

Prezenta invenție se referă la compuși heteroaromatici biciclici care inhibă receptorul pentru factorul de creștere epidermic și receptorii înrudiți și, în particular, activitatea lor enzimatică tirozinkinazică.

Cancerul este, în general, o boală a sistemului de semnalizare intracelular, sau a mecanismului de traducere a semnalului. Celulele primesc instrucțiuni de la multe surse extracelulare care le determină fie să prolifereze, fie să nu prolifereze. Scopul sistemului de traducere a semnalului este de a primi aceste semnale și altele la suprafața celulei, să le introducă în celulă și apoi să treacă semnalele spre nucleu, citoschelet și sistemul de sinteză și transport a proteinelor. Cea mai obișnuită cauză a cancerului o constituie o serie de defecte fie ale acestor proteine, atunci când ele sunt supuse mutației, fie în reglarea cantității de proteină din celulă astfel încât aceasta să fie supra- sau sub-produsă. Cel mai adesea, există leziuni-cheie în celulă care conduc la o stare constitutivă în care nucleul primește un semnal de proliferare, când acest semnal nu este de fapt prezent. Acest fapt poate avea loc printr-o varietate de mecanisme. Uneori celula poate începe să producă un factor de creștere autentic pentru proprii săi receptori atunci când de fapt n-ar trebui, așa-numitul "mecanism autocrin în spirală". Mutațiile la nivelul receptorilor celulari de suprafață, care de obicei semnalizează în interiorul celulei prin intermediul tirozinkinazelor, pot conduce la activarea kinazei în absența ligandului și la transducerea unui semnal care nu este efectiv prezent. Alternativ, multe kinaze de suprafață pot fi supraexprimate pe suprafața celulei, conducând la un răspuns necorespunzător de puternic la un semnal slab. Există multe niveluri în interiorul celulei la care mutația sau supraexprimarea pot conduce la același semnal fals în celulă și există multe alte tipuri de defecte de semnalizare implicate în cancer. Această invenție abordează cancerurile care sunt determinate de cele 3 mecanisme descrise mai sus și care implică receptorii de suprafață celulari din familia tirozinkinazei - receptori pentru factorul de creștere epidermic (EGFR). Această familie este constituită din receptorul EGF (cunoscut și ca Erb-B1), receptorul Erb-B2, și mutantul său oncoproteic constitutiv activ Neu, receptorul Erb-B3 și receptorul Erb-B4. În plus, cu ajutorul compușilor prezentei invenții pot fi tratate și alte procese biologice determinate de membrii familiei de receptori EGF.

Cei mai importanți 2 liganzi ai lui EGFR sunt factorul de creștere epidermic (EGF) și factorul de creștere transformant alfa (TGF alfa). Receptorii par să aibe doar funcții minore la oamenii adulți, dar sunt evident implicați în procesul de boală a numeroase tipuri de cancer, în special cancerul de colon și de sân. Receptorii strâns înrudiți Erb-B2, Erb-B3 și Erb-B4 au ca liganzi majori o familie de hereguline, iar supraexprimarea și mutația receptorului au fost fără echivoc demonstrate ca factorul de risc principal în slabă prognoză a cancerului de sân. În plus, s-a demonstrat că toți cei 4 membri ai acestei familii de receptori pot forma complexe de semnalizare heterodimerice cu alți membri ai familiei, și că aceasta poate conduce la capacitatea de transformare sinergică dacă mai mult de un membru al familiei este supraexprimat într-o malignitate. S-a demonstrat că supraexprimarea a mai mult de un membru al familiei este relativ obișnuită în malignitățile umane.

Boala de piele proliferativă psoriazis nu are un tratament eficient în prezent. Ea este adesea tratată cu agenți anticancer cum ar fi metotrexat, care are efecte secundare foarte serioase și care nu este foarte eficient la dozele de toxicitate limitate care trebuie utilizate. Se crede că TGF alfa este principalul factor de creștere supraprodus în psoriazis, deoarece 50% din șoarecii transgenici care supraexprimă TGF alfa prezintă psoriazis. Aceasta sugerează că un bun inhibitor al EGFR de semnalizare ar putea fi utilizat ca un agent antipsoriazis, preferabil, dar nu necesar prin dozare topică.

EGF este un mitogen puternic pentru celulele tubulare renale. Creșteri de 4 ori atât în secreția urinară a lui EGF cât și a lui mRNA pentru EGF au fost înregistrate la șoareci în stadiu timpuriu de diabet indus de streptozocin. În plus, s-a înregistrat o exprimare crescută a lui EGFR la pacienții cu glomerulonefrite proliferative [1]. Compușii prezentei ar trebui să fie utili în tratarea atât a glomerulonefritei proliferative cât și a bolii renale induse de diabet.

S-a constatat că pancreatita cronică la pacienți se corelează cu creșteri mari în exprimarea atât a lui EGFR cât și a lui TGF alfa. La pacienții cu o formă mai severă a bolii, reprezentată printr-o lărgire a capului pancreasului, a existat de asemenea, o supraexprimare a receptorului erb-B2. Compușii prezentei invenții s-ar dovedi utili în tratamentul pancreatitei.

În procesele de maturare a blastocitului, de implantare a acestuia în endometrul uterin și în alte cazuri de periimplantare, țesuturile uterine produc EGF și TGF alfa, au niveluri ridicate de EGFR, și pot fi induse să producă EGF de legare a heparinei prin apropierea blastocitului în curs de dezvoltare, dar nu stopat. Pe rând, blastocitul are chiar un nivel ridicat de exprimare a lui TGF alfa și EGFR. Îndepărtarea chirurgicală a glandelor submandibulare, locul principal al secreției EGF din corp și tratamentul cu anticorpi monoclonali anti-EGFR, reduc mult fertilitatea la șoareci, prin reducerea implantării blastocitului. Din acest motiv, compușii prezentei invenții ar părea să aibă proprietăți contraceptive utile.

Sunt cunoscuți compuși capabili să inhibe tirozinkinazele familiei de receptori ai factorului de creștere epidermică, și anume:

- 2-amino-5-benzilaminopirimido[4,5-d]pirimidină;
- 2-(etiltio)-5-furfurilaminopirimido[4,5-d]pirimidină;
- 2-(etiltio)-5-anilinopirimido[4,5-d]pirimidină;
- 2-amino-5-benzilaminopirimido[4,5-d]pirimidină;
- 2-amino-5-(3-fenilpropilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină;
- 2-amino-5-(3-anilinopropilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină;
- 2-amino-5-fenetilaminopirimido[4,5-d]pirimidină;

2-amino-5-o-metoxifenetilaminopirimido[4,5-d]pirimidină;
 2-pirolidino-5-benzilaminopirimido[4,5-d]pirimidină;
 2-amino-5-(3-piridilmetilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină;
 2-amino-5-(p-clorbenzilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină;
 2-amino-5-(p-dietilaminobenzilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină;
 2-amino-5-(p-metoxibenzilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină;
 2-amino-5-(o-metoxibenzilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină;
 2-amino-5-(3,4-dimetoxibenzilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină;
 2-amino-5-(2,4-dimetoxibenzilamino)-pirimido[4,5-d]pirimidină.

Este descrisă administrarea orală a compușilor indicați în formă de preparat farmaceutic care conține în calitate de substanță activă compușii sus-indicați într-o doză eficient și purtător acceptabil farmaceutic, în particularitate apa [1].

Sunt cunoscuți la fel compuși bis mono- și/sau biciclici aril și/sau heteroaril care manifestă activitate în inhibarea proteinei tirozinkinazei. Este descrisă metoda inhibării proliferației celulei anormale a pacientului, suferind de dereglări caracterizate cu astfel de proliferație, care include în afară de EGF, și/sau receptor PDGF. Inhibarea se execută prin administrarea cantității eficiente a compușilor bis mono- și/sau biciclici aril și/sau heteroaril indicați sau al preparatelor din compușii indicați. Este descrisă la fel utilizarea compușilor sus-indicați în compoziții farmaceutice, aplicate în metoda dată [2].

Este un obiectiv al prezentei invenții să se inhibe efectele mitogene ale factorului de creștere epidermic prin utilizarea unei cantități eficiente de derivați ai pirimidinei biciclice, în particular de derivați de pirimidină heterociclică fuzionată.

Un alt obiectiv al prezentei invenții este descrierea derivaților pirimidinei biciclice, în particular a derivaților pirimidinei heterociclice fuzionate, ca inhibitori ai receptorilor tirozinkinazici EGF, Erb-B2 și Erb-B4.

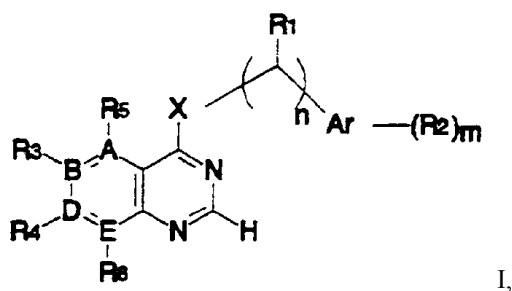
Încă un obiectiv al prezentei invenții este descrierea derivaților pirimidinei biciclice, în particular a derivaților pirimidinei biciclice fuzionați care sunt utili în doze scăzute ca inhibitori ai mitogenezei induse de EGF. Aseasta conduce astfel la un obiectiv ulterior, acela al compușilor cu citotoxicitate extrem de scăzută.

Un alt obiectiv al prezentei invenții este descrierea derivaților de pirimidină biciclică, în particular a derivaților pirimidinei biciclice fuzionați care sunt utili în tumorile supresive, în special în cancererele de sân, în care mitogeneza este cu greu determinată de membrii familiei EGFR.

Un alt obiectiv al prezentei invenții este descrierea derivaților pirimidinei biciclice, în particular a derivaților pirimidinei heterociclice fuzionați, care au utilitate în terapia cronică ca inhibitori ai răspunsurilor induse de EGF.

Un alt obiectiv al prezentei invenții este descrierea derivaților pirimidinei biciclice, în particular a derivaților pirimidinei biciclice fuzionate care au utilitate ca agenți terapeutici împotriva bolilor de supracreștere proliferativă incluzând, dar nu limitate la invazia sinovială a corneei în artrite, restenoză vasculară, psoriazis și angiogeneză. Compușii descoperiți aici sunt utili în tratarea pancreatitei și a bolii renale și ca agent contraceptiv.

Conform invenției sunt propuși compuși biciclici cu formula I



unde:

cel puțin unul și cel mult trei dintre atomii A-E sunt atomi de azot, iar atomii rămași sunt atomi de carbon;

X=O, S, NH sau NR⁷, unde R⁷ este alchil inferior (1-4 atomi de carbon), OH, NH₂, alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon) sau monoalchilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

n=0, 1, 2;

R¹=H sau alchil inferior (1-4 atomi de carbon); dacă n=2, R¹ poate fi independent H sau alchil inferior (1-4 atomi de carbon) pe oricare dintre atomii de carbon de legătură;

R² este alchil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalchil (3-8 atomi de carbon), alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxi (3-8 atomi de carbon), nitro, halogen (fluor, clor, brom, iod), perfluoroalchil inferior (1-4 atomi de carbon), hidroxi, aciloxi inferior (1-4 atomi de carbon; -O-C(O)R), amino, mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilamino inferior (3-8 atomi de carbon), hidroximetil, acil inferior (1-4 atomi de carbon; -C(O)R), ciano, tioalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfinalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfonalchil inferior (1-4 atomi de carbon), tiocicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfilicicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfonalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfonamido, mono- sau dialchilsulfonamido inferior (1-4 atomi de carbon).

carbon), mono- sau dicalchilsulfonamido (3-8 atomi de carbon), mercapto, carboxi, carboxamido (-C(O)-NH₂), mono- sau dialchilcarboxamido inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicalchilcarboxamido (3-8 atomi de carbon), alcoxicarbonil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxicarbonil (3-8 atomi de carbon), alchenil inferior (2-4 atomi de carbon), cicloalchenil (4-8 atomi de carbon), alchil inferior (2-4 atomi de carbon), sau doi R² luați împreună pe atomi de carbon învecinați pot forma un inel carbociclic din 5-7 membri sau un inel mononesaturat 1,3-dioxolanil, 1,4-dioxanil, 1,4-dioxepinil, piranil, furanil, pirolidil, piperidinil, tiolanil, oxazolani, tiazolanil, diazolanil, piperazinil, morfolino sau tiomorfolino;

m=0-3, unde Ar este fenil, tienil, furanil, pirolil, piridil, pirimidil, imidazolil, pirazinil, oxazolil, tiazolil, naftil, benzotienil, benzofuranil, indolil, chinolinil, izochinolinil și chinazolinil;

R³, R⁴, R⁵ și R⁶ independent unul de altul pot să lipsească sau să fie H, alchil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalchil (3-8 atomi de carbon), alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxi (3-8 atomi de carbon), hidroxi, aciloxi inferior (1-4 atomi de carbon), amino, mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicalchilamino inferior (3-8 atomi de carbon), alchil inferior (1-4 atomi de carbon), sau cicloalchil (3-8 atomi de carbon), carbonat (-OC(O)OR), unde R este alchil inferior, cu 1-4 atomi de carbon sau cicloalchil cu 3-8 atomi de carbon;

sau ureido sau tioureido sau uretan legat N- sau O-, oricare dintre aceștia fiind substituit opțional cu mono- sau dialchil inferior (1-4 atomi de carbon) sau cicloalchil (3-8 atomi de carbon);

tioalchil inferior (1-4 atomi de carbon), tiocicloalchil (3-8 atomi de carbon), mercapto, alchenil inferior (2-4 atomi de carbon), hidrazino, N'-alchilhidrazino inferior (1-4 atomi de carbon), acilamino inferior (1-4 atomi de carbon), hidroxilamino, O-alchilhidroxilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

sau oricare doi dintre R³-R⁶ luați împreună pe atomi de carbon învecinați pot forma un inel carbociclic cu 5-7 membri sau un inel mononesaturat 1,3-dioxolanil, 1,4-dioxanil, 1,4-dioxepinil, piranil, furanil, pirolidil, piperidinil, tiolanil, oxazolani, tiazolanil, diazolanil, piperazinil, morfolino sau tiomorfolino;

orice substituent alchil inferior, legat cu oricare dintre substituenții R³-R⁶ care conțin o astfel de parte poate fi opțional substituit cu una sau mai multe grupări hidroxi, amino, monoalchilamino inferior, dialchilamino inferior, N-pirolidil, N-piperidinil, N-piridinium, N-morfolino, N-tiomorfolino sau N-piperazino;

dacă unul sau mai mulți atomi dintre A-E sunt atomi de azot, oricare dintre R³-R⁶ de pe un atom de carbon învecinat unuia dintre atomii de azot nu poate fi OH sau SH;

dacă oricare dintre substituenții R¹, R², R³, R⁴, R⁵ sau R⁶ conțin centre chirale, sau în cazul lui R¹ creează centre chirale pe atomi de legătură, sunt incluși toți stereozomerii acestora atât separat cât și ca amestecuri racemice și/sau diastereoizomerice;

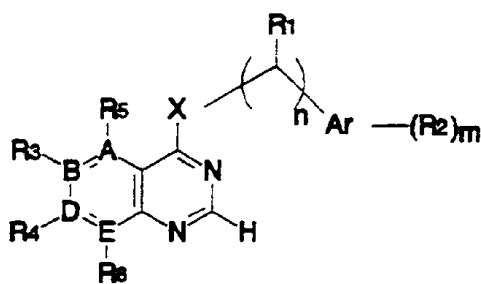
cu condiția ca cel puțin unul dintre substituenții R³-R⁶ să fie altul decât hidrogen, halogen, alchil inferior (1-4 atomi de carbon) sau alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon);

dacă E și B sunt azot și D și A sunt carbon, R³ și R⁶ lipsesc, R⁵ este hidrogen, X – grupa NH, n – 0, 1 sau 2, R¹ – hidrogen sau alchil inferior, Ar – aril, nesubstituit sau substituit de halogen, amino, hidroxi, sau n – 1 sau 2, R¹ – hidrogen sau alchil inferior, Ar – aril, nesubstituit sau substituit de halogen, amino, hidroxi, sau n – 1 sau 2, R¹ – hidrogen sau alchil inferior, Ar – inel heterociclic, atunci R⁴ nu poate fi hidrogen, amino, grupa inferioară monoalchilamino, nesubstituită sau substituită cu hidroxi, grupa inferioară monocicloalchilamino, nesubstituită sau substituită cu hidroxi, grupa inferioară dialchilamino, nesubstituită sau substituită de hidroxi, sau grupa heterociclică alchilamino, sau dacă E și B sunt azot și D și A sunt carbon, R³ și R⁶ lipsesc, R⁵ este hidrogen, X – grupa NH, n – 0, 1 sau 2, R¹ – hidrogen sau alchil inferior și Ar – aril, atunci R⁴ nu poate să reprezinte grupa alchilio inferioară, sau dacă E și B sunt azot și D și A sunt carbon, R³ și R⁴ lipsesc, R⁵ este hidrogen, X – grupul NH, n – 1, R¹ – hidrogen, Ar – fenil, substituit în para-poziție a grupei dietilamino, atunci R⁴ nu poate fi amino, sau dacă E și B sunt azot și D și A sunt carbon, R³ și R⁶ lipsesc, R⁵ este hidrogen, X – grupa NH, n – 1, R¹ – hidrogen, Ar – 2-furanil, atunci R⁴ nu poate fi etilio,

sau o sare farmaceutică sau hidratul acesteia,

și în care compusul este ales din grupa constând din: 6-amino-4-(3-bromanilino)pirido[3,2-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-metilaminopirido[3,2-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,2-d]pirimidină; 7-amino-4-(3-nitroanilino)pirido[4,3-d]pirimidină; 7-amino-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină; 7-amino-4-(4-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină; 7-amino-4-(3-trifluormetilnilino)pirido[4,3-d]pirimidină; 7-acetilamino-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină; 7-acetilamino-4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-metilaminopirido[3,4-d]pirimidină și 4-(3-bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,4-d]pirimidină.

Este propusă la fel metoda de inhibare a receptorului tirozinkinazei pentru factorul de creștere epidermic prin tratarea unui mamifer cu o cantitate eficientă de compus cu formula I:



unde:

cel puțin unul și cel mult trei dintre A-E sunt atomi de azot, iar atomul sau atomii rămași sunt atomi de carbon, sau oricare dintre cele 2 poziții învecinate în A-E luate împreună poate fi un singur heteroatom, N, O sau S, în cazul acesta unul din ceilalți 2 atomi rămași trebuie să fie carbon și celălalt poate fi sau carbon, sau azot;

X = O, S, NH sau NR⁷, unde R⁷ este alchil inferior (1-4 atomi de carbon), OH, NH₂, alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon) sau monoalchilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

n=0, 1, 2;

R¹=H sau alchil inferior (1-4 atomi de carbon); dacă n=2, R¹ poate fi independent H sau alchil inferior (1-4 atomi de carbon) pe oricare dintre atomii de carbon de legătură;

R² este alchil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalchil (3-8 atomi de carbon), alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxi (3-8 atomi de carbon), nitro, halogen (fluor, clor, brom, iod), perfluoralchil inferior (1-4 atomi de carbon), hidroxi, aciloxi inferior (1-4 atomi de carbon); -O-C(O)R, amino, mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilamino inferior (3-8 atomi de carbon), hidroximetil, acil inferior (1-4 atomi de carbon); -C(O)R, ciano, tioalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfinilalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfonylalchil inferior (1-4 atomi de carbon), tiocicloalchil inferior (3-8 atomi de carbon), sulfinilcicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfonilcicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfoamido, mono- sau dialchilsulfonamido inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilsulfonamido (3-8 atomi de carbon), mercapto, carboxi, carboxamido (-C(O)-NH₂), mono- sau dialchilcarboxamido (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilcarboxamido (3-8 atomi de carbon), alcocarbonil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxycarbonil (3-8 atomi de carbon), alchenil inferior (2-4 atomi de carbon), cicloalchenil (4-8 atomi de carbon), alchinil inferior (2-4 atomi de carbon), sau doi R² luați împreună pe atomi de carbon învecinați pot forma un inel carbociclic din 5-7 membri sau un inel mononesaturat 1,3-dioxolanil, 1,4-dioxanil, 1,4-dioxepinil, piranil, furanil, pirolidil, piperidinil, tiolanil, oxazolanil, tiazolanil, diazolanil, piperazinil, morfolino sau tiomorfolino; și

m=0-3, în care Ar este fenil, tienil, furanil, pirolil, piridil, pirimidil, imidazoil, pirazinil, oxazolil, tiazolil, naftil, benzotienil, benzofuranil, indolil, chinolinil, izochinolinil și chinazolinil;

R³, R⁴, R⁵ și R⁶ independent unul de altul pot să lipsească sau să fie H, alchil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalchil (3-8 atomi de carbon), alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxi (3-8 atomi de carbon), hidroxi, aciloxi inferior (1-4 atomi de carbon), amino, mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilamino inferior (3-8 atomi de carbon), alchil inferior (1-4 atomi de carbon) sau cicloalchil (3-8 atomi de carbon), carbonato (-OC(O)OR), unde R este alchil inferior cu 1-4 atomi de carbon sau cicloalchil cu 3-8 atomi de carbon;

sau ureido sau tioureido sau uretan legat la N- sau O-, oricare dintre aceștia fiind opțional substituit cu mono- sau dialchil inferior (1-4 atomi de carbon) sau cicloalchil (3-8 atomi de carbon);

tioalchil inferior (1-4 atomi de carbon), tiocicloalchil (3-8 atomi de carbon), mercapto, alchenil inferior (2-4 atomi de carbon), hidrazino, N'-alchilhidrazino inferior (1-4 atomi de carbon), alchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), hidroxilamino, sau O-alchilhidroxilamino inferior (1-4 atomi de carbon); sau oricare doi dintre R³-R⁶ luați împreună pe atomi de carbon învecinați pot forma un inel carbociclic din 5-7 membri sau un inel mononesaturat 1,3-dioxolanil, 1,4-dioxanil, 1,4-dioxepinil, piranil, furanil, pirolidil, piperidinil, tiolanil, oxazolanil, tiazolanil, diazolanil, piperazinil, morfolino sau tiomorfolino;

orice substituent alchil inferior, legat cu oricare dintre substituenții R³-R⁶ care conțin o astfel de parte poate fi opțional substituit cu una sau mai multe grupări hidroxi, amino, monoalchilamino inferior, dialchilamino inferior, N-pirolidil, N-piperidinil, N-piridinium, N-morfolino, N-tiomorfolino sau N-piperazino;

dacă unul sau mai mulți dintre atomii A-E sunt N, oricare dintre R³-R⁶ situat pe un atom de C învecinat unuia dintre atomii de N nu poate fi OH sau SH; și

dacă oricare dintre substituenții R¹, R², R³, R⁴, R⁵ sau R⁶ conține centre chiralice, sau R¹ creează centre chiralice pe atomi de legătură, în acest caz sunt incluși toți stereozomerii acestora, atât separat, cât și ca amestecuri racemice și/sau diastereoizomerice;

sau o sare farmaceutică sau hidratul acesteia.

Și, pe lângă aceasta, în care X=NH, n=0 sau 1, R¹=H, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt atomi de carbon, A azot, unul din R³ sau R⁴ este H, celălalt este alcoxi, halogen, amino, mono- sau dialchilamino inferior, hidrazino, alchil inferior;

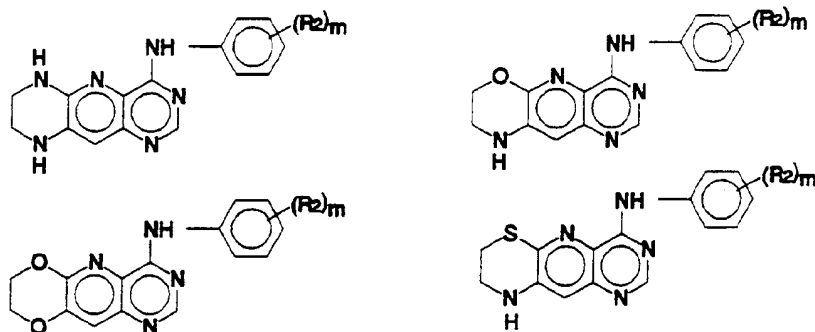
sau în care $X = NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt carbon, A azot, unul din R^3 și R^4 alcoxi inferior, alchil inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt carbon, A azot, unul din R^3 sau R^4 amino, celălalt este alcoxi inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt carbon, A azot, unul din R^3 sau R^4 mono- sau dialchilamino inferior, celălalt este alcoxi inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt atomi de carbon, A azot, unul din R^3 mono- sau dialchilamino inferior, R^4 este hidroxi;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt carbon, A azot, unul din R^3 și R^4 luați împreună fiind dioximetilen, dioxietilen, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată sau tiomorfolină 2,3-fuzionată în care compusul are structura ciclică:



sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul fenil este opțional substituit, A, D și E sunt carbon, B azot, R^4 este alcoxi inferior, halogen, amino, mono- sau dialchilamino inferior, hidrazino, alchil inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și E sunt atomi de carbon, D azot, R^3 este alcoxi inferior, halogen, amino, mono- sau dialchilamino inferior, hidrazino, alchil inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și D sunt atomi de carbon, E azot, R^3 sau R^4 este H, celălalt este alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior, hidrazino, alchil inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și D sunt atomi de carbon, E azot, R^3 și R^4 este alcoxi inferior, alchil inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și D sunt atomi de carbon, E azot, R^3 sau R^4 amino, celălalt este alcoxi inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și D sunt atomi de carbon, E azot, iar R^3 sau R^4 mono- sau dialchilamino inferior, celălalt este alcoxi inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și D sunt atomi de carbon, E azot, R^4 mono- sau dialchilamino inferior, R^3 hidroxi;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și D sunt atomi de carbon, E azot, R^3 și R^4 luați împreună sunt dioximetilen, dioxietilen, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată sau tiomorfolină 2,3-fuzionată;

sau în care $X=NH$, $n=0$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A și D sunt carbon, B și E azot, R^4 este alcoxi inferior, mono- sau dialchilamino inferior, amino, hidrazino;

sau în care $X=NH$, $n=0$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B și D sunt carbon, A și E azot, R^3 sau R^4 este alcoxi inferior, mono- sau dialchilamino inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B și D sunt carbon, A și E azot, R^3 sau R^4 este alcoxi inferior, celălalt este mono- sau dialchilamino inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B și D sunt carbon, A și E azot, R^3 și R^4 luați împreună sunt etilendioxi, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată, sau tiomorfolină 2,3-fuzionată;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit și orice A și B luați împreună sunt un atom de sulf, D și E sunt carbon, sau A și B sunt carbon, D și E luați împreună ca un atom de sulf, R^4 sau R^3 este H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, și orice A și B luați împreună sunt un atom de oxigen, D și E sunt carbon, sau A și B sunt carbon, D și E luați împreună ca un atom de oxigen, R^4 sau R^3 este H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, și fie A și B luați împreună sunt un atom de azot, D și E sunt carbon, fie A sau B sunt carbon, D și E luați împreună ca un atom de azot, R^4 sau R^3 este H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit și fie A și B luați împreună sunt un atom de sulf, D este carbon și E este azot, fie D și E luați împreună sunt un atom de sulf, și A este azot și B este carbon, $R^{3/4}$ este H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit și orice A și B luați împreună sunt un atom de oxigen, D este carbon și E este azot, sau D și E luați împreună sunt un atom de oxigen, și A este azot și B este carbon, $R^{3/4}$ este H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A și B luați împreună sunt un atom de azot, D este carbon și E este azot, $R^{3/6}$ este H sau alchil inferior și R^4 este H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic este opțional substituit și orice A și B luați împreună sunt un atom de oxigen, D este azot și E este carbon, sau A și B luați împreună sunt un atom de carbon, D este azot și E este oxigen, $R^{3/6}$ este H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit și/sau A și B luați împreună sunt un atom de sulf, D este azot și E este carbon, sau A și B luați împreună sunt un atom de carbon, D este azot și E este sulf, $R^{3/6}$ este H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior;

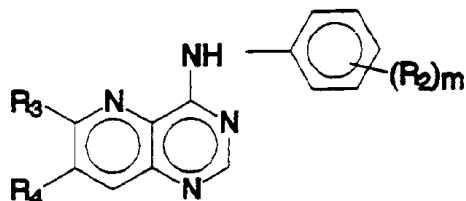
sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , $R^1=H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit și orice A și B luați împreună sunt un atom de azot, D este azot și E este carbon, sau A și B luați împreună sunt un atom de carbon, D și E sunt atomi de azot, $R^{3/6}$ este H, sau alchil inferior dacă este pe azot, sau H, alchil inferior, alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior dacă este pe carbon;

sau în care R^1 , R^2 , R^3 sau R^4 conțin centre chirale, sau în cazul lui R^1 care creează centre chirale pe atomii de legătură, sunt incluși toți stereoisomerii acestora atât separat cât și ca amestecuri racemice și/sau diastereoizomerice;

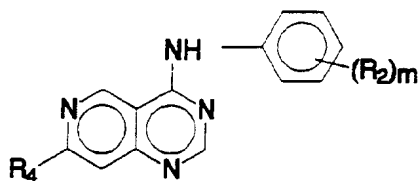
sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, D și E sunt carbon, B este azot și R^4 este alcoxi inferior, amino, acilamino inferior, mono- sau dialchilamino inferior, hidrazino, alchil inferior;

sau în care $X=NH$, $n=0$ sau 1 , inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și E sunt carbon, D este azot și R^3 este alcoxi inferior, amino, mono- sau dialchilamino inferior, hidrazino, alchil inferior;

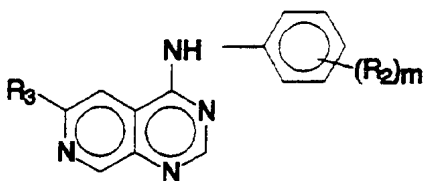
sau în care compusul are structura ciclică:



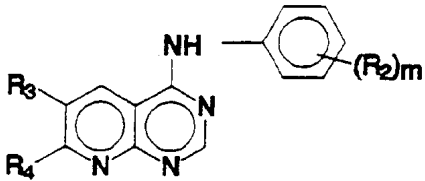
sau în care compusul are structura ciclică:



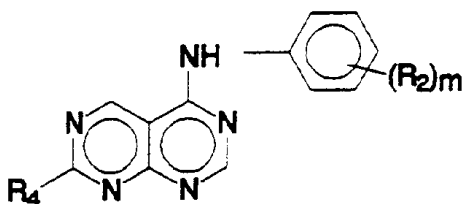
sau în care compusul are structura ciclică:



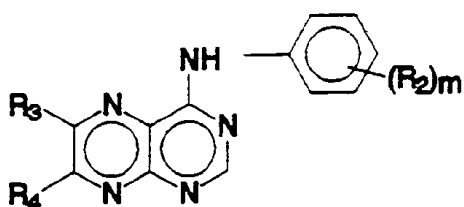
sau în care compusul are structura ciclică:



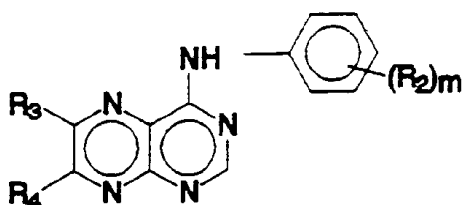
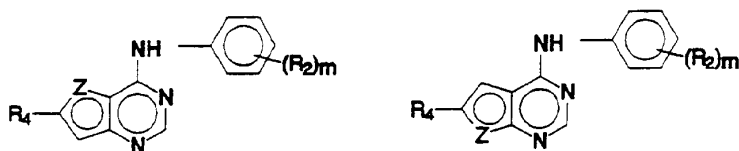
sau în care compusul are structura ciclică:



sau în care compusul are structura ciclică:



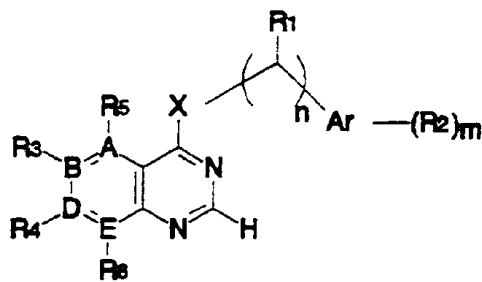
sau în care compusul are structura ciclică:



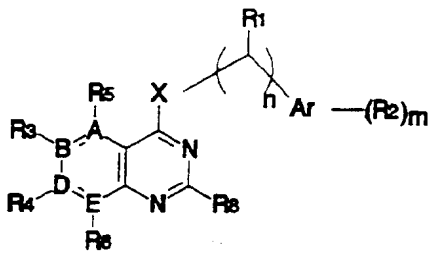
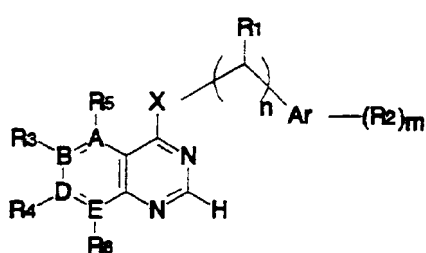
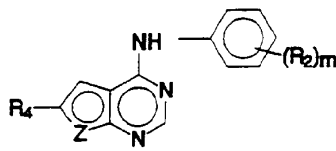
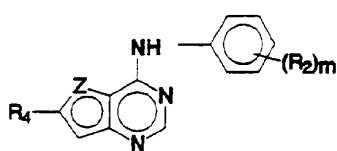
unde Z = azot, oxigen sau sulf;

sau în care compusul este ales din grupa constituită din: 6-amino-4-(3-bromanilino)-pirido[3,2-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-metilaminopirido[3,2-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,2-d]pirimidină; 7-amino-4-(3-nitroanilino)pirido[4,2-d]pirimidină; 7-amino-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină; 7-amino-4-(4-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină; 7-amino-4-(3-trifluormetilanelino)pirido[4,3-d]pirimidină; 7-acetilamino-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină; 4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină; 7-acetamino-4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-clorpirido[3,4-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-metoxipirido[3,4-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-metilaminopirido[3,4-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,4-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)tieno[3,2-d]pirimidină; 4-benzilaminotieno[3,2-d]pirimidină; 4-(3-bromanilino)tieno[2,3-d]pirimidină și N⁶-(3-bromfenil)adenină.

Este solicitată la fel metoda de inhibare a receptorului Erb-B2 sau Erb-B3 sau Erb-B4 tirozinkinazei prin tratamentul unui mamifer cu o cantitate eficientă de compus având formula I sau formula II:



I,



II,

unde:

cel puțin unul și cel mult trei dintre atomii A-E sunt atomi de azot, iar atomul sau atomii rămași sunt atomi de carbon, sau oricare două poziții învecinate în A-E luate împreună pot fi un singur heteroatom, N, O sau S, în cazul acesta unul dintre cei doi atomi rămași trebuie să fie carbon, iar celălalt poate fi carbon sau azot;

X=O, S, NH, sau NR⁷, unde R⁷ este alchil inferior (1-4 atomi de carbon), OH, NH₂, alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), sau monoalchilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

n=0, 1, 2;

R¹=H sau alchil inferior (1-4 atomi de carbon); dacă n=2, R¹ poate fi independent H sau alchil inferior (1-4 atomi de carbon) pe orice atom de carbon de legătură;

R² este alchil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalchil (3-8 atomi de carbon), alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxi (3-8 atomi de carbon), nitro, halogen (fluor, clor, brom, iod), perfluoroalchil inferior (1-4 atomi de carbon), hidroxi, aciloxi inferior (1-4 atomi de carbon); -O-C(O)R, amino, mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilamino inferior (3-8 atomi de carbon), hidroximetil, acil inferior (1-4 atomi de carbon); -C(O)R, ciano, tioalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfinilalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfonilalchil inferior (1-4 atomi de carbon), tiocicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfinilcicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfonilcicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfonamido, mono- sau dialchilsulfonamido inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilsulfonamido (3-8 atomi de carbon), mercapto, carboxi, carboxamido (-C(O)-NH₂), mono- sau dialchilcarboxamido inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilcarboxamido (3-8 atomi de carbon), alcoxycarbonil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxycarbonil (3-8 atomi de carbon), alchenil inferior (2-4 atomi de carbon), cicloalchenil (4-8 atomi de carbon), alchil inferior (2-4 atomi de carbon), sau doi R² luați împreună pe atomi de carbon învecinați pot forma un inel carbociclic din 5-7 membri sau un inel mononesaturat: 1,3-dioxolanil, 1,4-dioxanil, 1,4-dioxepinil, piranil, furanil, pirolidil, piperidinil, tiolanil, oxazolanil, tiazolanil, diazolanil, piperazinil, morfolino sau tiomorfolino; și

m=0-3, în care Ar este fenil, tienil, furanil, pirolil, piridil, pirimidil, imidazoil, pirazinil, oxazolil, tiazolil, naftil, benzotienil, benzofuranil, indolil, chinolinil, izochinolinil, și chinazolinil;

R³, R⁴, R⁵ și R⁶ independent unul de altul pot să lipsească sau să fie H, alchil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalchil (3-8 atomi de carbon), alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxi (3-8 atomi de carbon), hidroxi, aciloxi inferior (1-4 atomi de carbon), amino, mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilamino inferior (3-8 atomi de carbon), alchil inferior (1-4 atomi de carbon) sau cicloalchil (3-8 atomi de carbon), carbonat (-OC(O)OR), unde R este alchil inferior cu 1-4 atomi de carbon sau cicloalchil cu 3-8 atomi de carbon;

sau ureido sau tioureido sau uretan legat la N- sau O-, oricare dintre aceștia fiind substituit opțional cu mono- sau dialchil inferior (1-4 atomi de carbon) sau cicloalchil (3-8 atomi de carbon);

tioalchil inferior (1-4 atomi de carbon), tiocicloalchil (3-8 atomi de carbon), mercapto, alchenil inferior (2-4 atomi de carbon), hidrazino, N'-alchilhidrazino inferior (1-4 atomi de carbon), acilamino inferior (1-4 atomi de carbon), hidroxilamino, O-alchilhidroxilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

sau oricare doi dintre R³-R⁶ luați împreună pe atomi de carbon învecinați pot forma un inel carbociclic din 5-7 membri sau un inel mononesaturat: 1,3-dioxolanil, 1,4-dioxanil, 1,4-dioxepinil, piranil, furanil, pirolidil, piperidinil, tiolanil, oxazolanil, tiazolanil, diazolanil, piperazinil, morfolina sau tiomorfolina;

orice substituent alchil inferior legat cu oricare dintre substituenții R³-R⁶ care conțin o astfel de parte, poate fi opțional substituit cu una sau mai multe grupări de tipul: hidroxi, amino, monoalchilamino inferior, dialchilamino inferior, N-pirolidil, N-piperidinil, N-piridinium, N-morfolină, N-tiomorfolină sau N-piperazino;

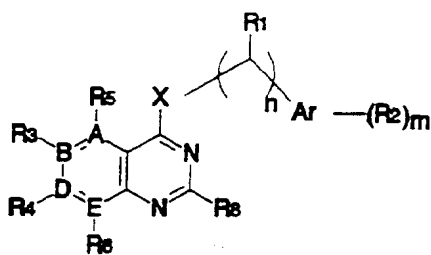
dacă unul sau mai mulți atomi dintre A-E sunt atomi de azot, oricare dintre R³-R⁶ de pe un atom de carbon învecinat unuia dintre atomii de azot nu poate fi OH sau SH; și

dacă oricare dintre substituenții R¹, R², R³, R⁴, R⁵ sau R⁶ conține centre chirale, sau R¹ creează centre chirale pe atomii de legătură, toți stereoisomerii acestora sunt incluși atât separat, cât și ca amestecuri racemice și/sau diastereoisomerice;

R⁸ este alchil inferior cu 1-4 atomi de carbon, amino sau mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

sau o sare farmaceutică sau hidratul acesteia.

Este solicitată o compoziție farmaceutică adaptată pentru administrarea ca inhibitor al receptorului tirozinkinazelor din familia factorului de creștere epidermic cu o cantitate eficientă terapeutic de compus având formula I sau formula II în amestec cu un excipient diluant sau purtător acceptabil farmaceutic și metoda de inhibare a receptorului activității tirozinkinazei pentru factorul de creștere epidermic, prin tratamentul unui mamifer cu o cantitate inhibitoare eficientă de compus având formula II:



II,

unde:

cel puțin unul și cel mult trei dintre atomii A-E sunt atomi de azot, iar atomul sau atomii rămași sunt atomi de carbon, sau oricare două poziții învecinate în A-E luate împreună pot fi un singur heteroatom: N, O sau S, în cazul acesta unul dintre cei doi atomi rămași trebuie să fie carbon, iar celălalt poate fi carbon sau azot;

X=O, S, NH sau NR⁷, unde R⁷ este alchil inferior (1-4 atomi de carbon), OH, NH₂, alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon) sau monoalchilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

n=0, 1, 2;

R¹ =H sau alchil inferior (1-4 atomi de carbon); dacă n=2, R¹ poate fi independent, H sau alchil inferior (1-4 atomi de carbon) pe oricare atom de carbon de legătură;

R² este alchil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalchil (3-8 atomi de carbon), alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxi (3-8 atomi de carbon), nitro, halogen (fluor, clor, brom, iod), perfluoroalchil inferior (1-4 atomi de carbon), hidroxi, aciloxi inferior (1-4 atomi de carbon; (-O-C(O)R), amino, mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilamino inferior (3-8 atomi de carbon), hidroximetil, acil inferior (1-4 atomi de carbon; (-C(O)R), cian, tioalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfinalchil inferior (1-4 atomi de carbon), sulfonalchil inferior (1-4 atomi de carbon), tiocicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfnilcicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfonilcicloalchil (3-8 atomi de carbon), sulfonamido, mono- sau dialchilsulfonamido inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilsulfonamido (3-8 atomi de carbon), mercapto, carboxi, carboxamido (-C(O)-NH₂), mono- sau dialchilcarboxamido inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilcarboxamido (3-8 atomi de carbon), alcoxycarbonil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxycarbonil (3-8 atomi de carbon), alchenil inferior (2-4 atomi de carbon), cicloalchenil (4-8 atomi de carbon), alchil inferior (2-4 atomi de carbon), sau doi R² luați împreună pe atomi de carbon vecini pot forma un inel carbociclic cu 5-7 membri sau un inel mononesaturat de tip: 1,3-dioxolanil, 1-4-dioxanil, 1-4-dioxepinil, piranil, furanil, pirolidil, piperidinil, tiolanil, oxazolanil, tiazolanil, diazolanil, piperazinil, morfolino sau tiomorfolino; și

m=0-3, unde Ar este fenil, tienil, furanil, pirolil, piridil, pirimidil, imidazoil, pirazinil, oxazolil, tiazolil, naftil, benzotienil, benzofuranil, indolil, chinolinil, izochinolinil, și chinazolinil;

R³, R⁴, R⁵ și R⁶ independent pot să lipsească sau să fie H, alchil inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalchil (3-8 atomi de carbon), alcoxi inferior (1-4 atomi de carbon), cicloalcoxi (3-8 atomi de carbon), hidroxi, aciloxi inferior (1-4 atomi de carbon), amino, mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon), mono- sau dicicloalchilamino inferior (3-8 atomi de carbon), alchil inferior (1-4 atomi de carbon), sau cicloalchil (3-8 atomi de carbon), carbonat (-OC(O)OR), unde R este alchil inferior cu 1-4 atomi de carbon sau cicloalchil cu 3-8 atomi de carbon;

sau ureido sau tioureido sau uretan legat la N- sau O-, oricare dintre aceștia fiind opțional substituit cu mono- sau dialchil inferior (1-4 atomi de carbon) sau cicloalchil (3-8 atomi de carbon);

tioalchil inferior (1-4 atomi de carbon), tiocicloalchil (3-8 atomi de carbon), mercapto, alchenil inferior (2-4 atomi de carbon), hidrazino, N'-alchilhidrazino inferior (1-4 atomi de carbon), acilamino inferior (1-4 atomi de carbon), hidroxilamino, O-alchilhidroxilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

sau oricare doi atomi dintre R³-R⁶ luați împreună pe atomi de carbon vecini pot forma un inel carbociclic cu 5-7 membri sau un inel mononesaturat de tip: 1,3-dioxolanil, 1,4-dioxanil, 1,4-dioxepinil, piranil, furanil, pirolidil, piperidinil, tiolanil, oxazolanil, tiazolanil, diazolanil, piperazinil, morfolino sau tiomorfolino;

orice substituent alchil inferior, pe oricare dintre substituenții R³-R⁶ care conțin o asemenea parte, poate fi opțional substituit cu una sau mai multe grupări de tipul: hidroxi, amino, monoalchilamino inferior, dialchilamino inferior N-pirolidil, N-piperidinil, N-piridinium, N-morfolino, N-tiomorfolino sau N-piperazino;

dacă unul sau mai mulți atomi dintre A-E sunt azot, oricare dintre R³-R⁶ de pe un atom de carbon învecinat unuia dintre atomii de azot, nu poate fi OH sau SH;

dacă oricare dintre substituenții R¹, R², R³, R⁴, R⁵ sau R⁶ conține centre chiralice, sau R¹ creează centre chiralice pe atomii de legătură, toți stereoisomerii rezultați sunt incluși atât separat cât și ca amestecuri racemice și/sau diastereoizomerice; și

R⁸ este alchil inferior din 1-4 atomi de carbon, amino sau mono- sau dialchilamino inferior (1-4 atomi de carbon);

sau o sare farmaceutică sau hidratul acesteia.

Sunt propuse metode de tratare a afecțiunilor cancerigene, psoriazului, bolii renale și pancreatitei și la fel metoda care previne implantarea blastocitelor prin administrarea unei cantități eficiente de compus având formula I sau formula II.

Fig. 1 este un rezultat al exemplurilor 6 și 7 asupra autofosforilării receptorului EGF în carcinomul epidermoid uman A 431;

fig. 2 este un efect al exemplului 8 asupra autofosforilării receptorului EGF din carcinomul epidermoid uman A 431;

fig. 3 este o durată de timp necesară pentru inhibarea autofosforilării receptorului EGF în A 431 prin exemplul 27;

fig. 4 este un efect al exemplului 27 asupra autofosforilării receptorului EGF în celulele A 431;

fig. 5 este o inhibare a autofosforilării receptorului EGF în carcinomul epidermoid uman A 431 prin exemplul 40;

fig. 6 este un efect al exemplului 40 asupra fosforilării tirozinei mediate de factorul de creștere la Swiss 3T3;

fig. 7 este un efect al exemplului 40 asupra exprimării dependente de factorul de creștere a lui c-jun m-RNA în fibroblaste de șoarece Swiss 3T3;

fig. 8 este un efect al exemplului 40 asupra exprimării mediate de factorul de creștere a lui p39^{C-jun};

fig. 9 este un efect al exemplului 59 asupra autofosforilării receptorului EGF în carcinomul epidermoid uman A431;

fig. 10 este un efect al exemplului 60 asupra autofosforilării receptorului EGF în carcinomul epidermoid uman A431;

fig. 11 este un efect al exemplului 61 asupra autofosforilării receptorului EGF în carcinomul epidermoid uman A431;

fig. 12 este un efect al exemplului 70 asupra autofosforilării receptorului EGF în carcinomul epidermoid uman A431;

fig. 13 este o hartă prezentând o inhibare a tirozinkinazei receptorului EGF prin exemplul 27;

fig. 14 este un grafic care prezintă un efect al exemplului 40 asupra mitogenezei mediate de factorul de creștere în fibroblastele de șoareci Swiss 3T3;

fig. 15 este o fotografie a unei linii de fibroblast de șoarece NIH 3T3, transfectate cu gena EGFR uman, care prezintă o morfologie aplatizată normală;

fig. 16 este o fotografie a aceleiași linii celulare tratate cu 100 ng/ml EGF care prezintă o morfologie transformată furiformă tipică; și

fig. 17 este o fotografie a aceleiași linii celulare în prezența a 100 ng/ml de EGF și a 5 mm din exemplul 27, care prezintă morfologia revenită de la tipul transformat, înapoi la tipul normal.

Descrierea formelor prezentei invenții

O formă descrisă a acestei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, un alcoxi mai scurt sau halogen.

O altă formă descrisă a invenției are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E atomi de carbon, cu A atom de azot și R^3 atom de H, cu celălalt, amino.

O altă formă a invenției prezentată are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E atomi de carbon, cu A azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, mono sau dialchilamino mai scurt.

O altă formă a invenției prezentată are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt atomi de carbon, cu A atom de azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, hidrazino.

O altă formă descrisă a invenției are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt atomi de carbon, cu A atom de azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, alchil mai scurt.

O altă formă descrisă a invenției are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt atomi de carbon, cu A azot și R^3 și R^4 , alcoxi mai scurt.

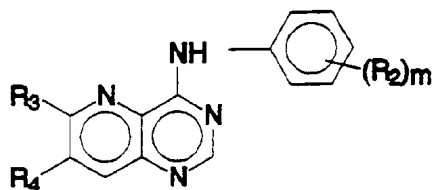
O altă formă expusă a invenției are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt atomi de carbon, cu A atom de azot și R^3 și R^4 , fiind alchil mai scurt.

O altă formă descrisă a invenției are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E sunt atomi de carbon, cu A azot și R^3 sau R^4 amino, cu celălalt, alcoxi mai scurt.

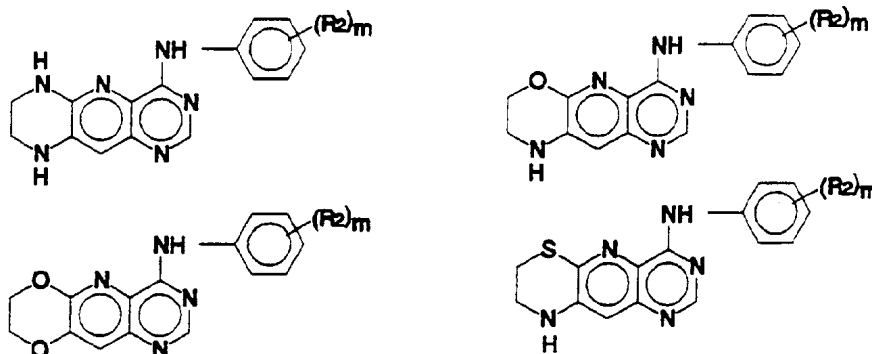
O altă formă a invenției are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz R^1 este H, inelul aromatic fenil este opțional substituit, B, D și E fiind atomi de carbon, cu A atom de azot și R^3 sau R^4 mono- sau dialchilamino mai scurt, cu celălalt, alcoxi mai scurt.

O altă formă prezentată a invenției are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil fiind opțional substituit, B, D și E atomi de carbon, cu A atom de azot și R^3 mono- sau dialchilamino mai scurt, cu R^4 hidroxi.

O structură de inel adecvată pentru grupările 1-10 este:



O altă formă a invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz R^1 este H, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 și R^4 luați împreună sunt dioximetilen, dioxietilen, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată sau tiomorfolină 2,3-fuzionată. Structuri de inel adecvate sunt:



O altă formă a invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, D și E carbon, cu B azot și R^4 alcoxi mai scurt sau halogen.

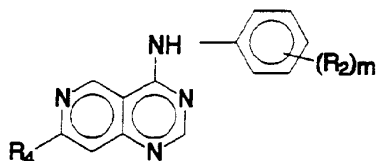
O altă formă a invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, D și E carbon, cu B azot și R^4 amino.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, D și E carbon, cu B azot și R^4 mono- sau dialchilamino mai scurt.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, D și E carbon, cu B azot și R^4 hidrazino.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, C și E atomi de carbon, cu B atom de azot și R^4 alchil mai scurt.

O structură inelară adecvată pentru grupările 12-16 este:



O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și E carbon, cu D atom de azot și R^3 alcoxi mai scurt sau halogen.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și E carbon, cu D atom de azot și R^3 alcoxi mai scurt sau halogen.

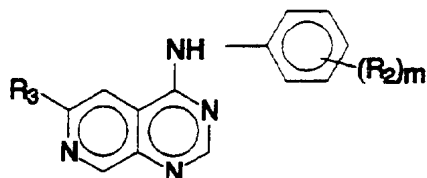
O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și E carbon, cu D atom de azot și R^3 amino.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și E carbon, cu D atom de azot și R^3 este mono- sau dialchilamino mai scurt.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și E carbon, cu D atom de azot și R^3 hidrazino.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și E carbon, cu D azot și R^3 alchil mai scurt.

O structură de inel adecvată pentru grupele 17-21 este:



O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, alcoxi mai scurt.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil este opțional substituit, A, B și D carbon, cu E atom de azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, amino.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, mono- sau dialchilamino mai scurt.

O altă formă a prezentei invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil substituit opțional, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, hidrazino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil este substituit opțional, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 atom de H, cu celălalt, alchil mai scurt.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil este substituit opțional, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 și R^4 sunt alcoxi mai scurt.

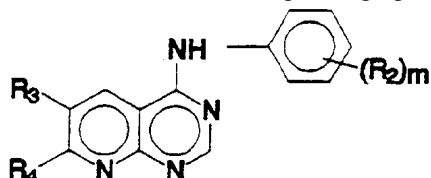
O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil este substituit opțional, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 și R^4 alchil mai scurt.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil substituit opțional, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 amino, cu celălalt, alcoxi mai scurt.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil substituit opțional, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 mono- sau dialchilamino mai scurt, cu celălalt, alcoxi mai scurt.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil substituit opțional, A, B și D carbon, cu E azot și R^4 mono- sau dialchilamino mai scurt, cu R^3 hidroxi.

O structură de inel adecvată pentru grupările 22-31 este:



O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil substituit opțional, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 și R^4 luați împreună sunt dioximetilen, dioxietilen, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată sau tiomorfolină 2,3-fuzionată.

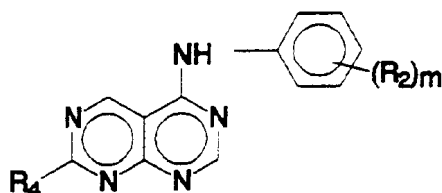
O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil substituit opțional, A și D carbon, cu B și E azot și R^4 alcoxi mai scurt.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A și D carbon, cu B și E azot și R^4 mono- sau dialchilamino mai scurt.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil substituit opțional, A și D carbon, cu B și E azot și R^4 amino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil substituit opțional, A și D carbon, cu B și E azot și R^4 hidrazino.

O structură inelară adecvată pentru grupele 33-36 este:



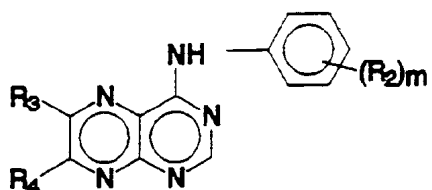
O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil, opțional substituit, B și D carbon, cu A și E azot și R^3 și R^4 , alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil, opțional substituit, B și D atom de carbon, cu A și E atom de azot și R^3 și R^4 , mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil, opțional substituit, B și D atomi de carbon, cu A și E azot și R^3 sau R^4 alcoxi mai mic, cu celălalt, mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B și D atom de carbon, cu A și E azot și R^3 și R^4 luați împreună sunt etilendioxi, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată sau tiomorfolină 2,3-fuzionată.

O structură inelară adecvată pentru grupele 37-40 este:



O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, și, fie A și B luați împreună sunt un atom de S, cu D și E carbon, fie A și B sunt carbon cu D și E luați împreună ca atom de S, cu R^4 sau R^3 H, alchil, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil, substituit opțional, și, fie A și B luați împreună sunt un atom de oxigen, cu D și E carbon, fie A și B sunt atomi de carbon, cu D și E luați împreună un atom de oxigen, cu R^4 sau R^3 H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil substituit opțional și fie A și B luați împreună sunt un atom de N, cu D și E carbon, fie A și E sunt atomi de carbon cu D și E luați împreună ca un atom de azot, cu R^4 sau R^3 H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- ori dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil substituit opțional și, fie A și B luați împreună sunt un atom de S cu D carbon și E azot, fie D și E luați împreună sunt un atom de S și A este N (azot) și B este carbon, cu $R^{3/4}$ H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit și, fie A și B luați împreună sunt un atom de oxigen, cu D carbon și E azot, fie D și E luați împreună sunt un atom de oxigen, A este azot și B este carbon, cu $R^{3/4}$ H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- ori dialchilamino mai mic.

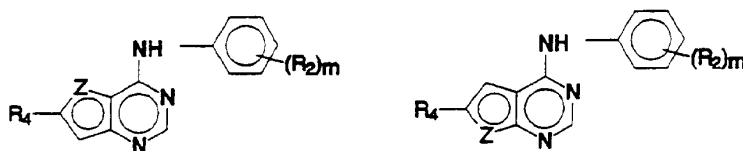
O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A și B luați împreună sunt un atom de azot, D este carbon și E este azot, cu $R^{3/6}$ H, sau alchil mai mic și R^4 H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic opțional substituit și, fie A și B luați împreună sunt un atom de oxigen cu D azot și E carbon, sau A și B luați împreună sunt un atom de carbon cu D azot și E oxigen, cu $R^{3/6}$ H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit și, fie A și B luați împreună sunt un atom de sulf cu D azot și E carbon, fie A și B luați împreună sunt un atom de carbon cu D azot și E sulf, cu $R^{3/6}$ H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit și, fie A și B luați împreună sunt un atom de azot cu D azot și E carbon, fie A și B luați împreună sunt un atom de carbon cu D și E atomi de azot, cu $R^{3/6}$ H sau alchil mai mic, dacă sunt pe azot, fie H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic, dacă este pe carbon.

Alte structuri inelare adecvate sunt:



unde Z = azot, oxigen sau sulf.

Compușii prezentei invenții se prepară conform unui număr de secvențe de reacție alternative.

Căi de obținere a compușilor prezentei invenții

Schema 1. Cale pentru grupele descrise 1-5, $R^4 = H$

Deplasarea lui 2-cloro din 2,6-dicloro-3-nitropiridină este realizată de către cianura cuproasă în NMP (NMP este un solvent, N-metil-2-pirolidonă). Dezlocuirea celui de-al doilea clor din acest nitril de către fluorură în această etapă, poate fi avantajoasă. Aceasta este urmată de o reducere lentă a grupării nitro, în condiții în care halogenul nu este hidrolizat. Hidroliza nitrilului urmată de ciclizarea ortoformatului și de clorurare de tip Vilsmeier va da dihalopiridopirimidină. Înlocuirea clorului-4 mult mai reactiv, cu o amină adecvată este urmată de înlocuirea halogenului-6 cu nucleofilul adecvat, amoniac, alchilamină mai mică, hidrazină, metoxid, pentru formarea produselor finale.

O formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt alcoxi sau halogen.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt, amino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt, mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt, hidrazino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt, alchil mai mic.

Schema 2. Cale pentru grupele descrise 1-5, $R^3 = H$

Substituirea (înlocuirea) clorului din 2-clor-3,5-dinitropiridină este realizată cu CuCN în NMP. Reducerea grupărilor nitro la amine este urmată de hidroliza nitrilului la o amidă. Aceasta este ciclizată la pirimidonă cu ortoformat, care este convertit în clorură de către POCl_3 sau posibil îtoarsă la derivatul tiometil prin tratare cu pentasulfură de fosfor urmată de MeI și o bază fină. Înlocuirea cu amina adecvată dă compusul 7-amino dorit. Funcțiunea amino poate fi alchilată reductiv sau activată prin diazotare în condiții acide sau bazice, urmat de o reducere la hidrazidă, sau conversie într-un alchileter mai mic, sau la un halogen realizată cu un cuprat sau cuplare Stille prin metode cunoscute specialiștilor din domeniu. Alternativ, amina poate fi aminată reductiv sau acilată și redusă pentru a forma catena laterală alchilamino.

Schema 3. Cale spre grupele descrise 6 și 8-10 în care $R^4 = RO$

Metalizarea cunoscută a lui 2,6-difluorpiridină este exploatată de două ori. Tratamentul cu LDA urmat de un peroxid borat/hidrogen introduce substituentul 3-hidroxi. Dacă piridina suferă a 2-a metalizare la poziția 4, alcoolul poate fi ocrotit ca un TIPS (triizopropil silil) eter, care va forța a 2-a metalizare în poziția 5. Pot fi utilizate azotări alternative, cum ar fi convertirea intermediarului litium la un stanan și tratamentul cu tetranitrometan, sau utilizarea de NO_2BF_4 (tetrafluoroborat de nitroniu). Substituția la C_1 poate fi realizată cu cianură cuproasă sau alte surse de ioni cianură. După hidroliza nitrilului și reducerea grupării nitro, etilortoformatul poate fi utilizat în locul formamidei pentru ciclizare, și este probabil ca unele ciclizări să necesite substituirea F cu MeS anterior reacției. Poziția 4 - este activată prin clorurare și catena laterală amină este imediat introdusă. Dislocarea finală poate fi cu alcoxid sau nucleofili aminici pentru generarea diferitelor specii dialcoxi și amino-alcoxi, iar utilizarea adecvată a lui R poate permite ca gruparea 7-hidroxi să fie neascunsă la sfârșitul sintezei (LDA este diizopropil amidă de litium).

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 și R^4 alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1, în care caz R^1 este H, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot, iar R^3 sau R^4 amino, cu celălalt alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot, iar R^3 și R^4 mono- sau dialchilamino mai mic, cu celălalt alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 mono- sau dialchilamino mai mic, cu R^4 hidroxi.

Schema 4. Cale spre grupa 7 prezentată

Utilizarea acidului 6-alchilchinaldinic urmată de bromurare în condiții forțate dau o anhidridă care este deschisă cu amoniac, reciclată la imidă, iar apoi degradarea Hoffman se desfășoară la carbonilul cel mai puțin activ. Ciclizarea și adăugarea catenei laterale inelului în mod normal sunt urmate de o cuplare Stille pentru introducerea grupării alchil R^4 . În această etapă, ar putea fi introduși și substituenții alchenil sau aril prin folosirea acestei tehnologii de cuplare.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot și R^3 și R^4 alchil mai mic.

Schema 5. Cale spre grupele prezentate 8, 9, $R^3 = OR$

Diazotarea 2,6-dihidroxipiridinei este urmată de conversia în dicloro-compusul foarte reactiv. Dinitrodicloropiridina este dezlocuită cu cianură cuproasă în NMP, iar apoi compusul este redus în condiții blânde la diamină. Nitrilul este hidrolizat la amidă, care poate fi ciclizată la piridopirimidonă, care este 4-clorurată în mod obișnuit.

Înlocuirea celui mai reactiv clor cu catenă laterală 4 este urmată de înlocuirea 6-clorului cu alcoxid. Pentru grupa 9, amina trebuie alchilată adecvat prin metode cunoscute specialiștilor.

Schema 6. Cale spre grupa 11 descrisă

Compușii din grupa 11 prezentată sunt cazuri specializate ale grupelor 6, 8, 9 și 10 prezentate, unde R^3 și R^4 sunt ciclizate împreună. Ei se pot obține pe aceleași căi ca și cele descrise pentru grupele prezentate, cu modificări minore, care vor fi evidente specialiștilor din domeniu. Spre exemplu, compușii alcoxi amino substituiți în vecinătate, pot fi dezalchilați, iar aminoalcooli învecinați corespunzători pot fi bisalchilați cu un dihaloalcan adecvat.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B, D și E carbon, cu A azot, iar R^3 și R^4 luați împreună sunt dioximetilen, dioxietilen, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată sau tiomorfolină 2,3-fuzionată.

Schema 7. Cale pentru obținerea grupelor descrise 12-16

2,4-Diamino-5-cianopiridina poate fi ciclizată direct spre mulți derivați ai 4-benzilaminopiridopirimidinei prin tratament cu benzilamină și acid formic la temperatură ridicată. Pentru mai puține amine nucleofile, 2,4-diamino-5-cianopiridina este transformată via tratament cu etil ortoformat/anhidridă acetică, urmat de ciclizare cu ion hidrosulfură în condiții anhidre, pentru a da 7-amino-4-tiono-3H-pirido[4,3-d]pirimidină. S-Alchilarea și înlocuirea cu o amină adecvată dă produsul dorit. Dacă R^4 nu este amino, amina poate fi acilată sau alchilată reductiv. Alternativ, 2,4-diamino-5-cianopiridina poate fi hidrolizată la amida corespunzătoare, iar aceste specii pot fi ciclizate la 7-amino-4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidină cu ortoformat. Diazotarea 7-aminei și înlocuirea cu fluor permite introducerea altei amine și nucleofili alcoxidici la sfârșitul sintezei după ce substituentul din C_4 a fost introdus în mod uzual. Diazotarea și înlocuirea aminei cu bromură permit cuplările Stille la poziția 7.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, D și E carbon, cu B azot, și R^4 alcoxi mai mic sau halogen.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, D și E carbon, cu B azot și R^4 amino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, D și E carbon, cu B azot și R^4 mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, D și E carbon, cu B azot și R^4 hidrazino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, C și E carbon, cu B azot și R^4 alchil, mai mic.

Schema 8. Cale de obținere a grupelor prezentate 17-21

2-Clor-5-nitropiridina este convertită în compusul 2-fluoro corespunzător cu KF în DMSO.

Reducerea grupării nitro urmată de tratamentul cu anhidridă Boc dă derivatul Bocamino, care poate fi metalizat și carboxilat la poziția 4. Îndepărtarea Boc cu TFA și ciclizarea inelului pirimidonă cu formamidă dă 6-fluoro-4-oxo-3H-pirido[3,4-d]pirimidină. Aceasta este 4-clorurată în mod obișnuit și catena laterală 4 este introdusă prin dezlocuirea cu o amină adecvată. Înlocuirea 6-fluorului cu nucleofili adecvați conduce la diverse produse finale. Dacă fluorul este înlocuit cu tiometoxid, care, la rândul său este înlocuit cu grupări alchil în substituții de tip Grignard catalizate de Ni.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și E carbon, cu D azot și R^3 alcoxi mai mic sau halogen.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și E carbon, cu D azot și R^3 amino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și E carbon, cu D azot și R^3 mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și E carbon, cu D azot, și R^3 hidrazino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și E carbon, cu D azot, și R^3 alchil mai mic.

Schema 9. Calea de obținere a grupelor descrise 22-26, $R^4 = \text{H}$

Azotarea acidului 2-metoxinicotinic este urmată de înlocuirea grupării metoxi activate și de ciclizarea inelului pirimidonă, posibil într-o etapă cu formamidină, sau alternativ, în 2 etape cu amoniac, urmat de ciclizare cu un echivalent al formamidei. Carbonilul este convertit în clorură și înlocuit cu catena laterală în mod obișnuit, și gruparea nitro este selectiv redusă la amino. Aceasta poate fi alchilată, acilată sau diazotată. Compusul diazo poate fi transformat în hidroxi sau în bromură sau iodură, iar aceștia din urmă pot suferi o cuplare Stille pentru introducerea în poziția R^3 a unor radicali alchil, alchenil, aril mai mici etc.

O altă formă prezentată a invenției are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt, alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt amino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt hidrazino.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 H, cu celălalt alchil mai mic.

Schema 10. Cale spre grupele descrise 22-26, $R^3 = \text{H}$

Această cale utilizează metalizarea și carboxilarea cunoscute ale 2,6-difluoropiridinei, urmate de dezlocuirea substituentului 2-fluor. Ciclizarea inelului pirimidonă cu formamidă, urmată de conversia carbonilului în clorură într-o manieră obișnuită, dă o clorofluoropiridopirimidină. Catena laterală ar(alch)ilamino este introdusă prin dezlocuirea celui mai reactiv clor din pirimidină, iar substituentul lui R^4 este introdus prin dezlocuirea fluorului. Introducerea alchilului folosește înlocuirea fluorului cu aloxid, clivarea ulterioară a eterului spre piridonă, O-trifier și cuplare de tip Stille.

Schema 11. Cale de obținere a grupelor 27 și 29-31, $R^3 = \text{RO}$

Această schemă se bazează pe metalizarea 2,6-difluoropiridinei similar schemei 10. Prima metalizare este destinată introducerii oxigenului, iar a doua este pentru introducerea acidului carboxilic. Dacă este necesară forțarea celei de-a doua metalizări, spre poziția 5, oxigenul poate fi protejat ca eterul foarte voluminos TIPS și pot fi necesare baze mai tari decât LDA. Amoniacul este introdus în poziția 2 în condiții de temperatură și presiune ridicate, iar inelul piridonă este ciclizat și activat în poziția 4 în maniera obișnuită și apoi înlocuit cu catena laterală din poziția 4.

Înlocuirea substituentului 7-fluor cu un nucleofil convenabil, urmată de conversiile descrise în schemele anterioare, sfârșesc sinteza.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 și R^4 alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 amino, cu celălalt alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 sau R^4 mono- sau dialchilamino mai mic, cu celălalt alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^4 mono- sau dialchilamino mai mic, cu R^3 hidroxi.

Schema 12. Cale de obținere a grupei 28 descrise

Acidul 5-brom-2,6-difluoronicotinic este preparat prin litieri succesive cu LDA, pornind de la 2,6-difluoropiridină. Poziția 5 este alchilată via o cuplare Stille, iar inelul pirimidonă este ciclizat în două etape. Substituentul 4 este introdus în maniera obișnuită, iar gruparea 7-fluoro este înlocuită cu tiometoxid, la rândul lui, acest tiometer este dezlocuit cu un agent Grignard în prezența unui catalizator - sare de nichel. Utilizarea reactivilor organometalici adecvați în cuplările Stille și Grignard ar putea conduce la substituenți alchenil, alchil și aril la R^3 și R^4 .

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 și R^4 alchil mai mic.

Schema 13. Cale spre grupele descrise 29 și 30, $R^4 = \text{RO}$

Azotarea acidului dicloronicotinic disponibil este urmată de o dezlocuire selectivă a clorului cel mai reactiv în condiții blânde, urmată de o dezlocuire mai puternică a celui alt clor, în ordinea convenabilă. Acidul 6-alcoxi-2-amino-5-nitronicotinic rezultat este ciclizat la pirimidonă, iar 4-carbonilul este convertit la o clorură și dezlocuit în mod obișnuit cu o amină adecvată pentru a da 4-amino-7-alcoxi-6-nitropirido[2,3-d]pirimidină. Reducerea grupării nitro, urmată de orice alchilare sau acilare dorită, dă compușii doriți.

Schema 14. Cale de obținere a grupei 32 prezentate

Compușii grupei 32 sunt cazuri specializate ale grupelor prezentate 27, 29, 30 și 31, unde R^3 și R^4 sunt ciclizați împreună. Ei pot fi obținuți folosind aceleași căi descrise pentru aceste grupe prezentate, cu modificări minore. Spre exemplu, compuși amino alcoxi vicinal substituiți pot fi dezalchilați, iar alcoolii amino vicinali pot fi bisalchilați cu un dihaloalkan adecvat. Piperazinele pot fi obținute pe calea prezentată în schema 13, care a prevăzut utilizarea unui nucleofil aminic convenabil pentru dezlocuirea substituentului 6-clor, în locul unui alcoxid.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A, B și D carbon, cu E azot și R^3 și R^4 luați împreună sunt dioximetilen, dioxietilen, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată sau tiomorfolină 2,3-fuzionată.

Schema 15. Cale de obținere a grupelor 33-36 descrise

Reacția unei sări corespunzătoare de S-alchilizotiuronium cu metoximetilidin malononitril produce un precursor al pirimidinei complet funcțional. Pirimidina inițial formată poate avea SEt înlocuit cu R^4 fie înainte, fie după hidroliza nitrilului, dacă înlocuirea sau oxidarea se dovedesc problematice ulterior. Dezlocuirea grupării SEt poate fi realizată și fără o oxidare pentru activarea sulfului.

Ciclizarea celui de-al doilea inel pirimidinic este urmată de activarea 4-carbonilului prin sulfurare și alchilare. Chiar dacă gruparea 7-tio nu a fost dezlocuită în acest moment (etapă), introducerea catenei laterale 4-amino se desfășoară preferențial.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A și D carbon, cu B și E azot și R^4 alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A și D carbon, cu B și E azot și R^4 mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții prezentate are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A și D carbon, cu B și E azot și R^4 amino.

O altă formă a prezentei invenții descrise are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A și D carbon, cu B și E azot și R^4 hidrazino.

Schema 16. Cale de obținere a grupelor descrise 37-40

Nucleul pterinic este produs prin procedee bine stabilite. Pentru grupa 37, intermediarul pterindionic poate fi O-alchilat, și, pentru aceasta, și pentru alte grupe, pterindiona poate fi convertită în triclorpterină, iar substituirile selective pot fi realizate pe halogeni într-o ordine adecvată pentru obținerea compusului dorit.

O altă formă a prezentei invenții descrise are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B și D carbon, cu A și E azot și R^3 și R^4 alcoxi mai mic.

O altă formă a prezentei invenții descrise are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B și D carbon, cu A și E azot și R^3 și R^4 mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții descrise are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B și D carbon, cu A și E azot și R^3 sau R^4 alcoxi mai mic, cu celălalt, mono- sau dialchilamino mai mic.

O altă formă a prezentei invenții descrise are $X = \text{NH}$, $n = 0$, inelul aromatic fenil opțional substituit, B și D carbon, cu A și E azot și R^3 și R^4 luați împreună sunt etilendioxi, piperazină 2,3-fuzionată, morfolină 2,3-fuzionată sau tiomorfolină 2,3-fuzionată.

Schema 17. Cale de obținere a grupei descrise 41 [3,2-d] inel fuzionat

3,H-Tieno[3,2-d]pirimid-4-onă poate fi obținută prin chimia standard din etil 3-aminotiofen carboxilat și formamidă, disponibili comercial. Conversia carbonilului la clorură prin tehnicile standard, urmată de substituirea cu o amină adecvată dau tieno[3,2-d]pirimidinele dorite. Dacă R^4 nu este H, un electrofil adecvat, spre ex. nitro pentru amină

alcalinizată sau substituenți derivați de la diazotare, sau Br pentru produsele finale cuplate Stille, poate fi introdus fie în stadiul prezentat, fie într-un stadiu mai de început, și apoi poate fi convertit la R^4 , prin reducere și aminare sau prin cuplare de tip Stille, sau prin alte metode cunoscute specialiștilor din domeniu (Această tehnică este urmată și de următoarele categorii prezentate care au posibilitatea de substituție pe R^3 sau R^4 , deoarece ele conțin 5 inele bogate în electroni care pot fi ușor manipulate prin substituție aromatică electrofilă). (DMSO este dimetil sulfoxid).

O altă formă a prezentei invenții descrise are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, iar, fie A și B luați împreună sunt un atom de sulf, cu D și E carbon, fie A și B sunt carbon, cu D și E luați împreună ca un atom de sulf, cu R^4 sau R^3 H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

Schema 18. Cale spre grupele 41 [2,3-d] inel fuzionat

Tieno[2,3-d]pirimid-4-onă este construită prin sinteză Gewald din 2,5-dihidroxi-1,4-ditian și etil cianoacetat, urmată de ciclizarea formamidei. Conversia carbonilului la clorură prin tehnici standard, urmată de înlocuirea cu o amină adecvată dau tieno[2,3-d]pirimidinele dorite.

Schema 19. Cale spre grupele descrise 42 [3,2-d] fuziune ciclică

Compușii cu fuziune a inelului [3,2-d] sunt obținuți din 3-bromofurfural așa cum este prezentat în schema A. Dezlocuirea bromurii de către azidă, urmată de oxidarea aldehidei furnizează acidul aminofuroic de bază necesar fuzionării pe inelul pirimidinic. Poate fi utilizată forma inelară prezentată, fie prin manipularea derivatului acid folosit în prezent, fie utilizând o varietate de alte forme inelare și de activări ale poziției 4 dacă este necesar.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, și fie A și B luați împreună sunt un atom de oxigen, cu D și E carbon, fie A și B sunt carbon cu D și E luați împreună ca un atom de oxigen, cu R^4 sau R^3 H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino, sau mono- sau dialchilamino mai mic.

Schema 20. Cale spre grupele descrise 42 cu fuziune [2,3-d] a inelului

Reacția 6-cloro-4-metiltiopirimidinei cu LDA urmată de DMF dau 5-aldehida corespunzătoare, care este tratată cu sarea de sodiu a unui ester glicolat adecvat, dezlocuind clorul și formarea *in situ* a inelului furan prin condensare aldolică intramoleculară. Clivarea esterului și decarboxilarea funcțiunii 7-acid nedorite pot fi realizate într-o singură reacție cu un nucleofil bun într-un solvent aprotic dipolar la temperatură ridicată, sau în saponificare separată și etape de decarboxilare Cu/chinolină. Dezlocuirea grupării 4-metiltio cu o amină adecvată dă furano[2,3-d]pirimidinele dorite.

Schema 21. Cale spre fuziunea inelului [2,3-d] al grupelor 43

Pentru obținerea pirolo[2,3-d]pirimidinei, un inel pirimidinic este ciclizat pe ciano amino-pirol utilizând tehnicile cunoscute, așa cum este prezentat în schema B de mai sus. Activarea și dezlocuirea tiolului cu catena laterală poate fi precedată sau urmată de substituția electrofilă opțională a inelului pirolitic.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, și fie A și B luați împreună sunt un atom de azot, cu D și E carbon, fie A și B sunt carbon cu D și E luați împreună ca un atom de azot, cu R^4 sau R^3 H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

Schema 22. Cale de fuziune a inelului [3,2-d] al grupelor 43 descrise

Prepararea pirolo[3,2-d]pirimidinei exploatează condensarea cunoscută a ortoformatului cu gruparea 4-metil acidifiată a 6-pirimidonelor pentru a forma piropirimidina cum s-a arătat mai sus. Catena laterală poate fi atașată prin tehnici standard, ca în Schema 1, iar substituentul lui R^4 poate fi introdus prin chimia electrofilă standard descrisă mai sus.

Schema 23. Cale spre fuziunea inelului [5,4-d] al grupelor 44 descrise

Condensarea acidului ditioformic cu 2-aminomalononitril în prezența unui agent de dehidratare cum ar fi PPA dă 5-amino-4-cianotiazol. Reacția acestuia cu ortoformat, urmată de tratarea cu MeSNa dă un derivat tiazolo[5,4-d]pirimidinic, care prin tratament cu o amină adecvată dau compușii doriți.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, și, fie A și B luați împreună sunt un atom de sulf, cu D carbon și E azot, fie D și E luați împreună sunt un atom de sulf, și A este azot și B este carbon, cu $R^{3/4}$ H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino, mono- sau dialchilamino mai mic.

Schema 24. Cale pentru obținerea grupelor 44 prezentate cu inelul fuzionat [4,5-d]

Reacția N-cianobismetiltiometileniminei cu etil tioglicolat dă etil 2-metiltio-4-aminotiazol-5-carboxamida. Ciclizarea cu formamidă sau un echivalent, urmată de desulfurizarea grupării metiltio dă o tiazolopirimidonă care poate fi activată cu reactiv Vilsmeier, iar clorura dezlocuită cu amina dorită pentru a da derivații tiazolo[4,5-d]pirimidinici doriți așa cum s-a arătat mai sus.

Schema 25. Cale spre grupele 45 cu inelul fuzionat [5,4-d]

5-Amino-4-cianooxazolul cunoscut este tratat cu etilortoformat/anhidridă acetică și apoi cu MeSNa pentru a se obține 4-metiltiooxazolo[5,4-d]pirimidină, care prin dezlocuire cu amina adecvată dă oxazolo[5,4-d]pirimidinele dorite așa cum s-a arătat mai sus.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1 , în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, și, fie A și B luați împreună sunt un atom de oxigen, cu D carbon și E azot, fie D și E luați împreună sunt un

atom de oxigen, iar A este azot și B carbon, cu $R^{3/4}$ H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino, mono- sau dialchilamino mai mic.

Schema 26. Cale spre fuziunea inelului [4,5-d] al grupelor 45 descrise

Diazotarea 5-amino-4,6-dicloropirimidinei cunoscute, urmată de tratamentul cu acid sulfuric diluat, dau compusul 5-hidroxi corespunzător. Unul dintre atomii de clor este înlocuit cu amoniac, iar inelul oxazol este închis cu acid formic sau cu un echivalent adecvat. Dezlocuirea celui alt clor cu o amină adecvată dă oxazolo[4,5-d]pirimidinele dorite, așa cum s-a arătat mai sus.

Schema 27. Cale de obținere a grupelor 46 descrise

Acești compuși pot fi obținuți prin dezlocuirea directă a halogenului pe 6-cloropurine adecvate, pe căi bine cunoscute în domeniu. Substituenții lui R^3 pot fi introduși via substituții electrofile ușoare la poziția 8 activată a nucleului purinic, urmate de tipurile de transformări discutate în exemplele anterioare.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, A și B luați împreună sunt un atom de azot, iar D este carbon și E este azot, cu $R^{3/6}$ H sau alchil mai mic și R^4 H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino sau mono- sau dialchilamino mai mic.

Schema 28. Cale spre grupele 47 descrise cu fuziunea inelului în [5,4-d]

Reacția 6-cloro-4-metiltiopirimidinei cu LDA urmată de DMF dă 5-aldehida corespunzătoare care este tratată cu hidroxilamină în condiții acide blânde, iar apoi, în condiții bazice pentru completarea închiderii inelului dând 4-metiltioizoxazolo[5,4-d]pirimidina, care prin dezlocuire cu o amină adecvată dă derivații izoxazolo[5,4-d]pirimidinici doriți, așa cum s-a arătat mai sus.

O altă formă a prezentei invenții are $X = NH$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit, și fie A și B luați împreună sunt un atom de oxigen, cu D azot și E carbon, fie A și B luați împreună sunt un atom de carbon, cu D azot și E oxigen, cu $R^{3/6}$ H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino, mono- sau dialchilamino mai mic.

Schema 29. Cale pentru fuziunea inelului în [4,5-d] a grupelor 47

Reacția 4,6-dicloro-5-nitropirimidinei cu CuCN/NMP dă 4-nitrilul. Reducerea grupării nitro la amina corespunzătoare este urmată de diazotare și de tratamentul cu acid sulfuric diluat pentru a da compusul 5-hidroxi corespunzător. Reacția acestuia cu MeAl/NH₄Cl dă amidina care este ciclizată oxidativ la 7-amino-4-cloroizoxazolo[4,5-d]pirimidină. Îndepărtarea funcțiunii amino prin diazotare/acid fosforos este urmată de dezlocuirea 4-clorului cu o amină adecvată pentru a da derivații izoxazolo[4,5-d]pirimidinici doriți așa cum s-a arătat mai sus.

Schema 30. Cale spre fuziunea inelului în [5,4-d] la grupele 48 descrise

Reacția 6-cloro-4-metiltiopirimidinei cu LDA urmată de DMF dă 5-aldehida corespunzătoare, care este tratată secvențial cu NaSH, NBS și amoniac pentru completarea ciclizării inelului dând 4-metiltioizotiazolo[5,4-d]pirimidina, care prin dezlocuire cu o amină adecvată dă derivații izotiazolo[5,4-d]pirimidinici doriți așa cum s-a arătat mai sus.

O altă formă a invenției prezentate are $X = NH$, $n = 0$ sau 1, inelul aromatic fenil opțional substituit, și, fie A și B luați împreună sunt un atom de sulf, cu D azot și E carbon, fie A și B luați împreună sunt un atom de carbon, cu D azot și E sulf, cu $R^{3/6}$ H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino, mono- sau dialchilamino mai mic.

Schema 31. Cale spre fuziunea inelului [4,5-d] din grupele 48 descrise

Reacția 4,6-dicloro-5-nitropirimidinei cu CuCN/NMP dă 4-nitrilul. Reducerea grupării nitro la amină este urmată de diazotare/sulfurare pentru a da compusul 5-mercapto corespunzător. Reacția acestuia cu MeAl/NH₄Cl dă amidina care este ciclizată oxidativ cu NBS la 7-amino-4-cloroizotiazolo[4,5-d]pirimidină. Îndepărtarea funcționalității amino prin diazotare/acid hipofosforos este urmată de dezlocuirea 4-clorului cu o amină adecvată pentru a da derivații izotiazolo[4,3-d]pirimidinici doriți așa cum s-a arătat mai sus.

Schema 32. Cale spre fuziunea inelului [3,4-d] din grupele 49 descrise

Reacția 6-cloro-4-metiltiopirimidinei cu LDA urmată de DMF dă 5-aldehida corespunzătoare, care este tratată cu hidrazină pentru închiderea inelului, obținând 4-metiltiopirazolo[3,4-d]pirimidină, care prin dezlocuire cu o amină adecvată dă derivații pirazolo[3,4-d]pirimidinici doriți, așa cum s-a arătat mai sus.

O altă formă a prezentei invenții prezentate are $X = NH$, $n = 0$ sau 1, în care caz $R^1 = H$, inelul aromatic fenil opțional substituit și, fie A și B luați împreună sunt un atom de azot, cu D azot și E carbon, fie A și B luați împreună sunt un atom de carbon, cu D și E atomi de azot, cu $R^{3/6}$ H sau alchil mai mic, dacă este pe azot, fie H, alchil mai mic, alcoxi mai mic, amino, mono- sau dialchilamino mai mic dacă este pe carbon.

Schema 33. Cale spre fuziunea inelului [4,3-d] din grupele 49 descrise

Nitrarea acidului pirazol-3-carboxilic urmată de reducere dă acidul 4-aminopirazol-3-carboxilic. Acesta este ciclizat la pirazolo[4,3-d]pirimid-4-onă cu formamidină HCl, iar înlocuirea carbonilului cu halogenură prin procedee standard, urmată de dezlocuirea clorului de o amină adecvată, produce pirazolo[4,3-d]pirimidina dorită, așa cum s-a arătat mai sus.

Cele mai preferate forme ale prezentei invenții

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este una în care $X = NH$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, B, D și E sunt carbon, A este azot și R^4 este amino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = NH$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, B, D și E sunt carbon, A este azot și R^4 este metilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, B, D și E sunt carbon, A este azot și R^4 este dimetilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-nitrofenil, A, D și E sunt carbon, B este azot și R^4 este amino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot și R^4 este amino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 4-bromfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot și R^4 este amino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-trifluorometilfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot, iar R^4 este amino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot, iar R^4 este acetilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 1$, $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic este fenil, A, D și E sunt carbon, B este azot.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 1$, $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic este fenil, A, D și E sunt carbon, B este azot, iar R^4 este acetilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, B și E sunt carbon, D este azot, $R^3 = \text{Cl}$.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, D este azot, iar R^3 este metoxi.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, D este azot, iar R^3 este metilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, D este azot, iar R^3 este dimetilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, D și E sunt carbon, iar A și B luați împreună sunt S.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 1$, $R^1 = \text{H}$, inelul aromatic este fenil, D și E sunt carbon, iar A și B luați împreună sunt S.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A și B sunt carbon, iar D și E luați împreună sunt S.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, B este carbon, iar A, D și E luați împreună sunt azot.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, B și E sunt carbon, D este azot și R^3 este N-piperinil.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot și R^4 este fluoro.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-hidroxifenil, A, D și E sunt carbon, B este azot și R^4 este amino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot, iar R^4 este metilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot și R^4 este dimetilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot, iar R^4 este metilamino.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, D și E sunt carbon, B este azot, iar R^4 este metoxi.

Una dintre cele mai preferate forme ale invenției este cea în care $X = \text{NH}$, $x = 0$, inelul aromatic este 3-bromfenil, A, B și D sunt carbon, E este azot și R^4 este fluoro.

Biologie. Acești compuși sunt inhibitori puternici și selectivi ai tirozinkinazei receptorului EGF uman și a altor membri ai familiei receptorului EGF, inclusiv kinazele receptorilor ERB-B2, ERB-B3 și ERB-B4 și sunt utili în tratamentul bolilor proliferative la mamifere. Acești inhibitori previn mitogeneza în celulele în care aceasta este determinată de una sau mai multe kinaze ale receptorului din această familie. Aceasta poate include celule normale, în care se dorește prevenirea mitogenezei, exemplificate prin celulele transformate prin supraexprimarea sau mutația acestei familii de kinaze, fapt ilustrat în slaba prognoză a cancerului de sân, unde supraexprimarea lui EGFR, ERB-B2 și ERB-B3 sau mutația lui ERB-B2 la nivelul proteinei NEU, constituie un factor principal în transformarea celulară. Cum compușii prezentați nu sunt puternic citotoxici și nu prezintă proprietăți puternice de inhibare a creșterii datorită înaltei lor specificități față de inhibarea familiei kinazei lui EGFR, ei ar trebui să aibe un profil de toxicitate mult mai clar decât majoritatea medicamentelor anticanceroase și antiproliferative. Modul lor de acțiune foarte diferit de al medicamentelor anticanceroase obișnuite, permite utilizarea lor în multiple terapii medicamentoase, unde sinergismul cu agenți disponibili este anticipat.

Compușii acestei invenții s-au dovedit a fi inhibitori foarte puternici, reversibili ai tirozinkinazei receptorului EGF, prin legarea de mare afinitate la situsul de legare adenzin trifosfatic (ATP) al kinazei. Acești compuși prezintă IC_{50} puternici, variind de la 10 micromolar la 5 picomolar, pentru activitatea tirozinkinazică a enzimei, bazat pe o determinare care examinează fosforilarea unei peptide derivate din situsul de fosforilare al proteinei PLCgamma 1 - un substrat cunoscut pentru fosforilarea lui EGFR. Aceste date sunt prezentate în tabelul 1.

Date biologice

Materiale și metode

Purificarea tirozinkinazei receptorului pentru factorul de creștere epidermic. Tirozinkinaza receptorului EGF uman a fost izolată din celule de carcinom epidermoid uman A 431 care supraexprimă receptorul EGF, prin următoarele metode. Celulele au fost crescute în flacoane cu mediu de cultură Eagle modificat de Delbuco 50% și mediu nutritiv (Gibco) 50% HAM F-12 conținând 10% ser fetal de vițel. Aproximativ 10^9 celule au fost lizate în 2 volume de tampon conținând 20 mM acid 2-(4N-(2-hidroxietyl)piperazin-1-il)etansulfonic (hepes), pH 7,4, 5 mM acid etilenglicol bis(2-aminoetiler)N,N,N',N'-tetraacetic, 1% Triton X-100, 10% glicerol, 0,1 mM ortovanadat de sodiu, 5 mM fluorură de sodiu, 4 mM pirofosfat, 4 mM benzamidă, 1 mM ditiotreit, 80 mg/ml aprotinină, 40 mg/ml leupeptină și 1 mM fluorură de fenilmetilsulfonil. După centrifugare la 25.000 x g timp de 10 min, supernatantul a fost echilibrat timp de 2 h la 4°C cu 10 ml sefaroză-aglutinină din germeni de grâu care a fost anterior echilibrată cu 50 mM hepes, 10% glicerol, 0,1% Triton X-100 și 150 mM NaCl, pH 7,5 (tampon de echilibrare). Proteinele contaminante au fost spălate de pe rășină cu NaCl 1 M în tampon de echilibrare, iar enzima a fost eluată cu N-acetil-1-D-glucosamină 0,5 M în tampon de echilibrare, urmată de 1 mM uree. Enzima a fost eluată cu 0,1 mg/ml EGF. Receptorul s-a dovedit omogen prin determinare electroforetică cu geluri de poliacrilamidă colorate cu Coomassie blue.

Determinarea valorilor IC_{50}

Determinările enzimatică pentru evaluările IC_{50} s-au realizat într-un volum total de 0,1 ml, conținând 25 mM Hepes, pH 7,4, 5 mM $MgCl_2$, 2 mM $MnCl_2$, vanadat de sodiu 50 mM, 5-10 ng tirozinkinază a receptorului EGF, 200 mM dintr-o peptidă substrat (Ac-Lys-His-Lys-Lys-Leu-Ala-Glu-Gly-Ser-Ala-Tyr⁴⁷²-Glu-Glu-Val-NH₂, derivat din aminoacidul Tyr⁴⁷² fiind unul dintre cele 4 tirozine din PLC (fosfolipaza C) - gamma 1, care sunt fosforilate de către tirozinkinaza receptorului EGF (Wahl, M.I.; Nishibe, S.; Kim, J.W.; Rhee, S.G.; Carpenter, G., J. Biol. Chem., 1990, 265, 3944-3948), iar peptidele derivate din secvența enzimatică care înconjoară acest situs sunt substrat excelente pentru enzimă), 10 mM ATP conținând 1 mCi ATP marcat cu (³²P) și incubate 10 min la temperatura camerei. Reacția a fost stopată prin adăugarea de 2 ml acid fosforic 75 mM și trecere printr-un filtru disc de fosfoceluloză pentru legarea peptidei. Filtrul a fost spălat de 5 ori cu acid fosforic 75 mM și plasat într-o fiolă împreună cu 5 ml fluid de scintilație (gel Beckman).

Tabelul 1

Inhibarea tirozinkinazei receptorului EGF

Exemplu nr.	CI_{50}	Exemplu nr.	CI_{50}
1.	8 mM	41.	220 nM
2.	3.6 mM	42.	226 nM
3.	1.1 mM	43.	10 mM
4.	225 nM	44.	10 mM
5.	1.9 mM	45.	2.87 mM
6.	7.6 nM	46.	1.42 mM
7.	3.1 nM	47.	1.67 mM
8.	9.6 nM	48.	1.0 mM
9.	405 nM	49.	2.5 mM
10.	6.1 mM	50.	10 mM
11.	194 nM	51.	1.95 mM
12.	13 nM	52.	8 mM
13.	250 nM	53.	1.8 mM
14.	70 nM	54.	100 nM
15.	134 nM	55.	400 nM
16.	3.7 mM	56.	110 nM
17.	1.55 mM	57.	124 nM
18.	173 nM	58.	40 nM
19.	1.8 mM	59.	2.6 nM
20.	4.9 mM	60.	8 pM
21.	1.25 mM	61.	6 pM
22.	39 nM	62.	6.1 mM
23.	840 nM	63.	6.1 mM
24.	123 nM	64.	11 nM
25.	377 nM	65.	5.1 mM
26.	241 nM	66.	190 nM

27.	10 nM	67.	6.1 mM
28.	94 nM	68.	263 nM
29.	262 nM	69.	7.0 mM
30.	10 mM	70.	473 nM
31.	15 nM	71.	11 nM
32.	4.7 mM	72.	35 nM
33.	130 pM	73.	36 nM
34.	91 pM	74.	11.5 mM
35.	3.1 nM	75.	55 nM
36.	29 nM	76.	10 mM
37.	39 nM	77.	39 nM
38.	71 nM	78.	670 nM
39.	590 nM	79.	6.7 nM
40.	578 nM		

Celulele

Fibroblaste de șoarece Swiss 3T3, celule de carcinom epidermoid uman A431 și MCF-7 (celule de carcinom mamar uman de la Michigan Cancer Foundation), SK-BR-3 (celule de carcinom mamar uman), MDA-MB-231 și MDA-MB-468 (celule de carcinom mamar uman), carcinoame de sân au fost obținute de la American Type Culture Collection, Rockville, Maryland și menținute ca monostraturi în dMEM (mediu Eagle modificat de Dulbecco)/F12, 50:50 (Gibco/BRL) conținând 10% ser fetal bovin. Pentru obținerea mediului condiționat, celulele MDA-MB-231 au fost cultivate la confluență într-o placă de 850 cm², iar mediul înlocuit cu 50 ml mediu fără ser. După 3 zile, mediul condiționat a fost îndepărtat, împărțit în alicote și utilizate ca sursă de hereguline pentru stimularea erbB-2, 3, 4.

Anticorpii

Anticorpii monoclonali produși împotriva receptorului PDGF ("platelet-derived growth factor" = factor de creștere dorit plat) sau împotriva fosfotirozinei au provenit de la Upstate Biotechnology, Inc., Lake Placid, NY. Anti-pp^{39jun} (anticorp pentru factorul de transcriere c-jun, care este o fosfoproteină de 39 kDaltoni) și anticorpii anti receptorului EGF au provenit de la Oncogene Science, Uniondale, NY.

Imunoprecipitarea și "Western Blot"

Celulele au fost cultivate până la confluență 100% în plăci Petri de 100 mm (Corning). După ce celulele au fost tratate timp de 5 min fie cu EGF (factor de creștere epidermic), PDGF sau bEGF (factor de creștere epidermic fundamental) (20 ng/ml), fie cu 1 ml de mediu condiționat din celule MDA-MB-231, mediul a fost îndepărtat, iar monostratul a fost răzuit în 1 ml tampon de liză cu gheață (50 mM Hepes, pH 7,5, 150 mM NaCl, 10% glicerol, 1% Triton X-100, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 10 mM pirofosfat de sodiu, 30 mM p-nitrofenil fosfat, 1 mM ortovanadat, 50 mM fluorură de sodiu, 1 mM fenilmetilsulfonilfluorură, 10 mg/ml de aprotinină și 10 mg/ml de leupeptină). Lizatul a fost transferat într-un tub de microcentrifugă (centrifugă mică care are tuburi de plastic de 1-2 ml), lăsat să stea pe gheață 15 min și centrifugat 5 min la 10 000 x g. Supernatantul a fost transferat într-un microtub curat și probelor desemnate li s-a adăugat 5 mg anticorp. Tuburile au fost centrifugate timp de 2 h la 4°C după care au fost adăugați 25 ml sefaroză-proteină A, iar centrifugarea a continuat cel puțin 2 h. Sefaroza-proteină A a fost spălată de 5 ori cu 50 mM Hepes, pH 7,5, 150 mM NaCl, 10% glicerol și 0,02% azidă de sodiu. Precipitatele au fost resuspendate cu 30 ml tampon Laemlli (Laemlli, NATURE, vol. 727, p. 680-685, 1970), încălzite la 100°C timp de 5 min și centrifugate pentru obținerea supernatantului. Extractele de celule întregi au fost realizate prin răzuirea celulelor crescute în 6 plăci și introducerea lor în 0,2 ml tampon Laemlli la fierbere. Extractul a fost transferat într-un tub de microcentrifugă și încălzit la 100°C timp de 5 min. Întregul supernatant provenit din imunoprecipitare sau 35 ml din extractul de celele întregi au fost plasate pe un gel de poli-acrilamidă (4-20%), iar electroforeza a fost realizată prin metoda lui Laemlli (Laemlli, 1970). Proteinele din gel au fost transferate electroforetic pe nitroceluloză, iar membrana a fost spălată o dată în 10 mM tampon Tris, pH 7,2, 150 mM NaCl, 0,01% azidă (TNA) și stopată peste noapte în TNA conținând 5% albumină serică bovină și 1% ovalbumină (tampon de stopare). Membrana a fost pătată timp de 2 h cu anticorpul primar (1 mg/ml în tamponul de stopare) și apoi spălată de 2 ori secvențial în TNA, acesta din urmă conținând 0,05% Tween-20 și 0,05% Nonidet P-40 (detergent disponibil comercial) și TNA. Membranele au fost apoi incubate timp de 2 h în tampon de stopare conținând 0,1 mCi/ml proteină A (¹²⁵I) și apoi spălate din nou, așa cum s-a arătat mai sus. După ce bloturile au fost uscate, ele au fost încărcate într-o casetă de film și expuse la raze X X-AR timp de 1-7 zile. Proteina A este o proteină bacteriană care leagă în mod specific anumite subtipuri de IgG și este utilă în legarea la, și izolarea complexelor antigen-anticorp.

Bloturile Northern

RNA-ul celular total a fost izolat din martorul netratat sau din celule Swiss 3T3 tratate, utilizând RNazol-B (marca fabricantului unui asemenea test pentru un kit utilizat la izolarea RNA din țesuturi) și supus protocolului descris de producător. RNA 40-50 mg a fost încărcat pe un gel de agaroză 1% și electroforeza realizată 3-4 h la 65 V. RNA-ul din gel a fost transferat prin capilaritate pe o membrană de nylon (Hybond-N, Amersham). Proba c-jun 40 mer a fost marcată la capăt cu ATP (³²P) folosind nucleotidkinaza T4 (Promega) și purificată pe o coloană de sephadex G25 conform procedurii recomandate de furnizor, Oncogene Science. Hibridizarea a fost realizată peste noapte la 65°C (c-

jun este un factor de transcriere inițială; el este una dintre componentele lui AP-1, în timp ce FOS este al doilea component al lui AP-1).

Mitogeneza mediată de factorul de creștere

Fibroblaste Swiss 3T3 au fost cultivate la confluență de 90-100% în plăci cu 24 de compartimente godeuri (1,7 x 1,6 cm, cu fund plat), iar creșterea a fost oprită în mediu fără ser timp de 18 h. Medicamentul a fost adăugat în compartimente specificate, cu 2 h înaintea factorilor de creștere, iar apoi celulele au fost expuse fie la 20 ng/ml de EGF, PDGF sau bFGF, fie la 10% ser timp de 24 h. Fiecărui godeu i s-au adăugat 2 mCi (metil-³H)timidină, apoi s-au incubat timp de 2 h la 37°. Celulele au fost tripsinizate și injectate în 2 ml acid tricloracetic 15% răcit la gheață (TCA). Precipitatele rezultate au fost colectate pe filtre cu fibră de sticlă, spălate de 5 ori cu câte 2 ml de TCA 15% răcit la gheață, uscate și plasate în flacoane de scintilație împreună cu 10 ml gel Ready (Beckman, Irvine, CA).

Radioactivitatea a fost determinată într-un contor de scintilație Beckman LS 6800.

Determinarea inhibării creșterii

Celulele (2×10^4) au fost însămânțate în plăci cu 24 godeuri (1,7 x 1,6 cm, cu fund plat) în 2 ml de mediu cu sau fără diferite concentrații de medicament. Plăcile au fost incubate timp de 3 zile la 37°C în atmosferă umedă conținând 5% CO₂ în aer. Creșterea celulară a fost determinată prin numărarea celulelor cu un numărător de celule electronic Coulter Model AM (Coulter Electronics, Inc., Hialeah, FL).

Inhibiția autofosforilării induse de EGF în celule de carcinom epidermoid A431 și a autofosforilării induse de medii condiționate în celule tumorale de sân SKBR-3, de către compușii prezentei invenții.

Exemplu	IC ₅₀ EGFR, nM	IC ₅₀ A431, nM	IC ₅₀ SKBR-3, nM
4	225	>1000	>10 000
6	7,6	53	2660
7	3,1	20	100
8	9,6	32	71
2	39	252	-1500
2	10	110	-800
7	2,6	12	<10
9	0,008	13	<10
0	0,006	21	39
1	11	124	<10
0	55	>1000	>1000
4			

Proprietăți antiproliferative ale inhibitorilor tirozinkinazei: IC₅₀ (nM)

	Ex. 60	Ex. 61
B104-1-1	2100	1000
SKBR-3	600	900
MDA-468	3000	12000

B104-1-1 - Fibroblaste NIH-3T3 transfectate de oncogenă neu, Stem et al., Science, 234, p. 321-324 (1987)

SK-BR-3 - Carcinom de sân uman, supraexprimând erbB-2 și erbB-3

MDA-468 - Carcinom de sân uman, supraexprimând receptorul EGF

Gelurile de mai sus, dezvoltate așa cum se detaliază în partea experimentală, demonstrează eficacitatea compușilor prezentei invenții în blocarea anumitor semnale pentru mitogeneză stimulată de EGF în toate celulele. Numerele din stânga gelurilor indică pozițiile greutăților moleculare standard, în kilo-Daltoni. Linia martorului arată gradul de exprimare al semnalului legat de creștere, în absența stimulării EGF, în timp ce linia marcată de EGF (sau PDGF sau b-FGF) arată magnitudinea semnalului stimulat de factorul de creștere. Celelalte linii (pete) arată că efectul cantităților fixate din medicamentul menționat, asupra activității stimulate de factorul de creștere, fiind măsurat, demonstrează că compușii prezentei invenții au efecte asupra tuturor celulelor, constând în capacitatea lor de a inhiba activitatea tirozinkinazei receptorului EGF.

Gelul din exemplul 40 (fig. 7) detectează m-RNA pentru c-jun, prin hibridizare cu o probă de RNA marcat radio specific pentru c-jun. Gelul demonstrează că factorii de creștere EGF, PDGF și b-FGF stimulează producerea de c-jun în celule Swiss 3T3, și că compusul 40 blochează această producere în cazul celulelor stimulate de EGF, dar nu în cazul celulelor stimulate de PDGF sau b-FGF.

Efectul exemplului 40 asupra exprimării lui p39^{c-jun} mediate de factorul de creștere

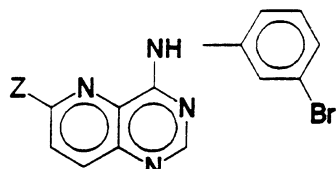
Acest gel prezintă cantitatea de c-jun indusă în celulele Swiss 3T3 de către factorul de creștere EGF, PDGF și b-FGF, cantitativă cu un anticorp monoclonal specific anti-c-jun. El demonstrează capacitatea exemplului 40 de a bloca exprimarea lui c-jun în celulele Swiss 3T3 când această exprimare este stimulată de EGF și nu de PDGF sau de b-FGF.

Este de remarcă faptul că compușii descriși aici pot fi utilizați în combinație cu alte componente pentru a le spori activitatea. Astfel de materiale suplimentare sunt materiale anti-neoplastice, cum ar fi: doxorubicin, taxol, cis platină și alții asemănători.

S-a constatat că compușii descriși aici pot inhiba atât receptorii erb-B2 cât și erb-B4 și, de aceea au activitate clinică sporită în mod avantajos în combinație cu agenții anti-neoplastici menționați mai sus.

A se vedea și rezultatele prezentate în fig. 1-17.

Câteva structuri preferate sunt următoarele:



Ex. nr.

4

6

7

8

Z

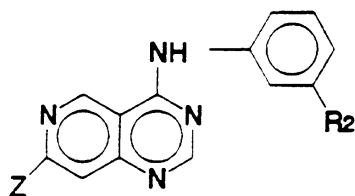
- fluor

- NH₂

- NHCH₃

-

N(CH₃)₂



Ex. nr.

22

27

Z

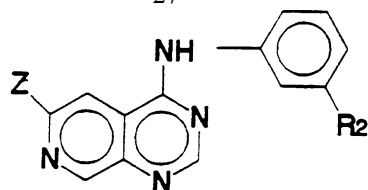
NH₂

NH₂

R₂

-NO₂

Br



Ex. nr.

59

60

61

Z

- OCH₃

- NHCH₃

- N(CH₃)₂

R₂

Br

Br

Br

Experimentarea chimică

În continuare sunt prezentate formele preferate, în care toate temperaturile sunt exprimate în grade Celsius, iar toate părțile sunt raportate la greutate, cu excepția cazurilor indicate.

Exemplul 1. 4-Anilinopirido[3,2-d]pirimidin mesilat

3H-Pirido[3,2-d]pirimidin-4-onă. O soluție de 6-clor-3-nitropicolinamidă (2,00 g, 9,91 mmol) în EtOAc/MeOH (1:1, 100 ml) este hidrogenată pe Pd-C 5% (0,40 g) la 60 psi timp de 6 zile cu adăugări de catalizator proaspăt după 2 și 4 zile. După îndepărtarea catalizatorului prin filtrare, soluția este concentrată la sec, cu obținerea 3-aminopicolinamidei sub forma unui ulei portocaliu, care este utilizat direct în următoarea etapă. Produsul brut este refluxat cu trietil ortoformat (50 ml) timp de 42 h, timp în care se formează un precipitat brun. După răcire, solidul este filtrat, spălat bine cu eter de petrol și uscat sub vacuum pentru a se obține 3H-pirido[3,2-d]pirimidin-4-onă (1,27 g, 87%), cu p.t. 343-345°C (Price, C.C. and Curtin, D.Y. J. Amer. Chem. Soc. 68, 914, 1946 report mp 346-347°C).

4-Clorpirido[3,2-d]pirimidină. O suspensie din pirimidinona de mai sus (1,00 g, 6,80 mmoli) în POCl₃ (30 ml) este încălzită la reflux timp de 4 h și apoi concentrată la sec sub presiune redusă. Reziuul este separat între CH₂Cl₂ și soluție saturată de NaHCO₃, iar stratul organic prelucrat pentru a da 4-clorpirido[3,2-d]pirimidină (0,97 g, 86%) sub forma unui solid cafeniu, cu p.t. 335°C (dec), care este utilizat fără caracterizare ulterioară.

4-Anilinopirido[3,2-d]pirimidin mesilat. O soluție de 4-clorpirido[3,2-d]pirimidină (84 mg, 0,5 mmoli), anilină (56 mg, 0,6 mmoli) și trietilamină (62 mg, 0,6 mmoli) în EtOH (2 ml) sunt refluxate sub azot cu agitare timp de 2 h. Amestecul de reacție brut este purificat pe o placă de cromatografie în strat subțire preparativă (silice), eluând o dată cu MeOH 3% în CHCl₃. Banda principală este extrasă și evaporată la sec sub presiune redusă, iar solidul rezidual este dizolvat în acetonă (5 ml), filtrat și i se adaugă încet acid metansulfonic (32 ml, 0,5 mmoli), cu agitare. Precipitatul este colectat prin filtrare, spălat cu acetonă și uscat într-un cuptor vidat pentru a obține 4-anilinopirido[3,2-d]pirimidin mesilatul (91 mg, 57%) sub forma unor ace galbene, mate. ¹H RMN (DMSO) δ 11,75 (1H, slbrs), 9,11 (1H, dd, J = 1,5, 4,3 Hz), 8,97 (1H, s), 8,32 (1H, dd, J = 1,5, 8,4 Hz), 8,12 (1H, dd, J = 4,3, 8,5 Hz), 7,88 (2H, d, J = 8,2 Hz), 7,49 (2H, t, J = 8,0 Hz), 7,32 (1H, t, J = 7,0 Hz), 2,34 (3H, s).

Exemplul 2. 4-Benzilaminopirido[3,2-d]pirimidină

O soluție de 4-clorpirido[3,2-d]pirimidină (0,10 g, 0,6 mmoli) proaspăt preparată (așa cum s-a descris în experiența anterioară) și benzilamină (0,13 ml, 1,20 mmoli) în propan-2-ol (15 ml) conținând urme de HCl conc. sunt încălzite la 50°C timp de 30 min, iar apoi concentrate la sec. Reziduul este separat între apă și EtOAc, iar stratul organic prelucrat și cromatografiat pe silicagel. EtOAc eluează precursorii, în timp ce MeOH/EtOAc (1:9) eluează 4-(benzilamino)pirido[3,2-d]pirimidina (0,11 g, 77%). ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,67 (1H, s), 6,50 (1H, dd, J = 4,3, 1,5 Hz), 8,10 (1H, dd, J = 8,5, 1,5 Hz), 7,63 (1H, dd, J = 8,8, 4,3 Hz), 7,55 (1H, brs), 7,41-7,29 (5H, m), 4,86 (2H, d, J = 5,9 Hz).

Exemplul 3. 4-(3-Bromanilino)pirido[3,2-d]pirimidină

Reacția 4-clorpirido[3,2-d]pirimidinei (preparate așa cum s-a descris în exemplul anterior) cu 3-bromanilina în propan-2-ol conținând urme de HCl conc. la 50°C timp de 30 min, urmată de cromatografia produsului pe silicagel, dă 4-(3-bromfenil)aminopirido[3,2-d]pirimidină (87% randament). ¹H RMN (CDCl₃) δ 9,19 (1H, brs), 8,83 (1H, s), 8,80 (1H, dd, J = 4,3, 1,5 Hz), 8,29 (1H, brs), 8,19 (1H, dd, J = 8,5, 1,5 Hz), 7,83 (1H, m), 7,76 (1H, dd, J = 8,5, 4,3 Hz), 7,29-7,27 (2H, m).

Exemplul 4. 4-(3-Bromanilino)-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidină

2-Ciano-6-fluoro-3-nitropiridină. Un amestec de 6-cloro-2-ciano-3-nitropiridină (Colbry, N.L., Elslager, E.F.; L.M. Werbel; J. Het. Chem., 1984, 21, 1521-1525) (10,10 g, 0,054 moli) și KF (9,48 g, 0,163 moli) în MeCN (200 ml) este încălzit la reflux cu agitare timp de 18 h, apoi vărsat în apă și extras cu EtOAc. Extractul este spălat cu apă și prelucrat, iar reziduul este cromatografiat pe silicagel, eluat cu EtOAc/eter de petrol (3:7), pentru a da după îndepărtarea solventului sub presiune, 2-ciano-6-fluoro-3-nitropiridină (7,2 g, 79%). ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,79 (1H, dd, J = 9,0, 6,0 Hz), 7,48 (1H, dd, J = 9,0, 3,0 Hz).

6-Fluoro-3-nitropiridin-2-carboxamidă. O soluție de 2-ciano-6-fluoro-3-nitropiridină (1,40 g, 8,39 mmoli) în H₂SO₄ 90% (30 ml) este încălzită la 70°C timp de 90 min, apoi răcită, pusă pe gheață și bazidificată cu amoniac concentrat. Extracția cu EtOAc și prelucrarea dau 6-fluoro-3-nitropiridin-2-carboxamidă (0,94 g, 61%). ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,70 (1H, dd, J = 8,9, 6,5 Hz), 8,30, 8,03 (1H, 1H, brs), 7,62 (1H, dd, J = 8,9, 2,9 Hz).

6-Fluoro-3H-pirido[3,2-d]pirimid-4-onă. O soluție de 6-fluoro-3-nitropiridin-2-carboxamidă (1,50 g, 8,10 mmoli) în EtOAc (80 ml) este hidrogenată peste 5% Pd-C (0,30 g) la 60 psi timp de 2 h. După îndepărtarea catalizatorului prin filtrare, solventul este îndepărtat sub presiune redusă, pentru obținerea unui reziduu de 3-amino-6-fluorpiridin-2-carboxamidă care se folosește direct în următoarea etapă. Se adaugă trietilortoformat (60 ml) și amestecul este încălzit la reflux cu agitare energetică timp de 18 h. Amestecul răcit este diluat cu un volum egal de eter de petrol, iar precipitatul rezultat este colectat prin filtrare și spălat bine cu eter de petrol pentru obținerea 6-fluoro-3H-pirido[3,2-d]pirimid-4-onei (1,26 g, 84%). ¹H RMN (DMSO) δ 12,72 (1H, brs), 8,31 (1H, dd, J = 8,6, 7,7 Hz), 8,20 (1H, s), 7,66 (1H, dd, J = 8,6, 3,0 Hz).

4-(3-Bromanilino)-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidină. O suspensie de 6-fluoro-3H-pirido[3,2-d]pirimid-4-onă (0,20 g, 1,21 mmoli) în POCl₃ (30 ml) este refluxată cu agitare până la omogenizare (2 h), apoi încă 1 h. Excesul de POCl₃ este îndepărtat cu presiune joasă, iar reziduul este separat între CH₂Cl₂ și soluție apoasă saturată de NaHCO₃. Prelucrarea părții organice dă 4-clor-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidina brută (100%) sub forma unui solid alb instabil care este folosit direct în următoarea etapă.

O soluție de 4-clor-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidină (0,20 g, 1,1 mmoli) și 3-bromanilina (0,12 ml, 2,18 mmoli) în propan-2-ol (20 ml) conținând o picătură de HCl conc. este refluxată timp de 15 min, apoi răcită, pusă în apă și extrasă cu EtOAc. Extractul este prelucrat, iar reziduul cromatografiat pe silicagel, eluat cu EtOAc/eter de petrol (1:2) pentru a da după îndepărtarea solventului sub presiune, 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidină (0,18 g, 52%). ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,82 (1H, s), 8,65 (1H, brs), 8,31 (1H, t, J = 7,4 Hz), 8,27 (1H, brs), 7,77 (1H, m), 7,41 (1H, dd, J = 8,9, 2,2 Hz), 7,29 (2H, brs).

Exemplul 5. 4-(3-Bromanilino)-6-clorpirido[3,2-d]pirimidină

6-Clor-3-nitropicolinamidă. O soluție de 6-clor-3-nitropicolinonitril (1,00 g, 5,45 mmoli) în H₂SO₄ 90% (15 ml) este încălzită la 70°C timp de 3,5 h, apoi pusă în apă cu gheață. Amestecul este extras de 4 ori cu EtOAc, iar extractele combinate sunt prelucrate pentru obținerea 6-clor-3-nitropicolinamidei (0,80 g, 73%). ¹H RMN (DMSO) δ 8,55 (1H, d, J = 8,5 Hz), 8,31, 8,04 (1H, 1H, 2 brs), 7,93 (1H, d, J = 8,5 Hz).

6-Clor-3H-pirido[3,2-d]pirimid-4-onă. O soluție de 6-clor-3-nitropicolinamidă (0,30 g, 1,49 mmoli) în EtOAc (30 ml) este hidrogenată la 60 psi peste Pd-C 5% (0,10 g) timp de 20 min. După îndepărtarea catalizatorului prin filtrare, soluția este concentrată la sec pentru obținerea 3-amino-6-clorpicolinamidei sub forma unui ulei galben, care este utilizat direct în următoarea etapă. Acesta este dizolvat în trietilortoformat (30 ml), iar amestecul este încălzit la reflux timp de

18 h. Soluției răcite i se adaugă eter de petrol (30 ml), iar precipitatul rezultat de 6-clor-3H-pirido[3,2-d]pirimidin-4-onă brut (0,27 g, 99%) este filtrat și uscat într-un cuptor cu vid.

4-(3-Bromanilino)-6-clorpirido[3,2-d]pirimidină. O suspensie din chinazolona de mai sus (0,20 g, 1,10 mmoli) în POCl_3 (30 ml) este refluxată timp de 3 h, apoi concentrată la sec sub presiune redusă. Reziduul este separat între CH_2Cl_2 și o soluție saturată de NaHCO_3 , iar partea organică este prelucrată pentru obținerea 4,6-diclorpirido[3,2-d]pirimidinei (0,16 g, 73%) sub forma unui solid cafeniu care este folosit direct în următoarea etapă. O soluție de diclorpiridopirimidină brută (0,16 g, 0,80 mmoli) și 3-bromanilină (0,17 ml, 1,60 mmoli) în propan-2-ol (25 ml) conținând urme de HCl conc. se încălzește la 50°C timp de 30 min. Amestecul răcit este turnat în NaHCO_3 saturat și extras cu EtOAc, iar extractul este prelucrat și cromatografiat pe silicagel. Eluția cu EtOAc/eter de petrol (1:4) dă 3-bromanilină, în timp ce eluția cu EtOAc/eter de petrol (1:1) dă 4-(3-bromanilino)-6-clorpirido[3,2-d]pirimidină (0,17 g, 63%). ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,90 (1H, brs), 8,84 (1H, s), 8,30 (1H, dd, $J = 2,1, 2,0$ Hz), 8,17 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), 7,82-7,78 (1H, m), 7,73 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), 7,32-7,29 (2H, m).

Exemplul 6. 4-(3-Bromanilino)-6-aminopirido[3,2-d]pirimidină

Reacția 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidinei (0,12 g, 0,38 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) cu o soluție saturată de amoniac în etanol într-un vas de presiune la 100°C timp de 18 h, dă 6-amino-4-(3-bromanilino)pirido[3,2-d]pirimidină, (87 mg, 72%). ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,76 (1H, brs), 8,64 (1H, s), 8,23 (1H, brs), 7,93 (1H, d, $J = 9,0$ Hz), 7,81 (1H, dt, $J_d = 7,7$ Hz, $J_t = 1,8$ Hz), 7,28-7,22 (2H, m), 7,00 (1H, d, $J = 9,0$ Hz), 4,90 (2H, brs).

Exemplul 7. 4-(3-Bromanilino)-6-metilaminopirido[3,2-d]pirimidină

Reacția 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidinei (50 mg, 0,16 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) cu metilamină hidroclorică (32 mg, 0,47 mmoli) și trietilamină (70 ml, 0,55 mmoli) în etanol (10 ml) într-un vas de presiune la 100°C timp de 18 h dă 6-metilamino-4-(3-bromanilino)pirido[3,2-d]pirimidină, (43 mg, 81%). ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,81 (1H, brs), 8,61 (1H, s), 8,19 (1H, t, $J = 1,8$ Hz), 7,86 (1H, d, $J = 9,1$ Hz), 7,83 (1H, dt, $J_d = 7,7$ Hz, $J_t = 1,8$ Hz), 7,28-7,21 (2H, m), 6,92 (1H, d, $J = 9,1$ Hz), 4,97 (1H, q, $J = 5,0$ Hz), 3,13 (3H, d, $J = 5,0$ Hz).

Exemplul 8. 4-(3-Bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,2-d]pirimidină

Un amestec de 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidină (0,15 g, 0,47 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară), clorhidrat de dimetilamină (0,11 g, 1,41 mmoli) și trietilamină (0,23 ml, 1,64 mmoli) în EtOH (15 ml) este încălzit într-un vas de presiune la 100°C timp de 18 h. Solventul este îndepărtat sub presiune redusă, iar reziduul este separat între EtOAc și apă. Partea organică este prelucrată, iar reziduul cromatografiat pe silicagel. Eluția cu EtOAc/eter de petrol (1:1) dă precursorii, în timp ce EtOAc eluează 4-(3-bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,2-d]pirimidină (0,14 g, 86%). ^1H RMN δ 8,72 (1H, brs), 8,56 (1H, s), 8,17 (1H, t, $J = 1,9$ Hz), 7,85 (1H, d, $J = 9,3$ Hz), 7,77 (1H, dt, $J_d = 7,5$ Hz, $J_t = 1,9$ Hz), 7,27-7,18 (2H, m), 7,08 (1H, d, $J = 9,3$ Hz), 3,21 (6H, s).

Exemplul 9. 4-(3-Bromanilino)-6-metoxipirido[3,2-d]pirimidină

4-(3-Bromanilino)-6-fluorpirido[3,2-d]pirimidina (descrișă într-o experiență anterioară) (0,11 g, 0,34 mmoli) se adaugă la o soluție de NaOMe (preparate prin adăugare de Na metalic (31 mg, 1,38 mmoli) la 15 ml de MeOH uscat). După încălzire într-un vas de presiune la 90°C timp de 3 h, soluția este concentrată la sec, iar reziduul este separat între EtOAc și apă. Prelucrarea părții organice dă 4-(3-bromfenil)amino-6-metoxipirido[3,2-d]pirimidină (92 mg, 82%). ^1H RMN (CDCl_3) δ 8,73 (1H, s), 8,66 (1H, brs), 8,18 (1H, m), 8,05 (1H, d, $J = 8,9$ Hz), 7,83-7,80 (1H, m), 7,30-7,24 (2H, m), 7,23 (1H, d, $J = 8,9$ Hz), 4,12 (3H, s).

Exemplul 10. 4-Anilino[4,3-d]pirimidină

4-(N-t-Butoxicarbonilamino)piridină. La un amestec format din 4-aminopiridină (2 g, 21,24 mmoli), hidroxid de potasiu (3,57 g, 63,72 mmoli), apă (10 ml) și 2-metil-2-propanol (4 ml) pe gheață, se adaugă di-t-butil-dicarbonat (6,95 g, 31,87 mmoli). Soluția bifazică rezultată este agitată la 25°C timp de o săptămână, apoi se adaugă apă (20 ml). Soluția este extrasă cu 1X CH_2Cl_2 și 2X EtOAc. Stratul organic este uscat (pe MgSO_4) și concentrat sub presiune pentru obținerea 4-(N-t-butoxicarbonilamino)piridinei (4,08 g, 99%). ^1H RMN (DMSO) δ 9,84 (1H, s), 8,35 (2H, d, $J = 6$ Hz), 7,44 (2H, d, $J = 7$ Hz), 1,49 (9H, s).

Acid 4-(N-t-butoxicarbonilamino)nicotinic

Se adaugă n-butil litium (2,18 M, 24 ml, 52,51 mmoli), încet, la o soluție de 4-(N-t-butoxicarbonilamino)piridină (4,08 g, 21 mmoli) în THF (50 ml, agitată sub atmosferă de N_2 , la -78°C). Soluția este lăsată să se încălzească la 0°C, agitată timp de 3 h, apoi răcită iar la -78°C și vărsată în eter (100 ml) conținând gheață. Soluția este încălzită la temperatura camerei cu agitare constantă. Se adaugă apă, iar amestecul este neutralizat cu acid acetic. Solidul rezultat este colectat prin filtrare sub vid și uscat într-un cuptor cu vid pentru a obține acidul 4-(N-t-butoxicarbonilamino)nicotinic (2,72 g, 54%) sub forma unui solid maro. ^1H RMN (DMSO) δ 11,75 (1H, brs), 8,95 (1H, s), 8,50 (1H, d, $J = 6,0$ Hz), 8,20 (1H, d, $J = 6,0$ Hz), 1,49 (9H, s).

Acid 4-aminonicotinic. Un amestec format din acid 4-(N-t-butoxicarbonilamino)nicotinic (2,72 g, 11,4 mmoli), TFA (10 ml) și CH_2Cl_2 (20 ml) este agitat la temperatura camerei timp de 12 h. Compușii volatili sunt îndepărtați sub presiune redusă, iar acidul 4-aminonicotinic brut rezultat este folosit direct în următoarea reacție.

3H-Pirido[4,3-d]pirimidin-4-onă. Acidul 4-aminonicotinic brut (2,72 g, 11,4 mmoli) în formamidă (20 ml) este încălzit la 170°C timp de 12 h. Compușii volatili sunt distilați sub presiune redusă (0,8 Hg mm). Solidul rezidual este apoi purificat pe o coloană de silicagel sub presiune medie, eluat cu MeOH 10% în CHCl_3 pentru obținerea 3H-

pirido[4,3-d]pirimidin-4-onei (780 mg, 47%) sub forma unui solid galben-albicios. ^1H RMN (DMSO) δ 12,64 (1H, brs), 9,28 (1H, s), 8,83 (1H, d, $J = 5,5$ Hz), 8,30 (1H, s), 7,58 (1H, d, $J = 5,8$ Hz).

3H-Pirido[4,3-d]pirimidin-4-tionă. Se adaugă pentasulfură de fosfor (2,59 g, 5,83 mmoli) la o soluție de 3H-pirido[4,3-d]pirimidin-4-onă (780 mg, 5,3 mmoli) în piridină (5 ml). Amestecul este refluxat timp de 5 h. Prin răcire se formează un precipitat, iar supernatantul este decantat. Solidul este suspendat în apă (20 ml) și apoi filtrat pentru obținerea 3H-pirido[4,3-d]pirimidin-4-tionei (676 mg, 78%) sub forma unui solid negru. ^1H RMN (DMSO) δ 14,53 (1H, brs), 9,65 (1H, s), 8,84 (1H, d, $J = 7,0$ Hz), 8,32 (1H, s), 7,64 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

4-Metiltiopirido[4,3-d]pirimidină. Un amestec format din 3H-pirido[4,3-d]pirimidin-4-tionă (676 mg, 4,14 mmoli), trietilamină (1,4 ml, 10,31 mmoli), DMSO (4 ml) și iodmetan (0,48 ml, 7,72 mmoli) este agitat timp de 12 h în atmosferă de N_2 la 25°C. Amestecul este pus pe apă și extras cu EtOAc. Extractele organice sunt uscate (pe MgSO_4), iar solventul este îndepărtat sub presiune redusă pentru obținerea 4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidinei (1,15 g, total), sub forma unui solid brun. ^1H RMN (DMSO) δ 9,52 (1H, s), 9,16 (1H, s), 8,95 (1H, d, $J = 6$ Hz), 7,86 (1H, d, $J = 8$ Hz), 2,75 (1H, s).

4-Anilinopirido[4,3-d]pirimidină. Un amestec format din 4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (174 mg, 0,97 mmoli) și anilină (186,2 mg, 1,99 mmoli) în EtOH (2 ml) este refluxat sub N_2 timp de 12 h. Răcirea la 0°C formează un solid care este filtrat pentru obținerea 4-anilinopirido[4,3-d]pirimidinei (34,5 mg, 16%). ^1H RMN (DMSO) δ 10,29 (1H, brs), 9,86 (1H, s), 8,82 (1H, d, $J = 5,8$ Hz), 8,72 (1H, s), 7,85 (2H, d, $J = 7,5$ Hz), 7,66 (1H, d, $J = 5,5$ Hz), 7,45 (2H, t, $J = 8,0$ Hz), 7,23 (1H, t, $J = 7,3$ Hz).

Exemplul 11. 4-(3-Bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec format din 4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (171 mg, 0,96 mmoli), (a se vedea experiența anterioară) și 3-bromanilină (1 ml) este încălzit la 100°C timp de 2 h. Prin răcire precipită un solid care este colectat prin filtrare la vid și apoi recristalizat din EtOH cu producerea 4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidinei (30 mg, 10%). ^1H RMN (DMSO) δ 10,33 (1H, s), 9,86 (1H, s), 8,84 (1H, d, $J = 5,8$ Hz), 8,79 (1H, s), 8,22 (1H, s), 7,89 (1H, d, $J = 7,2$ Hz), 7,69 (1H, d, $J = 5,8$ Hz), 7,40 (2H, dt, $J_d = 8,0$ Hz, $J_t = 1,5$ Hz).

Exemplul 12. 4-(3-Bromanilino)-7-fluorpirido[4,3-d]pirimidină

3-Ciano-4,6-diaminopiridină. 2-Brom-3-ciano-4,6-diamonpiridină (W.J. Middleton, US Patent 2 790 806 (aprilie 30, 1957), Du Pont; Chem. Abstr. 51:P14829 (1957), a se vedea și viitoarea experiență) (15,1 g, 0,071 moli) este hidrogenată în THF/MeOH (200 ml, 2:1) conținând KOAc (7,0 g, 0,071 moli) și Pd/C 5% (4 g) la 55 psi și 20°C timp de 7 zile. Filtrarea pe celită, spălarea cu THF/MeOH și îndepărtarea solventului dau un solid care este dizolvat în HCl diluat și apă. Ajustarea pH-ului soluției la 10 (cu NaOH conc.) și răcirea dau 3-ciano-4,6-diaminopiridină (6,58 g, 69%) sub forma unui solid galben, cu p.t. 197-198°C (Metzger, R.; Oberdorfer, J.; Schwager, C.; Thielecke, W.; Boldt, P. Liebigs Ann. Chem. 1980, 946-953 record mp (benzene) 205°C). Extracția lichidului rămas cu EtOAc (4 x 200 ml) dă

produsul	următor	(2,12	g,	22%).
----------	---------	-------	----	-------

^1H RMN (DMSO) δ 7,91 (1H, s), 6,26, 6,24 (2H, 2H, brs), 5,63 (1H, s).

4,6-Diamino-3-piridilcarboxamidă. 3-Ciano-4,6-diaminopiridină (4,30 g, 0,032 moli) se adaugă la H_2SO_4 90% (25 ml), apoi se agită la 60-70°C timp de 3 h. Soluția rezultată este adăugată în NaOH conc. rece (40%) pentru obținerea unui amestec de 4,6-diamino-3-piridilcarboxamidă și săruri anorganice. O probă pură analitic se obține prin cromatografie pe alumina (10-50% MeOH/ CHCl_3) pentru a da un solid galben pal. ^1H RMN (DMSO) δ 8,15 (1H, s), 6,91 (2H, brs), 7,7-6,5 (2H, brm), 5,78 (2H, brs), 5,56 (1H, s).

7-Amino-4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidină. 4,6-Diamino-3-piridilcarboxamida brută (9,2 g) este încălzită în $(\text{EtO})_3\text{CH}$ purificat (distilat din Na, 60 ml) la 170°C timp de 1,5 zile. După îndepărtarea solventului, reziduul se dizolvă în NaOH 2M fierbinte, se filtrează, se neutralizează (cu HCl conc.) și se răcește pentru a da 7-amino-4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidină (3,57 g, 69% din nitril) sub forma unui solid maro-strălucitor. ^1H RMN (DMSO) δ 11,79 (1H, brs), 8,74 (1H, s), 7,97 (1H, s), 6,76 (2H, brs), 6,38 (1H, s).

7-Fluoro-4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidină. O soluție de 7-amino-4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidină (1,00 g, 6,17 mmoli) în HBF_4 60% (25 ml) la 0°C este tratată cu NaNO_2 solid (0,85 g, 12,3 mmoli) adăugat treptat în 2 h, se agită apoi la 0°C timp de 1 h și la 20°C timp de 30 min. Amestecul rezultat este răcit la gheață, neutralizat cu soluție apoasă saturată de Na_2CO_3 și extras cu EtOAc (4 x 100 ml). Extractul este spălat cu apă, apoi filtrat pe silicagel (EtOAc) pentru obținerea 7-fluoro-4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidinei (0,48 g, 47%) sub forma unui solid cremos (de culoare crem). ^1H RMN (DMSO) δ 12,69 (1H, brs), 9,01 (1H, s), 8,31 (1H, s), 7,34 (1H, s).

4-(3-Bromanilino)-7-fluorpirido[4,3-d]pirimidină. O suspensie de 7-fluoro-4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidină (0,23 g, 1,39 mmoli) în POCl_3 (10ml) este refluxată timp de 3,5 h și apoi concentrată sub vid. Uleiul rezultat este răcit la gheață, diluat cu CH_2Cl_2 (100 ml), saturat cu Na_2CO_3 apos (40 ml) și gheață și agitat la 20°C timp de 2 h. Extractul CH_2Cl_2 este separat, iar partea apoasă este extrasă ulterior cu CH_2Cl_2 (2 x 100 ml), apoi extractele combinate sunt uscate (pe Na_2SO_4) și filtrate pentru obținerea 4-cloro-7-fluorpirido[4,3-d]pirimidinei brute. Se adaugă 3-bromanilină (1,26 g, 7,35 mmoli), clorhidrat de 3-bromanilină (20 mg) și izopropanol uscat (5 ml), apoi soluția rezultată este concentrată sub vid pentru îndepărtarea CH_2Cl_2 și agitată la 20°C timp de 1 h. Prin adăugarea de NaHCO_3 diluat și apă, produsul cristalizează. Filtrarea, spălarea cu apă și CH_2Cl_2 dă 4-(3-bromanilino)-7-fluorpirido[4,3-d]pirimidină pură (297 mg, 67%) sub forma unui solid crem. ^1H RMN (DMSO) δ 10,38 (1H, brs), 9,59 (1H, s), 8,72 (1H, s), 8,17 (1H, s), 7,85 (1H, m), 7,38 (3H, m).

Exemplul 13. 7-Amino-4-anilinopirido[4,3-d]pirimidină

4,6-Diamino-2-bromo-3-cianopiridină. HBr se barbotează timp de 2 h într-un amestec de malononitril (16,3 g, 0,247 moli) și toluen (400 ml) la 0°C. Se formează un precipitat galben strălucitor. Amestecul de reacție este apoi încălzit la 100°C timp de 2 h, cu multă degajare de gaz. După răcire la temperatura camerei, solidul galben este izolat prin filtrare de sucțiune, spălat cu toluen și uscat cu aer. Solidul (25,96 g) este amestecat cu apă (500 ml), iar pH-ul suspensiei se ajustează la 9-10 cu NH₄OH (conc. - 15 ml). După agitare la temperatura camerei timp de 1 h, amestecul se filtrează. Recristalizarea din EtOH produce un solid galben. După uscare la 60°C într-un cuptor cu vid, se obține 4,6-diamino-2-brom-3-cianopiridină (12,95 g, 49%). ¹H RMN (DMSO) δ 6,67 (2H, brs), 6,55 (2H, brs), 5,59 (1H, s).

Acetat de 2,4-diamino-5-cianopiridină. 4,6-Diamino-2-brom-3-cianopiridina (12,77 g, 60 mmoli) este hidrogenată în THF/MeOH (240 ml, 2:1) conținând KOAc (5,9 g, 60 mmoli) și Pd/C 20% (0,5 g) la 18 psi, la 25°C timp de 4 h. Amestecul este filtrat pe celită, iar solventul este îndepărtat sub presiune scăzută, cu obținerea unui solid (11,15 g) care este agitat cu THF (100 ml) la temperatura camerei timp de 20 min. Amestecul este refiltrat, iar filtratul uscat la sec pentru a da produsul dorit. După uscare într-un cuptor cu vid, se colectează acetatul de 2,4-diamino-5-cianopiridină (10,65 g, 92%) sub forma unui solid galben. ¹H RMN (DMSO) δ 7,90 (1H, s), 6,26 (4H, brs), 5,62 (1H, s), 1,90 (3H, s).

7-Amino-4-tiono-3H-pirido[4,3-d]pirimidină. Un amestec format din acetat de 2,4-diamino-5-cianopiridină (0,199 g, 1,0 mmoli), trietil ortoformat (1,95 ml) și Ac₂O (1,95 ml) se refluxează sub N₂ cu agitare timp de 3 h. Solventul este apoi îndepărtat, iar reziduul este dizolvat în MeOH (10 ml) conținând NaOMe (0,81 g, 15 mmoli). Se barbotează H₂S în amestec timp de 5 min, apoi se refluxează peste noapte. După îndepărtarea solventului, reziduul este dizolvat în apă fiartă și fiert cu cărbune vegetal. După filtrare, filtratul este neutralizat cu acid acetic la cald pentru generarea unui solid galben. După răcire, solidul este colectat prin filtrare cu sucțiune și uscat într-un cuptor cu vid peste noapte. 7-Amino-4-tiono-3H-pirido[4,3-d]pirimidina (84 mg, 51%) este izolată sub forma unui solid galben. ¹H RMN (DMSO) δ 9,82 (1H, s), 9,34 (1H, s), 8,37 (1H, s), 7,80 (2H, d, J = 7,5 Hz), 7,38 (2H, t, J = 7,5 Hz), 7,12 (1H, t, J = 7,5 Hz), 6,61 (2H, brs), 6,43 (1H, s).

7-Amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină. Se adaugă NEt₃ (6 ml, 43 mmoli) unei soluții de 7-amino-4-tiono-3H-pirido[4,3-d]pirimidină (0,77 g, 4,3 mmoli) în DMSO (7 ml) cu agitare în atmosferă de N₂ la 25°C. După ce cele două faze au fost agitate timp de 20 min, se adaugă MeI (0,26 ml, 4,2 mmoli). După 2 h, amestecul de reacție este agitat pe apă cu gheață. Solidul se formează instantaneu. După răcire la 0°C, solidul se colectează prin filtrare sub vid și uscat într-un cuptor cu vid, cu producerea 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidinei (0,564 g, 68%). ¹H RMN (DMSO) δ 8,98 (1H, s), 8,71 (1H, s), 6,94 (2H, brs), 6,49 (1H, s), 2,63 (3H, s).

7-Amino-4-anilinopirido[4,3-d]pirimidină. Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (0,136 g, 0,7 mmoli) și anilină (0,5 ml, 5,5 mmoli) este refluxat sub N₂ la 180°C timp de 2 h. Amestecul de reacție este răcit la 25°C, când are loc precipitarea. Solidul este colectat prin filtrare sub vid și recristalizat din izopropanol, apoi uscat într-un cuptor sub vid, peste noapte. Se izolează astfel 7-amino-4-anilinopirido[4,3-d]pirimidina (84 mg, 51%) sub forma unui solid galben strălucitor. ¹H RMN (DMSO) δ 9,82 (1H, s), 9,34 (1H, s), 8,37 (1H, s), 7,80 (2H, d, J = 7,5 Hz), 7,38 (2H, t, J = 7,5 Hz), 7,12 (1H, t, J = 7,5 Hz), 6,61 (2H, brs), 6,43 (1H, s).

Exemplul 14. 7-Amino-4-(3-hidroxianilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec format din 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (299 mg, 1,56 mmoli) și 3-aminofenol (1,60 g, 14,7 mmoli) este agitat la 160°C timp de 15 min. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (9% MeOH/CH₂Cl₂) pentru a da 7-amino-4-(3-hidroxianilino)pirido[4,3-d]pirimidină (108 mg, 18%) sub forma unui solid portocaliu pal. ¹H RMN (DMSO) δ 9,69 (1H, brs), 9,44 (1H, brs), 9,33 (1H, s), 8,38 (1H, s), 7,37 (1H, t, J = 2,1 Hz), 7,21 (1H, brd, J = 8,4 Hz), 7,14 (1H, t, J = 8,0 Hz), 6,59 (2H, brs), 6,53 (1H, ddd, J = 7,9, 2,2, 0,8 Hz), 6,43 (1H, s).

Exemplul 15. 7-Amino-4-(3-metoxianilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec format din 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (226 mg, 1,18 mmoli) (descrisă în experiența anterioară) și m-anisidină (1,00 ml, 8,90 mmoli) este agitat sub N₂ la 190°C timp de 1,5 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (5-7% EtOH/EtOAc) pentru a da 7-amino-4-(3-metoxianilino)pirido[4,3-d]pirimidină (136 mg, 43%) sub forma unui solid maro luminos. ¹H RMN (DMSO) δ 9,78 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,4 (1H, s), 7,50 (1H, brs), 7,44 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,28 (1H, t, J = 8,2 Hz), 6,71 (1H, dd, J = 8,2, 2,3 Hz), 6,61 (2H, brs), 6,45 (1H, s), 3,77 (3H, s).

Exemplul 16. 7-Amino-4-(2-metoxianilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec format din 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (227 mg, 1,18 mmoli) și o-anisidină (1,00 ml, 8,87 mmoli) este agitat în atmosferă de N₂ la 180°C timp de 2,5 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (5% EtOH/EtOAc) pentru a da 7-amino-4-(2-metoxianilino)pirido[4,3-d]pirimidină (147 mg, 47%) sub forma unui solid galben. ¹H RMN (DMSO) δ 9,44 (1H, brs), 9,25 (1H, s), 8,22 (1H, s), 7,54 (1H, dd, J = 7,7, 1,4 Hz), 7,24 (1H, ddd, J = 8,1, 7,4, 1,5 Hz), 7,10 (1H, dd, J = 8,2, 1,2 Hz), 6,98 (1H, dt, J_d = 1,3 Hz, J_t = 7,5 Hz), 6,52 (2H, brs), 6,41 (1H, s), 3,79 (3H, s).

Exemplul 17. 7-Amino-4-(3-aminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (307 mg, 1,60 mmoli) (descrisă într-o experiență anterioară) și 3-nitroanilină (2,00 g, 14,5 mmoli) este agitat la 200°C timp de 1,5 h, iar produsul brut este suspendat în MeOH/THF (4:1, 250 ml) și hidrogenat pe Pd/C 5% (2 g) la 60 psi și 20°C timp de 23 h. Soluția este filtrată pe celită, spălată complet (cu MeOH fierbinte), apoi absorbită pe alumină și cromatografiată pe alumină (4-8% EtOH/CHCl₃) pentru a da 7-amino-4-(3-aminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (66 mg, 16%) sub forma unui solid verde. ¹H RMN

(DMSO) δ 9,57 (1H, brs), 9,30 (1H, s), 8,33 (1H, s), 7,04 (1H, t, $J = 2,0$ Hz), 6,99 (1H, t, $J = 8,0$ Hz), 6,88 (1H, brd, $J = 8,0$ Hz), 6,55 (2H, brs), 6,40 (1H, s), 6,34 (1H, dd, $J = 7,9, 1,3$ Hz), 5,10 (2H, brs).

Exemplul 18. 7-Amino-4-(4-aminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

7-Amino-4-(4-acetamidoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină. Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (138 mg, 0,72 mmoli) și 4-aminoacetanilidă (1,50 g, 10,0 moli) este agitat în N_2 la 200°C timp de 1 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe alumina (8-10% MeOH/ CH_2Cl_2) pentru a da 7-amino-4-(4-acetamidoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (110 mg, 52%) sub forma unui solid galben pal. 1H RMN (DMSO) δ 9,94 (1H, 1H, 2brs), 9,31 (1H, s), 8,34 (1H, s), 7,69 (2H, d, $J = 8,9$ Hz), 7,57 (2H, d, $J = 8,9$ Hz), 6,57 (2H, brs), 6,43 (1H, s), 2,05 (3H, s).

7-Amino-4-(4-aminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină. O soluție de 7-amino-4-(4-acetamidoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (0,30 g, 1,02 mmoli) în NaOH apos (2M, 10 ml) și MeOH (10 ml) este agitată la 100°C timp de 7 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe alumina (3-4% EtOH/ $CHCl_3$) pentru a da 7-amino-4-(4-aminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (86 mg, 33%) sub forma unui solid portocaliu. 1H RMN (DMSO) δ 9,58 (1H, brs), 9,24 (1H, s), 8,25 (1H, s), 7,31 (2H, d, $J = 8,6$ Hz), 6,58 (2H, d, $J = 8,6$ Hz), 6,48 (2H, brs), 6,39 (1H, s), 5,00 (2H, brs).

Exemplul 19. 7-Amino-4-(3-dimetilaminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (245 mg, 1,28 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și N,N-dimetil-1,3-fenilendiamină (1,60 g, 11,8 mmoli) se agită sub N_2 la 190°C timp de 1 h, iar produsul rezultat este cromatografiat (de 2 ori) pe alumina (3% EtOH/ $CHCl_3$) pentru a da 7-amino-4-(3-dimetilaminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (113 mg, 32%) sub forma unui solid galben pal. 1H RMN (DMSO) δ 9,66 (1H, brs), 9,33 (1H, s), 8,36 (1H, s), 7,22 (1H, brd, $J = 7,8$ Hz), 7,16 (2H, m), 6,57 (2H, brs), 6,51 (1H, ddd, $J = 8,0, 2,3, 1,2$ Hz), 6,42 (1H, s), 2,91 (6H, s).

Exemplul 20. 7-Amino-4-(4-dimetilaminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (256 mg, 1,33 mmoli) și N,N-dimetil-1,4-fenilendiamină (1,95 g, 14,4 mmoli) este agitat sub N_2 la 190°C timp de 20 min. Produsul rezultat este cromatografiat pe alumina (3-7% EtOH/ $CHCl_3$) pentru a da 7-amino-4-(4-dimetilaminoanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (198 mg, 53%) sub forma unui solid portocaliu. 1H RMN (DMSO) δ 9,67 (1H, brs), 9,27 (1H, s), 8,27 (1H, s), 7,51 (2H, d, $J = 8,9$ Hz), 6,75 (2H, d, $J = 8,9$ Hz), 6,51 (2H, brs), 6,39 (1H, s), 2,89 (6H, s).

Exemplul 21. 7-Amino-4-(2-nitroanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (220 mg, 1,15 mmoli) și 2-nitroanilină (2,00 g, 14,5 mmoli) este încălzit la 100°C, apoi se adaugă în exces HCl gazos uscat la soluția fierbinte agitată, iar amestecul agitat la 160°C timp de 30 min. Produsul rezultat este neutralizat cu $NaHCO_3$ în exces, dizolvat în MeOH/ $CHCl_3$, uscat pe silicagel și cromatografiat pe silicagel (2-4% MeOH/ CH_2Cl_2) pentru a da 7-amino-4-(2-nitroanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (108 mg, 33%) sub forma unui solid galben-cafeniu. 1H RMN (DMSO) δ 10,40 (1H, brs), 9,24 (1H, brs), 8,20 (1H, brs), 8,12 (1H, brs), 8,01 (2H, brs), 7,75 (1H, brs), 6,70 (2H, brs), 6,43 (1H, brs).

Exemplul 22. 7-Amino-4-(3-nitroanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec format din 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (127 mg, 0,66 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 3-nitroanilină (1,70 g, 12,3 mmoli) este agitat sub N_2 la 200°C timp de 1,5 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe alumina (5-20% EtOH/ $CHCl_3$) pentru a da 7-amino-4-(3-nitroanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (81 mg, 39%) sub forma unui solid maro. 1H RMN (DMSO) δ 10,17 (1H, brs), 9,37 (1H, s), 8,87 (1H, brs), 8,48 (1H, s), 8,33 (1H, brd, $J = 7,5$ Hz), 7,95 (1H, ddd, $J = 8,2, 2,1, 1,0$ Hz), 7,67 (1H, t, $J = 8,2$ Hz), 6,70 (2H, brs), 6,47 (1H, s).

Exemplul 23. 7-Amino-4-(3-fluoranilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (215 mg, 1,12 mmoli) și 3-fluoranilină (1,16 g, 10,4 mmoli) este agitat la 160°C timp de 30 min. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (6-7% MeOH/ CH_2Cl_2) pentru a da 7-amino-4-(3-fluoranilino)pirido[4,3-d]pirimidină (185 mg, 65%) sub forma unui solid alb. 1H RMN (DMSO) δ 9,94 (1H, brs), 9,36 (1H, s), 8,46 (1H, s), 7,91 (1H, brd, $J = 11,9$ Hz), 7,63 (1H, brd, $J = 8,1$ Hz), 7,41 (1H, dd, $J = 15,7, 7,7$ Hz), 6,93 (1H, dt, $J_t = 8,5$ Hz, $J_d = 2,4$ Hz), 6,68 (2H, brs), 6,38 (1H, s).

Exemplul 24. 7-Amino-4-(3-cloranilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (208 mg, 1,08 mmoli) și 3-cloroanilină (1,21 g, 9,48 mmoli) este agitat la 150°C timp de 20 min. Produsul rezultat este cromatografiat pe alumina (5-10% MeOH/ CH_2Cl_2) pentru a da 7-amino-4-(3-cloroanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (177 mg, 60%) sub forma unui solid alb. 1H RMN (DMSO) δ 9,92 (1H, brs), 9,35 (1H, s), 8,45 (1H, s), 8,08 (1H, brs), 7,79 (1H, brd, $J = 8,0$ Hz), 7,40 (1H, t, $J = 8,1$ Hz), 7,16 (1H, dd, $J = 7,9$ Hz, 1,3 Hz), 6,68 (2H, brs), 6,46 (1H, s).

Exemplul 25. 7-Amino-4-(3,4-dicloranilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (247 mg, 1,29 mmoli) și 3,4-dicloranilină (1,50 g, 9,26 mmoli) este agitat la 165°C timp de 30 min. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (7-8% MeOH/ CH_2Cl_2) pentru a da 7-amino-4-(3,4-dicloranilino)pirido[4,3-d]pirimidină (252 mg, 64%) sub forma unui solid galben pal. 1H RMN (DMSO) δ 9,97 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,47 (1H, s), 8,29 (1H, brs), 7,86 (1H, brd, $J = 8,6$ Hz), 7,62 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), 6,70 (2H, brs), 6,46 (1H, s).

Exemplul 26. 7-Amino-4-(2-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (198 mg, 1,03 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 2-bromanilină (1,00 ml, 9,18 mmoli) este agitat sub N_2 la 180°C timp de 2,5 h, iar produsul rezultat este

cromatografiat pe alumină (1% EtOH/CHCl₃) pentru a da 7-amino-4-(2-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (108 mg, 33%) sub forma unui solid galben pal. ¹H RMN (DMSO) δ 9,91 (1H, brs), 9,27 (1H, s), 8,20 (1H, s), 7,73 (1H, d, J = 7,9 Hz), 7,50 (1H, m), 7,44 (1H, t, J = 6,9 Hz), 7,25 (1H, m), 6,59 (2H, brs), 6,42 (1H, s).

Exemplul 27. 7-Amino-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (167 mg, 0,87 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 3-bromanilină (0,75 ml, 7,8 mmoli) este agitat în atmosferă de N₂ la 190°C timp de 2,5 h, iar precipitatul care apare prin răcire este recristalizat din PrⁱOH. ¹H RMN (DMSO) δ 9,91 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,45 (1H, s), 8,19 (1H, s), 7,84 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,34 (1H, t, J = 8,0 Hz), 7,29 (1H, d, J = 8,2 Hz), 6,68 (2H, brs), 6,45 (1H, s).

Exemplul 28. 7-Amino-4-(4-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (261 mg, 1,36 mmoli) și 4-bromanilină (1,00 g, 5,81 mmoli) este agitat sub N₂ la 200°C timp de 15 min. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (10-15% EtOH/EtOAc) pentru a da 7-amino-4-(4-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (200 mg, 46%) sub forma unui solid galben pal. ¹H RMN (DMSO) δ 9,88 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,40 (1H, s), 7,83 (2H, d, J = 8,8 Hz), 7,55 (2H, d, J = 8,8 Hz), 6,64 (2H, brs), 6,44 (1H, s).

Exemplul 29. 7-Amino-4-(3-iodanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (72 mg, 0,37 mmoli) și 3-iodanilină (1,25 g, 5,71 mmoli) este agitat la 160°C timp de 30 min. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (5-7% MeOH/CH₂Cl₂) pentru a da 7-amino-4-(3-iodanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (83 mg, 61%) sub forma unor rozete maro-deschis. ¹H RMN (DMSO) δ 9,84 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,44 (1H, s), 8,30 (1H, brs), 7,90 (1H, dd, J = 7,9, 0,8 Hz), 7,47 (1H, d, J = 7,7 Hz), 7,18 (1H, t, J = 8,0 Hz), 6,66 (2H, brs), 6,46 (1H, s).

Exemplul 30. 7-Amino-4-(2-trifluormetilanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (300 mg, 1,56 mmoli), clorhidrat de 2-aminobenzotrifluorură (1,00 g, 5,06 mmoli) și 2-aminobenzotrifluorură (2,00 g, 12,4 mmoli) este agitat la 160°C timp de 10 min. Produsul rezultat este neutralizat cu NaHCO₃ în exces, dizolvat în MeOH/CHCl₃, uscat pe silicagel și cromatografiat pe silicagel (6-7% MeOH/CH₂Cl₂) pentru a obține 7-amino-4-(2-trifluormetilanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (194 mg, 41%) sub forma unui solid crem, cu p.t. (MeOH/CHCl₃/ petrol ușor) 126-130°C (dec.). ¹H RMN (DMSO) δ 10,60 (1H, brs), 9,17 (1H, brs), 8,13 (1H, brs), 7,76, 7,69 (1H, 1H, m, m), 7,45 (2H, m), 6,66 (2H, brs), 6,36 (1H, s).

Exemplul 31. 7-Amino-4-(3-trifluormetilanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (234 mg, 1,22 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 3-aminobenzotrifluorură (2 ml, 16,0 mmoli) este agitat sub N₂ la 190-200°C timp de 2 h, iar produsul rezultat este apoi cromatografiat pe silicagel (5-10% EtOH/EtOAc), și apoi pe alumină (5-7% EtOH/CHCl₃) pentru a se obține 7-amino-4-(3-trifluormetilanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (157 mg, 42%) sub forma unui solid crem. ¹H RMN (DMSO) δ 10,04 (1H, s), 9,37 (1H, s), 8,46 (1H, s), 8,31 (1H, s), 8,19 (1H, d, J = 8,2 Hz), 7,62 (1H, t, J = 8,0 Hz), 7,45 (1H, d, J = 7,7 Hz), 6,69 (2H, brs), 6,47 (1H, s).

Exemplul 32. 7-Amino-4-(4-trifluormetilanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (390 mg, 2,03 mmoli), clorhidrat de 4-aminobenzotrifluorură (0,40 g, 2,02 mmoli) și 4-aminobenzotrifluorură (1,61 g, 10,0 mmoli) se agită la 180°C timp de 2 min, produsul rezultat este neutralizat cu NaHCO₃ în exces, dizolvat în MeOH/CHCl₃, uscat pe alumină și cromatografiat pe alumină (4-7% MeOH/CH₂Cl₂) pentru a da 7-amino-4-(4-trifluormetilanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (390 mg, 63%) sub forma unui solid crem. Materialul pur analitic s-a obținut prin cromatografia ulterioară pe silicagel (5% MeOH/CH₂Cl₂) pentru a da ace galben-pal. ¹H RMN (DMSO) δ 10,09 (1H, brs), 9,40 (1H, s), 8,48 (1H, s), 8,13 (2H, d, J = 8,2 Hz), 7,74 (2H, d, J = 8,7 Hz), 6,72 (2H, brs), 6,40 (1H, s).

Exemplul 33. 4-(3-Bromanilino)-7-metilaminopirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-fluoro-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (74 mg, 0,23 mmoli), trietilamină (7 ml, 50 mmoli) și clorhidrat de metilamină (3,0 g, 44 mmoli) în izopropanol (30 ml) aflat într-o bombă de oțel este agitat la 95°C (pe baie de ulei) timp de 5 h. Amestecul rezultat este concentrat sub vid, bazificat cu Na₂CO₃ apos, diluat cu apă și extras cu EtOAc (3 x 100 ml). Cromatografia acestui extract pe silicagel (3% MeOH/CH₂Cl₂) dă 4-(3-bromanilino)-7-metilaminopirido[4,3-d]pirimidină (50 mg, 65%) sub forma unui solid galben-pal. ¹H RMN (DMSO) δ 9,93 (1H, brs), 9,37 (1H, s), 8,47 (1H, s), 8,18 (1H, s), 7,84 (1H, d, J = 7,8 Hz), 7,34 (1H, t, J = 7,9 Hz), 7,30 (1H, brd, J = 8,1 Hz), 7,19 (1H, q, J = 4,7 Hz), 6,35 (1H, s), 2,85 (3H, d, J = 4,8 Hz).

Exemplul 34. 4-(3-Bromanilino)-7-dimetilaminopirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-fluoro-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (101 mg, 0,32 mmoli), trietilamină (4,4 ml, 32 mmoli) și clorhidrat de dimetilamină (2,58 g, 32 mmoli) în izopropanol (30 ml) conținut într-o bombă de oțel este agitat 100°C (pe baie de ulei) timp de 1 h. Soluția rezultată este concentrată sub vid, bazificată cu soluție apoasă de Na₂CO₃ și diluată cu apă pentru a da un solid. Filtrarea și recristalizarea din MeOH/CHCl₃ dau 4-(3-bromanilino)-7-dimetilaminopirido[4,3-d]pirimidină (102 mg, 94%) sub forma unui solid galben-pal. ¹H RMN (DMSO) δ 9,93 (1H, brs), 9,42 (1H, s), 8,48 (1H, s), 8,19 (1H, s), 7,85 (1H, d, J = 7,7 Hz), 7,35 (1H, t, J = 7,9 Hz), 7,30 (1H, brd, J = 7,8 Hz), 6,53 (1H, s), 3,16 (6H, s).

Exemplul 35. 4-(N-(3-Bromfenil)-N-metilamino)-7-metilaminopirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-fluoro-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (100 mg, 0,31 mmoli), trietilamină (4,4 ml, 32 mmoli) și clorhidrat de metilamină (2,12 g, 32 mmoli) în izopropanol (30 ml) conținut într-o bombă de oțel este agitat la 100°C (pe baie de ulei) timp de 5 h. Amestecul rezultat este concentrat sub vid, alcalinizat cu soluție apoasă de Na₂CO₃, diluat cu apă și extras cu EtOAc (3 x 100 ml). Cromatografia acestui extract pe silicagel (1-2% MeOH/CH₂Cl₂) dă 4-(N-(3-bromfenil)-N-metilamino)-7-metilaminopirido[4,3-d]pirimidină (23 mg, 21%) sub forma unui solid galben-pal. ¹H RMN (DMSO) δ 8,14 (1H, s), 7,79 (1H, s), 7,30 (1H, t, J = 8,0 Hz), 7,20 (1H, ddd, J = 7,9, 1,8, 0,8 Hz), 7,03 (1H, brq, J = 4,9 Hz), 7,01 (1H, t, J = 1,9 Hz), 6,82 (1H, ddd, J = 7,8, 1,8, 0,9 Hz), 6,25 (1H, s), 3,40 (3H, s), 2,73 (3H, d, J = 4,9 Hz).

Exemplul 36. 7-Acetilamino-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (0,154 g, 0,49 mmoli), anhidridă acetică (0,14 ml, 1,5 mmoli), trietilamină (0,14 ml, 1,0 mmoli) și o cantitate catalitică de 4-(N,N-dimetilamino)piridină sunt agitate sub N₂ la temperatura camerei timp de 18 h. Reacția este apoi stopată prin adăugare de apă cu gheață. Precipitatul negru este colectat prin filtrare prin Buchner și purificat prin cromatografie în strat subțire preparativă (R_f = 0,25, 7% MeOH/CHCl₃). Recristalizarea din EtOH dă 7-acetilamino-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (13,5 mg, 7,7%). ¹H RMN (DMSO) δ 10,93 (1H, s), 10,22 (1H, s), 9,64 (1H, s), 8,70 (1H, s), 8,28 (1H, s), 8,21 (1H, s), 7,88 (1H, d, J = 7,7 Hz), 7,41-7,34 (3H, m), 2,16 (3H, s).

Exemplul 37. 4-(3-Bromanilino)-7-metoxipirido[4,3-d]pirimidină

O soluție de 7-fluoro-4-(3-bromanilino)pirido[4,3-d]pirimidină (100 mg, 0,31 mmoli) în metoxid de sodiu metanol 1M (30 ml) este agitată prin refluxare timp de 42 h. Amestecul rezultat este concentrat sub vid, diluat cu apă și neutralizat cu HCl diluat pentru a da 4-(3-bromanilino)-7-metoxipirido[4,3-d]pirimidină (92 mg, 89%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 10,22 (1H, brs), 9,57 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,19 (1H, s), 7,86 (1H, brd, J = 7,9 Hz), 7,39 (1H, t, J = 7,9 Hz), 7,35 (1H, dd, J = 7,9, 1,5 Hz), 6,96 (1H, s), 4,00 (3H, s).

Exemplul 38. 4-Benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină

4-Metiltiopirido[4,3-d]pirimidina (160,4 mg, 0,902 mmoli) și benzilamina (106,3 mg, 0,992 mmoli) în EtOH (2 ml) sunt încălzite la 80°C timp de 12 h, iar apoi solventul este îndepărtat sub vid. Solidul rezultat este suspendat în CH₂Cl₂, filtrat, iar solidul rezultat este purificat prin cromatografie în strat subțire preparativă pe silice, eluat cu 5% MeOH în CHCl₃. Îndepărtarea solventului sub vid produce 4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină (36 mg, 17%). ¹H RMN (DMSO) δ 9,60 (1H, s), 9,37 (1H, t, J = 5,8 Hz), 8,72 (1H, d, J = 5,8 Hz), 8,57 (1H, s), 7,54 (1H, d, J = 5,8 Hz), 7,37 (2H, d, J = 7,0 Hz), 7,33 (2H, t, J = 7,3 Hz), 7,25 (1H, t, J = 7,2 Hz), 4,81 (2H, d, J = 5,8 Hz).

Exemplul 39. 4-((R)-1-Feniletilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

L un amestec de 4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (85 mg, 0,48 mmoli) și EtOH (2,5 ml) se adaugă cu picătura R-metilbenzilamină (0,13 ml, 1,0 mmoli). Amestecul rezultat este refluxat la 80°C timp de 20 h. Solventul este îndepărtat prin presiune redusă pentru a da un ulei care cristalizează din MeOH pentru a da 4-((R)-1-feniletilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (41,6 mg, 35%), p.t. 138-138,5°C. ¹H RMN (DMSO) δ 9,77 (1H, d, J = 0,7 Hz), 9,00 (1H, d, J = 7,7 Hz), 8,73 (1H, d, J = 5,8 Hz), 8,54 (1H, s), 7,53 (1H, dd, J = 5,8, 0,5 Hz), 7,45 (2H, d, J = 7,2 Hz), 7,33 (2H, t, J = 7,6 Hz), 7,23 (1H, tt, J = 7,5, 1,2 Hz), 5,63 (1H, p, J = 7,2 Hz), 1,61 (3H, t, J = 7,0 Hz).

Exemplul 40. 7-Amino-4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec format din acetat de 2,4-diamino, 5-cianopiridiniu (8,78 g, 45 mmoli), acid formic (10,66 g, 0,204 moli) și benzilamină (45 ml, 0,41 moli) este încălzit la 200°C sub N₂ timp de 2 h. După răcire, acesta se solidifică. Se adaugă apă (500 ml), iar amestecul solid cleios/apă este agitat 20 min la 0°C. Lichidul este decantat. Solidul este spălat cu apă, apoi recristalizat din izopropanol (25 ml). După uscare într-un cuptor cu vid peste noapte, se obține 7-amino-4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină (8,29 g, 73%) sub forma unui solid galben-deschis. ¹H RMN (DMSO) δ 9,10 (1H, s), 8,85 (1H, t, J = 5,8 Hz), 8,25 (1H, s), 7,21-7,36 (5H, brs), 6,35 (1H, s), 4,74 (2H, d, J = 6,0 Hz).

Exemplul 41. 7-Amino-4-((R)-1-feniletilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de (R)-1-feniletilamină (0,072 ml, 0,55 mmoli) și 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (97 mg, 0,5 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) se încălzește la 180°C sub N₂ timp de 1,5 h. Reacția este apoi răcită la temperatura camerei cu producerea unui precipitat. Amestecul este pus în apă și CHCl₃, sonicat și filtrat. Fazele sunt separate, iar faza apoasă este extrasă cu CHCl₃. Extractele reunite sunt spălate cu apă, saturate cu saramură și uscate (pe MgSO₄). Solventul este îndepărtat sub vid, iar reziduul purificat prin cromatografie în strat subțire preparativă (5% MeOH/CHCl₃) și recristalizare din CHCl₃ pentru a da 7-amino-4-((R)-1-feniletilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (14,5 mg, 11%), p.t. 231,8-232,1°C. ¹H RMN (DMSO) δ 9,23 (1H, s), 8,50 (1H, d, J = 8,0 Hz), 8,19 (1H, s), 7,41 (2H, d, J = 7,0 Hz), 7,31 (2H, t, J = 8,0 Hz), 7,21 (1H, tt, J = 7,4, 1,2 Hz), 6,45 (2H, s), 6,33 (1H, s), 5,56 (1H, p, J = 7,2 Hz), 1,55 (3H, d, J = 7,0 Hz).

Exemplul 42. 7-Amino-4-(2-aminobenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (136 mg, 0,71 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 2-aminobenzilamină (1,70 g, 13,8 mmoli) în izopropanol (5 ml), este agitat la reflux timp de 1 h, iar produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (7-20% EtOH/EtOAc) și alumină (6-10% EtOH/CHCl₃) pentru a da 7-amino-4-(2-aminobenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (89 mg, 47%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 9,08 (1H, s), 8,68 (1H, t, J = 5,8 Hz), 8,26 (1H, s), 7,05 (1H, d, J = 7,4 Hz), 6,96 (1H, t, J = 7,6 Hz), 6,63 (1H, d, J = 7,9 Hz), 6,51 (1H, t, J = 7,4 Hz), 6,46 (2H, brs), 6,35 (1H, s), 5,20 (2H, brs), 4,56 (2H, d, J = 5,8 Hz).

Exemplul 43. 7-Amino-4-(3-dimetilaminobenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (236 mg, 1,23 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 3-dimetilaminobenzilamină (1,36 g, 9,07 mmoli) în izopropanol (5 ml) este agitat sub N₂ la reflux timp de 1 h, iar produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (10-15% EtOH/EtOAc), apoi pe alumină (1% EtOH/CHCl₃) pentru a da 7-amino-4-(3-dimetilaminobenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (145 mg, 40%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 9,11 (1H, s), 8,79 (1H, t, J = 5,9 Hz), 8,26 (1H, s), 7,11 (1H, dd, J = 8,0, 7,7 Hz), 6,73 (1H, brs), 6,63 (1H, d, J = 7,6 Hz), 6,60 (1H, dd, J = 8,1, 2,2 Hz), 6,44 (2H, brs), 6,35 (1H, s), 4,67 (2H, d, J = 5,8 Hz), 2,86 (6H, s).

Exemplul 44. 7-Amino-4-(3-nitrobenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (228 mg, 1,19 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 3-nitrobenzilamină (0,81 g, 5,33 mmoli) este agitat sub N₂ la 150-160°C timp de 1,5 h, iar produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (5-10% EtOH/EtOAc) pentru a da 7-amino-4-(3-nitrobenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (151 mg, 43%) sub forma unui solid galben. ¹H RMN (DMSO) δ 9,11 (1H, s), 8,98 (1H, t, J = 5,5 Hz), 8,26 (1H, s), 8,22 (1H, brs), 8,12 (1H, dd, J = 8,0, 1,8 Hz), 7,83 (1H, d, J = 7,7 Hz), 7,63 (1H, t, J = 7,9 Hz), 6,50 (2H, brs), 6,38 (1H, s), 4,85 (2H, d, J = 5,8 Hz).

Exemplul 45. 7-Amino-4-(3-metoxibenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (136 mg, 0,71 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 3-metoxibenzilamină (1,37 g, 10,0 mmoli) în izopropanol (3 ml) este agitat în atmosferă de N₂ la reflux timp de 3 h. Evaporarea solventului și cromatografia pe silicagel (EtOH/EtOAc 5-10%) dau 7-amino-4-(3-metoxibenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (153 mg, 77%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 9,11 (1H, s), 8,83 (1H, t, J = 5,7 Hz), 8,26 (1H, s), 7,24 (1H, dt, J_d = 0,8 Hz, J_t = 8,1 Hz), 6,92 (2H, m), 6,81 (1H, dt, J_d = 8,2 Hz, J_t = 1,2 Hz), 6,46 (2H, brs), 6,37 (1H, s), 4,71 (2H, d, J = 5,8 Hz), 3,73 (3H, s).

Exemplul 46. 7-Amino-4-(4-clorbenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidin mesilat

Baza liberă (56 mg, 0,20 mmoli) (preparată din acetat de 2,4-diamino,5-cianopiridiniu, acid formic și 4-clorbenzilamidă la 200°C așa cum s-a descriș într-un exemplu anterior) este precipitată din soluție de acetonă cu acid metansulfonic (105 ml, 0,23 mmoli) pentru a da o sare polimesilat. ¹H RMN (DMSO) δ 10,59 (1H, t, J = 5,6 Hz), 9,24 (1H, s), 8,69 (1H, s), 7,42 (4H, s), 6,42 (1H, s), 5,8 (6H, vbrs), 4,89 (2H, d, J = 5,8 Hz), 2,41 (7,5H, s).

Exemplul 47. 7-Amino-4-(2-brombenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (225 mg, 1,17 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 2-brombenzilamină (0,84 g, 4,52 mmoli) este agitat sub N₂ la 140°C timp de 1 h, iar produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (EtOH/EtOAc 1-5%) pentru a da 7-amino-4-(2-brombenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (175 mg, 45%) sub forma unui solid brun deschis. ¹H RMN (DMSO) δ 9,16 (1H, s), 8,85 (1H, t, J = 5,7 Hz), 8,24 (1H, s), 7,64 (1H, d, J = 7,8 Hz), 7,34 (1H, dd, J = 7,7, 7,1 Hz), 7,31 (1H, dd, J = 7,7, 2,4 Hz), 7,21 (1H, ddd, J = 7,8, 6,9, 2,4 Hz), 6,50 (2H, brs), 6,39 (1H, s), 4,74 (2H, d, J = 5,7 Hz).

Exemplul 48. 7-Amino-4-(3-brombenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (228 mg, 1,19 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 3-brombenzilamină (0,84 g, 4,52 mmoli) este agitat sub N₂ la 140°C timp de 1 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (EtOH/EtOAc 2-10%) pentru a da 7-amino-4-(3-brombenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (203 mg, 52%) sub forma unui solid brun-deschis. ¹H RMN (DMSO) δ 9,09 (1H, s), 8,86 (1H, t, J = 5,8 Hz), 8,26 (1H, s), 7,54 (1H, s), 7,44 (1H, d, J = 7,8 Hz), 7,36 (1H, d, J = 7,6 Hz), 7,29 (1H, t, J = 7,7 Hz), 6,48 (2H, s), 6,37 (1H, s), 4,73 (2H, d, J = 5,8 Hz).

Exemplul 49. 7-Amino-4-(4-brombenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (234 mg, 1,22 mmoli) (descrișă într-o experiență anterioară) și 4-brombenzilamină (0,84 g, 4,52 mmoli) este agitat sub N₂ la 140°C timp de 1 h, iar produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (10% EtOH/EtOAc) pentru a da 7-amino-4-(4-brombenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (192 mg, 48%) sub forma unui solid crem. ¹H RMN (DMSO) δ 9,09 (1H, s), 8,87 (1H, t, J = 5,7 Hz), 8,25 (1H, s), 7,51 (2H, d, J = 8,3 Hz), 7,31 (2H, d, J = 8,3 Hz), 6,46 (2H, brs), 6,37 (1H, s), 4,70 (2H, d, J = 5,8 Hz).

Exemplul 50. 7-Amino-4-(2-trifluorometilbenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (225 mg, 1,17mmoli) și 2-trifluorometilbenzilamină (0,90 ml, 6,42 mmoli) este agitat sub N₂ la 150°C timp de 1 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (5% EtOH/EtOAc) pentru a da 7-amino-4-(2-trifluorometilbenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (0,22 g, 59%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 9,16 (1H, s), 8,88 (1H, t, J = 5,7 Hz), 8,23 (1H, s), 7,75 (1H, d, J = 7,7 Hz), 7,62 (1H, t, J = 7,5 Hz), 7,50 (1H, d, J = 7,4 Hz), 7,47 (1H, t, J = 7,6 Hz), 6,51 (2H, brs), 6,39 (1H, s), 4,92 (2H, d, J = 5,5 Hz).

Exemplul 51. 7-Amino-4-(3-trifluorometilbenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (225 mg, 1,17mmoli) și 3-(trifluorometil)benzilamină (0,63 ml, 4,40 mmoli) este agitat în atmosferă de N₂ la 140°C timp de 1 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (3-5% EtOH/EtOAc) pentru a da 7-amino-4-(3-trifluorometilbenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină (0,24 g, 63%) sub forma unui solid maro deschis. ¹H RMN (DMSO) δ 9,10 (1H, s), 8,92 (1H, t, J = 5,7 Hz), 8,26 (1H, s), 7,71 (1H, s), 7,66 (1H, d, J = 7,4 Hz), 7,62 (1H, d, J = 7,8 Hz), 7,57 (1H, t, J = 7,6 Hz), 6,49 (2H, brs), 6,38 (1H, s), 4,82 (2H, d, J = 5,8 Hz).

Exemplul 52. 7-Amino-4-(4-trifluorometilbenzilamino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (225 mg, 1,17mmoli) și 4-(trifluorometil)benzilamină (0,63 ml, 4,42 mmoli) este agitat în atmosferă de N₂ la 140°C timp de 1 h. Produsul rezultat este cromatografiat pe

alumină (5-10% EtOH/CHCl₃, apoi pe silicagel (2-10% EtOH/EtOAc) pentru a da 7-amino-4-((4-trifluorometilbenzil)-amino)pirido[4,3-d]pirimidină (0,21 g, 56%) sub forma unui solid brun deschis. ¹H RMN (DMSO) δ 9,12 (1H, s), 8,94 (1H, t, J = 5,8 Hz), 8,24 (1H, s), 7,69 (2H, d, J = 8,1 Hz), 7,56 (2H, d, J = 8,1 Hz), 6,48 (2H, brs), 6,38 (1H, s), 4,82 (2H, d, J = 5,8 Hz).

Exemplul 53. 7-Amino-4-(tien-2-ilmetilamino)[4,3-d]pirimidin dimesilat

Compusul este obținut din acetat de 2,4-diamino,5-cianopiridiniu (190 mg, 0,98 mmoli), acid formic (0,23 g, 4,4 mmoli) și tienilmetilamină (1,07 ml, 10 mmoli) așa cum s-a descris într-o experiență anterioară. Produsul brut este convertit într-o sare dimesilat cum s-a descris anterior, și recristalizat din Pr¹OH pentru a da 7-amino-4-(tien-2-ilmetilamino)[4,3-d]pirimidin dimesilat cu randament 19%. ¹H RMN (DMSO) δ 10,67 (1H, t, J = 5,8 Hz), 9,21 (1H, s), 8,77 (1H, s), 7,48 (1H, dd, J = 5,1, 1,2 Hz), 7,16 (1H, dd, J = 3,4, 0,7 Hz), 7,02 (1H, dd, J = 4,8, 3,4 Hz), 6,42 (1H, s), 5,06 (2H, d, J = 5,7 Hz), 2,41 (6H, s).

Exemplul 54. 7-Acetilamino-4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină

7-Acetilamino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină. Se adaugă clorură de acetil (0,70 ml, 9,84 mmoli) la o soluție de 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (0,20 g, 1,04 mmoli) (descrisă într-o experiență anterioară) și Et₃N (1,51 ml, 10,8 mmoli) în THF la 0°C, apoi amestecul este agitat la 20°C timp de 4 h. Se adaugă apă (50 ml), apoi soluția se extrage cu EtOAc (3 x 50 ml). Evaporarea și cromatografia pe alumină (1% EtOH/CHCl₃) produce 7-acetilamino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (0,12 g, 49%) sub forma unui solid galben. ¹H RMN (DMSO) δ 11,05 (1H, s), 9,30 (1H, s), 9,02 (1H, s), 8,38 (1H, s), 2,71 (3H, s), 2,18 (3H, s).

7-Acetilamino-4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină. Un amestec de 7-acetilamino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină (0,40 g, 1,71 mmoli) și benzilamină (1,0 ml, 9,15 mmoli) este agitat într-o atmosferă de N₂ la 140°C timp de 1 h, iar produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (EtOAc) pentru a da 7-acetilamino-4-benzilaminopirido[4,3-d]pirimidină (0,31 g, 62%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 10,79 (1H, s), 9,42 (1H, s), 9,23 (1H, t, J = 5,8 Hz), 8,49 (1H, s), 8,18 (1H, s), 7,39 (1H, dt, J_d = 6,9 Hz, J_t = 1,7 Hz), 7,34 (1H, tt, J = 7,3, 1,7 Hz), 7,25 (1H, tt, J = 7,1, 1,7 Hz), 4,80 (2H, d, J = 5,8 Hz), 2,15 (3H, s).

Exemplul 55. 4-Anilinopirido[3,4-d]pirimidină

Acidul 4-carboxamidonicotinic. Anhidrida 3,4-piridindicarboxilică (8,3 g, 55,6 mmoli) este adăugată peste NH₄OH conc. (12 ml) în apă (60 ml), agitată la 0°C peste 5 min. Se formează astfel o pastă care este agitată timp de 1 h la temperatura camerei. Pasta albă este barbotată cu N₂ timp de 30 min și diluată cu apă (10 ml) pentru formarea unei soluții clare. În această soluție se barbotează apoi SO₂ timp de 15 min, reducând pH-ul la 2. După răcire, solidul rezultat este filtrat, spălat cu apă și uscat în cuptor pentru obținerea acidului 4-carboxamidonicotinic (7 g, 76%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 8,93 (1H, s), 8,76 (1H, d, J = 5,0 Hz), 8,08 (1H, s), 7,62 (1H, s), 7,45 (1H, d, J = 5,0 Hz).

Imida izochinolinică. Acidul 4-carboxidonicotinic (280 mg, 1,68 mmoli) este încălzit la 200°C timp de 5 h pentru producerea imidei izochinolinice (177,2 mg, 71%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 11,68 (1H, s), 9,12-9,03 (2H, m), 7,80 (1H, d, J = 5,1 Hz).

Acidul 3-aminoizonicotinic. Se adaugă brom (1,71 g) peste KOH 10% pe gheață (30 ml KOH). Soluția rezultată este adăugată peste imida izochinolinică fin măcinată (1,46 g, 9,86 mmoli). După adăugare, amestecul începe să spumeze. Când tot solidul este dizolvat, se adaugă soluție apoasă de KOH (15%, 7 ml), iar amestecul este încălzit la 80°C timp de 1 min, apoi răcit. Amestecul este neutralizat cu SO₂ și răcit la 0°C până are loc precipitarea. Solidul este colectat prin filtrare la vid și spălat cu apă, apoi uscat într-un cuptor cu vid pentru producerea acidului 3-aminoisonicotinic (485 mg, 36%) sub forma unui solid alb. ¹H RMN (DMSO) δ 9,5-8,8 (1H, brs), 8,20 (1H, s), 7,70 (1H, d, J = 5 Hz), 7,46 (1H, d, J = 5 Hz).

3H-Pirido[3,4-d]pirimid-4-onă. Un amestec de acid 3-aminoizonicotinic (485 mg, 3,51 mmoli) în formamidă (3 ml) este încălzit la 160°C timp de 12 h. După răcire, solidul rezultat este filtrat și spălat cu apă și uscat într-un cuptor cu vid pentru obținerea 3H-pirido[3,4-d]pirimid-4-onei (373 mg, 72%). ¹H RMN (DMSO) δ 12,60 (1H, brs), 9,06 (1H, s), 8,68 (1H, d, J = 5,3 Hz), 8,23 (1H, s), 7,96 (1H, d, J = 5,1 Hz).

4-Tiopirido[3,4-d]pirimidină. Se adaugă pentasulfură de fosfor (1,25 g, 2,74 mmoli) la o soluție de 3H-pirido[3,4-d]pirimid-4-onă (366 mg, 2,49 mmoli) în pirimidină (4 ml). Amestecul este refluxat timp de 4 h sub N₂. Gudronul negru rezultat este dizolvat în apă, când se formează un solid. Solidul este filtrat și spălat cu apă și uscat într-un cuptor cu vid pentru obținerea 4-tiopirido[3,4-d]pirimidinei (369,8 mg, 91%) sub forma unui solid galben. ¹H RMN (DMSO) δ 14,48 (1H, brs), 9,13 (1H, s), 8,70 (1H, d, J = 5,4 Hz), 8,29 (1H, s), 8,27 (1H, d, J = 5,4 Hz).

4-Metiltiopirido[3,4-d]pirimidină. Un amestec de 4-tiopirido[3,4-d]pirimidină (368,8 mg, 2,26 mmoli), trietilamină (0,6 ml, 4,5 mmoli), DMSO (2 ml) și iodmetan (0,24 ml, 3,96 mmoli) se agită în atmosferă de N₂ la 25°C timp de 12 h. Amestecul este vărsat în apă, iar solidul rezultat este filtrat și uscat într-un cuptor sub vid pentru producerea 4-metiltiopirido[3,4-d]pirimidinei (222 mg, 55%) sub forma unui solid maro. ¹H RMN (DMSO) δ 9,51 (1H, s), 9,18 (1H, s), 8,79 (1H, d, J = 8 Hz), 7,97 (1H, d, J = 8 Hz).

4-Anilinopirido[3,4-d]pirimidină. Un amestec de 4-metiltiopirido[3,4-d]pirimidină (75 mg, 0,42 mmoli) și anilină (1 ml) este încălzit la 100°C sub N₂ timp de 2 h. Amestecul de reacție este cromatografiat apoi pe silice utilizând MPLC și eluat cu un sistem gradient (CHCl₃, 5% MeOH în CHCl₃). Fraakțiile sunt concentrate sub vid, iar solidul rezultat este recristalizat din Et₂O pentru producerea 4-anilinopirido[3,4-d]pirimidinei (21,2 mg, 23%) sub forma unui solid galben. ¹H RMN (DMSO) δ 10,09 (1H, s), 9,18 (1H, s), 8,74 (1H, d, J = 5,3 Hz), 8,46 (1H, d, J = 5,8 Hz), 7,89 (2H, d, J = 8,5 Hz), 7,45 (2H, t, J = 7,9 Hz), 7,21 (1H, t, J = 7,4 Hz).

Exemplul 56. 4-(3-Bromanilino)pirido[3,4-d]pirimidină. Un amestec de 4-metilpirido[3,4-d]pirimidină (75 mg, 0,42 mmoli), (a se vedea experiența anterioară) și 3-bromanilină (1 ml) este încălzit la 100°C în atmosferă de N₂ timp de 2 h. Amestecul de reacție este apoi cromatografiat pe silice utilizând MPLC și eluția cu un sistem gradient (CHCl₃ spre 5% MeOH în CHCl₃). Frațiile sunt concentrate sub vid, iar solidul rezultat este recristalizat din Et₂O cu obținerea 4-(3-bromanilino)pirido[3,4-d]pirimidinei (66 mg, 52,7%) sub forma unui solid maro-deschis. ¹H RMN (DMSO) δ 10,15 (1H, s), 9,21 (1H, s), 8,80 (1H, s), 8,76 (1H, d, J = 5,8 Hz), 8,44 (1H, d, J = 5,6 Hz), 8,25 (1H, s), 7,93 (1H, d, J = 7,7 Hz), 7,45-7,37 (2H, m).

Exemplul 57. 4-(3-Bromanilino)-6-fluorpirido[3,4-d]pirimidină

5-[N-(terț-butoxicarbonil)amino]-2-fluorpiridină. 5-Amino-2-fluorpiridina este preparată prin hidrogenarea (Pd/C) 2-fluor-5-nitropiridinei (obținută din 2-clor-5-nitropiridină prin reacția cu KF în MeCN cu Ph₄PBr) (J.H. Clark and D.J. Macquarrie, *Tetrahedron Lett.*, 1987, 28, 111-114). Reacția aminei brute cu t-Boc anhidridă dă 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-fluorpiridină. ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,07 (1H, s), 8,05 (1H, m), 6,89 (1H, dd, J = 9,2, 3,3 Hz), 6,66 (1H, m), 1,52 (9H, s).

Acidul 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-fluorpiridin-4-carboxilic. Reacția 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-fluorpiridinei (5,3g, 25 mmoli) secvențial cu n-BuLi și CO₂ așa cum se descrie în exemplul următor, dă acidul 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-fluorpiridin-4-carboxilic (1,60 g, 25%). ¹H RMN (DMSO) δ 9,83 (1H, brs), 8,84 (1H, s), 7,49 (1H, d, J = 2,9 Hz), 1,47 (9H, s).

Acidul 5-amino-3-fluorpiridin-4-carboxilic. Reacția acidului 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-fluorpiridin-4-carboxilic (1,0 g, 3,9 mmoli) cu TFA așa cum s-a descris mai sus dă acidul 5-amino-2-fluorpiridin-4-carboxilic (0,46 g, 74%). ¹H RMN (DMSO) δ 7,85 (1H, d, J = 1,5 Hz), 7,23 (1H, d, J = 2,5 Hz).

6-Fluor-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-4-onă. Reacția acidului 5-amino-2-fluorpiridin-4-carboxilic cu formamidă la 140°C ca mai sus, dă 6-fluor-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-4-onă (-20%). ¹H RMN (DMSO) δ 12,48 (1H, m), 8,74 (1H, s), 8,16 (1H, s), 7,63 (1H, d, J = 3 Hz).

4-(3-Bromanilino)-6-fluorpirido[3,4-d]pirimidină. Reacția 6-fluor-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-4-onei (0,60 g, 3,6 mmoli) cu POCl₃, urmată de reacția compusului 4,6-dihalo brut cu 3-bromanilină dă 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,4-d]pirimidină (0,73 g, 63%). ¹H RMN (DMSO) δ 10,09 (1H, brs), 8,96 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,25 (2H, m), 7,90 (1H, brd, J = 6,5 Hz), 7,44-7,34 (2H, m).

Exemplul 58. 4-(3-Bromanilino)-6-clorpirido[3,4-d]pirimidină

5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-clorpiridină. Un amestec de 5-amino-2-clorpiridină (12,86 g, 0,1 moli), di-terț-butildicarbonat (24,0 g, 0,11 moli) și Et₃N (12,1 g, 1,12 moli) în CH₂Cl₂ (150 ml), este încălzit cu refluxare timp de 12 h, răcit, iar precipitatul este filtrat. Stratul organic este spălat cu apă, uscat (pe CaCl₂) și filtrat printr-o coloană scurtă de alumina. Îndepărtarea solventului dă 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-clorpiridină (11,9 g, 51%). ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,31 (1H, d, J = 2,9 Hz), 7,94 (1H, dd, J = 8,6, 2,6 Hz), 7,24 (1H, d, J = 8,7 Hz), 7,15 (1H, m), 1,51 (9H, s).

Acidul 5-[N-(terț-butoxicarbonil)amino]-2-clorpiridin-4-carboxilic. O soluție de 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-clorpiridină (22,87 g, 0,1 moli) și TMEDA (47 ml, 0,31 moli) în Et₂O uscat (600 ml) este răcită la -78°C, și i se adaugă n-BuLi (10 M în hexan, 30 ml, 0,3 moli), în picătură. Soluția este lăsată să se încălzească la -10°C și apoi este menținută la această temperatură timp de 2 h, înainte de a fi răcită din nou la -78°C. Se barbotează apoi CO₂ uscat, iar amestecul rezultat este lăsat să se încălzească la 20°C, înainte să fie stins cu apă (300 ml) conținând o mică cantitate de NH₄OH. Stratul apos rezultat este spălat cu EtOAc, apoi acidifiat încet cu HCl diluat pentru precipitarea acidului 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-clorpiridin-4-carboxilic (15,5 g, 57%). ¹H RMN (DMSO) δ 10,00 (1H, s), 9,13 (1H, s), 7,74 (1H, s), 1,47 (9H, s).

Acidul 5-amino-2-clorpiridin-4-carboxilic. O suspensie agitată de acid 5-(N-(terț-butoxicarbonil)amino)-2-clorpiridin-4-carboxilic (1,91 g, 7 mmoli) în CH₂Cl₂ (200 ml) este tratată încet cu acid trifluoroacetic până la omogenizare (cca 12 ml). Soluția este agitată peste noapte și extrasă cu NH₄OH diluat, iar stratul apos este acidifiat apei cu HCl diluat pentru a da un precipitat de acid 5-amino-2-clorpiridin-4-carboxilic (1,05 g, 87% randament). ¹H RMN (DMSO) δ 9,01 (2H, m), 8,03 (1H, s), 7,48 (1H, s).

6-Clor-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-4-onă. O soluție de acid 5-amino-2-clorpiridin-4-carboxilic (8,1 g, 4,7 mmoli) în formamidă (100 ml) este agitată la 140°C timp de 12 h. Diluarea amestecului răcit cu apă dă un precipitat de 6-clor-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-4-onă (7,3 g, 86% randament). ¹H RMN (DMSO) δ 12,73 (1H, m), 8,90 (1H, d, J = 0,7 Hz), 8,23 (1H, s), 7,97 (1H, d, J = 0,7 Hz).

4,6-Diclorpirido[3,4-d]pirimidină. O suspensie agitată de 6-clor-pirido[3,4-d]pirimidin-4-onă (1,82 g, 10 mmoli) în POCl₃ (10 ml) este încălzită la reflux până la dizolvare (cca 2 h) și încă 30 min. Excesul de reactiv este îndepărtat sub presiune redusă, iar reziduul este tratat cu un amestec de CH₂Cl₂ și soluție apoasă de Na₂CO₃ răcită pe gheață. Stratul organic rezultat este uscat (pe Na₂SO₄) și evaporat pentru a da o producere cantitativă de 4,6-diclorpirido[3,4-d]pirimidină brută, instabilă, care este utilizată direct în următoarea etapă. ¹H RMN (CDCl₃) δ 9,38 (1H, d, J = 0,5 Hz), 9,19 (1H, s), 8,09 (1H, d, J = 0,5 Hz).

4-(3-Bromanilino)-6-clorpirido[3,4-d]pirimidină. Un amestec de diclorpirimidină brută de mai sus și 3-bromanilină (3,8 g, 22 mmoli) este dizolvat în i-PrOH (100 ml). Pentru inițierea reacției se adaugă o picătură de HCl conc., iar amestecul este apoi încălzit la reflux timp de 30 min, răcit și diluat cu apă pentru precipitarea 4-(3-bromanilino)-6-clorpirido[3,4-d]pirimidinei (1,26 g, 38% randament). ¹H RMN (DMSO) δ 10,12 (1H, s), 9,03 (1H, s), 8,77 (1H, s), 8,63 (1H, s), 8,21 (1H, s), 7,89 (1H, d, J = 8,1 Hz), 7,43-7,32 (2H, m).

Exemplul 59. 4-(3-Bromanilino)-6-metoxipirido[3,4-d]pirimidină. Tratarea 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,4-d]pirimidinei (a se vedea o experiență anterioară) la 100°C într-un vas de presiune cu metoxid de sodiu în metanol dă 4-(3-bromanilino)-6-metoxipirido[3,4-d]pirimidină. ¹H RMN (DMSO) δ 9,93 (1H, s), 8,94 (1H, s), 8,61 (1H, s), 8,26 (1H, brs), 7,94 (1H, brd, J = 7,6 Hz), 7,88 (1H, s), 7,43-7,32 (2H, m), 4,01 (3H, s).

Exemplul 60. 4-(3-Bromanilino)-6-metilaminopirido[3,4-d]pirimidină

Tratarea 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,4-d]pirimidinei (0,20 g, 0,63 mmoli) (a se vedea o experiență anterioară) la 100°C într-un vas de presiune cu metilamină în etanol, urmată de cromatografia pe alumina (CH₂Cl₂/MeOH, 99:1) dă 4-(3-bromanilino)-6-metilaminopirido[3,4-d]pirimidină (0,07 g, 34%). ¹H RMN (DMSO) δ 9,69 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,41 (1H, s), 8,21 (1H, brs), 7,93 (1H, brd, J = 7,6 Hz), 7,41-7,28 (2H, m), 7,06 (1H, s), 6,82 (1H, q, J = 5,0 Hz) 4,95 (3H, d, J = 5,0 Hz).

Exemplul 61. 4-(3-Bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,4-d]pirimidină

Tratarea 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,4-d]pirimidinei (a se vedea o experiență anterioară) la 100°C într-un vas de presiune, cu dimetilamină în etanol dă 4-(3-bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,4-d]pirimidină. ¹H RMN (DMSO) δ 9,71 (1H, s), 8,83 (1H, s), 8,43 (1H, s), 8,21 (1H, brs), 7,94 (1H, brd, J = 7,5 Hz), 7,42-7,29 (2H, m), 7,26 (1H, s), 3,17 (6H, s).

Exemplul 62. 4-(Benzilamino)pirido[3,4-d]pirimidină

Un amestec de 4-metiltiopirido[3,4-d]pirimidină (74 mg, 0,41 mmoli) (a se vedea o experiență anterioară) și benzilamină (1 ml) este încălzit până la 100°C timp de 2 h. După răcire, amestecul este concentrat sub presiune redusă și purificat direct prin cromatografie în strat subțire preparativă pe silicagel, eluție cu CH₂Cl₂ pentru producerea 4-(benzilamino)pirido[3,4-d]pirimidinei (21,2 mg, 20%). ¹H RMN (DMSO) δ 9,21 (1H, t, J = 5,8 Hz), 9,19 (1H, s), 8,63 (1H, d, J = 5,8 Hz), 8,58 (1H, s), 8,20 (1H, d, J = 5,1 Hz), 7,41-7,30 (4H, m), 7,36 (1H, t, J = 7,1 Hz).

Exemplul 63. 4-(3-Bromanilino)pirido[2,3-d]pirimidină

3H-pirido[2,3-d]pirimidin-4-onă. Acidul 2-aminonicotinic (15 g, 108,6 mmoli) în formamidă (35 ml) este încălzit la 165-170°C timp de 3,5 h. Prin răcire se formează un precipitat. Solidul este filtrat și spălat cu apă și uscat într-un cuptor cu vid pentru a da 3H-pirido[2,3-d]pirimidin-4-onă (7,87 g, 49,4%). ¹H RMN (DMSO) δ 12,50 (1H, s), 8,97 (1H, dd, J = 1,9, 4,5 Hz), 8,53 (1H, dd, J = 2,1, 7,9 Hz), 8,34 (1H, s), 7,57 (1H, dd, J = 4,6, 8,0 Hz).

4-Tiopirido[2,3-d]pirimidină. Se adaugă pentasulfură de fosfor (6 g, 13,5 mmoli) unei soluții de 3H-pirido[2,3-d]pirimidin-4-onă (2 g, 13,5 mmoli) în piridină (50 ml). Amestecul este refluxat timp de 3 h. Prin răcire se formează un solid, iar piridina este decantată. Solidul este suspendat în apă (20 ml) și apoi este filtrat și uscat într-un cuptor cu vid pentru producerea 4-tiopirido[2,3-d]pirimidinei (1,72 g, 78%). ¹H RMN (DMSO) δ 9,06 (1H, dd, J = 1,9, 4,3 Hz), 8,90 (1H, dd, J = 1,9, 8,2 Hz), 8,36 (1H, s), 7,65 (1H, dd, J = 4,3, 8,2 Hz).

4-Metiltiopirido[2,3-d]pirimidină. Un amestec de 4-tiopirido[2,3-d]pirimidină (100 mg, 0,76 mmoli), trietilamină (154 mg, 1,52 mmoli), DMSO (2 ml) și iodmetan (161 mg, 1,14 mmoli) este agitat timp de 12 h la 25°C. Amestecul este vărsat în apă și extras cu EtOAc. Extractele combinate sunt spălate cu apă, cu saramură saturată, apoi uscate (pe MgSO₄), iar solventul este îndepărtat sub presiune scăzută pentru a obține 4-metiltiopirido[2,3-d]pirimidină (134 mg, cantitativ). ¹H RMN (DMSO) δ 9,25 (1H, dd, J = 1,8, 4,2 Hz), 9,17 (1H, s), 8,59 (1H, dd, J = 1,9, 8,2 Hz), 7,75 (1H, dd, J = 4,3, 8,2 Hz), 2,73 (3H, s).

Un amestec de 4-metiltiopirido[2,3-d]pirimidină (157 mg, 0,89 mmoli) și 3-bromanilina (1 ml) este încălzit la 100°C timp de 2 h. Prin răcire se formează un precipitat care este filtrat, apoi spălat cu EtOH și uscat la aer pentru obținerea 4-(3-bromanilino)pirido[2,3-d]pirimidinei (55,5 mg, 20%). ¹H RMN (DMSO) δ 10,13 (1H, s), 9,11 (1H, dd, J = 1,7, 4,3 Hz), 9,01 (1H, dd, J = 1,7, 8,2 Hz), 8,81 (1H, s), 8,22 (1H, s), 7,90 (1H, d, J = 7,7 Hz), 7,71 (1H, dd, J = 4,3, 8,0 Hz), 7,4 (2H, m).

Exemplul 64. 4-(3-bromanilino)-7-fluorpirido[2,3-d]pirimidină

Acidul 2,6-difluornicotinic. Se adaugă în picătură 2,6-difluorpiridină (7,89 ml, 0,087 mmoli) în atmosferă de N₂ la 78°C peste o soluție agitată de diisopropilamidă de litiu (59,0 ml dintr-o soluție 1,5 N în ciclohexan, 0,089 mmoli) în THF (250 ml). După 2 h la 78°C se trece un curent de CO₂ uscat prin soluție, iar amestecul este diluat cu apă și spălat cu EtOAc. Partea apoasă este neutralizată cu HCl 3N, extrasă cu EtOAc și prelucrată pentru a da acidul 2,6-difluornicotinic (13,4 g, 97%). ¹H RMN (DMSO) δ 8,59 (1H, dd, J = 9,2, 8,2 Hz), 7,30 (1H, dd, J = 8,2, 2,1 Hz), 4,03 (1H, brs).

2,6-Difluornicotinamidă. O soluție de acid 2,6-difluornicotinic (7,4 g, 0,046 mmoli) și SOCl₂ (20 ml) în 1,2-dicloroetan (60 ml) conținând DMF (o picătură) este încălzită la reflux timp de 4 h, apoi concentrată la sec sub presiune redusă. Reziduul este dizolvat în Et₂O (100 ml), răcit la 0°C, și tratat în picătură cu amoniac concentrat (10,0 ml, 0,17 mmoli). După 10 min, soluția este spălată cu soluție apoasă de NaHCO₃ și prelucrată pentru obținerea 2,6-difluornicotinamidei (5,61 g, 76%). ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,70 (1H, dd, J = 9,6, 8,3 Hz), 7,00 (1H, ddd, J = 8,3, 2,9, 1,1 Hz), 6,71, 6,55 (1H, 1H, 2 brs).

2-Amino-6-fluornicotinamidă. O soluție de 2,6-difluornicotinamidă (4,68 g, 0,029 mmoli) în formamidă uscată (30 ml) este saturată cu amoniac și lăsat la temperatura camerei timp de 24 h. Se adaugă apă (50 ml), iar precipitatul rezultat este filtrat și spălat bine cu apă pentru a da 6-amino-2-fluornicotinamida (1,41 g, 31%), p.t. 236-237°C. ¹H RMN (DMSO) δ 7,89 (1H, dd, J = 10,4, 8,4 Hz), 7,31, 7,16 (1H, 1H, 2 brs), 6,93 (2H, brs), 6,36 (1H, dd, J = 8,4, 2,4 Hz).

Filtratul și spălările sunt reunite și extrase exhaustiv cu EtOAc, iar extractul este cromatografiat pe silicagel. Sistemul EtOAc/eter de petrol (1:1) eluează precursorul, în timp ce EtOAc/eter de petrol (2:1) și apoi EtOAc dă 2-amino-6-fluornicotinamidă (1,57 g, 35%), p.t. (EtOAc/eter de petrol) 199-200°C (Rogers, R.B. et al., US 4 383 851, record mp 198-200°C). ¹H RMN (DMSO) δ 8,13 (1H, dd, J = 10,4, 8,4 Hz), 7,90, 7,30 (1H, 1H, 2 brs), 7,65 (2H, brs), 6,23 (1H, dd, J = 8,4, 2,6 Hz).

O suspensie de 2-amino-6-fluornicotinamidă (0,74 g, 4,77 mmoli) în trietil ortoformat (25 ml) este încălzită la refluxare timp de 8 h. După răcire la temperatura camerei precipitatul este filtrat și spălat bine cu eter de petrol pentru a da 7-fluorpirido[2,3-d]pirimid-4(3H)-onă (0,76 g, 96%). ¹H RMN (DMSO) δ 12,75 (1H, brs), 8,66 (1H, dd, J = 10,4, 8,4 Hz), 8,38 (1H, s), 7,33 (1H, dd, J = 8,4, 2,6 Hz).

4-(3-Bromanilino)-7-fluorpirido[2,3-d]pirimidină. O suspensie de 7-fluorpirido[2,3-d]pirimid-4(3H)-onă (0,20 g, 1,21 mmoli) în POCl₃ (10 ml) este încălzită la reflux timp de 2 h. Componentele volatile sunt apoi îndepărtate sub vid, iar reziduul este separat între NaHCO₃ apos și EtOAc. Extractul organic este prelucrat pentru a da 4-clor-7-fluorpirido[2,3-d]pirimidină brută, care este utilizată direct în reacția următoare. O soluție din acest produs (0,20 g, 1,09 mmoli) și 3-bromanilină (0,23 ml, 2,18 mmoli) în propan-2-ol (1,0 ml) și THF (10 ml) conținând o urmă de HCl conc. este agitată la 20°C timp de 1 h, și apoi concentrată la sec. Reziduul este dizolvat în EtOAc, spălat cu soluție apoasă de NaHCO₃ și prelucrat pentru a da un ulei care este cromatografiat pe silicagel. Eluția cu EtOAc/eter de petrol (1:5) dă 3-bromanilină, în timp ce sistemul EtOAc/eter de petrol (1:1) eluează 4-(3-bromanilino)-7-fluorpirido[2,3-d]pirimidină (0,18 g, 47%), p.t. (MeOH) 211-213°C. ¹H RMN (DMSO) δ 10,18 (1H, brs), 9,17 (1H, t, J = 8,6 Hz), 8,80 (1H, s), 8,17 (1H, t, J = 1,8 Hz), 7,85 (1H, dt, J_d = 7,6 Hz, J_t = 1,8 Hz), 7,53 (1H, dd, J = 8,6, 2,7 Hz), 7,41-7,34 (2H, m).

Exemplul 65. 7-Amino-4-(3-bromanilino)pirido[2,3-d]pirimidină

O soluție de 4-(3-bromanilino)-7-fluorpirido[2,3-d]pirimidină (0,20 g, 0,63 mmoli) în EtOH (20 ml) este saturată cu amoniac și încălzită la 100°C într-un vas de presiune timp de 30 h. Solventul este îndepărtat sub presiune redusă pentru a da 7-amino-4-(3-bromanilino)pirido[2,3-d]pirimidină (0,18 g, 90%). ¹H RMN (DMSO) δ 0,97 (1H, brs), 8,59 (1H, s), 8,51 (1H, d, J = 9,3 Hz), 8,11 (1H, sl, brs), 7,77 (1H, brd, J = 6,3 Hz), 7,44 (2H, brs), 7,37-7,30 (2H, m), 6,81 (1H, d, J = 9,3 Hz).

Exemplul 66. 4-(3-Bromanilino)-7-(metilamino)pirido[2,3-d]pirimidină

O soluție de 4-(3-bromanilino)-7-fluorpirido[2,3-d]pirimidină (a se vedea o experiență anterioară) (0,20 g, 0,63 mmoli), clorhidrat de metilamină (0,13 g, 1,88 mmoli) și Et₃N (0,30 ml, 2,19 mmoli) în EtOH (15 ml) este încălzită la 100°C într-un vas de presiune timp de 18 h. Solventul este îndepărtat la vid, iar reziduul este separat între EtOAc și apă. Prelucrarea stratului organic dă 4-(3-bromanilino)-7-(metilamino)pirido[2,3-d]pirimidină (0,16 g, 77%). ¹H RMN (DMSO) δ 9,53 (1H, s), 8,54 (1H, s), 8,41 (1H, d, J = 8,1 Hz), 8,17 (1H, t, J = 1,8 Hz), 7,83 (1H, dd, J = 8,0, 1,9 Hz), 7,66 (1H, brs), 7,32 (1H, t, J = 8,0 Hz), 7,24 (1H, dd, J = 8,0, 1,8 Hz), 6,77 (1H, d, J = 8,1 Hz), 2,92 (3H, d, J = 4,8 Hz).

Exemplul 67. 4-(3-Bromanilino)-7-(dimetilamino)pirido[2,3-d]pirimidină

Reacția 4-(3-bromanilino)-7-fluorpirido[2,3-d]pirimidinei (a se vedea o experiență anterioară) (0,12 g, 0,38 mmoli) cu clorhidrat de dimetilamină (92 mg, 1,13 mmoli) și Et₃N (0,18 ml, 1,32 mmoli) în EtOH (15 ml) la 100°C timp de 18 h într-un vas de presiune, urmată de evaporarea solventului și prelucrare, dau 4-(3-bromanilino)-7-(dimetilamino)pirido[2,3-d]pirimidină (0,11 g, 84%). ¹H RMN (DMSO) δ 9,58 (1H, brs), 8,56 (1H, d, J = 9,3 Hz), 8,54 (1H, s), 8,18 (1H, t, J = 1,9 Hz), 7,84 (1H, dt, J_d = 8,0 Hz, J_t = 1,9 Hz), 7,33 (1H, dd, J = 8,1, 8,0 Hz), 7,25 (1H, dt, J_d = 9,3, J_t = 1,9 Hz), 7,10 (1H, d, J = 9,3 Hz), 3,18 (6H, s).

Exemplul 68. 4-(3-Bromanilino)-7-metoxipirido[2,3-d]pirimidină

O soluție de 4-(3-bromanilino)-7-fluorpirido[2,3-d]pirimidină (0,26 g, 0,81 mmoli) și metoxid de sodiu (preparat din 75 mg sodiu, 3,26 mmoli) în MeOH uscat (15 ml) este încălzită la 90°C într-un vas de presiune timp de 18 h. Amestecul este vărsat în apă și extras cu EtOAc pentru a da 4-(3-bromanilino)-7-metoxipirido[2,3-d]pirimidină (0,23 g, 86%). ¹H RMN (DMSO) δ 9,88 (1H, brs), 8,82 (1H, d, J = 8,9 Hz), 8,71 (1H, s), 8,18 (1H, dd, J = 8,0, 1,9 Hz), 7,36 (1H, dd, J = 8,1, 8,0 Hz), 7,29 (1H, ddd, J = 8,1, 1,9, 1,9 Hz), 7,15 (1H, d, J = 8,9 Hz), 4,01 (3H, s).

Exemplul 69. 4-Benzilamino-7-metilaminopirido[4,5-d]pirimidină

Iodură de S-etilizotiouroni. O soluție de tiouree (3,80 g, 50 mmoli) și iodetan (4 ml, 50 mmoli) în MeOH (100 ml) este refluxată timp de 24 h. Solventul este îndepărtat sub vid, iar uleiul rezidual galben-deschis este uscat sub vid, solidificându-se în mod spontan. Compusul dorit (13,98 g) este obținut cantitativ.

4-Amino-5-ciano-2-etiltiopirimidină. O suspensie de NaOMe (2,7 g, 50 mmoli) în EtOH (200 ml) este adăugată unui amestec format din hidriodură de S-etilizotiouree (11,58 g, 50 mmoli), etoximetilidenmalononitril (6,1 g, 50 mmoli) și etanol (250 ml) la 25°C. Amestecul de reacție este refluxat sub N₂ timp de 2 h, apoi soluția este concentrată pe o placă fierbinte până când se observă precipitarea. După răcire, solidul este colectat prin filtrare sub vid și este agitat în apă la 25°C. Filtrarea și uscarea într-un cuptor cu vid produce 4-amino-5-ciano-2-etiltiopirimidină (4,02 g, 45%) sub forma unui solid maro. ¹H RMN (DMSO) δ 8,45 (1H, s), 7,90 (2H, brs), 3,00 (2H, q, J = 7,3 Hz), 1,27 (3H, t, J = 7,3 Hz).

4-Amino-2-etiltiopirimidin-5-carboxamidă. Se adaugă 4-amino-5-ciano-2-etiltiopirimidină (4,0 g, 22,3 mmoli) în acid sulfuric (conc., 4,3 ml) în porțiuni mici. Amestecul este agitat apoi sub N₂ la 40°C timp de 1,5 h. Reacția este stopată cu apă-gheață și pH-ul este ajutat la ~9 cu NH₄OH. Solidul este colectat prin filtrare sub vid și uscat într-un cuptor cu vid peste noapte. Se obține 4-amino-2-etiltiopirimidin-5-carboxamidă (2,58 g, 58%) sub forma unui solid

maro-deschis. ^1H RMN (DMSO) δ 8,52 (1H, s), 7,98 (2H, brs), 7,42 (2H, brs), 3,04 (2H, q, $J = 7,3$ Hz), 1,27 (3H, t, $J = 7,3$ Hz).

4-oxo-7-etiltio-3H-pirimido[4,5-d]pirimidină. Un amestec de 4-amino-2-etiltiopirimidin-5-carboxamidă (4,66 g, 23,5 mmoli) și trietil ortoformat (150 ml) este refluxat în atmosferă de N_2 timp de 24 h, apoi este răcit la 25°C . Solidul maro este izolat prin filtrare sub vid și uscat într-un cuptor sub vid pentru a da 4-oxo-7-etiltio-3H-pirimido[4,5-d]pirimidină (3,54 g, 72%). ^1H RMN (DMSO) δ 12,80 (1H, s), 9,20 (1H, s), 8,45 (1H, s), 3,18 (2H, q, $J = 7,4$ Hz), 1,35 (3H, t, $J = 7,4$ Hz).

4-Tiono-7-etiltio-3H-pirimido[4,5-d]pirimidină. Un amestec de 4-oxo-7-etiltio-3H-pirimido[4,5-d]pirimidină (1,33 g, 6,7 mmoli), P_2S_5 (1,48 g, 6,6 mmoli) și piridină (15 ml) este refluxat în atmosferă de N_2 timp de 3 h. Piridina este îndepărtată apoi sub vid, iar reziduul este dizolvat în soluție de NaOH (0,5 M, 75 ml) și fiert cu cărbune activ. După filtrare, filtratul este neutralizat cu acid acetic pentru a genera un solid maro-auriu. Filtrarea prin Buchner și uscarea într-un cuptor cu vid produce 4-tiono-7-etiltio-3H-pirimido[4,5-d]pirimidină (1,42 g, 95%). ^1H RMN (DMSO) δ 9,47 (1H, s), 8,46 (1H, s), 3,20 (2H, q, $J = 7,3$ Hz), 1,35 (3H, t, $J = 7,3$ Hz).

7-Etiltio-4-metiltiopirimido[4,5-d]pirimidină. Este utilizat același procedeu descris pentru 7-amino-4-metiltiopirido[4,3-d]pirimidină din exemplul 21.

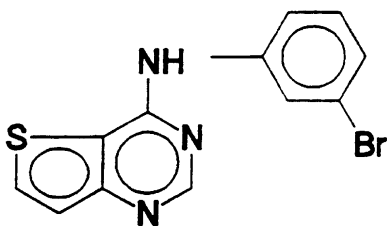
^1H RMN (DMSO) δ 9,52 (1H, s), 9,15 (1H, s), 3,23 (2H, q, $J = 7,3$ Hz), 2,72 (3H, s), 1,38 (3H, t, $J = 7,3$ Hz).

4-Benzilamino-7-etiltiopirimido[4,5-d]pirimidină. Este utilizat același procedeu descris pentru 7-amino-4-anilinopirido[4,3-d]pirimidină din exemplul 21.

4-Benzilamino-7-metilaminopirimido[4,5-d]pirimidină. 4-benzilamino-7-etiltiopirimido[4,5-d]pirimidină în EtOH conținând în exces metilamină, este încălzită la 150°C într-o bombă de oțel timp de 5 h. Solidul este filtrat și uscat pentru a da 4-benzilamino-7-metilaminopirimido[4,5-d]pirimidină.

Exemplul 70. 4-Benzilamino-7-hidrazinopirimido[4,5-d]pirimidină

4-Benzilamino-7-etiltiopirimido[4,5-d]pirimidină în EtOH conținând în exces hidrazină este încălzită la 150°C într-o bombă de oțel timp de 5 h. Solidul este filtrat și uscat pentru a da 4-benzilamino-7-hidrazinopirimido[4,5-d]pirimidină.



Exemplul 71. Clorhidrat de 4-(3-bromanilino)tieno[3,2-d]pirimidină

3H-Tieno[3,2-d]pirimid-4-onă. Un amestec de metil 3-aminotiofen-2-carboxilat (1 g, 6,3 mmoli) și formamidă (2 g) este încălzit la 240°C timp de 10 min. După răcire, apare un precipitat. Acesta este dizolvat în EtOH și filtrat. Filtratul este concentrat sub vid, iar reziduul este purificat prin cromatografie pe silicagel și eluție cu MeOH 10% în CH_2Cl_2 pentru obținerea 3H-tieno[3,2-d]pirimid-4-onei (249 mg, 26%) sub forma unui solid. ^1H RMN (DMSO) δ 12,61 (1H, brs), 8,20 (1H, s), 8,17 (1H, d, $J = 5$ Hz), 7,42 (1H, d, $J = 5$ Hz).

4-Clortieno[3,2-d]pirimidină. La o soluție de DMF (170,3 ml, 2,2 mmoli) și dicloretan (1,2 ml) la 0°C N_2 se adaugă încet clorură de oxalil (279,2 mg, 3,2 mmoli) și se agită timp de 10 min. Se adaugă 3H-tieno[3,2-d]pirimid-4-onă (152,2 mg, 1,0 mmoli) și se refluxează timp de 5 h. Amestecul de reacție este vărsat în apă și extras cu CH_2Cl_2 . Stratul organic este îndepărtat sub vid pentru producerea 4-clortieno[3,2-d]pirimidinei (140 mg, 82%) sub forma unui solid galben. ^1H RMN (DMSO) δ 9,05 (1H, s), 8,62 (1H, d, $J = 5$ Hz), 7,79 (1H, d, $J = 5$ Hz).

Clorhidrat de 4-(3-bromanilino)tieno[3,2-d]pirimidină. Un amestec de 4-clortieno[3,2-d]pirimidină (135 mg, 0,79 mmoli) și 3-bromanilină (95 ml, 0,89 mmoli) în 2-metoxietanol (2 ml) este încălzit la 79°C timp de 30 min. Precipitatul rezultat este filtrat și spălat cu CH_2Cl_2 pentru a da clorhidratul de 4-(3-bromanilino)tieno[3,2-d]pirimidină (195,5 mg, 72%) sub forma unui solid galben-deschis. ^1H RMN (DMSO) δ 11,33 (1H, s), 8,94 (1H, s), 8,23 (1H, s), 8,53 (1H, d, $J = 5,3$ Hz), 8,07 (1H, s), 7,77 (1H, d, $J = 7,9$ Hz), 7,6 (1H, d, $J = 5,3$ Hz), 7,48 (2H, m).

Exemplul 72. 4-Benzilaminotieno[3,2-d]pirimidină

Așa cum s-a descris în experiența anterioară, 4-clortieno[3,2-d]pirimidina (100 mg, 0,586 mmoli) cu benzilamină (710 ml, 0,645 mmoli) în 2-metoxietanol (2 ml) produce 4-benzilaminotieno[3,2-d]pirimidină (37 mg, 26%). ^1H RMN (DMSO) δ 8,42 (1H, s), 8,12 (1H, d, $J = 5,5$ Hz), 7,39 (1H, d, $J = 5,3$ Hz), 7,40-7,30 (4H, m), 7,24 (1H, t, $J = 6,8$ Hz).

Exemplul 73. 4-(3-Bromanilino)tieno[2,3-d]pirimidină

2-Aminotiofen-3-carboxilat de metil. Un amestec format din cianoacetat de metil (3,25 g, 32,3 mmoli), 1,4-ditian-2,5 diol (5 g, 32,8 mmoli), trietilamină (1 ml, 7,71 mmoli) în EtOH (50 ml) este agitat la 40°C timp de 1 h. Soluția răcită este eluată printr-un dop de silice cu CH_2Cl_2 . Filtratul este îndepărtat la sec pentru a da 2-aminotiofen-3-carboxilat de metil brut care este folosit în următoarea reacție. ^1H RMN (DMSO) δ 7,26 (1H, s), 6,82 (1H, d, $J = 5,8$ Hz), 6,28 (1H, d, $J = 5,8$ Hz), 3,69 (3H, s).

3H-Tieno[2,3-d]pirimid-4-onă. O soluție de metil 2-aminotiofen-3-carboxilat (602,1 mg, 3,83 mmoli) în formamidă (5 ml) este încălzită la 200°C timp de 12 h. Gudronul rezultat este dizolvat în CH_2Cl_2 (10 ml), apoi plasat pe un dop de silice și eluat cu MeOH 10% în CH_2Cl_2 . Filtratul este îndepărtat sub presiune redusă, iar solidul rezultat este

spălat cu EtOH pentru producerea 3H-tieno[2,3-d]pirimid-4-onei (231,4 mg, 40%) sub forma unui solid portocaliu. ^1H RMN (DMSO) δ 12,50 (1H, brs), 8,13 (1H, s), 7,60 (1H, d, $J = 5,8$ Hz), 7,41 (1H, d, $J = 6,0$ Hz).

4-Clortieno[2,3-d]pirimidină. La o soluție de DMF (90 ml) și CH_2Cl_2 (2 ml) la 0°C în atmosferă de N_2 se adaugă încet clorură de oxalil (148 mg, 1,2 mmoli) și se agită timp de 10 min. Acestei soluții i se adaugă 3H-tieno[2,3-d]pirimid-4-onă (81 mg, 0,52 mmoli) sub forma unui solid și se încălzește până când se dizolvă solidul. Reacția este agită la 25°C timp de 12 h sub N_2 . Amestecul de reacție este vărsat în apă și extras cu CH_2Cl_2 . Fazele sunt separate, iar stratul organic este uscat (pe Na_2SO_4) și îndepărtat sub presiune redusă pentru producerea 4-clortieno[2,3-d]pirimidinei (87,6 mg, 97%) sub formă solidă. ^1H RMN (DMSO) δ 8,96 (1H, s), 8,17 (1H, d, $J = 6,0$ Hz), 7,62 (1H, d, $J = 6,0$ Hz).

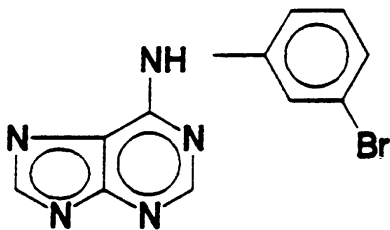
Clorhidrat de 4-(3-bromanilino)tieno[2,3-d]pirimidină. Un amestec de 4-clortieno[2,3-d]pirimidină (135 mg, 0,79 mmoli) și 3-bromanilină (95 ml, 0,89 mmoli) în 2-metoxietanol (2 ml) este încălzit la 79°C de 30 min cu agitare. Solidul rezultat este filtrat și spălat cu CH_2Cl_2 pentru producerea clorhidratului de 4-(3-bromanilino)tieno[2,3-d]pirimidină (197 mg, 73%). ^1H RMN (DMSO) δ 9,99 (1H, s), 8,60 (1H, s), 8,23 (1H, s), 7,98 (1H, d, $J = 6,0$ Hz), 7,88 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,79 (1H, d, $J = 6,0$ Hz), 7,37 (1H, t, $J = 8,0$ Hz), 7,30 (1H, d, $J = 8,0$ Hz).

Exemplul 74. 4-Benzilaminopirolo[2,3-d]pirimidină

4-Benzilaminopirolo[2,3-d]pirimidină este preparată așa cum s-a descris anterior. G.H. Hitchings, K.W. Ledig and R.A. West, US 3 037 980, 1962; Chemical Abstracts 1962, 57, 15130 p.

Exemplul 75. N^6 -(3-Bromfenil)adenină

Un amestec de 6-clorpurină (1,0 g, 6,47 mmoli), 3-bromanilină (0,78 ml, 7,12 mmoli) și HCl conc. (4 picături) în izopropanol (10 ml) este agitat la 80°C timp de 5 h. După răcire, acesta precipită. Solidul este filtrat și spălat cu izopropanol și aer uscat pentru producerea N^6 -(3-bromfenil)adeninei (1,93 g, 91%) sub forma unui solid galben-deschis. ^1H RMN (DMSO) δ 11,38 (1H, s), 8,78 (1H, s), 8,75 (1H, s), 7,90 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,38-7,34 (2H, m).



Exemplul 76. N^6 -Benziladenină

N^6 -Benziladenina este disponibilă comercial de la Aldrich Chemical Company, 1001 West Saint Paul Avenue, Milwaukee, Wisconsin 53233.

Exemplul 77. 7-Amino-4-(3-metilnilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metilpirido[4,3-d]pirimidină (217 mg, 1,13 mmoli) și m-toluidină (1,50 g, 14,0 mmoli) este agitat la 155°C timp de 30 min. Produsul rezultat este cromatografiat pe silicagel (5% MeOH/ CH_2Cl_2) pentru a da 7-amino-4-(3-metilnilino)pirido[4,3-d]pirimidină (190 mg, 67%) sub forma unui solid galben-pal. ^1H RMN (DMSO) δ 9,81 (1H, brs), 9,34 (1H, s), 8,38 (1H, s), 7,60 (2H, s), 7,26 (1H, dd, $J = 8,5, 7,6$ Hz), 6,95 (1H, d, $J = 7,4$ Hz), 6,63 (2H, brs), 6,44 (1H, s), 2,33 (3H, s).

Exemplul 78. 7-Amino-4-(4-metoxianilino)pirido[4,3-d]pirimidină

Un amestec de 7-amino-4-metilpirido[4,3-d]pirimidină (129 mg, 0,62 mmoli) și 4-metoxianilină (0,15 g, 1,2 mmoli) în etanol (5 ml) a fost încălzit la 40°C timp de 16 h și apoi refluxat timp de 3 h. Amestecul de reacție a fost răcit la 0°C peste noapte, iar solidul a fost colectat prin filtrare sub vid și recristalizat din izopropanol pentru a da 7-amino-4-(4-metoxianilino)pirido[4,3-d]pirimidină (42 mg, 25%) sub forma unui solid galben. ^1H RMN (DMSO) δ 10,00 (1H, brs), 9,31 (1H, s), 8,35 (1H, s), 7,62 (2H, d, $J = 9,2$ Hz), 9,69 (2H, d, $J = 9,2$ Hz), 6,70 (2H, slbrs), 6,41 (1H, s), 3,77 (3H, s).

Exemplul 79. 4-(3-Bromanilino)-6-(piperidin-1-il)pirido[3,4-d]pirimidină

Tratarea 4-(3-bromanilino)-6-fluorpirido[3,4-d]pirimidinei (a se vedea un experiment anterior) la 100°C într-un vas de presiune cu piperidină în etanol dă 4-(3-bromanilino)-6-dimetilaminopirido[3,4-d]pirimidină.

Compozițiile farmaceutice ale prezentei invenții pot lua orice formă dintr-o largă varietate de forme de dozare orale și parenterale. Formele de dozare conțin drept componente active un inhibitor, așa cum s-a definit anterior.

Pentru prepararea compozițiilor farmaceutice se pot folosi purtători (adjuvanți) acceptabili farmaceutic care pot fi solizi sau lichizi. Preparatele sub formă solidă includ pulberi, tablete, granule dispersabile, capsule, cașete și supozitoare. Un adjuvant solid poate fi constituit din una sau mai multe substanțe care pot acționa și ca diluanți, agenți de gust, solubilizanți, lubrifianți, agenți de suspendabilitate, lianți sau agenți de dezintegrare a tabletei; el poate fi și un material de încapsulare. În cazul pulberilor, adjuvantul este un solid fin divizat care este în amestec cu compoziții activi fin divizați. În cazul tabletei, compoziții activi sunt amestecați cu adjuvantul, având proprietățile de legare necesare în proporții convenabile și compactați în forma și mărimea dorită. Pulberile și tabletele conțin de preferință de la 5 sau 10% până la aproape 70% din ingredientii activi. Adjuvanți solizi adecvați sunt carbonatul de magneziu, stearatul de magneziu, talcul, zahărul, lactoza, pectina, dextrina, amidonul, gelatină, tragacant, metilceluloza, carboximetilceluloza de sodiu, o ceară cu topire redusă, unt de cacao și alții asemănători. Termenul "preparat" este destinat să includă formularea compozițiilor activi cu materiale de încapsulare drept adjuvant, furnizând o capsulă în care componentele active (cu sau fără alți adjuvanți), sunt înconjurate de adjuvant, care sunt astfel în asociere cu el. În mod similar sunt

incluse cașetele. Pentru administrarea orală, pot fi utilizate tablete, pulberi, cașete și capsule ca forme convenabile de dozare solide.

Preparatele sub formă lichidă includ soluții, suspensii și emulsii. Ca un exemplu poate fi menționată apa sau soluțiile apă-propilenglicol pentru injecție parenterală. Preparatele lichide pot fi formulate și sub formă de soluție în soluție apoasă de polietilenglicol. Soluții apoase convenabile pentru utilizare orală pot fi preparate prin dizolvarea componentei active în apă și adăugare de coloranți, arome, stabilizatori și agenți de îngroșare convenabili, așa cum se dorește. Suspensiile apoase adecvate administrării orale pot fi obținute prin dispersarea componentelor active fin divizate în apă cu material vâscos, cum ar fi gume naturale sau sintetice, rășini, metilceluloză, carboximetilceluloză de sodiu și alți agenți de suspendabilitate bine cunoscuți.

Prepararea farmaceutică este, de preferat, sub formă de dozare unitară. Într-o astfel de formă, preparatul poate fi subdivizat în doze unitare conținând cantități adecvate de inhibitor și alte materiale anticanceroase, sub formă individuală sau de combinație, adică într-un amestec. Forma de dozare unitară poate fi un preparat ambalat, ambalajul conținând cantități discrete de preparat, spre exemplu: tablete, capsule și pulberi ambalate în fiole sau sticlute. Forma de dozare unitară poate fi, de asemenea, o capsulă, o cașetă sau tabletă în sine sau poate fi constituită dintr-un număr adecvat din oricare dintre aceste forme de ambalare. În plus, forma de dozare unitară poate fi o formă divizibilă având un inhibitor într-o parte și alte materiale anticancer în cealaltă parte, cum ar fi o capsulă divizibilă, un ambalaj divizibil sau o fiolă cu două părți, sau ceva asemănător.

Cantitatea unui inhibitor în dozările unitare ale preparatului poate fi variată sau ajustată de la aproape 0,01 până la 100,0 mg/kg, de preferat 0,03 până la mai puțin de 1,0 mg/kg de inhibitor.

Compozițiile farmaceutice sunt constituite de preferință în așa fel încât să poată fi administrate parenteral sau oral. Soluțiile compușilor activi ca baze libere sau acizi liberi sau săruri acceptabile farmaceutic pot fi preparate în apă amestecată convenabil cu un surfactant cum ar fi hidroxipropilceluloza. Dispersiile pot fi preparate și în glicerol, polietilenglicoli lichizi și amestecuri ale acestora, precum și în uleiuri. În condiții obișnuite de depozitare și utilizare, aceste preparate conțin un prezervant pentru împiedicarea creșterii microorganismelor.

Formele farmaceutice adecvate utilizării injectabile includ soluții apoase sterile sau dispersii și pulberi sterile pentru prepararea extemporanee a soluțiilor injectabile sterile sau a dispersiilor. În toate cazurile, forma trebuie să fie sterilă și fluidă așa încât să fie ușor introdusă în seringă. Ea trebuie să fie stabilă în condiții de fabricare și depozitare și trebuie să fie protejată împotriva acțiunii contaminante a microorganismelor cum ar fi bacteriile și ciupercile. Purtătorul (adjuvantul) poate fi un solvent sau mediu de dispersie care conține, spre exemplu apă, etanol, polioliol (spre ex. glicerol, propilenglicol și polietilenglicol lichid, și alții asemănători), amestecuri adecvate ale acestora și uleiuri vegetale. Fluiditatea specifică poate fi menținută, spre ex. prin utilizarea unui agent de acoperire cum ar fi lecitina, prin menținerea mărimii necesare a particulei în cazul dispersiei, și prin utilizarea surfactanților. Prevenirea acțiunii microorganismelor poate fi realizată cu diferiți agenți antibacterieni și antifungici, spre ex. parageni, clorbutanol, fenol, acid sorbic, timerosal și alții asemănători. În multe cazuri este de preferat includerea agenților izotonici, spre ex. zaharuri sau clorură de sodiu. Absorbția prelungită a compozițiilor injectabile s-a realizat prin utilizarea de agenți care frânează absorbția, spre ex. gelatina.

Soluțiile injectabile sterile sunt preparate prin încorporarea compușilor activi în cantitatea cerută în solventul adecvat cu diverse alte ingrediente enumerate mai sus, urmată de sterilizarea prin filtrare. În general, dispersiile sunt preparate prin încorporarea diferitelor ingrediente active sterilizate într-un vehicul steril care conține mediul de dispersie bazic și celelalte ingrediente necesare dintre cele enumerate mai sus. În cazul pulberilor sterile, pentru prepararea soluțiilor injectabile sterile, metodele preferate de preparare sunt uscarea sub vid și tehnica de uscare prin îngheț care produce o pulbere de ingrediente active plus un ingredient suplimentar dorit dintr-o soluție anterior filtrată steril.

În cazul de față, „adjuvanții acceptabili farmaceutic” includ oricare dintre solvenți, medii de dispersie, agenți de acoperire, agenți antibacterieni și antifungici, agenți izotonici și de blocare a absorbției, și alții asemănători. Utilizarea unor astfel de medii și agenți pentru substanțele active farmaceutic, este bine cunoscută în domeniu.

Exceptând presupunerea că orice mediu sau agent convențional este incompatibil cu ingredientul activ, este presupusă utilizarea lor în compozițiile terapeutice. În aceste compoziții pot fi încorporate și alte ingrediente active suplimentare.

Este avantajoasă în mod special formularea compozițiilor parenterale sub formă de unitate de dozare pentru ușurința utilizării și uniformitatea dozării. Forma de dozare unitară utilizată în prezenta invenție se referă la unități discrete din punct de vedere fizic, potrivite ca dozări unitare în cazul tratamentului subiecților mamifere; fiecare unitate conține o cantitate predeterminată de materiale active calculată pentru a produce efectul terapeutic dorit în asociere cu adjuvantul farmaceutic cerut. Specificația pentru formele de dozare unitare noi ale prezentei invenții este dictată și direct dependentă de:

(a) caracteristicile unice ale materialelor active și efectul terapeutic particular care se dorește obținut, și

(b) limitarea inherentă în domeniu a realizării unor astfel de materiale active în tratamentul bolii la diverși subiecți cu o condiție de boală în care sănătatea corporală este agravată așa cum s-a descris în detaliu.

Principalele ingrediente active sunt compuse pentru administrarea convențională și eficientă în cantități eficiente cu un adjuvant acceptabil farmaceutic adecvat, în formă unitară de dozare așa cum s-a descris mai înainte. O unitate de dozare pentru administrare parenterală poate, spre ex. să conțină compusul activ principal, adică un inhibitor, în cantități

cuprinse între 0,5 și 100 mg, de preferat între 0,1 și 50 mg. Dozele parenterale zilnice în cazul mamiferelor subiecți în tratament, sunt cuprinse între 0,01 și 10 mg/kg inhibitor. Doza zilnică preferată este cuprinsă între 0,1 și 1,0 mg/kg.

Pentru dozările orale, cantitatea zilnică poate fi cuprinsă între 0,01 și 100 mg compus activ/kg de subiect mamifer de preferat 0,1 până la 10 mg/kg subiect.

Inhibitorul descris mai sus poate forma săruri acceptabile farmaceutic, cunoscute în mod obișnuit, cum ar fi săruri ale metalelor alcaline și alte săruri bazice obișnuite sau săruri acide etc. Referirile la substanțele bazice includ, astfel acele săruri obișnuite, cunoscute a fi substanțial echivalente compusului parental și hidraților acestuia.

Compușii activi descriși aici sunt capabili să formeze ulterior atât săruri acide cât și bazice, ambele acceptabile farmaceutic. Toate aceste forme sunt incluse în scopul prezentei invenții.

Sărurile de adiție acidă acceptabile farmaceutic ale compușilor activi includ săruri derivate de la acizi anorganici netoxici cum ar fi clorhidric, azotic, fosforic, sulfuric, bromhidric, iodhidric, fluorhidric, fosforos și similari, ca și sărurile derivate de la acizi organici netoxici, cum ar fi acizii alifatici mono- și dicarboxilici, acizii alcanici fenil substituiți, acizii hidroxi alcanici, acizii alcandioici, acizii aromatici, acizii sulfonici alifatici și aromatici etc. Astfel de săruri includ sulfat, piro-sulfat, bisulfat, sulfit, bisulfit, azotat, fosfat, monofosfat, bifosfat, metafosfat, pirofosfat, clorură, bromură, iodură, acetat, trifluoracetat, propionat, caprilat, isobutirat, oxalat, malonat, succinat, suberat, sebacat, fumarat, maleat, mandelat, benzoat, clorbenzoat, metilbenzoat, dinitrobenzoat, ftalat, benzensulfonat, toluensulfonat, fenilacetat, citrat, lactat, maleat, tartrat, metansulfonat și similari. Sunt luate în considerare și săruri ale aminoacizilor, cum ar fi arginatul și similari, și gluconatul, galacturonatul (a se vedea spre ex. Berge, S.M. et al. *Pharmaceutical Salts*, *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, p. 1-19 (1977)).

Sărurile de adiție acide ale compușilor bazici enumerați sunt preparate prin punere în contact a formei bazice libere cu o cantitate suficientă din acidul dorit pentru producerea sării în manieră convențională. De preferință, un compus activ poate fi convertit într-o sare acidă prin tratarea cu o soluție apoasă a acidului dorit, astfel încât pH-ul rezultat să fie mai mic de 4. Soluția poate fi trecută printr-un cartuș de C18 pentru absorbția compusului, spălată cu multă apă, compusul eluat cu un solvent organic polar cum ar fi, spre ex. metanol, acetonitril și similari, și izolat prin concentrare sub presiune redusă, urmată de liofilizare. Forma bazică liberă poate fi regenerată prin punerea în contact a formei de sare cu o bază și izolarea bazei libere în maniera convențională. Formele bazice libere diferă de formele lor de sare corespunzătoare în unele dintre proprietățile fizice cum ar fi solubilitatea în solvenți polari, dar altfel, sărurile sunt echivalente bazelor libere corespunzătoare în ceea ce privește scopurile prezentei invenții.

Sărurile bazice acceptabile farmaceutic se formează cu metale sau amine, cum ar fi metalele alcaline și alcalinopământoase sau aminele organice.

Exemple de metale utilizate drept cationi sunt: sodiu, potasiu, magneziu, calciu și alții. Exemple de amine sunt: N,N'-dibenziletildiamină, clorprocaină, colină, dietanolamină, dicitlohexilamină, etildiamină, N-metilglucamină și procaină (a se vedea, spre ex. Berge, S.M. et al. *Pharmaceutical Salts*, *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, p. 1-19 (1977)).

Sărurile bazice ale compușilor acizi menționați sunt preparate prin punerea în contact a formei acide libere cu o cantitate suficientă din baza dorită pentru producerea sării într-o manieră obișnuită.

Preferabil, un compus activ poate fi transformat într-o sare bazică prin tratarea cu o soluție apoasă a bazei dorite, așa încât pH-ul rezultat să fie mai mare de 9. Soluția poate fi trecută printr-un cartuș de C18 pentru absorbția compusului, spălată cu cantități mari de apă, compusul eluat cu un solvent organic polar cum ar fi: metanol, acetonitril și alții, și izolat prin concentrare sub presiune redusă urmată de liofilizare. Forma acidă liberă poate fi regenerată prin punerea în contact a formei de sare cu un acid și izolarea acidului liber în manieră obișnuită. Formele acide libere diferă de formele lor de sare corespunzătoare în oarecare măsură în proprietățile lor fizice cum ar fi solubilitatea în solvenți polari, dar altminteri, sărurile sunt echivalente acizilor lor liberi în ceea ce privește scopurile prezentei invenții.

Unii dintre compușii prezentei invenții pot exista în forme nedizolvate la fel de bine ca și în forme solvate, incluzând formele hidratate. În general, formele dizolvate, inclusiv formele hidratate sunt echivalente formelor nedizolvate și se presupune că sunt incluse în scopul prezentei invenții.

Unii dintre compușii prezentei invenții posedă unul sau mai mulți centri chirality și un asemenea centru poate exista în configurație R(D) sau S(L). Prezenta invenție include toate formele enantiomere și epimere ca și amestecurile acestora.

Dacă formele prezentei invenții constituie formele preferate, sunt posibile încă multe altele. Nu se intenționează aici menționarea tuturor formelor echivalente posibile sau a ramificațiilor invenției. Se înțelege că termenii utilizați aici sunt mai degrabă descriptivi decât limitativi și că pot fi făcute diferite modificări fără îndepărtarea de spiritul sau de scopul prezentei invenții.