная, пировиноградная, щавелевая, яблочная, малеиновая, малоновая, янтарная, фумаровая, винная, лимонная, аспарагиновая, аскорбиновая, глутаминовая, антралиловая, бензойная, коричная, миндальная, эмбоновая, фенилуксусная, метансульфоновая, этансульфоновая, паратолуолсульфоновая, салициловая кислота и т.д.

К числу фармацевтически приемлемых солей присоединения основания относятся соли, полученные из неорганических оснований, таких как соли натрия, калия, лития, аммония, кальция, магния, железа, цинка, меди, марганца, алюминия и т.д. Особо предпочтительными являются соли аммония, калия, натрия, кальция и магния. Соли, полученные из фармацевтически приемлемых органических нетоксических оснований, включают соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенных аминов, включая природные замещенные амины, циклических аминов и основных ионообменных смол, таких как изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, ТЕА, трипропиламин, этаноламин, 2-диэтиламиноэтанол, триметамин, дициклогексиламин, лизин, аргинин, гистидин, кофеин, прокаин, гидрабамина, холин, бетаин, этилендиамин, глюкозамин, метилглюкамин, теобромин, пурины, пиперазин, пиперидин, N-этилпиперидин, полиаминовые смолы и подобные им. Особо предпочтительными органическими нетоксическими основаниями являются изопропиламин, диэтиламин, этаноламин, триметамин, дициклогексиламин, холин и кофеин.

Термин "фосфинат" означает $-P(O)R-OR$, где каждый R независимо выбран из следующей группы: H, алкил, карбоцикл, гетероцикл, карбоциклоалкил или гетероциклоалкил. Примерами фосфинатных групп являются алкилфосфинат (то есть $-P(O)R-O$ -алкил), например $-P(O)Me-OEt$.

"Сульфамойл" означает $-SO_2-N(R)_2$, где каждая группа R независимо выбрана из следующей группы: H, алкил, карбоцикл, гетероцикл, карбоциклоалкил или гетероциклоалкил. Конкретными сульфамойльными группами являются алкилсульфамойл, например метилсульфамойл ($-SO_2-NHMe$); арилсульфамойл, например фенилсульфамойл; аралкилсульфамойл, например бензилсульфамойл.

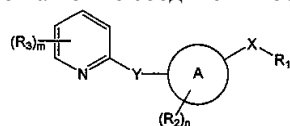
"Сульфинил" означает $-SO-R$, где R представляет собой алкил, карбоцикл, гетероцикл, карбоциклоалкил или гетероциклоалкил. Конкретными сульфинильными группами являются алкилсульфинил (то есть $-SO$ -алкил), например метилсульфинил; арилсульфинил (то есть $-SO$ -арил), например фенилсульфинил; аралкилсульфинил, например бензилсульфинил.

"Сульфонамид" означает $-NR-SO_2-R$, где R независимо выбраны из группы, содержащей H, алкил, карбоцикл, гетероцикл, карбоциклоалкил или гетероциклоалкил, карбоцикл или гетероцикл. Конкретными сульфонамидными группами являются алкилсульфонамид (то есть $-NH-SO_2$ -алкил), например метилсульфонамид; арилсульфонамид (то есть $-NH-SO_2$ -арил), например фенилсульфонамид; аралкилсульфонамид, например бензилсульфонамид.

Термин "сульфонил" означает $-SO_2-R$, где R представляет собой алкил, карбоцикл, гетероцикл, карбоциклоалкил или гетероциклоалкил. Конкретными сульфониальными группами являются алкилсульфонил (то есть $-SO_2$ -алкил), например метилсульфонил; арилсульфонил, например фенилсульфонил; аралкилсульфонил, например бензилсульфонил.

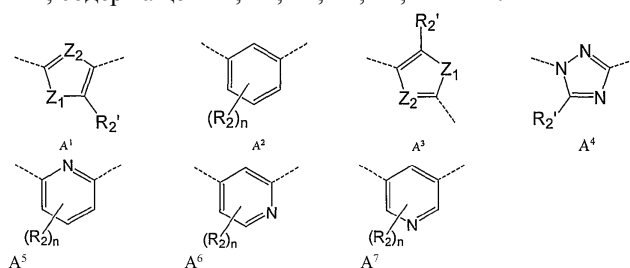
Фраза "а также их соли и сольваты" в настоящем изобретении означает, что соединения настоящего изобретения могут существовать в форме соли или смеси солей, а также в форме сольватов. Например, соединение настоящего изобретения может существовать исключительно в виде одной конкретной солевой или сольватной формы, а может представлять собой смесь двух или более солевых или сольватных форм.

Настоящее изобретение направлено на новые соединения общей формулы I



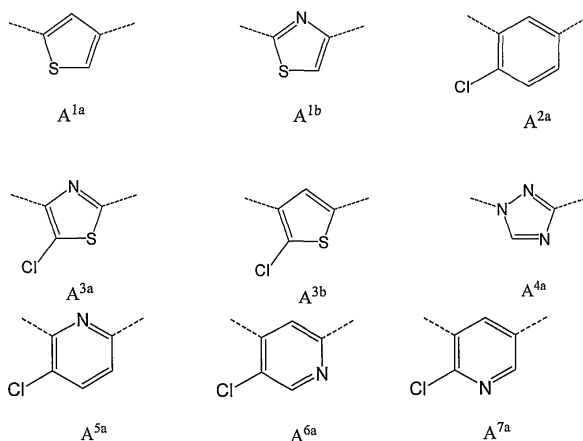
где A, X, Y, R₁, R₂ и R₃ описаны далее; A представляет собой карбоцикл или гетероцикл, замещенный от 0 до 3 (например, n=0-3) группами R₂, выбранными из группы, содержащей галоген, гидроксил, алкил, ацил или алкокси, каждый из которых может содержать заместители из числа гидроксильной,

амино, нитро, алкильной, ацильной, алкилсульфонильной или алкокси групп, а также галогенов. В конкретной реализации А представляет собой, возможно, замещенный арил или гетероарил. В конкретной реализации А представляет собой, возможно, замещенный бензол, тиофен, тиазол, имидазол, пиррол, N-алкил пиррол, пиридин, пиазол или N-алкил пиазол. В конкретной реализации А представляет собой цикл, выбранный из группы, содержащей A^1 , A^2 , A^3 , A^4 , A^5 , A^6 и A^7 :



где Z_1 - O, S или NR_5 , где R_5 представляет собой H или алкил; Z_2 представляет собой CH, CR_2 или N; R_2 выбран из группы, содержащей галоген, гидроксил, алкил, ацил или алкокси, причем каждый из этих заместителей может также содержать заместители из числа гидроксильных групп, галогенов, amino, нитро, алкил-, ацил-, алкилсульфонил- или алкокси-групп; R_2' выбран из группы, содержащей H, галоген, гидроксил, алкил, ацил или алкокси, причем каждый из этих заместителей может также содержать заместители из числа гидроксильных групп, галогенов, amino-, нитро-, алкил-, ацил-, алкилсульфонил- или алкокси-групп; и n находится в интервале от 0 до 3. В соответствии с конкретным аспектом изобретения, А представляет собой цикл формулы A^1 . В соответствии с другим аспектом А представляет собой цикл формулы A^1 , где Z_1 представляет собой S, и Z_2 - CH или N. В соответствии с еще одним аспектом, А представляет собой цикл формулы A^1 , где Z_1 представляет собой S, и Z_2 - CH, то есть тиофен. В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^1 , где Z_1 представляет собой S, и Z_2 - N, то есть тиазол. В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^1 , где R_2 соответствует H. В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^1 , где R_2 соответствует метильной группе. В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^2 . В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^1 , где R_2 может отсутствовать, то есть n=0. В соответствии с еще одним аспектом n=1, а R_2 - это Cl. В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^3 . В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^3 , где Z_1 соответствует S, а Z_2 - N, то есть тиазол. В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^3 , где Z_1 соответствует S, Z_2 - N, а R_2' - Cl. В соответствии с еще одним аспектом А представляет собой цикл формулы A^3 , где Z_1 соответствует S, Z_2 - CH (то есть тиофен), а R_2 - Cl.

В соответствии с еще одним аспектом изобретения А представляет собой цикл A^{1a} , A^{1b} , A^{2a} , A^{3a} , A^{3b} , A^{4a} , A^{5a} , A^{6a} , A^{7a} .



В соответствии с еще одним аспектом изобретения А представляет собой цикл формулы A^{1a} . В соответствии с еще одним аспектом изобретения А представляет собой цикл формулы A^{1b} . В соответствии с еще одним аспектом изобретения А представляет собой цикл формулы A^{2a} . В соответствии с еще одним аспектом изобретения А представляет собой цикл формулы A^{3a} . В соответствии с еще одним аспектом изобретения А представляет собой цикл формулы A^{3b} . В соответствии с еще одним аспектом изобретения А представляет собой цикл формулы A^{4a} .

Х представляет собой алкилен, $NR_4C(O)$, $NR_4C(S)$, $N(C(O)R_1)C(O)$, NR_4SO , NR_4SO_2 , $NR_4C(O)NH$, $NR_4C(S)NH$, $C(O)NR_4$, $C(S)NR_4$, NR_4PO или $NR_4PO(OH)$, где R_4 соответствует H или алкилу. В соответствии с одним конкретным аспектом изобретения Х представляет собой $NR_4C(O)$, и он формирует амидную связь между циклом А и R_1 . В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения Х пред-

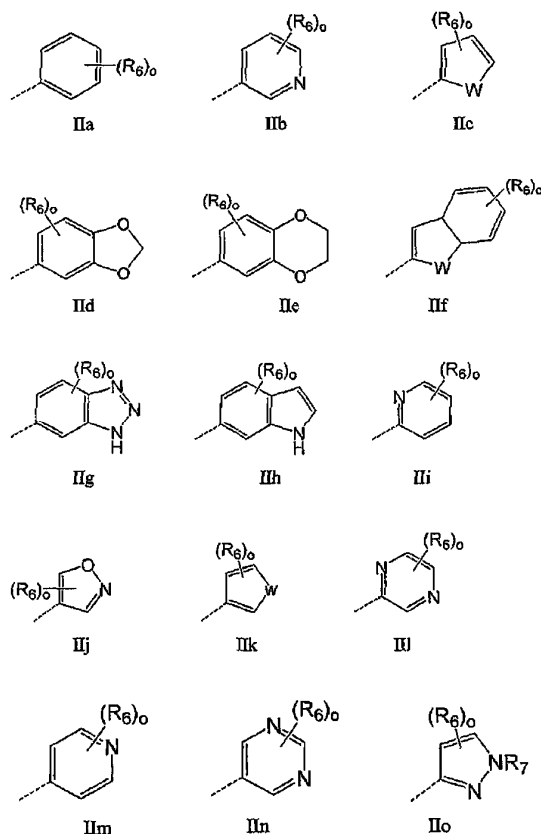
ставляет собой $N_4C(S)$, и он формирует тиаамидную связь между циклом А и R_1 . В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения Х представляет собой $NR_4C(O)NH$, формирующий связь через мочевиновую группу между циклом А и R_1 . В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения Х представляет собой $NR_4C(S)NH$, который совместно с NR_2 формирует связь через тиомочевинную группу между циклом А и R_1 . В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения Х представляет собой группу $N(C(O)R_1)C(O)$, то есть, азот с двумя группами $-C(O)R_1$.

Y может отсутствовать или представляет собой CHR_4 , O, S, SO, SO_2 или NR_4 , где R_4 соответствует сделанному ранее определению. В соответствии с одним конкретным аспектом изобретения Y представляет собой CHR_4 . В соответствии с другим аспектом изобретения Y представляет собой NR_4 . В соответствии с другим аспектом изобретения Y представляет собой O. В соответствии с другим аспектом изобретения Y представляет собой S. В соответствии с другим аспектом изобретения Y представляет собой SO. В соответствии с еще одним аспектом изобретения Y представляет собой SO_2 . В соответствии с еще одним аспектом изобретения Y отсутствует, то есть цикл А непосредственно соединен с пиридиновым циклом по второму положению.

R_1 выбран из группы, содержащей алкил, карбоцикл или гетероцикл, каждый из которых может содержать заместители, выбранные из числа следующих: гидроксил, галоген, amino, карбоксил, амидино, гуанидино, карбонил (то есть $=O$), нитро, циано, ацил, алкил, галоалкил, сульфони́л, сульфони́л, алкокси, алкилтио, карбамоил, ациламино, сульфоамид, сульфонамид, карбоцикл или гетероцикл; где названные amino, амидино, алкил, ацил, сульфони́л, сульфони́л, алкокси, алкилтио, карбамоил, ациламино, сульфоамид, сульфонамид, карбоцикл и гетероцикл также могут содержать заместители из следующей группы: галоген, галоалкил, гидроксил, карбоксил, карбонил или amino, алкил, алкокси, ацил, сульфони́л, сульфони́л, фосфинат, карбоцикл или гетероцикл, возможно, замещенные гидроксильной, карбоксильной, карбонильной, amino, галогеном, галоалкилом, алкилом, алкокси, алкилтио, сульфони́лом, сульфони́лом, ацилом, карбоксильной или гетероциклической группой.

В соответствии с другим аспектом изобретения R_1 выбран из группы, содержащей алкил, карбоцикл или гетероцикл, каждый из которых может содержать заместители, выбранные из числа следующих: гидроксил, галоген, amino, карбонил, нитро, циано, ацил, алкил, галоалкил, алкилсульфони́л, алкилсульфони́л, алкокси, алкилкарбамоил (то есть $-CONR$ -алкил, где R представляет собой H или алкил), алканои́ламин (то есть $-NRCO$ -алкил, где R соответствует H или алкилу), алкилсульфоамид (то есть $-SO_2NR$ -алкил, где R соответствует H или алкилу), алкилсульфонамид (то есть $-NR-SO_2$ -алкил, где R представляет собой H или алкил), карбоцикл или гетероцикл; где названные amino, алкил, ацил, алкилсульфони́л, алкилсульфони́л, алкокси, алкилкарбамоил, алканои́ламин, алкилсульфоамид, алкилсульфонамид, карбоцикл и гетероцикл могут также содержать заместители, выбранные из группы, содержащей amino, галоген, гидроксил, карбонил или карбоцикл или гетероцикл, возможно, замещенные гидроксильной, amino, галогеном, галоалкилом, алкилом, алкокси или ацилом.

В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_1 представляет собой, возможно, замещенный арил или гетероарил. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_1 представляет собой, возможно, замещенную фенильную группу. В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения R_1 соответствует, возможно, замещенной пиридиновой группе. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_1 соответствует формулам II, IIb, IIc, IId, IIe, IIf, IIg, IIh, IIi, IIj, IIk, IIl, IIm, IIn или IIo:



где W представляет собой O, S или NR_7 ; где R_7 представляет собой H, алкил, ацил, карбоцикл или гетероцикл, причем названные алкил, ацил, карбоцикл и гетероцикл могут содержать заместители из числа 1-3 amino, галогена, гидроксильного и галоалкила; o находится в интервале 0-3.

В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения W представляет собой S.

R_6 в каждом примере независимо выбраны из группы, содержащей гидроксил, галоген, amino, карбоксил, амидино, гуанидино, карбонил, нитро, циано, ацил, алкил, галоалкил, сульфонил, сулфинил, алкокси, алкилтио, карбамоил, ациламино, сульфоамид, сульфонамид, карбоцикл или гетероцикл; где названные заместители amino, амидино, алкил, ацил, сульфонил, сулфинил, алкокси, алкилтио, карбамоил, ациламино, сульфоамид, сульфонамид, карбоцикл и гетероцикл могут, в свою очередь, содержать заместители, выбранные из группы: галоген, галоалкил, гидроксил, карбоксил, карбонил или amino, алкил, алкокси, ацил, сульфонил, сулфинил, фосфинат, карбоцикл или гетероцикл, возможно, замещенные гидроксильным, карбоксильным, карбонильным, amino, галогеном, галоалкилом, алкилом, алкокси, алкилтио, сульфонил, сулфинил, ацилом, карбоциклом или гетероциклом.

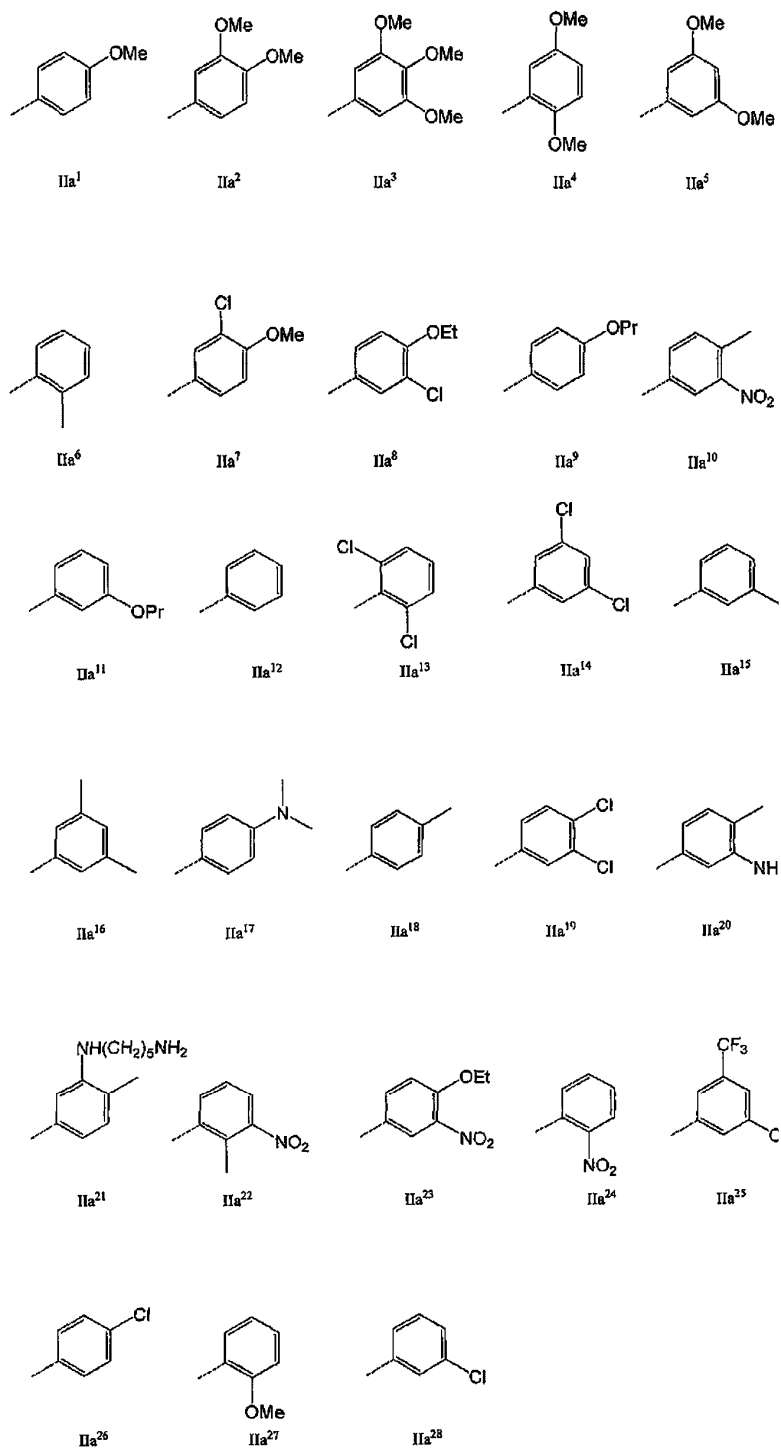
В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_6 в каждом примере независимо выбраны из группы, содержащей гидроксил, галоген, amino, карбонил, нитро, циано, ацил, алкил, сульфонил, алкилсульфонил, алкилсульфинил, алкокси, алкилкарбамоил, алканойламин, алкилсульфоамид, алкилсульфонамид, карбоцикл или гетероцикл; где названные заместители amino, алкил, карбонил, ацил, сульфонил, алкилсульфонил, алкилсульфинил, алкокси, алкилкарбамоил, алканойламин, алкилсульфоамид, алкилсульфонамид, карбоцикл и гетероцикл могут, в свою очередь, содержать заместители, выбранные из группы: amino, галоген, гидроксил, карбонил, или карбоцикл либо гетероцикл, возможно, замещенные гидроксильным, amino, галогеном, галоалкилом, алкилом, алкокси или ацилом.

В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_6 в каждом примере независимо представляет собой, возможно, замещенный алкил (например, метил, трифторометил, диметиламинометил, пиперидинилметил, морфолинометил, тиоморфолинометил); галоген (например, хлор); алкокси (например, метокси); карбонил (например, морфолинокарбонил, ацетил); гетероцикл (например, морфолино, N-метилпиперазин-4-ил, N-ацетилпиперазин-4-ил, 1H-1,2,4-триазол); алкиламино (например, изобутиламино, бензиламино, гидроксиэтиламино, метоксиэтиламино, диметиламиноэтиламино, морфолиноэтиламино, морфолинопропиламино, пирролидин-2-он-замещенный пропиламино, имидазолеэтиламино, имидазоле-пропиламино); ариламино (например, фениламино); алкилкарбамоил (например, диметилкарбамоил, изобутиламинокарбонил); алкилсульфоамид (например, пропиламиносульфонил, изобутиламиносульфонил, диметиламиносульфонил, диметиламиноэтил гидроксиэтиламиносульфонил, метоксиэтиламиносульфонил, метоксипропиламиносульфонил, метил сульфонилэтиламиносульфонил, имидазолзамещенный пропиламиносульфонил, гидроксипропиламиносульфонил, 2- гидроксипропиламиносульфонил); или сульфонил (например, метилсульфонил, этилсульфонил, аминосульфонил, диме-

тиламинопропилсульфонил, N-метилпиперазин-4-илсульфонил, морфолино-4-илсульфонил, трифторометилсульфонил).

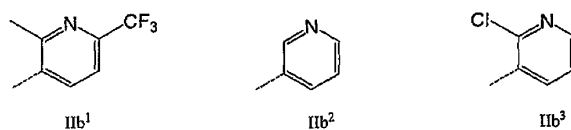
В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_7 представляет собой H. В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения R_7 представляет собой, возможно, замещенный ацил. В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения R_7 представляет собой, возможно, замещенный алкил (например, метил). В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения R_7 представляет собой, возможно, замещенный ацил (например, ацетил, бензоил). В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения R_7 представляет собой, возможно, замещенную арильную группу (например, фенил, бензил).

В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_1 представляет собой группу формулы IIa . В этом аспекте R_6 может быть алкоксигруппой, а о может быть 1, 2 или 3. Примерами групп IIa являются группы IIa^1 - IIa^{28}



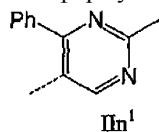
В соответствии с еще одним аспектом изобретения R_1 представляет собой группу формулы IIb . В

этом аспекте R_6 может быть алкилом или галоалкилом (например, CF_3). Примерами групп Pb являются группы Pb^1 - Pb^3

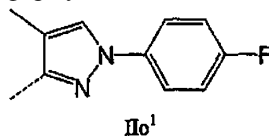


В соответствии с еще одним аспектом изобретения R_1 представляет собой группу формулы Pc . В этом аспекте W может соответствовать S , а o равно 0. В соответствии с еще одним аспектом изобретения R_1 представляет собой группу формулы Pd . В этом аспекте o может быть равно 0. В соответствии с еще одним аспектом изобретения R_1 представляет собой группу формулы Pe . В этом аспекте o может быть равно 0. В соответствии с еще одним аспектом изобретения R_1 представляет собой группу формулы Pf . В этом аспекте o может быть равно 0.

В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения R_1 представляет собой группу формулы Pn . В таком аспекте o может быть 0 или 2, а R_6 может представлять собой алкил или арил. В конкретной реализации группа Pn может соответствовать формуле Pn^1



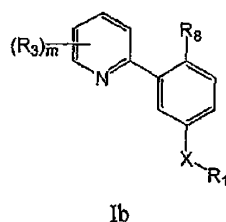
В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения R_1 представляет собой группу формулы Po . В таком аспекте o может быть 0 или 2, а R_6 может представлять собой алкил или арил. В конкретной реализации группа Po соответствует формуле Po^1



R_2 представляет собой галоген, гидроксил, алкил, ацил или алкокси, каждая из этих групп, возможно, содержит заместители из числа гидроксила, галогена, amino, нитро, алкила, ацила, алкилсульфонил или алкокси-группы. n означает 0-3, например, 0 или 1. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_2 представляет собой гидроксил. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_2 представляет собой алкил или алкил, замещенный галогеном, метилом или трифторометилом. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_2 представляет собой ацил, например алканоил, например ацетил. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_2 представляет собой галоген, например Cl или F. В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения R_2 представляет собой алкокси, например метокси или этокси.

R_3 представляет собой галоген, гидроксил, карбоксил, алкил, ацил, алкокси, алкоксикарбонил, карбамоил, алкилсульфид, сульфенил, сульфонил, карбоцикл или гетероцикл, где каждый заместитель алкил, ацил, алкокси, алкоксикарбонил, карбамоил, алкилсульфид, сульфенил, сульфонил, карбоцикл и гетероцикл могут содержать заместители, выбранные из группы, содержащей гидроксил, галоген, amino, нитро, алкил, ацил, сульфенил или алкокси. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_3 представляет собой галоген, гидроксил, карбоксил, алкил, ацил, алкокси, алкоксикарбонил, карбамоил, алкилсульфид, алкилсульфенил, алкилсульфонил, карбоцикл или гетероцикл, где каждый заместитель алкил, ацил, алкокси, алкоксикарбонил, карбамоил, алкилсульфид, алкилсульфенил, алкилсульфонил, карбоцикл и гетероцикл могут содержать заместители, выбранные из группы, содержащей гидроксил, галоген, amino, нитро, алкил, ацил, алкилсульфонил или алкокси; причем m находится в интервале от 0 до 3. В соответствии с конкретным аспектом R_3 представляет собой галоген (например, F), карбоксил или, возможно, замещенный алкил (например, метил, гидроксиметил, диметиламинометил), алкоксикарбонил (например, метоксикарбонил) или карбамоил (например, диметиламинокарбонил). В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения m равно 0, то есть R_3 отсутствует. В соответствии с другим конкретным аспектом изобретения m находится в интервале 1-3.

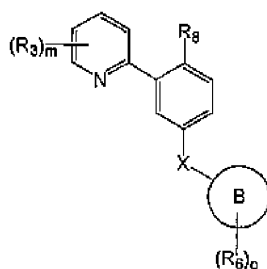
В соответствии с еще одним направлением соединения настоящего изобретения соответствуют общей формуле Ib



где X , R_1 , R_3 и m определены выше, а R_8 - галоген.

В соответствии с этим аспектом соединения настоящего изобретения соответствуют общей формуле Ib, а X - это NR_4CO . В соответствии с другим аспектом соединения соответствуют формуле Ib, а R_3 представляет собой H или метил.

В соответствии с еще одним направлением соединения настоящего изобретения соответствуют общей формуле Ib'

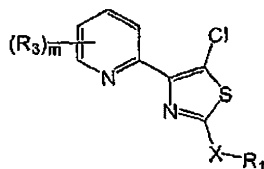


Ib'

где X, R_3 , R_6 , m и o определены выше; R_8 - галоген; а цикл B представляет собой карбоцикл или гетероцикл.

В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения R_8 представляет собой Cl. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения цикл B представляет собой фенил или пиридил. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения X соответствует $\text{NR}_4\text{C}(\text{O})$, а группа R_4 определена выше.

В соответствии с еще одним направлением соединения настоящего изобретения соответствуют общей формуле Ic

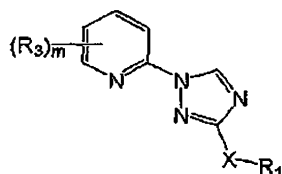


Ic

где X, R_1 , R_3 и m определены выше.

В соответствии с этим аспектом соединения настоящего изобретения соответствуют общей формуле Ib, а X - это NR_4CO . В соответствии с другим аспектом соединения соответствуют формуле Ic, R_3 представляет собой H или метил и m равно 0 или 1.

В соответствии с еще одним направлением соединения настоящего изобретения соответствуют общей формуле Id

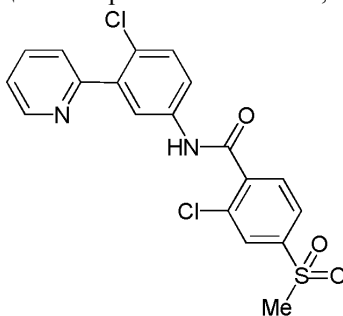


Id

где X, R_1 , R_3 и m определены выше.

В соответствии с этим аспектом соединения настоящего изобретения соответствуют общей формуле Ib, а X - это NR_4CO . В соответствии с другим аспектом соединения соответствуют формуле Id, R_3 представляет собой H, Cl или трифторометил и m равно 0 или 1.

Конкретные соединения настоящего изобретения включают, но не ограничиваются, следующее:



Соединения настоящего изобретения могут содержать один или больше асимметричных атомов углерода. Соответственно соединения могут существовать в виде диастереомеров, энантиомеров или их смесей. Рацематы, диастереомеры или энантиомеры могут использоваться в процессе синтеза как исходные вещества или интермедиаты. Диастереомерные соединения можно разделить хроматографией или

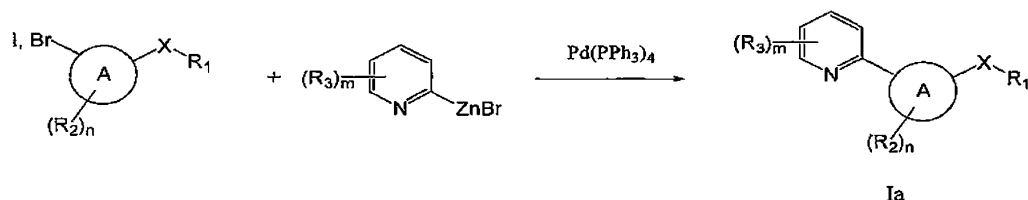
кристаллизацией. Аналогично этому энантиомерные соединения можно разделить теми же методами или другими, известными в соответствующей области. Каждый асимметричный атом углерода может быть в конфигурации R или S, и обе эти конфигурации относятся к области настоящего изобретения.

Изобретение охватывает также пролекарства описанных выше соединений. Подходящие пролекарства включают известные аминоксидные и карбоксизащитные группы, которые при физиологических условиях снимаются, например, гидролизом, позволяя получить родительское соединение. Отдельным классом пролекарств являются соединения, в которых атом азота, входящий в состав амина, амидино, аминоксидно, иминоксида или гуанидино групп содержит в качестве заместителя гидроксигруппу (OH), алкилкарбонильную (-CO-R) группу, алкоксикарбонильную (-CO-OR) или ацилоксиалкилкарбонильную (-CO-O-R-O-CO-R) группу, где R представляет собой моно- или двухвалентную группу, определенную выше, или группу формулы -C(O)-O-CP₁P₂-галоалкил, где P₁ и P₂ могут быть одинаковыми или различными группами и представляют собой H, низший алкил, низшую алкоксигруппу, цианогруппу, гало-низший-алкил или арил. Пролекарства получают взаимодействием описанных выше соединений настоящего изобретения с активированным ацильным соединением, в результате которого атом азота настоящего изобретения связывается с карбонилем активированного ацильного соединения. Подходящие активированные карбонильные соединения содержат хорошую уходящую группу, связанную с карбонильным атомом, и включают ацилгалогениды, ациламины, соли ацилпиридиния, ацилалкоксиды, в особенности ацилфенокси, такие как паранитрофенокси ацил, динитрофенокси ацил, фторофенокси ацил и дифторофенокси ацил. Обычно реакции бывают экзотермичны и протекают в инертных растворителях при пониженных температурах, например от -78 до -50°C. Кроме того, обычно такие реакции проводят в присутствии неорганического основания, такого как карбонат калия или бикарбонат натрия, или органического основания, например амина, включая пиридин, TEA и т.д. Один из способов приготовления пролекарств описан в заявке USSN 08/843369, поданной 15 апреля 1997 года (соответствует публикации PCT WO 9846576), содержание которой включено сюда по ссылке во всей своей полноте.

Описание синтеза

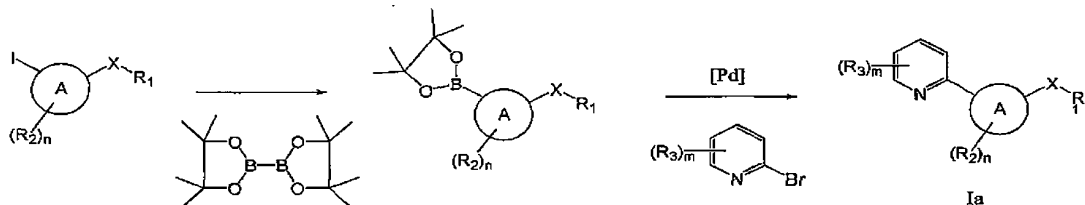
Соединения настоящего изобретения получают с использованием стандартных методик органического синтеза из коммерчески доступных исходных материалов и реагентов. Если процедуры синтеза, используемые для получения соединений настоящего изобретения, зависят от присутствующих в молекуле соединения конкретных заместителей или если в процессе синтеза требуются стандартные процедуры введения или снятия защиты, то это будет отмечено далее. Соединения настоящего изобретения, в которых Y отсутствует, могут быть получены по методу присоединения Негиси (Negishi coupling) в соответствии со следующей общей схемой 1:

Схема 1



В этой реакции пиридилцинк бромид (или, альтернативно, пиридилцинк хлорид) взаимодействует с иодо- или бромозамещенным циклом А с получением финального соединения Ia. Альтернативно, соединение Ia изобретения можно получить с помощью реакции присоединения Судзуки (Suzuki coupling) из борированного цикла А с образованием непосредственной связи между соответствующим пиридилом и циклом А по схеме 2.

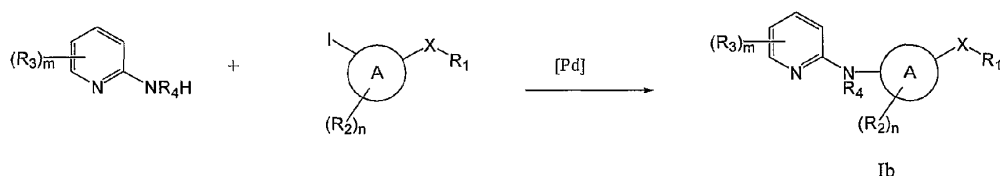
Схема 2



Галоген-замещенный цикл А взаимодействует с эфиром борной кислоты, таким как пинакол диборан, в присутствии палладиевого катализатора, такого как PdCl₂(dppf), полученный эфир бороната нагревают совместно с 2-галогензамещенным пиридином и палладиевым катализатором с получением финального соединения изобретения Ia.

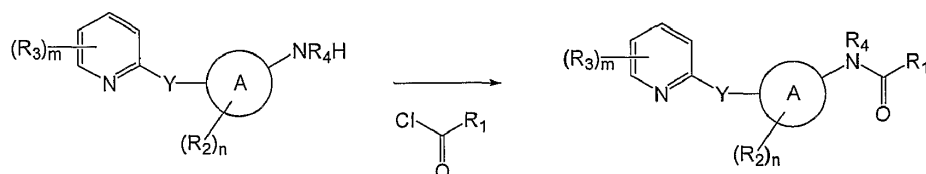
Соединения настоящего изобретения, в которых Y соответствует NR₄, можно получить аминированием галогензамещенного цикла А с требуемым 2-аминопиридином на палладиевом катализаторе в соответствии со схемой 3.

Схема 3



Соединения настоящего изобретения, в которых Y соответствует NR_4CO , можно получить в соответствии с общей схемой 4, по которой аминзамещенный цикл A взаимодействует с требуемым ацилхлоридом $Cl-C(O)-R_1$.

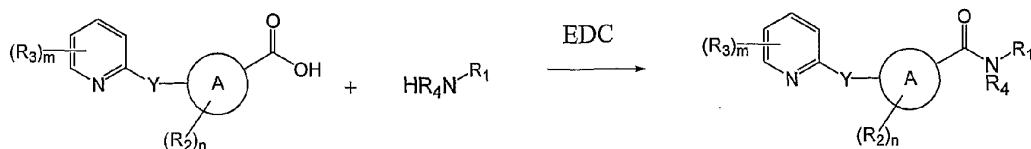
Схема 4



Альтернативно, такие соединения можно приготовить с помощью EDC-катализируемого присоединения карбоксизамещенного цикла A и аминзамещенной группы R_1 , то есть R_1NR_4H . По этой схеме можно также получать и тиамидные соединения изобретения, то есть, когда X соответствует $NR_4C(S)$, используя при ацилировании соответствующий тиацилхлорид $Cl-C(S)-R_1$.

Аналогично получают соединения настоящего изобретения, когда X соответствует $C(O)NR_4$. Для этого аминзамещенный цикл A реагирует с карбоксизамещенной группой R_1 в присутствии катализатора EDC, в соответствии со схемой 5.

Схема 5



Для получения тиамидных соединений изобретения (то есть когда X соответствует $C(S)NR_4$) используют похожую схему. Для этого используется цикл A с соответствующим тиакарбонным заместителем (например, $-C(S)OH$), или амид конвертируется с помощью реагента Лавессона (Lawesson's reagent).

Соединения настоящего изобретения, в которых X соответствует $NR_4C(O)NH$, можно получить по общей схеме 6, по которой аминзамещенный цикл A реагирует с соответствующим изоцианатом R_1-NCO .

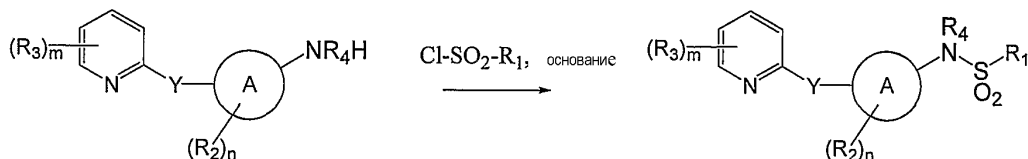
Схема 6



По подобной схеме получают также и соединения настоящего изобретения, содержащие тиомочевину, то есть, когда X соответствует $NR_4C(S)NH$. При этом вместо изоцианата R_1-NCO можно использовать соответствующий изотиоцианат R_1-NCS .

Соединения настоящего изобретения, в которых X соответствует NR_4SO_2 , можно получить по общей схеме 7, по которой аминзамещенный цикл A реагирует с соответствующим сульфонилхлоридом $R_1-S(O_2)Cl$ в присутствии ненуклеофильного основания, например TEA или диизопропилэтиламина, с образованием требуемого сульфонида.

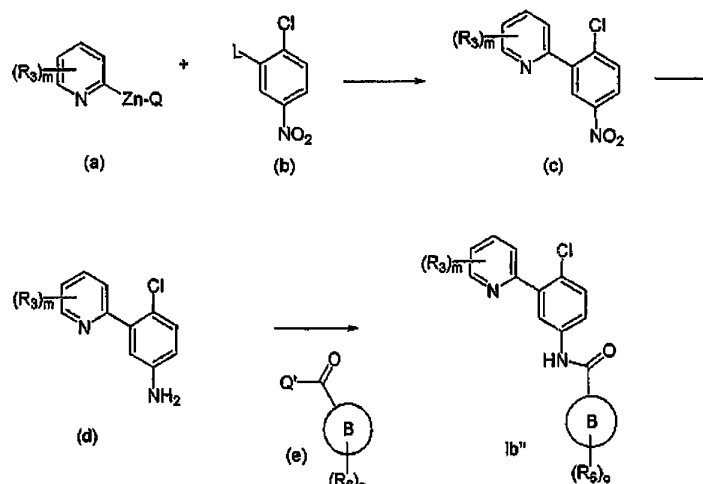
Схема 7



Для получения соединений настоящего изобретения, в которых X соответствует NR_4SO , обычно, вместо сульфонида хлорида $R_1-S(O_2)Cl$ используют соответствующий сульфенил хлорид $R_1-SO-Cl$.

Соединения настоящего изобретения, структура которых соответствует формуле **Ib'**, где X соответствует $NHCO$ (то есть формула **Ib''**) могут быть приготовлены по общей схеме 8, в которой R_3 , R_6 , m и o определены выше, а Q представляет собой Cl , Br или I ; Q' - галоген, OH , OR , где R представляет собой активирующую группу; L - это Br , I или OTf (например, $O-SO_2-CF_3$).

Схема 8



Цинк-галогенид-пиридин (a) взаимодействует с 2-хлоро-5-нитробензолом (b) по реакции присоединения Негиши в присутствии подходящего катализатора, такого как комплекс палладия и тетра-кис(трифенилфосфина) ($Pd(PPh_3)_4$). В соответствии с одним аспектом этот катализатор стабилизирован трифенилфосфином (PPh_3). В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения Q представляет собой Br. В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения L представляет собой I. В соответствии с еще одним способом реализации изобретения реакция присоединения выполняется при температуре приблизительно от 50 до 60°C.

Нитробензольный реагент (b) можно получить в результате активации соответствующего амина (то есть 2-хлоро-5-нитроанилина) нитритом натрия в водном растворе серной кислоты и заменой его L-группой (например, KI, KBr). В соответствии с одним конкретным аспектом изобретения L представляет собой I. В соответствии с конкретным аспектом реакция осуществляется при температуре меньше приблизительно 15°C.

Полученный интермедиат (c) восстанавливают, например, Fe, Zn или $SnCl_2$ в присутствии кислоты с получением аминного интермедиата (d). В соответствии с одним конкретным направлением реализации изобретения интермедиат (c) восстанавливают железом, например, в присутствии раствора АсОН в ЕтОН. В соответствии с другим аспектом интермедиат (c) восстанавливают цинком, например, в присутствии раствора АсОН в ЕтОН. В соответствии с другим аспектом интермедиат (c) восстанавливают $SnCl_2$, например, в присутствии раствора АсОН в ЕтОН. В соответствии с конкретным аспектом реакция осуществляется при температуре около 60°C.

Наконец, интермедиат (d) взаимодействует с активированной кислотой (e) с образованием финального соединения 1b'. В соответствии с одним аспектом активированная кислота (e) представляет собой ацилгалогенид (например, Q' - это хлорид) или активированный сложный эфир (например, Q' - это O-EDC). В соответствии с еще одним конкретным аспектом изобретения заключительная реакция проводится при температуре около 0°C.

Соединения настоящего изобретения ингибируют сигнальный путь белка hedgehog и полезны для лечения онкологических заболеваний, связанных с нарушениями этого пути, например, когда комплекс Patched не может подавить активность Smoothed или делает это неадекватно (фенотип утраты функции Ptc), или когда Smoothed сохраняет активность, несмотря на подавляющее действие Patched (фенотип приобретения функции Smo). Примеры онкологических заболеваний такого типа включают карциному базальных клеток, нейроэктодермальные опухоли, такие как медуллобластома, менингиома, гемангиома, глиобластома, аденокарцинома поджелудочной железы, сквамозная карцинома легких, мелкоклеточная карцинома легких, немелкоклеточная карцинома легких, хондросаркома, карцинома молочной железы, рабдомиосаркома, эзофагеальный рак, рак желудка, желчных путей, почек, а также карцинома щитовидной железы. Соединения настоящего изобретения можно вводить до, одновременно и после проведения другого противоракового лечения, такого как лучевая или химиотерапия. Подходящие для цитостатической химиотерапии соединения включают, но не ограничиваются: (i) антиметаболиты, например цитарабин, флударабин, 5-фторо-5-деоксиуридин, гемцитабин, гидроксимочевину или метотрексат; (ii) расщепляющие ДНК агенты, такие как блеомицин; (iii) агенты, вводящие в ДНК перекрестные сшивки, такие как хлорамбуцил, цисплатин, циклофосфамид или азотный аналог иприта; (iv) интеркалирующие агенты, такие как адриамицин (доксорубицин) или митоксантрон; (v) ингибиторы синтеза протеинов, такие как L-аспарагиназа, циклогексимид, пуромицин или дифтерийный токсин; (vi) яды, действующие на топоизомеразу I, например камптотецин или топотекан; (vii) яды, действующие на топоизомеразу II, например этопозид (VP-16) или тенипозид; (viii) агенты, действующие на микротрубочки, такие как колцеид, колхицин, паклитаксел, винбластин или винкристин; (ix) ингибиторы киназ, такие как флавопиридол,

стауропорин, STI571 (CPG 57148B) или UCN-01 (7-гидроксистауропорин); (x) различные изучаемые в настоящее время агенты, такие как тиоплатин, PS-341, фенбутиран, ET-18-ОСНЗ или ингибиторы фарнезилтрансферазы (L-739749, L-744832); полифенолы, такие как кверцетин, резвератрол, пицеатаннол, галлат эпигаллокатехина, теафлавины, флаванолы, полицианидины, бегулиновая кислота и их производные; (xi) гормоны, такие как глюкокортикоиды или фенретинид; (xii) антагонисты гормонов, такие как тамоксифен, финастерид или антагонисты LHRH. В соответствии с одним аспектом изобретения соединения настоящего изобретения можно вводить совместно с цитостатическим соединением, выбранным из группы, содержащей цисплатин, доксорубин, таксол, таксотер и митомицин С.

Еще один класс активных соединений, которые могут использоваться в настоящем изобретении, - это вещества, способные сенситизировать или индуцировать апоптоз, связываясь с рецепторами смерти (агонисты рецепторов смерти). Такие агонисты рецепторов смерти включают фактор некроза опухолей (TNF- α), фактор некроза опухолей β (TNF- β , лимфотоксин- α), LT- β (лимфотоксин- β), TRAIL (Apo2L, лиганд DR4), лиганд CD95 (Fas, APO-1), лиганд TRAMP (DR3, Apo-3), лиганд DR-6, а также фрагменты или производные любого из указанных лигандов. В соответствии с конкретным аспектом лиганд рецептора смерти представляет собой TNF- α . В соответствии с другим аспектом лиганд рецептора смерти представляет собой Apo2L/TRAIL. Более того, к числу агонистов рецепторов смерти относятся также антитела-агонисты к ним, такие как anti-CD95, anti-TRAIL-R1 (DR4), anti-TRAIL-R2 (DR5), anti-TRAIL-R3, anti-TRAIL-R4, anti-DR6, anti-TNF-R1 и anti-TRAMP (DR3), а также фрагменты или производные любого из перечисленных антител.

Для сенситизации клеток к апоптозу соединения настоящего изобретения можно использовать совместно с лучевой терапией. Фраза "лучевая терапия" означает использование электромагнитного или корпускулярного излучения для лечения неоплазии. Лучевая терапия основана на предположении, что направленная на целевую область высокая доза радиации приведет к смерти репродуцирующих клеток как в раковой, так и в нормальной тканях. Дозировка радиации, в общем случае, описывается в терминах поглощенной дозы радиации (rad), времени и фракционирования и должна быть тщательно определена онкологом. Количество излучения, которое получает пациент, зависит от различных факторов, включающих локализацию опухоли по отношению к другим органам и степень ее развития. Примеры радиотерапевтических агентов предлагаются, но не ограничиваются, в руководствах по лучевой терапии и известны в соответствующей области (Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles I and Practice of Oncology, 24875 (Devita et al., 4th ed., vol. 1, 1993)). Последние достижения в области лучевой терапии включают трехмерную конформную радиацию внешнего луча, лучевую терапию с модулируемой интенсивностью (ЛТМИ, IMRT), стереотактическую радиохирургию и брахитерапию (внутриканальную лучевую терапию), в последнем случае источник излучения помещается непосредственно в опухоли (имплантированное "семя"). Эти новые способы позволяют доставить к опухоли более высокие дозы радиации, что объясняет их более высокую эффективность по сравнению со стандартной лучевой терапией внешнего луча.

Наиболее полезной для радиотерапевтического применения считается ионизирующая радиация с помощью бета-излучающих радионуклидов. Это связано с умеренной энергетической передачей (linear energy transfer (LET)) ионизирующих частиц (электронов) и промежуточным диапазоном ее проникновения в ткань (как правило, несколько миллиметров). Гамма-излучение передает меньшую дозу на значительно большие расстояния. Альфа-частицы представляют другую крайность, они доставляют очень высокую дозу LET, но характеризуются чрезвычайно ограниченным интервалом проникновения и потому должны находиться в тесном контакте с клетками обрабатываемой ткани. Кроме того, обычно источником альфа-излучения являются тяжелые металлы, что ограничивает возможную химию и приводит к лишнему риску, связанному с утечкой радионуклидов из обрабатываемой области. В область действия настоящего изобретения входят все типы излучателей, в зависимости от конкретной опухоли. Более того, настоящее изобретение охватывает также и неионизирующую радиацию, например ультрафиолетовое излучение (УФ), видимый свет высокой энергии, микроволновое излучение (терапия гипертермией), инфракрасное излучение (ИК) и лазеры. В конкретном аспекте настоящего изобретения используется УФ-излучение.

Соединения настоящего изобретения ингибируют ангиогенез и потому они полезны для лечения заболеваний или состояний, опосредуемых ангиогенезом, таких как опухоли, в особенности твердые опухоли, такие как опухоли толстой кишки, легких, поджелудочной железы, яичников, молочной железы, а также глиомы. Более того, соединения настоящего изобретения полезны для лечения макулярной дегенерации, например сырой возрастной макулярной дегенерации. Соединения настоящего изобретения полезны также для лечения воспалительных/иммунных заболеваний, например болезни Крона, воспаления кишечника, синдрома Гужеро-Шенгрена, астмы, отторжения пересаженных органов, системной красной волчанки, ревматоидного и псориатического артрита, псориаза и рассеянного склероза. Соединения настоящего изобретения полезны также и для депиляции.

Настоящее изобретение включает также фармацевтические композиции или медикаменты, содержащие соединения настоящего изобретения и терапевтически инертный носитель, разбавитель или на-

полнитель, а также методы использования соединения изобретения для приготовления таких композиций и медикаментов. Как правило, соединения настоящего изобретения, используемые в его формулах, смешивают при комнатной температуре, соответствующем pH и желаемой степени чистоты с физиологически приемлемыми носителями, то есть носителями, которые нетоксичны для реципиентов в концентрациях и дозах, используемых при приготовлении лекарств на основе природных средств. pH составов в основном зависит от конкретного метода применения и концентрации соединения, но может колебаться приблизительно от 3 до 8. Примером является ацетатный буфер с pH 5. Используемые соединения могут быть в стерильной упаковке. Соединения могут храниться в виде сухих композиций, но лиофилизированные составы или водные растворы также приемлемы.

Композиции настоящего изобретения могут составляться, дозироваться и вводиться так, чтобы это было согласовано с принципами надлежащей медицинской практики. Факторы, которые необходимо учитывать в этой связи, включают конкретное заболевание, конкретное млекопитающее, которое надо лечить, клиническое состояние индивидуального пациента, причину заболевания, область доставки агента, метод его введения, схему введения, а также другие факторы, известные практикующим врачам. "Эффективное количество" вводимого соединения определяется этими факторами и представляет собой минимальное количество, необходимое для того, чтобы снизить прохождение сигнала по пути hedgehog, или минимальное количество, необходимое для того, чтобы вызвать уменьшение размера, объема или массы опухоли, развившейся в ответ на усиленный сигнальный путь hedgehog, или для снижения скорости роста размера, объема или массы такой опухоли по сравнению с ее ростом в отсутствие соединения настоящего изобретения. Альтернативно, "эффективное количество" соединения может означать такое его количество, которое необходимо для уменьшения числа злокачественных клеток или скорости увеличения этого числа. Альтернативно, "эффективное количество" может означать такое количество соединения настоящего изобретения, которое необходимо для увеличения выживаемости пациентов, страдающих от злокачественных опухолей, чувствительных к сигнальному пути hedgehog. Такое количество может быть ниже количества вещества, токсичного для нормальных клеток или для млекопитающего в целом. Что касается незлокачественных показаний, то "эффективное количество" означает количество соединения настоящего изобретения, необходимое для снижения интенсивности конкретного показания или симптомов заболевания.

В общем случае, первоначальное эффективное количество соединения настоящего изобретения на одну дозу при введении парентерально находится в интервале приблизительно от 0,01 до 100 мг/кг, например приблизительно от 0,1 до 20 мг/кг веса тела пациента в день, например от 0,3 до 15 мг/кг/день. Оральная форма введения, например таблетки или капсулы, может содержать приблизительно от 25 до 1000 мг соединения настоящего изобретения.

Соединения настоящего изобретения могут вводиться любыми подходящими способами, включая оральный, топический, трансдермальный, парентеральный, подкожный, ректальный, внутрибрюшинный, внутрилегочный и интраназальный, а также, если это требуется для локального лечения, вещество может вводиться непосредственно в поврежденный участок.

Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное и подкожное введение. Примером подходящей оральной формы введения является таблетка, содержащая около 25, 50, 100, 250 или 500 мг соединения настоящего изобретения в смеси приблизительно с 90-30 мг безводной лактозы, 5-40 мг кроскармеллозы натрия, 5-30 мг поливинилпирролидона (PVP) K30 и около 1-10 мг стеарата магния. Сначала порошкообразные ингредиенты смешивают вместе и затем добавляют к раствору PVP. Полученный состав можно высушить, гранулировать, смешать со стеаратом магния и спрессовать в таблетку с помощью обычного оборудования. Чтобы получить аэрозольный состав, можно растворить, например, 5-400 мг соединения настоящего изобретения в подходящем буферном растворе, например в фосфатном буфере, и добавить тонирующее средство (например, такую соль, как хлорид натрия), если это нужно. Чтобы удалить примеси и загрязнения, раствор обычно фильтруют, например, на фильтре с размером пор 0,2 мкм. Топические составы включают мази, кремы, лосьоны, порошки, растворы, маточные кольца, спреи, аэрозоли и капсулы. Мази и кремы состоят из водной или масляной основы с добавлением подходящих коагулирующих и/или гелеобразующих агентов и/или растворителей. Подобные основы могут включать воду и/или масло, такое как жидкий парафин, или растительные масла, например арахисовое или касторовое масло, или растворитель, такой как полиэтиленгликоль. К числу возможных уплотняющих агентов относится мягкий парафин, стеарат алюминия, цетостеариловый спирт, полиэтиленгликоли, микрокристаллический или пчелиный воск. Лосьоны состоят из водного или масляного основания и могут содержать один или больше эмульсификаторов, стабилизаторов, диспергирующих, суспендирующих и коагулирующих агентов. Для составления порошков для внешнего применения может использоваться любое подходящее порошковое основание, такое как тальк, лактоза или крахмал. Капли формулируют из водной или неводной основы, они содержат также по меньшей мере один диспергирующий, солюбилизующий или суспендирующий агент.

Примеры

Для более полного понимания настоящего изобретения необходимо обратиться к приводимым далее примерам. Однако не следует считать, что эти примеры ограничивают область действия изобретения.

Далее будут использованы следующие сокращения:

BuOH: butanol, бутанол;

DIPEA: diisopropylethylamine, диизопропилэтиламин;

DMA: NN-dimethylacetamide, NN-диметилацетамид;

DMAP: 4-dimethylaminopyridine, 4-диметиламинопиридин;

DME: 1,2-dimethoxyethane, 1,2-диметоксиэтан;

DMF: dimethylformamide, диметилформамид;

EDC: 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, 1-этил-3-(3 диметиламинопропил)карбодии-мид;

HATU: O-(7-azobenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate, гексафторофосфат O-(7-азобензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурия;

HPLC: high pressure liquid chromatography, жидкостная хроматография под высоким давлением;

MPLC: medium pressure liquid chromatography, жидкостная хроматография под средним давлением;

NBS: N-bromosuccinimide, N-бромосукцинимид;

TEA: triethylamine, триэтиламин;

TASF: tris(dimethylamino)sulfonium difluorotrimethylsilicate, дифторотриметилсалицилат трис(диметиламино)сульфония;

THF: tetrahydrofuran, тетрагидрофуран;

EtOH: ethanol, этанол;

MeOH: methanol, метанол;

мкл: микролитр.

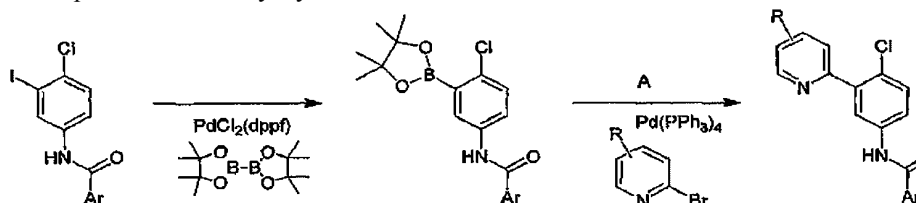
Все реагенты были закуплены, если не указано иначе. Реакции проводились в стеклянной посуде, высушенной в печи в атмосфере азота. Чувствительные к действию воздуха и влаги жидкости и растворы вводили через шприц или канюлю из нержавеющей стали. Органические растворы концентрировали при пониженном давлении (около 15 мм рт.ст.) на ротонном испарителе. Все используемые растворители были закуплены, если не указано иначе. Хроматографическую очистку продуктов осуществляли с помощью Isco CombiFlash Companion и среды. Времена реакций приводятся только для иллюстрации. За ходом реакции следили с помощью метода тонкослойной хроматографии (thin-layer chromatography (TLC)) и жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (liquid chromatography-massspectrometry (LC-MS)). Тонкослойную хроматографию проводили в планшетах с силикагелем-60 EM Science silica gel 60 F254 (250 мкм).

Визуализацию полученных хроматограмм проводили методом флуоресцентного гашения. LC-MS на спектрометре Shimadzu 10AD LC с колонкой Phenomenex (50×4.6 мм, 5 мкм), работающей с производительностью 3 мл/мин. При этом использовался детектор Shimadzu SPD-10A, с помощью которого осуществляли мониторинг при длине волны 214 и 254 нм. Масс-спектрометрию методом одиночного квадрупольного выполнения на масс-спектрометре компании Applied Biosystems. Спектры ядерного магнитного резонанса (nuclear magnetic resonance (NMR)) для H снимали на спектрометре Varian Inova при 400 MHz и сравнивали с данными внутреннего стандарта (тетраметилсилан, TMC, TMS), выражая результат в частотах на миллион (parts per million (ppm)). Данные для H NMR записывали следующим образом: химический сдвиг (δ , ppm), множественность (s, singlet (синглет); bs, broad singlet (широкий синглет); d, doublet (дублет); t, triplet (триплет); q, quartet (квартет); quint, quintet (квинтет); sext, sextet (секстет); hept, heptet (гептет); m, multiplet (мультиплет); bm, broad multiplet (широкий мультиплет)), и интеграция. Структура и чистота всех финальных продуктов проверялась по меньшей мере одним из следующих методов: LC-MS, NMR, TLC.

Пример 1. Общая процедура.

Соединения по настоящим примерам были получены в соответствии со следующими общими процедурами.

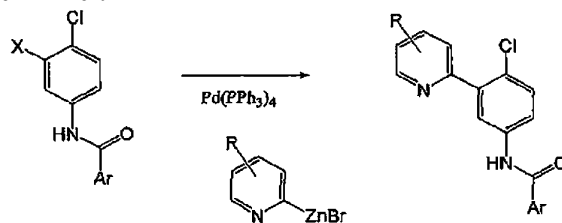
А. Реакция присоединения Судзуки



2 М водный раствор карбоната калия (5.0 экв.) и смесь толуол:этанол 4:1 (2.5 мл) поместили в сосуд для микроволновой обработки, в котором уже находилась смесь соответствующего эфира бороната (2.6 экв.), арилгалида (0.35 ммоль, 1.0 экв.) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.04 экв.). Сосуд закупорили и при перемешивании нагревали в микроволновой печи 10 мин при температуре 160°C. После этого раствор вылили в 2 М водный раствор гидроксида натрия (20 мл), проэкстрагировали этилацетатом (2×20 мл), высушили (MgSO_4) и сконцентрировали. Требуемое вещество получили очисткой "сырого продукта" хроматогра-

фией на силикагеле (условия приведены ниже).

В. Реакция присоединения Неглиши



X=I или Br

R=H, 3-Me, 4-Me, 5-Me, 6-Me

В предварительно высушенный в печи сосуд для микроволновой обработки добавили соответствующий арилгалогид (1.0 экв.) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.04 экв.), а затем арилцинк бромид (0.5 М в THF, 2.5 экв.). Сосуд закупорили и при перемешивании нагревали в микроволновой печи 10 мин при температуре 140°C. "Сырую реакционную смесь" сконцентрировали и очистили хроматографией на силикагеле (условия приведены ниже), получив требуемый продукт.

С. Восстановление арильной нитрогруппы железом



R = I или пиридин-2-ил

К раствору порошка железа (6.0 экв.) в AcOH/ EtOH (1:2, 2 М) при 60°C медленно добавили соответствующий нитроарил (1 ммоль, 1 экв.) в AcOH/ EtOH (1:1, 0.42 М). Раствор перемешивали 30-60 мин при температуре 70°C. Реакционную смесь охладили до 23°C, профильтровали через целит, промыли этилацетатом и сконцентрировали. Маслянистый осадок растворили в этилацетате (30 мл), промыли насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2×15 мл) и водой (2×10 мл), высушили (MgSO_4) и сконцентрировали. Полученный маслянистый осадок использовали без дополнительной очистки.

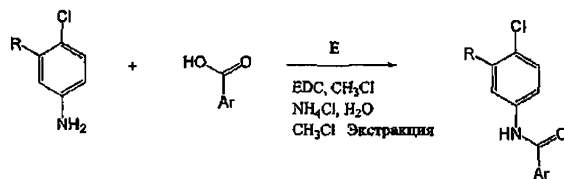
Д. Формирование амидной связи.



R = I или пиридин-2-ил

К раствору анилина (1.0 экв.) и TEA (1.1-1.5 экв.) в метилен хлориде при указанной температуре добавили хлорид кислоты (1.05-1.1 экв.). Раствор перемешивали 0.5-3 ч, а затем вылили в насыщенный водный раствор NaHCO_3 , дважды проэкстрагировали метилен хлоридом, высушили (MgSO_4) и сконцентрировали. Требуемое соединение получили очисткой "сырого продукта" хроматографией на силикагеле (условия приведены ниже).

Е. Образование амидной связи с EDC

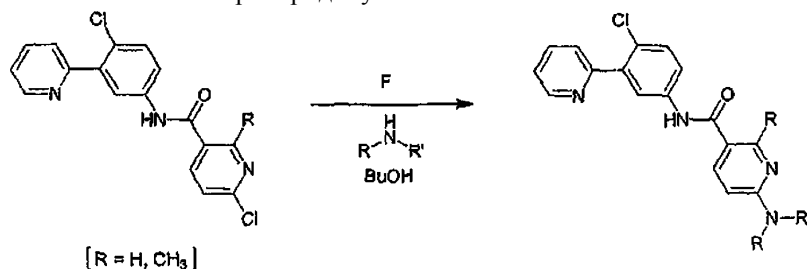


R = I или пиридин-2-ил

К раствору анилина (1.0 экв.) и EDC (1.4 экв.) в метилен хлориде (0.7 М в анилине) добавили карбоновую кислоту (1.1 экв.). Раствор 2 ч перемешивали при температуре 23°C, а затем вылили в смесь 1:1 насыщенного водного раствора NH_4Cl и воды (1:1), дважды проэкстрагировали метилен хлоридом, вы-

сушили (MgSO_4) и сконцентрировали. Требуемое вещество получили очисткой "сырого продукта" хроматографией на силикагеле (условия приведены ниже).

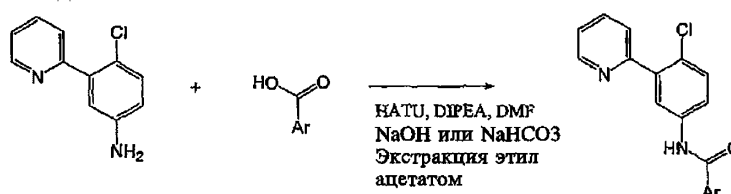
F. Присоединение амина к 2-хлоропиридину



NHRR' =этаноламин, анилин, бензиламин, 2-метилпропиламин, N-метилпиперазин, морфолин, 2-морфолиноэтиламин.

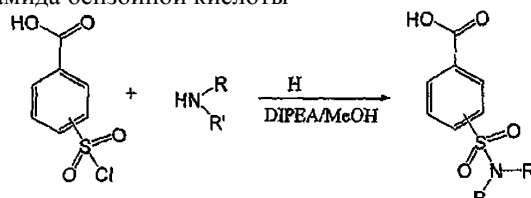
Раствор первичного или вторичного амина (5 экв.) либо в BuOH, либо в смеси BuOH/этиленгликоля в течение 20 мин выдерживали при температуре от 170 до 220°C в закупоренной пробирке. BuOH удалили в условиях пониженного давления. Если использовался этилен гликоль, то смесь разбавили водой и проэкстрагировали продукт этилацетатом, высушили (MgSO_4) и сконцентрировали. Требуемый продукт получили очисткой сырого остатка хроматографией HPLC в обращенной фазе.

G. Образование амидной связи с HATU



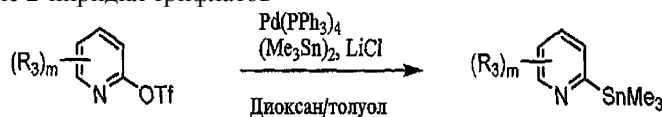
К смеси карбоновой кислоты (1.1 экв.), HATU (1.1 экв.) и DIPEA (2 экв.) в DMF (0.1-0.2 M) добавили анилин (1.0 экв.). Смесь затем перемешивали одну ночь, а потом разбавили 0.1 N гидроксидом натрия или насыщенным раствором NaHCO_3 , проэкстрагировали этилацетатом и промыли комбинированные органические фазы соляным раствором. Органический слой затем высушили (MgSO_4), сконцентрировали и очистили хроматографией HPLC в обращенной фазе.

H. Получение сульфонамида бензойной кислоты



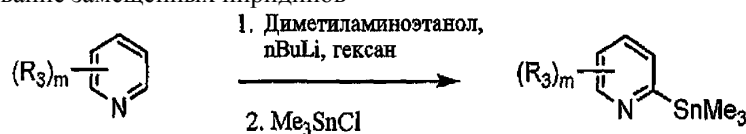
К раствору амина (1.1 экв.) в 10-20% DEPEA/метанол (1 M) при 4°C добавили хлоросульфилбензойную кислоту (1.0 экв.). Через 1 ч реакционную смесь сконцентрировали и "сырой остаток" очистили хроматографией HPLC в обращенной фазе.

I. Станнирование 2-пиридил трифлатов



К дегазированному раствору арилтрифлата (1 экв.), бис-триалкилолова (1.05 экв.) и хлорида лития (3 экв.) в диоксане добавили раствор тетраakis-трифенилфосфинпалладия (0.04 экв.) в толуоле (1 мл). Смесь кипятили 2 ч, а затем охладили до 23°C, разбавили этилацетатом, промыли 10% водным раствором NH_4OH и соляным раствором, высушили (MgSO_4) и сконцентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки.

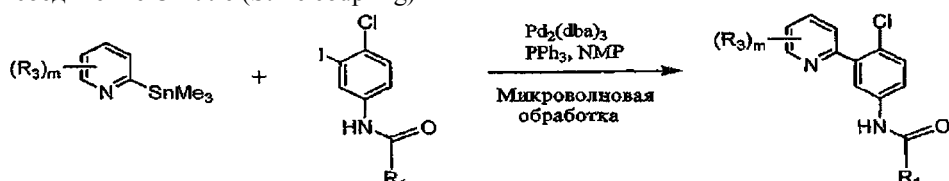
J. Станнирование замещенных пиридинов



К раствору диметиламиноэтанола (3 экв.) в гексане при 0°C по каплям добавили н-бутил литий (6 экв., 2.5 M в гексане). Раствор 30 мин перемешивали при 0°C, после чего по каплям добавили замещенный пиридин (1 экв.). Смесь перемешивали при 0°C еще 1 ч, а затем охладили до -78°C. Затем в систему по каплям добавили раствор триалкилолова в гексане. Раствор 30 мин перемешивали при -78°C, а затем нагрели до 0°C, остановили реакцию водой, дважды проэкстрагировали эфиром, высушили

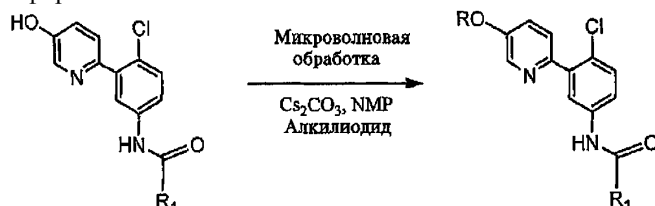
(MgSO₄) и сконцентрировали.

К. Присоединение Стилле (Stille coupling)



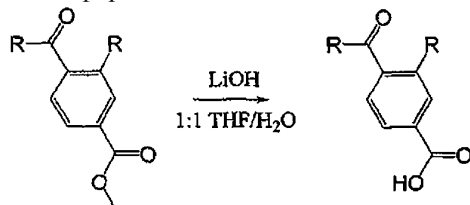
К дегазированному раствору арилиодида (1 экв.) арилстаннана (2 экв.) и трифенилфосфина (0.16 экв.) в NMP добавили палладиевый катализатор (0.02 экв.) и 15 мин нагревали в микроволновой печи при температуре 130°C. Смесь разбавили этилацетатом, промыли 10% водным раствором NH₄OH и соляным раствором, высушили (MgSO₄), сконцентрировали и очистили хроматографией на силикагеле.

L. Синтез простых эфиров алкилов



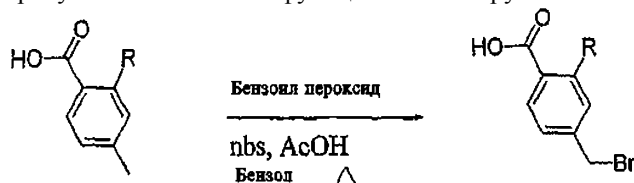
Раствор гидроксипиридина (1 экв.), алкилиодида (избыток) и карбоната цезия в NMP 10 мин нагревали в микроволновой печи при температуре 100°C. Реакционную смесь разбавили этилацетатом, промыли 10% водным раствором NH₄OH и соляным раствором, высушили (MgSO₄), сконцентрировали и очистили хроматографией на силикагеле.

M. Сапонификация метилового эфира



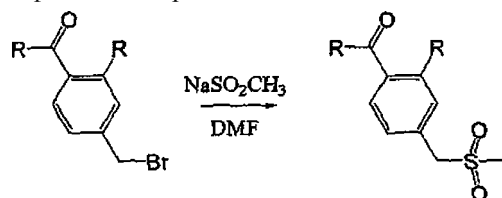
Метилловый эфир (1 экв.) гидролизовали LiOH (2 экв.) в 50/50 смеси THF/вода. По завершении реакции THF упарили в условиях пониженного давления и закислили раствор соляной кислотой до pH 2. Образовавшийся твердый осадок отфильтровали и высушили, получив чистую кислоту.

N. Бромирование в присутствии кислотной функциональной группы



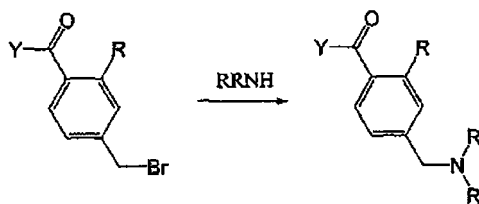
Параметилбензойную кислоту (1 экв.) смешали с бензоилпероксидом (0.1 экв.) и N-бромосукцинимидом (0.9 экв.) в 5% растворе AcOH в бензоле и 5-15 мин нагревали в микроволновой печи при температуре 120°C. Продукт отделили от исходного материала и дибромо продукта с помощью флеш-хроматографии ISCO с использованием системы растворителей этилацетат (с 1% AcOH) и гексан.

O. Замена брома метансульфинатом натрия



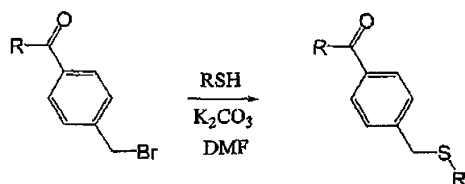
К исходному бромосоединению (1 экв.) добавили метансульфинат натрия (2 экв.) в DMF и нагревали смесь в микроволновой печи 5 мин при 120°C. Альтернативно, смесь можно несколько часов выдерживать на масляной бане при 60°C до завершения реакции. После этого реакционную смесь сконцентрировали в условиях пониженного давления и проэкстрагировали этилацетатом и водой. Органический слой высушили над сульфатом магния, профильтровали и сконцентрировали под вакуумом, получив метилсульфон.

Р. Замена брома амином



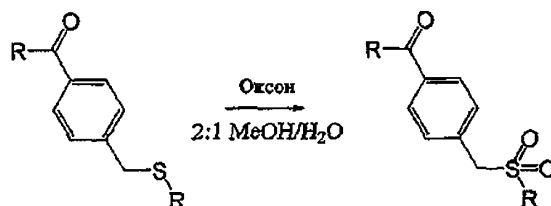
К исходному бромосоединению (1 экв.) добавили соответствующий амин (3 экв.) в DMSO или BuOH и перемешивали смесь при комнатной температуре до завершения реакции. В случае менее нуклеофильных аминов или анилинов реакцию стимулировали, выдерживая смесь в микроволновой печи 15 мин при 150-170°C. "Сырой продукт" концентрировали до сухого состояния и либо экстрагировали этилацетатом и насыщенным бикарбонатом (если при этом образовывался промежуточный продукт), либо очищали HPLC, если получался конечный продукт.

Q. Замена галогена тиолом



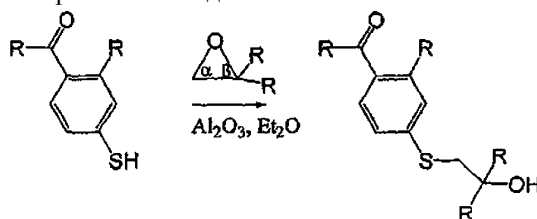
Параметилбромобензоат (1 экв.) обработали карбонатом калия или цезия (1.5 экв.) и соответствующей производной тиола (1.1 экв.) в DMF (или CH₃CN), после чего смесь перемешивали одну ночь при комнатной температуре. DMF упарили под вакуумом и проэкстрагировали реакционную смесь этилацетатом и водой. Органический слой высушили над сульфатом магния, профильтровали и сконцентрировали, получив тиол или дериватизированное соединение тиола.

R. Окисление оксоном



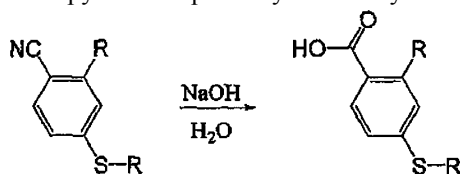
Дериватизированный тиол (1 экв.) растворили в MeOH и оксон (2 экв.) отдельно растворили в половинном количестве воды. После растворения оксона полученный раствор сразу добавили к раствору тиола в MeOH и перемешивали до завершения реакции. Метанол упарили под вакуумом и оставшуюся воду дважды проэкстрагировали этилацетатом. Органический слой высушили над сульфатом магния и сконцентрировали с получением сульфона.

S. Тиолиз эпоксидов на поверхности оксида алюминия



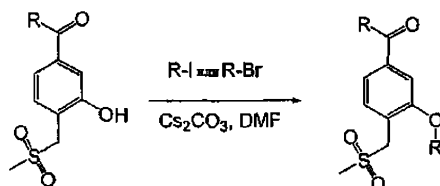
Смесь эпоксидов (1.0 экв.), тиофенола (1.5 экв.) и нейтрального оксида алюминия (~70 экв.) в диэтиловом эфире перемешивали 3 ч при комнатной температуре, следя за ходом реакции с помощью TLC. Затем смесь профильтровали через целит, промыли этилацетатом и сконцентрировали. Продукт очистили хроматографией на силикагеле (0-40% этилацетат/гексан), получив β-гидроксисульфид.

Т. Преобразование нитрильной группы в карбоновую кислоту



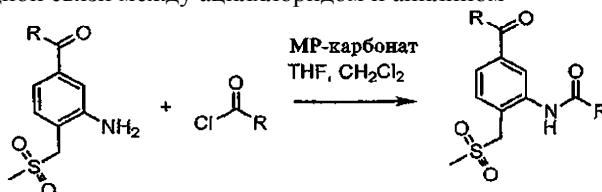
Раствор бензонитрила (1.0 экв.) и гидроксида натрия (2.0 экв.) в H₂O 2 ч выдерживали при температуре 120°C. Реакционную смесь охладили до комнатной температуры и закислили соляной кислотой до pH 2. Полученный осадок профильтровали, получив чистую кислоту.

U. Алкилирование фенолов



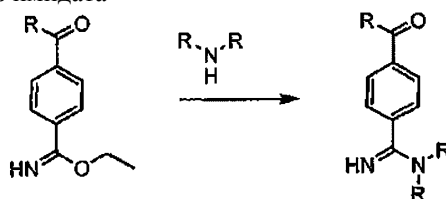
Фенол растворили в DMF (1.0 мл). В систему добавили карбонат цезия (1.0 экв.) и алкилбромид или алкилиодид (1.0-2.0 экв.), после чего систему перемешивали 18 ч при комнатной температуре или 1-24 ч при 50°C. Реакцию остановили водой и дважды проэкстрагировали систему этилацетатом. Органические экстракты промыли водой один раз, соляным раствором один раз, высушили над MgSO_4 и упарили, получив сырое масло, которое очистили затем HPLC в обращенной фазе.

V. Образование амидной связи между ацилхлоридом и анилином



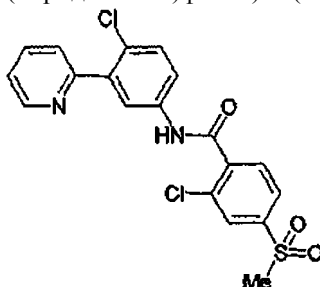
Анилин растворили в THF (1.5 мл) и дихлорометане (1.5 мл). В систему добавили MP-карбонат (1.5 экв.) и хлорид кислоты (1.1 экв.) и раствор перемешивали 18 ч при комнатной температуре. Смесь затем разбавили метанолом и дихлорометаном и профильтровали, чтобы удалить MP-карбонат. Маточные растворы упарили до получения твердого осадка и очистили HPLC в обращенной фазе.

W. Образование амидина из имидата



Раствор свежеприготовленного имидата в метаноле перемешивали с первичным или вторичным амином при комнатной температуре в течение 18 ч. Метанол удалили на роторном испарителе и очистили остаток HPLC в обращенной фазе.

Пример 2. 2-Хлоро-N-(4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)фенил)-4-(метилсульфонил)бензамид



По методу G 4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)анилин (50 мг) соединили с 2-хлоро-4-метилсульфонил-бензойной кислотой, получив 2-хлоро-N-(4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)фенил)-4-(метилсульфонил)бензамид. MS (Q1) 421.0 (M)⁺. Это вещество растворили в 1N HCl, а затем защелочили раствор 0.5 N раствором NaOH (pH до 11). Полученный осадок профильтровали и высушили под вакуумом.

По методу D можно также соединить 4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)анилин и 2-хлоро-4-(метилсульфонил)бензоилхлорид, с получением 2-хлоро-N-(4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)фенил)-4-(метилсульфонил)бензамида, который затем собирают фильтрованием под вакуумом и промывают соль соляной кислоты Et_2O (или MTBE). Это вещество защелачивают EtOAc /водный NaHCO_3 , органическую фазу высушивают и концентрируют до получения твердого свободного основания. Полученное вещество кристаллизуют из смеси ацетон: EtOAc (80:20, приблизительно 10 мл/г) и перекристаллизовывают из горячей суспензии из- PrOAc . Соль соляной кислоты и 2-хлоро-N-(4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)фенил)-4-(метилсульфонил)бензамида можно также растворить в дистиллированной воде и защелочить 0.5 N раствором NaOH (до pH 11). После фильтрования осадок высушивают под вакуумом.

Пример 3. Эксперименты по ингибированию сигнального пути hedgehog.

Мышиная репортерная клеточная линия - клетки - 10T1/2-GliLuc [S12] (производные от линии C3H10T1/2 ATCC#CC1-226; фибробласты мышиных эмбрионов); среда для роста: Dulbecco's modified Eagles' Medium (DMEM) с 10% фетальной бычьей сыворотки (Fetal Bovine Serum (FBS)), 10 ед./мл пени-

циллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ глутамин и 10 мМ HEPES.

Человеческая репортерная клеточная линия - клетки - HEPM-GHLuc [MZ24] (производные от линии HEPM, Human Embryonic Palatal Mesenchyme ATCC#CR1-1486, клетки эмбриональной палатальной мезенхимы); среда для роста: Minimum Essential Medium (MEM; совместно с солями Эрла (Earle's salts)) с 10-20% фетальной бычьей сыворотки (Fetal Bovine Serum (FBS)), 10 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ глутамин и 10 мМ HEPES pH 7.2.

Белок Sonic hedgehog - рекомбинантный октилированный по N-концу конъюгат SHh.

Планшеты для микротитрования (Microtiter Plates (MTPs)) - для люциферазного анализа клетки высевают в 96-луночные планшеты MTP (White, Flat-bottom, Clear-View).

Среда для люциферазного анализа - DMEM с 0.5% FBS, 10 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ глутамин и 10 мМ HEPES pH 7.2.

Смесь PBS/Ca/Mg Mix - фосфатный буфер с 0.5 мМ CaCl₂ и 1 мМ MgCl₂.

Процедура анализа.

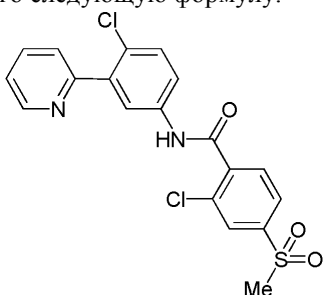
Клетки S12 и MZ24 были генетически модифицированы так, чтобы они содержали люциферазный репортерный ген, управляемый отвечающим на Hedgehog промотором Gli. Эти клетки высадили в культуральные планшеты для тканей в среде для роста при 37°C и 5% CO₂. Каждые три-четыре дня клетки проходили суб-конфлюенцию (от 1:20 до 1:40 для sl2; от 1:3 до 1:10 для MZ24). Клетки были собраны и разбавлены средой для роста так, чтобы их можно было высадить в планшеты для микротитрования в концентрации 10,000-20,000 клеток (sl2) или 20,000-30,000 клеток (MZ24), на 100 мкл, на лунку. После этой процедуры клетки инкубировали там еще приблизительно 24-48 ч при 37° и 5% CO₂.

Через приблизительно 24-48 ч инкубации среду роста в планшетах для микротитрования заменили на среду для люциферазного анализа (100 мкл на ячейку), содержащую или не содержащую октилконъюгат белка Sonic hedgehog (в концентрации 0.1-0.3 мкг/мл (S12) или 0.5-1.0 мкг/мл (MZ24)) и исследуемые соединения. После этого клетки инкубировали еще 24 ч.

Планшеты для микротитрования были исследованы с помощью набора для люциферазного репортерного генного анализа (luciferase reporter gene assay kit (LucLite(tm))), причем в предлагаемую изготовителем процедуру было внесено изменение, согласно которому среда удалялась, а субстрат замещался 1:1 PBS/Ca/Mg лизирующим буфером, а не прямым лизирующим буфером. Кратко, буфер PBS/Ca/Mg смешивали с лизирующим буфером в отношении 1:1 и в каждый сосуд для субстрата (из набора на 1000 анализов) добавляли по 10 мл этой смеси. После этого из планшета для микротитрования удаляли среду для анализа и в каждую лунку добавляли по 100 мкл этой субстратной смеси. Планшеты затем инкубировали 20-30 мин при комнатной температуре и измеряли относительные световые единицы (Relative Light Units (RLU)), соответствующие относительному уровню экспрессии люциферазного репортерного гена. Измерения проводили на ридере Topcount reader (Packard) или Analyst reader (Molecular Devices). Изученные соединения настоящего изобретения продемонстрировали пониженный уровень экспрессии GH репортерных клеточных линий, что говорит об ингибировании сигнального пути hedgehog.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Фармацевтическая композиция для лечения базальноклеточной карциномы, содержащая: фармацевтически эффективное количество соединения 2-хлоро-N-(4-хлоро-3-(пиридин-2-ил)фенил)-4-(метилсульфонил)бензамида, имеющего следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемой соли, и фармацевтически приемлемый носитель.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2