



(19) KG (11) 346 (13) C2

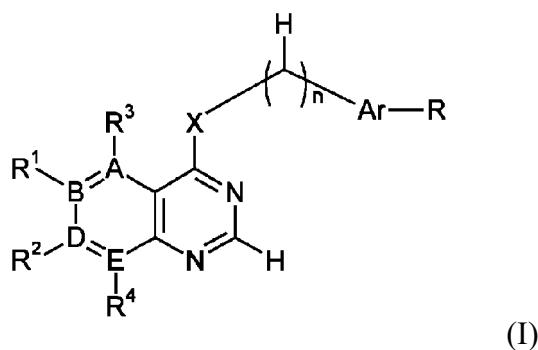
(51)⁷ C07D 471/04, 487/04, 495/04; A61K 31/519; A61P 35/00, 15/00 // (C07D 471/04, 239:00, 213:00) (C07D 487/04, 239:00) (C07D 495/04, 239:00, 333:00)

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО ПО НАУКЕ И
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики

- (21) 960515.1
 (22) 25.07.1996
 (31) 186735, 186745
 (32) 25.01.1994
 (33) US
 (86) PCT/US 95/00941 (23.01.1995)
 (46) 30.04.2002, Бюл. №4
 (71)(73) Варнер-Ламберт Компани (US)
 (72) Александр Джеймс Бриджес (US), Уиллиам Александр Дэнни (NZ), Дэвид Фрай (US), Аллан Крейкер (US), Роберт Майер (US), Гордон Уиллиам Рьюкастл (NZ), Эндрю Марк Томпсон (NZ)
 (56) SU 1493109 A, 1989
 DE 3824669 A, 1990
 WO 92/20642 A1, 1992
 EP 0520722 A1, 1992
 EP 0496617 A1, 1992
 EP 0566226 A1, 1993
 EP 0414386 A1, 1996
 (54) Способы ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста, бициклические производные пиримидина, фармацевтическая композиция, обладающая ингибирующей тирозинкиназу рецептора эпидермального фактора роста активностью, и композиция, обладающая контрацептивным действием
 (57) Описываются способы ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста при лечении мlekопитающего путем введения мlekопитающему бициклического производного пиримидина общей формулы (I)



где

R - R⁴, A, B, D, E, Ar и n имеют указанные в формуле изобретения значения, или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве. Данные соединения могут также представлять собой активное вещество фармацевтической композиции, обладающей ингибирующей тирозинкиназу рецептора эпидермального фактора роста активностью и композиции, обладающей контрацептивным действием. 82 пр., 6 н.п. и 50 з.п. ф-лы, 17 ил.

Настоящее изобретение относится к области ингибиования протеинкиназы, более конкретно к способам ингибиования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста, новым бициклическим производным пиримидина, фармацевтической композиции, обладающей ингибирующей тирозинкиназу рецептора эпидермального фактора роста активностью, и композиции, обладающей контрацептивным действием.

Поверхностные клеточные рецепторы семейства тирозинкиназных рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR) играют роль в ряде заболеваний, например, раковых заболеваний. Это семейство состоит из EGF рецептора (также называемого Erb-B1), Erb-B2 рецептора и его существенно активного онкопротеинового мутанта Neu, Erb-B3 рецептора и Erb-B4 рецептора. EGFR имеет в качестве наиболее важных лигандов эпидермальный фактор роста (EGF) и трансформирующий фактор роста альфа (TGF альфа). По-видимому, рецепторы проявляют только минимальные функции у взрослых людей, но возможно вовлекаются в процесс заболевания в значительной части всех видов рака, особенно рака ободочной кишки и груди. Близкородственные рецепторы Erb-B2, Erb-B3 и Erb-B4 имеют в качестве основных лигандов семейство герегулинов, а рецептор сверхэкспрессии и мутации был четко определен как основной фактор риска при плохом прогнозе рака груди. Кроме того, также было показано, что все четыре члена этого семейства рецепторов могут образовывать гетеродимерные сигнальные комплексы с другими членами семейства и что это может привести к синергической трансформирующей способности, если более одного члена семейства проявляет сверхэкспрессию при злокачественной опухоли. Сверхэкспрессия более чем одного члена семейства, как было показано, является относительно обычной для злокачественных опухолей у людей. Пролиферативное заболевание кожи псориаз в настоящее время не может успешно лечиться. Его часто лечат противораковыми средствами, такими как метотрексат, который имеет очень серьезные побочные эффекты и который является не очень эффективным при ограниченных токсичностью дозах, которые могут быть использованы. Полагают, что TGF альфа является основным фактором роста, сверхпродуцирующим при псориазе, поскольку у 50 % трансгенных мышей, которые сверхэкспрессируют TGF альфа, развивается псориаз. Это наводит на мысль, что хороший ингибитор EGFR сигнализации может быть использован в качестве противопсориазного средства, предпочтительно, но не обязательно, при местном дозировании. EGF является мощным митогеном для клеток почечных канальцев. Четырехкратное увеличение как EGF секреции мочи, так и EGF и мРНК было отмечено у мышей на ранней стадии диабета, вызванного стрептозойцином. Кроме того, повышенная экспрессия EGFR была отмечена у пациентов с пролиферативным гломерулонефритом

(Roychaudhury и др., Pathology, 1993, 25, 327). Сообщалось, что хронический панкреатит коррелирует с большим увеличением экспрессии как EGFR, так и TGF альфа. (Korc и др., 1994, 35, 1468). У пациентов с более серьезной формой заболевания, обычно при увеличении верхней части поджелудочной железы, также была показана сверхэкспрессия Erb-B2 рецептора (Friess и др., Ann. Surg. 1994, 220, 183).

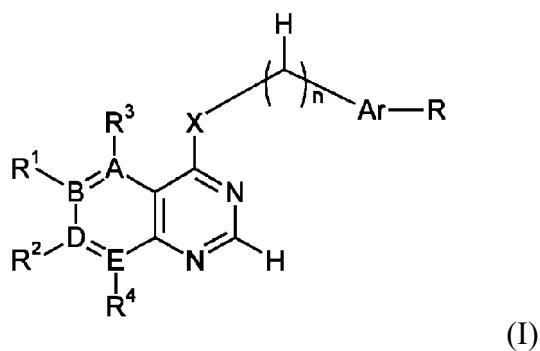
В процессах созревания бластоцита, имплантации бластоцита в маточный эндометриум и в других случаях переимплантации ткани матки продуцируют EGF и TGF альфа (Taga Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi, 1992, 44, 939), имеют повышенные уровни EGFR (Brown и др., Endocrinology, 1989, 124, 2882) и легко могут быть индуцированы на продуцирование гепарин-связывающих EGF за счет близости развивающегося, но не прекратившего развития бластоцита (Das и др., Development, 1994, 120, 1071). В свою очередь, бластоцит имеет достаточно высокий уровень TGF альфа и EGFR экспрессии (Adamson, Mol. Reprod. Dev., 1990, 27, 16). Хирургическое удаление подчелюстных желез, основного участка секреции EGF в организме, и лечение анти-EGFR моноклональными антителами, обе меры значительно снижают fertильность мышей (Tsutsumi и др., J. Endocrinology, 1993, 138, 437) за счет успешного снижения имплантации бластоцита.

Известны бис-, моно- и бициклические ариловые и гетероариловые соединения, которые можно применять для ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста и/или рецептора фактора роста тромбоцитов (см. заявку WO 92/20642, кл. C07C 43/21; A61K 31/44, 31/50, 31/495, 1992).

Задачей изобретения является расширение арсенала возможностей ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста, например, Erb-b2, Erb-b3 или Erb-b4.

Поставленная задача решается нижеописанными объектами.

Первым объектом изобретения является способ ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста при лечении млекопитающего путем введения млекопитающему бициклического производного, который заключается в том, что в качестве бициклического производного используют бициклическое производное пиримидина общей формулы (I)



где 1 - 2 из радикалов А - Е означает азот, а остальные радикалы углерод, или два смежных радикала А - Е вместе представляют гетероатом из группы азот, сера, при этом А - Е вместе с прилегающими атомами углерода означают пиридиновое, пиридининовое, тиенильное, пиррольное, имидазольное кольцо,

Х - группы NH, NHR⁵, где R⁵ означает низший алкил с 1 - 4 атомами углерода, n - 0, 1 или 2,

R - отсутствует или означает водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алcoxил с 1 - 4 атомами углерода, нитрогруппу, галоген, перфторалкил с 1 - 4 атомами углерода, гидроксил, аминогруппа, моно- или диалкиламиногруппа с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе,

Ar - фенил, тиенил,

R^1 , R^2 , R^3 и R^4 независимо друг от друга отсутствуют или означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алcoxил с 1 - 4 атомами углерода, ацилокси с 1 - 4 атомами углерода, аминогруппу, моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, ациламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода, при этом а) по крайней мере, один из радикалов R^1 - R^4 имеет значение, отличное от водорода, низшего алкила с 1 - 4 атомами углерода или алcoxила с 1 - 4 атомами углерода; б) если Е и В означают азот, D и A - углерод, R^1 и R^4 отсутствуют, R^3 - водород, X - NH, n - 0, 1 или 2, Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - тиенил, то R^2 имеет значение, отличное от водорода, амино или моно- или диалкиламиногруппы с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части, или его фармацевтически приемлемую соль в эффективном количестве.

Предпочтительные признаки предлагаемого способа включены в подпункты 2 - 50 формулы изобретения.

Вторым объектом изобретения являются бициклические производные пиримидина вышеприведенной формулы (I), где R - R^4 , X, Ar, A, B, D, Е и n имеют вышеуказанные значения, при этом а) по крайней мере один из радикалов R^1 - R^4 имеет значение, отличное от водорода, низшего алкила с 1 - 4 атомами углерода или алcoxила с 1 - 4 атомами углерода, б) если Е и В означают азот, D и A - углерод, R^1 и R^4 отсутствуют, R^3 - водород, X - NH, n - 0, 1 или 2, Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - тиенил, то R^2 имеет значение, отличное от водорода, амино или моно- или диалкиламиногруппы с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части, их отдельные стереоизомеры, рацемат или смесь диастереомеров или их фармацевтические соли или гидраты.

Предпочтительными бициклическими производными пиримидина формулы (I) являются соединения, выбранные из группы, включающей 6-амино-4-(3-броманилино)пиридо[3,2-d]пиримидин; 4-(3-броманилино)-6-метиламино-пиридо[3,2-d]пиримидин; 4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,2-d]пиримидин; 7-амино-4-(3-нитроанилино)пиридо[4,3-d]пиримидин; 7-амино-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пиримидин; 7-амино-4-(4-броманилино)пиридо[4,3-d]пиримидин; 7-амино-4-(3-трифто-роме-тиланилино)пиридо[4,3-d]пиримидин; 7-ацетиламино-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пиримидин; 7-ацетамидо-4-бензиламинопиридо[4,3-d]пиримидин; 4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,4-d]пиримидин.

Третьим объектом изобретения является фармацевтическая композиция, обладающая ингибирующей тирозинкиназу рецептора эпидермального фактора роста активностью, которая в смеси с фармацевтически приемлемым эксципиентом, разбавителем или носителем включает бициклическое производное пиримидина вышеприведенной общей формулы (I) или его фармацевтическую соль в эффективном количестве.

Четвертым объектом изобретения является способ ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста при лечении раковых заболеваний, псориаза, панкреатита или почечных заболеваний путем введения млекопитающему бициклического производного пиримидина вышеприведенной общей формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве. Данный способ может также применяться при лечении псориаза, панкреатита или почечных заболеваний.

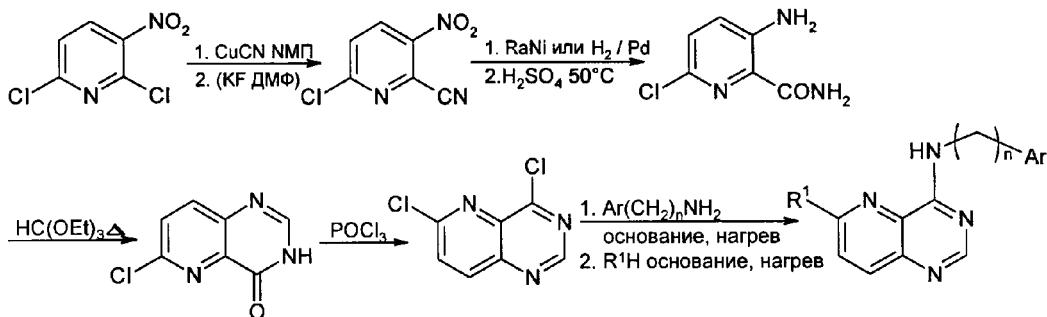
Пятым объектом изобретения является способ ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста для предотвращения имплантации бластоцита путем введения млекопитающему бициклического производного пиримидина вышеприведенной общей формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве.

Шестым объектом изобретения является композиция, обладающая контрацептивным действием, которая включает в смеси с контрацептивно приемлемым эксципиентом,

разбавителем или носителем бициклическое производное пиримидина вышеупомянутой общей формулы (I) или его фармацевтическую соль в эффективном количестве.

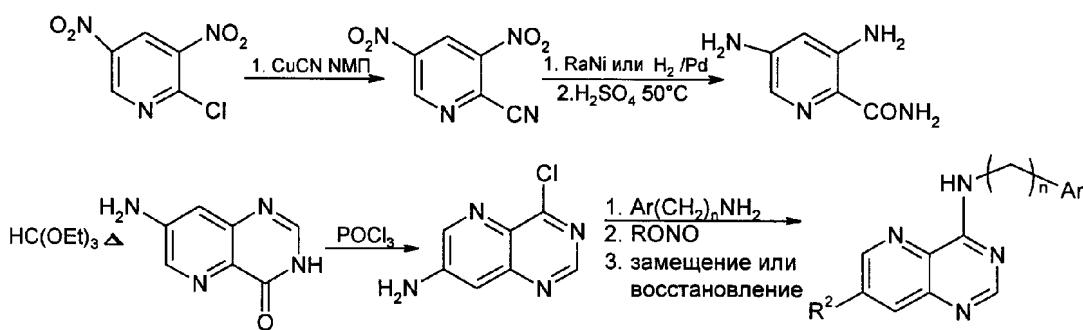
Бициклические производные пиримидина вышеупомянутой общей формулы (I) можно получать известными способами, например, представленными на следующих схемах I - XIX, в которых Ar означает замещенный фенил или тиенил.

Схема I



Замещение 2-хлора в 2,6-дихлор-3-нитропиридине проводят с помощью цианида одновалентной меди в N-метил-2-пирролидоне (NМП). Замещение второго хлора в этом нитриле на фторид на этой стадии может быть предпочтительным. Затем проводят мягкое восстановление нитрогруппы в условиях, когда галоген не гидролизуется. Гидролиз нитрила с последующей кристаллизацией ортоформиата и хлорирование по типу Вильсмейера приводят к дигалогенпиримидопиридину. Замещение более реактивного 4-хлора на соответствующий амин проводят после замещения 6-галогена на соответствующий нуклеофил для образования конечных продуктов. Данным способом можно получать также соединения, у которых один из R¹ или R² означает водород, а другой является низшим алcoxилом; или один из R¹ или R² является водородом, а другой - аминогруппой; или один из R¹ или R² означает водород, а другой является низшей моно- или диалкиламиногруппой; или один из R¹ или R² означает водород, а другой - низший алкил.

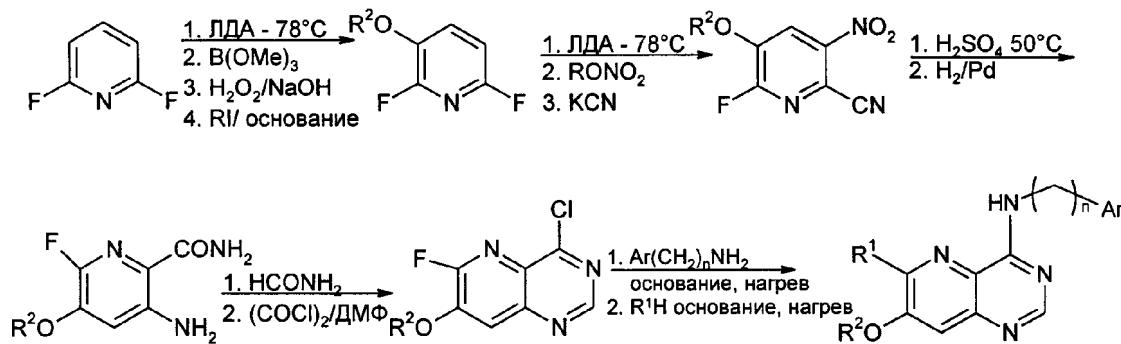
Схема II



Замещение хлора в 2-хлор-3,5-динитропиридине проводят с помощью цианида меди в NМП. Восстановление нитрогрупп в аминогруппы проводят после гидролиза нитрила в амид. Его циклизируют в пиримидон с помощью ортоформиата, который превращают в хлорид с помощью хлорангидрида ортофосфорной кислоты, или при желании превращают в тиометильное производное путем обработки пентасульфидом фосфора, потом метилюодидом и мягким основанием. Замещение соответствующим амином дает целевое 7-аминосоединение. Аминная функция может быть восстановительно алкилирована или активирована диазотированием аминогруппы в кислых или щелочных условиях,

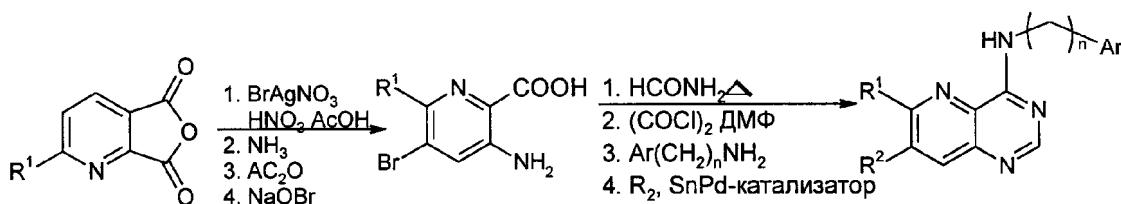
затем восстановлена в гидразид или превращена в низший алкил, простой эфир или в галоген при действии купрата или сочетанием Стилла по методикам, известным специалистам в данной области. Альтернативно, амин может быть восстановительно аминирован с образованием алкиламинной боковой цепи. Данным способом можно также получать соединения, упомянутые выше в связи с описанием схемы I.

Схема III



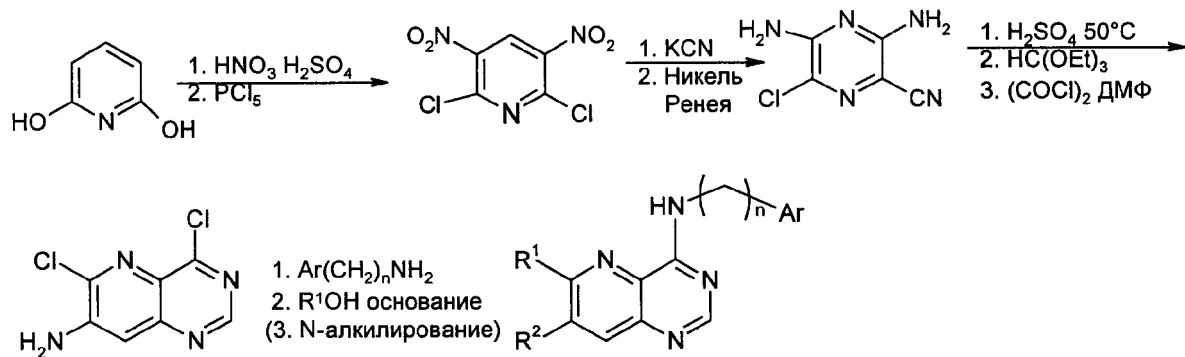
Обработка ЛДА (дизопропиламид лития) с последующей обработкой боратом/пероксидом водорода позволяет ввести 3-гидрокси-заместитель. Если пиридин подвергают 2-му металлированию в положении 4, спирт может быть защищен как ТИПС (триизопропилсilyловый) простой эфир, который будет вызывать второе металлирование в положении 5. Могут быть использованы альтернативные нитрования, такие как превращение литиевого промежуточного производного в станнан и обработка тетранитрометаном, или использование NO_2BF_4 (нитроний-тетрафторборат). С1 - замещение может быть проведено с использованием цианида одновалентной меди или других источников ионов цианида. После гидролиза нитрила и восстановления нитрогруппы может быть использован ортоформиат вместо формамида для циклизации, и возможно, что некоторые циклизации будут требовать замещения F на MeS перед реакцией. Положение 4 активируют хлорированием, а затем вводят амин с боковой цепью. Окончательное замещение может быть выполнено с помощью алкохсидных или аминных нуклеофилов. Данным способом можно также получать соединения, у которых R^1 и R^2 являются низшими алкохсилами; один из R^1 или R^2 означает аминогруппу, а другой является низшим алкохсилом; или один из R^1 или R^2 означает моно- или диалкиламиногруппу, а другой - низший алкохсил.

Схема IV



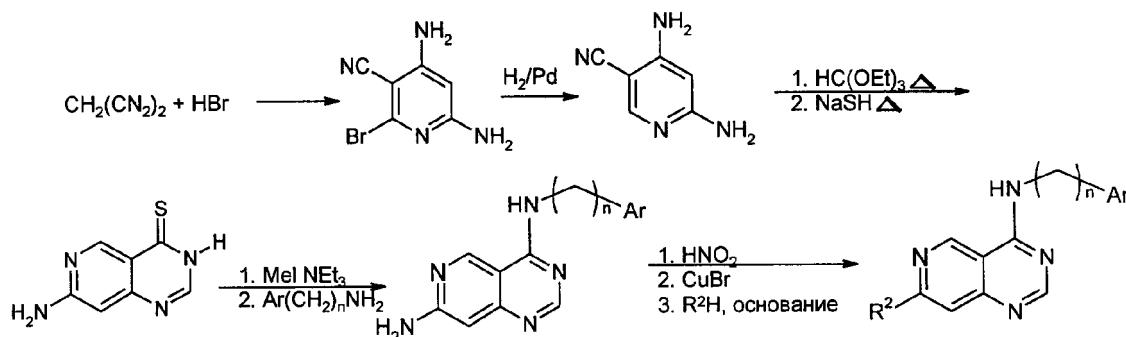
Применение 6-алкилхинальдиновой кислоты после ионного бромирования в жестких условиях дает ангидрид, который раскрывают аммиаком, рециклируют имид и затем проводят разложение по Гофману с потерей активного карбонила. Циклизацию и присоединение циклической боковой цепи обычным образом проводят путем сочетания по Стиллу для введения алкильной группы, радикала F и/или R^2 .

Схема V



Динитрование 2,6-диоксипиридина проводят для превращения в очень реактивное дихлорсоединение. Динитродихлорпиридин просто замещают цианидом одновалентной меди в НМП, а затем соединение восстанавливают в мягких условиях в диамин. Нитрил гидролизуют до амида, который затем циклизуют в пиридопиrimидон, который хлорируют обычным путем. Замещение более реактивного хлора в 4-боковой цепи проводят после замещения 6-хлора алcoxидом. Для получения соединений, у которых R^1 или R^2 означает моно- или диалкиламино, а другой - низший алcoxил, амин должен быть соответственно алкилирован по методикам, известным специалистам в данной области.

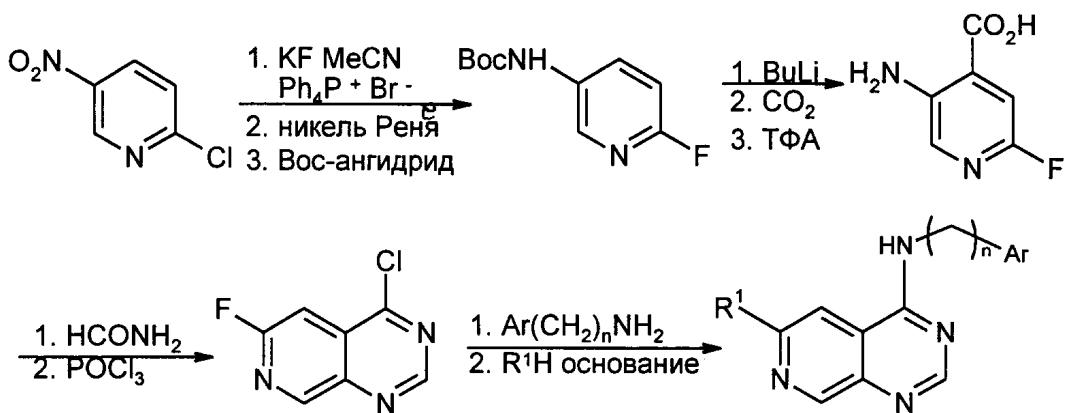
Схема VI



2,4-диамино-5-цианопиридин может быть циклизован непосредственно во многие производные 4-бензиламинопиридопиридина при обработке бензиламином и муравьиной кислотой при высокой температуре. Для менее нуклеофильных аминов 2,4-диамино-5-цианопиридин превращают путем обработки этилортоформиатом/уксусным ангидридом, последующей циклизацией с помощью гидросульфидиона в безводных условиях с получением 7-амино-4-тионо-3Н-пиридо[4,3-d]-пиридин-4-она. S-алкилирование и замещение соответствующим амином дают целевой продукт. Если R^2 не является аминогруппой, амин может быть ацилирован или восстановительно алкилирован. Альтернативно, 2,4-диамино-5-цианопиридин может быть гидролизован в соответствующий амид и эта группа может быть циклизована в 7-амино-4-оксо-3Н-пиридо[4,3-d]-пиридин с помощью ортоформиата. Диазотирование 7-аминогруппы и замещение фтором позволяют ввести другие аминные и алcoxидные нуклеофилы в конце синтеза, после того, как C_4 -заместитель был введен обычным образом. Диазотирование и замена аминогруппы бромом позволяют провести сочетания Стилла в положении 7.

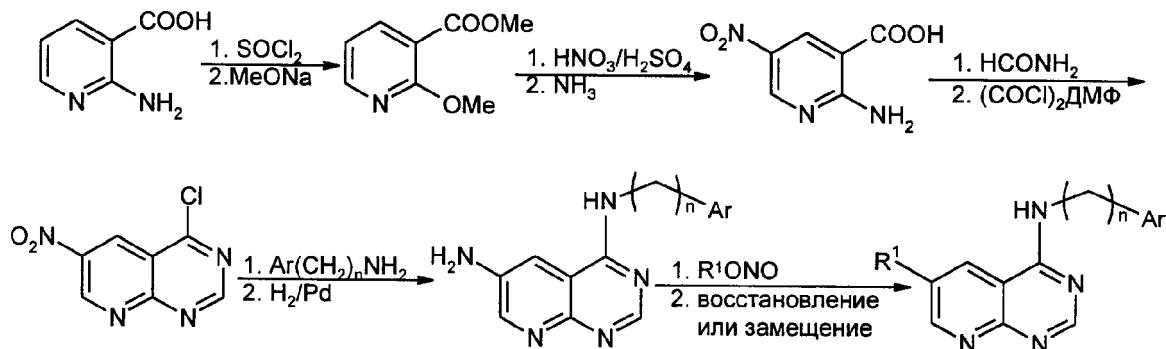
Данным способом можно получать соединения, у которых R^2 означает низший алкил, низший алcoxил, аминогруппу или низшую моно- или диалкиламиногруппу.

Схема VII



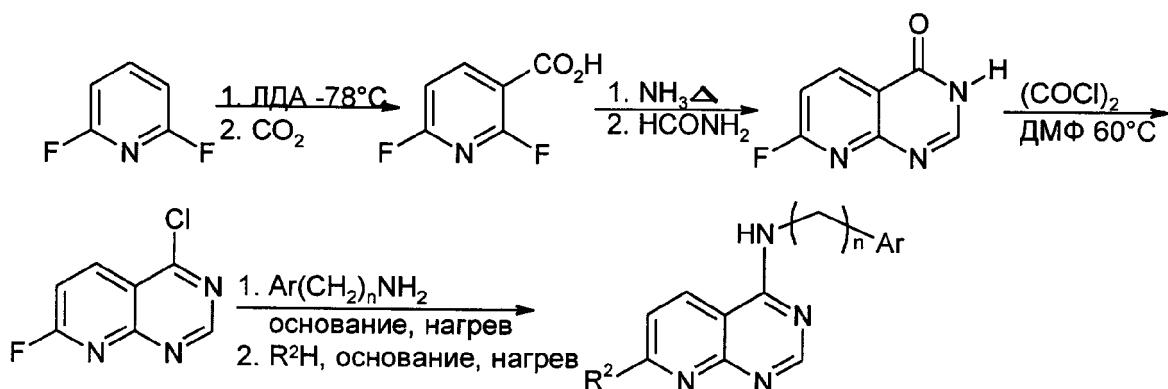
2-хлор-5-нитропиридин превращают в соответствующее 2-фторсоединение с помощью фторида калия в диметилсульфоксиде. Восстановление нитрогруппы с последующей обработкой Вос-ангидридом (Вос = трет. бутикарбонил) дает Вос-аминопроизводное, которое металлируют и карбоксилируют в 4-положении. Удаление Вос-группы с помощью трифторуксусной кислоты и циклизация пиримидонового цикла формамидом дают 6-фтор-4-оксо-3Н-пиридо[3,4-*d*]пиrimидин. Его хлорируют в положении 4 обычным образом и вводят 4-боковую цепь через замещение соответствующим амином. Замещение 6-фтора соответствующими нуклеофилами приводит к различным конечным продуктам. Если фтор замещают на тиометоксид, то он, в свою очередь, может быть замещен алкильными группами в катализируемых никелем замещениях Гриньяра. Таким способом можно получать соединения, у которых R¹ означает низший алкил или алcoxил, аминогруппу или низшую моно- или диалкиламиногруппу.

Схема VIII



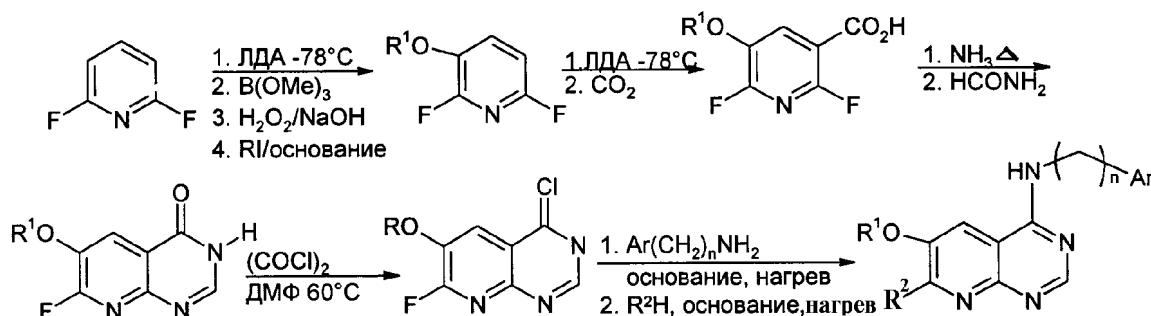
Нитрование 2-метоксиникотиновой кислоты с последующим замещением активированной метоксигруппы и циклизацией пиримидонового цикла можно проводить в одну стадию с помощью формамидина, или, альтернативно, в две стадии с помощью амиака с последующей циклизацией с помощью эквивалента формамида. Карбонил превращают в хлорид и замещают боковой цепью обычным способом, а затем селективно восстанавливают нитрогруппу в аминогруппу. Она может быть алкилирована, ацилирована или диазотирована. Диазосоединение может быть превращено в гидроксильное или в бромидное или иодидное соединения, и эти последние могут быть введены в реакцию сочетания Стилла для введения низшего алкила, алcoxила, аминогруппы, моно- или диалкиламиногруппы радикала R¹.

Схема IX



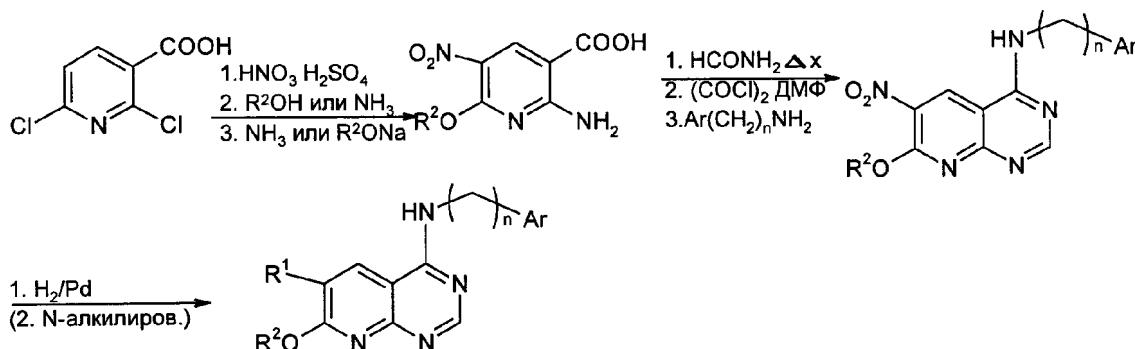
Этот путь использует известное металлирование и карбоксилирование 2,6-дифторпиридина с последующим замещением 2-фтор-заместителя. Циклизация пиридинового кольца с помощью формамида, последующее превращение карбонила в хлорид обычным способом дает хлорфторпиридопиридин. Арил(алкил)аминная боковая цепь вводится путем замещения более реактивного пиридинового хлора, затем вводят заместитель R^2 путем фторидного замещения. Для введения алкила используют замещение фтора алcoxидом, последний простой эфир расщепляют до пиридона, проводят О-трифлатирование и сочетание Стилла. Таким способом получают соединения, у которых R^2 означает низший алкил или алcoxил, аминогруппу, моно- или диалкиламиногруппу.

Схема X



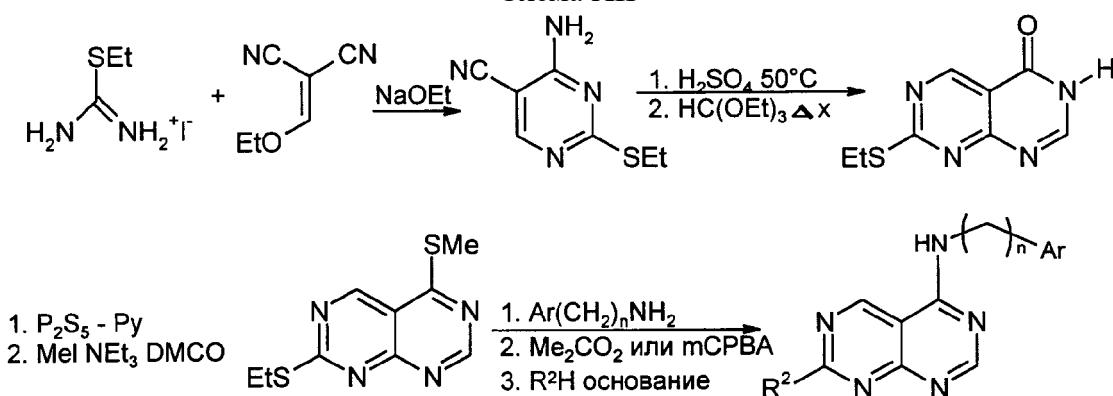
Эта схема основана на металлировании 2,6-дифторпиридина подобно схеме IX. Первое металлирование используют для введения кислорода, а второе - для введения карбоновой кислоты. Если требуется провести второе металлирование в положении 5, кислород может быть защищен как очень массивный ТИПС-простой эфир и может потребоваться более сильное основание, чем ЛДА. Аммиак вводят в положение 2 при высокой температуре и давлении, циклизуют пиридиновое кольцо, активируют в положении 4 обычным способом, а затем замещают в положении 4 боковой цепью. Замещение 7-фтор-заместителя соответствующим нуклеофилом, последующие превращения, как описано в предыдущих схемах, завершают синтез. Таким способом можно также получать соединения, у которых R^1 и R^2 означают низший алcoxил, или один из R^1 и R^2 означает аминогруппу, а другой является низшим алcoxилом, или один из R^1 или R^2 означает низшую моно- или диалкиламиногруппу, а другой означает низший алcoxил.

Схема XI



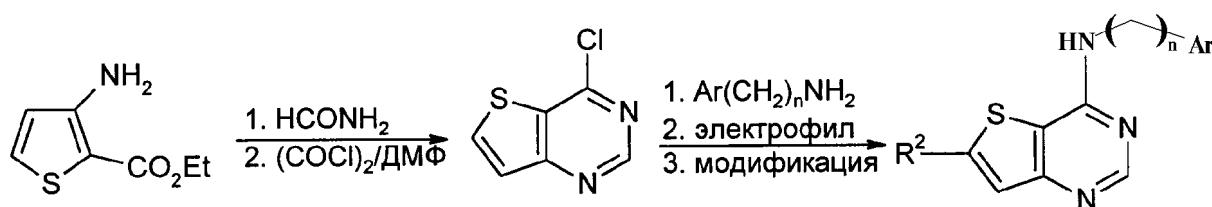
Нитрование коммерчески доступной дихлорникотиновой кислоты проводят путем селективного замещения более реактивного хлора в мягких условиях, а затем более жесткого замещения другого хлора в соответствующем порядке. Полученную в результате 6-алкокси-2-амино-5-нитроникотиновую кислоту циклизуют в пиримидон и превращают 4-карбонил в хлорид и замещают обычным образом на подходящий амин, получая 4-амино-7-алкокси-6-нитро-пиридо(2,3-d)пиридин. Восстановление нитрогруппы с последующим любым желаемым алкилированием дает целевые продукты.

Схема XII



Реакция подходящей S-алкилизотиурониевой соли с метоксиметилидиинмалононитрилом приводит к полностью функционализированному пиримидиновому предшественнику. Первоначально образовавшийся пиримидин может быть замещен по S-этильной группе на R² до или после гидролиза нитрила, если замещение или окисление позже оказывается проблематичным. Замещение S-этильной группы также может быть достигнуто без окисления для активации серы. Циклизацию второго пиримидинового цикла проводят после активации 4-карбонила осернением и алкилированием. Даже если 7-тиогруппа не была замещена в этот момент, предпочтительно происходит введение 4-аминобоковой цепи. Данным способом можно получать соединения, у которых R² означает низший алкоксил, низшуюmono- или dialкиламиногруппу или аминогруппу.

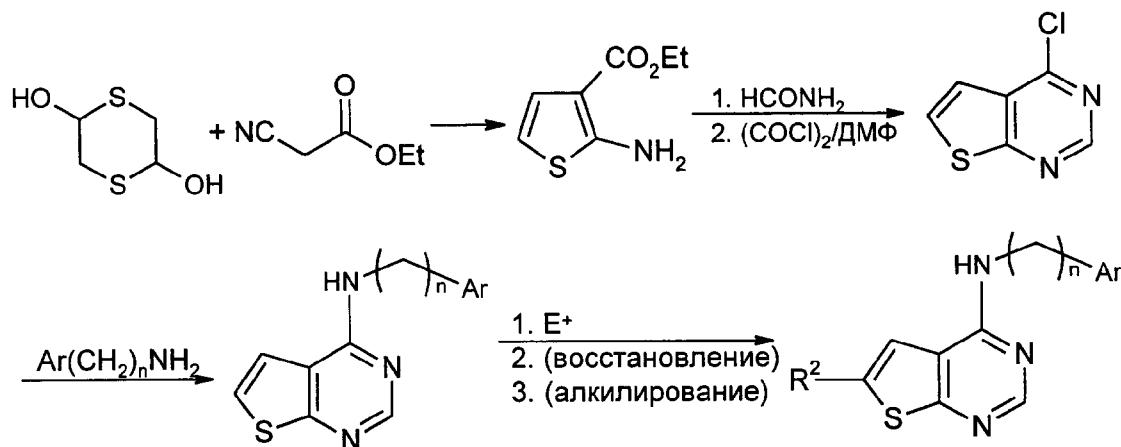
Схема XIII



3Н-тиено[3,2-d]пирамид-4-он может быть получен по стандартным методикам из коммерчески доступного этил-3-аминотиофенкарбоксилата и фор-мамида. Превращение карбонила в хлорид по стандартным методикам с последующим замещением подходящим амином дает целевые тиено[3,2-d]пирамиды. Если R² не является водородом, подходящий электрофил, например, нитрогруппа, для заместителей, основанных на аминогруппе или диазотированных производных, или бром для конечных продуктов, получаемых сочетанием Стилла, может быть введен на показанной или более ранней стадии, а затем превращен в R² путем восстановления или аминирования, например, или с помощью сочетания Стилла, или другими известными специалистам в данной области способами.

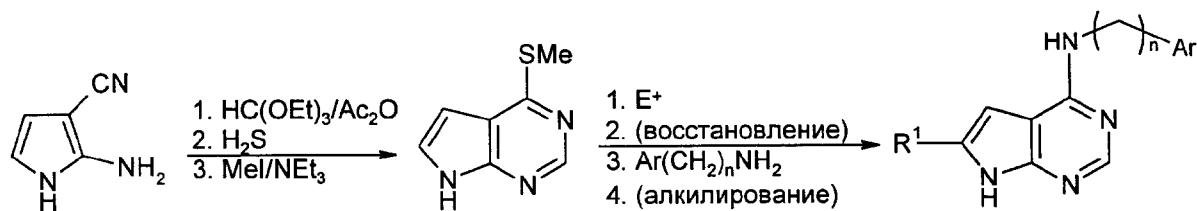
Данным способом можно также получать соединения, у которых А и В означают углерод, а D и E, взятые вместе, означают атом серы, R¹ или R² означают водород, низший алкил, низший алcoxил, амино или низшую моно- или диалкиламиногруппу.

Схема XIV



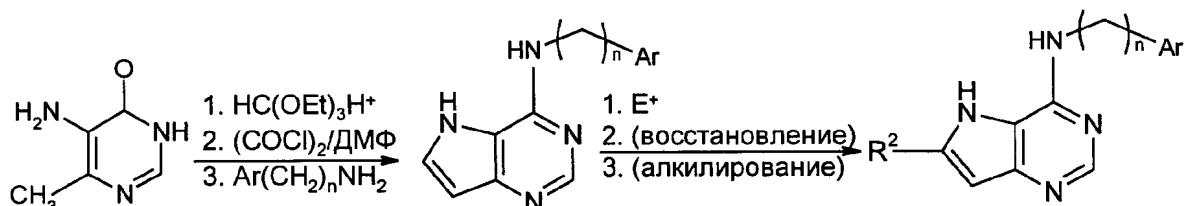
Тиено[2,3-d]пирамид-4-он получают путем синтеза Гриньара из 2,5-дитиана и этилцианоацетата с последующей циклизацией с формамидом. Превращение карбонила в хлорид по стандартным методикам с последующим замещением подходящим амином дает целевые тиено[2,3-d]пирамиды.

Схема XV



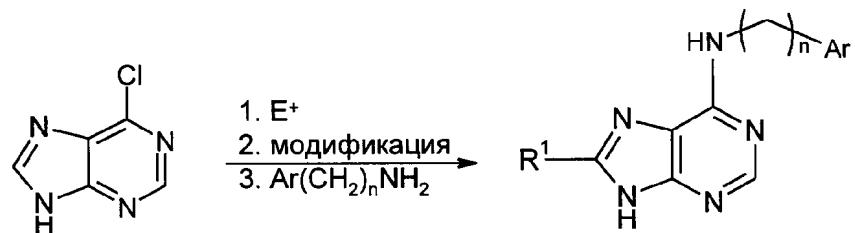
Для получения пирроло[2,3-*d*]пирамидина циклизируют пирамидиновый цикл в цианоаминопиррол известными способами. Активация и замещение тиола боковой цепью могут быть проведены до или после возможного электрофильного замещения пиррольного цикла. Данным способом можно также получать соединения, у которых А и В, взятые вместе, означают атом азота, а Д и Е означают углерод, R¹ или R² означают водород, низший алкил, низший алcoxил, аминогруппу или низшую моно- или диалкиламиногруппу.

Схема XVI



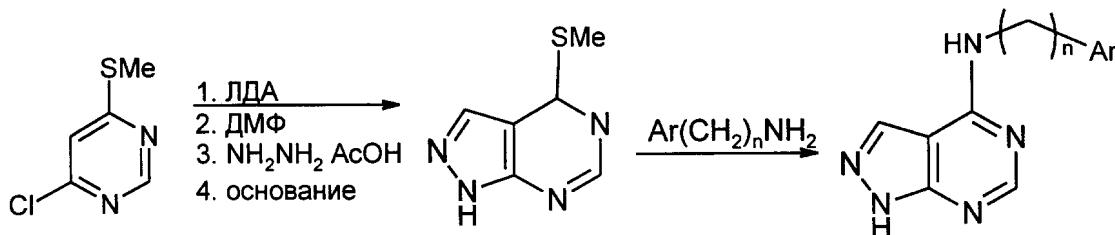
Получение пирроло[3,2-*d*]пирамидина проводится с помощью известной конденсации ортоформиата с подкисленной 4-метильной группой 6-пирамидонов с образованием пирролопирамидина, как показано выше. Боковая цепь может быть введена по стандартным методикам, таким как в схеме I, и заместитель R² может быть введен по стандартной методике в химии электрофильного замещения, как описано выше.

Схема XVII



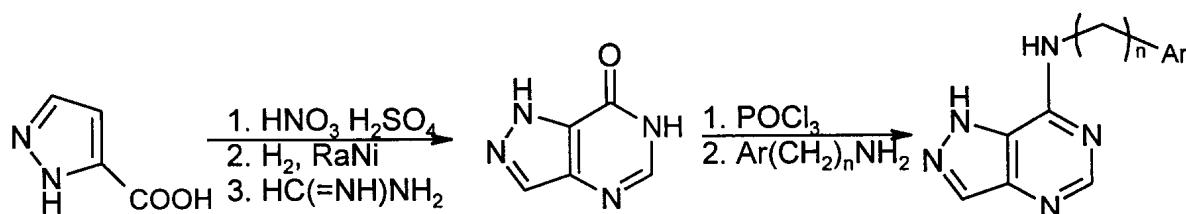
Эти соединения могут быть получены при непосредственном замещении галогена в соответствующих 6-хлорпуринах по хорошо известным из уровня техники методикам. Заместитель R¹ может быть введен путем легкого электрофильного замещения в активированном положении 8 пуринового цикла с последующими типами превращений, описанных в нижеприведенных примерах. Данным способом можно также получать соединения, у которых А и В, взятые вместе, означают атом азота, Д означает углерод, Е означает азот, R¹, R³ и/или R⁴ означают водород или низший алкил, а R² означает водород, низший алкил, низший алcoxил, аминогруппу или низшую моно- или диалкиламиногруппу.

Схема XVIII



Реакция 6-хлор-4-метилтиопири-мидина с ЛДА и потом с диметилформамидом дает соответствующий 5-альдегид, который обрабатывают гидразином, чтобы замкнуть цикл, получая 4-метилтиопиразоло[3,4-d]пиридин, при замещении которого соответствующим амином получают целевые производные пиразоло [3,4-d]пиридина. Данным способом можно получать соединения, у которых R^{1/4} означают водород, низший алкил, если находятся на азоте, или H, низший алкил, низший алcoxил, амино- или низшую моно- или dialкиламиногруппу, если находятся на углероде.

Схема XIX



Нитрование пиразол-3-карбоновой кислоты с последующим восстановлением приводит к 4-аминотиопиразол-3-карбоновой кислоте. Ее циклизируют в пиразоло[3,4-d]пирид-4-он с помощью солянокислого формамида и проводят замещение карбонила на галоид по стандартным методикам, затем замещают хлор на соответствующий амин, получая целевой пиразоло[4,3-d]пиридидин.

Получение бициклических производных пиридина вышеприведенной общей формулы (I) поясняется следующими примерами.

Пример 1

4-анилинопиридо[3,2-d]пиридидин мезилат

3Н-пиридо[3,2-d]пиридидин-4-он

Раствор 2.00 г (9.91 ммоля) 6-хлор-3-нитропиколинамида в 100 мл смеси этилацетата с метанолом (1:1) гидрируют на 0.40 г 5 %-го палладия-на-угле при 60 фунт/дюйм² [=4.219 кг/см²] в течение 6 дней с добавлением свежего катализатора через 2 и 4 дня. После удаления катализатора фильтрованием раствор концентрируют досуха, получают 3-аминопиколинамид в виде оранжевого масла, которое используют непосредственно на следующей стадии. Сырой продукт перемешивают при кипячении с обратным холодильником в 50 мл триэтилортормиата в течение 42 часов, в течение этого времени образуется каштановый осадок. После охлаждения твердый продукт отфильтровывают, тщательно промывают петролейным эфиром и сушат в вакууме, получают 1.27 г (87 %) 3Н-пиридо[3,2-d]пиридидин-4-онаст. пл. 343-345°C.

4-хлорпиридо[3,2-d]пиридидин

Суспензию 1.00 г (6.80 ммоля) указанного выше пиридидона в 30 мл хлорокиси фосфора кипятят с обратным холодильником в течение 4 часов, затем концентрируют досуха при пониженном давлении. Остаток распределяют между дихлорметаном и насыщенным раствором бикарбоната натрия, отделяют и обрабатывают органический слой, получают 0.97 г (86 %) 4-хлорпиридо[3,2-d] пиридидина в виде каштанового твердого

продукта, т. пл. 335°C (разложение), который используют без дополнительной характеристики.

4-анилинопиридо[3,2-d]пирамидин-мезилат

Раствор 84 мг 4-хлорпиридо[3,2-d]-пирамидина (0.5 ммоля), 56 мг (0.6 ммоля) анилина и 62 мг триэтиламина (0.6 ммоля) в 2 мл этанола кипятят с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 2 часов. Сырую реакционную смесь очищают пропартивной ТСХ (тонкослойная хроматография) на пластинах с диоксидом кремния, элюируют один раз 3 % метанола в хлороформе. Экстрагируют основную полосу и выпаривают досуха при пониженном давлении, твердый остаток растворяют в 5 мл ацетона, фильтруют и медленно при перемешивании прибавляют 32 мкл (0.5 ммоля) метансульфоновой кислоты. Остаток собирают фильтрованием, промывают ацетоном и сушат в вакуумной печи, получают 91 мг (57 %) 4-анилинопиридо[3,2-d]пирамидинмезилата в виде матовых желтых игл.

¹Н-ЯМР(диметилсульфоксид) δ: 11.75 (1Н, шир. с); 9.11 (1Н, дд, J = 1.5, 4.3 Гц); 8.97 (1Н, с); 8.32 (1Н, дд, J = 1.5; 8.4 Гц); 8.12 (1Н, дд, J = 4.3, 8.5 Гц); 7.88 (2Н, д, J = 8.2 Гц); 7.49 (2Н, т, J = 8.0 Гц); 7.32 (1Н, т, J = 7.0 Гц); 2.34 (3Н, с).

Пример 2

4-бензиламинопиридо[3,2-d]пирамидин

Раствор 0.10 г (0.60 ммоля) свежеприготовленного 4-хлорпиридо[3,2-d] пирамидина (полученного, как описано в предыдущем эксперименте) и 0.13 мл (1.20 ммоля) бензиламина в 15 мл пропан-2-ола, содержащий следы концентрированной соляной кислоты, нагревают в течение 30 минут при 50°C, затем концентрируют досуха. Остаток распределяют между водой и этилацетатом, органический слой отделяют и обрабатывают, хроматографируют на силикагеле. Этилацетат элюирует головную фракцию, тогда как смесь метанола с этилацетатом (1:9) элюирует 4-(бензиламино)пиридо[3,2-d]пирамидин (0.11 г, 77 %);

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.67 (1Н, с); 6.50 (1Н, дд, J = 4.3, 1.5 Гц); 8.10 (1Н, дд, J = 8.5, 1.5 Гц); 7.63 (1Н, дд, J = 8.8, 4.3 Гц); 7.55 (1Н, шир.); 7.41-7.29 (5Н, м); 4.86 (2Н, д, J = 5.9 Гц).

Пример 3

4-(3-броманилино)пиридо[3,2-d]пирамидин

Проводят реакцию полученного, как описано в предыдущем примере, хлорпиридо[3,2-d]пирамидина с 3-броманилином в пропан-2-оле, содержащем следы концентрированной соляной кислоты при 50°C в течение 30 минут, затем продукт хроматографируют на силикагеле и получают с выходом 87 % 4-(3-бромфенил) аминопиридо[3,2-d]пирамидин.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 9.19 (1Н, ш); 8.83 (1Н, с); 8.80 (1Н, дд, J = 4.3, 1.5 Гц); 8.29 (1Н, шир.); 8.19 (1Н, дд, J = 8.5, 1.5 Гц); 7.83 (1Н, м); 7.76 (1Н, дд, J = 8.5; 4.3 Гц); 7.29-7.27 (2Н, м).

Пример 4

4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,2-d]пирамидин

2-циано-6-фтор-3-нитропиридин

Смесь 10.0 г (0.054 моля) 6-хлор-2-циано-3-нитропиридина и 9.48 г (0.163 моля) фторида калия в 200 мл ацетонитрила кипятят с обратным холодильником в течение 18 ч при перемешивании, затем выливают в воду и экстрагируют этилацетатом. Экстракт промывают водой и обрабатывают, остаток хроматографируют на силикагеле, элюируют смесью этилацетата с петролейным эфиром (3:7), получают, после удаления растворителя при пониженном давлении, 7.2 г (79 %) 2-циано-6-фтор-3-нитропиридина.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.79 (1Н, дд, J = 9.0, 6.0 Гц); 7.48 (1Н, дд, J = 9.0, 3.0 Гц).

6-фтор-3-нитропиридин-2-карбоксамид

Раствор 1.40 г 2-циано-6-фтор-3-нитропиридина (8.39 ммоля) в 30 мл 90 %-й серной кислоты нагревают при 70°C в течение 90 мин, затем охлаждают, выливают на лед и подщелачивают концентрированным аммиаком. Экстракция этилацетатом и обработка дают 0.94 г (61 %) 6-фтор-3-нитропиридин-2-карбоксамида.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.70 (1Н, дд, J = 8.9, 6.5 Гц); 8.30 и 8.03 (1Н, 1Н шир. с); 7.62 (1Н, дд, J = 8.9, 2.9 Гц).

6-фтор-3Н-пиридо[3,2-d]пиридин-4-он

Раствор 1.50 г (8.10 ммоля) 6-фтор-3-нитропиридин-2-карбоксамида в этилацетате гидрируют на 5 %-м палладии-на-угле (0.30 г) при 60 фунт/дюйм² (= 4.219 кг/см²) в течение 2 часов. После удаления катализатора фильтрованием растворитель отгоняют при пониженном давлении, получают остаток сырого 3-амино-6-фторпиридин-2-карбоксамида, который используют непосредственно на следующей стадии. Добавляют 60 мл триэтилортормиата, после чего смесь нагревают и кипятят с обратным холодильником при перемешивании в течение 18 часов. Охлажденную смесь разбавляют равным объемом петролейного эфира, полученный осадок собирают фильтрованием и тщательно промывают петролейным эфиром, получают 6-фтор-3Н-пиридо[3,2-d]пиридин-4-он (1.26 г, 84 %).

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.72 (1Н, шир. с); 8.31 (1Н, дд, J = 8.6, 7.7 Гц); 8.20 (1Н, с); 7.66 (1Н, дд, J = 8.6, 3.0 Гц).

4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,2-d]пиридин

Суспензию 0.2 г (1.21 ммоля) 6-фтор-3Н-пиридо[3,2-d]пиридин-4-она в 30 мл хлорокиси фосфора кипятят с обратным холодильником при перемешивании до тех пор, пока она не станет гомогенной (2 часа), а затем еще 1 час. Удаляют избыток хлорокиси фосфора при пониженном давлении, остаток распределяют между дихлорметаном и насыщенным водным раствором дикарбоната натрия. Обработка органической части дает сырой 4-хлор-6-фторпиридо[3,2-d]пиридин (100 %) в виде нестабильного твердого продукта, который используют непосредственно на следующей стадии. Раствор 0.20 г (1.1 ммоля) 4-хлор-6-фторпиридо[3,2-d]пиридинина и 0.12 мл (2.18 ммоля) 3-броманилина в 20 мл пропанола-2, содержащего 1 каплю конц. соляной кислоты, кипятят с обратным холодильником в течение 15 минут, затем охлаждают, выливают в воду и экстрагируют этилацетатом. Экстракт обрабатывают и хромографируют остаток на силикагеле, элюируя смесью этилацетат/петролейный эфир (1:2); после удаления растворителя при пониженном давлении получают 0.18 г (52 %) 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,2-d] пиридинина.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.82 (1Н, с); 8.65 (1Н, шир. с); 8.31 (1Н, т, J = 7.4 Гц); 8.27 (1Н, шир. с); 7.77 (1Н, м); 7.41 (1Н, дд, J = 8.9, 2.2 Гц); 7.29 (2Н, шир. с).

Пример 5

4-(3-броманилино)-6-хлорпиридо [3,2-d]пиридин

6-хлор-3-нитропиколинамид

Раствор 1.00 г (5.45 ммоля) 6-хлор-3-нитропиколинонитрила в 15 мл 90 %-й серной кислоты нагревают при 70°C в течение 3,5 часов, а затем выливают в ледяную воду. Смесь экстрагируют четыре раза этилацетатом, а затем объединенные экстракты обрабатывают, получая 0.80 г (73 %) 6-хлор-3-нитропиколинамида.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.55 (1Н, д, J = 8.5 Гц); 8.31 и 8.04 (1Н, 1Н, 2 шир. с); 7.93 (1Н, д, J = 8.5 Гц).

6-хлор-3Н-пиридо[3,2-d]пиридин-4-он

Раствор 0.30 г 6-хлор-3-нитро-пиколинамида (1.49 ммоля) в 30 мл этилацетата гидрируют при 60 фунт/дюйм² (= 4.219 кг/см²) на 0.10 г 5 %-го палладия-на-угле в течение 20 минут. После удаления катализатора фильтрованием раствор концентрируют досуха, получают 3-амино-6-хлорпиколинамид в виде желтого масла, которое непосредственно используют на следующей стадии. Его растворяют в 30 мл триэтилортормиата, и смесь кипятят с обратным холодильником в течение 18 часов. Добавляют 30 мл петролейного эфира к охлажденному раствору, отфильтровывают полученный в результате осадок

сырого 6-хлор-3Н-пиридо [3,2-д] пиримидин-4-она 0.27 г (99 %) и сушат в вакуумной печи.

4-(3-броманилино)-6-хлорпиридо[3,2-д]пиримидин

Суспензию вышеуказанного хиназолона 0.20 г (1.10 ммоля) в 30 мл хлорокиси фосфора кипятят с обратным холодильником в течение 3 часов, затем концентрируют до суха при пониженном давлении. Остаток распределяют между дихлорметаном и насыщенным раствором бикарбоната натрия, обрабатывают органическую часть, получают 0.16 г (73 %) 4,6-дихлорпиридо[3,2-д]пиримидина в виде каштанового твердого продукта, который используют непосредственно на следующей стадии. Раствор 0.16 г (0.80 ммоля) сырого дихлорпириодопиримидина и 0.17 мл (1.60 ммоля) 3-броманилина в 25 мл пропанола-2, содержащего следы конц. соляной кислоты, нагревают при 50°C в течение 30 минут. Охлажденную смесь выливают в насыщенный раствор бикарбоната натрия и экстрагируют этилацетатом, экстракт обрабатывают и хроматографируют на силикагеле. Элюирование смесью этилацетата с петролейным эфиром (1:4) дает 3-броманилин, тогда как смесь этилацетат/петролейный эфир (1:1) элюирует 0.17 г (63 %) 4-(3-броманилино)-6-хлорпиридо[3,2-д]пиримидина.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.90 (1Н, шир. с); 8.84 (1Н, с); 8.30 (1Н, дд, J = 2.1, 2.20 Гц); 8.17 (1Н, д, J = 8.8 Гц); 7.82-7.78 (1Н, м); 7.73 (1Н, д, J = 8.8 Гц); 7.32-7.29 (2Н, м).

Пример 6

4-(3-броманилино)-6-аминопиридо[3,2-д]пиримидин

Реакция 0.12 г (0.38 ммоля) 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,2-д]пиримидина (описанного в предыдущем эксперименте) с насыщенным раствором аммиака в этаноле в сосуде под давлением при 100°C в течение 18 часов дает 87 мг (72 %) 6-амино-4-[3-броманилино]пиридо[3,2-д]пиримидина.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.76 (1Н, шир. с); 8.64 (1Н, с); 8.23 (1Н, шир. с); 7.93 (1Н, д, J = 9.0 Гц); 7.81 (1Н, дт, J_d = 7.7 Гц, J_t = 1.8 Гц); 7.28-7.22 (2Н, м); 7.00 (1Н, д, J = 9.0 Гц); 4.90 (2Н, шир. с).

Пример 7

4-(3-броманилино)-6-метиламинопиридо[3,2-д]пиримидин

Реакция 50 мг (0.16 ммоля) 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,2-д]пиримидина (описанного в предыдущем эксперименте) с 32 мг (0.47 ммоля) солянокислого метиламина и 70 мкл (0.55 ммоля) триэтиламина в 10 мл этанола в сосуде под давлением при 100°C в течение 18 часов приводит к 43 мг (81 %) 6-метиламино-4-(3-броманилино)пиридо[3,2-д]пиримидина.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.81 (1Н, шир. с); 8.61 (1Н, с); 8.19 (1Н, т, J = 1.8 Гц); 7.86 (1Н, д, J = 9.1 Гц); 7.83 (1Н, дт, J_d = 7.7 Гц, J_t = 1.8 Гц); 7.28-7.21 (2Н, м); 6.92 (1Н, к, J = 9.1 Гц); 4.97 (1Н, к, J = 5.0 Гц); 3.13 (3Н, к, J = 5.0 Гц).

Пример 8

4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,2-д]пиримидин

Смесь 0.15 г (0.47 ммоля) 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,2-д]пиримидина (описанного в предыдущем эксперименте), 0.11 г (1.41 ммоля) солянокислого диметиламина и 0.23 мл (1.64 ммоля) триэтиламина в 15 мл этанола нагревают в сосуде под давлением при 100°C в течение 18 часов. Растворитель отгоняют при пониженном давлении и распределяют остаток между этилацетатом и водой. Обрабатывают органическую часть и остаток хроматографируют на силикагеле. Элюирование этилацетатом/петролейным эфиром (1:1) дает головную фракцию, тогда как этилацетат элюирует 0.14 г (86 %) 4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,2-д]пиримидина.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.72 (1Н, шир. с); 8.56 (1Н, с); 8.17 (1Н, т, J = 1.9 Гц); 7.85 (1Н, д, J = 9.3 Гц); 7.77 (1Н, дт, J_d = 7.5 Гц, J_t = 1.9 Гц); 7.27-7.18 (2Н, м); 7.08 (1Н, д, J = 9.3 Гц); 3.21 (6Н, с).

Пример 9

4-(3-броманилино)-6-метоксипиридо[3,2-d]пиrimидин

Прибавляют 0.11 г (0.34 ммоля) 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,2-d] пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) к раствору метоксида натрия (приготовленному при добавлении металлического натрия 31 мг (1.38 ммоля) к 15 мл безводного метанола). После нагревания в сосуде под давлением при 90°C в течение 3 часов раствор концентрируют досуха, и остаток распределяют между этилацетатом и водой. Обработка органической части приводит к 92 мг (82 %) 4-(3-бромфенил)-амино-6-метоксипиридо[3,2-d]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (дейтер. хлороформ) δ: 8.73 (1Н, с); 8.66 (1Н, шир. с); 8.18 (1Н, м); 8.05 (1Н, д, J = 8.9 Гц); 7.83-7.80 (1Н, м); 7.30-7.24 (2Н, м); 7.23 (1Н, д, J = 8.9 Гц); 4.12 (3Н, с).

Пример 10

4-анилинопиридо[4,3-d]пиrimидин 4-N-трет.бутоксикарбониламино)пиридин

К смеси 2 г (21.24 ммоля) 4-аминопиридина, 3.57 г (63.72 ммоля) гидроксида калия, 10 мл воды и 4 мл 2-метил-2-пропанола на льду прибавляют 6.95 г (31.87 ммоля) дитрет.бутил-дикарбоната. Полученный в результате двухфазный раствор перемешивают при 25°C в течение 1 недели, затем прибавляют 20 мл воды. Раствор экстрагируют 1 раз метиленхлоридом и 2 раза этилацетатом. Органический слой сушат над сульфатом магния и концентрируют при пониженном давлении, получают 4.08 г (99 %) 4-(N-трет.бутоксикарбонил-амино)пиридина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.84 (1Н, с); 8.35 (2Н, д, J = 6 Гц); 7.44 (2Н, д, J = 7 Гц); 1.49 (9Н, с).

4-(N-трет.бутоксикарбонил-амино)никотиновая кислота

Медленно прибавляют 24 мл (2.18 М; 52.51 ммоля) н-бутиллита к раствору 4.08 г (21 ммоля) 4-(N-трет. бутоксикарбониламино)пиридина в 50 мл тетрагидрофурана при перемешивании в атмосфере азота при -78°C. Раствору дают нагреться до 0°C, перемешивают 3 часа, затем охлаждают снова до -78°C и выливают в 100 мл эфира, содержащего сухой лед. Раствор нагревают до комнатной температуры при постоянном перемешивании. Прибавляют воду и нейтрализуют смесь уксусной кислотой. Полученный твердый продукт собирают вакуумным фильтрованием и сушат в вакуумной печи, получают 2.72 г (54 %) 4-[N-трет.бутоксикарбониламино]никотиновой кислоты в виде коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 11.75 (1Н, шир. с); 8.95 (1Н, с); 8.50 (1Н, д, J = 6.0 Гц); 8.20 (1Н, д, J = 6.0 Гц); 1.49 (9Н, с).

4-аминоникотиновая кислота

Смесь 2.72 г (11.4 ммоля) 4-(N-трет.бутоксикарбониламино)никотиновой кислоты, 10 мл трифторуксусной кислоты и 20 мл метиленхлорида перемешивают при комнатной температуре в течение 12 часов. Отгоняют летучие компоненты при пониженном давлении и полученную в результате сырую 4-аминоникотиновую кислоту используют непосредственно в следующей реакции.

3Н-пиридо[4,3-d]пиrimидин-4-он

Нагревают 2.72 г (11.4 ммоля) сырой аминоникотиновой кислоты в 20 мл формамида при 170°C в течение 12 часов. Отгоняют летучие компоненты при пониженном давлении (0.8 мм рт. ст.). Твердый остаток затем очищают при среднем давлении на колонке с силикагелем, элюируя смесью 10 % метанола в хлороформе; получают 780 мг (47 %) 3Н-пиридо[4,3-d]пиrimидин-4-она в виде беловато-желтого твердого вещества.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.64 (1Н, шир. с); 9.28 (1Н, с); 8.83 (1Н, д, J = 5.5 Гц); 8.30 (1Н, с); 7.58 (1Н, д J = 5.8 Гц).

3Н-пиридо[4,3-d]пиrimидин-4-тион

Прибавляют 2.59 г (5.83 ммоля) пятысернистого фосфора к 780 мг (5.3 ммоля) 3Н-пиридо[4,3-d]пиrimидин-4-она в 5 мл пиридина. Смесь кипятят с обратным холодильником в течение 5 часов. При охлаждении образуется осадок и надосадочный слой сливают.

Твердый продукт суспензируют в 20 мл воды, а затем фильтруют, получают 676 мг (78 %) 3Н-пиридо[4,3-д]пиrimидин-4-тиона в виде черного твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 14.53 (1Н, шир. с); 9.65 (1Н, с); 8.84 (1Н, д, J = 7.0 Гц); 8.32 (1Н, с); 7.64 (1Н, д, J = 8.0 Гц).

4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидин

Перемешивают 12 часов при 25°C в атмосфере азота смесь 676 мг (4.14 ммоля) 3Н-пиридо[4,3-д]пиrimидин-4-тио-на, 1.4 мл (10.31 ммоля) триэтиламина, 4 мл диметилсульфоксида и 0.48 мл (7.72 ммоля) иодметана. Смесь выливают в воду и экстрагируют этил-ацетатом. Органические экстракты сушат над сульфатом магния, отгоняют растворитель при пониженном давлении, получают 1.15 г (выход количественный) 4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина в виде коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.52 (1Н, с); 9.16 (1Н, с); 8.95 (1Н, д, J = 6 Гц); 7.86 (1Н, д, J=8 Гц); 2.75 (1Н, с).

4-анилинопиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 174 мг (0.97 ммоля) 4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина и 186.2 мг (1.99 ммоля) анилина в 2 мл этанола кипятят с обратным холодильником в течение 12 часов. При охлаждении до 0°C образуется твердый продукт, который отфильтровывают; получают 34.5 мг (16 %) 4-анилинопиридо[4,3-д] пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.29 (1Н, шир. с); 9.86 (1Н, с); 8.82 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 8.72 (1Н, с); 7.85 (2Н, д, J = 7.5 Гц); 7.66 (1Н, д, J = 5.5 Гц); 7.45 (2Н, т, J =8.0 Гц); 7.23 (1Н, т, J=7.3 Гц).

Пример 11

4-(3-броманилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 171 мг (0.96 ммоля) 4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина, (см. предыдущий эксперимент) и 1 мл 3-броманилина нагревают при 100°C в течение 2 часов. При охлаждении осаждается твердый продукт, его собирают вакуумной фильтрацией, затем перекристаллизовывают из этанола, получая 30 мг (10 %) 4-(3-броманилино)пиридо[4,3-д]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.33 (1Н, с); 9.86 (1Н, с); 8.84 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 8.79 (1Н, с); 8.22 (1Н, с); 7.89 (1Н, д, J = 7.2 Гц); 7.69 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 7.40 (2Н, дт, J =8.0 и 1.5 Гц).

Пример 12

4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[4,3-д]пиrimидин 3-циано-4,6-диаминопиридин

Гидрируют 15.1 г (0.071 моля) сырого 2-бром-3-циано-4,6-диаминопиридина (см. также следующий эксперимент) в 200 мл смеси тетрагидрофуран/метанол (2:1), содержащей 7.0 г (0.071 моля) ацетата калия и 4 г 5 %-го палладия-на-угле при 55 фунт/дюйм² [=3.867 кг/см²] при 20°C в течение 7 дней. После фильтрации через целик, промывки смесью тетрагидрофурана/метанола и удаления растворителей получают твердый продукт, который растворяют в разбавленной соляной кислоте и воде. Устанавливают pH раствора = 10 с помощью концентрированного раствора гидроксида натрия и охлаждают, получают 6.58 г (69 %) 3-циано-4,6-диаминопиридина в виде твердого желтого продукта, т. пл. 197-198°C. При экстракции маточной жидкости 4 раза по 200 мл этилацетата получают дополнительно 2.12 г (22 %) продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 7.91 (1Н, с); 6.26 и 6.24 (2Н, 2Н, шир. с); 5.63 (1Н, с).

4,6-диамино-3-пиридилкарбоксамид

Прибавляют 4.30 г (0.032 моля) 3-циано-4,6-диаминопиридина к 25 мл 90 %-й серной кислоты, затем перемешивают при 60-70°C в течение 3 часов. Полученный раствор прибавляют к холодному концентрированному (40 %) раствору гидроксида натрия, получают смесь 4,6-диамино-3-пиридилкарбоксамида и неорганических солей. Аналитически

чистый образец получают путем хроматографии на оксиде алюминия (10-50 % метанола в хлороформе), получают светло-желтый твердый продукт.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.15 (1Н, с); 6.91 (2Н, шир. с); 7.7-6.3 (2Н, шир. м); 5.78 (2Н, шир. с); 5.56 (1Н, с).

7-Амино-4-оксо-3Н-пиридо[4,3-д] пирамидин

Нагревают 9.2 г сырого 4,6-диамино-3-пиридиликарбоксамида в очищенном триэтоксиметане (60 мл; перегнан над натрием) при 170°C в течение 1.5 дней. После удаления растворителя остаток растворяют в горячем 2M растворе гидроксида натрия, фильтруют, нейтрализуют конц. соляной кислотой и охлаждают, получают 3.57 г (69 % в расчете на нитрил) 7-амино-4-оксо-3Н-пиридо[4,3-д]пирамидина в виде светло-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 11.79 (1Н, шир. с); 8.74 (1Н, с); 7.79 (1Н, с); 6.67 (2Н, шир. с); 6.38 (1Н, с).

7-Фтор-4-оксо-3Н-пиридо[4,3-д] пирамидин

Раствор 1.00 г (6.17 ммоля) 7-амино-4-оксо-3Н-пиридо[4,3-д]пирамидина в 25 мл 60 %-й тетрафтороборной кислоты при 0°C обрабатывают 0.85 г (12.3 ммоля) твердого нитрита натрия, добавляемого порциями в течение 2-х часов, затем перемешивают при 0°C еще 1 час и при 20°C в течение 30 минут. Полученную смесь охлаждают на льду, нейтрализуют насыщенным водным раствором карбоната натрия и экстрагируют 4 раза по 100 мл этилацетата. Экстракт промывают водой, затем фильтруют через силикагель (этил-ацетат), получают 0.48 г (47 %) 7-фтор-4-оксо-3Н-пиридо[4,3-д]пирамидина в виде твердого крема.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.69 (1Н, шир. с); 9.01 (1Н, с); 8.31 (1Н, с); 7.34 (1Н, с).

4-(3-Броманилино)-7-фторпиридо [4,3-д]пирамидин

Суспензию 0.23 г (1.39 ммоля) 7-фтор-4-оксо-3Н-пиридо[4,3-д]пирамидина в 10 мл хлорокиси фосфора перемешивают при кипячении с обратным холодильником в течение 3.5 часов, затем концентрируют в вакууме. Полученное масло охлаждают на льду, разбавляют 100 мл метиленхлорида, 40 мл насыщенного водного раствора карбоната натрия и льдом, перемешивают 2 часа при 20°C. Отделяют метиленхлоридный экстракт и водную часть дополнительно экстрагируют 2 раза по 100 мл метиленхлорида, затем сушат объединенные экстракты над сульфатом натрия и фильтруют, получают сырой 4-хлор-7-фторпиридо[4,3-д]пирамидин. Прибавляют 1.26 г 3-броманилина (7.35 ммоля), 20 мг соляно-кислого 3-броманилина и 5 мл безводного изопропанола, затем полученный раствор концентрируют в вакууме, чтобы удалить метиленхлорид, и перемешивают 1 час при 20°C. При добавлении разбавленного раствора бикарбоната натрия и воды продукт кристаллизуется. После фильтрации, промывки водой и метиленхлоридом, получают 297 мг чистого 4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[4,3-д]пирамидина (67 %) в виде твердого крема.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.38 (1Н, шир. с); 9.59 (1Н, с); 8.72 (1Н, с); 8.17 (1Н, с); 7.85 (1Н, м); 7.38 (3Н, м).

Пример 13

7-Амино-4-анилинопиридо[4,3-д]пирамидин

4,6-диамино-2-бром-3-цианопиридин

Барботируют 2 часа бромистый водород в смесь 16.3 г малононитрила (0.247 моля) и 400 мл толуола при 0°C. Осаждается светло-коричневый продукт. Затем реакционную смесь нагревают 2 часа при 100°C, причем наблюдается интенсивное выделение газа. После охлаждения до комнатной температуры желтый твердый продукт отделяют фильтрованием, промывают толуолом и сушат на воздухе. Смешивают 25.96 г твердого продукта с 500 мл воды, устанавливают pH суспензии =9-10 добавлением 15 мл концентрированного аммиака. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа смесь фильтруют. При перекристаллизации из этанола получают твердый желтый продукт. По-

сле сушки при 60°C в вакуумной печи получают 12.95 г (49 %) 4,6-диамино-2-бром-3-цианопиридина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 6.67 (2Н, шир. с); 5.59 (1Н, с).

2,4-диамино-5-цианопиридиний-ацетат

Гидрируют 12.77 г (60 ммолей) 4,6-диамино-2-бром-3-цианопиридина в 240 мл смеси тетрагидрофуран/метанол (2:1), содержащей 5.9 г (60 ммолей) ацетата калия и 0.5 г 20 %-ного палладия-на-угле, при давлении 18 фунтов/дюйм² [=1.266 кг/см²] при 25°C в течение 4 часов. Смесь фильтруют через целин, и отгоняют растворитель при пониженном давлении; получают 11.15 г твердого продукта, который перемешивают со 100 мл тетрагидрофурана при комнатной температуре в течение 20 минут. Смесь снова фильтруют, и фильтрат выпаривают досуха, получая целевой продукт. После сушки в вакуумной печи собирают 10.65 г (92 %) 2,4-диамино-5-цианопиридинийацетата в виде желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 7.90 (1Н, с); 6.26 (4Н, шир. с); 5.62 (1Н, с); 1.90 (3Н, с).

7-амино-4-тионо-3Н-пиридо[4,3-д] пирамидин

Смесь 0.199 г (1.0 ммоль) 2,4-диамино-5-цианопиридинийацетата, 1.95 мл триэтилортормиата и 1.95 мл уксусного ангидрида кипятят с обратным холодильником в атмосфере азота при перемешивании в течение 3 часов. Затем отгоняют растворитель, и остаток растворяют в 10 мл метанола, содержащего 0.81 г (15 ммолей) метоксида натрия. Через смесь барботируют сероводород в течение 5 минут, затем смесь кипятят с обратным холодильником в течение ночи. После отгонки растворителя, остаток растворяют в горячей воде и кипятят с активированным углем. После фильтрации, нейтрализуют фильтрат уксусной кислотой, пока он еще горячий, чтобы вызвать образование желтого твердого продукта. После охлаждения собирают твердый продукт фильтрованием и сушат его в вакуумной печи в течение ночи. Выделяют 84 г (51 %) 7-амино-4-тионо-3Н-пиридо[4,3-д]пирамидина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.82 (1Н, с); 9.34 (1Н, с); (1Н, с); 8.37 (1Н, с); 7.80 (2Н, д, J = 7.5 Гц); 7.38 (2Н, т, J = 7.5 Гц); 7.12 (1Н, т, J = 7.5 Гц); 6.61 (2Н, шир. с); 6.43 (1Н, с).

7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д] пирамидин

Прибавляют 6 мл (43 ммоля) триэтиламина к раствору 0.77 г (4.3 ммоля) 7-амино-4-тионо-3Н-пиридо[4,3-д]пирамидина в 7 мл диметилсульфоксида при перемешивании в атмосфере азота при 25°C. После перемешивания двух фаз в течение 20 минут прибавляют 0.26 мл (4.2 ммоля) метилиодида. Через 2 часа реакционную смесь выливают при перемешивании в смесь воды со льдом. Мгновенно образуется твердый продукт. После дополнительного охлаждения при 0°C, отфильтровывают твердый продукт и сушат его в вакуумной печи, получая 0.564 г (68 %) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пирамидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.98 (1Н, с); 8.71 (1Н, с); 6.94 (2Н, шир. с); 6.49 (1Н, с); 2.63 (3Н, с).

7-амино-4-анилинопиридо[4,3-д] пирамидин

Смесь 0.136 г (0.7 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пирамидина и 0.5 мл (5.5 ммоля) анилина в атмосфере азота кипятят с обратным холодильником при 180°C в течение 2 часов. Реакционную смесь охлаждают до 25°C, при этом образуется осадок. Твердый продукт отфильтровывают и перекристаллизовывают из изопропанола, сушат в вакуумной печи в течение ночи. Выделяют 84 мг (51 %) 7-амино-4-анилинопиридо[4,3-д]пирамидина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.82 (1Н, с); 9.34 (1Н, с); 8.37 (1Н, с); 7.80 (2Н, д, J = 7.5 Гц); 7.38 (2Н, т, J = 7.5 Гц); 7.12 (1Н, т, J = 7.5 Гц); 6.61 (2Н, шир. с); 6.43 (1Н, с).

Пример 14

7-амино-4-(3-гидроксианилино) пиридо[4,3-д]пирамидин

Смесь 299 мг (1.56 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина и 1.60 г (14.7 ммоля) 3-аминофенола перемешивают при 160°C в течение 15 минут. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (9 % метанола/метиленхлорид), получают 108 мг (18 %) 7-амино-4-(3-гидроксианилино)пиридо[4,3-d]пирамидина в виде светло-оранжевого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.69 (1Н, с); 9.44 (1Н, шир. с); 9.33 (1Н, с); 8.38 (1Н, с); 7.37 (1Н, т, J = 2.1 Гц); 7.21 (1Н, шир. д, J = 8.4 Гц); 7.14 (1Н, т, J = 8.0 Гц); 6.59 (2Н, шир. с); 6.53 (1Н, дд, J = 7.9, 2.2 и 0.8 Гц); 6.43 (1Н, с).

Пример 15

7-амино-4-(3-метоксианилино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 226 мг (1.18 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 1.00 мл (8.90 ммоля) м-ани-зидина перемешивают в атмосфере азота при 190°C в течение 1.5 часов. Полученный продукт хроматографируют на силикагеле (5-7 % этанола/этилацетат), получают 136 мг (43 %) 7-амино-4-(3-метоксианилино)пиридо[4,3-d]пирамидина в виде светло-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.78 (1Н, шир. с); 9.34 (1Н, с); 8.40 (1Н, с); 7.50 (1Н, шир. с); 7.44 (1Н, д, J = 8.0 Гц); 7.28 (1Н, т, J = 8.2 Гц); 6.71 (1Н, дд, J = 8.2 и 2.3 Гц); 6.61 (2Н, шир. с); 6.45 (1Н, с); 3.77 (3Н, с).

Пример 16

7-амино-4-(2-метоксианилино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 227 мг (1.18 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина и 1.00 мл (8.87 ммоля) о-анизидина перемешивают в атмосфере азота при 180°C в течение 2.5 часов. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (5 % этанола/этилацетат), получают 147 мг (47 %) 7-амино-4-(2-метоксианилино)пиридо[4,3-d]пирамидина в виде желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.44 (1Н, шир. с); 9.25 (1Н, с); 8.22 (1Н, с); 7.54 (1Н, дд, J = 7.7 и 1.4 Гц); 7.24 (1Н, дд, J = 8.1, 7.4 и 1.5 Гц); 7.10 (1Н, дд, J = 8.2 и 1.2 Гц); 6.98 (1Н, дт, J = 1.3, 7.5 Гц); 6.52 (2Н, шир. с); 6.41 (1Н, с); 3.79 (3Н, с).

Пример 17

7-амино-4-(3-аминоанилино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 307 мг (1.60 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 2.00 г (14.5 ммоля) 3-нитроанилина перемешивают при 200°C в течение 1.5 часов и суспендируют сырой продукт в 250 мл смеси метанол/тетрагидрофуран (4:1), гидрируют на 2 г 5 %-го палладия-на-угле при давлении 60 фунт/дюйм² [= 4.219 кг/см²] и 20°C в течение 24 часов. Раствор фильтруют через целик, тщательно промывают горячим метанолом и затем абсорбируют оксидом алюминия и хроматографируют на оксиде алюминия (4-8 % этанола/хлороформ), чтобы получить 66 мг (16 %) 7-амино-4-(3-аминоанилино)пиридо[4,3-d]пирамидина в виде зеленого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.57 (1Н, шир. с); 8.33 (1Н, с); 7.04 (1Н, т, J = 2.0 Гц); 6.99 (1Н, т, J = 8.0 Гц); 6.88 (1Н, шир. д, J = 8.0 Гц); 6.55 (2Н, шир. с); 6.40 (1Н, с); 6.34 (1Н, дд, J = 7.9 и 1.3 Гц); 5.10 (2Н, шир. с).

Пример 18

7-амино-4-(4-аминоанилино)пиридо[4,3-d]пирамидин

7-амино-4-(4-ацетамидоанилино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 138 мг (0.72 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина и 1.50 г (10.0 ммоля) 4-аминоацетанилида перемешивают в атмосфере азота при 200°C в течение 1 часа. Полученный продукт хроматографируют на оксиде алюминия (8-10 % метанол/метиленхлорид); получают 110 мг (52 %) 7-амино-4-(4-ацетамидоанилино)пиридо[4,3-d]пирамидина в виде светло-желтого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.94, 9.79 (1Н, 1Н, 2 шир. с); 9.31 (1Н, с); 8.34 (1Н, с); 7.69 (2Н, д, J = 8.9 Гц); 7.57 (2Н, д, J = 8.9 Гц); 6.57 (2Н, шир. с); 6.43 (1Н, с); 2.05 (3Н, с).

7-амино-4-(4-аминоанилино) пиридо[4,3-д]пиrimидин

Раствор 0.30 г (1.02 ммоля) 7-амино-4-(4-ацетамидоанилино) пиридо [4,3-д]пиrimидина в 10 мл 2М водного раствора гидроксида натрия и 10 мл метанола перемешивают при 100°C в течение 7 часов. Полученный в результате продукт хроматографируют на оксиде алюминия (3-4 % этанола/хлороформ), получают 86 мг (33 %) 7-амино-4-(4-аминоанилино)пиридо[4,3-д]пиrimидина в виде оранжевого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.58 (1Н, с); 9.24 (1Н, с); 8.25 (1Н, с); 7.31 (2Н, д, J = 8.6 Гц); 6.58 (2Н, д, J = 8.6 Гц); 6.48 (2Н, шир. с); 6.39 (1Н, с); 5.00 (2Н, шир. с).

Пример 19

7-амино-4-(3-диметиламиноанилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 245 мг (1.28 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 1.60 г (11.8 ммоля) N,N-диметил-1,3-фенилендиамина перемешивают в атмосфере азота при 190°C в течение 1 часа и хроматографируют полученный продукт (дважды) на оксиде алюминия (3 % этанола/хлороформ), получают 113 мг (32 %) 7-амино-4-(3-диметиламиноанилино)пиридо[4,3-д] пиrimидина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.66 (1Н, шир. с); 9.33 (1Н, с); 8.36 (1Н, с); 7.22 (1Н, шир. д, J = 7.8 Гц); 7.16 (2Н, м); 6.57 (2Н, шир. с); 6.51 (1Н, дд, J = 8.0, 2.3 и 1.2 Гц); 6.42 (1Н, с); 2.91 (6Н, с).

Пример 20

7-амино-4-(4-диметиламиноанилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 256 мг (1.33 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина и 1.95 г (14.4 ммоля) N,N-диметил-1,4-фенилендиамина перемешивают в атмосфере азота при 190°C в течение 20 минут. Полученный в результате продукт хроматографируют на оксиде алюминия (3-7 % этанола/хлороформ), получают 198 мг (53 %) 7-амино-4-(4-диметиламиноанилино)пиридо[4,3-д]пиrimидина в виде оранжевого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.67 (1Н, шир. с); 9.27 (1Н, с); 8.27 (1Н, с); 7.51 (2Н, д, J = 8.9 Гц); 6.75 (2Н, д, J = 8.9 Гц); 6.51 (2Н, шир. с); 6.39 (1Н, с); 2.89 (6Н, с).

Пример 21

7-амино-4(2-нитроанилино)пиридо [4,3-д]пиrimидин

Смесь 220 мг (1.15 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина и 2.00 г (14.5 ммоля) 2-нитроанилина нагревают до 100°C, затем в горячий раствор при перемешивании вводят избыток сухого газообразного хлористого водорода и перемешивают смесь при 160°C в течение 20 минут. Полученный в результате продукт нейтрализуют избытком бикарбоната натрия, растворенного в смеси метанола с хлороформом, сушат над силикагелем и хроматографируют на силикагеле (2-4 % метанола/метиленхлорид); получают 108 мг (33 %) 7-амино-4-(2-нитро-анилино)пиридо[4,3-д]пиrimидина в виде желто-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.40 (1Н, шир. с); 8.20 (1Н, шир. с); 8.12 (1Н, шир. с); 8.01 (2Н, шир. с); 7.75 (1Н, шир. с); 6.70 (2Н, шир. с); 6.43 (1Н, шир. с).

Пример 22

7-амино-4-(3-нитроанилино) пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 127 мг (0.66 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 1.70 г (12.3 ммоля) 3-нитроанилина перемешивают в атмосфере азота при 200°C в течение 1.5 часов. Полученный в результате продукт хроматографируют на оксиде алюминия (5-20 % этанола/ хлороформ); получают 81 мг (39 %) 7-амино-4-(3-нитроанилино)пиридо[4,3-д] пиrimидина в виде коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.17 (1Н, шир. с); 9.37 (1Н, с); 8.87 (1Н, шир. с); 8.48 (1Н, с); 8.33 (1Н, шир. д, J = 7.5 Гц); 7.95 (1Н, дд, J = 8.2, 2.1 и 1.0 Гц); 7.67 (1Н, т, J = 8.2 Гц); 6.70 (2Н, шир. с); 6.47 (1Н, с).

Пример 23

7-амино-4-(3-фторанилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 215 мг (1.12 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина и 1.16 г (10.4 ммоля) 3-фторанилина перемешивают при 160°C в течение 30 минут. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (6-7 % метанола/метилен-хлорид), получают 185 мг (65 %) 7-амино-4-(3-фторанилино) пиридо[4,3-д] пиrimидина в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.94 (1Н, шир. с); 9.36 (1Н, с); 8.46 (1Н, с); 7.91 (1Н, шир. д, J = 11.9 Гц); 7.63 (1Н, шир. д, J = 8.1 Гц); 7.41 (1Н, дд, J = 15.7 и 7.7 Гц); 6.93 (1Н, дт, J = 8.5 Гц, J = 2.4 Гц); 6.68 (2Н, шир. с); 6.38 (1Н, с).

Пример 24

7-амино-4-(3-хлоранилино)пиридо [4,3-д]пиrimидин

Смесь 208 мг (1.08 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]-пиrimидина и 1.21 г (9.48 ммоля) 3-хлоранилина перемешивают при 150°C в течение 20 минут. Полученный в результате продукт хроматографируют на оксиде алюминия (5-10 % метанола/метилен-хлорид); получают 177 мг (60 %) 7-амино-4-(3-хлоранилино)пиридо[4,3-д] пиrimидина в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.92 (1Н, шир. с); 9.35 (1Н, с); 8.45 (1Н, с); 8.08 (1Н, шир. с); 7.79 (1Н, шир. д, J = 8.0 Гц); 7.40 (1Н, т, J = 8.1 Гц); 7.16 (1Н, дд, J = 7.9 и 1.3 Гц); 6.68 (2Н, шир. с); 6.46 (1Н, с).

Пример 25

7-амино-4-(3,4-дихлоранилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 247 мг (1.29 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина и 1.50 г (9.26 ммоля) 3,4-дихлоранилина перемешивают при 165°C в течение 30 минут. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (7-8 % метанола/метиленхлорид); получают 252 мг (64 %) 7-амино-4-(3,4-дихлоранилино) пиридо[4,3-д]пиrimидина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.97 (1Н, шир. с); 9.34 (1Н, с); 8.47 (1Н, с); 8.29 (1Н, шир. с); 7.86 (1Н, шир. д, J = 8.6 Гц); 7.62 (1Н, д, J = 8.8 Гц); 6.70 (2Н, шир. с); 6.46 (1Н, с).

Пример 26

7-амино-4-(2-броманилино)пиридо [4,3-д]пиrimидин

Смесь 198 мг (1.03 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 1.00 мл (9.18 ммоля) 2-броманилина перемешивают в атмосфере азота при 180°C в течение 2.5 часов; полученный продукт хроматографируют на оксиде алюминия (1 % этанола/хлороформ); получают 108 мг (33 %) 7-амино-4-(2-броманилино)пиридо[3,4-д] пиrimидина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.91 (1Н, шир. с); 9.27 (1Н, с); 8.20 (1Н, с); 7.73 (1Н, д, J = 7.9 Гц); 7.50 (1Н, м); 7.44 (1Н, т, J = 6.9 Гц); 7.25 (1Н, м); 6.59 (2Н, шир. с); 6.42 (1Н, с).

Пример 27

7-амино-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 167 мг (0.87 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 0.75 мл (7.8 ммоля) 3-броманилина перемешивают в атмосфере азота при 190°C в течение 2.5 часов и перекристаллизовывают образовавшийся при охлаждении осадок из изопропанола.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.91 (1Н, шир. с); 9.34 (1Н, с); 8.45 (1Н, с); 8.19 (1Н, с); 7.84 (1Н, д, J = 8.0 Гц); 7.34 (1Н, т, J = 8.0 Гц); 7.29 (1Н, д, J = 8.2 Гц); 6.68 (2Н, шир. с); 6.45 (1Н, с).

Пример 28

7-амино-4-(4-броманилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 264 мг (1.36 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина и 1.00 г (5.81 ммоля) 4-броманилина перемешивают в атмосфере азота при 200°C в течение 15 минут. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (10-15 % этанола/этилацетат), получают 200 мг (46 %) 7-амино-4-(4-броманилино)пиридо[4,3-д]пиrimидина в виде светло-желтого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.88 (1Н, шир. с); 9.34 (1Н, с); 8.40 (1Н, с); 7.83 (2Н, д, J = 8.8 Гц); 7.55 (2Н, д, J = 8.8 Гц); 6.64 (2Н, шир. с); 6.44 (1Н, с).

Пример 29

7-амино-4-(3-иоданилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 72 мг (0.37 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина и 1.25 г (5.71 ммоля) 3-иоданилина перемешивают при 160°C в течение 30 минут. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (5-7 % метанола/ метиленхлорид); получают 83 мг (61 %) 7-амино-4-(3-иоданилино)пиридо[4,3-д] пиrimидина в виде светло-коричневых розеток.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.84 (1Н, шир. с); 9.34 (1Н, с); 8.44 (1Н, с); 8.30 (1Н, шир. с); 7.90 (1Н, дд, J = 7.9 и 0.8 Гц); 7.47 (1Н, д, J = 7.7 Гц); 7.18 (1Н, т, J = 8.0 Гц); 6.66 (2Н, шир. с); 6.46 (1Н, с).

Пример 30

7-амино-4-(2-трифторметиланилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 300 мг (1.56 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина, 1.00 г (5.06 ммоля) соляно-кислого 2-аминобензотрифторида и 2.00 г (12.4 ммоля) 2-аминобензотрифторида перемешивают при 160°C в течение 10 минут. Полученный в результате продукт нейтрализуют избытком бикарбоната натрия, растворяют в смеси метанола с хлороформом, сушат над силикагелем и хроматографируют на силикагеле (6-7 % метанола/ метиленхлорид), получают 194 мг (41 %) 7-амино-4-(2-трифторметиланилино)пиридо[4,3-д]пиrimидина в виде твердого крема; т. пл. (метанол/хлороформ/петролейный эфир) = 126-130°C (разложение).

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.60 (1Н, шир. с); 9.17 (1Н, шир. с); 8.13 (1Н, шир. с); 7.76 и 7.69 (1Н, 1Н, м, м); 7.45 (2Н, м); 6.66 (2Н, шир. с); 6.36 (1Н, с).

Пример 31

7-амино-4-(3-трифторметиланилино)пиридо[4,3-д] пиrimидин

Смесь 234 мг (1.22 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 3-аминобензотрифторида 2 мл (16.0 ммоль) перемешивают в атмосфере азота при 190-200°C в течение 2 часов, затем полученный продукт хроматографируют на силикагеле (5-10 % этанола/этилацетат), и затем на оксиде алюминия (5-7 % этанола/хлороформ), получают 157 мг (42 %) 7-амино-4-(3-трифторметиланилино)пиридо[4,3-д]пиrimидина в виде твердого крема.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.04 (1Н, с); 9.37 (1Н, с); 8.46 (1Н, с); 8.31 (1Н, с); 8.19 (1Н, д, J = 8.2 Гц); 7.62 (1Н, т, J = 8.0 Гц); 7.45 (1Н, д, J = 7.7 Гц); 6.69 (2Н, шир. с); 6.47 (1Н, с).

Пример 32

7-амино-4-(4-трифторметиланилино)пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 390 мг (2.03 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-д]пиrimидина, 0.40 г (2.02 ммоля) соляно-кислого 4-аминобензотрифторида и 1.61 г (10.0 молей) 4-аминобензотрифторида перемешивают в течение 2 минут при 180°C. Полученный продукт нейтрализуют избытком бикарбоната натрия, растворяют в смеси метанола с хлороформом,

сушат над оксидом алюминия и хроматографируют на оксиде алюминия (4-7 % метанола/хлороформ), получают 7-амино-4-(4-трифторметиламилино)пиридо[4,3-d] пирамидин (390 мг, 63 %) в виде твердого крема. Аналитически чистый материал получают при дополнительной хроматографии на силикагеле (5 % метанола/метиленхлорид), получают светло-желтые иглы.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.09 (1Н, шир. с); 9.40 (1Н, с); 8.48 (1Н, с); 8.13 (2Н, д, J = 8.2 Гц); 7.74 (2Н, д, J = 8.7 Гц); 6.72 (2Н, шир. с); 6.40 (1Н, с).

Пример 33

4-(3-броманилино)-7-метиламино-пиридо(4,3-d)пирамидин

Смесь 74 мг (0.23 ммоля) 7-фтор-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пирамидина, 7 мл (50 ммолей) триэтиламина и 3.0 г (44 ммоля) соляно-кислого метиламина в 30 мл изопропанола, находящуюся в стальном автоклаве, перемешивают при 95°C (масляная баня) в течение 5 часов. Полученную смесь концентрируют в вакууме, подщелачивают водным раствором карбоната натрия, разбавляют водой и экстрагируют 3 раза по 100 мл этилацетата. Хроматография этого экстракта на силикагеле (3 % метанола/метиленхлорид) дает 4-(3-броманилино)-7-метиламино-пиридо[4,3-d]пирамидин 50 мг (65 %) в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.93 (1Н, шир. с); 9.37 (1Н, с); 8.47 (1Н, с); 8.18 (1Н, с); 7.84 (1Н, д, J = 7.8 Гц); 7.34 (1Н, т, J = 7.9 Гц); 7.30 (1Н, шир. д, J = 8.1 Гц); 7.19 (1Н, к, J = 4.7 Гц); 6.35 (1Н, с); 2.85 (3Н, д, J = 4.8 Гц).

Пример 34

4-(3-броманилино)-7-диметиламино-пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 101 мг (0.32 ммоля) 7-фтор-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пирамидина, 4.4 мл триэтиламина (32 ммоля) и 2.58 г (32 ммоля) соляно-кислого диметиламина в 30 мл изопропанола, находящуюся в стальном автоклаве, перемешивают при 100°C (масляная баня) в течение 4 часов. Полученный раствор концентрируют в вакууме, подщелачивают водным раствором карбоната натрия и разбавляют водой, получают твердый продукт. После фильтрации и перекристаллизации из смеси метанола с хлороформом, получают 102 мг (94 %) 7-диметиламино-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пирамидина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.93 (1Н, шир. с); 9.42 (1Н, с); 8.48 (1Н, с); 8.19 (1Н, с); 7.85 (1Н, д, J = 7.7 Гц); 7.35 (1Н, т, J = 7.9 Гц); 7.30 (1Н, шир. д, J = 7.8 Гц); 6.53 (1Н, с); 3.16 (6Н, с).

Пример 35

4-[N-(3-бромфенил)-N-метиламино]-7-метиламино-пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 100 мг (0.31 ммоля) 7-фтор-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пирамидина, 4.4 мл (32 ммоля) триэтиламина и 2.12 г (32 ммоля) соляно-кислого метиламина в 30 мл изопропанола, находящуюся в стальном автоклаве, перемешивают при 100°C (масляная баня) в течение 5 часов. Полученную смесь концентрируют в вакууме, подщелачивают водным раствором карбоната натрия, разбавляют водой и экстрагируют 3 раза по 100 мл этилацетата. Хроматография этого экстракта на силикагеле (1-2 % метанола/метиленхлорид) дает 23 мг (21 %) 4-[N-(3-бромфенил)-N-метиламино]-7-метиламино-пиридо[4,3-d]пирамидина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ:

8.14 (1Н, с); 7.79 (1Н, с); 7.30 (1Н, т, J = 8.0 Гц); 7.20 (1Н, дод, J = 7.8, 1.8 и 0.8 Гц); 7.03 (1Н, шир. к, J = 4.9 Гц); 7.01 (1Н, т, J = 1.9 Гц); 6.82 (1Н, ддд, J = 7.8, 1.8 и 0.9 Гц); 6.25 (1Н, с); 3.40 (3Н, с); 2.73 (3Н, д, J = 4.9 Гц).

Пример 36

7-ацетиламино-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 0.154 г (0.49 ммоля) 7-амино-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пирамидина, 0.14 мл (1.5 ммоля) уксусного ангидрида, 0.14 мл триэтиламина (1.0 ммоль) и каталитического количества 4-(N,N-диметиламино)пиридина перемешивают в атмосфере азота при

комнатной температуре в течение 18 часов. Затем реакцию прекращают добавлением воды со льдом. Собирают темный осадок фильтрованием на воронке Бюхнера и очищают preparativной TCX ($R_t = 0.25$; 7 % метанола/хлороформ). При перекристаллизации из этанола получают 13.5 мг (7.7 %) 7-ацетиламино-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пириимицина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ : 10.92 (1H, с); 10.22 (1H, с); 9.64 (1H, с); 8.70 (1H, с); 8.28 (1H, с); 8.21 (1H, с); 7.88 (1H, д, $J = 7.7$ Гц); 7.41-7.34 (3H, м); 2.16 (3H, с).

Пример 37

4-(3-броманилино)-7-метоксилипо[4,3-d]пириимицин

Раствор 100 мг (0.31 ммоля) 7-фтор-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пириимицина в 30 мл 1М раствора метоксида натрия в метаноле перемешивают при кипячении с обратным холодильником в течение 42 часов. Полученную смесь концентрируют при пониженном давлении, разбавляют водой и нейтрализуют разбавленной соляной кислотой, получают 92 мг (89 %) 7-метокси-4-(3-броманилино) пиридо[4,3-d]пириимицина в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ : 10.22 (1H, шир. с); 9.57 (1H, с); 8.63 (1H, с); 8.19 (1H, с); 7.86 (1H, шир. д, $J = 7.9$ Гц); 7.39 (1H, т, $J = 7.9$ Гц); 7.35 (1H, дд, $J = 7.9$ и 1.5 Гц); 6.96 (1H, с); 4.00 (3H, с).

Пример 38

4-бензиламинопиридо[4,3-d]пириимицин

Смесь 160.4 мг (0.902 ммоля) 4-метилтиопиридо[4,3-d]пириимицина и 106.3 мг (0.992 ммоля) бензиламина в 2 мл этанола нагревают при 80°C в течение 12 часов, затем растворитель отгоняют при пониженном давлении. Полученный в результате твердый продукт суспендируют в метиленхлориде, фильтруют и полученный в результате твердый продукт очищают preparativной TCX на силикагеле, элюируя 5 % метанола в хлороформе. После удаления растворителя при пониженном давлении получают 36 мг (17 %) 4-бензиламинопиридо[4,3-d]пириимицина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ : 9.60 (1H, с); 9.37 (1H, т, $J = 5.8$ Гц); 8.72 (1H, д, $J = 5.8$ Гц); 8.57 (1H, с); 7.54 (1H, д, $J = 5.8$ Гц); 7.37 (2H, д, $J = 7.0$ Гц); 7.33 (2H, т, $J = 7.3$ Гц); 7.25 (1H, т, $J = 7.2$ Гц); 4.81 (2H, д, $J = 5.8$ Гц).

Пример 39

К смеси 85 мг (0.48 ммоля) 4-метилтиопиридо[4,3-d]пириимицина и 2.5 мл этанола приливают 0.13 мл (1.0 ммоль) R-метилбензиламина. Полученную смесь кипятят с обратным холодильником при 80°C в течение 20 часов. Удаляют растворитель при пониженном давлении, получают масло, которое кристаллизуют из метанола, получают 41.6 мг (35 %) 4-([R]-1-фенилэтиламино)пиридо[4,3-d]пириимицина; т. пл. 138-138.5°C.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ : 9.77 (1H, д, $J = 0.7$ Гц); 9.00 (1H, д, $J = 7.7$ Гц); 8.73 (1H, д, $J = 5.8$ Гц); 8.54 (1H, с); 7.53 (1H, дд, $J = 5.8$ и 0.5 Гц); 7.45 (2H, д, $J = 7.2$ Гц); 7.33 (1H, т, $J = 7.6$ Гц); 7.23 (1H, тт, $J = 7.5$ и 1.2 Гц); 5.63 (1H, п, $J = 7.2$ Гц); 1.61 (3H, т, $J = 7.0$ Гц).

Пример 40

7-амино-4-бензиламинопиридо[4,3-d]пириимицин

Смесь 8.78 г (45 ммолей) 2,4-диамино-5-цианопиридинийацетата, 10.66 г, 0.204 моля) муравьиной кислоты и 45 мл (0.41 моля) бензиламина нагревают при 200°C в атмосфере азота в течение 2 часов. При охлаждении она затвердевает. Прибавляют 500 мл воды и перемешивают смесь (твердая смола/вода) в течение 20 минут при 0°C. Жидкость декантируют. Твердый продукт промывают водой, затем перекристаллизовывают из 25 мл изопропанола. После сушки в вакуумной печи в течение ночи получают 8.29 г (73 %) 7-амино-2-бензиламинопиридо[4,3-d]пириимицина в виде светло-желтого твердого вещества.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.10 (1Н, с); 8.85 (1Н, т, J = 5.8 Гц); 8.25 (1Н, с); 7.21-7.36 (5Н, м); 6.46 (2Н, шир. с); 6.35 (1Н, с); 4.74 (2Н, д, J = 6.0 Гц).

Пример 41

7-амино-4-[R]-1-фенилэтиламино)пиридо[4,3-d]пиrimидин

Смесь 0.072 мл (0.55 ммоля) [R]-1-фенилэтиламина и 97 мг (0.5 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) нагревают при 180°C в атмосфере азота в течение 1.5 часов. Затем охлаждают реакционную смесь до комнатной температуры, получая осадок. Смесь прибавляют к воде и хлороформу, обрабатывают ультразвуком и фильтруют. Разделяют фазы и водную фазу экстрагируют хлороформом. Объединенные экстракты промывают водой, рассолом и сушат над сульфатом магния. Отгоняют растворитель при пониженном давлении и очищают остаток с помощью препаративной ТСХ (5 % метанола в хлороформе) и перекристаллизации из хлороформа, получают 14.5 мг (11 %) 7-амино-4-([R]-1-фенилэтиламино)пиридо[4,3-d]пиrimидина; т. пл. 231.8-232.1°C.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.23 (1Н, с); 8.50 (1Н, д, J = 8.0 Гц); 8.19 (1Н, с); 7.41 (2Н, д, J = 7.0 Гц); 7.31 (2Н, т, J = 8.0 Гц); 7.21 (1Н, тт, J = 7.4 и 1.2 Гц); 6.45 (2Н, с); 6.33 (1Н, с); 5.56 (1Н, п, J = 7.2 Гц); 1.55 (3Н, д, J = 7.0 Гц).

Пример 42

7-амино-4-(2-аминобензиламино)пиридо[4,3-d]пиrimидин

Смесь 136 мг (0.71 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 1.70 г (13.8 ммоля) в 5 мл изопропанола перемешивают при кипячении с обратным холодильником в течение 1 часа, полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (7-20 % этанола в этилацетате) и оксиде алюминия (6-10 % этанола/хлороформ), получают 89 мг (47 %) 7-амино-4-(2-аминобензиламино)пиридо [4,3-d]пиrimидина в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.08 (1Н, с); 8.68 (1Н, т, J = 5.8 Гц); 8.26 (1Н, с); 7.05 (1Н, д, J = 7.4 Гц); 6.96 (1Н, т, J = 7.6 Гц); 6.63 (1Н, д, J = 7.9 Гц); 6.51 (1Н, т, J = 7.4 Гц); 6.46 (2Н, шир. с); 6.35 (1Н, с); 5.20 (2Н, шир. с); 4.56 (2Н, д, J = 5.8 Гц).

Пример 43

7-амино-4-(3-диметиламинобензиламино)пиридо[4,3-d]пиrimидин

Смесь 236 мг (1.23 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пиrimидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 1.36 г (9.07 ммоля) 3-диметиламинобензиламина в 5 мл изопропанола перемешивают в атмосфере азота при кипячении с обратным холодильником в течение 1 часа, полученный продукт хроматографируют на силикагеле (10-15 % этанола/ этилацетат), затем на оксиде алюминия (1 % этанола/хлороформ) и получают 145 мг (40 %) 7-амино-4-(3-диметиламинобензиламино)пиридо[4,3-d]пиrimидина в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.11 (1Н, с); 8.79 (1Н, т, J = 5.9 Гц); 8.26 (1Н, с); 7.11 (1Н, дд, J = 8.0 и 7.7 Гц); 6.73 (1Н, шир. с); 6.63 (1Н, д, J = 7.6 Гц); 6.60 (1Н, дд, J = 8.1 и 2.2 Гц); 6.44 (2Н, шир. с); 6.35 (1Н, с); 4.67 (2Н, д, J = 5.8 Гц); 2.86 (6Н, с).

Пример 44

7-амино-4-(3-нитробензиламино)пиридо[4,3-d]пиrimидин

Смесь 228 мг (1.19 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пиrimидина (описанного в предыдущем примере) и 0.81 г (5.33 ммоля) 3-нитро-бензиламина перемешивают в атмосфере азота при 150-160°C в течение 1.5 часов. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (5-10 % этанола/ этилацетат), получают 151 мг (43 %) 7-амино-4-(3-нитробензиламино)пиридо [4,3-d]пиrimидина в виде желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.11 (1Н, с); 8.98 (1Н, т, J = 5.5 Гц); 8.26 (1Н, с); 8.22 (1Н, шир. с); 8.12 (1Н, дд, J = 8.0 и 1.8 Гц); 7.83 (1Н, д, J = 7.7 Гц); 7.63 (1Н, т, J = 7.9 Гц); 6.50 (2Н, шир. с); 6.38 (1Н, с); 4.85 (2Н, д, J = 5.8 Гц).

Пример 45

7-амино-4-(3-метоксибензил-амино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 136 мг (0.71 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина (описанного в предыдущем примере) и 1.37 г (10.0 ммоля) 3-метоксибензиламина в 3 мл изопропанола перемешивают в атмосфере азота при кипячении с обратным холодильником в течение 3 часов. Выпаривание растворителя и хроматография на силикагеле (5-10 % этанола/этилацетат) приводят к получению 153 мг (77 %) 7-амино-4-(3-метоксибензиламино)пиридо[4,3-d]пирамидина в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.11 (1Н, с); 8.83 (1Н, т, J = 5.7 Гц); 8.26 (1Н, с); 7.24 (1Н, дт, J = 0.8 и 8.1 Гц); 6.92 (2Н, м); 6.81 (1Н, дт, J = 8.2 Гц, J = 1.2 Гц); 6.46 (2Н, шир. с); 6.37 (1Н, с); 4.71 (2Н, д, J = 5.8 Гц); 3.73 (3Н, с).

Пример 46

7-амино-4-(4-хлорбензиламино)пиридо[4,3-d]пирамидинмезилат

Осаждают 56 мг (0.20 ммоля) свободного основания (полученного из 2,4-диамино-5-цианопиридинийацетата, муравьиной кислоты и 4-хлорбензиламина при 200°C, как описано в предыдущем примере) из ацетонового раствора с помощью 105 мкл (0.23 ммоля) метансульфоновой кислоты, получают полимезилатную соль.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.59 (1Н, т, J = 5.6 Гц); 9.24 (1Н, с); 8.69 (1Н, с); 7.42 (4Н, с); 6.42 (1Н, с); 5.8 (6Н, очень шир. с); 4.89 (2Н, д, J = 5.8 Гц); 2.41 (7.5 Н, с).

Пример 47

7-амино-4-(2-бромбензиламино) пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 225 мг (1.17 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 0.84 г (4.52 ммоля) 2-бромбензиламина перемешивают в атмосфере азота при 140°C в течение 1 часа, полученный продукт хроматографируют на силикагеле (1-5 % этанола/этилацетат), получают 175 мг (45 %) 7-амино-4-(2-бромбензиламино)пиридо[4,3-d]пирамидина в виде светло-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.16 (1Н, с); 8.85 (1Н, т, J = 5.7 Гц); 8.24 (1Н, с); 7.64 (1Н, д, J = 7.8 Гц); 7.34 (1Н, дд, J = 7.7 и 7.1 Гц); 7.31 (1Н, дд, J = 7.7 и 2.4 Гц); 7.21 (1Н, ддд, J = 7.8, 6.9 и 2.4 Гц); 6.50 (2Н, шир. с); 6.39 (1Н, с); 4.74 (2Н, д, J = 5.7 Гц).

Пример 48

7-амино-4-(3-бромбензиламино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 228 мг (1.19 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 0.84 г (4.52 ммоля) 3-бромбензиламина перемешивают в атмосфере азота при 140°C в течение 1 часа. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (2-10 % этанола/этилацетат); получают 203 мг (52 %) 7-амино-4-[(3-бромфенил)метиламино]-пиридо[4,3-d]пирамидина в виде светло-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.09 (1Н, с); 8.86 (1Н, т, J = 5.8 Гц); 8.26 (1Н, с); 7.54 (1Н, с); 7.44 (1Н, д, J = 7.8 Гц); 7.36 (1Н, д, J = 7.6 Гц); 7.29 (1Н, т, J = 7.7 Гц); 6.48 (2Н, с); 6.37 (1Н, с); 4.73 (2Н, д, J = 5.8 Гц).

Пример 49

7-амино-4-(4-бромбензиламино) пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 234 мг (1.22 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 0.84 г (4.52 ммоля) 4-бромбензиламина перемешивают в атмосфере азота при 140°C в течение 1 часа, полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (10 % этанола/этилацетат), получают 192 мг (48 %) 7-амино-4-(4-бромбензиламино) пиридо[4,3-d]пирамидина в виде твердого крема.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.09 (1Н, с); 8.87 (1Н, т, J = 5.7 Гц); 8.25 (1Н, с); 7.51 (2Н, д, J = 8.3 Гц); 7.31 (2Н, д, J = 8.3 Гц); 6.46 (2Н, шир. с); 6.37 (1Н, с); 4.70 (2Н, д, J = 5.8 Гц).

Пример 50

7-амино-4-(2-трифторметилбензиламино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 225 мг (1.17 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина и 0.90 мл (6.42 ммоля) 2-(трифторметил)бензиламина перемешивают в атмосфере азота при 150°C в течение 1 часа. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (5 % этанола/этилацетат), получают 0.22 г (59 %) 7-амино-4-(2-трифторметилбензил)аминопиридо[4,3-d]пирамидина в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.16 (1Н, с); 8.88 (1Н, т, J = 5.7 Гц); 8.23 (1Н, с); 7.75 (1Н, д, J = 7.7 Гц); 7.62 (1Н, т, J = 7.5 Гц); 6.51 (2Н, шир. с); 6.39 (1Н, с); 4.92 (2Н, д, J = 5.5 Гц).

Пример 51

7-амино-4-(3-трифторметилбензиламино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 225 мг (1.17 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина и 0.63 мл (4.40 ммоля) 3-(трифторметил)бензиламина перемешивают в атмосфере азота при 140°C в течение 1 часа. Полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (3-5 % этанола/этилацетат), получают 0.24 г (63 %) 7-амино-4-[(3-трифторметилфенил)метиламино]пиридо[4,3-d] пирамидина в виде светло-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.10 (1Н, с); 8.92 (1Н, т, J = 5.7 Гц); 8.26 (1Н, с); 7.71 (1Н, с); 7.66 (1Н, д, J = 7.4 Гц); 7.62 (1Н, д, J = 7.8 Гц); 7.57 (1Н, т, J = 7.6 Гц); 6.49 (2Н, шир. с); 6.38 (1Н, с); 4.82 (2Н, д, J = 5.8 Гц).

Пример 52

7-амино-4-(4-трифторметилбензиламино)пиридо[4,3-d]пирамидин

Смесь 225 мг (1.17 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина и 0.63 мл (4.42 ммоля) 4-(трифторметил)бензиламина перемешивают в атмосфере азота при 140°C в течение 1 часа. Полученный в результате продукт хроматографируют на оксиде алюминия (5-10 % этанола/хлороформ), затем на силикагеле (2-10 % этанола/этилацетат), получают 0.21 г (56 %) 7-амино-4-[(4-трифторметилфенил)метиламино]пиридо[4,3-d]пирамидина в виде светло-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.12 (1Н, с); 8.94 (1Н, т, J = 5.8 Гц); 8.24 (1Н, с); 7.69 (2Н, д, J = 8.1 Гц); 7.56 (2Н, д, J = 8.1 Гц); 6.48 (2Н, шир. с); 6.38 (1Н, с); 4.82 (2Н, д, J = 5.8 Гц).

Пример 53

7-амино-4-(тиен-2-ил-метиламино)[4,3-d]пирамидиндимезилат

Соединение получают из 190 мг (0.98 ммоля) 2,4-диамино-5-циано-пиридинийацетата, 0.23 г (4.4 ммоля) муравьиной кислоты и 1.07 мл (10 ммолей) тиенилметиламина, как описано в предыдущем эксперименте. Сырой продукт превращают в димезилатную соль, как описано ранее, и перекристаллизовывают из изопропанола, получают 7-амино-4-(тиен-2-ил-метиламино)пиридо[4,3-d]пирамидиндимезилат с выходом 19 %.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.67 (1Н, т, J = 5.8 Гц); 9.21 (1Н, с); 8.77 (1Н, с); 7.48 (1Н, дд, J = 5.1 и 1.2 Гц); 7.16 (1Н, дд, J = 3.4 и 0.7 Гц); 7.02 (1Н, дд, J = 4.8 и 3.4 Гц); 6.42 (1Н, с); 5.06 (2Н, д, J = 5.7 Гц); 2.41 (6Н, с).

Пример 54

7-ацетиламино-4-бензиламинопиридо[4,3-d]пирамидин

7-ацетиламино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидин

Прибавляют 0.70 мл (9.84 ммоля) ацетилхлорида к раствору 0.20 г (1.04 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина (описанного в предыдущем эксперименте) и 1.51 мл триэтиламина (10.8 ммоля) в тетрагидрофуране при 0°C, затем смесь перемешивают при 20°C в течение 4-х часов, прибавляют 50 мл воды, затем раствор экстрагируют 3 раза по 50 мл этилацетатом. Выпаривание и хроматография на оксиде алюминия (1 % этанола/хлороформ) дают 0.12 г (49 %) 7-ацетиламино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пирамидина в виде желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 11.05 (1Н, с); 9.30 (1Н, с); 9.02 (1Н, с); 8.38 (1Н, с); 2.71 (3Н, с); 2.18 (3Н, с).

7-ацетиламино-4-бензиламино-пиридо[4,3-д]пиrimидин

Смесь 0.40 г (1.71 ммоля) 7-ацетиламино-4-метилтиопиридо[4,3-д] пиrimидина и 0.8 мл (9.15 ммоля) бензиламина перемешивают в атмосфере азота при 140°C в течение 1 часа, полученный в результате продукт хроматографируют на силикагеле (этилацетат), получают 0.31 г (62 %) 7-ацетиламино-4-бензиламинопиридо [4,3-д]пиrimидина в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.79 (1Н, с); 9.42 (1Н, с); 9.23 (1Н, т, J = 5.8 Гц); 8.49 (1Н, с); 8.18 (1Н, с); 7.39 (1Н, дт, J = 6.9 и 1.7 Гц); 7.34 (1Н, тт, J = 7.3 и 1.7 Гц); 7.25 (1Н, тт, J = 7.1 и 1.7 Гц); 4.80 (2Н, д, J = 5.8 Гц); 2.15 (3Н, с).

Пример 55

4-анилинопиридо[3,4-д]пиrimидин

4-карбоксамидоникотиновая кислота

Прибавляют 8.3 г (55.6 ммоля) ангидрида 3,4-пиридиндикарбоновой кислоты к 12 мл конц. аммиака в 60 мл воды, перемешивают при 0°C в течение 5 минут. Во время прибавления образуется паста, которую перемешивают в течение 1 часа при комнатной температуре. Белого цвета пасту продувают азотом в течение 30 минут и разбавляют 10 мл воды при образовании прозрачного раствора. Затем барботируют сернистый ангидрид через раствор в течение 15 минут, понижая его pH до 2. При охлаждении, образовавшийся твердый продукт отфильтровывают, промывают водой и сушат в печи, получают 7 г (76 %) 4-карбоксамидоникотиновой кислоты в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.93 (1Н, с); 8.76 (1Н, д, J = 5.0 Гц); 8.08 (1Н, с); 7.62 (1Н, с); 7.45 (1Н, J = 5.0 Гц).

Изохинолинимид

Нагревают 280 мг (1.68 ммоля) 4-карбоксамидоникотиновой кислоты примерно при 200°C в течение 5 часов, получают 177.2 мг (71 %) имида изохинолиновой кислоты в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 11.68 (1Н, с); 9.12-9.03 (2Н, м); 7.80 (1Н, д, J = 5.1 Гц).

3-аминоизоникотиновая кислота

Прибавляют 1.71 г брома к 30 мл 10 %-го раствора гидроксида калия при охлаждении на льду. Полученный раствор прибавляют к тонко измельченному изохинолинимиду 1.46 г (9.86 ммоля). При добавлении смесь начинает пениться. После растворения всего твердого продукта прибавляют 7 мл 15 %-го водного раствора гидроксида калия и нагревают смесь при 80°C в течение 1 минуты, затем охлаждают. Смесь нейтрализуют сернистым ангидридом и охлаждают до 0°C до тех пор, пока не осаждет продукт. Твердый продукт собирают фильтрованием и промывают водой, сушат в вакуумной печи; получают 485 мг (36 %) 3-аминоизоникотиновой кислоты в виде белого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.5-8.8 (2Н, шир. с); 8.20 (1Н, с); 7.70 (1Н, д, J = 5 Гц); 7.46 (1Н, д, J = 5 Гц).

3Н-пиридо[3,4-д]пиrimид-4-он

Смесь 485 мг (3.51 ммоля) 3-аминоизоникотиновой кислоты в 3 мл формамида нагревают при 160°C в течение 12 часов. После охлаждения отфильтровывают полученный твердый продукт и промывают его водой, сушат в вакуумной печи, получают 373 мг (72 %) 3Н-пиридо[3,4-д]пиrimид-4-она.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.60 (1Н, шир. с); 8.68 (1Н, д, J = 5.3 Гц); 8.23 (1Н, с); 7.96 (1Н, д, J=5.1 Гц).

4-тиопиридо[3,4-д]пиrimидин

К раствору 366 мг (2.49 ммоля) 3Н-пиридо[3,4-д]пиrimид-4-она в 4 мл пиридина прибавляют 1.25 г (2.74 ммоля) пятисернистого фосфора. Смесь кипятят с обратным хо-

лодильником в течение 4 часов в атмосфере азота. Полученную черную смолу растворяют в воде и получают твердый продукт. Его отфильтровывают и промывают водой, сушат в вакуумной печи, получают 369.8 мг (91 %) 4-тиопиридо[3,4-d]пирамидина в виде желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 14.48 (1Н, шир. с); 9.13 (1Н, с); 8.70 (1Н, д, J = 5.4 Гц).

4-метилтиопиридо[3,4-d]пирамидин

Смесь 369.8 мг (2.26 ммоля) 4-тиопиридо[3,4-d]пирамидина, 0.6 мл (4.5 ммоля) триэтиламина, 2 мл диметилсульфоксида и 0.24 мл (3.96 ммоля) иодметана перемешивают в атмосфере азота при 25°C в течение 12 часов. Смесь выливают в воду, и полученный твердый продукт отфильтровывают и сушат в вакуумной печи, получают 222 мг (55 %) 4-метилтиопиридо[3,4-d]пирамидина в виде коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.51 (1Н, с); 9.18 (1Н, с); 8.79 (1Н, д, J = 8 Гц); 7.97 (1Н, д, J = 8 Гц).

4-анилинопиридо[3,4-d]пирамидин

Смесь 75 мг (0.42 ммоля) 4-метилтиопиридо[3,4-d]пирамидина и 1 мл анилина нагревают при 100°C в атмосфере азота в течение 2 часов. Затем реакционную смесь хроматографируют на двуокиси кремния, используя жидкостную хроматографию среднего давления, и элюируя градиентной системой (от хлороформа до 5 % метанола в хлороформе). Концентрируют фракции при пониженном давлении и полученный твердый продукт перекристаллизовывают из эфира, получая 21.2 мг (23 %) 4-анилинопиридо[3,4-d]пирамидина в виде желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.09 (1Н, с); 9.18 (1Н, с); 8.74 (1Н, д, J = 5.3 Гц); 8.46 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 7.89 (2Н, д, J = 8.5 Гц); 7.45 (2Н, т, J = 7.9 Гц); 7.21 (1Н, т, J = 7.4 Гц).

Пример 56

4-(3-броманилино)пиридо[3,4-d]пирамидин

Смесь 75 мг (0.42 ммоля) 4-метилтиопиридо[3,4-d]пирамидина (см. предыдущий эксперимент) и 1 мл 3-броманилина нагревают в атмосфере азота при 100°C в течение 2 часов. Затем реакционную смесь хроматографируют на двуокиси кремния, используя жидкостную хроматографию среднего давления и элюируя градиентной системой (от хлороформа до 5 % метанола в хлороформе). Фракции концентрируют при пониженном давлении и полученный в результате твердый продукт перекристаллизовывают из эфира, получая 66 мг (52.7 %) 4-(3-броманилино)пиридо[3,4-d] пирамидина в виде светло-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.15 (1Н, с); 9.21 (1Н, с); 8.80 (1Н, с); 8.76 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 8.44 (1Н, д, J = 5.6 Гц); 8.25 (1Н, с); 7.93 (1Н, д, J = 7.7 Гц); 7.45-7.37 (2Н, м).

Пример 57

4-(3-броманилино)-6-фторпиридо [3,4-d]пирамидин

5-[N-(трет.бутоксикарбонил)амино]-2-фторпиридин

5-Амино-2-фторпиридин получают при гидрировании на палладии-на-угле 2-фтор-5-нитропиридина, полученного из 2-хлор-5-нитропиридина при взаимодействии с фторидом калия в ацетонитриле с тетрафенилбромидом фосфора. При взаимодействии сырого амина с трет.-Вос-ангидридом получают 5-[N-(трет.бутоксикарбонил)амино]-2-фторпиридин.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ:

8.07 (1Н, с); 8.05 (1Н, м); 6.89 (1Н, дд, J = 9.2 и 3.3 Гц); 6.66 (1Н, м); 1.52 (9Н, с).

5-[N-(трет.Бутоксикарбонил)амино]-2-фторпиридин-4-карбоновая кислота

При взаимодействии 5.3 г (25 ммолей) 5-[N-(трет.бутоксикарбонил) амино]-2-фторпиридина последовательно с н-бутиллитием и углекислым газом, как описано в

следующем примере, получают 1.60 г (25 %) 5-[N-(трет.бутоксикарбонил)амино]-2-фторпиридин-4-карбоновой кислоты.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.83 (1Н, шир. с); 8.84 (1Н, с); 7.49 (1Н, д, J = 2.9 Гц); 1.47 (9Н, с).

5-амино-2-фторпиридин-4-карбоновая кислота

При взаимодействии 1.0 г (3.9 ммоля) 5-[N-(трет.бутоксикарбонил)амино]-2-фторпиридин-4-карбоновой кислоты с трифторуксусной кислотой, как описано выше, получают 0.46 г (74 %) 5-амино-2-фторпиридин-4-карбоновой кислоты.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 7.85 (1Н, д, J = 1.5 Гц); 7.23 (1Н, д, J = 2.5 Гц).

6-фтор-3Н-пиридо[3,4-д]пиrimидин-4-он

При взаимодействии 5-амино-2-фторпиридин-4-карбоновой кислоты с формамидом при 140°C, как описано выше, получают 6-фтор-3Н-пиридо[3,4-д] пиrimидин-4-он (20 %).

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.48 (1Н, м); 8.74 (1Н, с); 8.16 (1Н, с); 7.63 (1Н, д, J = 3 Гц).

4-(3-броманилино)-6-фторпиридо [3,4-д]пиrimидин

При взаимодействии 0.60 г (3.6 ммоля) 6-фтор-3Н-пиридо[3,4-д]пири-мидин-4-она с хлорокисью фосфора с последующей реакцией сырого 4,6-дигалоидного соединения с 3-броманилином получают 0.73 г (63 %) 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,4-д] пири-мидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.09 (1Н, шир. с); 8.96 (1Н, с); 8.75 (1Н, с); 8.25 (2Н, м); 7.90 (1Н, шир. д, J = 6.5 Гц); 7.44-7.34 (2Н, м).

Пример 58

4-(3-броманилино)-6-хлорпиридо[3,4-д]пиrimидин

5-[N-(трет.бутоксикарбонил)амино]-2-хлорпиридин

Смесь 12.86 г (0.1 моля) 5-амино-2-хлорпиридина, 24.0 г (0.11 моля) ди-трет.-бутилкарбоната и 12.1 г (1.12 моля) триэтиламина в 150 мл метиленхлорида кипятят с обратным холодильником в течение 12 часов и отфильтровывают осадок. Органический слой промывают водой, сушат над хлоридом кальция и фильтруют через короткую колонку с оксидом алюминия. Удаление растворителя приводит к получению 11.9 г (52 %) 5-[N-(трет.бутоксикарбонил)амино]-2-хлорпиридина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.31 (1Н, д, J = 2.9 Гц); 7.94 (1Н, дд, J = 8.6 и 2.6 Гц); 7.24 (1Н, д, J = 8.7 Гц); 7.15 (1Н, м); 1.51 (9Н, с).

5-[N-(трет.Бутоксикарбонил)амино]-2-хлорпиридин-4-карбоновая кислота

Раствор 22.87 г (0.1 моля) 5-[N-(трет. бутоксикарбонил)амино]-2-хлор-пиридина и 47 мл (0.31 моля) тетраметилендиамина в 600 мл безводного эфира охлаждают до -78°C и прибавляют по каплям 30 мл (0.3 моля) 10M гексанового раствора н-бутиллития. Раствору дают нагреться до 10 °C, а затем выдерживают при этой температуре 2 часа, и повторно охлаждают до -78°C. После этого барботируют сухой углекислый газ и дают нагреться полученной смеси до комнатной температуры (20°C), потом приливают 300 мл воды, содержащей незначительное количество гидроксида аммония. Полученный в результате водный слой промывают этилацетатом, затем медленно подкисляют разбавленной соляной кислотой для осаждения 15.5 г (57 %) 5-[N-(трет.бутоксикарбонил) амино]-2-хлорпиридин-4-карбоновой кислоты.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.00 (1Н, с); 9.13 (1Н, с); 7.74 (1Н, с); 1.47 (9Н, с).

5-амино-2-хлорпиридин-4-карбоновая кислота

Суспензию 1.91 г (7 ммолей) 5-[N-(трет.бутоксикарбонил)-амино]-2-хлорпиридин-4-карбоновой кислоты в 200 мл метиленхлорида медленно обрабатывают трифторуксусной кислотой до гомогенности (примерно 12 мл). Раствор перемешивают в течение

ночи и экстрагируют разбавленной соляной кислотой, получают в виде осадка 1.05 г (выход 87 %) 5-амино-2-хлорпиридин-4-карбоновой кислоты.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.01 (2Н, м); 8.03 (1Н, с); 7.48 (1Н, с).

6-хлор-3Н-пиридо[3,4-д]пиrimидин-4-он

Раствор 8.1 г (4.7 ммоля) 5-амино-2-хлорпиридин-4-карбоновой кислоты в 100 мл формамида перемешивают при 140°C в течение 12 часов. Разбавление холодной смеси водой дает в виде осадка 7.3 г (выход 86 %) 6-хлор-3Н-пиридо[3,4-д] пиrimидин-4-она.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.73 (1Н, м); 8.90 (1Н, д, J = 0.7 Гц); 8.23 (1Н, с); 7.97 (1Н, д, J = 0.7 Гц).

4,6-дихлорпиридо[3,4-д]пиrimидин

Кипятят с обратным холодильником при перемешивании суспензию 1.82 г (10 ммолей) 6-хлорпиридо[3,4-д] пиrimидин-4-она в 10 мл хлорокиси фосфора до полного растворения (примерно 2 часа и еще дополнительно 30 минут). Избыток реагента удаляют в вакууме, остаток обрабатывают смесью метиленхлорида и охлажденным на льду водным раствором карбоната натрия. Полученный в результате органический слой сушат над сульфатом натрия и выпаривают, получают с количественным выходом сырой нестабильный 4,6-дихлорпиридо[4,3-д]пиrimидин, который используют непосредственно в следующей стадии.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.38 (1Н, д, J = 0.5 Гц); 9.19 (1Н, с); 8.09 (1Н, д, J = 0.5 Гц).

4-(3-броманилино)-6-хлорпиридо [4,3-д]пиrimидин

Смесь полученного выше сырого дихлорпиrimидина и 3.8 г (22 ммоля) 3-броманилина растворяют в 100 мл изопропанола. Прибавляют одну каплю концентрированной соляной кислоты, чтобы вызвать реакцию, а затем кипятят смесь с обратным холодильником в течение 30 минут, охлаждают и разбавляют водой для осаждения 1.26 г (выход 38 %) 4-(3-броманилино)-6-хлорпиридо[3,4-д] пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.12 (1Н, с); 9.03 (1Н, с); 8.77 (1Н, с); 8.63 (1Н, с); 8.21 (1Н, с); 7.89 (1Н, д, J = 8.1 Гц); 7.43-7.32 (2Н, м).

Пример 59

4-(3-броманилино)-6-метокси пиридо[3,4-д]пиrimидин

Обработка 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,4-д]пиrimидина (см. предыдущий эксперимент) при 100°C в автоклаве с помощью метоксида натрия в метаноле дает 4-(3-броманилино)-6-метокси пиридо[3,4-д]пиrimидин.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.93 (1Н, с); 8.94 (1Н, с); 8.61 (1Н, с); 8.26 (1Н, шир. с); 7.94 (1Н, шир. д, J = 7.6 Гц); 7.88 (1Н, с); 7.43-7.32 (2Н, м); 4.01 (3Н, с).

Пример 60

4-(3-броманилино)-6-метиламино-пиридо[3,4-д]пиrimидин

Обработка 0.20 г (0.63 ммоля) 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,4-д]пиrimидина (см. предыдущий эксперимент) при 100°C в автоклаве с помощью метиламина в этаноле с последующей хроматографией на оксиде алюминия (метиленхлорид/метанол = 99:1) дает 0.07 г (34 %) 4-(3-броманилино)-6-метиламино пиридо[3,4-д]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.69 (1Н, с); 8.75 (1Н, с); 8.41 (1Н, с); 8.21 (1Н, шир. с); 7.93 (1Н, шир. д, J = 7.6 Гц); 7.41-7.28 (2Н, м); 7.06 (1Н, с); 6.82 (1Н, к, J = 5.0 Гц); 4.95 (3Н, д, J = 5.0 Гц).

Пример 61

4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,4-д]пиrimидин

Обработка 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,4-д]пиrimидина (см. предыдущий эксперимент) при 100°C в автоклаве с помощью диметиламина в этаноле дает 4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,4-д]пиrimидин.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.71 (1Н, с); 8.83 (1Н, с); 8.43 (1Н, с); 8.21 (1Н, шир. с); 7.94 (1Н, шир. д, J = 7.5 Гц); 7.42-7.29 (2Н, м); 7.26 (1Н, с); 3.17 (6Н, с).

Пример 62**4-(бензиламино)пиридо[4,3-*d*]пиrimидин**

Смесь 74 мг (0.41 ммоля) 4-метилтиопиридо[3,4-*d*]пиrimидина (см. предыдущий эксперимент) и 1 мл бензиламина нагревают 2 часа при 100°C. Охлажденную смесь концентрируют при пониженном давлении и очищают сразу препартивной ТСХ на силикагеле, элюируя метиленхлоридом, получают 21.2 мг (20 %) 4-(бензиламино)пиридо[3,4-*d*]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.21 (1Н, т, J = 5.8 Гц); 9.19 (1Н, с); 8.63 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 8.58 (1Н, с); 8.20 (1Н, д, J = 5.1 Гц); 7.41-7.30 (4Н, м); 7.26 (1Н, т, J = 7.1 Гц).

Пример 63**4-(3-броманилино)пиридо[2,3-*d*]пиrimидин****3Н-пиридо[2,3-*d*]пиrimидин-4-он**

Нагревают 15 г (108.6 ммоля) 2-аминоникотиновой кислоты в 35 мл формамида при 165-170°C в течение 3.5 часов. При охлаждении осаждается твердый продукт. Его отфильтровывают и промывают водой, сушат в вакуумной печи, получают 7.87 г (49.4 %) 3Н-пиридо[2,3-*d*]пиrimидин-4-она.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.50 (1Н, с); 8.97 (1Н, дд, J = 1.9 и 4.5 Гц); 8.53 (1Н, дд, J = 2.1 и 7.9 Гц); 8.34 (1Н, с); 7.57 (1Н, дд, J = 4.6 и 8.0 Гц).

4-тиопиридо[2,3-*d*]пиrimидин

Прибавляют 6 г (13.5 ммоля) пятисернистого фосфора к раствору 2 г (13.5 ммоля) 3Н-пиридо[2,3-*d*]пири-мидин-4-она в 50 мл пиридина. Смесь кипятят с обратным ходильником в течение 3 часов. При охлаждении образуется твердый осадок и пиридин декантируют. Твердый продукт сусpendируют в 20 мл воды, затем фильтруют и сушат в вакуумной печи, получают 1.72 г (78 %) 4-тиопиридо[2,3-*d*]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.06 (1Н, дд, J = 1.9 и 4.3 Гц); 8.90 (1Н, дд, J = 1.9 и 8.2 Гц); 8.36 (1Н, с); 7.65 (1Н, дд, J = 4.3 и 8.2 Гц).

4-метилтиопиридо[2,3-*d*]пиrimидин

Смесь 100 мг (0.76 ммоля) 4-тиопиридо[2,3-*d*]пиrimидина, 154 мг (1.52 ммоля) триэтиламина, 2 мл диметилсульфоксида и 161 мг (1.14 ммоля) иодметана перемешивают 12 часов при 25°C. Смесь выливают в воду и экстрагируют этилацетатом. Объединенные экстракты промывают водой, рассолом и сушат над сульфатом магния, растворитель отгоняют в вакууме, получают 134 мг (количественный выход) 4-метилтио-пиридо[2,3-*d*]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.25 (1Н, дд, J = 1.8 и 4.2 Гц); 9.17 (1Н, с); 8.59 (1Н, дд, J = 1.9 и 8.2 Гц); 7.75 (1Н, дд, J = 4.3 и 8.2 Гц); 2.73 (3Н, с).

4-(3-броманилино)пиридо[2,3-*d*]пиrimидин

Смесь 157 мг (0.89 ммоля) 4-метилтиопиридо[2,3-*d*]пиrimидина и 1 мл 3-броманилина нагревают при 100°C в течение 2 часов. При охлаждении образуется осадок, который отфильтровывают, затем промывают этанолом и сушат на воздухе, получают 55.5 мг (20 %) 4-(3-броманилино)пиридо[2,3-*d*]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.13 (1Н, с); 9.11 (1Н, дд, J = 1.7 и 4.3 Гц); 9.01 (1Н, дд, J = 1.7 и 8.2 Гц); 8.81 (1Н, с); 8.22 (1Н, с); 7.90 (1Н, д, J = 7.7 Гц); 7.71 (1Н, дд, J = 4.3 и 8.0 Гц); 7.40 (2Н, м).

Пример 64**4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[2,3-*d*]пиrimидин****2,6-дифторникотиновая кислота**

2,6-дифторпиридин 7.89 мл, (0.087 ммоля) прибавляют по каплям в атмосфере азота при 78°C к перемешиваемому раствору дизопропиламида лития (59.0 мл 1.5 н раствора в циклогексане; 0.089 ммоля) в 250 мл ТГФ. После 2 часов при 78°C через раствор пропускают ток сухого углекислого газа, разбавляют смесь водой и промывают этилаце-

татом. Водную часть нейтрализуют 3н соляной кислотой, экстрагируют этилацетатом и обрабатывают, чтобы получить 13.4 г (97 %) 2,6-дифтор-никотиновой кислоты.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.59 (1Н, дд, J = 9.2 и 8.2 Гц); 7.30 (1Н, дд, J = 8.2 и 2.1 Гц); 4.03 (1Н, шир. с).

2,6-дифторникотинамид

Раствор 7.4 г (0.046 ммоля) 2,6-дифторникотиновой кислоты и 20 мл тионилхлорида в 60 мл 1,2-дихлорэтана, содержащего 1 каплю диметилформамида, кипятят с обратным холодильником в течение 4 часов, затем концентрируют досуха при пониженном давлении. Растворяют осадок в 100 мл эфира, охлаждают до 0°C и обрабатывают, добавляя по каплям 10.0 мл (0.17 ммоля) концентрированного аммиака. Через 10 минут раствор промывают водным раствором бикарбоната натрия и обрабатывают; получают 5.61 г (76 %) 2,6-дифтор-никотинамида.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.70 (1Н, дд, J = 9.6 и 8.3 Гц); 7.00 (1Н, ддд, J = 8.3, 2.9 и 1.1 Гц); 6.71 и 6.55 (1Н, 1Н, 2 шир. с).

2-амино-6-фторникотинамид

Раствор 4.68 г (0.029 ммоля) 2,6-дифторникотинамида в 30 мл безводного формамида насыщают аммиаком и оставляют при комнатной температуре на 24 часа. Прибавляют 50 мл воды и отфильтровывают полученный осадок, промывают его водой, получают 1.41 г (31 %) 6-амино-2-фторникотинамида; т. пл. 236-237°C.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 7.89 (1Н, дд, J = 10.4 и 8.4 Гц); 7.31 и 7.16 (1Н, 1Н, 2 шир. с); 6.93 (2Н, шир. с); 6.36 (1Н, дд, J = 8.4 и 2.4 Гц).

Фильтрат и промывные воды объединяют и исчерпывающе экстрагируют этилацетатом; экстракт хроматографируют на силикагеле. Смесью этилацетат/петролейный эфир (1:1) элюируют предварительную фракцию, тогда как смесь этилацетата с петролейным эфиром (2:1) и затем этилацетат дают 1.57 г (35 %) 2-амино-6-фторникотинамида; т.пл. (из смеси этилацетата с петролейным эфиром) 199-200°C.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.13 (1Н, дд, J = 10.4 и 8.4 Гц); 7.90, 7.30 (1Н, 1Н, 2 шир. с); 7.65 (2Н, шир. с); 6.23 (1Н, дд, J = 8.4 и 2.6 Гц).

Суспензию 0.74 г (4.77 ммоля) 2-амино-6-фторникотинамида в 25 мл триэтилортормиата кипятят с обратным холодильником в течение 8 часов. После охлаждения до комнатной температуры отфильтровывают осадок и тщательно промывают петролейным эфиром, получают 0.76 г (96 %) 7-фторпиридо[2,3-d] пирамид-4(3Н)-она.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.75 (1Н, шир. с); 8.66 (1Н, дд, J = 10.4 и 8.4 Гц); 8.38 (1Н, с); 7.33 (1Н, дд, J = 8.4 и 2.6 Гц).

4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[2,3-d]пирамидин

Суспензию 0.20 г (1.21 ммоля) 7-фторпиридо[2,3-d]пирамид-4(3Н)-она в 10 мл хлорокиси фосфора кипятят с обратным холодильником в течение 2 часов. Затем отгоняют летучие компоненты в вакууме, остаток распределяют между водным раствором бикарбоната натрия и этилацетатом. Органический экстракт обрабатывают, получая сырой 4-хлор-7-фторпиридо[2,3-d]пирамидин, который используют непосредственно на следующей стадии. Раствор 0.20 г этого продукта (1.09 ммоля) и 0.23 мл (2.18 ммоля) 3-броманилина в 1.0 мл пропан-2-ола и 10 мл тетрагидрофурана, содержащий следовые количества концентрированной соляной кислоты, перемешивают 1 час при 20°C, затем концентрируют досуха. Остаток растворяют в этилацетате, промывают водным раствором бикарбоната натрия и обрабатывают, получают масло, которое хроматографируют на силикагеле. Элюирование смесью этилацетат/петролейный эфир (1:5) дает 3-броманилин, тогда как смесь этилацетат/петролейный эфир (1:1) элюирует 0.18 г (47 %) 4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[2,3-d]пирамидина; т. пл. (из метанола) 211-213°C.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.18 (1Н, шир. с); 9.17 (1Н, т, J = 8.6 Гц); 8.80 (1Н, с); 8.17 (1Н, т, J = 1.8 Гц); 7.85 (1Н, дт, J = 7.6 и 1.8 Гц); 7.53 (1Н, дд, J = 8.6 и 2.7 Гц); 7.41-7.34 (2Н, м).

Пример 65

7-амино-4-(3-броманилино)пиридо[2,3-d]пиrimидин

Раствор 0.20 г (0.63 ммоля) 4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[2,3-d]пиrimидина в 20 мл этанола насыщают аммиаком и нагревают при 100°C в автоклаве в течение 30 часов. Отгоняют растворитель при пониженном давлении; получают 0.18 г (90 %) 7-амино-4-(3-броманилино)пиридо[2,3-d]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.97 (1Н, шир. с); 8.59 (1Н, с); 8.51 (1Н, д, J = 9.3 Гц); 8.11 (1Н, шир. с); 7.77 (1Н, шир. д, J = 6.3 Гц); 7.44 (2Н, шир. с); 7.37-7.30 (2Н, м); 6.81 (1Н, д, J = 9.3 Гц).

Пример 66

4-(3-броманилино)-7-метиламино-пиридо[2,3-d]пиrimидин

Раствор 0.20 г (0.63 ммоля) 4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[2,3-d]пиrimидина (см. предыдущий эксперимент), 0.13 г (1.88 ммоля) солянокислого метиламина и 0.30 мл (2.19 ммоля) триэтиламина в 15 мл этанола нагревают при 100°C в автоклаве в течение 18 часов. Растворитель удаляют при пониженном давлении, остаток распределяют между этилацетатом и водой. Обработка органического слоя дает 0.16 г (77 %) 4-(3-броманилино)-7-(метиламино)пиридо[2,3-d]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.53 (1Н, с); 8.54 (1Н, с); 8.41 (1Н, д, J = 8.1 Гц); 8.17 (1Н, т, J = 1.8 Гц); 7.83 (1Н, дд, J = 8.0 и 1.9 Гц); 7.66 (1Н, шир. с); 7.32 (1Н, т, J = 8.0 Гц); 7.24 (1Н, дд, J = 8.0 и 1.8 Гц); 6.77 (1Н, д, J = 8.1 Гц); 2.92 (3Н, д, J = 4.8 Гц).

Пример 67

4-(3-броманилино)-7-диметиламинопиридо[2,3-d]пиrimидин

При взаимодействии 0.12 г (0.38 ммоля) 4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[2,3-d]пиrimидина (см. предыдущий эксперимент) с 92 мг (1.13 ммоля) солянокислого диметиламина и 0.18 мл (1.32 ммоля) триэтиламина в 15 мл этанола при 100°C в течение 18 часов в автоклаве с последующим выпариванием растворителя и обработкой получают 0.11 г (84 %) 4-(3-броманилино)-7-(диметиламино)пиридо[2,3-d]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.58 (1Н, шир. с); 8.56 (1Н, д, J = 9.3 Гц); 8.54 (1Н, с); 8.18 (1Н, т, J = 1.9 Гц); 7.84 (дт, J_d = 8.0 Гц; J_t = 1.9 Гц); 7.33 (1Н, дд, J = 8.1 и 8.0 Гц); 7.25 (1Н, дт, J_d = 9.3 Гц, J_t = 1.9 Гц); 7.10 (1Н, д, J = 9.3 Гц); 3.18 (6Н, с).

Пример 68

4-(3-броманилино)-7-метоксипиридо[2,3-d]пиrimидин

Раствор 0.26 г (0.81 ммоля) 4-(3-броманилино)-7-фторпиридо[2,3-d]пиrimидина и метоксида натрия (приготовленного из 75 мг натрия, 3.26 ммоля) в 15 мл безводного метанола нагревают при 90°C в автоклаве в течение 18 часов. Смесь выливают в воду и экстрагируют этилацетатом, получают 0.23 г (86 %) 4-(3-броманилино)-7-метоксипиридо[2,3-d]пиrimидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.88 (1Н, шир. с); 8.82 (1Н, д, J = 8.9 Гц); 8.71 (1Н, с); 8.18 (1Н, дд, J = 8.0 и 1.9 Гц); 7.36 (1Н, дд, J = 8.1 и 8.0 Гц); 7.29 (1Н, ддд, J = 8.1, 1.9 и 1.9 Гц); 7.15 (1Н, д, J = 8.9 Гц); 4.01 (3Н, с).

Пример 69

4-бензиламино-7-метиламино-пиридио[4,5-d]пиrimидин

S-этилизотиуронийиодид

Раствор 3.80 г (50 ммолей) тиомочевины и 4 мл (50 ммолей) иодэтана в 100 мл метанола кипятят с обратным холодильником в течение 24 часов. Отгоняют растворитель при пониженном давлении и оставшееся светло-желтое масло сушат в вакууме; оно самоизвестно затвердевает. Целевое соединение (13.98 г) получают с количественным выходом.

4-амино-5-циано-2-этилтиопиридин

Прибавляют суспензию 2.7 г (50 ммолей) метоксида натрия в 200 мл этанола к смеси 11.58 г (50 ммолей) S-этилизотиомочевиногидроиодида, 6.1 г (50 ммолей) этоксиметилиденмалононитрила и 250 мл этанола при 25°C. Реакционную смесь кипятят

с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 2 часов, затем концентрируют раствор на горячей плите до тех пор, пока не появится осадок. После охлаждения отфильтровывают твердый продукт и перемешивают в воде при 25°C. После фильтрации и сушки в вакуумной печи получают 4.02 г (45 %) 4-амино-5-циано-2-этилтиопиримидина в виде коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.45 (1H, с); 7.90 (2H, шир. с); 3.00 (2H, к, J = 7.3 Гц); 1.27 (3H, т, J = 7.3 Гц).

4-амино-2-этилтиопиримидин-5-карбоксамид

Прибавляют маленькими порциями 4.0 г (22.3 ммоля) 4-амино-5-циано-2-этилтиопиримидина к 4.3 мл концентрированной серной кислоты. Затем смесь перемешивают в атмосфере азота при 40°C в течение 1.5 часов. Реакцию прекращают добавлением льда с водой и используют гидроксид аммония для установления pH=9. Твердый продукт собирают фильтрованием и сушат в вакуумной печи в течение ночи. Получают 4-амино-2-этилтиопиримидин-5-карбоксамид (2.58 г, 58 %) в виде светло-коричневого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.52 (1H, с); 7.98 (2H, шир. с); 7.42 (2H, шир. с); 3.04 (2H, к, J = 7.3 Гц); 1.27 (3H, т, J = 7.3 Гц).

4-оксо-7-этилтио-3Н-пирамидо [4,5-д]пирамидин

Смесь 4.66 г (23.5 ммоля) 4-амино-2-этилтиопиримидин-5-карбоксамида и 150 мл триэтилортотормиата кипятят с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 24 часов, затем охлаждают до 25°C. Отфильтровывают коричневый твердый продукт и сушат в вакуумной печи, получают 3.54 г (72 %) 4-оксо-7-этилтио-3Н-пирамидо[4,5-д]пирамидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.80 (1H, с); 9.20 (1H, с); 8.45 (1H, с); 3.18 (1H, к, J = 7.4 Гц); 1.35 (3H, т, J = 7.4 Гц).

4-тионо-7-этилтио-3Н-пирамидо [4,5-д]пирамидин

Смесь 1.33 г (6.7 ммоля) 4-оксо-7-этилтио-3Н-пирамидо[4,5-д]пирамидина, 1.48 г (6.6 ммоля) пятисернистого фосфора и 15 мл пиридина кипятят с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 3 часов. Затем отгоняют пиридин при пониженном давлении и растворяют остаток в 75 мл 0.5 М раствора гидроксида натрия и кипятят с активированным углем. После фильтрации нейтрализуют фильтрат уксусной кислотой, образуется золотисто-коричневый твердый продукт. Фильтруют на воронке Бюхнера и сушат в вакуумной печи, получают 1.42 г (95 %) 4-тионо-7-этилтио-3Н-пирамидо[4,5-д]пирамидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.47 (1H, с); 8.46 (1H, с); 3.20 (2H, к, J = 7.3 Гц); 1.35 (3H, т, J = 7.3 Гц).

7-этилтио-4-метилтиопиримидо [4,5-д]пирамидин

Работают по методике примера 21, описанной для 7-амино-4-метилтиопиримидо [4,3-д]пирамидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.52 (1H, с); 9.15 (1H, с); 3.23 (2H, к, J = 7.3 Гц); 2.72 (3H, т, J = 7.3 Гц).

4-бензиламино-7-этилтиопиримидо[4,5-д]пирамидин

Работают по методике примера 21, описанной для 7-амино-4-анилино-пиридо [4,3-д]пирамидина.

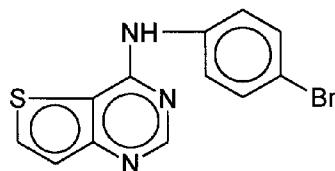
4-бензиламино-7-метиламино-пирамидо[4,5-д]пирамидин

Нагревают 4-бензиламино-7-этилтиопиримидо[4,5-д]пирамидин в этаноле, содержащем избыток метиламина, при 150°C в стальном автоклаве в течение 5 часов. Отфильтровывают твердый продукт и сушат его, получая 4-бензиламино-7-метиламино-пирамидо [4,5-д]пирамидин.

Пример 70

4-бензиламино-7-гидразинопиримидо[4,5-д]пирамидин

Нагревают 4-бензиламино-7-этилтиопиримидо[4,5-d]пирамидин в этаноле, содержащем избыток гидразина, при 150°C в стальном автоклаве в течение 5 часов. Отфильтровывают твердый продукт и сушат его; получают 4-бензиламино-7-гидразинопиримидо[4,5-d] пирамидин.



Пример 71

Гидрохлорид 4-(3-броманилино) тиено[3,2-d]пирамидина

3Н-тиено[3,2-d]пирамид-4-она

Смесь 1 г (6.3 ммоля) метил-3-аминотиофен-2-карбоксилата и 2 г формамида нагревают при 240°C в течение 10 минут. При охлаждении образуется осадок. Его растворяют в этаноле и фильтруют. Фильтрат концентрируют при пониженном давлении и очищают остаток хроматографией на силикагеле, элюируя 10 % метанола в метиленхлориде, получают 249 мг (26 %) 3Н-тиено-[3,2-d]пирамид-4-она в виде твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.61 (1Н, шир. с); 8.20 (1Н, с); 8.17 (1Н, д, J = 5 Гц); 7.42 (1Н, д, J = 5 Гц).

4-хлортиено[3,2-d]пирамидин

К раствору 170.3 мкл (2.2 ммоля) диметилформамида и 1.2 мл дихлорэтана при 0°C в атмосфере азота медленно и при перемешивании в течение 10 минут прибавляют 279.2 мг (3.2 ммоля) оксалилхлорида. Прибавляют 152.2 мг (1.0 ммоль) 3Н-тиено[3,2-d]пирамид-4-она и кипятят с обратным холодильником в течение 5 часов. Реакционную смесь выливают в воду и экстрагируют метиленхлоридом. Органический слой разгоняют при пониженном давлении, получают 140 мг (82 %) 4-хлортиено[3,2-d] пирамидина в виде желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.05 (1Н, с); 8.62 (1Н, д, J = 5 Гц); 7.79 (1Н, д, J = 5 Гц).

4-(3-броманилино)тиено[3,2-d]пирамидингидрохлорид

Смесь 135 мг (0.79 ммоля) 4-хлортиено[3,2-d]пирамидина и 95 мкл (0.89 ммоля) 3-броманилина в 2 мл 2-метоксиэтанола нагревают при 79°C в течение 30 минут. Отфильтровывают образовавшийся осадок и промывают метиленхлоридом, получают 195.5 мг (72 %) гидрохлорида 4-(3-броманилино)тиено [3,2-d]пирамидина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 11.33 (1Н, с); 8.94 (1Н, с); 8.23 (1Н, с); 8.53 (1Н, д, J = 5.3 Гц); 8.07 (1Н, с); 7.77 (1Н, д, J = 7.9 Гц); 7.6 (1Н, д, J = 5.3 Гц); 7.48 (3Н, м).

Пример 72

4-бензиламинотиено[3,2-d]пирамидин

По методике предыдущего эксперимента, из 100 мг (0.586 ммоля) 4-хлортиено [3,2-d]пирамидина и 710 мкл (0.645 ммоля) бензиламина в 2 мл 2-метоксиэтанола получают 37 мг (26 %) 4-бензиламинотиено[3,2-d]пирамидина.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.42 (1Н, с); 8.12 (1Н, д, J = 5.5 Гц); 7.39 (1Н, д, J = 5.3 Гц); 7.40-7.30 (4Н, м); 7.24 (1Н, т, J = 6.8 Гц).

Пример 73

4-(3-броманилино)тиено[2,3-d]пирамидин

Метил-2-аминотиофен-3-карбоксилат

Смесь 3.25 г (32.3 ммоля) метилцианоацетата, 5 г (32.8 ммоля) 1,4-дитиан-2,5-диола, 1 мл (7.71 ммоля) триэтиламина в 50 мл этанола перемешивают при 40°C в течение 1

часа. Охлажденный раствор элюируют через слой двуокиси кремния метиленхлоридом. Фильтрат выпаривают досуха, получают сырой метил-2-аминотиофен-3-карбок-силат, который используют в следующей стадии.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 7.26 (1Н, с); 6.82 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 6.28 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 3.69 (3Н, с).

3Н-тиено[2,3-д]пиrimид-4-он

Нагревают раствор 602.1 мг (3.83 ммоля) метил-2-аминотиофен-3-карбоксилата в 5 мл формамида при 200°C в течение 12 часов. Полученную в результате смолу растворяют в 10 мл метиленхлорида, затем помещают на слой двуокиси кремния и элюируют 10 % метанола в метиленхлориде. Фильтрат выпаривают при пониженном давлении, и полученный твердый продукт промывают этанолом, получают 231.4 мг (40 %) 3Н-тиено[2,3-д]пиrimид-4-она в виде оранжевого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 12.50 (1Н, шир. с); 7.60 (1Н, д, J = 5.8 Гц); 7.41 (1Н, д, J = 6.0 Гц).

4-хлортиено[2,3-д]пиrimидин

К раствору 90 мкл диметилформамида и 2 мл метиленхлорида при 0°C в атмосфере азота медленно прибавляют 148 мг (1.2 ммоля) оксалилхлорида и перемешивают 10 минут. К раствору прибавляют 81 мг (0.52 ммоля) 3Н-тиено[2,3-д]пиrimид-4-она в виде твердого продукта и нагревают струей теплого воздуха до тех пор, пока твердый продукт не растворится. Реакционную смесь перемешивают при 25°C в течение 12 часов в атмосфере азота. Затем выливают ее в воду и экстрагируют метиленхлоридом. Разделяют фазы и сушат органический слой над сульфатом натрия, отгоняют растворитель при пониженном давлении, получая 87.6 мг (97 %) 4-хлортиено[2,3-д]пиrimидина в виде твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 8.96 (1Н, с); 8.17 (1Н, д, J = 6.0 Гц); 7.62 (1Н, д, J = 6.0 Гц).

4-(3-броманилино)тиено[2,3-д]пиrimидингидрохлорид

Смесь 135 мг (0.79 ммоля) 4-хлортиено[2,3-д]пиrimидина и 95 мкл (0.89 ммоля) 3-броманилина в 2 мл 2-метоксиэтанола нагревают при 79°C в течение 30 минут при перемешивании. Отфильтровывают полученный твердый продукт и промывают метиленхлоридом; получают 197 мг (73 %) 4-(3-броманилино)тиено[2,3-д]пиrimидин-гидрохлорида.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.99 (1Н, с); 8.60 (1Н, с); 8.23 (1Н, с); 7.98 (1Н, д, J = 6.0 Гц); 7.88 (1Н, д, J = 8.0 Гц); 7.79 (1Н, д, J = 6.0 Гц); 7.37 (1Н, т, J = 8.0 Гц); 7.30 (1Н, д, J = 8.0 Гц).

Пример 74

4-бензиламинопирроло[2,3-д]пиrimидин

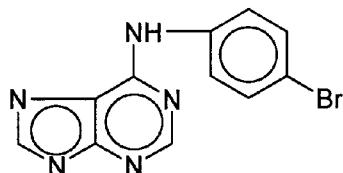
4-бензиламинопирроло[2,3-д]пиrimидин известен из Chem. Abstr. 1962, 57, 15130 с.

Пример 75

N⁶-(3-бромфенил)аденин

Смесь 1.0 г (6.47 ммоля) 6-хлорпурина, 0.78 мл (7.12 ммоля) 3-броманилина и 4-х капель концентрированной соляной кислоты в 10 мл изопропанола перемешивают при 80°C в течение 5 часов. При охлаждении образуется осадок. Твердый продукт отфильтровывают, промывают изопропанолом и сушат на воздухе, получают 1.93 г (91 %) N⁶-(3-бромфенил)аденина в виде светло-желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 11.38 (1Н, с); 8.75 (1Н, с); 7.90 (1Н, д, J = 8.0 Гц); 7.38-7.34 (2Н, м).



Пример 76

N⁶-бензиладенин

N⁶-бензиладенин является коммерческим продуктом фирмы "Олдрич Кемикал Компани", 1001, West Saint Paul Avenue, Milwaukee, Wisconsin 53233.

Пример 77

7-амино-4-(3-метиланилино)пиридо[4,3-d]пиrimидин

Смесь 217 мг (1.13 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пиrimидина и 1.50 г (14.0 ммоля) м-толуидина перемешивают при 155°C в течение 30 минут. Полученный продукт хроматографируют на силикагеле (5 % метанола/метиленхлорид); получают 190 мг (67 %) 7-амино-4-(3-метиланилино) пиридо[4,3-d] пиrimидина в виде светло-желтого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 9.81 (1H, шир. с); 9.34 (1H, с); 8.38 (1H, с); 7.60 (2H, с); 7.26 (1H, дд, J = 8.5 и 7.6 Гц); 6.95 (1H, д, J = 7.4 Гц); 6.63 (2H, с); 2.33 (3H, с).

Пример 78

7-амино-4-(4-метоксианилино) пиридо[4,3-d]пиrimидин

Смесь 129 мг (0.62 ммоля) 7-амино-4-метилтиопиридо[4,3-d]пиrimидина и 0.15 г (1.2 ммоля) 4-метоксианилина в 5 мл этанола нагревают при 40°C в течение 16 часов, затем кипятят с обратным холодильником в течение 3 часов. Реакционную смесь охлаждают при 0°C в течение ночи, собирают твердый продукт фильтрацией в вакууме и перекристаллизовывают из изопропанола, получают 42 мг (25 %) 7-амино-4-(4-метоксианилино)пиридо[4,3-d] пиrimидина в виде желтого твердого продукта.

¹Н-ЯМР (диметилсульфоксид) δ: 10.00 (1H, шир. с); 9.31 (1H, с); 8.35 (1H, с); 7.62 (2H, д, J = 9.2 Гц); 6.96 (2H, д, J = 9.2 Гц); 6.70 (2H, шир. с); 6.41 (1H, с); 3.77 (3H, с).

Пример 79

4-(3-броманилино)-6-(пиперидин-1-ил)пиридо[3,4-d]пиrimидин

При обработке 4-(3-броманилино)-6-фторпиридо[3,4-d]пиrimидина (см. предыдущий эксперимент) при 100°C в автоклаве с помощью пиперидина в этаноле получают 4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,4-d]пиrimидин.

Предлагаемые способы ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста иллюстрируются следующими опытами.

Биологические опыты

Очистка тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста (далее "рецептор EGF")

Тирозинкиназу рецептора человеческого EGF изолируют из клеток А431 человеческой эпидермальной карциномы, которые сверхэкспрессируют рецептор EGF по обычным методикам. Клетки выращивают во вращающихся колбах в питательной среде из 50 % среды Дельбукко, модифицированной Иглом, и 50 % среды НАМ F-12 (Гибко), содержащей 10 % фетальной телячьей сыворотки. Примерно 10⁹ клеток лизируют в двух объемах буфера, содержащего 20 мМ (4N-[2-гидроксиэтил]пиперазин-1-ил)-этансульфоновой кислоты (Гепес), pH = 7.4, 5 мМ этиленгликоль-бис-[2-аминоэтиловый простой эфир]-N, N, N', N' - тетрауксной кислоты (ЭГТК), 1 % Тритона X-100, 10 % глицерина, 0.1 мМ ортovanадата натрия, 5 мМ фторида натрия, 4 мМ пирофосфата, 4 мМ бензамида, 1 мМ дитиореитола, 80 мкг/мл аптротинина, 40 мкг/мл лейпептина и 1 мМ фенилметилсульфонилфторида. После центрифугирования при 25000 д в течение 10 минут, супернатант (надосадочную жидкость) уравновешивают в течение 2-х часов при 4°C с 10 мл сефарозы

агглютинина зародышей пшеницы, которая была предварительно уравновешена с раствором, содержащим 50 мМ Гепес, 10 % глицерина, 0.1 % Тритона X-100 и 150 мМ хлорида натрия, pH = 7.5 (уравновешивающий буфер). Загрязняющие протеины вымывают из смолы с помощью 1 М раствора хлорида натрия в уравновешивающем буфере, и фермент элюируют 0.5 М раствором N-ацетил-1-D-глюкоз амина в уравновешивающем буфере, затем 1 мМ раствором мочевины. Фермент элюируют с помощью раствора 0.1 мг/мл EGF. Рецептор по-видимому гомогенный по оценке на полиакриламидных электрофоретических гелях, окрашенных Кумасси-голубым.

Определение концентрации ингибиования (ИК₅₀): анализы ферментов для определения ИК₅₀ проводят в общем объеме 0.1 мл, содержащем 25 мМ Гепес, pH = 7.4, 5 мМ хлорида магния, 2 мМ хлорида марганца, 50 мкМ ванадата натрия, 5-10 нг тирозинкиназы рецептора EGF, 200 мкМ пептида в качестве субстрата, (Ac-Lys-His-Lys-Lys-Leu-Ala-Glu-Gly-Ser-Ala-Tyr⁴⁷²-Glu-Glu-Val-NH₂), происходящего от аминокислоты (было показано, что Tyr⁴⁷² является одним из четырех тирозинов в PLC (фосфолипаза C)-гамма-1, который фосфорилируется тирозинкиназой рецептора EGF [Wahl M.I., Nishibe S., Кип J.W., Rhee S.G., Carpenter G., J. Biol. Chem. (1990), 265, 3944-3948], и пептиды, происходящие из последовательности фермента, окружающего этот участок, являются отличными субстратами для фермента), 10 мкМ АТФ, содержащих 1 мкКю I³²P] АТФ, и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре. Реакцию заканчивают добавлением 2 мл 75 мМ фосфорной кислоты и пропускают через фильтровальный диск диаметром 2.5 см из фосфоцеллюлозы для связывания пептида. Фильтр промывают пять раз 75 мМ фосфорной кислотой и помещают в пробирку вместе с 5 мл сцинтиллирующей жидкости (Редигель, Бекман).

Таблица 1
Ингибиование тирозинкиназы рецептора EGF

Соединение примера №	ИК ₅₀
1	8 мкМ
2	3.6 мкМ
3	1.1 мкМ
4	225 нМ
5	1.9 мкМ
6	7.6 нМ
7	3.1 нМ
8	9.6 нМ
9	405 нМ
10	6.1 мкМ
11	194 нМ
12	13 нМ
13	250 нМ
14	70 нМ
15	134 нМ
16	3.7 мкМ
17	1.55 мкМ
18	173 нМ
19	1.8 мкМ
20	4.9 мкМ

Продолжение таблицы 1

21	1.25 мкМ
22	39 нМ
23	840 нМ
24	123 нМ
25	377 нМ
26	241 нМ
27	10 нМ
28	94 нМ
29	262 нМ
30	10 мкМ
31	15 нМ
32	4.7 мкМ
33	130 пМ
34	91 пМ
35	3.1 нМ
36	29 нМ
37	39 нМ
38	71 нМ
39	590 нМ
40	578 нМ
41	220 нМ
42	226 нМ
43	10 мкМ
44	10 мкМ
45	2.87 мкМ
46	1.42 мкМ
47	1.67 мкМ
48	1.0 мкМ
49	2.5 мкМ
50	10 мкМ
51	1.95 мкМ
52	8 мкМ
53	1.8 мкМ
54	100 нМ
55	400 нМ
56	110 нМ
57	124 нМ
58	40 нМ
59	2.6 нМ
60	8 пМ

Продолжение таблицы 1

61	6 пМ
62	6.1 мкМ
63	6.1 мкМ
64	11 нМ
65	5.1 мкМ
66	190 нМ
67	6.1 мкМ
68	263 нМ
69	7.0 мкМ
70	473 нМ
71	11 нМ
72	35 нМ
73	36 нМ
74	11.5 мкМ
75	55 нМ
76	10 мкМ
78	670 нМ
79	6.7 нМ

Клетки

Фибробlastы мыши Swiss 3T3, клетки A431 человеческой эпидермальной карциномы и MCF-7 (клетки карциномы человеческой молочной железы из Мичиганского ракового фонда), SK-BR-3 (клетки карциномы человеческой молочной железы), MDA-MB-231- и MDA-MB-468- (клетки карциномы человеческой молочной железы) клетки карциномы груди были получены из Коллекции культур американского типа, Роквилл, Мериленд, и поддерживались в виде монослоев в dMEM (среде Дельбукко, модифицированной Иглом) (F12, 50:50) (Гибко)ВКЦ, содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки. Для получения кондиционированной среды, MDA-MB-231-клетки выращивают до слияния во вращающихся колбах емкостью 850 см³ и заменяют среду на 50 мл среды, не содержащей сыворотки. Через 3 дня кондиционированную среду удаляют, замораживают аликовтными порциями и используют как источник герегулина для стимуляции erbB-2, 3, 4.

Антитела

Моноклональные антитела, выведенные к PDGF (фактор роста целевого тромбоцита) рецептору или фосфотирозину, были получены из Upstate Biotechnology, Inc., Lake Placid, NY. Анти-pp39^{jun} (антитело к c-jun фактору транскрипции, который представляет собой фосфопротеин величиной 39 кДальтон) и антитела рецептора антиEGF были получены из Oncogene Science, Uniondale, NY.

Иммуноосаждение и Вестерн-блоттинг

Клетки выращивают до 100 % слияния в чашках Петри диаметром 100 мм (Корнинг). После обработки клеток в течение 5 минут с помощью или EGF (эпидермальный фактор роста), PDGF, или bFGF (основной фактор роста фибробластов) (20 нг/мл) или 1 мл кондиционированной среды от клеток MDA-MB-231, среду удаляют и монослой соскабливают в 1 мл охлажденного льдом лизирующего буфера (50 мМ Гепес, рН = 7.5, 150 мМ хлорида натрия, 10 % глицерина, 1 % Тритона X-100, 1 мМ ЭДТК (этилендиаминтетра-уксусная кислота), 1 мМ ЭГТК, 10 мМ пирофосфата натрия, 30 мМ п-нитрофенилфосфата, 1 мМ ортovanадата, 50 мМ фторида натрия, 1 мМ фенилметилсульфонилфторида, 10 мкг/мл ап-ротинина и 10 мкг/мл лейпептина). Лизат переносят в микроцен-трифужную пробирку (маленькая центрифуга, у которой имеются пластиковые центрифужные пробирки емкостью 1-2 мл), помещают на 15 минут на лед и 5 минут центрифицируют при 10000 g. Супернатант переносят в чистую микроцен-трифужную пробирку

и добавляют к этим образцам 5 мкг антитела. Пробирки центрифугируют в течение 2 часов при 4°C, после чего прибавляют 25 мкл протеин-А-сефарозы и продолжают центрифугирование еще, по крайней мере, 2 часа. Протеин-А-сефарозу промывают 5 раз с помощью раствора, содержащего 50 мМ Гепеса, pH 7.5, 150 мМ хлорида натрия, 10 % глицерина и 0.2 % азida натрия. Осадки ресуспенсируют в 30 мкл буфера Леммли (Laemmli, *Nature*, т. 727, с. 680-685, 1970), нагревают при 100°C в течение 5 минут и центрифугируют для получения супернатанта. Полный клеточный экстракт получают при соскабливании клеток, выросших на стенках пластин с шестью ячейками, в 0.2 мл кипящего буфера Леммли. Экстракт переносят в микроцентрифужную пробирку и в течение 5 минут нагревают при 100°C. Весь супернатант от иммуноосаждения или 35 мкл цельного клеточного экстракта наносят на поликарбамидный гель (4-20 %) и проводят электрофорез по методу Леммли (Laemmli, 1970). Протеины в геле электрофоретически переносят на нитроцеллюлозу и мембрану промывают один раз раствором, содержащим 10 мМ Трисбуфера, pH 7.2, 150 мМ хлорида натрия, 0.01 % Азida (буфер, называемый далее ТНА) и блокируют в течение ночи в ТНА, содержащем 5 % бычьего сывороточного альбумина и 1 % яичного альбумина (блокирующий буфер). Мембрану подвергают блоттингу в течение 2 часов с первичным антителом (1 мкг/мл в блокирующем буфере), а затем промывают последовательно 2 раза с помощью ТНА, ТНА, содержащего 0.05 % Твин-20 и 0.05 % Нони-дет П-40 (коммерчески доступный детергент), и ТНА. Затем мембранны инкубируют в течение 2 часов в блокирующем буфере, содержащем 0.1 мКю/мл (¹²⁵И)протеина-А и снова промывают, как указано выше. После сушки блоттов их вносят в кассету с пленкой и экспонируют рентгеновскую пленку X-AR в течение 1-7 дней. Протеин А является бактериальным протеином, который специфически связывает некоторые IgG подтипы, и полезен при связывании и выделении комплексов антитело-антиген.

Нозерн-блоттинг

Всю клеточную РНК изолируют из необработанного контроля или обработанных Swiss 3T3 клеток, используя RNazol-B (торговое название Tel Test Inc. для набора, используемого для изоляции РНК из тканей) и следуют рекомендациям, приведенным производителем. Загружают в 1 %-й агарозный гель 40-50 мкг РНК и проводят электрофорез в течение 3-4 часов при напряжении 65 вольт. РНК в геле переносится под действием капиллярных сил на нейлоновую мембрану (Ги-бонд-Н, Амерсхам). 40-тер-юн-Зонд метят [³²P]АТФ, используя T4 нуклеотидкиназу (Промега), и очищают на колонке с G25 сефадексом, следуя процедуре, рекомендованной производителем, Онкоген Сайенс. Гибридизацию проводят в течение ночи при 65°C (с-юн является немедленно-ранним фактором транскрипции; он является одним из компонентов AP-1, тогда как FOS является вторым компонентом AP-1).

Митогенез, опосредованный фактором роста

Выращивают фибробласти Swiss 3T3 до 90-100 % слияния на пластинках с 24 ячейками (1.7 x 1.6 см, плоское дно) и задерживают рост в несодержащей сыворотки среде в течение 18 часов. Лекарство добавляют в определенные ячейки за 2 часа до введения факторов роста, а затем клетки подвергают действию или 20 нг/мл EGF, PDGF или bFGF, или 10 % сыворотки в течение 24 часов. Добавляют 2 мКю (метил-³P)-тимицина в каждую ячейку и инкубируют 2 часа при 37°C. Клетки трипсинизируют и инжектируют в 2 мл охлажденной на льду 15 %-й трихлоруксусной кислоты. Полученный в результате осадок собирают на стекловолокнистых фильтрах, промывают пять раз по 2 мл аликовтами охлажденной на льду 15 %-й трихлоруксусной кислоты, сушат и помещают в сцинтилляционную колбу с 10 мл Редигеля (Бекман, Ирвин, СА). Определяют радиоактивность с помощью сцинтилляционного счетчика Бекмана ЛС 6800.

Анализ ингибирования роста

Клетки (2×10^4) высевают в пластины с 24 ячейками (1.7 x 1.6 см, плоское дно) в 2 мл среды с добавками или без них различных концентраций лекарства. Пластины инкубируют 3 дня при 37°C во влажной атмосфере, содержащей 5 % углекислого газа в воздухе.

Рост клеток определяют подсчетом клеток с помощью электронного счетчика клеток Культер Модель АМ (Культер Электроник, Инк.). Результаты по ингибираванию вызванного EGF аутофосфорилирования в клетках А431 эпидермальной карциномы и аутофосфорилирования, вызванного кондиционированной средой, в клетках опухоли груди SK-BR-3 соединениями настоящего изобретения сведены в таблице 2.

Таблица 2

Соединение примера №	EGFR; ИК ₅₀ (нМ)	А431; ИК ₅₀ (нМ)	SK-BR-3; ИК ₅₀ (нМ)
4	225	>1000	>10.000
6	7.6	53	2660
7	3.1	20	100
8	9.6	32	71
22	39	252	-1500
27	10	110	-800
59	2.6	12	<10
60	0.008	13	>1000
61	0.006	21	39
70	11	124	<10
74	55	>1000	>1000

Противопролиферативные свойства ингибиторов тирозинкиназы [ИК₅₀(нМ)] сведены в таблице 3.

Таблица 3

	Соединение примера 60	Соединение примера 61
BI04-1-1	2100	1000
SK-BR-3	600	900
MDA-468	3000	12000

BI04-1-1 = NIH-3T3 фибропласти, зараженные neu-онкогеном, Stem. et. al., Science, 234, с. 321-324 (1987);

SK-BR-3 = Человеческая карцинома груди, сверхэкспрессирующая erbB-2 и erbB-3; MDA-468 = Человеческая карцинома груди, сверхэкспрессирующая EGF receptor.

Вышеуказанные гели, более детально описанные в экспериментальной части, демонстрируют эффективность соединений настоящего изобретения при блокировании некоторых EGF-стимулированных митогенных сигнальных превращений в целых клетках. Числа слева от гелей указывают положения стандартов молекулярной массы в килодальтонах. Полоска меченого контроля показывает степень экспрессии относящегося к росту сигнала в отсутствие EGF стимуляции, тогда как полоска меченого EGF (или PDGF или b-FGF) показывает величину стимулированного фактором роста сигнала. Другие полоски показывают влияние установленных количеств названного лекарства на стимулированную фактором роста активность, измерение которой показывает, что соединения настоящего изобретения обладают мощным действием на целые клетки, согласованным с их способностью ингибировать тирозинкиназную активность рецептора EGF.

Гель с соединением примера 40 детектирует мРНК для c-jun путем гибридизации со специфическим радиомеченным РНК зондом для c-jun. Гель показывает, что EGF, PDGF и b-FGF факторы роста стимулируют продуцирование c-jun в клетках Swiss 3T3 и что со-

единение примера 40 блокирует это продуцирование EGF-стимулированными клетками, но не PDGF или b-FGF стимулированными клетками.

Влияние соединения примера 40 на экспрессию p39^{c-jun}, опосредованную фактором роста

Этот гель показывает количество индуцированных c-jun в Swiss 3T3 клеток под действием фактора роста EGF, PDGF и b-FGF, путем определения с помощью анти-c-jun-специфического моноклонального антитела. Он показывает способность соединения примера 40 блокировать c-jun-экспрессию в Swiss 3T3 при стимуляции EGF, но не при стимуляции PDGF или b-FGF.

Следует учитывать, что соединения, согласно изобретению, могут быть использованы в сочетании с другими компонентами для усиления их активности. Такими дополнительными компонентами являются антинепластические материалы, например, доксорубицин, таксол, циспластин. Было обнаружено, что соединения, согласно изобретению, могут ингибировать как Erb-b2, так и Erb-b4 рецепторы и, следовательно, обладают существенно высокой клинической активностью, целесообразной для сочетания с вышеупомянутыми анти-непластическими агентами.

Для иллюстрации вышеописанных биологических опытов представляются еще рисунках 1-17, по которым даются следующие пояснения.

На рис. 1 показано влияние соединений примеров 6 и 7 на рецептор EGF аутофосфорилирования при A431 человеческой эпидермальной карциноме; на рис. 2 - влияние соединения примера 8 на рецептор аутофосфорилирования при A431 человеческой эпидермальной карциноме; на рис. 3 - время ингибирования рецептора EGF аутофосфорилирования при A431 соединением примера 27; на рис. 4 - влияние соединения примера 27 на рецептор EGF аутофосфорилирования в A431 клетках; на рис. 5 - ингибирование рецептора EGF аутофосфорилирования при A431 человеческой эпидермальной карциноме соединением примера 40; на рис. 6 - влияние соединения примера 40 на фосфорилирование тирозина, опосредованное фактором роста, в Swiss 313; на рис. 7 - влияние соединения примера 40 на зависящую от фактора роста экспрессию c-jun мРНК в фибробластах мыши Swiss 3T3; на рис. 8 - влияние соединения примера 40 на экспрессию p39^{c-jun}, опосредованную фактором роста; на рис. 9 - влияние соединения примера 59 на аутофосфорилирование рецептора EGF при A431 человеческой эпидермальной карциноме; на рис. 10 - влияние соединения примера 60 на аутофосфорилирование рецептора EGF при A431 человеческой эпидермальной карциноме; на рис. 11 - влияние соединения примера 61 на аутофосфорилирование рецептора EGF при A431 человеческой эпидермальной карциноме; на рис. 12 - влияние соединения примера 70 на аутофосфорилирование рецептора EGF при A431 человеческой эпидермальной карциноме; на рис. 13 - график, показывающий ингибирование рецептора EGF тирозинкиназы соединением примера 27; на рис. 14 - график, показывающий влияние соединения примера на митогенез, опосредованный фактором роста в фибробластах мыши Swiss 3T3; на рис. 15 - фотография линии фибробластов мыши NIH 3T3, трансфицированных человеческим EGFR геном, показывающую нормально выровненную морфологию; на рис. 16 - фотография той же клеточной линии, обработанной 100 нг/мл EGF, показывающую типичную веретенообразную трансформированную морфологию; на рис. 17 - фотография той же клеточной линии в присутствии одновременно 100 нг/мл EGF и 5 мкмоль соединения примера 27, показывающую морфологию, возвращенную обратно от трансформированного типа к нормальному типу.

Фармацевтические композиции, согласно изобретению, могут выпускаться в виде разнообразных дозировочных форм для орального или парентерального применения. Дозировочные формы в качестве активных компонентов содержат вышеуказанный ингибитор.

Для получения фармацевтических композиций используют инертные, фармацевтически приемлемые носители, которые могут быть либо твердыми, либо жидкими. Твердая

форма препаратов включает порошки, таблетки, диспергируемые гранулы, капсулы, облатки и суппозитории. Твердый носитель может представлять собой одно или более веществ, которые также могут действовать как разбавители, вкусовые вещества, солюбилизаторы, придающие скользкость таблеткам агенты, суспендирующие агенты, связующие или дезинтеграторы таблеток; твердый носитель также может быть инкапсулирующим материалом. В порошках носитель представляет собой тонко измельченное твердое вещество, которое смешано с тонко измельченными активными соединениями. В таблетках активные соединения смешаны с носителем, обладающим необходимыми связывающими свойствами, в соответствующих пропорциях, и спрессованы в виде желательной формы и размера. Предпочтительно порошки и таблетки содержат от 5 или 10 % до примерно 70 % активных ингредиентов. Подходящими твердыми носителями являются карбонат магния, стеарат магния, тальк, сахар, лактоза, пектин, декстрин, крахмал, желатин, трагакант, метилцеллюлоза, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, низкоплавкие воски, масло какао, и т.п. Термин "препарат" означает совокупность активных соединений с инкапсулирующими материалами в качестве носителя, обеспечивающими образование капсулы, в которой активные компоненты (с другими носителями или без них) окружены носителем, находясь, таким образом, в ассоциации с ним. То же самое относится к облаткам. Таблетки, порошки, облатки и капсулы могут быть использованы как твердые дозировочные формы, пригодные для орального введения. Жидкая форма препаратов включает растворы, супензии и эмульсии. В качестве примера можно указать водные растворы или растворы на основе воды с пропиленгликолем для парентеральной инъекции. Жидкие препараты могут также находиться в виде раствора в водном растворе полиэтиленгликоля. Водные растворы, пригодные для орального применения, можно приготовлять путем растворения активного компонента в воде с добавлением подходящих красителей, вкусовых веществ, стабилизаторов и, если желательно, загущающих агентов. Водные супензии, пригодные для орального применения, могут быть получены путем диспергирования тонко измельченных активных компонентов в воде вместе с вязким материалом, например, природными или синтетическими смолами, камедью, метил целлюлозой, натриевой солью карбоксиметилцеллюлозы и другими хорошо известными супендирующими агентами.

Предпочтительно, фармацевтический препарат представляет собой форму единичной дозы. В такой форме препарат может быть разделен на единичные дозы, содержащие соответствующие количества ингибитора или других противораковых соединений, индивидуально или в сочетании, например, в смеси. Форма единичной дозы может находиться в упаковке, причем упаковка содержит отдельные количества препарата, например, таблетки, капсулы и порошки, упакованные во флаконы или ампулы. Форма единичной дозы также может быть капсулой, облаткой или таблеткой или она может представлять собой соответствующее количество любых из них в упаковке. Кроме того, форма единичной дозы может быть разделенной формой, содержащей в одной части ингибитор, а в другой части - другие противораковые вещества, такой как, например, разделенная капсула, разделенная упаковка или двухкамерная ампула, флакон. Количество ингибитора в единичных дозах препарата можно изменять или регулировать примерно от 0.01 до 100.0 мг/кг, предпочтительно от 0.03 до менее чем 1.0 мг/кг массы тела.

Фармацевтические композиции предпочтительно приготавливают так, что их можно вводить парентерально или орально. Растворы активных соединений в виде свободных оснований и свободных кислот или фармацевтически приемлемых солей, могут быть приготовлены в воде, смешанной с подходящим поверхостно-активным агентом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Дисперсии также могут быть приготовлены в глицерине, жидких полиэтиленгликолях и их смесях или в маслах. При обычных условиях хранения и использования эти препараты содержат консервант для предотвращения роста микроорганизмов. Фармацевтические формы, пригодные для инъекций, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций в момент употребления. Во всех случаях

форма должна быть стерильной и должна быть жидкой до такой степени, чтобы она могла легко проходить через шприц. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и должна быть предохранена от вредного воздействия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или диспергирующую среду, содержащую, например, воду, этанол, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль, и т.п.), их соответствующие смеси, и растительные масла. Соответствующую текучесть можно поддерживать, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем соблюдения требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем использования поверхностно-активных агентов. Предотвращение действия микроорганизмов можно осуществлять с помощью различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, как парагены, хлорбутанол, фенол, сорбиновая кислота, тимеросаль. Во многих случаях предпочтительно включать изотонические агенты, например, сахара или хлорид натрия. Пролонгированная абсорбация композиций для инъекций обеспечивается агентами, замедляющими абсорбацию, например, желатином. Стерильные растворы для инъекций готовят путем введения активных соединений в требующемся количестве в соответствующий растворитель с различными другими ингредиентами, перечисленными выше, по потребности, с последующей стерилизацией путем фильтрования. Обычно дисперсии готовят путем введения различных стерилизованных активных ингредиентов в стерильный эксципиент, который содержит основную диспергирующую среду и необходимые другие ингредиенты, выбираемые из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций, предпочтительными способами получения являются вакуумная сушка и сушка вымораживанием, которые обеспечивают получение порошка активных ингредиентов плюс дополнительный требуемый ингредиент из их предварительно стерильно профильтрованного раствора. Используемое здесь понятие "фармацевтически приемлемый носитель" включает любой и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и замедляющие абсорбацию агенты. Применение таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ хорошо известно специалистам в данной области техники. За исключением случаев несовместимости сред или агентов с активными ингредиентами, является возможным применение любых обычных сред или агентов в терапевтических композициях. Дополнительные активные ингредиенты также могут быть включены в композиции.

Особенно предпочтительно приготовлять парентеральные композиции в форме единичной дозы для облегчения введения и однородности дозирования. Термин "форма единичной дозы", используемый здесь, относится к физически дискретным единицам, пригодным в качестве единичных доз для подвергаемых лечению млекопитающих; каждая единица содержит заранее определенное количество активных материалов, рассчитанное для достижения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с требующимся фармацевтическим носителем. Состав новых форм единичных доз, согласно изобретению, обусловлен и непосредственно зависит от (а) индивидуальных характеристик активных веществ и конкретно ожидаемого терапевтического эффекта и (б) от ограничения, свойственного технологии смешивания таких активных веществ, для лечения пациентов, страдающих вышеуказанными заболеваниями. Основные активные ингредиенты смешивают для удобного и эффективного введения в эффективных количествах с фармацевтически пригодным носителем в форме единичной дозы, как описано выше. Форма единичной дозы для парентерального введения может, например, содержать основное активное соединение, например, ингибитор, в количествах примерно от 0.5 до примерно 100 мг, предпочтительно в пределах 0.1-50 мг. Суточные дозы для парентерального введения млекопитающим находятся в пределах от 0.01 до 10 мг/кг массы тела. Предпочтительная суточная доза составляет 0.1 - 1 мг/кг. Для оральных доз, суточное количество активного соединения может находиться в пределах от 0.01 мг/кг массы тела млекопитающего до 100 мг/кг, предпочтительно 0.1 - 10 мг/кг массы тела. Соединения, согласно изобретению,

могут образовывать хорошо известные фармацевтически приемлемые соли, такие как соли щелочных металлов и другие обычные основные соли или соли присоединения кислот. Указания на основные вещества, следовательно, означают включение этих общеизвестных солей, практически эквивалентных родственному соединению и его гидратам. Далее, соединения, согласно изобретению, способны образовывать фармацевтически приемлемые соли присоединения как кислот, так и/или соли присоединения оснований. Все эти формы входят в рамки настоящего изобретения. Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислот активных соединений включают соли, производимые от нетоксичных неорганических кислот, таких как соляная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота, серная кислота, бромоводородная кислота, иодоводородная кислота, фтороводородная кислота, фосфоновая кислота и т.п., а также соли, производимые от нетоксичных органических кислот, таких как алифатические моно- и дикарбоновые кислоты, фенил-замещенные алкановые кислоты, гидроксиалкановые кислоты, алкандиновые кислоты, ароматические кислоты, алифатические и ароматические сульфоновые кислоты и т.п. Такие соли, следовательно, включают сульфат, пиросульфат, бисульфат, сульфит, бисульфит, нитрат, бромид, иодид, ацетат, трифторацетат, пропионат, каприлат, изобутират, оксалат, малонат, сукцинат, соль пробковой кислоты, себацинат, фумарат, ма-леат, соль миндальной кислоты, бензоат, хлорбензоат, метилбензоат, динитробензоат, фталат, бензолсульфонат, толуолсульфонат, фенилацетат, цитрат, лактат, тартрат, метансульфонат, и т.п. Также пригодными являются соли аминокислот, такие как аргинат и т.п. и глюконат, галактуронат (см., например, Berge S.M. и др., "Pharmaceutical Salts" Journal of Pharmaceutical Science, 66, с. 1-19, 1977).

Соли присоединения кислот вышеуказанных основных соединений получают путем контактирования формы свободного основания с достаточным количеством желательной кислоты, получая соль обычным образом. Предпочтительно активное соединение можно превращать в кислую соль путем обработки раствором желательной кислоты так, чтобы результирующее значение pH было ниже 4. Раствор можно пропускать через колонку с C₁₈-фазой, чтобы абсорбировать соединение, промывать обильным количеством воды, элюировать соединение полярным органическим растворителем, таким как, например, метанол, ацетонитрил и т.п., и выделять путем концентрирования при пониженном давлении с последующей лиофилизацией. Форма свободного основания может быть регенерирована путем введения солевой формы в контакт с основанием и выделения свободного основания обычным образом. Формы свободных оснований отчасти отличаются от их соответствующих солевых форм некоторыми физическими свойствами, такими как растворимость в полярных растворителях, однако в других отношениях, для целей настоящего изобретения, соли эквивалентны соответствующим им свободным основаниям.

Фармацевтически приемлемые соли присоединения оснований представляют собой соли металлов или аминов, таких как щелочные и щелочно-земельные металлы и органические амины. Примерами металлов, используемых в качестве катионов, являются натрий, калий, магний, кальций и т.п. Примерами пригодных аминов являются N,N-дibenзилэтилендиамин, этилендиамин, N-метилглюкамин и прокайн (см., например, Berge S.M. и др., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 66, с. 1-19, 1977).

Основные соли присоединения вышеуказанных кислых соединений получают путем введения в контакт свободной кислотной формы с достаточным количеством желательного основания с получением соли обычным образом. Предпочтительно, активное соединение может быть превращено в основную соль путем обработки водным раствором желательного основания так, чтобы результирующее значение pH было выше 9. Раствор можно пропускать через колонку с C₁₈-фазой, чтобы абсорбировать соединение, промывать обильным количеством воды, элюировать соединение полярным органическим растворителем, таким как, например, метанол, ацетонитрил и т.п., и выделять путем концентрирования при пониженном давлении с последующей лиофилизацией. Свободная кислотная форма может быть регенерирована путем контактирования солевой формы с

кислотой и выделения свободной кислоты обычным образом. Свободные кислотные формы отчасти отличаются от их соответствующей солевой формы некоторыми физическими свойствами, такими как растворимость в полярных растворителях, однако в других отношениях, для целей настоящего изобретения, соли являются эквивалентными соответствующим им свободным кислотам.

Некоторые из соединений настоящего изобретения могут существовать в несольватированных формах, а также в сольватированных формах, включая гидратированные формы. Обычно сольватированные формы, включая гидратированные формы, являются эквивалентными несольватированным формам и, следовательно, входят в рамки настоящего изобретения.

Некоторые из соединений настоящего изобретения содержат один или несколько хиральных центров, и такой центр может существовать в R(D) - или S(L) - конфигурации. Настоящее изобретение включает все энантиомерные и эпимерные формы, а также их соответствующие смеси.

Предлагаемые фармацевтические композиции иллюстрируются следующими примерами.

Пример 80

Таблетки следующего состава:

60 мг активного вещества, например, целевого продукта примера 1,

45 мг крахмала,

35 мг микрокристаллической целлюлозы,

4 мг поливинилпирролидона в виде 10 %-ного раствора в воде,

4.5 мг натриевой соли карбоксиметилового крахмала,

0.5 мг стеарата магния,

1.0 мг талька приготовляют следующим образом.

Активное вещество, крахмал и целлюлозу пропускают через сито с размером отверстий 45 меш, после чего тщательно перемешивают. Получаемый порошок смешивают с раствором поливинилпирролидона, и получаемую смесь пропускают через сито с размером отверстий 14 меш. Получаемые гранулы сушат при 50 - 60°C, после чего пропускают через сито с размером отверстий 18 меш и смешивают со смесью натриевой соли карбоксиметилового крахмала, стеарата, магния и талька, предварительно пропущенной через сито с размером отверстий 60 меш. Получаемую смесь перерабатывают в таблетки весом 150 мг.

Пример 81

Парентеральный препарат состава:

100 мг активного вещества, например, целевого продукта примера 17,

250 мл 0.9 %-ного водного хлористого натрия приготовляют путем интенсивного перемешивания. pH препарата: 7.0.

Пример 82

Инъекционный раствор состава:

20.0 г активного вещества, например, целевого продукта примера 28,

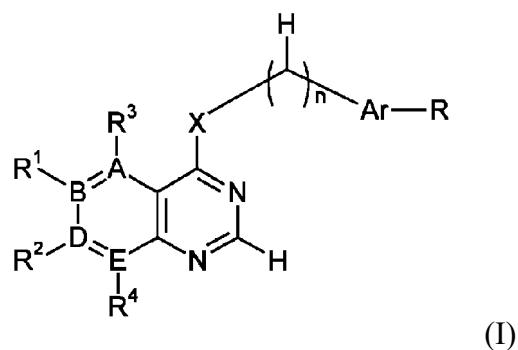
700 мл пропиленгликоля,

200 мл воды для инъекций

смешивают, стерилизуют, наполняют в ампулы емкостью 50 мл, которые герметично закрывают в атмосфере азота.

Формула изобретения

1. Способ ингибирования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста при лечении млекопитающего путем введения млекопитающему бициклического производного, отличающегося тем, что в качестве бициклического производного используют бициклическое производное пирамидина общей формулы (I)



где

1 - 2 из радикалов А - Е означает азот, а остальные радикалы - углерод или два смежных радикала А - Е вместе представляют гетероатом из группы азот, сера, при этом А - Е вместе с прилегающими атомами углерода означают пиридиновое, пиридиновое, тиенильное, пиррольное, имидазольное кольцо, Х - группы NH, NHR⁵, где R⁵ означает низший алкил с 1 - 4 атомами углерода, n - 0, 1 или 2, R - отсутствует или означает водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алcoxил с 1 - 4 атомами углерода, нитрогруппу, галоген, перфторалкил с 1 - 4 атомами углерода, гидроксил, аминогруппа, моно- или dialkylaminogруппа с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, Ar - фенил, тиенил, R¹, R², R³ и R⁴ независимо друг от друга отсутствуют или означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алcoxил с 1 - 4 атомами углерода, ацилокси с 1 - 4 атомами углерода, аминогруппу, моно- или dialkyl-аминогруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, ациламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода, при этом а) по крайней мере один из радикалов R¹ - R⁴ имеет значение, отличное от водорода, низшего алкила с 1 - 4 атомами углерода или алcoxила с 1 - 4 атомами углерода; б) если Е и В означают азот, D и А - углерод, R¹ и R² отсутствуют, R³ - водород, X - NH, n - 0, 1 или 2, Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - тиенил, то R² имеет значение, отличное от водорода, амино или моно- или dialkylaminogруппы с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части, или его фармацевтически приемлемую соль в эффективном количестве.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором Х означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, B, D и E - углерод, радикал А - азот, один из радикалов R¹ или R² означает водород, а другой - алcoxил с 1 - 4 атомами углерода.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором Х означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, B, D и E - углерод, радикал А - азот, один из радикалов R¹ или R² означает водород, а другой - аминогруппу.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором Х означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, B, D и E - углерод, радикал А - азот, один из радикалов R¹ или R² означает водород, а другой - моно- или dialkylaminogруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором Х означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, B, D и E - углерод, радикал А - азот, один из радикалов R¹ или R² означает водород, а другой - алкил с 1 - 4 атомами углерода.

6. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором Х означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в

другой - моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе.

21. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A, B и D - углерод, радикал E - азот, один из радикалов R¹ или R² означает водород, а другой - алкил с 1 - 4 атомами углерода.

22. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A, B и D - углерод, радикал E - азот, радикалы R¹ и R² означают алкооксил с 1 - 4 атомами углерода.

23. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0

или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A, B и D - углерод, радикал E - азот, радикалы R¹ и R² означают алкил с 1 - 4 атомами углерода.

24. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A, B и D - углерод, радикал E - азот, один из радикалов R¹ или R² означает аминогруппу, а другой - алкооксил с 1 - 4 атомами углерода.

25. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A, B и D - углерод, радикал E - азот, один из радикалов R¹ или R² означает моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, а другой - алкооксил с 1 - 4 атомами углерода.

26. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A и D - углерод, B и E - азот, а R² - алкооксил с 1 - 4 атомами углерода.

27. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A и D - углерод, B и E - азот, R² - моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе.

28. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A и D - углерод, B и E - азот, R² - аминогруппу.

29. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п. 1, B и D - означают углерод, A и E - азот, а R¹ и R² - алкооксил с 1 - 4 атомами углерода.

30. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п. 1, B и D - углерод, A и E - азот, а R¹ и R² - моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе.

31. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, B и D - углерод, A и E - азот, один из радикалов R¹ или R² означает алкооксил, а другой - моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода.

32. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, A и B вместе означают атом азота, D и E - углерод, или же A и B - углерод, а D и E вместе означают атом азота, R¹ и R² означают водород, алкил с 1 - 4 атомами, алкооксил с 1 - 4 атомами углерода, аминогруппу или же моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе.

33. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в

п.1, А и В вместе означают атом серы, D - азот, Е - углерод, или А и В вместе означают атом углерода, D - азот, Е - серу, R^{1/4} означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, аллоксил с 1 - 4 атомами углерода или жеmono- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе.

34. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X означает NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п. 1, А и В вместе означают атом азота, D - азот, Е - углерод, R^{1/4} означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, аллоксил с 1 - 4 атомами углерода или же mono- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, если они связаны с углеродом.

35. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение формулы (I) в виде отдельных стереоизомеров или рацемических и/или диастереомерных смесей.

36. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, D и Е - углерод, В - азот и R² - аллоксил с 1 - 4 атомами углерода.

37. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, D и Е - углерод, В - азот и R² - аминогруппа.

38. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, D и Е - углерод, В - азот и R² - моно- или диалкиламиногруппа с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе.

39. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, D и Е - углерод, В - азот и R² - аллоксил с 1 - 4 атомами углерода.

40. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, D и Е - углерод, В - азот и R² - алкил с 1 - 4 атомами углерода.

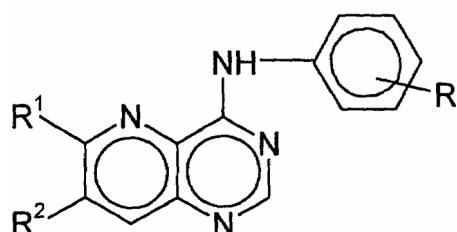
41. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, В и Е - углерод, D - азот и R¹ - аллоксил с 1 - 4 атомами углерода.

42. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, В и Е - углерод, D - азот и R¹ - аминогруппа.

43. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, В и Е - углерод, D - азот и R¹ - моно- или диалкиламиногруппа с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе.

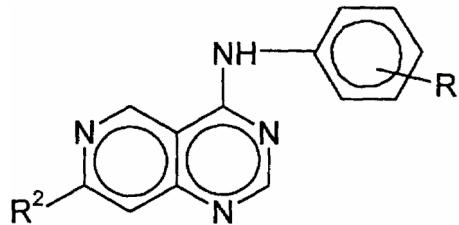
44. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, в котором X - группа NH, n = 0 или 1, Ar - R-замещенный фенил, где R имеет значения, указанные в п.1, А, В и Е - углерод, D - азот и R¹ - алкил с 1 - 4 атомами углерода.

45. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение следующей циклической структуры:



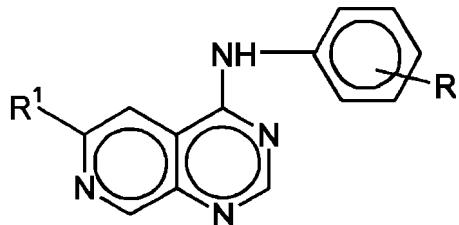
где R, R¹ и R² имеют указанные в п.1 значения.

46. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение следующей циклической структуры:



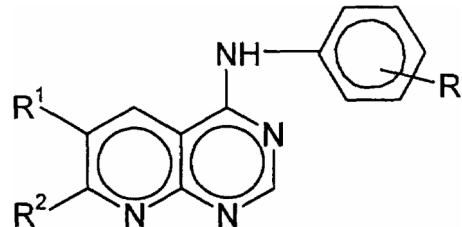
где R и R² имеют указанные в п.1 значения.

47. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение следующей циклической структуры:



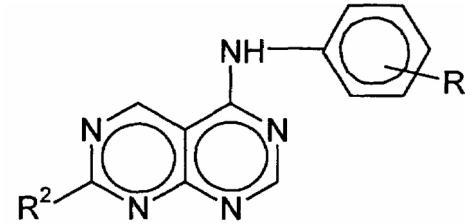
где R и R¹ имеют указанные в п.1 значения.

48. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение следующей циклической структуры:



где R, R¹ и R² имеют указанные в п.1 значения.

49. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение следующей циклической структуры:

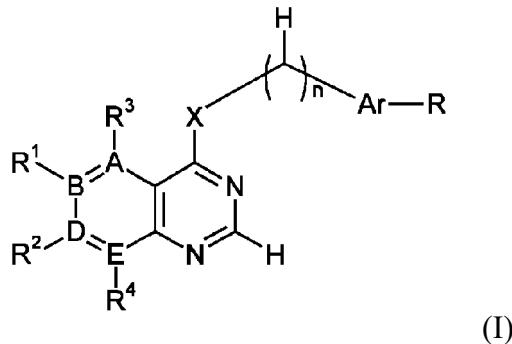


где R и R² имеют указанные в п. 1 значения.

50. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют соединение, выбранное из группы, включающей 6-амино-4-(3-броманилино)пиридо[3,2-d] пиридин; 4-(3-броманилино)-6-метиламинопиридо[3,2-d]пиридин; 4-(3-броманилино)-6-диметиламино-пиридо[3,2-d]пиридин; 7-амино-4-(3-нитроанилино)пиридо [4,3-d]пиридин; 7-амино-4-(3-броманилино) пиридо[4,3-d]-пиридин; 7-амино-4-(4-броманилино) пиридо[4,3-d]пиридин; 7-амино-4-(3-трифторметиланилино) пиридо[4,3-d]пиридин; 7-ацетил-амино-4-(3-броманилино) пиридо [4,3-d] пиридин; 4-бензиламинопиридо[4,3-d]пиридин; 7-ацетамидо-4-бензиламинопиридо[4,3-d]пиридин; 4-(3-броманилино)-6-хлорпиридо[3,4-d]пиридин; 4-(3-броманилино)-6-метоксипиридо-[3,4-d]пиридин; 4-(3-броманилино)-6-метиламинопиридо[3,4-d]пиридин; 4-(3-броманилино) - 6-диметиламинопиридо [3,4-d]пиридин; 4-(3-броманилино)-тиено[3,4-d]пиридин; 4-

бензиламинотиено[3,4-d]пирамидин; 4-(3-броманилино)-тиено[3,2-d]пирамидин; 4-бензиламинотиено [3,2-d]пирамидин; 4-(3-броманилино)-тиено [2,3-d] пирамидин; и N⁶-(3-бромфенил) аденин.

51. Бициклические производные пирамидина общей формулы I:



где

1 - 2 из радикалов А - Е означает азот, а остальные радикалы - углерод или два смежных радикала А - Е вместе представляют гетероатом из группы азот, сера, при этом А - Е вместе с прилегающими атомами углерода означают пиридиновое, пирамидиновое, тиенильное, пиррольное, имидазольное кольцо,

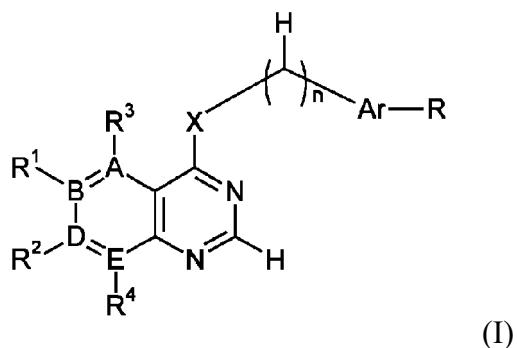
Х - группы NH, NHR⁵, где R⁵ означает низший алкил с 1 - 4 атомами углерода, n - 0, 1 или 2,

R - отсутствует или означает водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алcoxил с 1 - 4 атомами углерода, нитрогруппу, галоген, перфторалкил с 1 - 4 атомами углерода, гидроксил, аминогруппу, моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, Ar - фенил, тиенил;

R¹, R², R³ и R⁴ независимо друг от друга отсутствуют или означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алcoxил с 1 - 4 атомами углерода, ацилокси с 1 - 4 атомами углерода, аминогруппу, моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, ациламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода, при этом а) по крайней мере один из радикалов R¹ - R⁴ имеет значение, отличное от водорода, низшего алкила с 1 - 4 атомами углерода или алcoxила с 1 - 4 атомами углерода; б) если Е и В означают азот, D и А - углерод, R¹ и R⁴ отсутствуют, R³ - водород, X - NH, n = 0, 1 или 2, Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - тиенил, то R² имеет значение, отличное от водорода, амино или моно- или диалкиламиногруппы с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части, их отдельные стереоизомеры, рацемат или смесь диастереомеров или их фармацевтические соли или гидраты.

52. Бициклические производные пирамидина общей формулы (I) по п.51, выбранные из группы, включающей 6-амино-4-(3-броманилино)пиридо[3,2-d]-пирамидин; 4-(3-броманилино)-6-метиламинопиридо[3,2-d]пирамидин; 4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,2-d]пирамидин; 7-амино-4-(3-нитроанилино)пиридо[4,3-d]пирамидин; 7-амино-4-(3-броманилино)пиридо[4,3-d]пирамидин; 7-амино-4-(4-броманилино)пиридо[4,3-d]пирамидин; 7-амино-4-(3-трифторометиланилино)пиридо[4,3-d]пирамидин; 7-ацетиламино-4-(3-броманилино) пиридо[4,3-d] пирамидин; 7-ацетамидо-4-бензиламино-пиридо [4,3-d]пирамидин; 4-(3-броманилино)-6-диметиламинопиридо[3,4-d]-пирамидин.

53. Фармацевтическая композиция, обладающая ингибитирующей тирозинкиназу рецептора эпидермального фактора роста активностью, включающая бициклическое соединение в смеси с фармацевтически приемлемым эксципиентом, разбавителем или носителем, отличающейся тем, что в качестве бициклического соединения она содержит бициклическое производное пирамидина общей формулы (I)

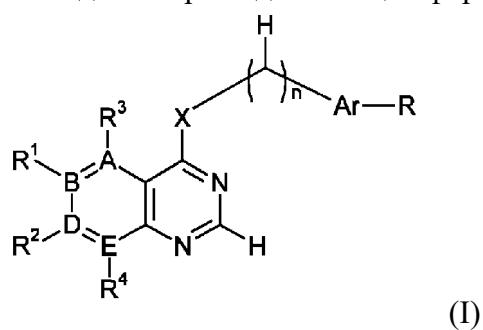


где

1 - 2 из радикалов А - Е означает азот, а остальные радикалы - углерод или два смежных радикала А - Е вместе представляют гетероатом из группы азот, сера, при этом А - Е вместе с прилегающими атомами углерода означают пиридиновое, пиримидиновое, тиенильное, пиррольное, имидазольное кольцо,

Х - группы NH, NHR⁵, где R⁵ означает низший алкил с 1 - 4 атомами углерода, n - 0, 1 или 2, R - отсутствует или означает водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алкоксил с 1 - 4 атомами углерода, нитрогруппу, галоген, перфторалкил с 1 - 4 атомами углерода, гидроксил, аминогруппа,mono- или диалкиламиногруппа с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, Ar - фенил, тиенил, R¹, R², R³ и R⁴ независимо друг от друга отсутствуют или означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алкоксил с 1 - 4 атомами углерода, ацилокси с 1 - 4 атомами углерода, аминогруппу, mono- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, ациламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода, при этом а) по крайней мере один из радикалов R¹ - R⁴ имеет значение, отличное от водорода, низшего алкила с 1 - 4 атомами углерода или алкоксила с 1 - 4 атомами углерода; б) если Е и В означают азот, D и А - углерод, R¹ и R⁴ отсутствуют, R³ - водород, X - NH, n = 0, 1 или 2, Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - тиенил, то R² имеет значение, отличное от водорода, амино или mono- или диалкиламиногруппы с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части, или его фармацевтическую соль в эффективном количестве.

54. Способ ингибиования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста при лечении раковых заболеваний путем введения млекопитающему бициклического производного, отличающегося тем, что в качестве бициклического производного используют бициклическое производное пиримидина общей формулы (I)



где

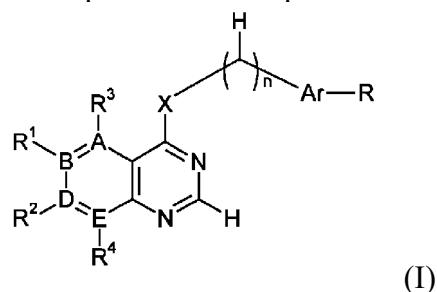
1 - 2 из радикалов А - Е означает азот, а остальные радикалы - углерод или два смежных радикала А - Е вместе представляют гетероатом из группы азот, сера, при этом А - Е вместе с прилегающими атомами углерода означают пиридиновое, пиримидиновое, тиенильное, пиррольное, имидазольное кольцо,

Х - группы NH, NHR⁵, где R⁵ означает низший алкил с 1 - 4 атомами углерода, n = 0, 1 или 2,

R - отсутствует или означает водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алкоксил с 1 - 4 атомами углерода, нитрогруппу, галоген, перфторалкил с 1 - 4 атомами углерода, гидроксил, аминогруппа, моно- или диалкиламиногруппа с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, Ar - фенил, тиенил,

R¹, R², R³ и R⁴ независимо друг от друга отсутствуют или означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алкоксил с 1 - 4 атомами углерода, ацилокси с 1 - 4 атомами углерода, аминогруппу, моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, ациламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода, при этом а) по крайней мере один из радикалов R¹ - R⁴ имеет значение, отличное от водорода, низшего алкила с 1 - 4 атомами углерода или алкоксила с 1 - 4 атомами углерода; б) если Е и В означают азот, D и A - углерод, R¹ и R⁴ отсутствуют, R³ - водород, X - NH, n = 0, 1 или 2, Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - тиенил, то R² имеет значение, отличное от водорода, амино или моно- или диалкиламиногруппы с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части, или его фармацевтически приемлемую соль в эффективном количестве.

55. Способ ингибиования тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста для предотвращения имплантации бластоцита путем введения млекопитающему бициклического соединения, отличающегося тем, что в качестве бициклического соединения используют бициклическое производное пириимида общей формулы (I)



где

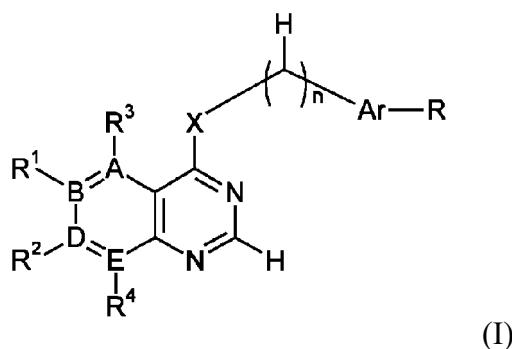
1 - 2 из радикалов А - Е означает азот, а остальные радикалы - углерод или два смежных радикала А - Е вместе представляют гетероатом из группы азот, сера, при этом А - Е вместе с прилегающими атомами углерода означают пиридиновое, пириимидиновое, тиенильное, пиррольное, имидазольное кольцо,

X - группы NH, NHR⁵, где R⁵ означает низший алкил с 1 - 4 атомами углерода, n = 0, 1 или 2,

R - отсутствует или означает водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алкоксил с 1 - 4 атомами углерода, нитрогруппу, галоген, перфторалкил с 1 - 4 атомами углерода, гидроксил, аминогруппа, моно- или диалкиламиногруппа с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, Ar - фенил, тиенил,

R¹, R², R³ и R⁴ независимо друг от друга отсутствуют или означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алкоксил с 1 - 4 атомами углерода, ацилокси с 1 - 4 атомами углерода, аминогруппу, моно- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, ациламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода, при этом а) по крайней мере один из радикалов R¹ - R⁴ имеет значение, отличное от водорода, низшего алкила с 1 - 4 атомами углерода или алкоксила с 1 - 4 атомами углерода; б) если Е и В означают азот, D и A - углерод, R¹ и R⁴ отсутствуют, R³ - водород, X-NH, n = 0, 1 или 2, Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - тиенил, то R² имеет значение отличное от водорода, амино или моно- или диалкиламиногруппы с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части, или его фармацевтически приемлемую соль в эффективном количестве.

56. Композиция, обладающая контрацептивным действием, включающая бициклическое соединение в смеси с контрацептивно приемлемым эксципиентом, разбавителем или носителем, отличающаяся тем, что в качестве бициклического соединения она содержит бициклическое производное пиримидина общей формулы (I)



где 1 - 2 из радикалов А - Е означает азот, а остальные радикалы - углерод или два смежных радикала А - Е вместе представляют гетероатом из группы азот, сера, при этом А - Е вместе с прилегающими атомами углерода означают пиридиновое, пиримидиновое, тиенильное, пиррольное, имидазольное кольцо,

Х - группы NH, NHR⁵, где R⁵ означает низший алкил с 1 - 4 атомами углерода, n = 0, 1 или 2,

R - отсутствует или означает водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алcoxил с 1 - 4 атомами углерода, нитрогруппу, галоген, перфторалкил с 1 - 4 атомами углерода, гидроксил, аминогруппу,mono- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, Ar - фенил, тиенил;

R¹, R², R³ и R⁴ независимо друг от друга отсутствуют или означают водород, алкил с 1 - 4 атомами углерода, алcoxил с 1 - 4 атомами углерода, ацилокси с 1 - 4 атомами углерода, аминогруппу, mono- или диалкиламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной группе, ациламиногруппу с 1 - 4 атомами углерода, при этом а) по крайней мере один из радикалов R¹ - R⁴ имеет значение, отличное от водорода, низшего алкила с 1 - 4 атомами углерода или алcoxила с 1 - 4 атомами углерода; б) если Е и В означают азот, D и А - углерод, R¹ и R⁴ отсутствуют, R³ - водород, X - NH, n = 0, 1 или 2, Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - фенил, замещенный галогеном, амино или гидроксилом, или если n означает 1 или 2 и Ar - тиенил, то R² имеет значение, отличное от водорода, амино или mono- или диалкиламиногруппы с 1 - 4 атомами углерода в каждой алкильной части, или его фармацевтическую соль в эффективном количестве.

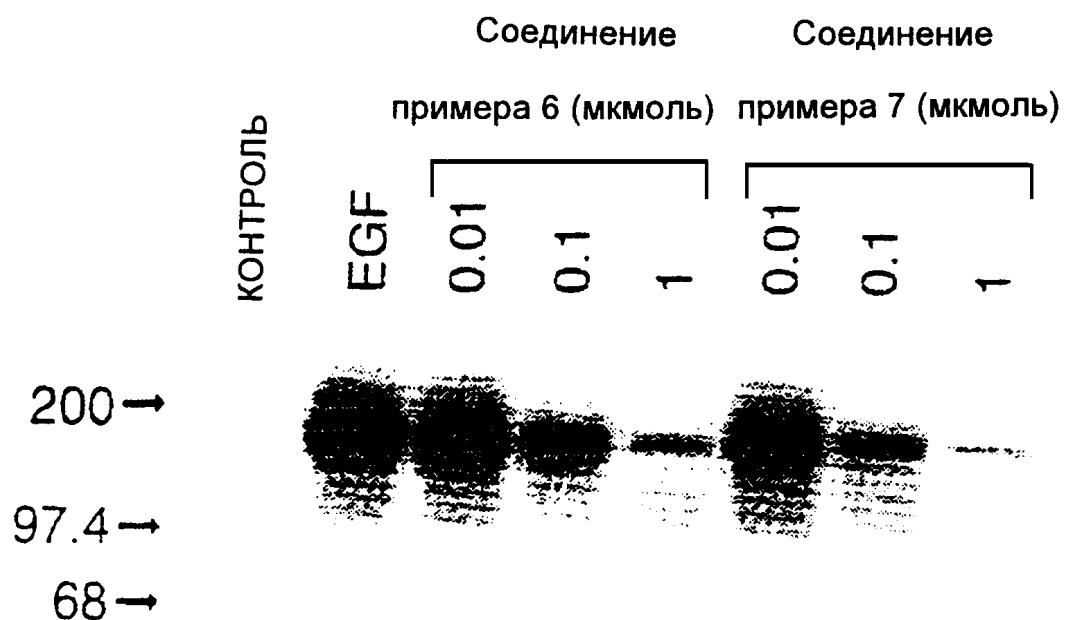


Рис. 1

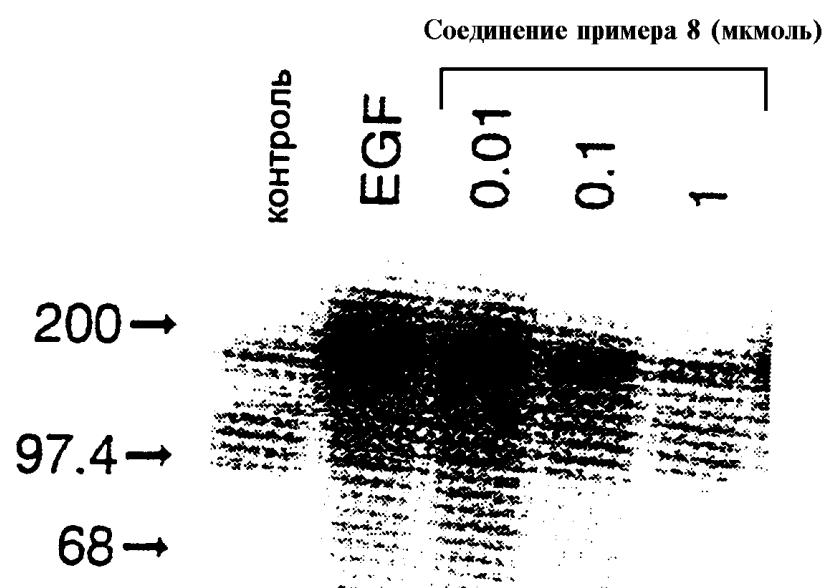


Рис. 2

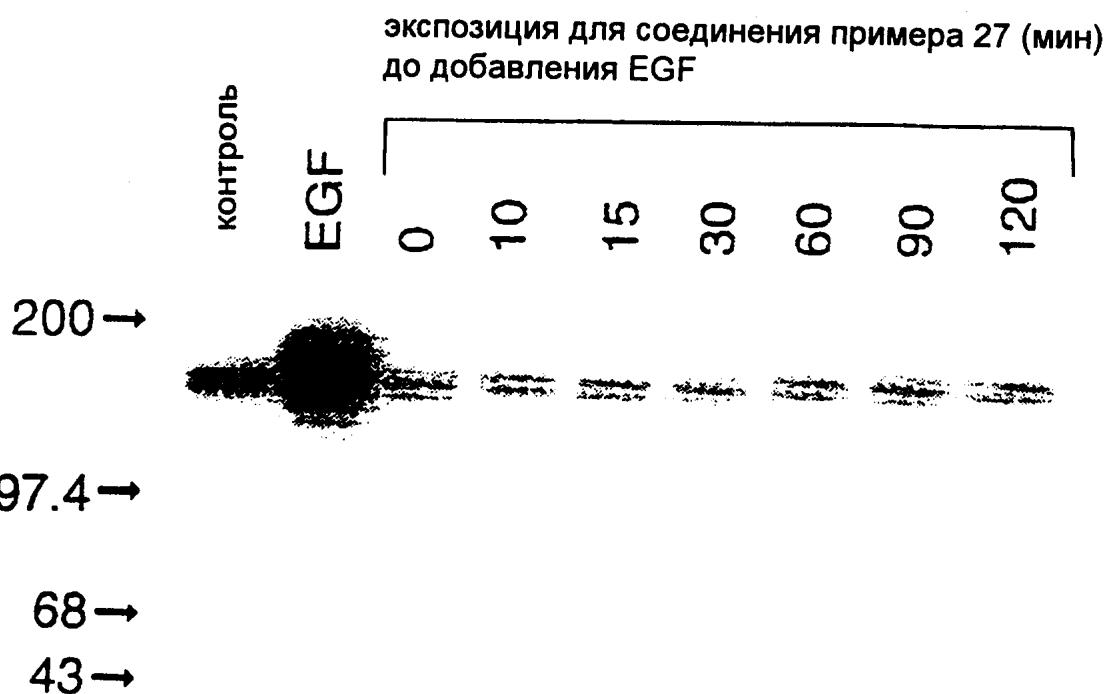


Рис. 3

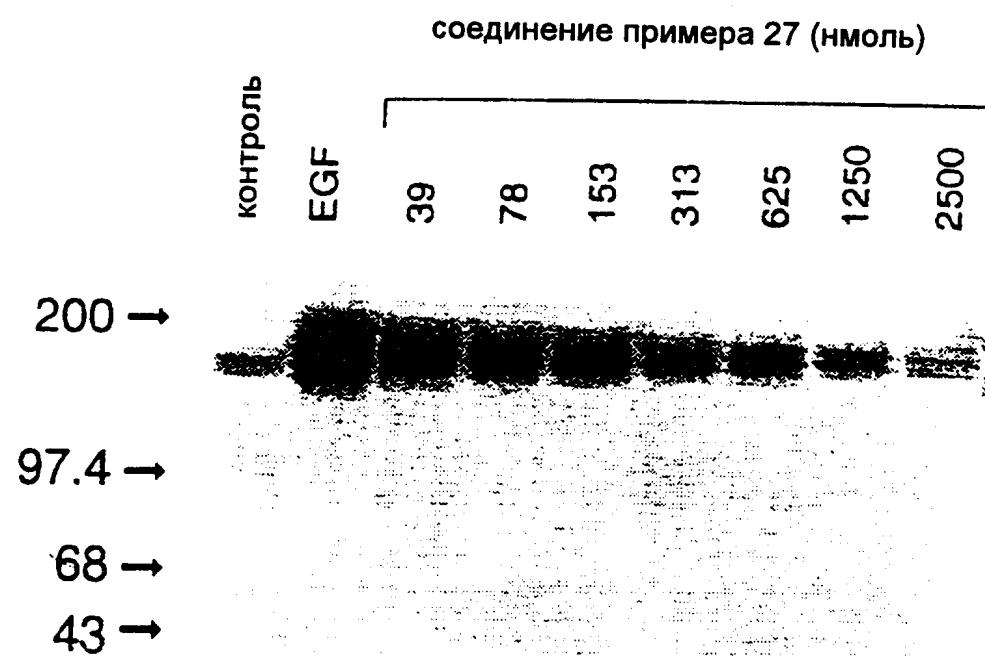


Рис. 4

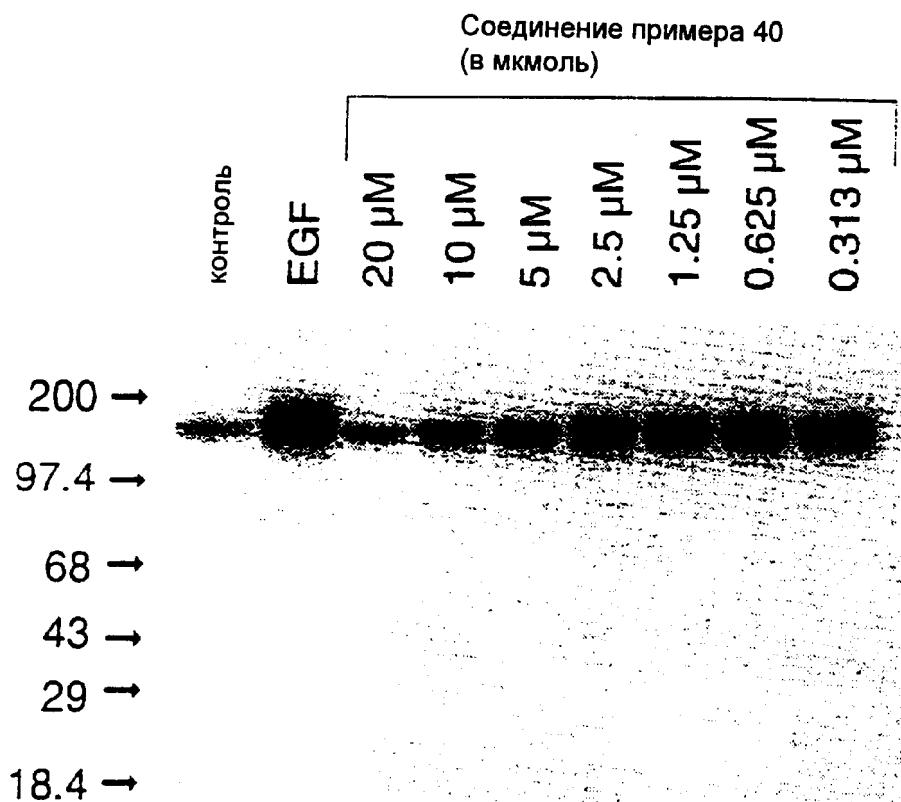


Рис. 5

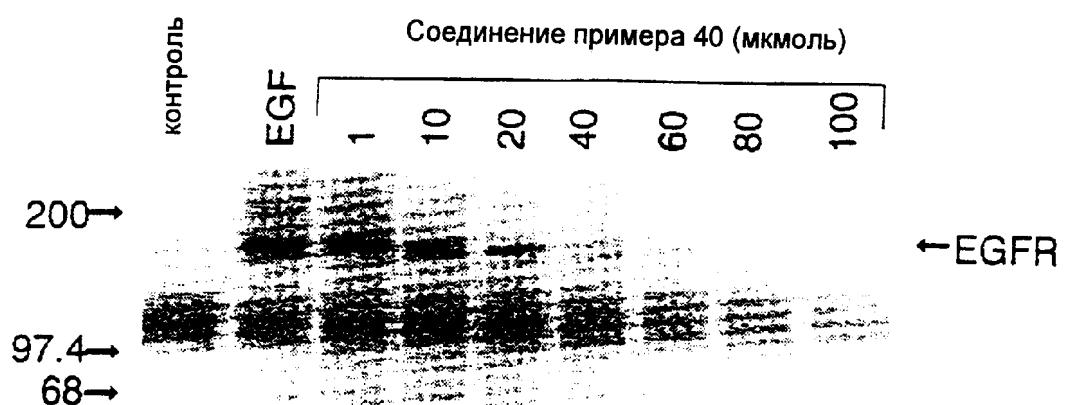


Рис. 6А



Рис. 6Б

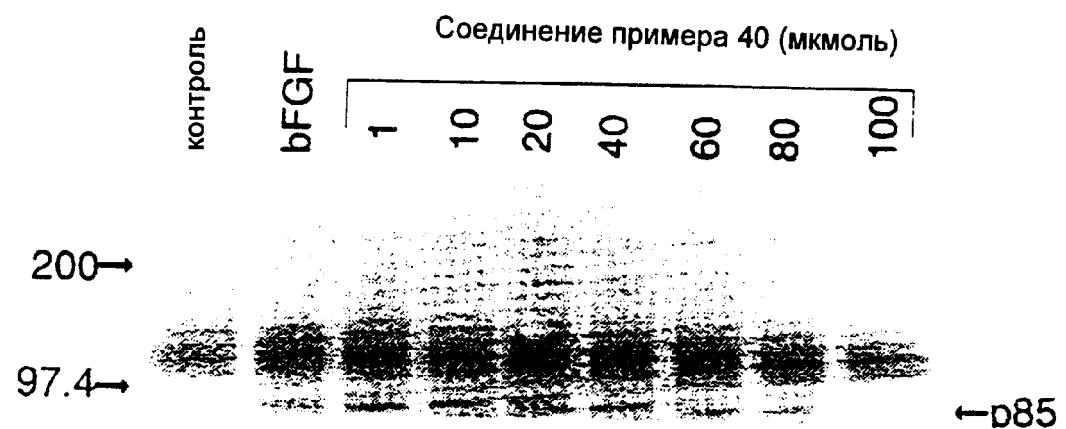


Рис. 6В

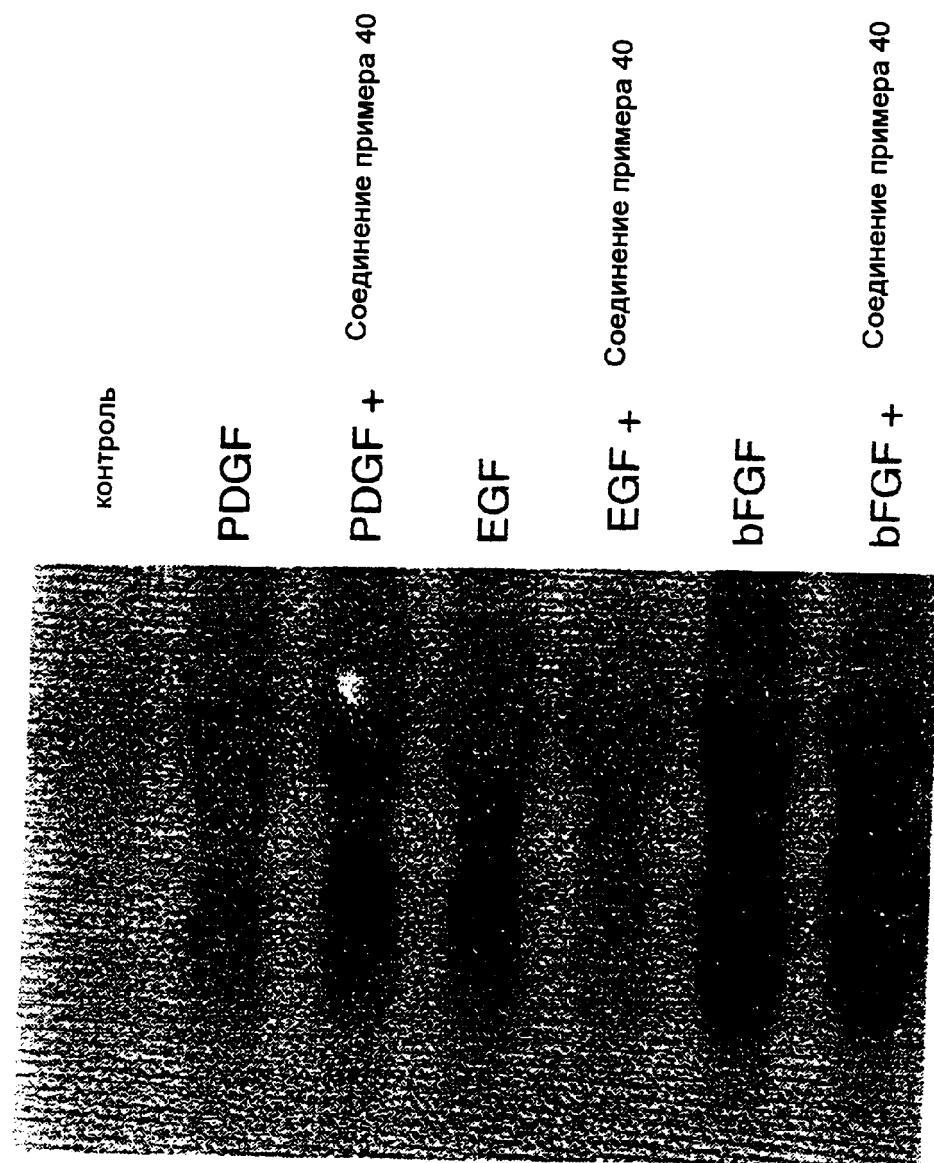


Рис. 7

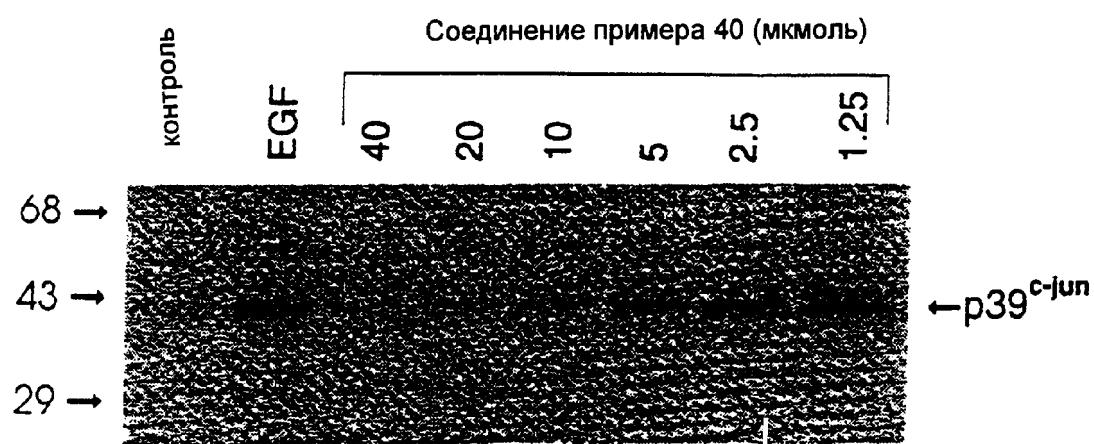


Рис. 8А

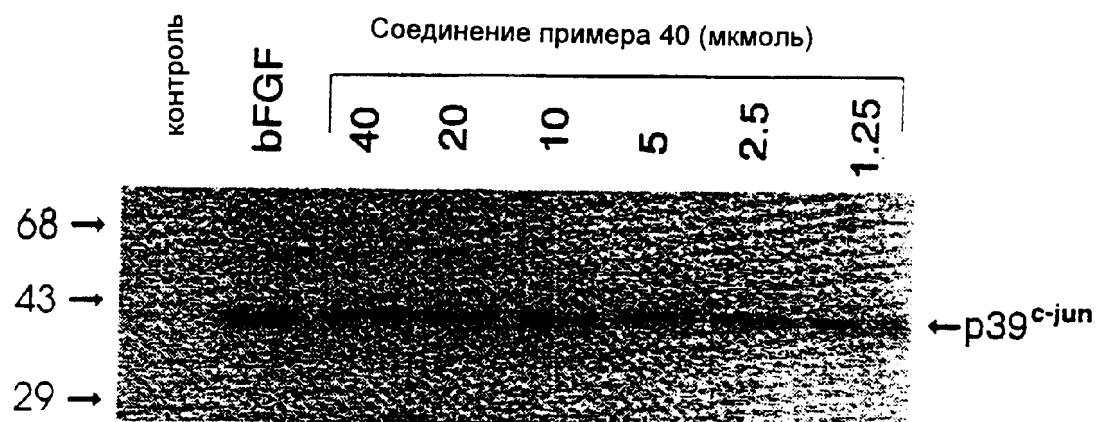


Рис. 8Б

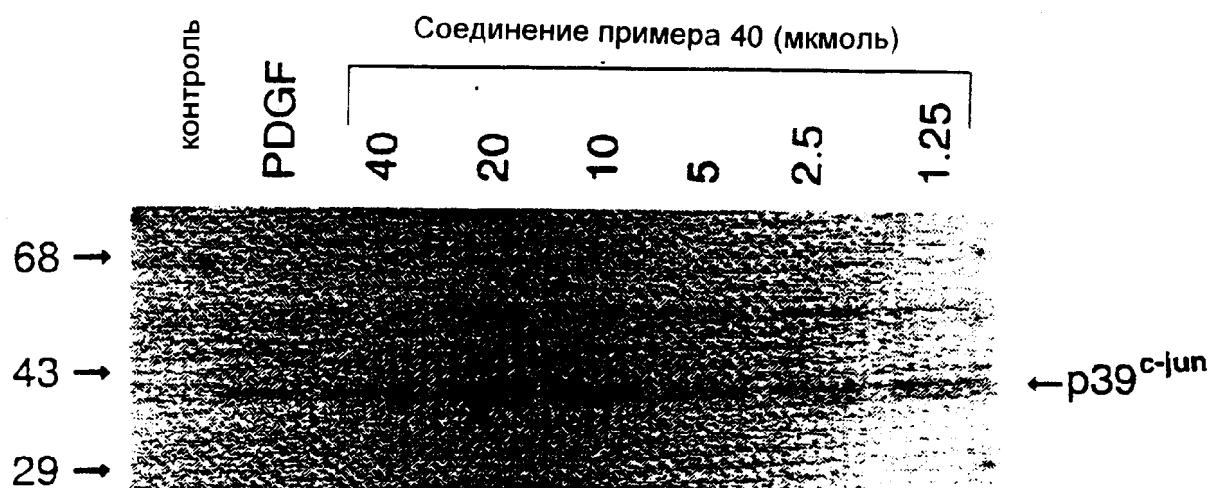


Рис. 8В

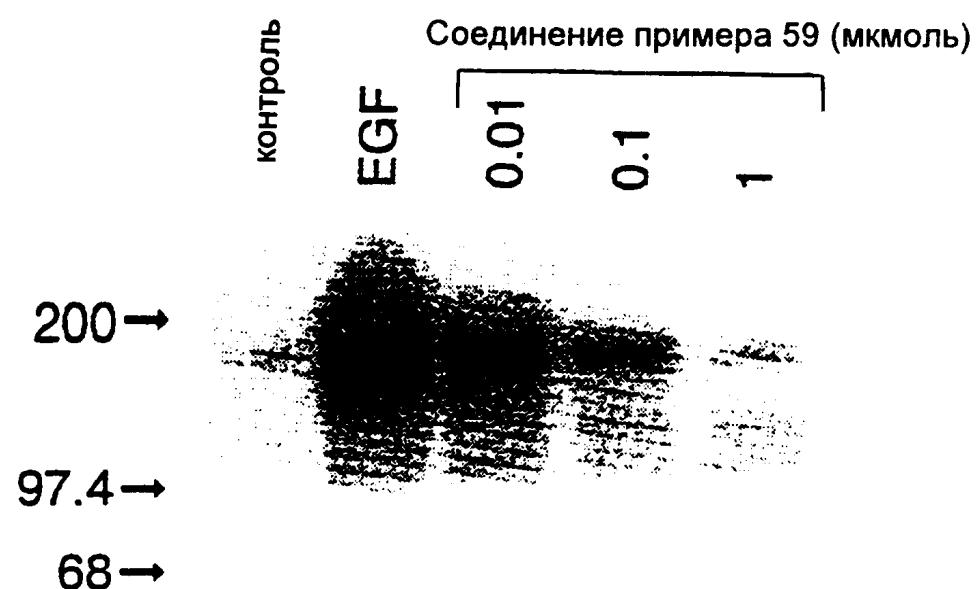


Рис. 9

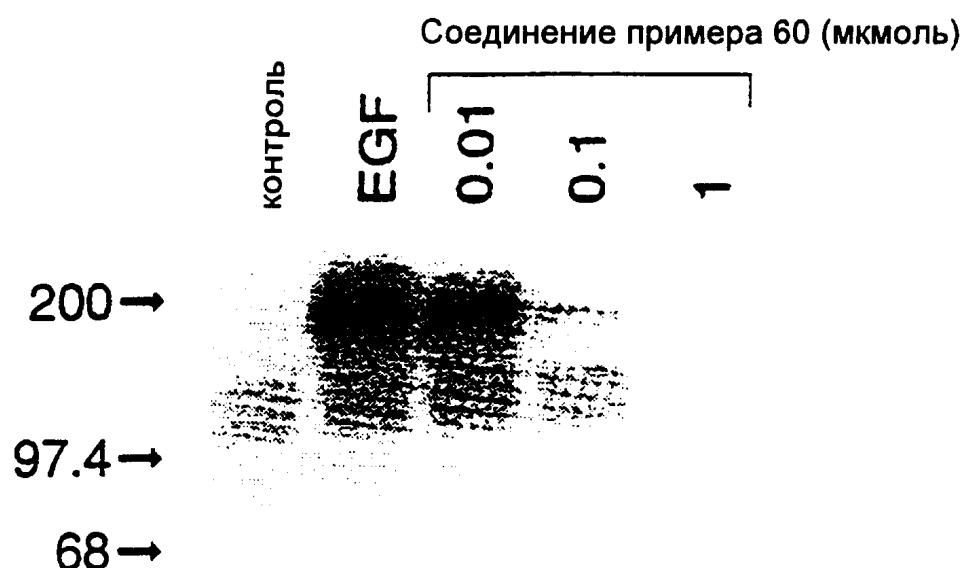


Рис. 10

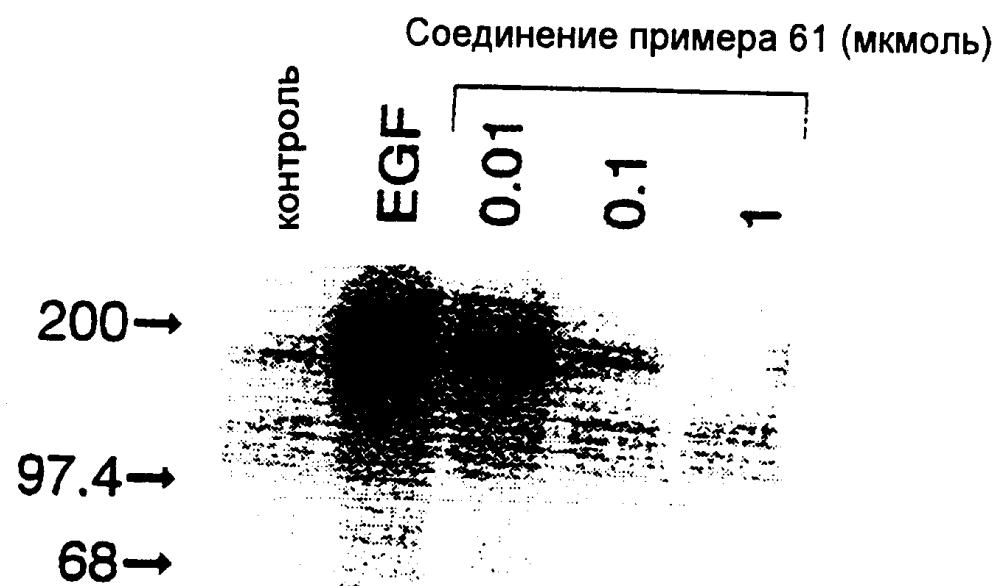


Рис. 11

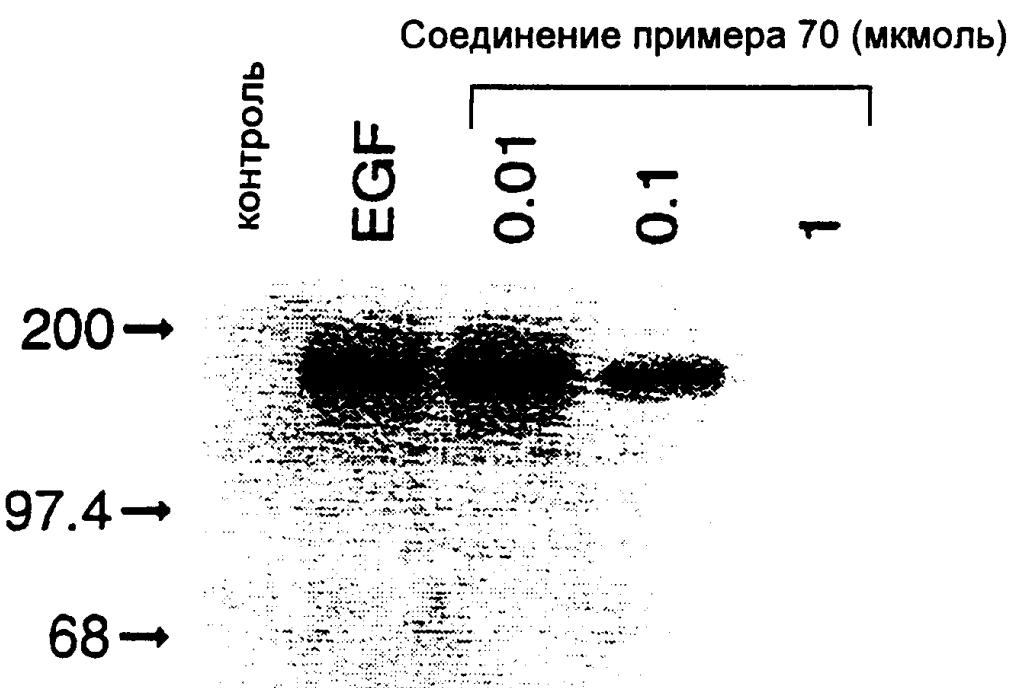


Рис. 12

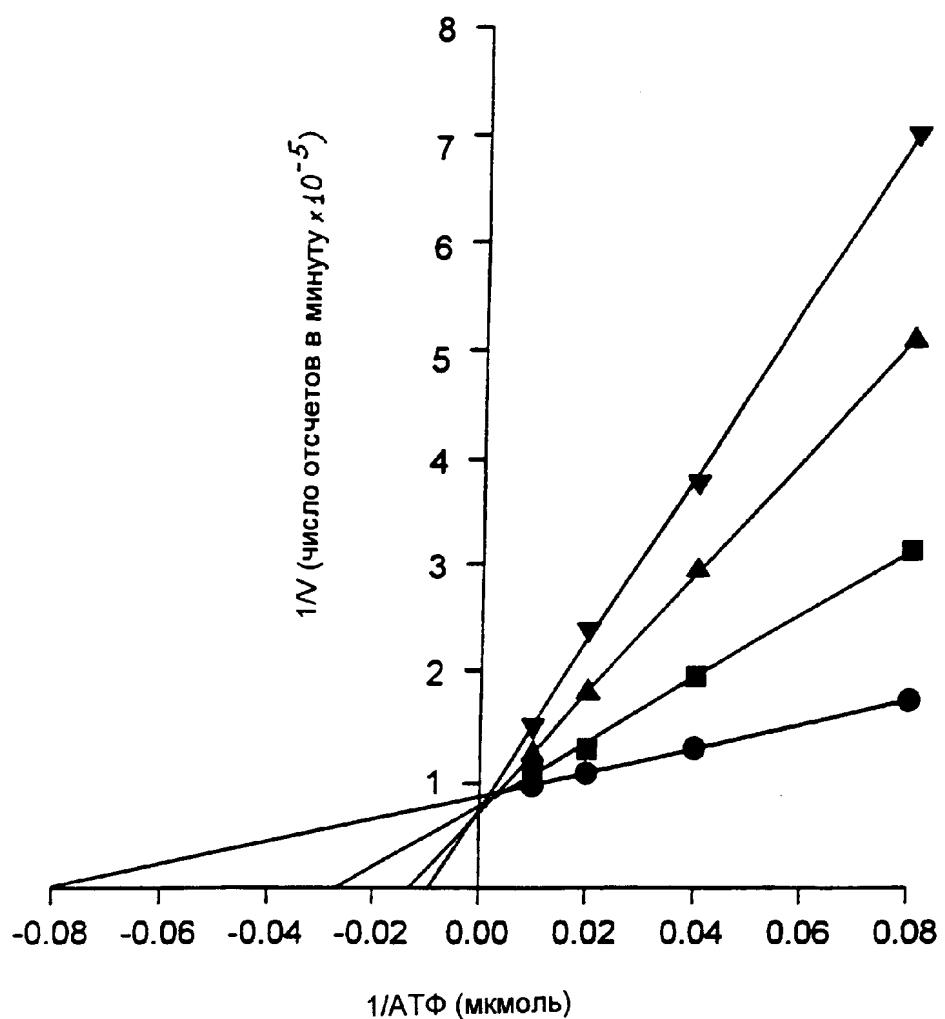


Рис. 13

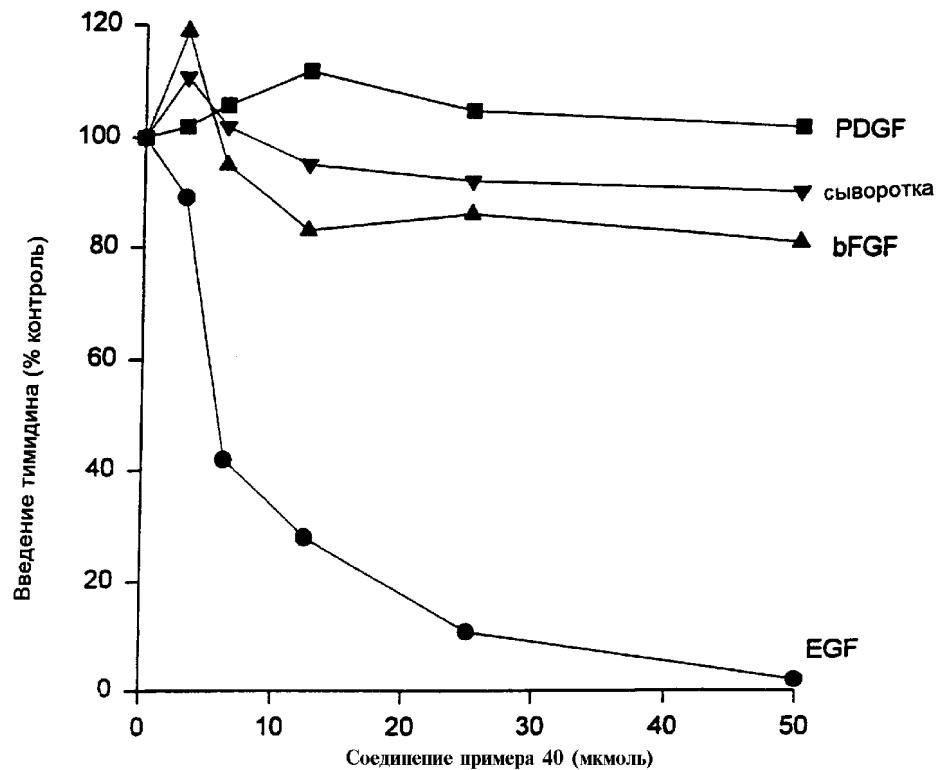


Рис. 14

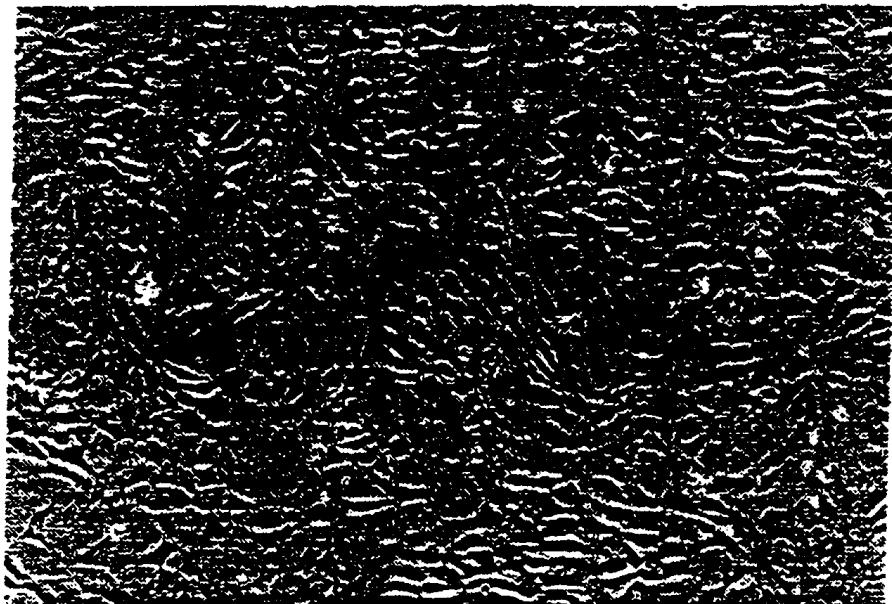


Рис. 15

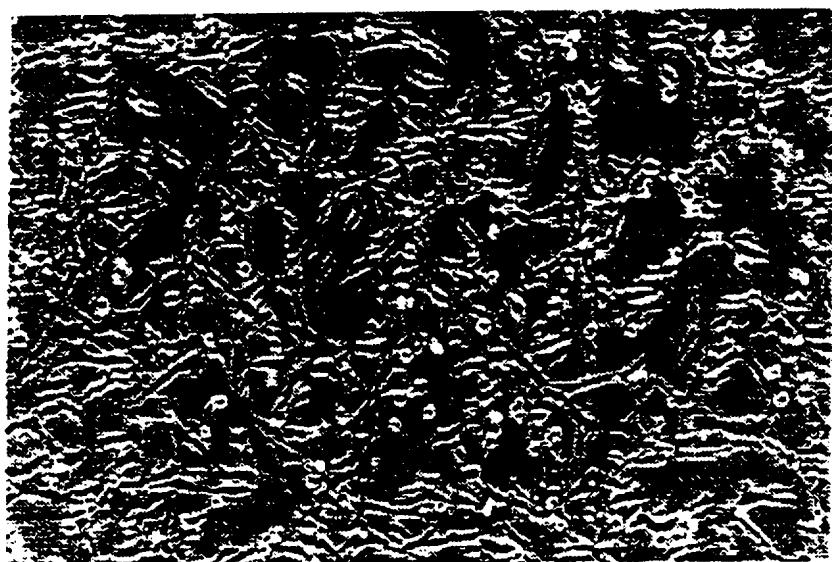


Рис. 16

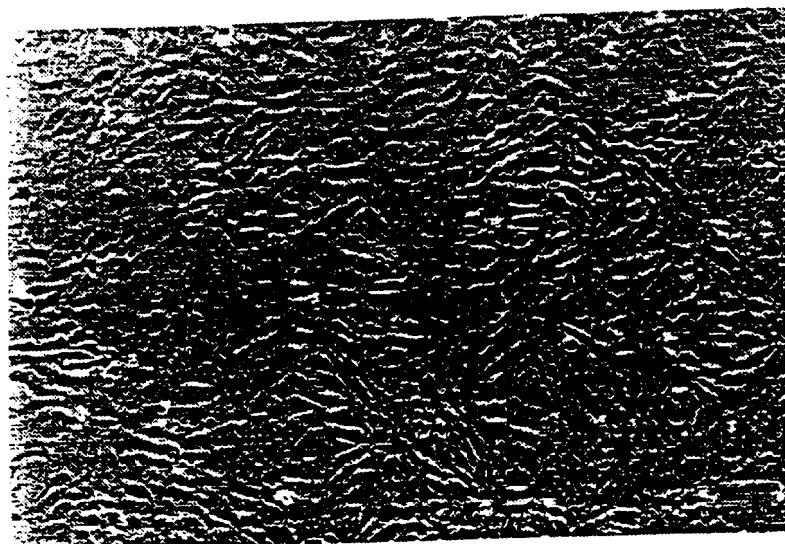


Рис. 17

Составитель описания
Ответственный за выпуск

Суртаева Э.Р.
Арипов С.К.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел. (312) 68 08 19, 68 16 41, факс (312) 68 17 03