

(12) **PŘEKLAD EVROPSKÉHO
PATENTOVÉHO SPISU**

(10)
CZ/EP 2 331 547 T3

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYŠLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

- (96) Datum podání evropské přihlášky: **20.08.2009**
(96) Číslo evropské přihlášky: **EP 09782051.8**
(97) Datum zveřejnění evropské přihlášky: **25.02.2010**
(97) Číslo evropského patentu: **EP 2331547**
(97) Datum oznámení o udělení evropského patentu: **30.07.2014**
(30) Právo přednosti:
22.08.2008 US 91037 P
(86) PCT číslo: **PCT/EP2009/060793**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2010/020675**
(47) Datum zveřejnění překladu evropského patentového spisu: **17.12.2014**
(Věstník č. 51/2014)

(51) Int. Cl.:

C 07 D 487/04 (2006.01)
A 61 K 31/519 (2006.01)
A 61 P 35/00 (2006.01)

(73) Majitel patentu:

Novartis AG, 4056 Basel, CH
Astex Therapeutics Ltd., Cambridge CB4 0QA, GB

(72) Původce:

BESONG, Gilbert, Cambridge CB4 0QA, GB
BRAIN, Christopher Thomas, Cambridge, Massachusetts 02139, US
BROOKS, Clinton A., Smyrna
Georgia 30080, US
CONGREVE, Miles Stuart, Cambridge CB4 0QA, GB
DAGOSTIN, Claudio, Cambridge CB4 0QA, GB
HE, Guo, Cambridge, Massachusetts 02139, US
HOU, Ying, Cambridge, Massachusetts 02139, US
HOWARD, Steven, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, GB
LI, Yue, Pudong New Area Shanghai 201203, CN
LU, Yipin, Cambridge, Massachusetts 02139, US
MORTENSON, Paul, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, GB
SMITH, Troy, Cambridge, Massachusetts 02139, US
SUNG, Moo, Cambridge, Massachusetts 02139, US
WOODHEAD, Steven, Milton Road, Cambridge CB4 0QA, GB
WRONA, Wojciech, Cambridge, Massachusetts 02139, US
LAGU, Bharat, Cambridge, MA 02139, US

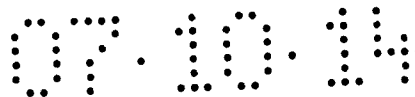
(74) Zástupce:

TRAPLOVÁ HAKR KUBÁT
Advokátní a patentová kancelář, Ing. Jan Kubát, Přístavní 24, 170 00 Praha 7

(54) Název vynálezu:

Pyrrolopyrimidinové sloučeniny a jejich použití

CZ/EP 2 331 547 T3

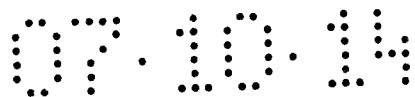


Pozadí vynálezu

Hledání nových terapeutických činidel bylo v nedávných letech velmi usnadněno lepší znalostí struktury enzymů a jiných biomolekul, souvisejících s onemocněními. Jednou z důležitých skupin enzymů, které byly extenzivně studovány, jsou proteinkinázy.

Proteinkinázy představují velkou rodinu strukturně podobných enzymů, které jsou odpovědné za řízení různých pochodů přenosu signálu v buňce (Hardie, G. a Hanks, S. The Protein Kinase Facts Book, I and II, Academic Press, San Diego, Calif.: 1995). Má se za to, že proteinkinázy se vyvinuly ze společného původního genu kvůli zachování jejich struktury a katalytické funkce. Téměř všechny kinázy obsahují podobnou katalytickou doménu o 250-300 aminokyselinách. Kinázy je možno rozdělit na rodiny podle substrátů, které fosforylují (například protein-tyrosin, protein-serin/threonin, lipidy, atd.). Byly identifikovány sekvenční motivy, které obecně odpovídají každé z těchto kinázových rodin (viz například Hanks, S. K., Hunter, T., FASEB J. 1995, 9, 576-596; Knighton a spol., Science 1991, 253, 407-414; Hiles a spol., Cell 1992, 70, 419-429; Kunz a spol., Cell 1993, 73, 585-596; Garcia-Bustos a spol., EMBO J. 1994, 13, 2352-2361).

Proteinkinázy obecně zprostředkovávají intracelulární signalizaci tím, že ovlivňují transfer fosforylu z nukleosid-trifosfátu na proteinový akceptor, který se účastní signální dráhy. Tyto fosforylační události působí jako molekulární "on/off" přepínače, které mohou modulovat nebo regulovat biologickou funkci cílového proteinu. Tyto fosforylační události jsou nakonec spuštěny jako důsledek různých extracelulárních i jiných stimulů. Jako příklady takových stimulů je možno uvést signály environmentálního a chemického stresu (například osmotický šok, tepelný šok, ultrafialové záření, bakteriální endotoxin a H_2O_2), cytokiny (například interleukin-1 (IL-1) a nádorový nekrotický faktor α (TNF- α)), a růstové faktory (například faktor stimulující granulocyto-makrofágové kolonie (GM-CSF) a fibroblastový růstový faktor (FGF)). Extracelulární stimul může ovlivnit jednu nebo více buněčných odpovědí, spojených s růstem buňky, migrací, diferenciací, sekrecí hormonů, aktivací transkripčních faktorů, svalovou kontrakcí, metabolismem glukosy, řízením syntézy proteinů a regulací buněčného cyklu. Mnoho onemocnění souvisí s abnormální buněčnou odpovědí, spuštěnou proteinkinázami zprostředkovanými událostmi, jak uvedeno výše. Tato onemocnění zahrnují, aniž by výčet byl omezující, autoimunitní onemocnění, zánětlivá onemocnění, kostní onemocnění, metabolická onemocnění, neurologická a

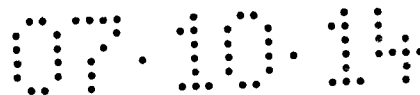


neurodegenerativní onemocnění, rakovinu, kardiovaskulární onemocnění, alergie a astma, Alzheimerovu chorobu a hormonální onemocnění. V oboru medicíně byla proto vyvinuta velké úsilí nalézt inhibitory proteinkináz, účinné jako terapeutická činidla.

Iniciace, progresse a dokončení buněčného cyklu u savců jsou regulovány různými komplexy cyklin-dependentních kináz (CDK), které jsou kritické pro růst buněk. Tyto komplexy zahrnují přinejmenším katalytickou (samotnou CDK) a regulační (cyklinovou) podjednotku. Mezi některé z důležitějších komplexů pro regulaci buněčného cyklu patří cyklin A (CDK1- rovněž známý jako cdc2, a CDK2), cyklin B1-B3 (CDK1) a cyklin D1-D3 (CDK2, CDK4, CDK5, CDK6), cyklin E (CDK2). Každý z těchto komplexů se účastní určité fáze buněčného cyklu. Nicméně, ne všichni členové rodiny CDK se účastní pouze řízení buněčného cyklu. Tak například kinázy CDK 7, 8 a 9 se účastní řízení transkripce a CDK5 hraje určitou úlohu v neuronální a sekreční funkci buňky.

Aktivita kináz CDK je regulována postranlačně, a to přechodnými asociacemi s jinými proteiny a změnami jejich intracelulární lokalizace. Vývoj nádorů je úzce spjat s genetickou změnou a deregulací CDK a jejich regulátorů, což naznačuje, že inhibitory CDK mohou být použitelná protirakovinová terapeutika. Počáteční výsledky skutečně naznačují, že transformované a normální buňky se liší v nárocích například na cyklin A/CDK2 a že může být možné vyvinout nová antineoplastická činidla, která nejsou obecně vůči hostiteli toxická, jako je tomu u konvenčních cytotoxických a cytostatických léčiv. Zatímco inhibice CDK, souvisejících s buněčným cyklem, je jasně relevantní například u onkologických aplikací, nemusí tomu tak být u inhibice CDK, regulujících RNA polymerázu. Na druhé straně, inhibice funkce CDK9/cyklin T je v současnosti spojována se zabráněním replikace HIV, a objevem nové biologie CDK tak pokračuje otevírání nových terapeutických indikací pro inhibitory CDK (Sausville, E. A., Trends Molec. Med. 2002, 8, S32-S37).

Funkcí kináz CDK je fosforylovat a tím aktivovat nebo deaktivovat určité proteiny, včetně například retinoblastomových proteinů, laminu, histonu H1 a složek mitotického vřetenka. Katalytický krok, zprostředkovaný kinázami CDK, zahrnuje reakci přenosu fosfátové skupiny z ATP na makromolekulární enzymový substrát. Bylo nalezeno několik skupin sloučenin (přehled např.: Fischer, P.M., Curr. Opin. Drug Discovery Dev. 2001,4, 623-634), majících antiproliferativní vlastnosti v důsledku CDK-specifického ATP-antagonizmu.



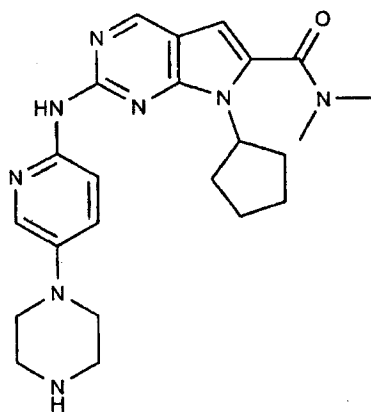
Na molekulární úrovni zprostředkování aktivity komplexu cdk/cyklin vyžaduje řadu stimulačních a inhibičních, fosforylačních nebo defosforylačních událostí. Fosforylace cdk probíhá působením skupiny cdk aktivujících kináz (CAK) a/nebo kináz jako jsou wee1, Myt1 a Mik1. Defosforylace probíhá působením fosfatáz, jako jsou cdc25(a & c), pp2a nebo KAP. Aktivitu komplexu cdk/cyklin je dále možno regulovat dvěma rodinami endogenních buněčných proteinových inhibitorů: rodinou Kip/Cip nebo rodinou INK. Proteiny INK specificky váží cdk4 a cdk6. Protein p16^{ink4} (rovněž známý jako MTS 1) je potenciální nádor potlačující gen, který je mutován nebo deletován ve velkém množství primárních rakovin. Rodina Kip/Cip obsahuje proteiny jako p21^{Cip1,Waf1}, p27^{Kip1} a p57^{kip2}. Jak je zmíněno výše, p21 je indukován p53 a je schopen inaktivovat komplexy cdk2/cyklin(E/A) a cdk4/cyklin(D1/D2/D3). Atypicky nízká úroveň exprese p27 byla pozorována u rakoviny prsu, tlustého střeva a prostaty. Naproti tomu bylo zjištěno, že nadměrná exprese cyklinu E v solidních nádorech koreluje se špatnou prognózou pacientů. Nadměrná exprese cyklinu D1 je spojována s karcinomy jícnu, prsu, skvamózním karcinomem a nemalobuněčným karcinomem plic.

Klíčové role kináz cdk a jejich asociovaných proteinů při koordinaci a řízení buněčného cyklu v proliferujících buňkách jsou zmíněny výše. Byly rovněž popsány některé biochemické dráhy, při kterých cdk hrají klíčovou roli. Vývoj monoterapií pro léčbu proliferativních poruch, jako jsou rakoviny, za použití terapeutik, která jsou genericky cílena na cdk, nebo na specifické cdk, je proto potenciálně velmi žádoucí. Inhibitory cdk by se rovněž případně mohly použít i pro léčbu jiných stavů, jako jsou mezi jiným virové infekce, autoimunitní onemocnění a neurodegenerativní onemocnění. Terapeutické přípravky, cílené na cdk, mohou také poskytovat klinické výhody při léčbě výše uvedených onemocnění při použití v kombinační terapii, ať již s existujícími nebo novými terapeutickými látkami. Protirakovinové terapie, cílené na cdk, by případně mohly být výhodnější než mnoho stávajících protirakovinových látek, protože by přímo neinteragovaly s DNA a měly by proto snižovat riziko vývoje sekundárních nádorů.

Stále tedy existuje potřeba nalézat nová terapeutická látky pro terapii humánních onemocnění. V souladu s uvedeným je proto velmi nutné vyvíjet inhibitory proteinkináz jako jsou CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 a CDK9.

Souhrn vynálezu

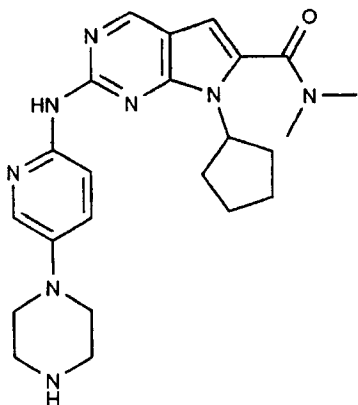
Existuje stále potřeba nových postupů a terapií pro poruchy, související s proteinkinázami. Rovněž existuje potřeba sloučenin, použitelných při terapii nebo prevenci nebo zmírnění jednoho nebo více symptomů rakoviny, odmítání štěpu a autoimunitních onemocnění. Dále jsou žádoucí metody pro modulaci aktivity proteinkináz, jako jsou CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 a CDK9, za použití zde poskytnutých sloučenin podle vynálezu. V jednom z aspektů předložený vynález poskytuje sloučeninu, kterou je dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové následujícího vzorce:



nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

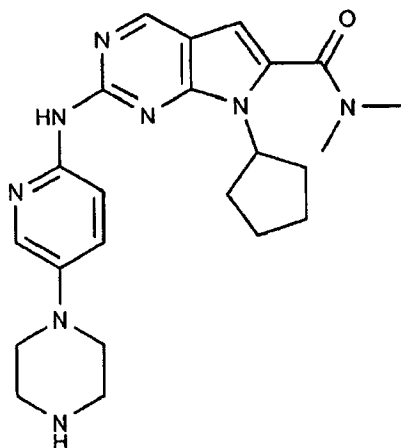
Podrobný popis vynálezu

Předložený vynález zahrnuje sloučeninu dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové následujícího vzorce:



nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl.

Předložený vynález dále zahrnuje sloučeninu dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové, mající následující vzorec:



V jednom z provedení předložený vynález zahrnuje sloučeninu podle vynálezu pro použití v profylaxi nebo terapii chorobného stavu, jak je zde popsán.

V jiném provedení předložený vynález zahrnuje použití sloučeniny podle vynálezu pro výrobu léčiva, přičemž toto léčivo je pro kterékoliv jedno nebo více ze zde definovaných použití.

V jiném provedení předložený vynález zahrnuje farmaceutickou kompozici, která obsahuje sloučeninu podle vynálezu a farmaceuticky přijatelný nosič.

V jiném provedení předložený vynález zahrnuje farmaceutickou kompozici, která obsahuje sloučeninu podle vynálezu a farmaceuticky přijatelný nosič ve formě vhodné pro orální podání.

Výraz "farmaceuticky přijatelný" znamená molekulární entity a kompozice, které jsou fyziologicky tolerovatelné a typicky při podání člověku nezpůsobují alergickou nebo podobně nežádoucí reakci, jako je porucha trávení, závratě a podobně. Výraz "farmaceuticky přijatelný", jak je zde použit, s výhodou znamená, že dotyčný subjekt je schválen kontrolní agenturou federální nebo státní vlády, nebo je uveden v U.S. lékopisu nebo v jiném obecně uznávaném lékopisu pro použití u zvířat, a zvláště u člověka.



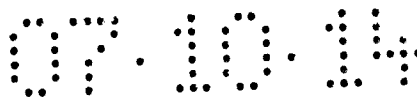
Výraz "nosič" znamená ředidlo, adjuvans, excipient nebo vehikulum, se kterým je sloučenina podávána. Takovými farmaceutickými nosiči mohou být sterilní kapaliny, jako voda a oleje, včetně olejů z ropy, živočišných, rostlinných nebo syntetických olejů, jako jsou arašídový olej, sójový olej, minerální olej, sezamový olej a podobně. Jako nosiče, zvláště pro injekční roztoky, je s výhodou používána voda nebo vodné fyziologické roztoky a vodné roztoky dextrosy a glycerolu. Vhodné farmaceutické nosiče jsou popsány E. W. Martinem v publikaci "Remington's Pharmaceutical Sciences".

Výraz "terapeuticky účinné množství", jak je zde použito, znamená množství, které postačuje ke snížení o přinejmenším 15 procent, s výhodou o přinejmenším 50 procent, ještě výhodněji o přinejmenším 90 procent, a nejvýhodněji k prevenci, klinicky významného deficitu v aktivitě, funkci a odpovědi pacienta. Alternativně terapeuticky účinné množství znamená množství, které postačuje k tomu, aby u pacienta vyvolalo zlepšení klinicky významného stavu nebo symptomu.

Výraz "činidlo" znamená všechny materiály, které je možno použít k přípravě farmaceutických a diagnostických kompozic, nebo to mohou být sloučeniny, nukleové kyseliny, polypeptidy, fragmenty, izoformy, varianty nebo jiné materiály, které mohou být nezávisle použity pro takové účely, všechny v souladu s předloženým vynálezem.

Výraz "analog", jak je zde použito, znamená malou organickou sloučeninu, nukleotid, protein nebo polypeptid s podobnou nebo identickou aktivitou nebo funkcí (funkcemi) jako sloučenina, nukleotid, protein nebo polypeptid nebo sloučenina podle předloženého vynálezu, která má žádanou aktivitu a terapeutický účinek (například inhibici růstu nádoru), avšak nemusí nutně obsahovat sekvenci nebo strukturu, která je podobná nebo identická jako sekvence nebo struktura preferovaného provedení.

Výraz "derivát" znamená buďto sloučeninu, protein nebo polypeptid, který obsahuje aminokyselinovou sekvenci matečného proteinu nebo polypeptidu, který byl změněn zavedením náhradních aminokyselinových zbytků, delecí nebo přídavky, nebo znamená nukleovou kyselinu nebo nukleotid, který byl modifikován buďto zavedením náhradních nukleotidů nebo delecí, přídavky nebo mutacemi. Deriváty nukleové kyseliny, nukleotidu, proteinu nebo polypeptidu mají podobnou nebo identickou funkci jako matečný polypeptid.



Předložený vynález zahrnuje všechny farmaceuticky přijatelné izotopicky značené sloučeniny podle vynálezu, ve kterých jeden nebo více atomů je nahrazeno atomy o stejném atomovém čísle, avšak o atomové hmotě nebo hmotovém čísle jiném než je atomová hmotnost nebo hmotové číslo, obvykle se přirozeně vyskytující.

Příklady izotopů, které jsou vhodné pro inkorporaci do sloučenin podle vynálezu, zahrnují izotopy vodíku, jako jsou ^2H a ^3H , uhlíku jako jsou ^{11}C , ^{13}C a ^{14}C , chloru jako je ^{36}Cl , fluoru jako je ^{18}F , jodu jako jsou ^{123}I a ^{125}I , dusíku jako jsou ^{13}N a ^{15}N , kyslíku jako jsou ^{15}O , ^{17}O a ^{18}O , fosforu jako je ^{32}P , a síry jako je ^{35}S .

Určité izotopicky značené sloučeniny, například takové, které mají inkorporovaný radioaktivní izotop, jsou užitečné pro studium distribuce léku a/nebo substrátové tkáně. Radioaktivní izotopy tritium, t.j. ^3H , a 14-uhlík, t.j. ^{14}C , jsou pro tento účel obzvláště vhodné, neboť je lze snadno inkorporovat i detekovat.

Substituce těžšími izotopy, jako je deuterium, t.j. ^2H , může přinést i určité terapeutické výhody, plynoucí z větší metabolické stability, například delší *in vivo* poločas nebo nižší nutné dávkování, a tudíž může být za některých okolností preferována.

Substituce izotopy, které emitují pozitrony, jako jsou ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O a ^{13}N , může být výhodná při studiích pomocí pozitronové emisní tomografie (PET), použité při studiu obsazení receptoru substrátu.

Izotopicky značené sloučeniny podle předloženého vynálezu se obecně mohou připravit obvyklými postupy, které jsou odborníkům v oboru známy, nebo postupy, které jsou analogické postupům, popsaným v doprovázejících příkladech a přípravách, za použití příslušných izotopicky značených reaktantů místo dříve použitých reaktantů neznačených.



Biologická aktivita

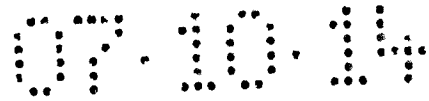
Zde popsané sloučeniny jsou inhibitory cyklin-dependentních kináz. Tak například sloučenina podle vynálezu je inhibitorem cyklin-dependentních kináz, a zvláště cyklin-dependentních kináz, zvolených z CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6 a CDK9, a výhodněji zvolených z CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5 a CDK9.

Zde popsané sloučeniny jsou rovněž aktivní vůči glykogen syntáze kináze-3 (GSK-3). Protože jsou aktivní při modulaci nebo inhibici CDK a glykogen syntázy kinázy, dá se očekávat, že se budou moci použít pro získání prostředků pro zastavení nebo znovuzískání kontroly buněčného cyklu v abnormálně se dělících buňkách. Předpokládá se proto, že tyto sloučeniny budou užitečné při terapii nebo prevenci proliferativních poruch, jako jsou rakoviny. Rovněž se předpokládá, že tyto sloučeniny budou užitečné při terapii chorobných stavů, jako jsou virové infekce, diabetes typu II nebo non-inzulindependentní diabetes mellitus, autoimunitní onemocnění, traumata hlavy, mrtvice, epilepsie, neurodegenerativní onemocnění jako je Alzheimerova choroba, onemocnění motorických neuronů, progresivní supranukleární obrna, kortikobazální degenerace a Pickova nemoc, například autoimunitní onemocnění a neurodegenerativní onemocnění.

Jedna podskupina onemocnění a chorobných stavů, u které se předpokládá, že sloučeniny budou použitelné, zahrnuje virové infekce, autoimunitní onemocnění a neurodegenerativní onemocnění.

Kinázy CDK hrají roli v regulaci buněčného cyklu, apoptózy, transkripce, diferenciaci a funkce CNS. Inhibitory CDK by mohly být použitelné při terapii onemocnění, u kterých existuje porucha proliferace, apoptózy nebo diferenciaci, jako je rakovina. Konkrétně nádory RB+ve mohou být vůči inhibitorům CDK zvláště citlivé. To zahrnuje nádory, nesoucí mutace v ras, Raf, receptorech růstového faktoru, nebo nadměrnou expresi receptorů růstového faktoru. Citlivost mohou dále vykazovat i nádory s hypermethylovanými promotérovými oblastmi CDK, jakož i nádory s nadměrnou expresí cyklinových partnerů cyklin-dependentních kináz. Vůči inhibitorům CDK mohou být citlivé rovněž nádory RB-ve.

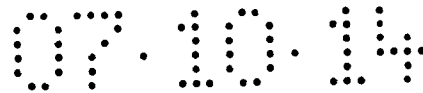
Příklady rakovin, které mohou být inhibovány, zahrnují, aniž by výčet byl omezující, karcinomy, například karcinom močového měchýře, prsu, tlustého střeva (například



kolorektální karcinomy, jako je adenokarcinom tlustého střeva a adenom tlustého střeva), karcinom ledvin, epidermální karcinom, karcinom jater, plic, například adenokarcinom, malobuněčný plicní karcinom a nemalobuněčný plicní karcinom, karcinom jícnu, žlučníku, vaječníků, pankreatu, například exokrinní karcinom pankreatu, karcinom žaludku, hrdla děložního, štítné žlázy, nosu, hlavy a krku, karcinom prostaty nebo karcinom kůže, například karcinom skvamózních buněk; hematopoetický nádor lymfoidní linie, například leukémie, akutní lymfocytární leukémie, chronická lymfocytární leukémie, lymfom B-buněk (jako je difuzní B-velkobuněčný lymfom), lymfom T-buněk, mnohočetný lymfom, Hodgkinův lymfom, ne-Hodgkinův lymfom, vlasatobuněčný lymfom nebo Burkettův lymfom; hematopoetický nádor myeloidní linie, například akutní a chronická myelogenní leukémie, myelodysplastický syndrom nebo promyelocytární leukémie; folikulární karcinom štítné žlázy; nádory mezenchymálního původu, například fibrosarkom nebo habdomyosarkom; nádory centrální nebo periferní nervové soustavy, například astrocytom, neuroblastom, gliom nebo schwannom; melanom; seminom; teratokarcinom; osteosarkom; xeroderma pigmentosum; keratoakantom; folikulární karcinom štítné žlázy; nebo Kaposiho sarkom.

Rakoviny mohou být takové, které jsou citlivé vůči inhibici jedné nebo více cyklin-dependentních kináz, zvolených z CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5 a CDK6, například jedné nebo více kináz CDK, zvolených z CDK1, CDK2, CDK4 a CDK5, například CDK1 a/nebo CDK2. Zda konkrétní rakovina je nebo není citlivá vůči inhibitoru cyklin-dependentní kinázy, je možno určit za použití testu růstu buněk, jak je popsán níže v příkladech, nebo metodou v oddílu "Diagnostické metody".

Je známo, že CDK rovněž hrají roli v apoptóze, proliferaci, diferenciaci a transkripci, a proto inhibitory CDK by mohly být rovněž použitelné při terapii nerakovinových onemocnění, jako jsou: virové infekce, například herpetický virus, virus neštovic, Epsteinův-Barrův virus, virus Sindbis, adenovirus, HIV, HPV, HCV a HCMV; vývoj AIDS u HIV-infikovaných jedinců (prevence); chronická zánětlivá onemocnění jako je například systémický lupus erythematosus, autoimunitní glomerulonefritida, revmatická artritida, lupénka, zánětlivé onemocnění střeva a autoimunitní diabetes mellitus; kardiovaskulární onemocnění jako jsou například srdeční hypertrofie, restenóza, ateroskleróza; neurodegenerativní poruchy jako jsou například Alzheimerova choroba, demence spojená s AIDS, Parkinsonova choroba, amyotrofická laterální skleróza, retinitis pigmentosa, spinální



svalová atrofie a cerebelární degenerace; glomerulonefritida; myelodysplastické syndromy, ischemické poškození související s infarkty myokardu, mrtvice a reperfuční poškození, arytmie, ateroskleróza, jaterní onemocnění způsobená toxiny nebo alkoholem, hematologická onemocnění, například chronická anémie a aplastická anémie; degenerativní onemocnění muskuloskeletálního systému jako například osteoporóza a artritida, aspirin-senzitivní rinosinitida, cystická fibróza, roztroušená skleróza, onemocnění ledvin, oční onemocnění včetně stářím podmíněné makulární degenerace, uveitida a rakovinové bolesti.

Bylo rovněž zjištěno, že některé inhibitory cyklin-dependentních kináz je možno používat v kombinaci s jinými protirakovinovými látkami. Tak například flavopiridol, který je inhibitorem cyklin-dependentní kinázy, se používá s jinými protirakovinovými látkami v kombinační terapii.

U předmětných farmaceutických kompozic, použití nebo metod terapie onemocnění nebo chorobného stavu, zahrnujícího abnormální růst buněk, tímto onemocněním nebo chorobným stavem zahrnujícím abnormální růst buněk, je v jednom z provedení rakovina.

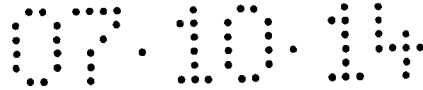
Jedna skupina rakovin zahrnuje humánní rakoviny prsu (například primární nádory prsu, node-negativní rakovinu prsu, invazivní duktální adenokarcinomy prsu, non-endometrioidní rakoviny prsu); a lymfomy z plášťových buněk. Vedle toho jsou dalšími rakovinami kolorektální a endometriální rakoviny.

Jiná podskupina rakovin zahrnuje hematopoetické nádory lymfoidní linie, například leukémii, chronickou lymfocytární leukémii, lymfom plášťových buněk a lymfom B-buněk (jako je difuzní B-velkobuněčný lymfom).

Jednou konkrétní rakovinou je chronická lymfocytární leukémie.

Jinou konkrétní rakovinou je lymfom plášťových buněk.

Jinou konkrétní rakovinou je difuzní B-velkobuněčný lymfom.



Jiná podskupina rakovin zahrnuje rakovinu prsu, rakovinu vaječníků, rakovinu tlustého střeva, rakovinu prostaty, rakovinu jícnu, skvamozní rakovinu a nemalobuněčné karcinomy plic.

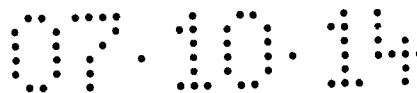
Jiná podskupina rakovin zahrnuje rakovinu prsu, rakovinu pankreatu, kolorektální rakovinu, rakovinu plic a melanom.

Další podskupina rakovin, tedy rakovin u kterých sloučeniny s inhibiční aktivitou vůči CDK4 mohou zvláště poskytnout terapeutický benefit, zahrnuje retinoblastomy, malobuněčné karcinomy plic, nemalobuněčné karcinomy plic, sarkomy, gliomy, rakoviny pankreatu, hlavy, krku a prsu, a lymfomy pláštěvých buněk.

Další podskupina rakovin, u kterých sloučeniny s inhibiční aktivitou vůči CDK4 mohou zvláště poskytnout terapeutický benefit, zahrnuje malobuněčnou rakovinu plic, nemalobuněčnou rakovinu plic, rakovinu pankreatu, rakovinu prsu, glioblastoma multiforme, T-buněčnou ALL a lymfom pláštěvých buněk. Další podskupina rakovin, u kterých by terapie sloučeninami podle vynálezu mohla být užitečná, zahrnuje sarkomy, leukémie, gliomy, familiární melanomy a melanomy.

Diagnostické metody

Před podáním sloučeniny podle vynálezu je nutno prověřit, zda onemocnění nebo chorobný stav, kterým pacient trpí nebo může trpět, je takové povahy, že bude reagovat na terapii sloučeninou, která je aktivní vůči cyklin-dependentním kinázám. Tak například biologický vzorek, odebraný pacientovi, se může podrobit analýze, aby se zjistilo zda chorobný stav nebo onemocnění jako je rakovina, kterým pacient trpí nebo může trpět, je charakterizováno genetickou abnormalitou nebo abnormální expresí proteinů, vedoucí k nadměrné aktivaci CDK nebo k senzitivizaci dráhy k normální aktivitě CDK. Příklady takových abnormalit, které vedou k aktivaci nebo senzitivizaci signálu CDK2, zahrnují upregulaci cyklinu E, (Harwell R.M., Mull B.B., Porter D.C., Keyomarsi K.; J. Biol. Chem. 2004, Mar 26;279(13): 12695-705), nebo ztrátu p21 nebo p27, nebo přítomnost variant CDC4 (Rajagopalan H., Jallepalli P.V., Rago C., Velculescu V.E., Kinzler K.W., Vogelstein B., Lengauer C.; Nature 2004 Mar 4; 428 (6978):77-81). Nádory s mutanty CDC4 nebo upregulací, zvláště nadměrnou expresí, cyklinu E, nebo ztrátou p21 nebo p27, mohou být vůči



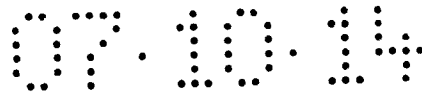
inhibitorům CDK zvláště citlivé. Výraz upregulace zahrnuje zvýšenou expresi nebo nadměrnou expresi, včetně genové amplifikace (t.j. mnohonásobných kopií genu) a zvýšené exprese transkripčním efektem, a hyperaktivitu a aktivaci, včetně aktivace mutacemi.

U pacienta tedy může být proveden diagnostický test, detekující marker, který je charakteristický pro upregulaci cyklinu E, nebo ztrátu p21 nebo p27, nebo přítomnost variant CDC4. Výraz diagnóza zahrnuje screening. Markerem rozumíme genetické markery, například měření složení DNA pro identifikaci mutací CDC4. Výraz marker rovněž zahrnuje markery, které jsou charakteristické pro upregulaci cyklinu E, a zahrnují enzymovou aktivitu, hladiny enzymu, stav enzymu (například zda je nebo není fosforylován) a hladiny mRNA zmíněných proteinů. Nádory s upregulací cyklinu E, nebo ztrátou p21 nebo p27 mohou být zvláště citlivé vůči inhibitorům CDK. Screening nádorů může být před aplikací zaměřen zvláště na upregulaci cyklinu E nebo na ztrátu p21 nebo p27. Pacient tedy může být podroben diagnostickému testu, detekujícímu marker, který je charakteristický pro upregulaci cyklinu E nebo pro ztrátu p21 nebo p27.

Diagnostické testy jsou typicky prováděny na biologickém vzorku, zvoleném ze vzorků biopsie nádoru, ze vzorků krve (izolace a obohacení uvolněných nádorových buněk), ze stolice, ze sputa, z analýzy chromosomů, pleurální tekutiny, peritoneální tekutiny nebo moči.

Bylo nalezeno (Rajagopalan a spol., Nature, 2004 Mar 4; 428 (6978): 77-81), že u humánních kolorektálních rakovin a endometriálních rakovin existují mutace v CDC4 (rovněž známé jako Fbw7 nebo Archipelago) (Spruck a spol., Cancer Res. 2002, Aug 15; 62 (16): 4535-9). Identifikace existence mutace CDC4 může znamenat, že pro pacienta by byla zvláště vhodná terapie podáním inhibitoru CDK. Nádory se před terapií mohou s výhodou testovat na přítomnost variant CDC4. Screening bude typicky zahrnovat přímé sekvenování, microarray mikročipovou analýzu oligonukleotidů nebo specifickou protilátku pro mutanta.

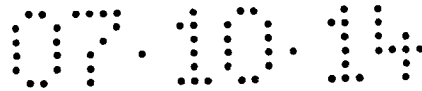
Metody identifikace a analýzy mutací a upregulace proteinů jsou odborníkovi v oboru dobře známy. Metody screeningu by mohly zahrnovat, aniž by výčet byl omezující, standardní metody, jako je reverzně transkripční polymerázová řetězová reakce (RT-PCR) nebo in-situ hybridizace.



Při screeningu za použití RT-PCR se úroveň mRNA v nádoru určí vytvořením cDNA kopie mRNA a následnou amplifikací cDNA za použití PCR. Metody amplifikace PCR i volba primerů a amplifikačních podmínek jsou odborníkovi v oboru známy. Manipulace s nukleovými kyselinami a PCR se provádějí standardními metodami, jak jsou například popsány v publikacích Ausubel, F.M. a spol., edit. *Current Protocols in Molecular Biology*, 2004, John Wiley & Sons Inc., nebo Innis, M.A. a spol., edit. *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, 1990, Academic Press, San Diego. Reakce a manipulace, zahrnující techniky práce s nukleovými kyselinami, jsou popsány také v publikaci Sambrook a spol., 2001, 3. vyd., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Alternativně lze použít komerčně dostupnou soupravu pro RT-PCR (například Roche Molecular Biochemicals), nebo použít metodologii, popsanou v U.S patentových spisech 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659, 5,272,057, 5,882,864 a 6,218,529, na které se zde odkazujeme.

Příkladem *in situ* hybridizační techniky pro hodnocení exprese mRNA by byla fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) (viz Angerer, 1987 *Meth. Enzymol.*, 152: 649). *In situ* hybridizace obecně zahrnuje následující hlavní kroky: (1) fixaci analyzované tkáně; (2) předhybridizační ošetření vzorku, aby se zvýšila přístupnost cílové nukleové kyseliny a snížily se nespecifické vazby; (3) hybridizaci směsi nukleových kyselin na nukleovou kyselinu v biologické struktuře tkáně; (4) post-hybridizační promývání, aby se odstranily fragmenty nukleových kyselin, které nejsou v hybridizaci vázány, a (5) detekci hybridizovaných fragmentů nukleové kyseliny. Sondy, použité v takových aplikacích jsou typicky značené, například radioizotopy nebo fluorochromy. Preferované sondy jsou dostatečně dlouhé, například od přibližně 50, 100 nebo 200 nukleotidů do přibližně 1 000 nebo více nukleotidů, aby se umožnila specifická hybridizace s cílovou nukleovou kyselinou nebo kyselinami za striktních podmínek. Standardní metody provádění FISH jsou popsány v publikacích Ausubel, F.M. a spol., edit., *Current Protocols in Molecular Biology*, 2004, John Wiley & Sons Inc, a v publikaci "Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview", John M. S. Bartlett v *Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols*, 2. vyd.; ISBN: 1-59259-760-2; March 2004, str. 077-088; Series: *Methods in Molecular Medicine*.

Alternativně se proteinové produkty, exprimované z mRNA, mohou testovat imunohistochemií vzorků nádorů, imunoanalýzou na pevné fázi na mikrotitračních

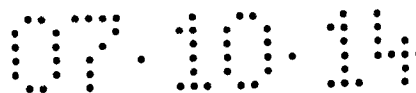


destičkách, Western blotováním, dvojrozměrnou elektroforézou na polyakrylamidovém gelu s SDS, metodou ELISA, průtokovou cytometrií i jinými metodami, které jsou v oboru známy pro detekci specifických proteinů. Detekční metody by zahrnovaly použití místně specifických protilátek. Odborníkovi bude zřejmé, že všechny takové dobře známé techniky pro detekci upregulace cyklinu E, nebo ztráty p21 nebo p27, nebo pro detekci variant CDC4, by se v tomto případě mohly aplikovat.

Všechny tyto techniky by se tedy mohly použít pro identifikaci nádorů, které jsou zvláště vhodné pro terapii podle předloženého vynálezu.

Nádory s mutanty CDC4 nebo s upregulací, zvláště s nadměrnou expresí, cyklinu E, nebo ztrátou p21 nebo p27, mohou být vůči inhibitorům CDK zvláště citlivé. U nádorů je před léčbou možno s výhodou provádět screening na upregulaci, zvláště na nadměrnou expresi, cyklinu E (Harwell R.M., Mull B.B., Porter D.C., Keyomarsi K.; *J. Biol. Chem.* 2004 Mar 26; 279(13): 12695-705) nebo na ztrátu p21 nebo p27, nebo na varianty CDC4 (Rajagopalan H., Jallepalli P.V., Rago C., Velculescu V.E., Kinzler K.W., Vogelstein B., Lengauer C.; *Nature* 2004 Mar 4; 428(6978): 77-81).

Pacienti s lymfomem z pláštěvých buněk (MCL) by mohli být vybíráni pro terapii sloučeninou podle vynálezu za použití zde zmíněných diagnostických testů. MCL je výrazná klinickopatologická entita non-Hodgkinova lymfomu, která je charakterizována proliferací malých až středně velkých lymfocytů s koexpresí CD5 a CD20, s agresivním a nevléčitelným klinickým průběhem a často s translokací t(11;14)(q13;q32). Nadměrná exprese mRNA cyklinu D1, nalezená v lymfomu z pláštěvých buněk (MCL), je kritickým diagnostickým markerem. Yatabe a spol. (*Blood* 2000 Apr 1; 95(7): 2253-61) předpokládají, že test na cyklin D1 by měl být zahrnut do standardních kritérií pro MCL, a že na bázi těchto nových kritérií by se měla zkoumat netradiční terapie tohoto nevléčitelného onemocnění. Jones a spol. (*J. Mol. Diagn.* 2004 May; 6(2): 84-9) pro usnadnění diagnózy lymfomu z pláštěvých buněk (MCL) vyvinuli pro expresi cyklinu D1 (CCND1) kvantitativní reverzně transkripční PCR test v reálném čase. Howe a spol. (*Clin. Chem.* 2004 Jan; 50(1): 80-7) použili kvantitativní RT-PCR v reálném čase pro vyhodnocení exprese mRNA cyklinu D1 a našli, že kvantitativní RT-PCR pro mRNA cyklinu D1, normalizovaná na mRNA CD19, je možno použít při diagnóze MCL v krvi, v kostní dřeni a v tkáni. Alternativně se za použití

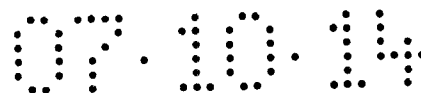


výše zmíněných diagnostických testů mohou pro terapii inhibítorem CDK vybírat pacienti s rakovinou prsu. Nádorové buňky obvykle nadměrně exprimují cyklin E a u rakoviny prsu byla nadměrná exprese cyklinu E zjištěna (Harwell a spol., Cancer Res., 2000, 60, 481-489). Rakovinu prsu je tedy možno léčit zvláště inhibitory CDK, jak jsou vynálezem poskytnuty.

Vedle toho je možno rakovinu analyzovat na ztrátu funkce *INK4a* a *RB* a na nadměrnou expresi cyklinu D1 nebo CDK4 nebo mutaci CDK4. Ztráta *RB* a mutace, inaktivující funkci $p16^{INK4a}$, nebo hypermethylace $p16^{INK4a}$ se objevují u mnoha typů nádorů. Inaktivace *Rb* je u 100 % retinoblastomů a u 90 % malobuněčných plicních karcinomů. Cyklin D1 je amplifikován u 40 % rakovin hlavy a krku, nadměrně exprimován u 50 % rakovin prsu a u 90% lymfomů z plášťových buněk. Delece *p16* je u 60 % nemalobuněčných plicních karcinomů a u 40 % rakovin pankreatu. Amplifikace CDK4 je u 20 % sarkomů a u 10 % gliomů. Události, které vedou k inaktivaci *RB* nebo $p16^{INK4a}$ v důsledku mutace, delece nebo epigenetického utlumení, nebo vedou k nadměrné expresi cyklinu D1 nebo *Cdk4*, je možno identifikovat za použití zde popsaných technik. Nádory s upregulací, zvláště s nadměrnou expresí cyklinu D nebo CDK4, nebo se ztrátou *INK4a* nebo *RB*, mohou být vůči inhibitorům CDK zvláště citlivé. U pacientů se tedy může provádět diagnostický test na marker, který je charakteristický pro nadměrnou expresi cyklinu D nebo CDK4 nebo pro ztrátu *INK4a* nebo *RB*.

K rakovinám, u kterých dochází ke ztrátě funkce *INK4a* a *RB* a k nadměrné expresi cyklinu D1 nebo CDK4, patří malobuněčná rakovina plic, nemalobuněčná rakovina plic, rakovina pankreatu, rakovina prsu, glioblastoma multiforme, T-buněčná ALL a lymfom plášťových buněk. Proto pacienti s malobuněčnou rakovinou plic, nemalobuněčnou rakovinou plic, rakovinou pankreatu, rakovinou prsu, s glioblastoma multiforme, s T-buněčnou ALL a s lymfomem plášťových buněk mohou být vybíráni pro terapii inhibítorem CDK za použití výše popsaných diagnostických testů, a zvláště mohou být léčeni inhibítorem CDK, jak je poskytnut v tomto vynálezu.

Pacienty se specifickými rakovinami, způsobenými aberacemi v signální dráze D-Cyklin-CDK4/6-INK4-Rb, by bylo možno najít za použití zde popsaných technik, a potom je léčit inhibítorem CDK4, jak je zde poskytnut. Mezi příklady abnormalit, které aktivují nebo senzitivizují nádory vůči signálu CDK4, patří aktivace receptoru například Her-2/Neu u



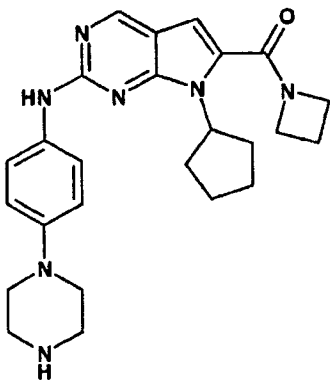
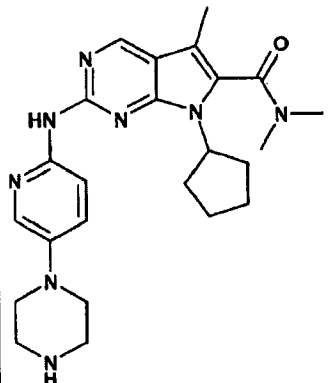
rakoviny prsu, mutace ras například u rakoviny pankreatu, kolorektální rakoviny nebo rakoviny plic, mutace raf například u melanomu, mutace p16 například u melanomu, delece p16 například u rakoviny plic, methylace p16 například u rakoviny plic, nebo nadměrná exprese cyklinu D například u rakoviny plic. Pacient by se tedy pro terapii sloučeninou podle vynálezu mohl vybírat podle zde popsaných diagnostických testů, které identifikují upregulaci dráhy D-Cyklin-CDK4/6-INK4-Rb, způsobenou například nadměrnou expresí cyklinu D, mutací CDK4, mutací nebo delecí pRb, delecí p16-INK4, mutací, delecí nebo methylací p16, nebo upstream aktivačními událostmi CDK4/6 kinázy, například mutacemi Ras nebo mutacemi Raf nebo hyperaktivními nebo nadměrně exprimovanými receptory jako Her-2 /Neu.

Sloučenina podle předloženého vynálezu je zvláště výhodná v tom, že je selektivním inhibítorem CDK4 oproti jiným cyklin-dependentním kinázám. Spis PCT/US2007/069595 genericky popisuje sloučeniny tohoto typu, avšak sloučenina podle nyní předloženého vynálezu vykazuje zvýšenou účinnost a selektivitu vůči CDK4 oproti jiným cyklin-dependentním kinázám. To je výhodné při vývoji léčiva, vhodného pro použití jako inhibitor CDK4.

Konkrétněji, a s ohledem na generickou aplikaci, následující sloučeniny (ze spisu PCT/US2007/069595) v tabulce 3 jsou chemotypem, který je podle současného stavu techniky nejbližší předloženému vynálezu:

TABULKA 3 (současný stav techniky)

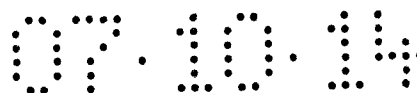
Sloučenina	Příklad číslo
	200

Sloučenina	Příklad číslo
	201
	202

Následující tabulka 4 ukazuje inhibici vůči relevantním cílům sloučenin podle současného stavu techniky v porovnání se sloučeninami podle předloženého vynálezu.

TABULKA 4

Sloučenina číslo	IC50 (μM)	Selektivita
200 (současný stav)	CDK4: 0,005 CDK1: >1,6 CDK2: >1,4	
201(současný stav)	CDK4: 0,11 CDK1: 7,5 CDK2: 10,3	
202 (současný stav)	CDK4: 2,5 CDK1: >15 CDK2: >15	
74, předložený vynález	CDK4: 0,01 CDK1: 113 CDK2: 76	vyšší než 11 000 násobná selektivní vůči CDK4

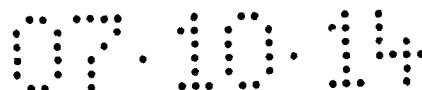


Sloučenina číslo	IC50 (μM)	Selektivita
* <u>63</u> , předložený vynález	CDK4: 0,008 CDK1: >15 CDK2: >15	
* <u>26</u> , předložený vynález	CDK4: 0,026 CDK1: >15 CDK2: >15	

*referenční příklad

Výborná selektivita sloučeniny podle předloženého vynálezu oproti jiným členům rodiny CDK a jiným kinázám znamená, že ve srovnání s jinými sloučeninami o nižší selektivitě by sloučenina podle vynálezu měla snížené vedlejší aktivity, a proto by riziko její nepředvídatelné toxicity v buňkách bylo menší. Jestliže porovnáme výsledky analýzy buněčného cyklu, provedené se sloučeninou podle předloženého vynálezu a například se sloučeninou 200 podle současného stavu techniky, je zřejmé, že zatímco sloučenina podle vynálezu udržuje výhradně zastavení v G1-fázi dokonce i v koncentracích 10 uM, sloučenina 200 počíná vyvolávat bloky G2/M fáze při koncentracích 1 a 10 uM, což je odrazem jejich necílových aktivit v koncentracích vyšších než 1uM. Navíc, inhibiční účinky inhibitoru CDK4 jsou absolutně závislé na přítomnosti retinoblastomového proteinu (pRb). Aktivity uvažovaných inhibitorů CDK4 v pRb-negativních buňkách naznačují, že tyto sloučeniny mají necílové a ne tak selektivní aktivity. V porovnání se sloučeninou podle předloženého vynálezu, která je inertní v pRb-negativních buňkách, sloučenina 200 skutečně inhibuje buněčnou proliferaci pRb-negativních buněk při vysokých koncentracích, což ilustruje její necílové aktivity.

Dále bylo nalezeno, že zatímco aktivita CDK4 není pro normální proliferaci fibroblastových buněk nutná, inhibice CDK1 je považována za nežádoucí efekt. Očekává se, že na rozdíl od sloučenin podle stávajícího stavu techniky budou mít sloučeniny podle vynálezu nižší cytotoxicitu při podávání zvířatům. Sloučenina podle vynálezu je proto lepší inhibitor CDK4 v porovnání s inhibitory se stejnými skelety o stejné účinnosti K4, avšak o nižší selektivitě vůči CDK nebo jiným kinázám, protože tato sloučenina by měla mít vyšší terapeutický index než sloučeniny méně selektivní.



Testy

Inhibici proteinkinázové aktivity sloučeninou podle vynálezu je možno měřit za použití mnoha testů, které jsou v oboru k dispozici. Příklady takových testů jsou popsány níže v příkladech provedení.

Farmaceutické kompozice

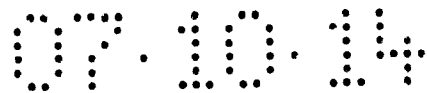
Výraz "účinné množství" sloučeniny je množství, které je nezbytné nebo postačující pro terapii nebo prevenci poruchy, související s proteinkinázou, například pro prevenci různých morfologických a somatických symptomů poruchy, související s proteinkinázou, a/nebo onemocnění nebo chorobného stavu, který je zde popsán. Tak například, účinným množstvím sloučeniny podle vynálezu je množství, které je postačující pro léčbu jedince, trpícího poruchou související s proteinkinázou. Účinné množství může být různé v závislosti na takových faktorech, jako je velikost a hmotnost jedince, na typu onemocnění nebo na konkrétní použité sloučenině podle vynálezu. Tak například volba sloučeniny podle vynálezu může ovlivnit to, co nazýváme "účinným množstvím". Odborník v oboru by byl schopen studovat zde uvedené faktory a bez velkého experimentování stanovit účinné množství sloučenin podle vynálezu.

Účinné množství může být ovlivňováno režimem podávání. Sloučeninu podle vynálezu je možno podávat jedinci buď před začátkem poruchy související s proteinkinázou, nebo po něm. Dále, může se podávat několik dělených dávek nebo několik střídavých dávek, denně nebo postupně, nebo lze dávku podávat kontinuálně infuzí, nebo ji lze podat bolus injekcí. Dále, dávky sloučeniny(sloučenin) podle vynálezu lze proporcionálně zvyšovat nebo snižovat podle požadavků terapeutické nebo profylaktické situace.

Sloučeninu podle vynálezu je možno použít pro terapii chorobných stavů, poruch nebo onemocnění, jak jsou zde popsány, nebo pro výrobu farmaceutických kompozic pro použití při terapii těchto onemocnění.

Výraz "farmaceutická kompozice" zahrnuje přípravky, vhodné pro podání savcům, například člověku. Když se sloučeniny podle předloženého vynálezu podávají jako léčiva savci, například člověku, mohou se podávat jako takové nebo jako farmaceutická kompozice, obsahující například 0,1 až 99,5 % (výhodněji 0,5 až 90 %) aktivní složky v kombinaci s farmaceuticky přijatelným nosičem.

Výraz "farmaceuticky přijatelný nosič" je v oboru běžný výraz a zahrnuje farmaceuticky přijatelný materiál, kompozici nebo vehikulum, vhodné pro podávání sloučenin

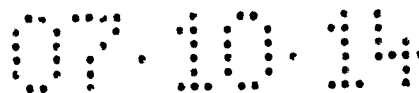


podle předloženého vynálezu savcům. Takové nosiče zahrnují kapalné nebo pevné plnivo, ředidlo, excipient, rozpouštědlo nebo enkapsulační materiál, účastnící se přenosu nebo transportu předmětného činidla z jednoho orgánu nebo části těla do jiného orgánu nebo části těla. Každý nosič musí být "přijatelný" v tom smyslu, že je kompatibilní s ostatními složkami formulace a neškodný pro pacienta. Některými příklady materiálů, které mohou sloužit jako farmaceuticky přijatelné nosiče, jsou následující látky: cukry jako je laktosa, glukosa a sacharosa; škroby jako je kukuřičný škrob a bramborový škrob; celulóza a její deriváty jako je sodná sůl karboxymethylcelulose, ethylcelulóza a acetát celulózy; práškový tragant; slad; želatina; mastek; excipienty jako je kakaové máslo a čípkové vosky; oleje jako je arašídový olej, bavlníkový olej, světlivový olej, sezamový olej, olivový olej, kukuřičný olej a sójový olej; glykoly jako je propylenglykol; polyoly jako je glycerin, sorbitol, mannitol a polyethylenglykol; estery jako je ethyleleát a ethyllaurát; agar; pufrý jako je hydroxid hořečnatý a hydroxid hlinitý; alginová kyselina; apyrogenní voda; izotonický fyziologický roztok; Ringerův roztok; ethylalkohol; roztoky fosfátových pufrů; a jiné netoxické kompatibilní látky, používané ve farmaceutických formulacích.

Kompozice mohou rovněž obsahovat smáčedla, emulgátory a lubrikanty jako jsou sodná sůl laurylsulfátu a stearát hořečnatý, jakož i barviva, rozvolňovací činidla, potahová činidla, sladidla, ochucovadla a parfemační látky, konzervanty a antioxidanty.

Příklady farmaceuticky přijatelných antioxidantů zahrnují: ve vodě rozpustné antioxidanty, jako je kyselina askorbová, cysteinhydrochlorid, bisulfát sodný, metabisulfid sodný, siřičitan sodný a podobně; v oleji rozpustné antioxidanty jako je askorbylpalmitát, butylovaný hydroxyanisol (BHA), butylovaný hydroxytoluen (BHT), lecitin, propylgallát, α -tokoferol, a podobně; a činidla, chelatující kovy, jako je kyselina citronová, kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA), sorbitol, kyselina vinná, kyselina fosforečná a podobně.

Formulace podle předloženého vynálezu zahrnují takové, které jsou vhodné pro orální, nasální, topickou, bukalní, sublingvální, rektální, vaginální a/nebo parenterální aplikaci. Tyto formulace mohou být s výhodou v jednotkové dávkové formě a mohou se připravit jakoukoliv z metod, které jsou ve farmaceutické praxi dobře známy. Množství aktivní složky, které lze spojit s materiálem nosiče aby se získala jednotková dávková forma, bude obecně takové množství sloučeniny, které vyvolá terapeutický efekt. Vedle sta procent se toto množství bude pohybovat v rozmezí od přibližně 1 procenta do přibližně devadesáti devíti procent aktivní složky, s výhodou od přibližně 5 procent do přibližně 70 procent, nejvýhodněji od přibližně 10 procent do přibližně 30 procent.



Metody přípravy těchto formulací nebo kompozic zahrnují krok spojení sloučeniny podle předloženého vynálezu s nosičem a popřípadě s jednou nebo více přísadami. Obecně se formulace připravují homogenním a důkladným smícháním sloučeniny podle předloženého vynálezu s kapalnými nosiči nebo s jemnými částicemi pevného nosiče, nebo s oběma, a pokud je to nutné, s následným formováním produktu.

Formulace podle vynálezu, vhodné pro orální aplikaci, mohou být ve formě tobolek, oplatek, pilulek, tablet, pastilek (za použití ochucené báze, obvykle sacharosy a arabské gummy nebo tragantu), prášků, granulí, nebo jako roztok nebo suspenze ve vodné nebo nevodné kapalině, nebo jako emulze olej ve vodě nebo voda v oleji, nebo jako elixír nebo sirup, nebo jako pastilky (s použitím inertní báze, jako je želatina a glycerin, nebo sacharosa a arabská guma) a/nebo jako ústní voda, a podobně, kde každá z forem jako aktivní složku obsahuje dané množství sloučeniny podle předloženého vynálezu. Sloučeninu podle předloženého vynálezu je také možno podávat jako bolus, lektvar nebo pastu.

V pevných dávkových formách podle vynálezu pro orální podání (tobolky, tablety, pilulky, dražé, prášky, granule, a podobně) se aktivní složka smíchá s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosiči, jako je citrát sodný nebo hydrogenfosforečnan vápenatý (dikalciumfosfát), a/nebo s kteroukoliv přísadou z následující množiny, kterou tvoří: plnidla nebo nastavovadla jako jsou škroby, laktosa, sacharosa, glukosa, mannitol, a/nebo kyselina křemičitá; pojiva jako jsou například karboxymethylcelulosa, algináty, želatina, polyvinylpyrrolidon, sacharosa a/nebo arabská guma; zvlhčovač jako glycerol; desintegrační činidla jako je agar-agar, uhličitan vápenatý, bramborový nebo tapiokový škrob, alginová kyselina, jisté silikáty a uhličitan sodný; zpomalovače rozpouštění jako je parafin; urychlovače absorpce jako jsou kvarterní amoniové sloučeniny; smáčedla jako například cetylalkohol a glycerolmonostearát; absorbenty jako kaolin a bentonitový jíl; lubrikanty jako mastek, stearát vápenatý, stearát hořečnatý, tuhé polyethylenglykoly, laurylsulfát sodný a jejich směsi; a barviva. V případě tobolek, tablet a pilulek mohou farmaceutické kompozice obsahovat také pufry. Pevné kompozice podobného typu je též možno použít jako náplně v měkkých i tvrdých želatinových tobolkách za použití takových excipientů jako jsou laktosa nebo mléčné cukry jakož i vysokomolekulární polyethylenglykoly a podobně.

Tablety se mohou připravovat lisováním nebo formováním, popřípadě s jednou nebo více provozními přísadami. Lisované tablety se mohou připravovat s použitím pojiva (například želatiny nebo hydroxypropylmethylcelulosity), lubrikantu, inertního ředidla, konzervantu, rozvolňovač (například sodná sůl škrobového glykolátu nebo sodná sůl



zesíťované karboxymethylcelulosity), povrchově aktivního činidla nebo dispergentu.

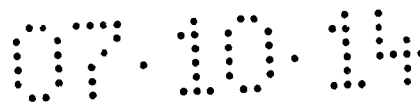
Formované tablety je možno připravovat tvarováním směsi práškové sloučeniny, zvlhčené inertním kapalným ředidlem za použití vhodného zařízení.

Tablety a jiné pevné dávkové formy farmaceutických kompozic podle předloženého vynálezu, jako jsou dražé, tobolky, pilulky a granule, se mohou popřípadě rýhovat nebo připravovat s potahy a plášti, jako jsou enterické a jiné potahy, které jsou odborníkům v oboru farmaceutického formulování dobře známy. Mohou být také formulovány tak, aby poskytovaly pomalé nebo řízené uvolňování obsažené aktivní složky, a to například za použití hydroxypropylmethylcelulosity v různých poměrech, čímž se získá žádaný profil uvolňování, nebo za použití jiných polymerních matric, liposomů a/nebo mikrokuliček. Mohou se sterilizovat, například filtrací přes filtr, zadržující bakterie, nebo inkorporací sterilizujících činidel ve formě sterilních pevných kompozic, které je možno rozpustit ve sterilní vodě nebo v jiném sterilním injektabilním médiu těsně před použitím. Tyto kompozice mohou také popřípadě obsahovat opacifikační činidla a mohou mít takové složení, že uvolňují aktivní složku(složky) pouze, nebo přednostně, v určité části gastrointestinálního traktu, popřípadě opožděně. Příklady použitelných matricových kompozic zahrnují polymerní látky a vosky. Aktivní složka může být také v mikroenkapsulované formě, podle potřeby s jedním nebo více výše popsanými excipienty.

Kapalné dávkové formy pro orální podání sloučenin podle vynálezu zahrnují farmaceuticky přijatelné emulze, mikroemulze, roztoky, suspenze, sirupy a elixíry. Vedle aktivní složky mohou kapalné dávkové formy obsahovat inertní ředidlo, obvykle používané ve farmaceutické praxi, jako je například voda nebo jiná rozpouštědla, solubilizační činidla a emulgátory, jako jsou ethylalkohol, isopropylalkohol, ethylkarbonát, ethylacetát, benzylalkohol, benzylbenzoát, propylenglykol, 1,3-butylenglykol, oleje (zvláště bavlníkový olej, arašídový olej, kukuřičný olej, klíčkový olej, olivový olej, ricinový olej a sezamový olej), glycerol, tetrahydrofurylalkohol, polyethylenglykoly a estery mastných kyselin a sorbitanu, a jejich směsi.

Vedle inertních ředidel mohou orální kompozice obsahovat také adjuvans, jako jsou smáčedla, emulgátory a suspenzační činidla, sladidla, ochucovadla, barviva, parfemační látky a konzervanty.

Suspenze mohou vedle aktivních sloučenin obsahovat suspenzační činidla, jako jsou například ethoxylované isostearylalkoholy, polyoxyethylensorbitol a sorbitanové estery, mikrokrytalická celulosa, metahydroxid hlinitý, bentonit, agar-agar a tragant, a jejich směsi.



Formulace farmaceutických kompozic podle vynálezu pro rektální nebo vaginální aplikaci mohou být ve formě čípků, které lze připravit smícháním sloučeniny podle vynálezu s jedním nebo více vhodnými nedráždivými excipienty nebo nosiči, kterými jsou například kakaové máslo, polyethylenglykol, vosk pro čípky nebo salicylát, a které při teplotě místnosti jsou tuhé, avšak při tělesné teplotě jsou kapalné, a tudíž v konečniku nebo vaginální dutině roztají a uvolní aktivní sloučeninu.

Formulace podle předloženého vynálezu, které jsou vhodné pro vaginální aplikaci, zahrnují také pesary, tampony, krémy, gely, pasty, pěny nebo sprejové formulace, které obsahují vhodné v oboru známé nosiče.

Dávkové formy pro topickou nebo transdermální aplikaci sloučeniny podle předloženého vynálezu zahrnují prášky, spreje, masti, pasty, krémy, pleťové vody, gely, roztoky, náplasti a inhalační formulace. Aktivní sloučenina se může za sterilních podmínek smíchat s farmaceuticky přijatelným nosičem a podle potřeby s jakýmkoliv konzervanty, pufry nebo propelanty.

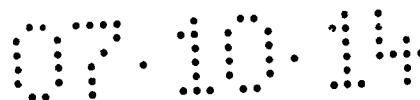
Masti, pasty, krémy a gely mohou vedle aktivní sloučeniny podle předloženého vynálezu navíc obsahovat excipienty jako jsou živočišné a rostlinné tuky, oleje, vosky, parafiny, škroby, tragant, deriváty celulosy, polyethylenglykoly, silikony, bentonity, kyselina křemičitá, mastek a oxid zinečnatý, nebo jejich směsi.

Prášky a spreje mohou vedle sloučeniny podle předloženého vynálezu obsahovat excipienty, jako je laktosa, mastek, kyseliny křemičitá, hydroxid hlinitý, křemičitany vápenaté a polyamidový prášek, nebo směsi těchto látek. Spreje mohou navíc obsahovat obvyklé propelanty, jako jsou chlorfluoruhlodíky a těkavé nesubstituované uhlovodíky jako butan a propan.

Transdermální náplasti mají navíc tu výhodu, že poskytují řízený přísun sloučeniny podle předloženého vynálezu do těla. Takové dávkové formy je možno připravit rozpustěním nebo dispergováním sloučeniny ve vhodném médiu. Mohou se použít také zesilovače absorpce, aby se zvýšil průstup sloučeniny kůží. Rychlost takového průstupu je možno řídit buď řídicí membránou nebo dispergováním aktivní sloučeniny v polymerní matrici nebo gelu.

Oftalmologické formulace, oční masti, prášky, roztoky a podobně jsou rovněž zahrnuty v rozsahu předloženého vynálezu.

Farmaceutické kompozice podle předloženého vynálezu, které jsou vhodné pro parenterální aplikaci, zahrnují sloučeninu podle vynálezu v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými sterilními isotonickými vodnými nebo nevodnými roztoky,



disperzemi, suspenzemi nebo emulzemi, nebo ve formě sterilních prášků, které mohou být rekonstituovány na sterilní injektabilní roztoky nebo disperze těsně před použitím, a které mohou obsahovat antioxidanty, pufrы, bakteriostatika, rozpuštěné látky, které udržují formulaci isotonickou s krví zamýšleného příjemce, nebo suspenzační nebo zahušťovací činidla.

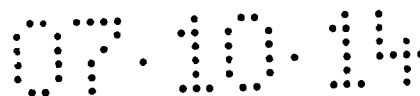
Příklady vhodných vodných a nevodných nosičů, které je možno použít ve farmaceutických kompozicích podle vynálezu, zahrnují vodu, ethanol, polyoly (jako je glycerol, propylenglykol, polyethylenglykol, a podobně), a jejich vhodné směsi, rostlinné oleje jako je olivový olej, a injektabilní organické estery jako je ethyleleát. Patřičnou fluiditu lze udržovat například použitím potahových materiálů, jako je lecitin, v případě disperzí dodržováním požadované velikosti částic, a používáním surfaktantů.

Tyto kompozice mohou také obsahovat adjuvans, jako jsou konzervanty, smáčedla, emulgátory a dispergenty. Ochranu před působením mikroorganismů lze zajistit přidavkem různých baktericidních a fungicidních činidel, například parabenu, chlorbutanolu, fenolu, kyseliny sorbové a podobně. Rovněž může být žádoucí přidat do kompozic isotonická činidla, jako jsou cukry, chlorid sodný a podobně. Vedle toho lze vyvolat prodlouženou absorpci u injektabilní farmaceutické formy tím, že se přidají absorpci zpomalující činidla, jako jsou monostearát hlinitý a želatina.

V některých případech je pro prodloužení účinku léku žádoucí, aby se u subkutánního nebo intramuskulárního injekčního podání zpomalila jeho absorpce. Toho lze dosáhnout použitím kapalné suspenze krystalického nebo amorfního materiálu, který je špatně rozpustný ve vodě. Rychlost absorpce léčiva potom závisí na rychlosti jeho rozpouštění, která zase může záviset na velikosti krystalů a na krystalové formě. Alternativně se prodloužené absorpce parenterálně aplikovaného léčiva dosáhne jeho rozpuštěním nebo suspendováním v olejovém vehikulu.

Injektabilní depotní formy se připravují vytvořením matric s mikroenkapsulovanými předmětnými sloučeninami v biodegradabilních polymerech jako polylaktid-polyglykolid. Uvolňování léčiva je možno řídit v závislosti na poměru léčiva k polymeru a na charakteru použitého polymeru. Příklady jiných biodegradabilních polymerů zahrnují poly(orthoestery) a poly(anhydridy). Depotní injektabilní formulace se rovněž připravují zapouzdřením léčiva v liposomech nebo mikroemulzích, které jsou kompatibilní s tělesnou tkání.

Přípravky podle předloženého vynálezu se mohou podávat orálně, parenterálně, topicky nebo rektálně. Samozřejmě se podávají ve formách, které jsou pro dané podání



vhodné. Tak například jsou podávány ve formě tablet nebo tobolek, injekčně, inhalací, jako oční kapky, masti, čípky atd., injekcí, infuzí nebo inhalací; topicky jako kapky nebo mastě; a rektálně jako čípky. Preferováno je orální a/nebo intravenózní podání.

Výrazy "parenterální podání" a "podán parenterálně", jak jsou zde použity, znamenají způsoby podání jiné než je enterální a topické podání, obvykle injekcí, a zahrnuje, aniž by výčet byl omezující, intravenózní, intramuskulární, intraarteriální, intratekální, intrakapsulární, intraorbitální, intrakardiální, intradermální, intraperitoneální, transtracheální, subkutánní, subkutikulární, intraartikulární, subkapsulární, subarachnoidální, intraspinální a intrasternální injekci a infúzi.

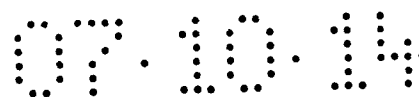
Výrazy "systémové podání", "podán systemicky" "periferní podání" a "podán periferně", jak jsou zde použity, znamenají, že sloučenina, léčivo nebo jiný materiál se podá jinak než přímo do centrálního nervového systému, a to tak, že látka vstoupí do pacientova systému a podléhá tedy metabolismu a jiným podobným pochodům; například se látka podá subkutánně.

Tyto sloučeniny je možno terapeuticky podávat člověku i jiným živočichům jakýmkoliv vhodným způsobem, zahrnujícím orální podání, nasální podání, jako například sprejem, rektální podání, intravaginální podání, parenterální podání, intracisternální podání a topické podání, a to jako prášky, masti nebo kapky, včetně bukalního a sublingválního podání.

Bez ohledu na zvolený způsob podání se sloučenina podle předloženého vynálezu, která může být použita ve vhodné hydratované formě, a/nebo ve formě farmaceutické kompozice podle předloženého vynálezu, formuluje do farmaceuticky přijatelných dávkových forem za použití konvenčních metod, které jsou odborníkům v oboru známy.

Skutečná dávková množství aktivních složek ve farmaceutických kompozicích podle předloženého vynálezu se mohou měnit tak, aby se získalo takové množství aktivní složky, které je schopno dosáhnout žádanou terapeutickou odpověď pro daného pacienta, danou kompozici a způsob podání, aniž by bylo pro pacienta toxické.

Zvolené dávkové množství bude záviset na mnoha faktorech, včetně aktivity použité konkrétní sloučeniny podle předloženého vynálezu nebo jejího esteru, soli nebo amidu, na způsobu podání, na čase podání, na rychlosti exkrece použité konkrétní sloučeniny, na délce terapie, na jiných léčivech, sloučeninách a/nebo materiálech použitých v kombinaci s použitou konkrétní sloučeninou, na stáří, pohlaví, hmotnosti, kondici, celkovém zdravotním stavu a anamnéze léčeného pacienta, a na podobných faktorech, které jsou v lékařské praxi dobře známy.



Lékař nebo veterinář s běžnou lékařskou praxí může snadno určit a předepsat účinné množství potřebné farmaceutické kompozice. Tak například, lékař nebo veterinář by mohl začít u takových dávek sloučeniny podle předloženého vynálezu, přítomné ve farmaceutické kompozici, které jsou menší než dávky, potřebné pro vyvolání žádaného terapeutického účinku, a postupně dávkování zvyšovat až se dosáhne žádaného výsledku.

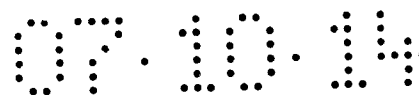
Obecně vhodnou denní dávkou sloučeniny podle předloženého vynálezu bude takové množství sloučeniny, které je nejmenší dávkou schopnou vyvolat terapeutický účinek. Taková účinná dávka bude obecně záviset na výše uvedených faktorech. Pacientovi podané intravenózní a subkutánní dávky sloučenin podle předloženého vynálezu se obecně při použití pro indikované analgetické účinky budou pohybovat v rozmezí od přibližně 0,0001 do přibližně 100 mg na kilogram tělesné hmotnosti za den, výhodněji od přibližně 0,01 do přibližně 50 mg na kg za den, a ještě výhodněji od přibližně 1,0 do přibližně 100 mg na kg za den. Účinným množstvím je takové množství, které léčí chorobný stav související s proteinkinázami.

Podle potřeby je účinnou denní dávkou aktivní sloučeniny možno podávat jako dvě, tři, čtyři, pět, šest nebo více dělených dávek, podaných odděleně v patřičných intervalech během dne, popřípadě ve formě dávkových jednotek.

I když je možné podávat sloučeninu podle předloženého vynálezu samotnou, je výhodnější ji podávat jako farmaceutickou kompozici.

Syntetický postup

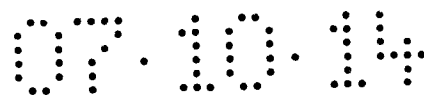
Zde popsané sloučeniny se připravují z běžně dostupných sloučenin za použití postupů, které jsou odborníkům v oboru známy, včetně jakékoliv nebo jakýchkoliv z následujících podmínek, bez omezení: V rozsahu tohoto textu je jako "chránící skupina" označena pouze snadno odstranitelná skupina, která není součástí daného konečného produktu sloučenin podle předloženého vynálezu, pokud z kontextu neplyne opak. Ochrana funkčních skupin takovými chránícími skupinami, samotné chránící skupiny a jejich štěpné reakce jsou popsány například ve standardních příručkách, jako například v publikaci Science of Synthesis: Houben-Weyl, Methods of Molecular Transformation, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Německo, 2005, str. 41627 a násled. (URL: <http://www.science-of-synthesis.com> (elektronická verze, 48 svazků)); v publikaci J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, v publikaci T. W. Greene a P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3. vyd., Wiley, New York 1999, v publikaci



"The Peptides"; sv. 3 (edit.: E. Gross a J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, v publikaci "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 4. vyd., sv. 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, v publikaci H.-D. Jakubke a H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides, Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, a v publikaci Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Charakteristické pro chránící skupiny je to, že je lze snadno odstranit (t.j. bez vzniku nežádoucích sekundárních reakcí) například solvolýzou, redukcí, fotolýzou nebo alternativně za fyziologických podmínek (například enzymatickým štěpením).

Soli zde popsaných sloučenin, majících přinejmenším jednu solitvornou skupinu, je možno připravit způsobem, která je sám o sobě znám. Tak například soli sloučenin podle předloženého vynálezu, majících kyselé skupiny, se mohou tvořit z těchto sloučenin například působením sloučenin kovů, jako jsou alkalické soli vhodných organických karboxylových kyselin, například sodná sůl kyseliny 2-ethylhexanové, působením organických sloučenin alkalických kovů a kovů alkalických zemin, jako jsou odpovídající hydroxidy, uhličitany nebo hydrogenuhličitany jako hydroxid, uhličitán nebo hydrogenuhličitán sodný nebo draselný, působením odpovídajících vápenatých sloučenin nebo amoniaku nebo vhodného organického aminu, a to s výhodou za použití stechiometrického množství nebo pouze malého přebytku solitvorného činidla. Adiční soli sloučenin podle předloženého vynálezu s kyselinami se získají obvyklým způsobem, například reakcí těchto sloučenin s kyselinou nebo vhodným měničem aniontů. Vnitřní soli sloučenin podle předloženého vynálezu, obsahujících kyselou i bázičnou solitvornou skupinu, například volnou karboxylovou skupinu a volnou aminoskupinu, se mohou tvořit například neutralizací solí, jako jsou adiční soli s kyselinou, do isoelektrického bodu, například slabou kyselinou, nebo působením iontoměníčů. Soli lze převést obvyklým způsobem na volné sloučeniny; kovové a amonné soli lze převést například působením vhodných kyselin, a adiční soli s kyselinami například působením vhodného bázičného činidla.

Směsi izomerů, které lze získat podle vynálezu, je možno rozdělit na individuální izomery způsoby, které jsou samy o sobě známy; diastereoizomery je možno separovat například rozdělením mezi vícefázové směsi rozpouštědel, krystalizací a/nebo chromatografií, například na silikagelu nebo středotlakou kapalinovou chromatografií na koloně s reverzní fází, a racemáty je možno štěpit například tvorbou solí s opticky čistými solitvornými činidly



a oddělením takto získatelné směsi diastereoizomerů, například frakční krystalizací, nebo je lze štěpit chromatografií na kolonách s opticky aktivním materiálem. Meziprodukty a konečné produkty je možno zpracovat a/nebo čistit za použití standardních metod, například za použití chromatografických metod, distribučních metod, (re)krystalizace, a podobně.

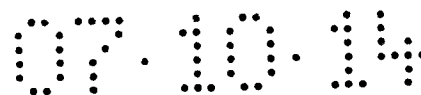
Obecné pokusné podmínky

Následující odstavce se týkají obecně všech postupů, zmíněných v tomto popisu.

Syntetické kroky, vedoucí ke sloučeninám, se mohou provádět za reakčních podmínek, které jsou samy o sobě známy, včetně těch, které jsou konkrétně popsány, a to v nepřítomnosti, nebo obvykle v přítomnosti, rozpouštědel nebo ředidel, včetně například rozpouštědel nebo ředidel, která jsou inertní vůči použitým reaktantům a rozpouštějí je, v nepřítomnosti nebo v přítomnosti katalyzátorů, kondenzačních nebo neutralizačních činidel, například iontoměničů, jako jsou katexy, například v H^+ cyklu; podle charakteru reakce a/nebo reaktantů při snížené, normální nebo zvýšené teplotě, například v rozmezí teplot od přibližně $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ do přibližně $190\text{ }^{\circ}\text{C}$, včetně například od přibližně $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ do přibližně $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, například od $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, při teplotě místnosti, při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, nebo při teplotě refluxu, a to při atmosférickém tlaku nebo v uzavřené nádobě, a kde je to vhodné za tlaku a/nebo v inertní atmosféře, například v atmosféře argonu nebo dusíku.

Ve všech reakčních stádiích je možno vzniklé směsi izomerů dělit na individuální izomery, například na diastereoizomery nebo enantiomery, nebo na jakékoliv žádané směsi izomerů, například racemáty nebo směsi diastereoizomerů, například metodami, analogickými metodám popsaným v publikaci *Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformation*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Německo 2005.

Mezi rozpouštědla, ze kterých se mohou volit vhodná rozpouštědla pro danou reakci, patří ta, která jsou konkrétně zmíněna, nebo například voda, estery, jako jsou nižší alkanooáty nižších alkylů, například ethylacetát, ethery jako jsou alifatické ethery, například diethylether, nebo cyklické ethery, například tetrahydrofuran nebo dioxan, kapalně aromatické uhlovodíky jako benzen nebo toluen, alkoholy jako methanol, ethanol nebo 1- nebo 2-propanol, nitrily jako acetonitril, halogenované uhlovodíky jako methylenchlorid nebo chloroform, amidy kyselin jako dimethylformamid nebo dimethylacetamid, báze jako heterocyklické dusíkaté báze, například pyridin nebo N-methylpyrrolidin-2-on, anhydridy karboxylových kyselin jako anhydridy nižších alkanových kyselin, například acetanhydrid, cyklické, lineární nebo



rozvětvené uhlovodíky jako cyklohexan, hexan nebo isopentan, nebo směsi těchto rozpouštědel, například vodné roztoky, pokud není v popisu postupů uvedeno jinak. Takové směsi rozpouštědel je též možno použít při zpracování, například při chromatografii nebo separaci.

Sloučeniny, včetně jejich solí, lze získat také ve formě hydrátů, nebo jejich krystaly mohou například inkludovat rozpouštědlo, použité při krystalizaci. Mohou být přítomny i různé krystalové formy.

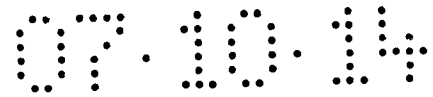
Předložený vynález se týká rovněž takových způsobů přípravy, při kterých se sloučenina, kterou lze v kterémkoliv stupni získat jako meziprodukt, použije jako výchozí materiál a provedou se zbývající kroky, nebo při kterých výchozí materiál vzniká za reakčních podmínek nebo se použije ve formě derivátu, například v chráněné formě nebo ve formě soli, nebo sloučenina, kterou lze získat způsobem podle vynálezu, vzniká za reakčních podmínek podle vynálezu a dále reaguje in situ.

Kombinace

Sloučeninu podle předloženého vynálezu je též možno u jedince použít pro terapii poruchy, související s proteinkinázou, v kombinaci s jinými činidly, například s dalším proteinkinázovým inhibítorem, který je nebo není sloučeninou podle vynálezu.

Výrazem "kombinace" se rozumí buďto fixní kombinace v jediné dávkové jednotce, nebo souprava částí pro kombinované podání, kde sloučenina podle předloženého vynálezu a její kombinační partner se mohou nezávisle podávat současně nebo odděleně v takových časových intervalech, které zejména umožňují, aby tyto partneři vykazovali kooperativní, například synergický, účinek, nebo se jím rozumí jakákoliv kombinace těchto způsobů.

Sloučenina podle vynálezu se může podávat současně nebo postupně s protizánětlivým, antiproliferativním, chemoterapeutickým činidlem, s imunosupresantem, protirakovinovým činidlem, s cytotoxickým činidlem nebo inhibítorem kináz. Další příklady činidel, které je možno podávat v kombinaci se sloučeninou podle vynálezu, zahrnují, aniž by výčet byl omezující, inhibitor PTK, cyklosporin A, CTLA4-Ig, protilátky zvolené z anti-ICAM-3, anti-IL-2 receptoru, anti-CD45RB, anti-CD2, anti-CD3, anti-CD4, anti-CD80, anti-CD86, a monoklonální protilátky OKT3, činidla, blokující interakci mezi CD40 a gp39, fúzní proteiny konstruované z CD40 a gp39, inhibitory NF-kappa B funkce, nesteroidní protizánětlivá léčiva, steroidy, sloučeniny zlata, antiproliferativní činidla, FK506, mykofenolát mofetil, cytotoxická léčiva, inhibitory TNF- α , protilátky anti-TNF nebo



rozpustný receptor TNF, rapamycin, leflunimid, inhibitory cyklooxygenázy-2, paklitaxel, cisplatinu, karboplatinu, doxorubicin, karminomycin, daunorubicin, aminopterin, methotrexat, methopterin, mitomycin C, ekteinascidin 743, porfiromycin, 5-fluoruracil, 6-merkaptopurin, gemcitabin, cytosin-arabinosid, podofyllotoxin, etoposid, etoposid-fosfát, teniposid, melphalan, vinblastin, vinkristin, leurosidin, epothilon, vindesin, leurosin, nebo jejich deriváty.

Sloučenina podle předloženého vynálezu i jakékoliv další činidlo se může formulovat do oddělených dávkových forem. Alternativně, aby se snížil počet dávkových forem, podávaných pacientovi, může se sloučenina podle vynálezu a jakékoliv další činidlo formulovat společně v jakékoliv kombinaci. Tak například inhibující sloučenina podle vynálezu se může formulovat v jedné dávkové formě a další činidlo se může formulovat společně v jiné dávkové formě. Jakékoliv oddělené dávkové formy se mohou podávat současně nebo v různou dobu.

Alternativně kompozice podle předloženého vynálezu obsahuje další činidlo, jak je zde popsáno. Každá složka může být přítomna v individuálních kompozicích, v kombinovaných kompozicích nebo v jediné kompozici.

Příklady provedení

V praktickém provedení předloženého vynálezu jsou používány, pokud není uvedeno jinak, obvyklé techniky buněčné biologie, buněčných kultur, molekulární biologie, transgenní biologie, mikrobiologie a imunologie, které jsou odborníkům v tomto oboru známy. Příklady 1 - 10, 10A, 11 - 27, 29 - 73 a 75-110 jsou uvedeny pro porovnání (referenční příklady).



Experimentální metody

Analytické metody

V příkladech jsou připravené sloučeniny charakterizovány kapalinovou chromatografií a hmotnostní spektroskopií, za použití níže uvedených systémů a pracovních podmínek. V případech, kde jsou přítomny atomy s různými izotopy a je uváděna jediná hmota, hmota uvedená pro sloučeninu je monoizotopická hmota (například ^{35}Cl ; ^{79}Br atd.). Jak je popsáno níže, je použito několik systémů, které mají velmi podobné vybavení a pracují za podobných podmínek. Použité pracovní podmínky jsou rovněž popsány níže.

LCMS analýza se provádí za použití následujících metod:

Waters Platform LC-MS system:

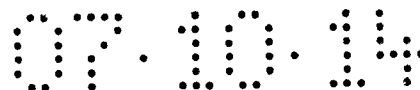
HPLC systém: Waters 2795
MS detektor: Micromass Platform LC
PDA detektor: Waters 2996 PDA
Čistota se měří UV diode array detektorem (210-340 nm)

Metoda A

Eluent A: H_2O (10 mM NH_4HCO_3 pufr nastaven (NH_4OH) na pH = 9,2)
Eluent B: CH_3CN
Gradient: 05-95% eluent B během 15 minut
Průtok: 0,8 ml/min
Kolona: Waters XBridge C18 5μ 2,1 x 50 mm

Metoda B

Eluent A: H_2O (10 mM NH_4HCO_3 pufr nastaven (NH_4OH) na pH=9,2)
Eluent B: CH_3CN
Gradient: 05-95% eluent B během 3,5 minut
Průtok: 0,8 ml/min
Kolona: Waters XBridge C18 5μ 2,1 x 50 mm



Metoda C

Eluent A: H₂O (0,1 % kyseliny mravenčí)
Eluent B: CH₃CN (0,1 % kyseliny mravenčí)
Gradient: 5-95% eluent B během 3,5 minut
Průtok: 0,8 ml/min
Kolona: Phenomenex Synergi 4 μ MAX-RP 80A, 2,0 x 50 mm

Metoda D

Eluent A: H₂O (0,1 % kyseliny mravenčí)
Eluent B: CH₃CN (0,1 % kyseliny mravenčí)
Gradient: 5-95% acetonitril/voda během 7,75 minut
Průtok: 1,0 ml/min
Kolona: Inertsil ODS3 100x3 mm C18

Waters Fractionlynx LC-MS systém:

HPLC Systém: 2767 autosampler - 2525 binární gradientová pumpa
MS detektor: Waters ZQ
PDA detektor: Waters 2996 PDA
Čistota se měří UV diode array detektorem (200-340 nm)

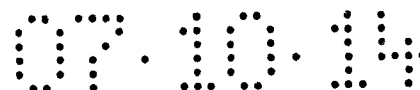
Metoda E

Eluent A: H₂O (10 mM NH₄HCO₃ pufr nastaven (NH₄OH) na pH = 9,2)
Eluent B: CH₃CN
Gradient: 05-95% eluent B během 3,5 minut
Průtok: 2,0 ml/min

Metoda pro preparativní MS kapalinovou chromatografií (LCMS)

Waters Fractionlynx systém:

2767 Dual Loop Autosampler/Fraction Collector
2525 preparativní pumpa
CFO (column fluidic organiser) pro volbu kolon
RMA (Waters reagent manager) jako přídatné čerpadlo
Waters ZQ Mass Spectrometer
Waters 2996 Photo Diode Array detektor
Waters ZQ Mass Spectrometer.



Software:

Masslynx 4.1

Waters MS, pracovní podmínky:

Napětí na kapiláře:	3,5 kV (3.2 kV při ES negativním)
Napětí na vstupním kuželu:	25 V
Teplota zdroje:	120 °C
Multiplikátor:	500 V
Skenovací rozsah:	125-800 amu
Ionizační mód:	ElectroSpray pozitivní <u>nebo</u> ElectroSpray negativní

Jakmile analytická chromatografie poskytne dobrý chromatogram, zvolí se vhodná preparativní metoda stejného typu. Typické pracovní podmínky jsou:

Kolona:

Waters XBridge C18 5 μ 100 x 19 mm nebo Phenomenex Gemini, 5, 100 x 21,2mm)

Mobilní fáze:

Rozpouštědlo A: H₂O + 10 mM NH₄HCO₃ + NH₄OH, pH = 9,2

Rozpouštědlo B: CH₃CN

Průtok: 24 ml/min

Gradient: Obecně všechny gradienty mají počáteční krok 0,4 min s 95% A + 5% B. Pak se podle analytického chromatogramu zvolí 3,6 min gradient, aby se docílila dobrá separace (například od 5% do 50% B pro slabě adsorbované sloučeniny; od 35% do 80% B pro středně adsorbované sloučeniny atd.).

Promytí: Po ukončení gradientu se pracuje v režimu wash po dobu 1,2 minuty.

Re-ekvilibrace: Pro přípravu systému na další pracovní cyklus se provede reekvilibrace po dobu 2,1 minut.

Nastavený průtok: 1 ml/min.

Všechny sloučeniny se obvykle rozpustí ve 100% MeOH nebo 100% DMSO.

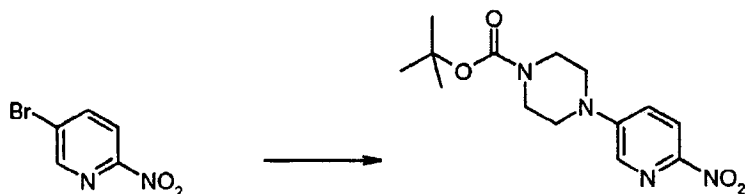
Experimentální postupy

Obecný postup A (BOC-deprotektce)

Výchozí materiál se podrobí reakci s přebytkem HCl (4M roztok v dioxanu). V případě potřeby se pro lepší rozpustnost přidá MeOH a/nebo CHCl₃. Po 16 hodinách se vzorek odpaří ve vakuu a zbytek se přečistí chromatografií na SiO₂, chromatografií na iontoměničích nebo preparativní LCMS.

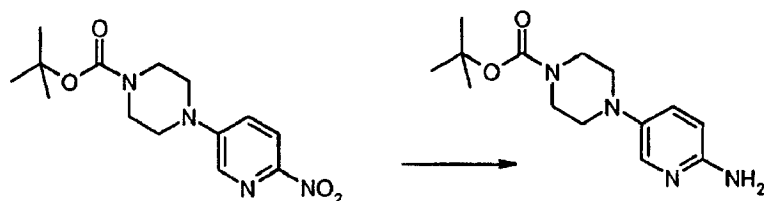
Nitrilové analogy

Příklad A



K míchanému roztoku 5-brom-2-nitropyridinu (4,93 g, 24,3 mmol) a terc-butylesteru kyseliny piperazin-1-karboxylové (4,97 g, 26,7 mmol) v CH₃CN (60 ml) se přidá DIPEA (4,65 ml, 26,7 mmol). Směs se zahřívá k refluxu 72 hodin, potom se ochladí na teplotu místnosti a vyloučený produkt se izoluje filtrací. Filtrát se zahustí a přečistí se bleskovou chromatografií (eluent 30% EtOAc/petrolether). Spojené produkty se překrystalují ze směsi EtOAc/petrolether, čímž se získá terc-butylester kyseliny 4-(6-nitro-pyridin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (4,50 g, výtěžek 80 %). MS(ESI) *m/z* 308 (M+H)⁺.

Příklad B

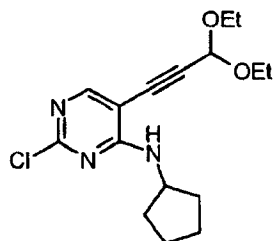
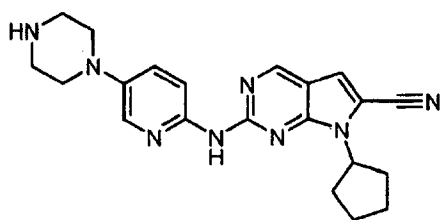


Směs terc-butylesteru kyseliny 4-(6-nitro-pyridin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (3,40 g, 11,0 mmol) a 10% Pd-C (400 mg, 0,376 mmol) v ethanolu (100 ml) a ethylacetátu (100 ml) se míchá přes noc při tlaku vodíku 1 atm. Směs se zfiltruje a zahustí, čímž se získá

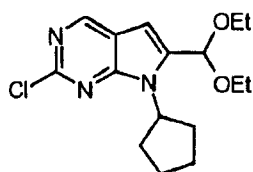
terc-butylester kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (2,87 g, výtěžek 94 %). MS(ESI) m/z 278 (M+H)⁺.

Referenční příklad 104

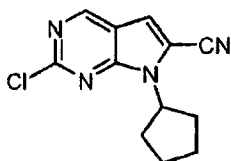
7-Cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril



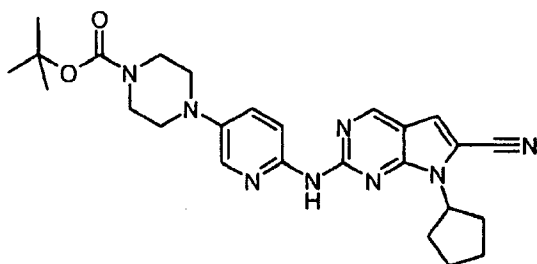
K míchanému roztoku (5-brom-2-chlorpyrimidin-4-yl)-cyklopentylaminu (1,00 g, 3,62 mmol) a PdCl₂(dppf).dichlormethanu (148 mg, 0,181 mmol) v THF (10 ml) se postupně přidá Et₃N (0,757 ml, 5,43 mmol) a 3,3-diethoxypropyn (0,778 ml, 5,43 mmol) při teplotě místnosti. Směs se odplyní v proudu N₂, míchá se při teplotě místnosti 10 minut a potom se přidá CuI (29 mg, 0,154 mmol). Reakční nádoba se evakuuje, naplní se N₂ (3x) a zahřívá se 48 hodin na 60 °C. Směs se nechá zchladnout, zředí se EtOAc, zfiltruje se a rozdělí se mezi vodu a ethylacetát. Fáze se oddělí a vodná vrstva se dále extrahuje EtOAc (3x), spojené organické extrakty se vysuší (MgSO₄), zfiltrují se a zahustí. Zbytek se přečistí chromatografií na SiO₂ (eluze gradientem 5% EtOAc/petrolether do 20% EtOAc/petrolether), čímž se získá [2-chlor-5-(3,3-diethoxy-prop-1-ynyl)-pyrimidin-4-yl]-cyklopentylamin (636 mg, 54 %). MS(ESI) m/z 324,2 (M+H)⁺.



K míchanému roztoku [2-chlor-5-(3,3-diethoxy-prop-1-ynyl)-pyrimidin-4-yl]-cyklopentyl-aminu (7,50 g, 23,3 mmol) v THF (45 ml) se přidá 1N TBAF v THF (100 ml, 116 mmol) při teplotě místnosti. Reakční směs se zahřívá pod refluxem přes noc. Po ochlazení se směs rozdělí mezi H₂O a dichlormethan. Fáze se oddělí a vodná vrstva se extrahuje dichlormethanem (2x). Spojené organické extrakty se vysuší (MgSO₄), zfiltrují se a zahustí. Zbytek se přečistí chromatografií na SiO₂ (eluze gradientem 10% EtOAc/petrolether do 30% EtOAc/petrolether), čímž se získá 2-chlor-7-cyklopentyl-6-diethoxymethyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (5,68 g, 76 %). MS(ESI) *m/z* 324,1 (M+H)⁺.



K míchanému roztoku 2-chlor-7-cyklopentyl-6-diethoxymethyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu (6,29 g, 19,5 mmol) v 1,4-dioxanu (68 ml) se při teplotě místnosti přidá konc. HCl (19 ml). Reakční směs se míchá 30 minut, a potom se neutralizuje 2N vodným roztokem NaOH a nasyceným vodným roztokem NaHCO₃. Směs se extrahuje EtOAc (3x), spojené organické extrakty se vysuší (MgSO₄), zfiltrují se a zahustí, čímž se získá 6 g surového 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbaldehydu ve formě béžové pevné látky. K míchané suspenzi surového 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbaldehydu v MeCN (125 ml) a H₂O (125 ml) se při teplotě místnosti přidá H₂N-SO₃H (6,62 g, 58,5 mmol). Reakční směs se míchá 3 hodiny, načež se pH nastaví na >10 přidáním 2N vodného roztoku NaOH, a reakční směs se míchá 1 hodinu. Směs se extrahuje do dichlormethanu (3x) a spojené organické extrakty se vysuší (MgSO₄), zfiltrují se a zahustí. Zbytek se přečistí chromatografií na SiO₂ (eluze gradientem 5% EtOAc/petrolether do 20% EtOAc/petrolether), čímž se získá 4,00 g 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitrilu ve formě bílé pevné látky ve výtěžku 83 %. MS(ESI) *m/z* 247,0 (M+H)⁺.



Buchwaldova metoda A

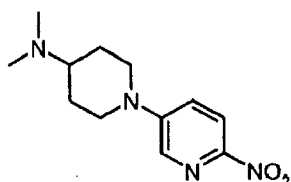
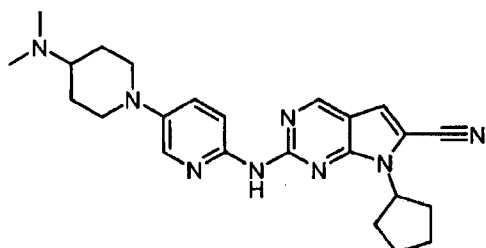
K míchanému roztoku 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitrilu (80 mg, 0,324 mmol) v toluenu (5,0 ml) se postupně přidá $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (16 mg, 0,0162 mmol), 2-di-terc-butylfosfino-2',4',6'-triisopropylbifenyl (14 mg, 0,0324 mmol) a terc-butylester kyseliny 4-(6-aminopyridin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (**příklad B**) (99 mg, 0,357 mmol). Směs se odplyní v proudu N_2 , načež se přidá LiHMDS (1M v THF; 0,650 ml, 0,650 mmol). Reakční směs se zahřívá na 110 °C přes noc. Pak se směs při teplotě místnosti zředí EtOAc, zfiltruje se a zahustí. Zbytek se přečistí chromatografií na SiO_2 (eluze EtOAc) a získaný materiál (35 mg) se rozetře se směsí (1:1) EtOAc/petrolether, čímž se získá terc-butylester kyseliny 4-[6-(6-kyano-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-karboxylové (20 mg).

Za použití **obecného postupu A** se z terc-butylesteru kyseliny 4-[6-(6-kyano-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-karboxylové (20 mg) získá surový produkt, který se přečistí chromatografií na koloně SCX (eluze 1:17 směsí 2M NH_3 v MeOH/dichlormethan) a poskytne pevnou látku. Rozetření s diethyletherem poskytne 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril (8,8 mg, 7 %) (pro 2 kroky). MS(ESI) m/z 389,2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ (metoda A).

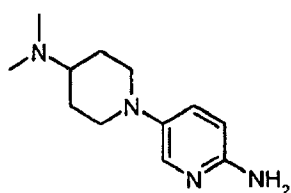
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 9,68 (1H, s), 8,91 (1H, s), 8,11 (1H, d), 8,01 (1H, d), 7,51 (1H, s), 7,43 (1H, dd), 5,07 (1H, kvintet), 3,10-2,99 (4H, m), 2,92-2,78 (4H, m), 2,32-2,08 (4H, m), 2,08-1,92 (2H, m), 1,82-1,66 (2H, m).

Referenční příklad 47

7-Cyklopentyl-2-((4-dimethylaminopiperidin)-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo [2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril



Za použití postupů, popsaných v **příkladu A**, se ze 4-dimethylaminopiperidinu (2,60 g, 18,4 mmol) získá dimethyl-[1-(6-nitro-pyridin-3-yl)-piperidin-4-yl]-amin (3,90 g, 80 %) (přečištěn srážením). MS(ESI) m/z 250,1 (M+H)⁺.



Za použití postupů, popsaných v **příkladu B**, se z dimethyl-[1-(6-nitro-pyridin-3-yl)-piperidin-4-yl]-aminu (3,90 g, 15,6 mmol) získá 5-(4-dimethylaminopiperidin-1-yl)-pyridin-2-ylamin (3,32 g, 97 %). [M-H]⁺ = 219,1.

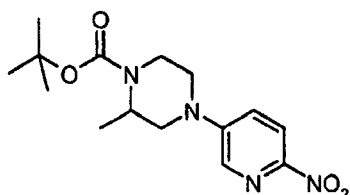
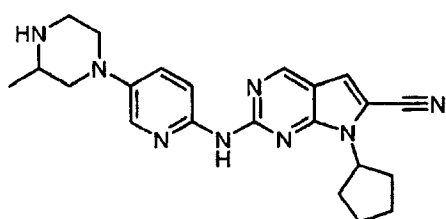
Podle **Buchwaldovy metody A** se reakcí 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitrilu (95 mg, 0,385 mmol) a 5-(4-dimethylaminopiperidin-1-yl)-pyridin-2-ylaminu (93 mg, 0,424 mmol) získá 7-cyklopentyl-2-((4-dimethylaminopiperidin)-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril (77 mg, 46 %) [po rozetření s 1:1 směsí EtOAc/petrolether].

MS(ESI) m/z 431,2 (M+H)⁺ (metoda A).

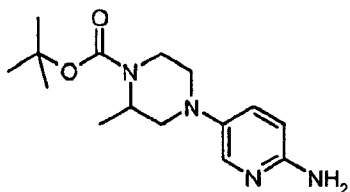
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9,66 (1H, s), 8,90 (1H, s), 8,09 (1H, d), 8,02 (1H, d), 7,51 (1H, s), 7,45 (1H, dd), 5,07 (1H, kvintet), 3,74-3,62 (2H, m), 2,75-2,63 (2H, m), 2,30-2,08 (11H, m), 2,08-1,92 (2H, m), 1,92-1,81 (2H, m), 1,81-1,66 (2H, m), 1,59-1,44 (2H, m).

Referenční příklad 2

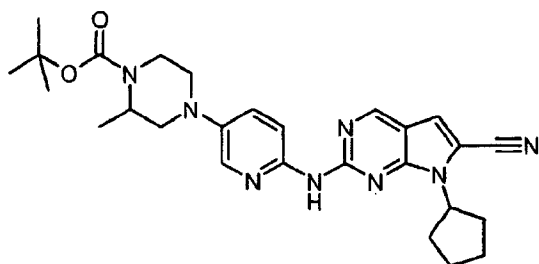
rac-7-Cyklopentyl-2-[5-(3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril



Za použití postupů, popsaných v **příkladu A**, se z terc-butylesteru kyseliny 2-methyl-piperazin-1-karboxylové (1,08 g, 5,40 mmol) získá terc-butylester kyseliny 2-methyl-4-(6-nitro-pyridin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (0,610 g, 39 %) (po chromatografii na SiO₂; eluce 2% MeOH/dichlormethan). MS(ESI) m/z 323 (M+H)⁺.



Za použití postupů, popsaných v **příkladu B**, se terc-butylester kyseliny 2-methyl-4-(6-nitro-pyridin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (600 mg, 1,52 mmol) hydrogenuje na Pd-C v reaktoru H-cube (Thales) (místo v atmosféře vodíku), čímž se získá terc-butylester kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (544 mg, 98 %). MS(ESI) m/z 293 (M+H)⁺.



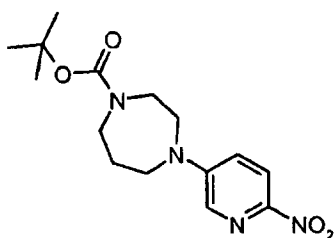
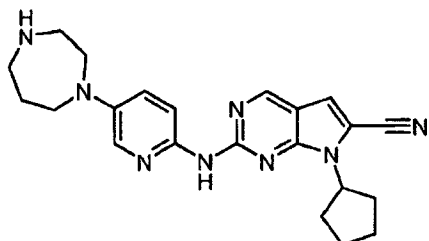
Za použití **Buchwaldovy metody A** se reakcí 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitrilu (95 mg, 0,385 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (124 mg, 0,424 mmol) získá terc-butylester kyseliny 4-[6-(6-kyano-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (128 mg) [po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 1-2,5% MeOH/dichlormethan, a po následném rozetření s diethyletherem]. Produkt se použije přímo v následujícím kroku.

Za použití **obecného postupu A** se z terc-butylesteru kyseliny 4-[6-(6-kyano-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové získá 7-cyklopentyl-2-[5-(3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril (91 mg, 59 % pro 2 kroky) [po přečištění na koloně Strata-NH₂; eluce 1:1 směsí MeOH/dichlormethan a následné rozetření s diethyletherem]. MS(ESI) *m/z* 403,2 (M+H)⁺ (metoda A).

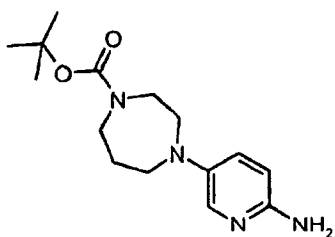
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 10,00 (1H, s), 9,00-8,87 (2H, m), 8,64-8,51 (1H, m), 8,17-8,05 (2H, m), 7,61 (1H, d), 7,55 (1H, s), 5,10 (1H, kvintet), 3,85-3,67 (2H, m), 3,50-3,36 (2H, m), 3,20 (1H, dd), 2,97 (1H, t), 2,75 (1H, t), 2,32 (3H, s), 2,29-2,10 (4H, m), 2,08-1,94 (2H, m), 1,82-1,68 (2H, m), 1,29 (3H, d).

Referenční příklad 106

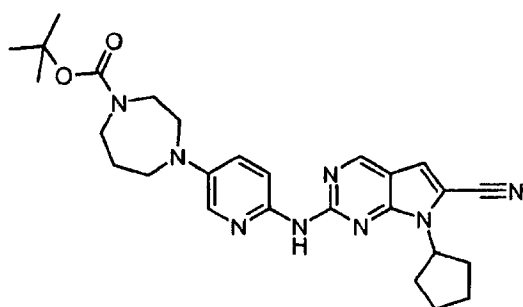
7-Cyklopentyl-2-(5-[1,4]diazepan-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril



Za použití postupů, popsaných v **příkladu A**, se reakcí terc-butylesteru kyseliny [1,4]diazepan-1-karboxylové (1,08 g, 5,40 mmol) v CH₃CN (20 ml) získá terc-butylester kyseliny 4-(6-nitro-pyridin-3-yl)-[1,4]diazepan-1-karboxylové (533 mg) [po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 2% MeOH/dichlormethan]. MS(ESI) *m/z* 323 (M+H)⁺.



Za použití postupů, popsaných v **příkladu B**, se terc-butylester kyseliny 4-(6-nitro-pyridin-3-yl)-[1,4]diazepan-1-karboxylové (490 mg, 1,52 mmol) hydrogenuje na Pd-C v reaktoru H-cube (Thales) (místo v atmosféře vodíku), čímž se získá terc-butylester kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-[1,4]diazepan-1-karboxylové (544 mg, 98 %). MS(ESI) *m/z* 293 (M+H)⁺.



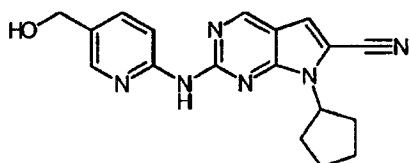
Za použití **Buchwaldovy metody A** se reakcí 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitrilu (95 mg, 0,385 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-[1,4]diazepan-1-karboxylové (124 mg, 0,424 mmol) získá terc-butylester kyseliny 4-[6-(6-kyano-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-[1,4]diazepan-1-karboxylové (96 mg) [po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 1-3% MeOH/dichlormethan, a po následném rozetření s diethyletherem]. Produkt se použije přímo v následujícím kroku.

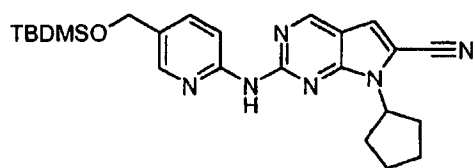
Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny 4-[6-(6-kyano-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-[1,4]diazepan-1-karboxylové získá 7-cyklopentyl-2-(5-[1,4]diazepan-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril (71 mg, 46 % pro 2 kroky [po přečištění na koloně Strata-NH₂; eluce 1:1 směsí MeOH/dichlormethan, a po následném rozetření s diethyletherem]. MS(ESI) *m/z* 403,2 (M+H)⁺ (metoda A).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9,01 (1H, s), 8,67 (2H, s), 7,95-7,80 (2H, m), 7,73-7,54 (2H, m), 5,14 (1H, kvintet), 3,75 (2H, t), 3,54 (2H, t), 3,34-3,26 (2H, m), 3,23-3,14 (2H, m), 2,33 (3H, s), 2,27-2,13 (4H, m), 2,13-1,93 (4H, m), 1,83-1,67 (2H, m).

Referenční příklad 105

7-Cyklopentyl-2-(5-hydroxymethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril





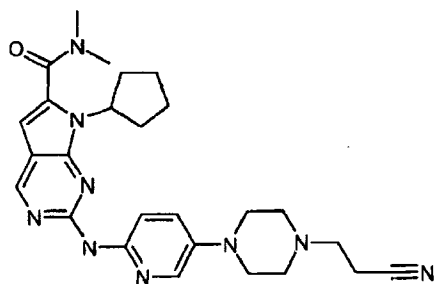
Za použití **Buchwaldovy metody A** se reakcí 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitrilu (95 mg, 0,385 mmol) a 5-(terc-butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-pyridin-2-ylaminu (101 mg, 0,424 mmol) (**příklad C**) získá 114 mg 2-[5-(terc-butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitrilu [po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 1-2% MeOH/dichlormethan, a po následném rozetření s diethyletherem].

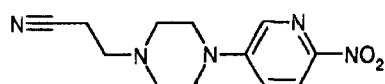
K míchanému roztoku 2-[5-(terc-butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitrilu v THF (2,0 ml) se přidá pyridin.HF (0,080 ml) při 0 °C. Reakční směs se míchá při teplotě místnosti 16 hodin a potom se zředí ethylacetátem, promyje se nasyceným roztokem NaHCO₃, vysuší se (MgSO₄), zfiltruje se a zahustí. Rozetření s diethyletherem poskytne 7-cyklopentyl-2-(5-hydroxymethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbonitril (68 mg, výtěžek 53 % (pro 2 kroky)). MS(ESI) *m/z* 335,0 (M+H)⁺ (metoda A).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9,96 (1H, s), 8,97 (1H, s), 8,33-8,21 (2H, m), 7,75 (1H, dd), 7,55 (1H, s), 5,19 (1H, t), 5,10 (1H, kvintet), 4,49 (2H, d), 2,37-2,10 (4H, m), 2,10-1,92 (2H, m), 1,85-1,67 (2H, m).

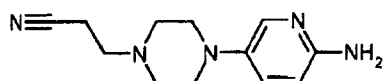
Referenční příklad 9

Dimethylamid kyseliny 2-{5-[4-(2-kyanoethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové





Opakováním postupů, popsaných v **příkladu A** (až na zahřívání na 130 °C po dobu 1 hodiny v mikrovlnném aparátu CEM Discovery, místo zahřívání za refluxu), se z 3-piperazin-1-yl-propionitrilu (510 mg, 3,63 mmol) získá 3-[4-(6-nitro-pyridin-3-yl)-piperazin-1-yl]-propionitril jako bílá krystalická pevná látka (212 mg, 25 %) [po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 0-10% methanol/dichlormethan, a po následné rekrystalizaci ze směsi ethylacetát /petrolether]. MS(ESI) *m/z* 262,1 (M+H)⁺.



Opakováním postupů, popsaných v **příkladu B**, se reakcí 3-[4-(6-nitro-pyridin-3-yl)-piperazin-1-yl]-propionitrilu (200 mg, 0,763 mmol) získá 3-[4-(6-amino-pyridin-3-yl)-piperazin-1-yl]-propionitril (165 mg, 94 %), který se bez dalšího čištění použije v následujícím kroku. MS(ESI) *m/z* 232,1 (M+H)⁺.

Za použití **Buchwaldovy metody A** se reakcí 3-[4-(6-amino-pyridin-3-yl)-piperazin-1-yl]-propionitrilu (173 mg, 0,751 mmol) a dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (200 mg, 0,683 mmol) získá dimethylamid kyseliny 2-{5-[4-(2-kyano-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (34 mg, 10 %) [po přečištění preparativní LCMS].

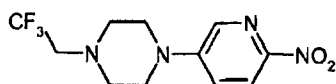
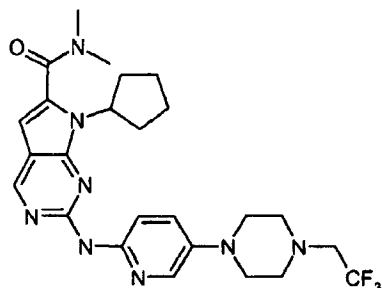
MS(ESI) *m/z* 488,2 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,72 (1H, s), 8,24 (1H, d), 7,99 (1H, d), 7,51 (1H, dd), 6,62 (1H, s), 4,82-4,72 (1H, m), 3,23 (4H, t), 3,17 (6H, s), 2,82-2,65 (8H, m), 2,62-2,48 (2H, m), 2,17-1,98 (4H, m), 1,86-1,64 (2H, m).

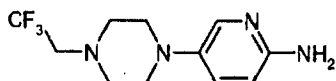


Referenční příklad 25

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2,2,2-trifluorethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



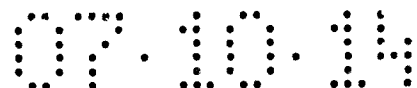
Opakováním postupů, popsaných v **příkladu A** (až na zahřívání na 130 °C po dobu 1 hodiny v mikrovlnném aparátu CEM Discovery, místo zahřívání za refluxu), se reakcí 1-(2,2,2-trifluorethyl)-piperazinu (1,31 g, 5,41 mmol) získá 1-(6-nitro-pyridin-3-yl)-4-(2,2,2-trifluorethyl)-piperazin (210 mg, 15 %) [po přečištění chromatografií na SiO₂; eluce směsí 0-10% methanol/dichlormethan]. MS(ESI) *m/z* 291,1 (M+H)⁺.



Opakováním postupů, popsaných v **příkladu B**, se reakcí 6-nitro-pyridin-3-yl)-4-(2,2,2-trifluorethyl)-piperazinu (210 mg, 0,724 mmol) získá 5-[4-(2,2,2-trifluorethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamin (158 mg, 84 %), který se bez dalšího čištění použije v následujícím kroku. MS(ESI) *m/z* 261,1 (M+H)⁺.

Buchwaldova metoda B

Směs 5-[4-(2,2,2-trifluorethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylaminu (158 mg, 0,607 mmol), dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (118 mg, 0,405 mmol), Pd₂(dba)₃ (18,5 mg, 0,020 mmol), BINAP (25 mg, 0,040 mmol) a terc-butoxidu sodného (70 mg, 0,728 mmol) v dioxanu (3,5 ml) se odplynává a zahřívá se na 100 °C po dobu 1 hodiny v mikrovlnném generátoru CEM Discover. Reakční směs se rozdělí mezi dichlormethan a nasycený roztok NaHCO₃. Organická vrstva se oddělí a vodná vrstva se extrahuje dalším dichlormethanem. Spojené organické fáze se promyjí solankou, vysuší se



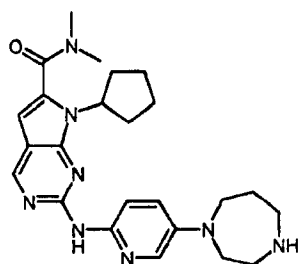
(MgSO₄), zfiltrují se a zahustí. Surový produkt se přečistí chromatografií na silikagelu (eluze 0 až 10% methanol/dichlormethan), čímž se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2,2,2-trifluorethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové, který se dále přečistí rozetřením s acetonitrilem (115 mg, 55 %).

MS(ESI) *m/z* 517,2 (M+H)⁺ (metoda A).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,72 (1H, s), 8,24 (1H, d), 7,98 (1H, d), 7,50 (1H, dd), 6,62 (1H, s), 4,81-4,72 (1H, m), 3,27-3,09 (12H, m), 2,89 (4H, t), 2,61-2,49 (2H, m), 2,16-2,01 (4H, m), 1,81-1,69 (2H, m).

Referenční příklad 8

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-[1,4]diazepan-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **Buchwaldovy metody A** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,13 g, 0,444 mmol) získá terc-butylester kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-[1,4]diazepan-1-karboxylové (66 mg, 27 %) [po přečištění chromatografií na SiO₂, eluce 0-3% MeOH v dichlormethanu].

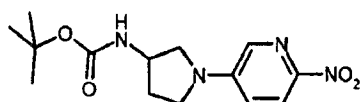
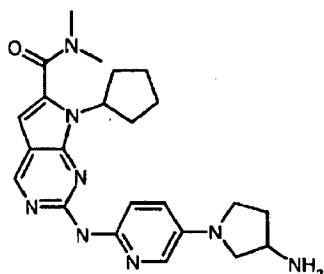
MS(ESI) *m/z* 549,3 (M+H)⁺.

Za použití **obecného postupu A** se terc-butylester kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-[1,4]diazepan-1-karboxylové (66 mg, 0,12 mmol) převede na dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-[1,4]diazepan-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (35 mg, 65 %), který se získá jako nažloutlá pevná látka [po přečištění chromatografií na koloně SCX; eluce 15% (2 M NH₃ v MeOH)/DCM]. MS(ESI) *m/z* 449,2 (M+H)⁺ (metoda C).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,69 (1H, s), 8,08 (1H, d), 7,83 (1H, d), 7,30 (1H, dd), 6,60 (1H, s), 4,76 (1H, kvintet), 3,63 (4H, t), 3,17 (7H, s), 3,09 (2H, t), 2,91 (2H, t), 2,61-2,45 (2H, m), 2,17-1,93 (7H, m), 1,80-1,63 (2H, m).

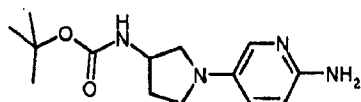
Referenční příklad 13

Dimethylamid kyseliny *rac*-2-[5-(3-amino-pyrrolidin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



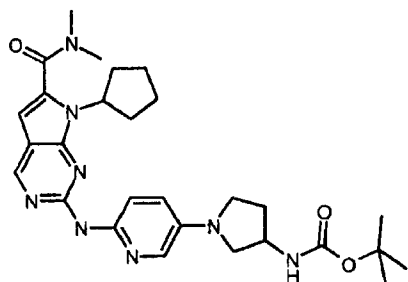
Opakováním postupů, popsaných v **příkladu A**, se *tert*-butylester kyseliny pyrrolidin-3-yl-karbamové (2,52 g, 13,5 mmol) převede na *tert*-butylester kyseliny [1-(6-nitro-pyridin-3-yl)-pyrrolidin-3-yl]-karbamové, který se získá jako žlutá pevná látka (2,16 g, 57 %) [po rozetření s EtOAc].

$[M+H]^+ = 309,2$.



Opakováním postupů, popsaných v **příkladu B**, se reakcí *tert*-butylesteru kyseliny [1-(6-nitro-pyridin-3-yl)-pyrrolidin-3-yl]-karbamové (2,16 g, 7,01 mmol) získá *tert*-butylester kyseliny [1-(6-amino-pyridin-3-yl)-pyrrolidin-3-yl]-karbamové jako purpurová pevná látka (1,12 g, 56 %) [po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 2,5-7,5% MeOH/dichlormethan].

$[M+H]^+ = 279,2$.



Za použití **Buchwaldovy metody A** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,13 g, 0,444 mmol) a *tert*-butylesteru kyseliny [1-(6-amino-pyridin-3-yl)-pyrrolidin-3-yl]-karbamové (0,136 g, 0,488 mmol) získá

terc-butylester kyseliny { 1-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-pyrrolidin-3-yl}-karbamové (35 mg, 15 %) (po chromatografii na SiO₂, eluce směsí 0-3% MeOH/dichlormethan).

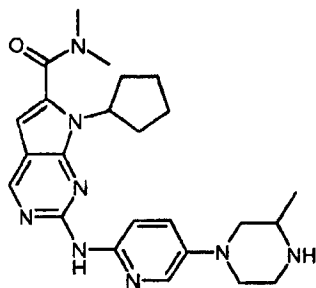
MS(ESI) *m/z* 535,3 (M+H)⁺.

Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny { 1-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-pyrrolidin-3-yl}-karbamové (35 mg, 0,0655 mmol) získá dimethylamid kyseliny *rac*-2-[5-(3-amino-pyrrolidin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d] pyrimidin-6-karboxylové jako žlutá pevná látka (11 mg, 39 %) [po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 5% (2,0 M NH₃ v MeOH)/DCM]. MS(ESI) *m/z* 435,2 (M+H)⁺ (metoda C).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,68 (1H, s), 8,10 (1H, d), 7,66 (1H, d), 7,11 (1H, dd), 6,60 (1H, s), 4,79-4,66 (1H, m), 3,76-3,65 (1H, m), 3,60-3,46 (2H, m), 3,17 (6H, s), 3,15-2,87 (2H, m), 2,62-2,44 (2H, m), 2,37-2,22 (1H, m), 2,17-1,98 (4H, m), 1,98-1,80 (1H, m), 1,80-1,63 (2H, m).

Referenční příklad 19

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **Buchwaldovy metody A** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,142 g, 0,485 mmol) a terc-butylesteru kyseliny (+/-)-4-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (0,156 g, 0,533 mmol) získá terc-butylester kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (260 mg, 97 %) (po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 0-3% MeOH/dichlormethan).

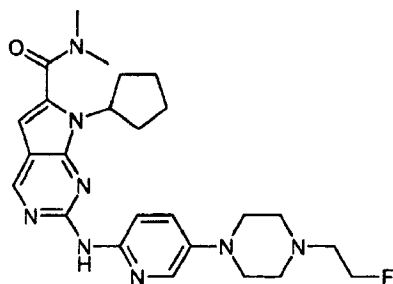
MS(ESI) *m/z* 549,3 (M+H)⁺.



Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methylpiperazin-1-karboxylové (260 mg, 0,474 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako běžová pevná látka (67 mg, 31 %) [po chromatografii na SiO₂; eluce směsí 5% (2,0 M NH₃ v methanolu/dichlormethan)]. MS(ESI) *m/z* 449,4 (M+H)⁺ (metoda D). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9,23 (1H, s), 8,76 (1H, s), 8,13 (1H, d), 7,98 (1H, d), 7,41 (1H, dd), 6,60 (1H, s), 4,80-4,67 (1H, m), 3,46 (2H, t), 3,06 (6H, s), 3,02-2,90 (1H, m), 2,90-2,74 (2H, m), 2,61-2,49 (2H, m), 2,49-2,27 (2H, m), 2,27-2,08 (2H, m), 1,98 (4H, s), 1,65 (2H, d), 1,03 (3H, d).

Referenční příklad 5

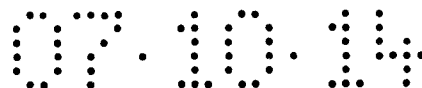
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-fluorethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K roztoku hydrochloridu amidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (150 mg, 0,318 mmol) a uhličitanu draselného (132 mg, 0,955 mmol) v acetonitrilu (3 ml) a DMF (2 ml) se přidá 1-brom-2-fluorethan (0,035 ml, 0,478 mmol) a reakční směs se zahřívá 24 hodin na 80 °C v uzavřené reakční vialce. Po ochlazení se reakční směs rozdělí mezi dichlormethan a vodu. Organická vrstva se oddělí a vodná vrstva se dále extrahuje dichlormethanem. Spojené organické fáze se promyjí solankou, vysuší se (MgSO₄), zfiltrují se a zahustí. Surový produkt se přečistí chromatografií na silikagelu (eluent 0 až 10% methanol/dichlormethan), čímž se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-fluorethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (84 mg, 55 %) jako téměř bílá pevná látka.

MS(ESI) *m/z* 481,2 (M+H)⁺ (metoda B).

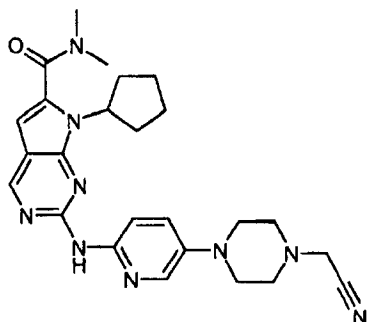
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9,23 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,14 (1H, d), 7,99 (1H, d), 7,43



(1H, dd), 6,60 (1H, s), 4,79-4,68 (1H, m), 4,64 (1H, t), 4,53 (1H, t), 3,14 (4H, t), 3,06 (6H, s), 2,72 (1H, t), 2,68-2,60 (5H, m), 2,49-2,37 (2H, m), 1,98 (4H, s), 1,65 (2H, d).

Referenční příklad 84

Dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-kyanomethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

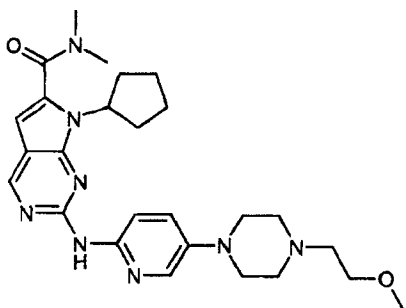


Opakováním postupů, popsaných v příkladu 5, se reakcí hydrochloridu dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (150 mg, 0,318 mmol) získá dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-kyanomethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako téměř bílá pevná látka (99 mg, 66 %). MS(ESI) m/z 474,4 ($M+H$)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9,25 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,15 (1H, d), 8,04-7,97 (1H, d), 7,48-7,41 (1H, dd), 6,59 (1H, s), 4,78-4,69 (1H, m), 3,81 (2H, s), 3,18 (4H, t), 3,06 (6H, s), 2,66 (5H, t), 2,43 (1H, d), 1,99 (4H, s), 1,70-1,61 (2H, m).

Referenční příklad 14

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-methoxy-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Opakováním postupů, popsaných v příkladu 5, se z hydrochloridu dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-

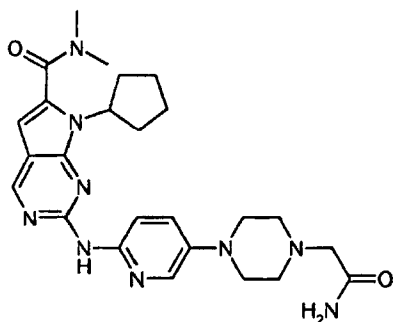


karboxylové (150 mg, 0,318 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-methoxy-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako téměř bílá pevná látka (46 mg, 29 %). MS(ESI) m/z 493,5 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9,22 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,14 (1H, d), 7,98 (1H, d), 7,42 (1H, dd), 6,60 (1H, s), 4,78-4,69 (1H, m), 3,48 (2H, t), 3,26 (3H, s), 3,18-3,09 (4H, m), 3,06 (6H, s), 2,65-2,52 (6H, m), 2,47-2,35 (2H, m), 1,98 (4H, s), 1,71-1,58 (2H, m).

Referenční příklad 10

Dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-karbamoylmethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

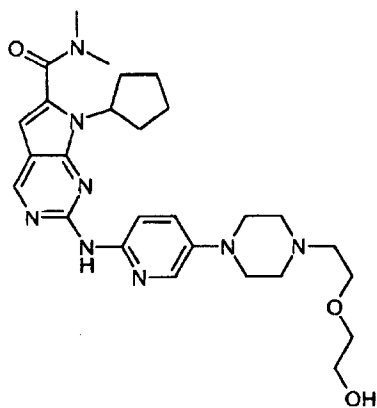


Opakováním postupů, popsaných v příkladu 5, se z hydrochloridu dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,212 mmol) získá dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-karbamoylmethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (66 mg, 63 %) jako téměř bílá pevná látka [po chromatografii na SiO₂; eluce 0 až 10% (2M NH₃ v methanolu/dichlormethan)]. MS(ESI) m/z 492,3 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9,22 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,14 (1H, d), 7,99 (1H, d), 7,43 (1H, dd), 7,25-7,17 (1H, m), 7,17-7,10 (1H, m), 6,59 (1H, s), 4,77-4,70 (1H, m), 3,17 (4H, t), 3,06 (6H, s), 2,94 (2H, s), 2,61 (4H, t), 2,44 (2H, s), 1,98 (4H, s), 1,65 (2H, d).

Referenční příklad 33

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-{4-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethyl]-piperazin-1-yl}-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K míchanému roztoku terc-butyldimethylchlorsilanu (50 hmotn.% roztok v toluenu, 8,38 ml, 24,08 mmol) a imidazolu (1,78 g, 26,09 mmol) v DMF (10 ml) se při 0 °C přidá po kapkách 2-(2-chlorethoxy)ethanol (2,13 ml, 20,07 mmol). Reakční směs se potom míchá 1 hodinu při 0 °C, a potom se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se dalších 17 hodin. Reakční směs se rozdělí mezi diethylether a solanku. Spojené organické fáze se potom vysuší (MgSO₄), zfiltrují se a zahustí za sníženého tlaku, čímž se získá produkt (76 mg, 0,318 mmol), který se bez dalšího čištění přímo použije dále.

Opakováním postupů, popsaných v příkladu 5, se z hydrochloridu dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,212 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-{4-[2-(2-hydroxy-ethoxy)-ethyl]-piperazin-1-yl}-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako téměř bílá pevná látka (13 mg, 12 %).

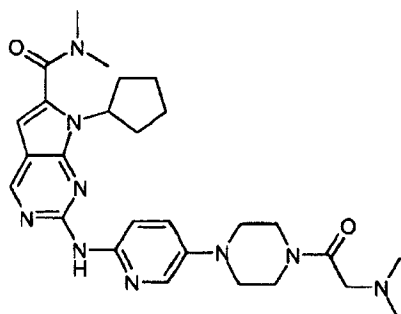
MS(ESI) m/z 523,5 (M+H)⁺ (metoda D).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9,22 (1H, s), 8,75 (1H, s), 8,14 (1H, d), 7,99 (1H, d), 7,43 (1H, dd), 6,60 (1H, s), 4,79-4,68 (1H, m), 4,61 (1H, t), 3,57 (2H, t), 3,50 (2H, q), 3,44 (2H, t), 3,15-3,09 (4H, m), 3,06 (6H, s), 2,60 (4H, t), 2,54 (2H, t), 2,48-2,37 (2H, m), 2,05-1,91 (4H, m), 1,71-1,59 (2H, m).



Referenční příklad 88

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-dimethylamino-acetyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



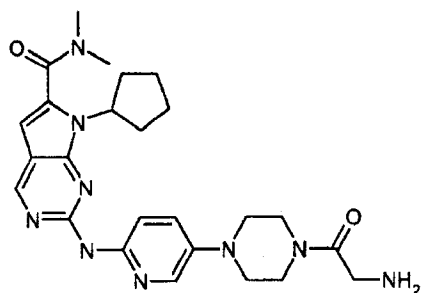
K roztoku hydrochloridu dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (80 mg, 0,170 mmol), N,N-dimethylglycinu (18 mg, 0,170 mmol) a diisopropylethylaminu (0,089 ml, 0,509 mmol) v DMF (1 ml) se přidá TBTU (55 mg, 0,170 mmol) a reakční směs se míchá při teplotě místnosti 1 hodinu. Přidá se methanol (0,5 ml) a reakční směs se přečistí chromatografií na silikagelu (gradient 0-10% 2M NH₃ v methanolu/dichlormethan), čímž se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-dimethylamino-acetyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové, který se dále přečistí rozetřením s acetonitrilem, a získá se potom jako téměř bílá pevná látka (69 mg, 78 %).

MS(ESI) *m/z* 520,4 (M+H)⁺ (metoda D).

¹H NMR (400 MHz, Me-*d*₃-OD): 8,75 (1H, s), 8,28-8,21 (1H, m), 8,01 (1H, d), 7,61-7,55 (1H, m), 6,65 (1H, s), 4,83-4,75 (1H, m), 4,22 (2H, s), 3,84 (2H, t), 3,64 (2H, t), 3,28-3,21 (4H, m), 3,18 (6H, s), 2,92 (6H, s), 2,60-2,50 (2H, m), 2,16-2,02 (4H, m), 1,80-1,70 (2H, m).

Referenční příklad 12

Dimethylamid kyseliny 2-{5-[4-(2-amino-acetyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové





Opakováním postupů, popsaných v příkladu 88, se reakcí hydrochloridu dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (150 mg, 0,318 mmol) a N-BOC-glycinu (56 mg, 0,318 mmol) získá surový produkt, který přečištěním chromatografií na SiO₂ (eluent 0-7% methanol/dichlormethan) poskytne terc-butylester kyseliny (2-{4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-yl}-2-oxo-ethyl)-karbamové, který se přímo použije v dalším kroku.

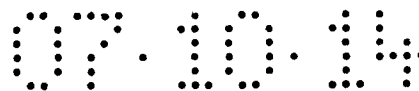
Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny (2-{4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-yl}-2-oxo-ethyl)-karbamové získá dimethylamid kyseliny 2-{5-[4-(2-amino-acetyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako nažloutlá pevná látka (96 mg, 61 %) [po přečištění chromatografií na SiO₂; eluent 0-10% (2M NH₃ v methanolu)/dichlormethan]. MS(ESI) *m/z* 492,3 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,73 (1H, s), 8,28 (1H, d), 8,02 (1H, d), 7,55 (1H, dd), 6,64 (1H, s), 4,82-4,73 (1H, m), 3,97 (2H, s), 3,88-3,78 (2H, m), 3,65 (2H, t), 3,28-3,19 (4H, m), 3,17 (6H, s), 2,55 (2H, d), 2,09 (4H, m), 1,82-1,69 (2H, m).

Benzylaminové analogy

Obecný postup B (redukční aminace působením Na(OAc)₃BH)

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (1 molekv.) a amin (1,1 molekv.) se rozpustí v dichlormethanu (~ 30 obj.) a směs se míchá do vyčerení (v případech, kdy se amin používá jako hydrochloridová sůl, se přidá se 1 molekv. Et₃N). V případě potřeby se přidá MeOH a/nebo 1 kapka kyseliny octové, aby se usnadnilo rozpouštění a tvorba iminu. Potom se ke směsi přidá Na(OAc)₃BH (1,5 - 2 molekv.) a v míchání se pokračuje při teplotě místnosti dalších 16 hodin. Reakční směs se rozloží přidáním vodného roztoku NaHCO₃ a produkt se extrahuje dichlormethanem, ethylacetátem nebo směsí CHCl₃/i-PrOH (2:1). Spojené organické frakce se vysuší (Na₂SO₄ nebo MgSO₄), zfiltrují se a rozpouštědlo se odpaří. Surový produkt se přečistí chromatografií na SiO₂.

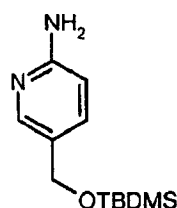


Obecný postup C (redukční aminace působením NaCNBH₃ nebo NaBH₄)

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (1 molekv.) a amin (1-2 molekv.) se rozpustí buďto ve směsi dichlorethan/THF (3:1) nebo ve směsi MeOH/dichlormethan (40 obj.). Směs se míchá při 20-40 °C po dobu 16 hodin, potom se ochladí na 0 °C a přidá se NaCNBH₃ nebo NaBH₄ (1,5 - 2 molekv.) a směs se míchá při teplotě místnosti 5 hodin. Pokud je to nutné, přidá se pro usnadnění reakce další MeOH a/nebo kyselina octová. Směs se potom rozloží vodným roztokem NaHCO₃ (10 ml) a produkt se extrahuje diethyletherem, dichlormethanem nebo směsí CHCl₃/iPrOH (1:1). Spojené organické fáze se vysuší (MgSO₄), zfiltrují se a rozpouštědlo se odpaří. Surový produkt se přečistí chromatografií na SiO₂.

Příklad C

5-(terc-Butyl-dimethyl-silanyloxymethyl)-pyridin-2-ylamin



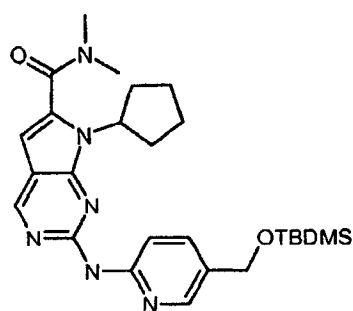
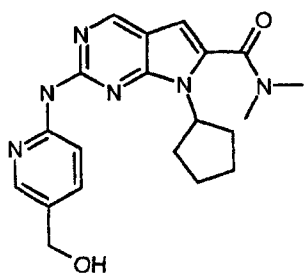
K roztoku (6-chlor-3-pyridinyl)methanolu (12,5 g, 87 mmol) a imidazolu (7,2 g, 105 mmol) v THF (120 ml) se přidá roztok TBDMSCl (15,8 g, 105 mmol) v THF (60 ml). Směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 5 hodin, a potom se zahustí ve vakuu na 1/4 původního objemu. Suspenze se potom rozdělí mezi vodu (60 ml) a EtOAc (60 ml). Organická vrstva se promyje jednou vodou, jednou 5% roztokem KH₂PO₄, jednou nasyceným roztokem NaHCO₃ a nakonec jednou solankou. Potom se vysuší (MgSO₄), zfiltruje, a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Získá se tak 5-(terc-butyldimethylsilanyloxymethyl)-2-chlorpyridin jako bezbarvá kapalina (22,4 g, 83 %). MS(ESI) *m/z* 258,0 (M+H)⁺.

5-(terc-Butyldimethylsilanyloxymethyl)-2-chlorpyridin (5,58 g, 21,6 mmol), BINAP (0,4 g, 0,64 mmol) a benzofenonimin (4,7 g, 25,9 mmol) se rozpustí v toluenu (50 ml) a roztok se odplyní dusíkem. Přidá se terc-butoxid sodný (2,91 g, 30,3 mmol) a Pd₂(dba)₃ (0,2 g, 0,22 mmol) a roztok se znovu odplyní. Směs se zahřívá na 80 °C po dobu 6 hodin a potom se ponechá zchladnout na teplotu místnosti. Směs se čtyřnásobně zředí Et₂O a potom se roztok zfiltruje. Odpaření rozpouštědla ve vakuu poskytne surový benzhydryliden-[5-(terc-butyl

dimethylsilanyloxymethyl)-pyridin-2-yl]-amin. Tento produkt se rozpustí v MeOH (50 ml) a v roztoku hydroxylaminu (2,85 ml 50% vodného roztoku, 46,5 mmol) a roztok se míchá při teplotě místnosti 16 hodin. Směs se zahustí ve vakuu a zbytek se potom rozpustí v Et₂O (50 ml) a zfiltruje se. Filtrát se promyje solankou, vysuší se (MgSO₄) a rozpouštědlo se potom odpaří ve vakuu. Surový červený olej se přečistí chromatografií na SiO₂ (gradient petrolether: EtOAc = 8:1 až 100% EtOAc), a získaný oranžový olej po rozetření s hexanem zkrystaluje. Nakonec se odstraní ve vakuu rozpouštědlo, čímž se získá 5-(terc-butyldimethylsilanyloxymethyl)-pyridin-2-ylamin jako oranžová pevná látka (2,9 g, 56,1 %). MS(ESI) *m/z* 239,2 (M+H)⁺.

Referenční příklad 108

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-hydroxymethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí 5-(terc-butyldimethylsilanyloxymethyl)-pyridin-2-ylaminu (0,980 g, 4,098 mmol) a dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové získá dimethylamid kyseliny 2-[5-(terc-butyldimethylsilanyloxymethyl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (1,136 g, 84 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-5% MeOH/dichlormethan). MS(ESI) *m/z* 495,3 (M+H)⁺.

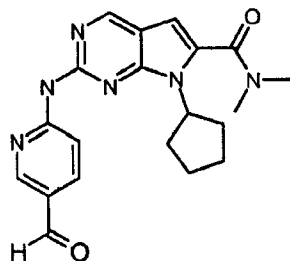
Dimethylamid kyseliny 2-[5-(terc-butylidimethylsilanyloxymethyl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,1 g, 0,202 mmol) se rozpustí v suchém THF (1 ml). Přidá se po kapkách TBAF (1M roztok v THF) (0,303 ml, 0,303 mmol) a směs se potom míchá 16 hodin při teplotě místnosti. Potom se odpaří rozpouštědlo a surový produkt se přečistí chromatografií na SiO₂ (eluent 0-10% MeOH/dichlormethan), čímž se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-hydroxymethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d] pyrimidin-6-karboxylové (60 mg, 78 %).

MS(ESI) m/z 381,2 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,77 (1H, s), 8,45 (1H, d), 8,25 (1H, d), 7,82 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,81-4,75 (1H, m), 4,62 (2H, s), 3,18 (6H, s), 2,65-2,53 (2H, m), 2,11 (4H, d), 1,84-1,72 (2H, m).

Referenční příklad 107

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Metoda MnO₂

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-hydroxymethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (4,49 g, 11,8 mmol) se rozpustí v dichlormethanu (175 ml) a methanolu (75 ml). Za stálého míchání se přidá aktivovaný MnO₂ (85%, 51,1 g, 503 mmol) ve 4 dávkách během 48 hodin. Po dalších 16 hodinách se směs zfiltruje. Filtrát se zahřeje na 38 °C a ve dvou dávkách se přidá další MnO₂ (24 g, 236 mmol) během 5 hodin. Směs se dále míchá 12 hodin, pak se ochladí a zfiltruje. Zahuštění ve vakuu poskytne pevnou látku, která se roztře s MeOH (10 ml), čímž se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (3,8 g, 85 %).

MS(ESI) m/z 379,2 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 10,47 (1H, s), 9,94 (1H, s), 8,91 (1H, s), 8,82 (1H, d), 8,49



(1H, d), 8,18 (1H, dd), 6,69 (1H, s), 4,83-4,73 (1H, m), 3,06 (6H, s), 2,48-2,38 (2H, m), 2,02 (4H, s), 1,68 (2H, d).

Dessova-Martinova perjodinanová metoda

Suspenze Dessova-Martinova perjodinanu (0,435 g, 1,06 mmol) v dichlormethanu (5 ml) a *tert*-BuOH (0,1 ml) se míchá při teplotě místnosti 15 minut. K této směsi se přidá roztok dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-hydroxymethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo [2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,3 g, 0,79 mmol) ve směsi dichlormethan:THF (5 ml:7 ml) během 5 minut. Reakční směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti, načež se přidá ether (50 ml) a 1M NaOH (25 ml). Směs se mohutně míchá 10 minut a potom se fáze oddělí. Vodná vrstva se zpětně extrahuje etherem (25 ml). Spojené organické frakce se promyjí vodou, solankou, vysuší se (MgSO₄) zfiltrují, a rozpouštědlo se odpaří, čímž se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako bílá pevná látka (0,244 g, 82 %).

Referenční příklad 75

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((3S,5R)-3,5-dimethyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (150 mg, 0,396 mmol) a *tert*-butyl-(2R,6S)-2,6-dimethylpiperazin-1-karboxylátu (93 mg, 0,436 mmol) získá *tert*-butylester kyseliny (2S,6R)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-2,6-dimethylpiperazin-1-karboxylové (170 mg, 74 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-10% MeOH/dichlormethan].

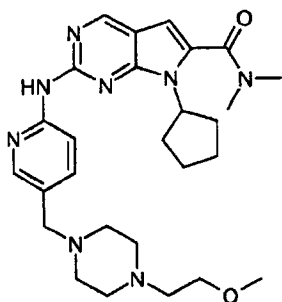
MS(ESI) *m/z* 577,3 (M+H)⁺.

Za použití **obecného postupu A** se reakcí *tert*-butylesteru kyseliny (2S,6R)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-2,6-dimethyl-piperazin-1-karboxylové (170 mg, 0,295 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((3S,5R)-3,5-dimethyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (128 mg, 91 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-10% (2M NH₃ v MeOH)/DCM]. MS(ESI) *m/z* 477,3 (M+H)⁺ (metoda B).

^1H NMR (400 MHz, Me- d_3 -OD): 8,78 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,22 (1H, d), 7,79 (1H, dd), 6,66 (1H, s), 4,83-4,75 (1H, m), 3,61 (2H, s), 3,30-3,21 (2H, m), 3,18 (6H, s), 3,01 (2H, d), 2,65-2,52 (2H, m), 2,11 (4H, d), 1,98 (2H, t), 1,84-1,71 (2H, m), 1,24 (6H, d).

Referenční příklad 77

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-methoxy-ethyl)-piperazin-1-ylmethyl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

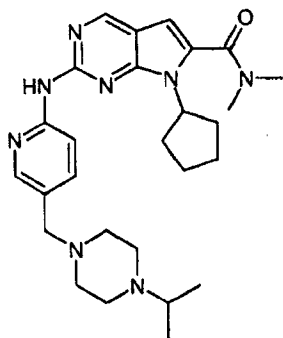


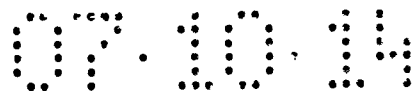
Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,264 mmol) a 1-(2-methoxyethyl)piperazinu (42 mg, 0,291 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-methoxy-ethyl)-piperazin-1-ylmethyl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 71 %) [po chromatografii na SiO_2 ; eluent 0-10% (2M NH_3 v MeOH)/dichlormethan]. MS(ESI) m/z 507,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ (metoda A).

^1H NMR (400 MHz, Me- d_3 -OD): 8,77 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,21 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,74 (1H, m), 3,61-3,47 (4H, m), 3,35 (3H, s), 3,18 (6H, s), 2,81-2,41 (12H, m), 2,11 (4H, d), 1,77 (2H, d).

Referenční příklad 62

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-isopropyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



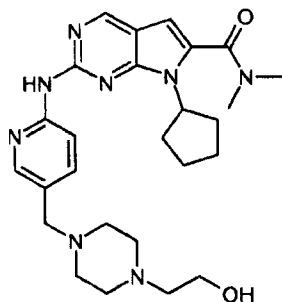


Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (150 mg, 0,396 mmol) a N-isopropylpiperazinu (56 mg, 0,436 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-isopropyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (103 mg, 53 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-10% (2M NH₃ v MeOH)/dichlormethan]. MS(ESI) *m/z* 491,3 (M+H)⁺ (metoda A).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,78 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,22 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,84-4,77 (1H, m), 3,56 (2H, s), 3,33-3,28 (1H, m), 3,18 (6H, s), 2,78-2,49 (10H, m), 2,11 (4H, d), 1,78 (2H, d), 1,11 (6H, d).

Referenční příklad 85

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-ethyl)-piperazin-1-ylmethyl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



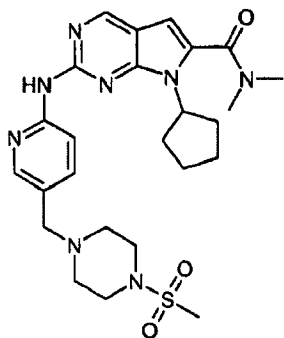
Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (150 mg, 0,396 mmol) a N-(2-hydroxyethyl)piperazinu (57 mg, 0,436 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-ethyl)-piperazin-1-ylmethyl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako téměř bílá pevná látka (78 mg, 40 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-10% (2M NH₃ v MeOH)/DCM].

MS(ESI) *m/z* 493,3 (M+H)⁺ (metoda A).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,77 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,21 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,74 (1H, m), 3,69 (2H, t), 3,55 (2H, s), 3,18 (6H, s), 2,73-2,47 (12H, m), 2,11 (4H, d), 1,78 (2H, d).

Referenční příklad 34

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-methansulfonyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



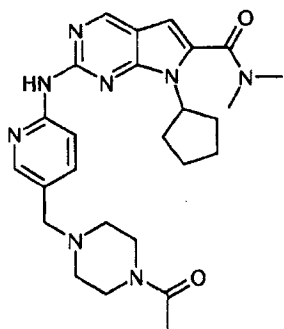
Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (150 mg, 0,396 mmol) a 1-methansulfonylpiperazinu (72 mg, 0,436 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-methansulfonyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako téměř bílá pevná látka (97 mg, 46 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-10% (2M NH₃ v MeOH)/DCM].

MS(ESI) m/z 527,2 (M+H)⁺ (metoda A).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,77 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,22 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,80-4,75 (1H, m), 3,60 (2H, s), 3,30-3,25 (4H, m), 3,18 (6H, s), 2,86 (3H, s), 2,66-2,54 (6H, m), 2,11 (4H, d), 1,83-1,72 (2H, m).

Referenční příklad 61

Dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-acetyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



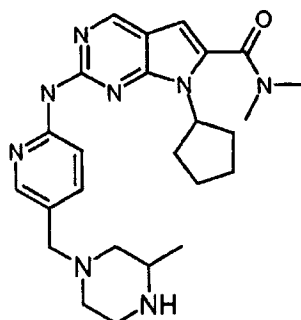


Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (200 mg, 0,528 mmol) a 1-acetyl-piperazinu (75 mg, 0,581 mmol) získá dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-acetyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako téměř bílá pevná látka (96 mg, 37 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-10% (2M NH₃ v MeOH)/dichlormethan]. MS(ESI) m/z 491,2 (M+H)⁺ (metoda A).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,77 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,22 (1H, d), 7,81 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,84-4,74 (1H, m), 3,63 (2H, t), 3,57 (4H, d), 3,18 (6H, s), 2,65-2,44 (6H, m), 2,19-2,03 (7H, m), 1,78 (2H, d).

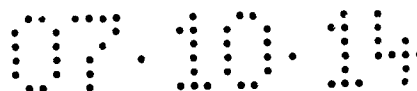
Referenční příklad 54

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu C** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,298 g, 0,788 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 2-methyl-piperazin-1-karboxylové (0,316 g, 1,58 mmol) získá terc-butylester kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové jako nažloutlý olej (0,341 g, 77 %) [po přečištění chromatografií na SiO₂; eluent 2-6% MeOH/DCM]. MS(ESI) m/z 563,3 (M+H)⁺.

Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (0,341 g, 0,606 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidin-6-

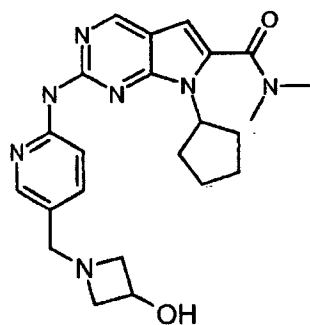


karboxylové jako bílá pevná látka (70 mg, 25 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-10% (2M NH₃ v MeOH)/dichlormethan]. MS(ESI) *m/z* 463,3 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,77 (1H, s), 8,42 (1H, d), 8,21 (1H, s), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,82-4,73 (1H, m), 3,54 (2H, s), 3,18 (6H, s), 3,04-2,94 (1H, m), 2,94-2,76 (4H, m), 2,67-2,51 (2H, m), 2,20-2,01 (5H, m), 1,85-1,73 (3H, m), 1,08 (3H, d).

Referenční příklad 10A

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-hydroxy-azetidín-1-ylmethyl)-pyridín-2-ylamino]-7H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidin-6-karboxylové

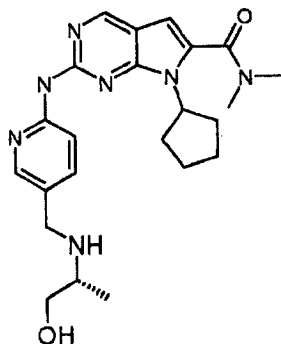


Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridín-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové a 3-hydroxy-azetidíniumchloridu (73 mg, 0,667 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-hydroxy-azetidín-1-ylmethyl)-pyridín-2-ylamino]-7H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidin-6-karboxylové jako nažloutlá pevná látka (0,131 g, 47 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 0-5% (2M NH₃ v MeOH)/DCM]. MS(ESI) *m/z* 436,2 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,78 (1H, s), 8,59-8,41 (2H, m), 8,23 (1H, d), 7,65 (1H, dd), 6,47 (1H, s), 4,88-4,72 (1H, m), 4,55-4,42 (1H, m), 3,84-3,42 (4H, m), 3,17 (6H, s), 3,02 (2H, t), 2,68-2,53 (2H, m), 2,07 (4H, d), 1,73 (2H, d).

Referenční příklad 66

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[[((R)-2-hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-pyridin-2-ylamino]}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



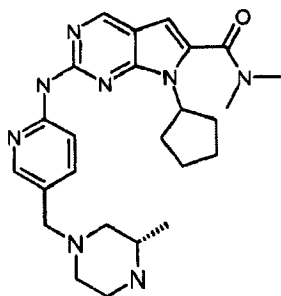
Za použití **obecného postupu C** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (50 mg, 0,132 mmol) a (R)-2-aminopropan-1-olu (20 mg, 0,264 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[[((R)-2-hydroxy-1-methyl-ethylamino)-methyl]-pyridin-2-yl-amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako bílá pevná látka (36 mg, 62 %).

MS(ESI) m/z 438,3 (M+H)⁺ (metoda B).

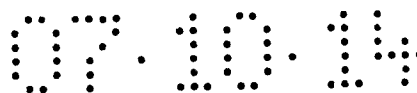
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,75 (1H, s), 8,47 (1H, d), 8,28 (1H, d), 7,73 (1H, dd), 6,47 (1H, s), 4,88-4,77 (1H, m), 3,90 (1H, d), 3,77 (1H, d), 3,67 (1H, dd), 3,36 (1H, dd), 3,18 (6H, s), 2,98-2,88 (1H, m), 2,67-2,53 (2H, m), 2,10 (4H, d), 1,75 (2H, d), 1,16 (3H, d).

Referenční příklad 55

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((S)-3-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu C** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (3,8 g, 10,05 mmol) a

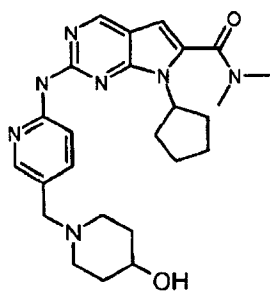


terc-butylesteru kyseliny (S)-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (5,03 g, 25,13 mmol) získá terc-butylester kyseliny (S)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové jako bílá pevná látka (2,45 g, 45 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 50% EtOAc/petrolether].
MS(ESI) *m/z* 563,3 (M+H)⁺.

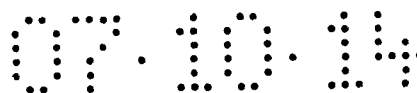
Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny (S)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (2,45 g, 4,35 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((S)-3-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (1,3 g, 65 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 5% (2,0M NH₃ v MeOH)/dichlormethan]. MS(ESI) *m/z* 463,3 (M+H)⁺ (metoda A).
¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,77 (1H, s), 8,42 (1H, d), 8,21 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,72 (1H, m), 3,54 (2H, s), 3,18 (6H, s), 3,03-2,92 (1H, m), 2,92-2,77 (4H, m), 2,67-2,51 (2H, m), 2,20-2,01 (5H, m), 1,86-1,70 (3H, m), 1,07 (3H, d).

Referenční příklad 76

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-hydroxy-piperidin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



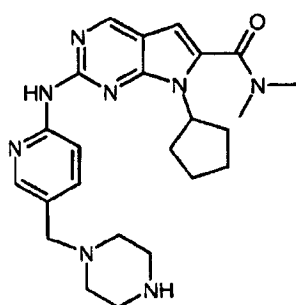
Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,2 g, 0,529 mmol) a piperidin-4-olu (56 mg, 0,556 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-hydroxy-piperidin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako bílá pevná látka (25 mg, 10 %) [po přečištění preparativní LCMS a dalším čištěním chromatografií na SiO₂; eluent 0-7% (2N NH₃ v MeOH/EtOAc)].
MS(ESI) *m/z* 464,3 (M+H)⁺ (metoda B).



^1H NMR (400 MHz, Me- d_3 -OD): 8,77 (1H, s), 8,42 (1H, d), 8,20 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,72 (1H, m), 3,72-3,60 (1H, m), 3,54 (2H, s), 3,18 (6H, s), 2,83 (2H, d), 2,67-2,50 (2H, m), 2,24 (2H, t), 2,11 (4H, d), 1,89 (2H, d), 1,77 (2H, d), 1,69-1,51 (2H, m).

Referenční příklad 42

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-ylmethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,35 g, 0,926 mmol) a terc-butylesteru kyseliny piperazin-1-karboxylové (0,19 g, 1,02 mmol) získá terc-butylester kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-piperazin-1-karboxylové jako bílá pevná látka (0,333 g, 60 %). Tento materiál se použije přímo v následujícím reakčním kroku. MS(ESI) m/z 549,3 (M+H) $^+$.

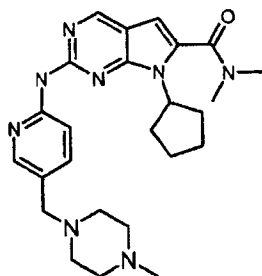
Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-piperazin-1-karboxylové (0,333 g, 0,607 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-ylmethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako bílý prášek (135 mg, 50 %) [po přečištění DOWEXem 550A a dalším čištěním chromatografií na SiO_2 ; eluent 0-12% (2N NH_3 v MeOH/dichlormethan)].

MS(ESI) m/z 449,4 (M+H) $^+$ (metoda D).

^1H NMR (400 MHz, Me- d_3 -OD): 8,78 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,21 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,72 (1H, m), 3,54 (2H, s), 3,18 (6H, s), 2,88 (4H, t), 2,79-2,35 (6H, m), 2,11 (4H, d), 1,78 (2H, d).

Referenční příklad 43

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



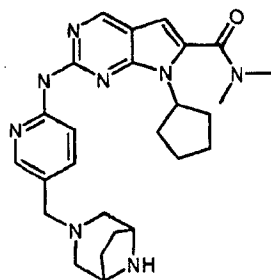
Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,2 g, 0,529 mmol) a N-methylpiperazinu (58 mg, 0,582 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako téměř bílá látka (0,144 g, 60 %) [po dalším přečištění chromatografií na SiO₂; eluent 2-5% (2N NH₃ v MeOH)/dichlormethan].

MS(ESI) m/z 463,3 (M+H)⁺ (metoda B).

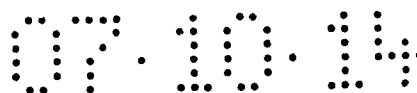
¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,78 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,21 (1H, s), 7,79 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,72 (1H, m), 3,56 (2H, s), 3,18 (6H, s), 2,98-2,35 (10H, m), 2,30 (3H, s), 2,11 (4H, d), 1,78 (2H, d).

Referenční příklad 73

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3,8-diaza-bicyklo[3.2.1]okt-3-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-formyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,153 g, 0,405 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 3,8-diaza-bicyklo[3.2.1]oktan-8-karboxylové (95 mg, 0,445 mmol)



získá terc-butylester kyseliny 3-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-3,8-diaza-bicyklo[3.2.1]oktan-8-karboxylové jako téměř bílá pevná látka (0,186 g, 80 %) [po přečištění chromatografií na SiO₂; eluent 0-5% MeOH/EtOAc]. MS(ESI) *m/z* 575,3 (M+H)⁺.

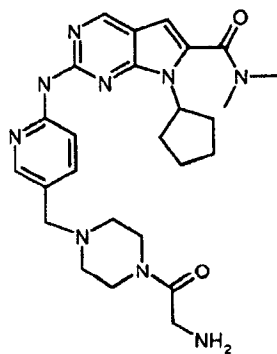
Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny 3-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-ylmethyl]-3,8-diaza-bicyklo[3.2.1]oktan-8-karboxylové (0,186 g, 0,324 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3,8-diaza-bicyklo[3.2.1]okt-3-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako bílá pevná látka (0,105 g, 68 %) [po přečištění chromatografií na SiO₂; eluent 0-5% (2M NH₃ v MeOH)/dichlormethan].

MS(ESI) *m/z* 475,3 (M+H)⁺ (metoda B).

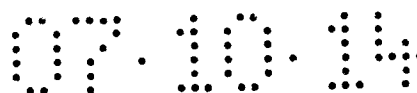
¹H NMR (400 MHz, Me-d₃-OD): 8,77 (1H, s), 8,38 (1H, d), 8,18 (1H, s), 7,76 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,72 (1H, m), 3,49 (2H, s), 3,42 (2H, s), 3,18 (6H, s), 2,68 (2H, dd), 2,64-2,50 (2H, m), 2,29 (2H, d), 2,23-2,01 (4H, m), 2,01-1,85 (2H, m), 1,77 (4H, d).

Referenční příklad 65

Dimethylamid kyseliny 2-{5-[4-(2-amino-acetyl)-piperazin-1-ylmethyl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



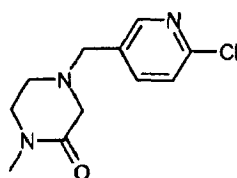
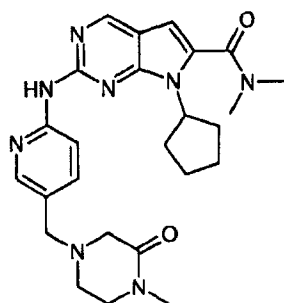
Opakováním postupů, popsaných v příkladu 12, se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-ylmethyl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (0,108 g, 0,241 mmol) a kyseliny terc-butoxykarbonylaminoctové (42 mg, 0,241 mmol) získá dimethylamid kyseliny 2-{5-[4-(2-amino-acetyl)-piperazin-1-ylmethyl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako bílá pevná látka (87 mg, 69 %). MS(ESI) *m/z* 506,3 (M+H)⁺ (metoda B).



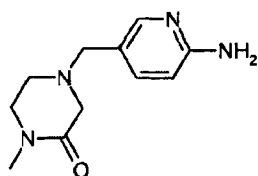
^1H NMR (400 MHz, Me- d_3 -OD): 8,78 (1H, s), 8,43 (1H, d), 8,22 (1H, s), 7,80 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,72 (1H, m), 3,71-3,62 (2H, m), 3,58 (2H, s), 3,54-3,39 (4H, m), 3,18 (6H, s), 2,67-2,55 (2H, m), 2,55-2,41 (4H, m), 2,20-2,03 (4H, m), 1,86-1,68 (2H, m).

Referenční příklad 60

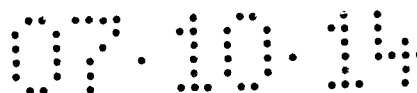
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-methyl-3-oxo-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu B** se reakcí 6-chlor-pyridin-3-karbaldehydu (500 mg, 3,532 mmol) a hydrochloridu 1-methylpiperazin-2-onu (559 mg, 3,709 mmol) získá 4-(6-chlor-pyridin-3-ylmethyl)-1-methyl-piperazin-2-on (712 mg, 84 %) [po chromatografii na SiO_2 ; eluent 0-10% MeOH/dichlormethan]. MS(ESI) m/z 240,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.



Opakováním postupů, popsaných v příkladu C, kroku 2 (až na to, že benzhydrylidenový meziprodukt se extrahuje EtOAc), se reakcí 4-(6-chlor-pyridin-3-ylmethyl)-1-methyl-piperazin-2-onu (712 mg, 2,970 mmol) získá 4-(6-amino-pyridin-3-ylmethyl)-1-methyl-piperazin-2-on (31 mg, 28 %) [po chromatografii na SiO_2 ; eluent 0-10% (2M NH_3 v MeOH)/dichlormethan]. MS(ESI) m/z 221.3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.



Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí 4-(6-amino-pyridin-3-ylmethyl)-1-methyl-piperazin-2-onu (30 mg, 0,136 mmol) a dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (33 mg, 0,113 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-methyl-3-oxo-piperazin-1-ylmethyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (11 mg, 21 %) [po chromatografii na SiO₂; eluent 1-10% (2M NH₃ v MeOH)/DCM].

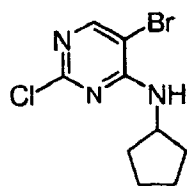
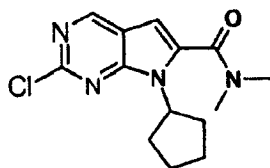
MS(ESI) m/z 477,3 (M+H)⁺ (metoda B).

¹H NMR (400 MHz, Me-*d*₃-OD): 8,78 (1H, s), 8,44 (1H, d), 8,23 (1H, d), 7,81 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 4,83-4,76 (1H, m), 3,62 (2H, s), 3,40 (2H, t), 3,19-3,15 (8H, m), 2,97 (3H, s), 2,78 (2H, t), 2,64-2,53 (2H, m), 2,11 (4H, d), 1,77 (2H, d).

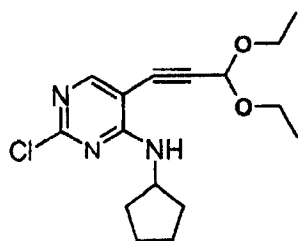
Serie dimethylovaných amidů

Obecný postup F

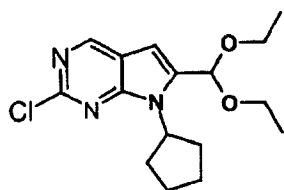
Dimethylamid kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



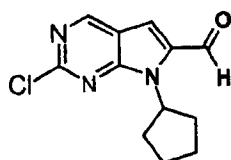
Do velké uzavřené zkumavky se předloží 5-brom-2,4-dichlorpyrimidin (3 g, 13,2 mmol) ve 100 ml EtOH. Potom se k tomuto roztoku při teplotě místnosti přidá cyklopentylamin (1,95 ml, 19,75 mmol) a N,N'-diisopropylethylamin (3,36 ml, 19,8 mmol). Roztok se potom míchá při teplotě místnosti přes noc. Rozpouštědlo se odpaří a surový produkt se přečistí za použití chromatografie na silikagelu (eluent 15% ethylacetát/85% hexan), čímž se získá (5-brom-2-chlor-pyrimidin-4-yl)-cyklopentylamin jako bílá pevná látka (3,25 g, 89 %). MS(ESI) m/z 278,4 (M+H)⁺.



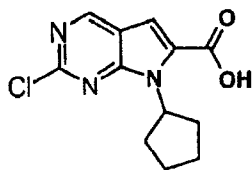
Směs (5-brom-2-chlor-pyrimidin-4-yl)-cyklopentylaminu (1 g, 3,6 mmol), propiolaldehyd-diethylacetalu (550 mg, 4,3 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (252 mg, 0,36 mmol), CuI (70 mg, 0,36 mmol), 20 ml Et₃N a 5 ml DMF se odplynává a zahřívá se na 100 °C. Po 13 hodinách se odstraní rozpouštědlo a produkt se podrobí chromatografii na koloně (eluent 5% ethylacetátu v heptanu až 10% ethylacetátu v heptanu). Zahuštěním se získá [2-chlor-5-(3,3-diethoxy-prop-1-ynyl)-pyrimidin-4-yl]-cyklopentylamin (500 mg, 43 %). MS(ESI) *m/z* 324,5 (M+H)⁺.



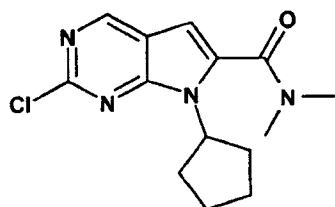
Ke směsi [2-chlor-5-(3,3-diethoxy-prop-1-ynyl)-pyrimidin-4-yl]-cyklopentylaminu (5,21 g, 16 mmol) v THF se přidá 1M tetra-*n*-butylamoniumfluorid v THF (TBAF) (97 ml, 97 mmol) a směs se zahřívá 2 hodiny na 65 °C. Odstraní se rozpouštědlo a produkt se podrobí chromatografii na koloně (eluent heptan/ethylacetát, od 5% do 15%), čímž se získá 2-chlor-7-cyklopentyl-6-diethoxymethyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (4,26 g, 82 %). MS(ESI) *m/z* 324,5 (M+H)⁺.



Ke směsi 2-chlor-7-cyklopentyl-6-diethoxymethyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu (4,26 g, 13 mmol) v dioxanu se přidá koncentrovaná HCl. Reakce je kompletní během 10 minut a potom se přidá voda a provede se extrakce ethylacetátem. Odstraní se rozpouštědlo, čímž se získá hnědý surový produkt. Chromatografie na koloně (eluent heptan/ethylacetát (6:4)) poskytne 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbaldehyd (2,69 g, 82 %). MS(ESI) *m/z* 350,4 (M+H)⁺.



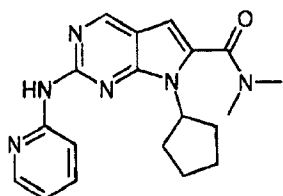
Ke směsi 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karbaldehydu (2,69 g, 11 mmol) a DMF se přidá oxon (7,2 g, 12 mmol) a směs se míchá 6 hodin. Po úplném proběhnutí reakce se přidá voda, čímž se vyloučí kyselina 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylová jako žlutá sraženina (2,69 g, 85 %). MS(ESI) m/z 266,4 (M+H)⁺.



Kyselina 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylová (1,07 g, 4,03 mmol), HBTU (1,53 g, 4,03 mmol) a diisopropylethylamin (2 ml, 12,1 mmol) se rozpustí v dimethylformamidu (20 ml). Přidá se 2 M roztok dimethylaminu v ethanolu (2,4 ml, 4,8 mmol) a směs se míchá 30 minut, aby se dosáhlo úplné konverze. Reakční směs se zředí ethylacetátem a promyje se nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vodou a potom solankou. Organická fáze se vysuší (Na₂SO₄), zfiltruje se a zahustí. Přečištěním chromatografií na silikagelu (eluent ethylacetát:heptan) se získá dimethylamid kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (927 mg, výtěžek 79 %). MS(ESI) m/z 293,1 (M+H)⁺.

Referenční příklad 1

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

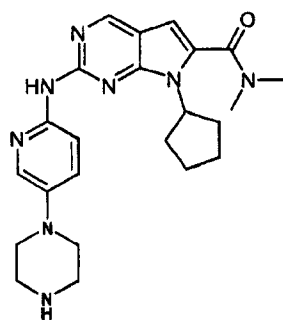


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,34 mmol) a pyridin-2-ylaminu (64 mg, 0,68 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (350 mg, 84 %).

MS(ESI) m/z 351,1 (M+H)⁺.

Příklad 74

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



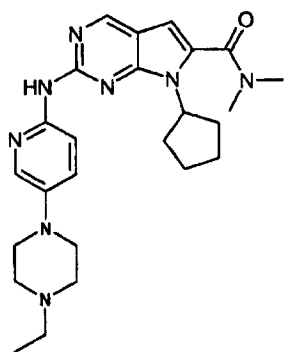
Za použití **Buchwaldovy metody B** a potom **obecného postupu A** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (300 mg, 1,02 mmol) a 5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylaminu (314 mg, 1,13 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (142 mg, 36 %). MS(ESI) m/z 435,3 (M+H)⁺.

Alkylované analogy

Obecný postup D

Referenční příklad 78

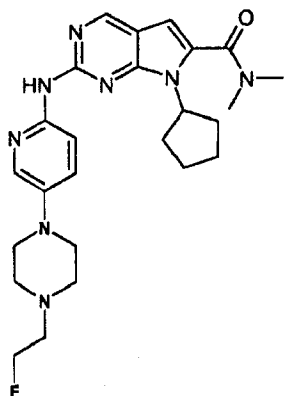
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-ethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K roztoku dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,229 mmol) ve 20 ml THF se přidá uhličitán draselný (100 mg, 0,689 mmol) a potom bromethan (75 mg, 0,687 mmol). Reakční směs se zahřívá 18 hodin na 70 °C. Po chromatografii na SiO₂, [eluent 0-10% (2M NH₃ v MeOH)/dichlormethan] se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-ethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (67 mg, 63 %). MS(ESI) *m/z* 463,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 86

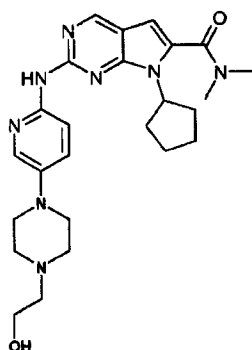
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-fluorethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,229 mmol) a 1-brom-2-fluorethanu (88 mg, 0,687 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-fluorethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (51 mg, 80 %). MS(ESI) m/z 481,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 26

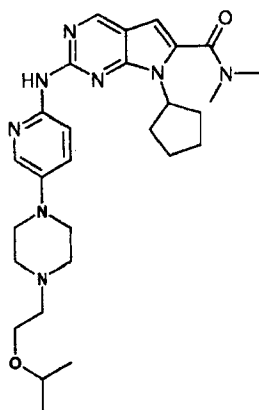
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (34 mg, 0,072 mmol) a 2-bromethanolu (9 mg, 0,216 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (12 mg, 32 %). MS(ESI) m/z 479,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 95

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-isopropoxy-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

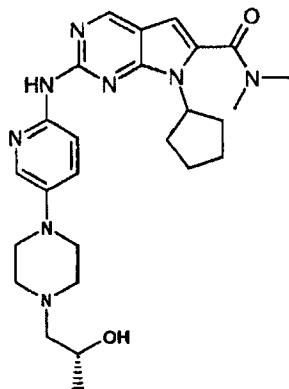


Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,229 mmol) a 2-(2-bromethoxy)propanu (200 mg, 0,252 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-isopropoxy-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (103 mg, 86 %). MS(ESI) m/z 521,3 (M+H)⁺.

Obecný postup E

Referenční příklad 57

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-((R)-2-hydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

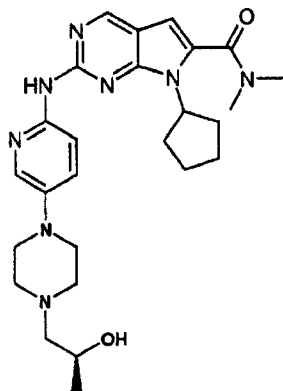


Roztok dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (55 mg, 0,123 mmol) a (R)-2-methyloxiranu (250 mg, 4,3 mmol) v 5 ml ethanolu se zahřívá 18 hodin na 70 °C. Po chromatografii na SiO₂ (eluent 0-10% (2M NH₃ v MeOH)/dichlormethan] se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-((R)-2-hydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (10 mg, 16 %). MS(ESI) m/z 493,3 (M+H)⁺.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,70 (1H, s), 8,32 (1H, d), 7,96 (1 H, s), 7,80 (1H, s), 7,28 (1H, d), 6,45 (1H, s), 5,32 (1H, s), 4,86-4,77 (1H, s), 3,85 (2H, t), 3,44 (2H, t), 3,18 (6H, s), 2,98 (3H, s), 2,62-2,59 (2H, m), 2,11-2,02 (3H,m); 1,74-1,63 (3H, m).

Referenční příklad 56

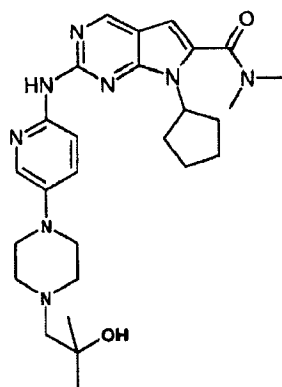
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-((S)-2-hydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu E** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (48 mg, 0,110 mmol) a (S)-2-methyloxiranu (121 mg, 0,22 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-((S)-2-hydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (10 mg, 16 %).
MS(ESI) m/z 493,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 71

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-2-methyl-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

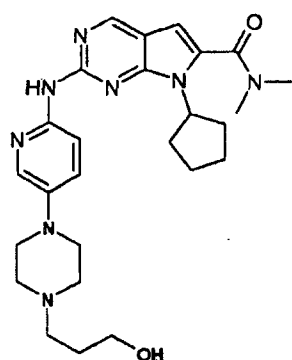


Za použití **obecného postupu E** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (50 mg, 0,115

mmol) a 2,2-dimethyloxiranu (72 mg, 0,805 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-2-methyl-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (17 mg, 29 %). MS(ESI) m/z 507,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 21

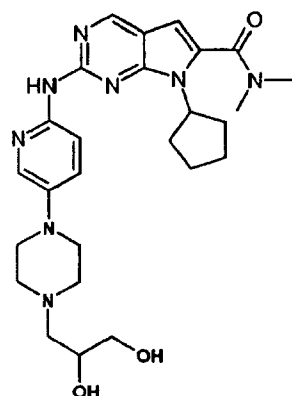
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(3-hydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,229 mmol) a 3-brompropan-1-olu (80 mg, 0,574 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-2-methylpropyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (55 mg, 50 %). MS(ESI) m/z 493,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 44

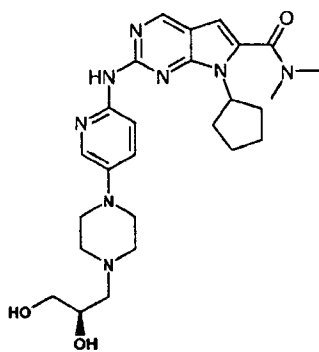
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(3-hydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,229 mmol) a 3-bromopropan-1,2-diolu (106 mg, 0,687 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-2-methyl-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (29 mg, 24 %). MS(ESI) m/z 509,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 46

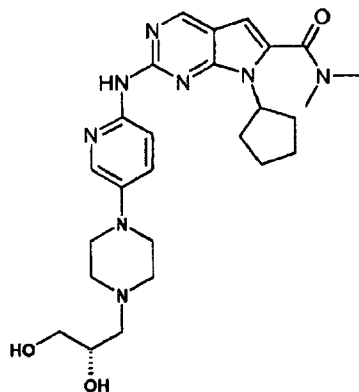
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-((R)-2,3-dihydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a R-(+) glycidolu (51 mg, 0,691 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-((R)-2,3-dihydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (56 mg, 47 %). MS(ESI) m/z 509,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 29

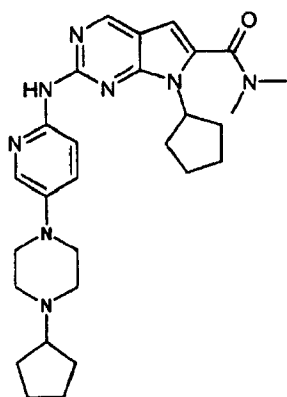
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-((S)-2,3-dihydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu E** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a (S)-(+)-glycidolu (51 mg, 0,691 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-((S)-2,3-dihydroxy-propyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (60 mg, 50 %). MS(ESI) m/z 509,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 79

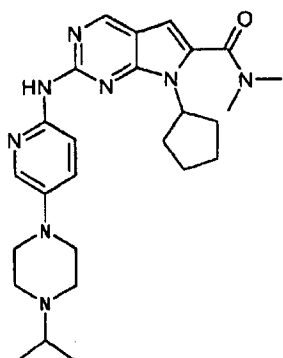
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-cyklopentyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a bromcyklopentanu (103 mg, 0,691 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-cyklopentyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (85 mg, 71 %). MS(ESI) m/z 503,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 63

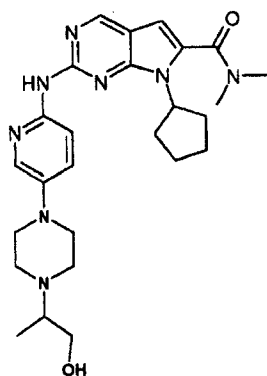
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K roztoku dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (30 mg, 0,069 mmol) v 10 ml dichlormethanu se přidá 1 ml acetonu a NaB(OAc)₃H (30 mg, 0,138 mmol). Vzniklá směs se míchá při teplotě místnosti 18 hodin. Následné přečištění preparativní LCMS poskytne dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (20 mg, 61 %). MS(ESI) *m/z* 477,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 36

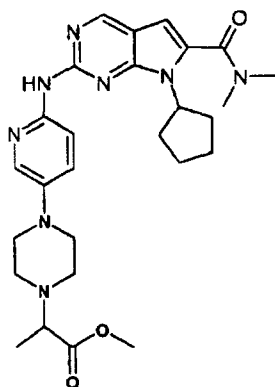
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-1-methyl-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a 2-brompropan-1-olu (96 mg, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-1-methyl-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (28 mg, 25 %). MS(ESI) *m/z* 493,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 101

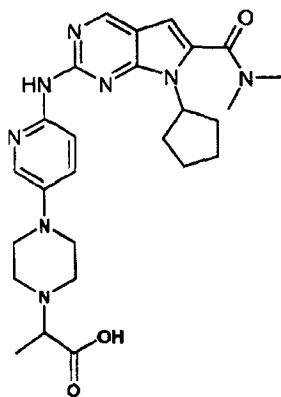
Methylester kyseliny 2-{4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-yl}-propionové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a methylesteru kyseliny 2-brompropionové (31 ml, 0,28 mmol) získá methylester kyseliny 2-{4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-yl}-propionové (46 mg, 39 %).
MS(ESI) m/z 521,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 103

Kyselina 2-{4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-yl}-propionová

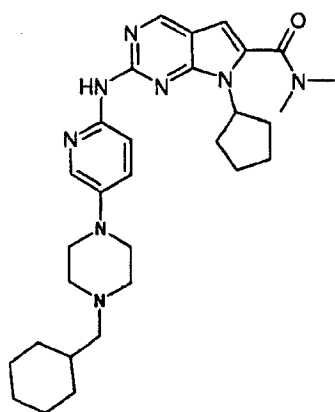


K roztoku methylesteru kyseliny 2-{4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-yl}-propionové (250 mg, 0,48 mmol) v 10 ml THF se přidá roztok LiOH (19 mg, 48 mmol) v 10 ml vody. Po 18hodinovém míchání při teplotě místnosti se vzniklá směs zahustí a zbytek se zředí vodou a nastaví se na pH = 6 přidávkem 1 N HCl. Promyje se dichlormethanem a sražená pevná látka se izoluje, čímž se získá kyselina 2-{4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-piperazin-1-yl}-propionová (225 mg, 94 %).

MS(ESI) m/z 507,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 69

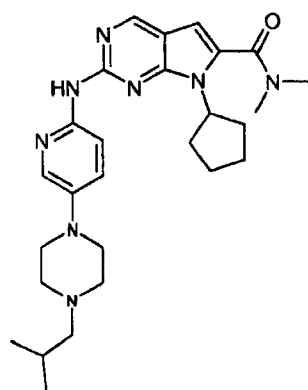
Dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-cyklohexylmethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a brommethylcyklohexanu (122 mg, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-cyklohexylmethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (75 mg, 63 %). MS(ESI) m/z 531,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 92

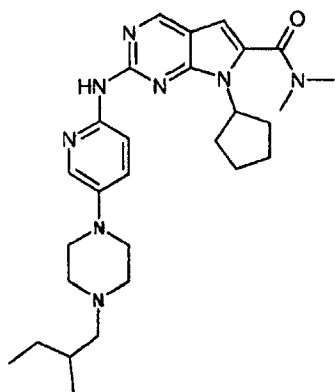
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-isobutyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a 1-brom-2-methylpropanu (94 mg, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-isobutyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (45 mg, 41 %). MS(ESI) m/z 491,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 99

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-methyl-butyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

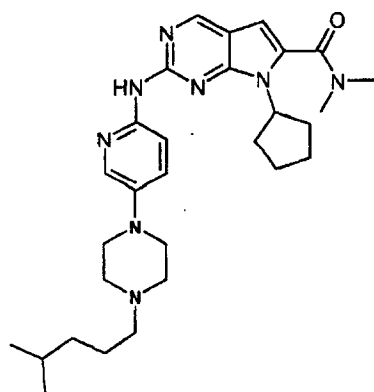


Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a 1-brom-2-methylbutanu (103 mg, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-methyl-butyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (50 mg, 42 %).

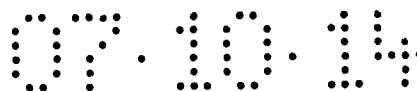
MS(ESI) m/z 505,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 68

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(4-methyl-pentyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



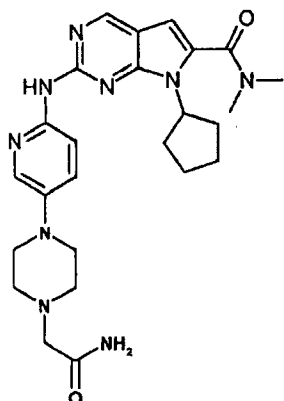
Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a 1-brom-4-methylpentanu (103 mg, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny



7-cyklopentyl-2-{5-[4-(4-methyl-pentyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (50 mg, 42 %). MS(ESI) m/z 519,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 10

Dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-karbamoylmethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

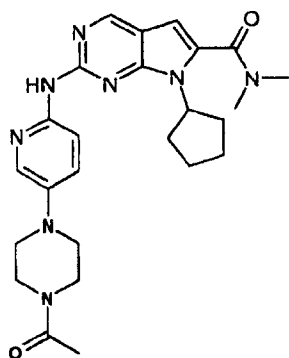


Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a 2-bromacetamidu (95 mg, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-karbamoylmethylpiperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (50 mg, 45 %).

MS(ESI) m/z 492,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 7

Dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-acetyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



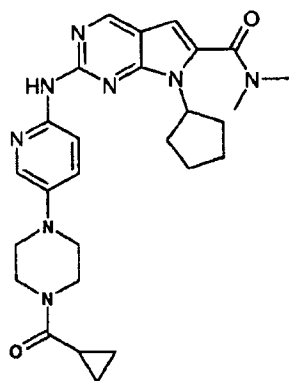
K dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (30 mg, 0,230 mmol) v 5 ml dichlormethanu se přidá 0,5 ml acetanhydridu. Po 10 minutách reakce úplně proběhne a rozetření s acetonitrilem poskytne dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-acetyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (30 mg, 91 %).

MS(ESI) m/z 477,3 (M+H)⁺.

Obecný postup G

Referenční příklad 27

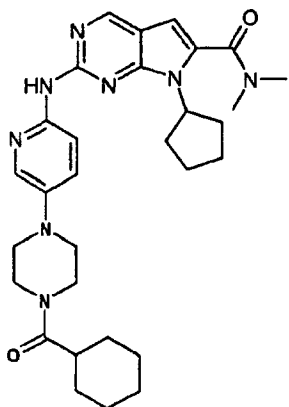
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-cyklopropankarbonyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K roztoku dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a cyklopropankarbonylchloridu (22 ml, 0,690 mmol) v 5 ml CH₂Cl₂ se přidá Et₃N (64 ml, 0,459 mmol) a směs se míchá při teplotě místnosti 18 hodin. Vzniklá směs se zahustí, zředí se nasyceným roztokem NaHCO₃ a extrahuje se ethylacetátem (3x100 ml). Spojené organické fáze se vysuší nad Na₂CO₃ a preparativní HPLC poskytne dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-karbamoylmethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (81 mg, 68 %). MS(ESI) m/z 503,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 23

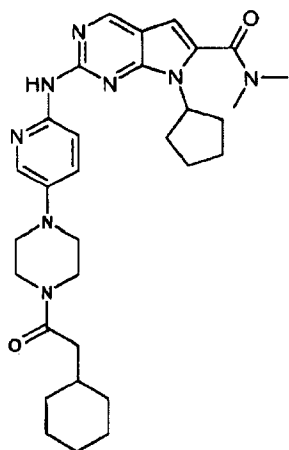
Dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-cyklohexankarbonyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu G** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a cyklohexankarbonylchloridu (37 mg, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 2-[5-(4-cyklohexankarbonyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (63 mg, 49 %). MS(ESI) m/z 545,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 90

Dimethylamid kyseliny 2-{5-[4-(2-cyklohexyl-acetyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

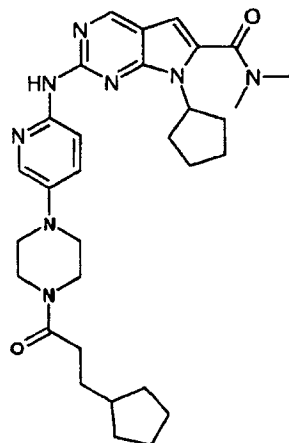


Za použití **obecného postupu G** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a cyklohexylacetylchloridu (39 ml, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny

2-{5-[4-(2-cyklohexylacetyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (61 mg, 47 %). MS(ESI) m/z 559,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 91

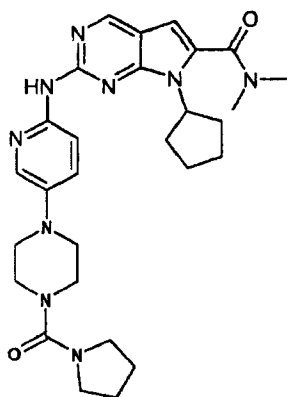
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(3-cyklopentyl-propionyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu G** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a 3-cyklopentylpropionylchloridu (39 ml, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(3-cyklopentyl-propionyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (57 mg, 44 %). MS(ESI) m/z 559,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 22

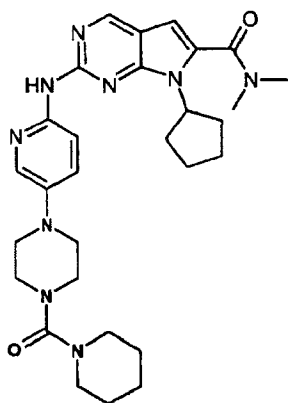
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(pyrrolidin-1-karbonyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu G** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a pyrrolidin-1-karbonylchloridu (25 ml, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(pyrrolidin-1-karbonyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (84 mg, 70 %). MS(ESI) m/z 532,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 94

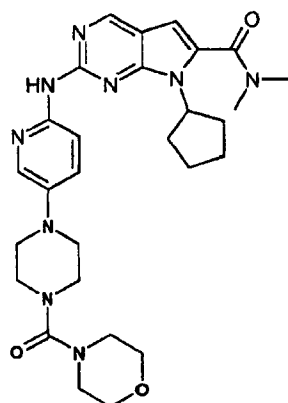
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(piperidin-1-karbonyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu G** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a piperidin-1-karbonylbromidu (32 ml, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(piperidin-1-karbonyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (83 mg, 64 %). MS(ESI) m/z 546,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 38

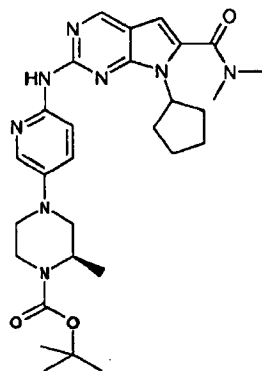
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(morfolin-4-karbonyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu G** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,230 mmol) a morfolin-4-karbonylchloridu (38 mg, 0,690 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(morfolin-4-karbonyl)-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (80 mg, 62 %). MS(ESI) m/z 548,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 30

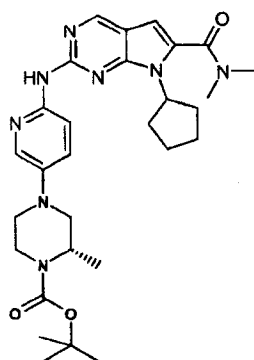
terc-Butylester kyseliny (R)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové



Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (200 mg, 0,200 mmol) a terc-butylesteru kyseliny (R)-2-methylpiperazin-1-karboxylové (200 mg, 0,682 mmol) získá terc-butylester kyseliny (R)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (131 mg, 35 %). MS(ESI) m/z 549,5 (M+H)⁺.

Referenční příklad 31

terc-Butylester kyseliny (S)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové



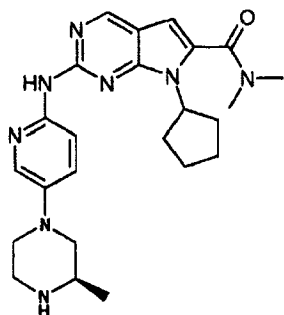


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (200 mg, 0,200 mmol) a terc-butylesteru kyseliny (S)-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (200 mg, 0,682 mmol) získá terc-butylester kyseliny (S)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (157 mg, 42 %).

MS(ESI) m/z 549,5 (M+H)⁺.

Referenční příklad 16

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((R)-3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

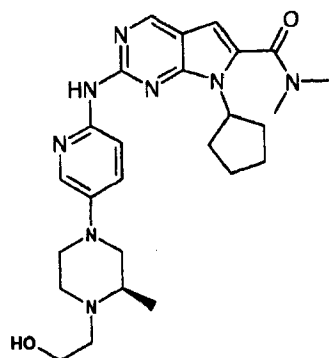


Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny (R)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methyl-piperazin-1-karboxylové (131 mg, 0,200 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((R)-3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (55 mg, 50 %). MS(ESI) m/z 449,3 (M+H)⁺.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,71 (1H, s), 8,38 (1H, d), 8,03 (1H, s), 7,80 (1H, s), 7,36 (1H, d), 6,46 (1H, s), 4,84-4,80 (1H, m), 3,46 (3H, d), 3,18 (6H, s), 3,14-3,05 (2H, m), 2,82-2,75 (1H, m), 2,60-2,55 (3H, m), 2,47-2,41 (1H, m), 2,10-2,04 (4H, m), 1,94-1,67 (4H, m).

Referenční příklad 81

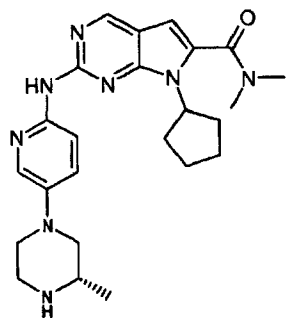
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[(R)-4-(2-hydroxy-ethyl)-3-methyl-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((R)-3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (43 mg, 0,095 mmol) a 2-bromethanolu (13 mg, 0,105 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[(R)-4-(2-hydroxy-ethyl)-3-methyl-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (32 mg, 68 %). MS(ESI) m/z 493,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 17

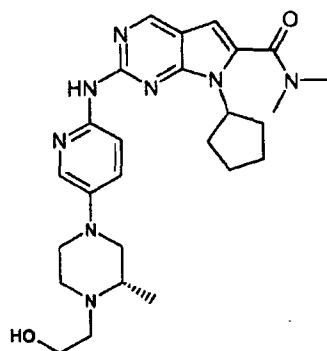
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((S)-3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny (S)-4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2-methylpiperazin-1-karboxylové (145 mg, 0,200 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((S)-3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (86 mg, 72 %). MS(ESI) m/z 449,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 82

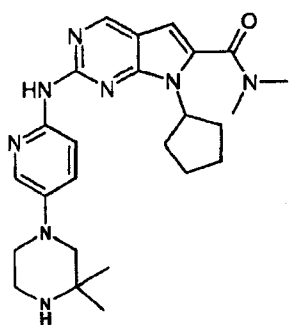
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[(S)-4-(2-hydroxy-ethyl)-3-methyl-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((S)-3-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (74 mg, 0,17 mmol) a 2-bromethanolu (23 mg, 18 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[(S)-4-(2-hydroxy-ethyl)-3-methyl-piperazin-1-yl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (34 mg, 42 %). MS(EI) m/z 493,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 72

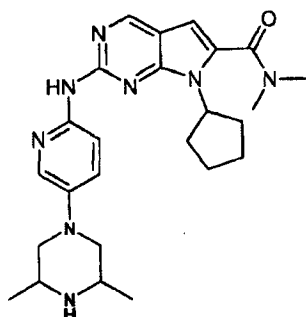
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3,3-dimethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (50 mg, 0,17 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-2,2-dimethyl-piperazin-1-karboxylové (58 mg, 0,15 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3,3-dimethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (20 mg, 25 %). MS(EI) m/z 463,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 24

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3,5-dimethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

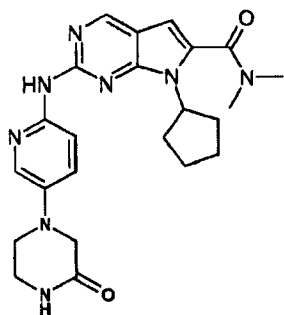


Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-2,6-dimethylpiperazin-1-karboxylové (150 mg, 0,27 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3,5-dimethyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (70 mg, 58 %). MS(ESI) m/z 463,3 (M+H)⁺.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9,33 (1H, s), 8,76 (1H, s), 8,15 (1H, d), 7,98 (1H, s), 7,43, (1H, d), 6,61 (1H, s), 4,76-4,72 (1H, m), 3,50-3,48 (2H, m), 3,08-3,05 (3H, m), 2,89-2,86 (2H, m), 2,50 (12H, s), 2,48-2,43 (2H, m), 2,14-2,05 (2H, m), 2,00-1,90 (2H, m), 1,70-1,60 (1H, m).

Referenční příklad 4

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-oxo-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

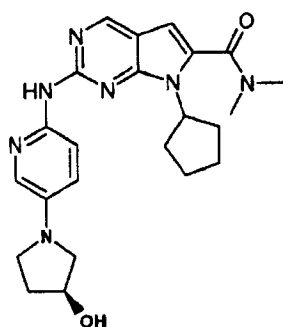


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,34 mmol) a 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-piperazin-2-onu (111 mg, 0,578 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-

oxo-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (35 mg, 35 %). MS(ESI) m/z 449,2 (M+H)⁺.

Referenční příklad 39

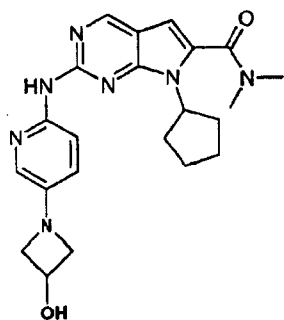
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((S)-3-hydroxy-pyrrolidin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

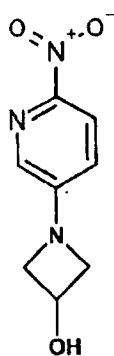


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (101 mg, 0,35 mmol) a N-{(E)-2-[(S)-3-(terc-butyl-dimethyl-silanyloxy)-pyrrolidin-1-yl]-vinyl}-akrylamidinu (153 mg, 0,52 mmol) a následnou deprotekcí TBAF získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-((S)-3-hydroxy-pyrrolidin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (98 mg, 65 %). MS(ESI) m/z 436,3 (M+H)⁺.

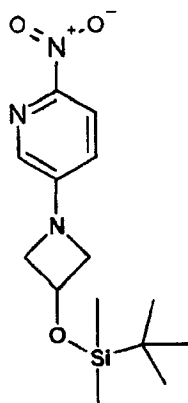
Referenční příklad 32

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-hydroxy-azetidin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

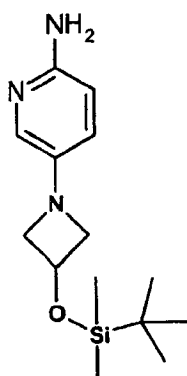




K roztoku 5-brom-2-nitropyridinu (0,54 g, 2,66 mmol), hydrochloridu azetidin-3-olu (0,46 g, 4,17 mmol) a tetrabutylamoniumjodidu (0,103 g, 0,278 mmol) v 6 ml DMSO se přidá uhličitán draselný (1,06 g, 7,68 mmol). Vzniklá směs se zahřívá 3 hodiny na 80 °C. Pak se směs nalije do směsi ethylacetátu a roztoku NaHCO₃. Extrahuje se ethylacetátem (2x250 ml). Organická vrstva se promyje solankou a vysuší se nad Na₂SO₄. Zahuštěním se získá 1-(6-nitro-pyridin-3-yl)-azetidin-3-ol (153 mg, 29 %). MS(ESI) *m/z* 240,1 (M+H)⁺.



K roztoku 1-(6-nitro-pyridin-3-yl)-azetidin-3-olu (154 mg, 0,779 mmol) ve 2 ml DMF se přidá Et₃N (0,2 ml, 0,15 mmol) a TBDMSCl (117 mg, 0,776 mmol). Vzniklá směs se míchá při teplotě místnosti 2 hodiny. Pak se směs nalije do směsi EtOAc/NaHCO₃. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem (2x50 ml). Organická vrstva se promyje solankou a vysuší se nad Na₂SO₄. Zahuštěním se získá 5-[3-(terc-butyl-dimethyl-silanyloxy)-azetidin-1-yl]-2-nitropyridin (175 mg, 73 %).

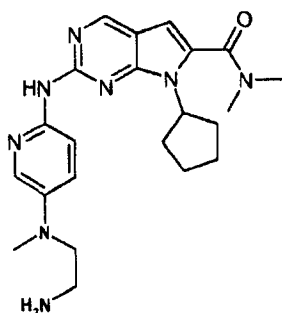


K suspenzi 5-[3-(terc-butyl-dimethyl-silanyloxy)-azetidin-1-yl]-2-nitro-pyridinu (124 mg, 0,401 mmol) v 5 ml ethanolu se přidá práškové železo (206 mg, 3,68 mmol) a potom 2 ml roztoku NH_4Cl . Vzniklá směs se zahřívá 3 hodiny na $80\text{ }^\circ\text{C}$, zfiltruje se přes celit a zahustí se. Zbylá tmavá pevná látka se rozdělí mezi ethylacetát a vodu. Vodná fáze se extrahuje ethylacetátem (2x50 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí solankou, vysuší se nad Na_2SO_4 a zahustí se, čímž se získá 5-[3-(terc-butyl-dimethyl-silanyloxy)-azetidin-1-yl]-pyridin-2-ylamin (105 mg, 94 %).

Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (120 mg, 0,411 mmol) a N-{(E)-2-[(S)-3-(terc-butyl-dimethyl-silanyloxy)-pyrrolidin-1-yl]-vinyl}-akrylamidinu (112 mg, 0,401 mmol), a následnou deprotekcí 2 ml TBAF získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(3-hydroxy-azetidin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (18 mg, 46 %). MS(ESI) m/z 422,5 (M+H)⁺.

Referenční příklad 59

Dimethylamid kyseliny 2-{5-[(2-amino-ethyl)-methyl-amino]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

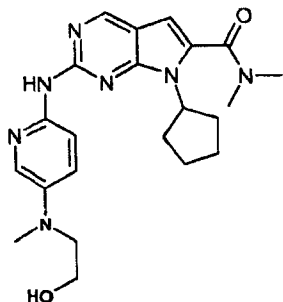




Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (200 mg, 0,68 mmol) a terc-butylesteru kyseliny {2-[(6-amino-pyridin-3-yl)-methyl-amino]-ethyl}-karbamové (200 mg, 0,75 mmol), a následnou deprotekcí za použití **obecného postupu A**, získá dimethylamid kyseliny 2-{5-[(2-amino-ethyl)-methyl-amino]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 34 %). MS(ESI) m/z 423,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 83

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[(2-hydroxy-ethyl)-methyl-amino]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

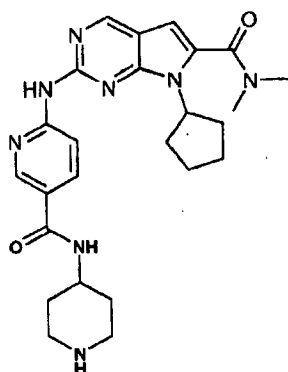


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (25 mg, 0,85 mmol) a [2-(terc-butyldimethylsilanyloxy)-ethyl]-methylaminu (27 mg, 0,094 mmol), a následnou deprotekcí za použití 0,6 ml TBAF v 2 ml THF, získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[(2-hydroxy-ethyl)-methyl-amino]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (18 mg, 72 %). MS(ESI) m/z 424,2 (M+H)⁺.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,78 (1H, s), 8,59-8,41 (2H, m), 8,23 (1H, d), 7,65 (1H, dd), 6,47 (1H, s), 4,88-4,72 (1H, m), 4,55-4,42 (1H, m), 3,84-3,42 (4H, m), 3,17 (6H, s), 3,02 (2H, t), 2,68-2,53 (2H, m), 2,07 (4H, d), 1,73 (2H, d).

Referenční příklad 3

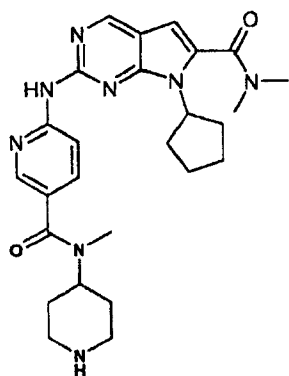
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(piperidin-4-ylkarbamoyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (25 mg, 0,85 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-[(6-amino-pyridin-3-karbonyl)-amino]-piperidin-1-karboxylové (27 mg, 0,094 mmol), a následnou deprotekcí za použití 0,6 ml TBAF v 2 ml THF, získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(piperidin-4-ylkarbamoyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (18 mg, 72 %). MS(ESI) m/z 424,2 (M+H)⁺.

Referenční příklad 53

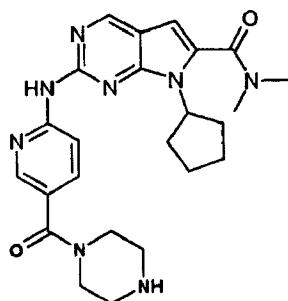
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(methyl-piperidin-4-yl-karbamoyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (170 mg, 0,58 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-[(6-amino-pyridin-3-karbonyl)-methyl-amino]-piperidin-1-karboxylové (292 mg, 0,87 mmol), a následnou deprotekcí za použití **obecného postupu A**, získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(methyl-piperidin-4-yl-karbamoyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (46 mg, 16 %). MS(ESI) m/z 491,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 49

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(piperazin-1-karbonyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

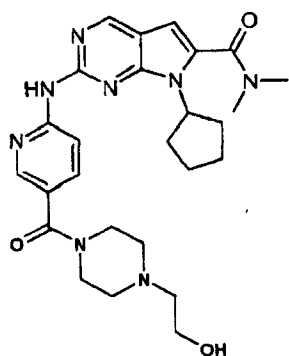


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (205 mg, 0,7 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-karbonyl)-piperazin-1-karboxylové (236 mg, 0,8 mmol), a následnou deprotekcí za použití **obecného postupu A**, získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(piperazin-1-karbonyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (13 mg, 41 %).

MS(ESI) m/z 463,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 96

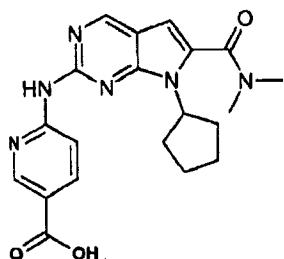
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-ethyl)-piperazin-1-karbonyl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(piperazin-1-karbonyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (200 ml, 0,43 mmol) a 2-bromethanolu (37 mg, 0,52 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{5-[4-(2-hydroxy-ethyl)-piperazin-1-karbonyl]-pyridin-2-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 48 %). MS(ESI) m/z 478,3 (M+H)⁺.

Příklad D

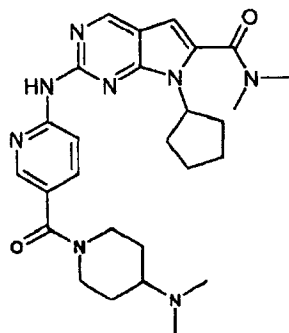
Kyselina 6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-nikotinová



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(piperazin-1-karbonyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (2 g, 6,83 mmol) a methylesteru kyseliny 6-amino-nikotinové (1,15 g, 7,51 mmol), následovanou reakcí s LiOH (1 g, 25 mmol) v 320 ml THF/H₂O, získá kyselina 6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)nikotinová (1,2 g, 55 %). MS(ESI) *m/z* 395,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 50

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-dimethylamino-piperidin-1-karbonyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



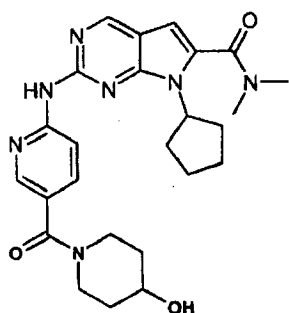
K roztoku kyseliny 6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-nikotinové (100 mg, 0,25 mmol) (**příklad D**) ve 3 ml DMF se přidá dimethylpiperidin-4-yl-amin (33 mg, 0,25 mmol), HBTU (140 mg, 0,38 mmol) a DIPEA (0,088 ml, 0,51 mmol). Směs se míchá 48 hodin při teplotě místnosti, potom se zahustí a zbytek se zředí nasyceným roztokem NaHCO₃ a extrahuje se ethylacetátem (3x100 ml). Spojené organické fáze se vysuší nad Na₂CO₃ a zahuštěním poskytnou načervenalý odparek. Preparativní HPLC poskytne dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-dimethylamino-piperidin-1-karbonyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (60 mg, 46 %).

MS(ESI) m/z 505,5 (M+H)⁺.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9,97 (1H, s), 8,85 (1H, s), 8,34 (1H, d), 7,83 (1H, d), 6,65 (1H, s), 4,80-4,72 (1H, m), 4,06-4,00 (1H, s), 3,06 (6H, s), 2,48-2,40 (2H, m), 2,39-2,30 (2H, m), 2,18 (6H, s), 2,05-1,95 (5H, m), 1,82-1,70 (2h, m), 1,69-1,60 (2H, m), 1,41-1,32 (2H, m), 1,19-1,16 (2H, m).

Referenční příklad 87

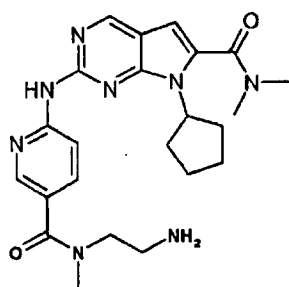
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-hydroxy-piperidin-1-karbonyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K roztoku methylesteru kyseliny 6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-nikotinové (200 mg, 0,49 mmol) a piperidin-4-olu (500 mg, 4,9 mmol) v 5 ml CH₂Cl₂ se po kapkách přidá roztok iPrMgCl (2,45 ml, 4,9 mmol) při 0 °C a směs se přes noc ponechá ohřát na teplotu místnosti. Po 18 hodinách se přidá dalších 10 ekvivalentů i-PrMgCl a směs se míchá dalších 5 hodin. Reakční směs se rozloží nasyceným roztokem NH₄Cl a extrahuje se dichlormethanem (3x100 ml). Spojené organické fáze se promyjí roztokem NaCl, vysuší se nad Na₂SO₄ a zahustí se. Chomatografií na SiO₂ (eluent 85/15% (CH₂Cl₂/MeOH)) se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-hydroxy-piperidin-1-karbonyl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (120 mg, 51 %). MS(ESI) m/z 478,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 41

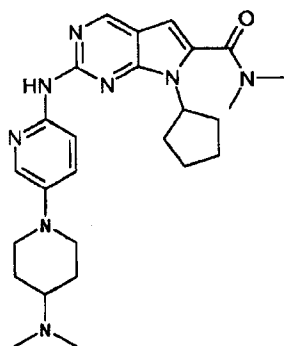
Dimethylamid kyseliny 2-{5-[(2-amino-ethyl)-methyl-karbamoyl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



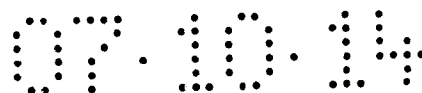
K roztoku kyseliny 6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-nikotinové (100 mg, 0,25 mmol) v DMF se přidá terc-butylester kyseliny (2-methylaminoethyl)-karbamové (53 mg, 0,25 mmol), HBTU (140 mg, 0,38 mmol) a DIPEA (0,088 ml, 0,51 mmol). Směs se míchá 48 hodin při teplotě místnosti, potom se zahustí, zředí se nasyceným roztokem NaHCO₃ a extrahuje se ethylacetátem (3x100 ml). Spojené organické fáze se vysuší nad Na₂CO₃ a zahuštěním poskytnou načervenalý odparek. Po deprotekcii za použití **obecného postupu A** se získá dimethylamid kyseliny 2-{5-[(2-aminoethyl)-methylkarbamoyl]-pyridin-2-ylamino}-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 77 %). MS(ESI) *m/z* 451,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 6

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(4-dimethylamino-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-6'-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



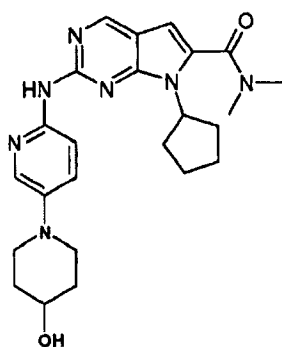
Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,34 mmol) a N-4,N-4-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-4,6'-diaminu (113 mg, 0,51 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(4-dimethylamino-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-6'-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (80 mg, 50 %). MS(ESI) *m/z* 477,3 (M+H)⁺.



¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9,20 (1H, s), 8,74 (1H, s), 8,13 (1H, d), 7,98 (1H, s), 7,43 (1H, d), 6,59 (1H, s), 4,80-4,68 (1H, m), 3,66 (2H, d), 3,10 (6H, s), 2,70-2,60 (2h, m), 2,40-2,30 (2H, m), 2,20 (6H, s), 2,00-2,80 (4H, m), 1,85-1,75 (2H, m), 1,70-1,60 (2H, m), 1,65-1,45 (2H, m).

Referenční příklad 20

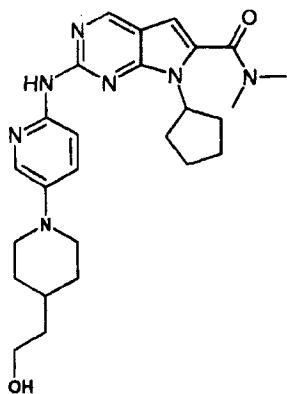
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(4-hydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-6'-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

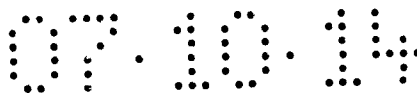


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (290 mg, 0,939 mmol) a 4-(terc-butyl-dimethylsilanyloxy)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-6'-ylaminu (336 mg, 1,09 mmol) a následnou deprotekcí za použití 7 ml TBAF v 28 ml THF, získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(4-dimethylamino-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-6'-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (110 mg, 61 %). MS(ESI) *m/z* 450,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 35

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[4-(2-hydroxyethyl)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-6'-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

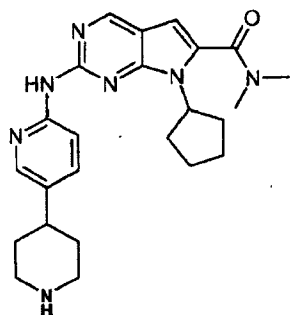




Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,34 mmol) a 2-(6'-amino-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-4-yl)-ethanolu (90 mg, 0,38 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[4-(2-hydroxy-ethyl)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,3']bipyridinyl-6'-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (80 mg, 93 %).
MS(ESI) m/z 478,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 52

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

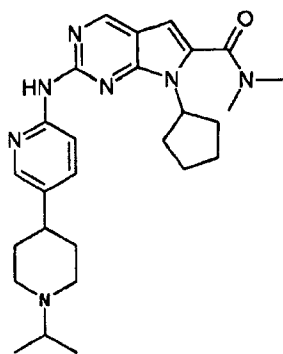


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (300 mg, 1,03 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 6-amino-3',4',5',6'-tetrahydro-2'H-[3,4']bipyridinyl-1'-karboxylové (313 mg, 1,13 mmol), a následnou deprotekcí za použití **obecného postupu A**, získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (212 mg, 48 %). MS(ESI) m/z 434,3 (M+H)⁺.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9,54 (1H, s), 8,80 (1H, s), 8,29 (1H, d), 8,17 (1H, s), 7,62 (1H, d), 6,63 (1H, s), 4,83 (1H, m), 3,38-3,30 (3H, m), 3,06 (6H, s), 3,05-2,95 (1H, m), 2,88-2,80 (1H, m), 2,48-2,40 (4H, m), 2,04-1,95 (4H, m), 1,83-1,70 (2H, m), 1,70-1,64 (2H, m).

Referenční příklad 80

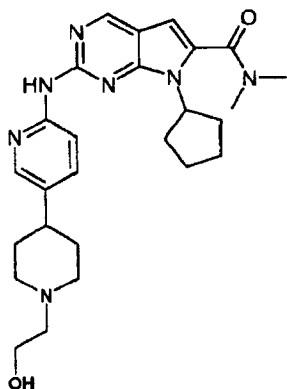
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(1'-isopropyl- 1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K suspenzi dimethylamidu kyseliny 7-cykloptyl-2-(1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,23 mmol) ve směsi dichlormethan/aceton se přidá $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (488 mg, 2,3 mmol), následovaný 3 kapkami ledové kyseliny octové. Po úplném proběhnutí reakce se směs zahustí. Potom se zředí 100 ml vody a zalkalizuje se na pH 12 přikapáním 50% roztoku NaOH (2 ml). Extrakcí dichlormethanem (3x100 ml) a zahuštěním se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(1'-isopropyl-1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (65 mg, 60 %). MS(ESI) m/z 476,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Referenční příklad 100

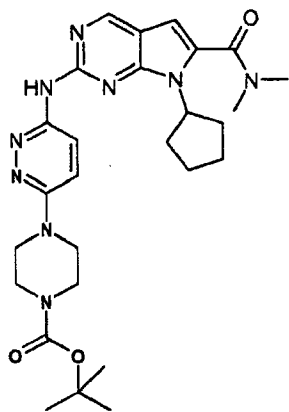
Dimethylamid kyseliny 7-cykloptyl-2-[1'-(2-hydroxy-ethyl)-1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cykloptyl-2-(1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (63 mg, 0,15 mmol) a 2-bromethanolu (90 mg, 0,72 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cykloptyl-2-[1'-(2-hydroxy-ethyl)-1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (37 mg, 53 %). MS(ESI) m/z 478,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Referenční příklad 45

terc-Butylester kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridazin-3-yl]-piperazin-1-karboxylové

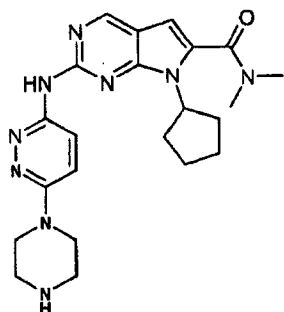


Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (200 mg, 0,68 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-(6-amino-pyridazin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (210 mg, 0,75 mmol) získá terc-butylester kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridazin-3-yl]-piperazin-1-karboxylové (150 mg, 46 %).

MS(ESI) m/z 536,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 67

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(6-piperazin-1-yl-pyridazin-3-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

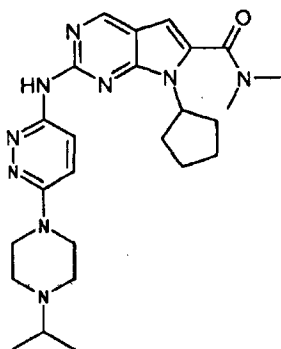


Za použití **obecného postupu A** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (150 mg, 0,28 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(6-piperazin-1-yl-pyridazin-3-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (2 mg, 2 %). MS(ESI) m/z 436,3 (M+H)⁺.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 9,77 (1H, s), 8,76 (1H, s), 8,20 (1H, d), 7,39 (1H, d), 6,60 (1H, s), 5,75 (1H, s), 4,76-4,67 (1H, m), 3,52 (4H, s), 3,05 (6H, s), 2,94 (4H, s), 2,42-2,26 (2H, m), 1,97-1,88 (4H, m), 1,62-1,56 (2H, m).

Referenční příklad 70

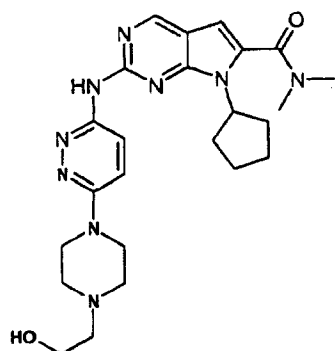
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[6-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-pyridazin-3-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K roztoku dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[3,4']bipyridinyl-6-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,23 mmol) ve směsi dichlormethan/acetone se přidá $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (488 mg, 2,3 mmol), následovaný 3 kapkami ledové kyseliny octové. Po úplném proběhnutí reakce se směs zahustí. Potom se zředí 100 ml vody a zalkalizuje se na pH 12 přikapáním 50% roztoku NaOH (2 ml). Extrakcí dichlormethanem (3x100 ml) a zahuštěním se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[6-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-pyridazin-3-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (77 mg, 70 %). MS(ESI) m/z 478,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Referenční příklad 37

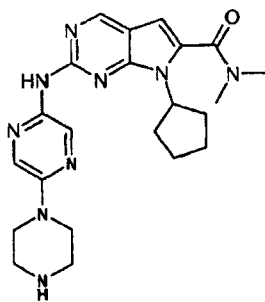
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{6-[4-(2-hydroxy-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridazin-3-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(6-piperazin-1-yl-pyridazin-3-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,229 mmol) a 2-bromethanolu (143 mg, 1,14 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-{6-[4-(2-hydroxy-ethyl)-piperazin-1-yl]-pyridazin-3-ylamino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (14 mg, 13 %).
MS(ESI) m/z 480,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 48

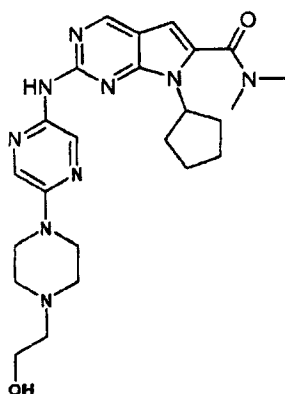
Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,2']bipyrazinyl-5'-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

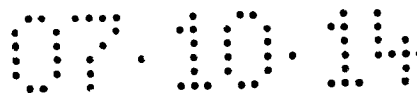


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (100 mg, 0,342 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 5'-amino-2,3,5,6-tetrahydro-[1,2']bipyrazinyl-4-karboxylové (114 mg, 0,408 mmol), a následnou deprotekcí za použití **obecného postupu A**, získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,2']bipyrazinyl-5'-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (82 mg, 45 %). MS(ESI) m/z 436,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 15

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[4-(2-hydroxy-ethyl)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,2']bipyrazinyl-5'-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

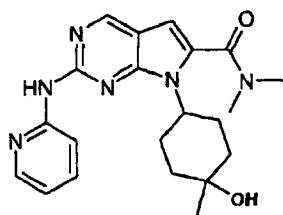




Za použití **obecného postupu D** se reakcí dimethylamidu kyseliny 7-cyklopentyl-2-(3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,2']bipyrazinyl-5'-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (50 mg, 0,114 mmol) a 2-bromethanolu (25 mg, 0,20 mmol) získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[4-(2-hydroxy-ethyl)-3,4,5,6-tetrahydro-2H-[1,2']bipyrazinyl-5'-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (30 mg, 54 %). MS(ESI) m/z 480,6 (M+H)⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 9,19 (1H, s), 8,61 (1H, s), 7,76 (1H, s), 7,48 (1H, s), 7,19 (1H, s), 6,36 (1H, s), 4,80-4,68 (1H, m), 3,66-3,57 (2h, s), 3,54 (6H, s), 2,65 (3H, s), 2,59 (2h, s), 2,56-2,40 (2H, m), 2,03-1,93 (3h, m), 1,68-1,56 (4H, m).

Referenční příklad 40

Dimethylamid kyseliny 7-(4-hydroxy-4-methyl-cyklohexyl)-2-(pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

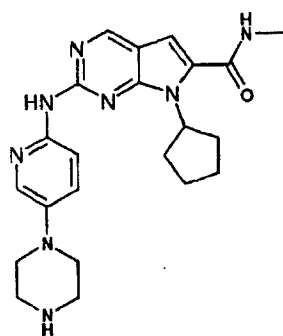


K roztoku dimethylamidu kyseliny 7-(4-oxo-cyklohexyl)-2-(pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (25 mg, 0,066 mmol) v THF se přidá 20 kapek MeMgI. Po úplném proběhnutí reakce se přidá 25 ml vody, následované 30 ml vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Extrakce dichlormethanem (3x50 ml) a zahuštění poskytne směs diastereomerů. Preparativní HPLC poskytne dimethylamid kyseliny 7-(4-hydroxy-4-methyl-cyklohexyl)-2-(pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (2 mg, 4 %).

MS(ESI) m/z 395,3 (M+H)⁺.

Referenční příklad 58

Methylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové

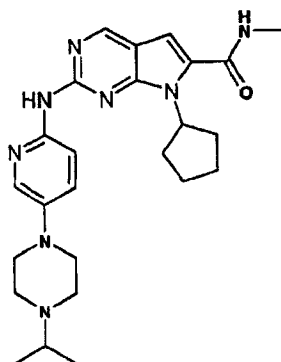


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí methylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (500 mg, 1,80 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (550 mg, 1,98 mmol) získá methylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (580 mg, 77 %). MS(ESI) m/z 421,2 (M+H)⁺.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8,72 (1H, s), 8,38 (1H, d), 8,02 (1H, s), 7,77 (1H, s), 7,36 (1H, dd), 6,67 (1H, s), 6,16-6,10 (1H, m), 5,50-5,48 (1H, m), 3,15 (3H, d), 3,03 (2H, d), 2,68-2,58 (2H, m), 2,14-2,05 (4H, m), 1,80-1,61 (8H, m).

Referenční příklad 51

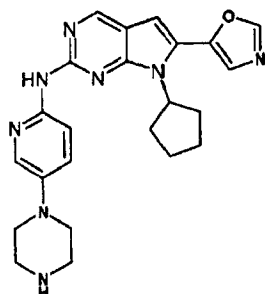
Methylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



K suspenzi methylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (500 mg, 1,20 mmol) v acetonu se přidá NaBH(OAc)₃ (2,5 g, 12 mmol), následovaný 15 kapkami ledové kyseliny octové. Po úplném proběhnutí reakce se směs zahustí. Potom se zředí 250 ml vody a zalkalizuje se na pH 12 přikapáním 50% roztoku NaOH. Extrakcí dichlormethanem (3x250 ml) a zahuštěním se získá methylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (277 mg, 50 %). MS(ESI) m/z 463,4 (M+H)⁺.

Referenční příklad 11

(7-Cyklopentyl-6-oxazol-5-yl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-yl)-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-yl)-amin

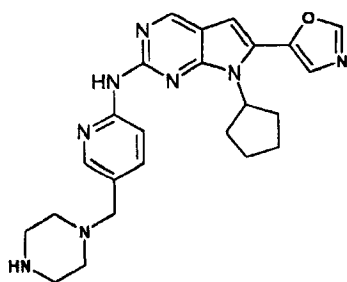


Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí 2-chlor-7-cyklopentyl-6-oxazol-5-yl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu (70 mg, 0,24 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-yl)-piperazin-1-karboxylové (74 mg, 0,27 mmol), a následnou deprotekcí za použití **obecného postupu A**, získá (7-cyklopentyl-6-oxazol-5-yl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-yl)-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-yl)-amin (25 mg, 24 %). MS(ESI) m/z 431,2 (M+H)⁺.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 9,33 (1H, s), 8,78 (1H, s), 8,59 (1H, s), 8,13 (1H, d), 7,98 (1H, d), 7,61 (1H, s), 7,40 (1H, dd), 6,78 (1H, s), 4,70-4,77 (1H, m), 3,04-3,01 (4H, m), 2,86-2,84 (4H, m), 2,03-2,01 (6H, m), 1,68-1,67 (2H).

Referenční příklad 18

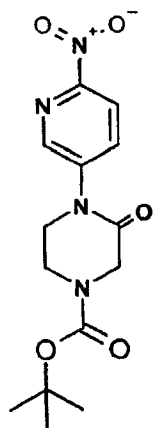
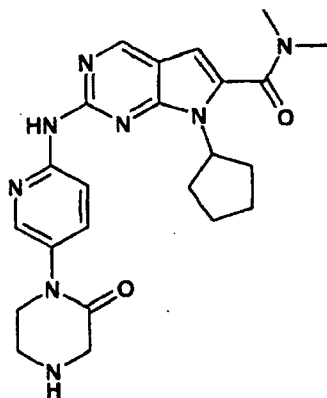
(7-Cyklopentyl-6-oxazol-5-yl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-yl)-(5-piperazin-1-ylmethyl-pyridin-2-yl)-amin



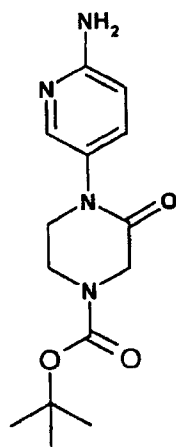
Za použití **Buchwaldovy metody B** se reakcí 2-chlor-7-cyklopentyl-6-oxazol-5-yl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu (100 mg, 0,346 mmol) a terc-butylesteru kyseliny 4-(6-amino-pyridin-3-ylmethyl)-piperazin-1-karboxylové (106 mg, 0,363 mmol), a následnou deprotekcí za použití **obecného postupu A**, získá (7-cyklopentyl-6-oxazol-5-yl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-yl)-(5-piperazin-1-ylmethyl-pyridin-2-yl)-amin (23 mg, 15 %). MS(ESI) m/z 445,2 (M+H)⁺.

Referenční příklad 109

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(2-oxopiperazin-1-yl)pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Směs 5-brom-2-nitropyridinu (200 mg, 1 mmol), 1-Boc-3-oxopiperazinu (240 mg, 1,2 mmol), Xantphos (43 mg, 0,075 mmol), uhličitanu cesného (326 mg, 1 mmol) a octanu palladnatého (11 mg, 0,049 mmol) v dioxanu (5,5 ml) se zahřívá 0,5 hodiny na 120 °C v přístroji Personal Chemistry microwave apparatus. Analýza TLC i LCMS ukazuje, že reakce proběhla úplně. Reakční směs se zfiltruje přes celit, filtrát se odpaří ve vakuu a zbytek se rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Organická vrstva se promyje solankou, vysuší se (Na₂SO₄) a odpaří se ve vakuu. Přechištění bleskovou chromatografií na silice (eluent ethylacetát) poskytne terc-butylester kyseliny 4-(6-nitropyridin-3-yl)-3-oxopiperazin-1-karboxylové jako nahnědlou pevnou látku (248 mg, 77 %). MS (ESI) m/z 323 [M+H]⁺.



Opakováním postupů, popsaných v **příkladu B**, se terc-butylester kyseliny 4-(6-nitropyridin-3-yl)-3-oxopiperazin-1-karboxylové (240 mg, 0,74 mmol) převede na terc-butylester kyseliny 4-(6-aminopyridin-3-yl)-3-oxopiperazin-1-karboxylové (225 mg). MS (ESI) m/z 293 $[M+H]^+$.

Směs dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (225 mg, 0,77 mmol), terc-butylesteru kyseliny 4-(6-aminopyridin-3-yl)-3-oxopiperazin-1-karboxylové (204 mg, 0,69 mmol), BINAP (24 mg, 0,038 mmol), octanu palladnatého (6 mg, 0,027 mmol) a uhličitanu cesného (340 mg, 1,05 mmol) v dioxanu (4 ml) se propláchně dusíkem a zahřívá se na 100 °C přes noc. Přidá se další octan palladnatý (6 mg, 0,027 mmol) a BINAP (24 mg, 0,038 mmol) a směs se zahřívá další 2 hodiny na 110 °C, po kteréžto době analýza LCMS i TLC ukazuje, že reakce proběhla úplně. Rozpouštědlo se odstraní ve vakuu a zbytek se míchá ve vodě za sonikace v sonikační lázni. Suspenze se zfiltruje a filtrační koláč se promyje heptanem. Vysušení ve vakuu poskytne terc-butylester kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-3-oxo-piperazin-1-karboxylové jako světle hnědou pevnou látku (350 mg, 83 %).

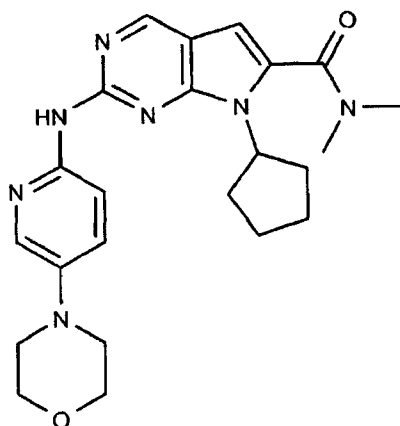
MS (ESI) m/z = 549 $[M+H]^+$.

Za použití **obecného postupu A** se reakcí terc-butylesteru kyseliny 4-[6-(7-cyklopentyl-6-dimethylkarbamoyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2-ylamino)-pyridin-3-yl]-3-oxo-piperazin-1-karboxylové získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-[5-(2-oxopiperazin-1-yl)pyridin-2-ylamino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (10 mg, 3,5 %).

MS (ESI) m/z = 448 $[M+H]^+$.

Referenční příklad 110

Dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-morfolin-4-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové



Směs 5-morfolin-4-yl-pyridin-2-ylaminu (0,61 g, 3,4 mmol; připraven za použití metod, které jsou podobné metodám popsaným v příkladu A a v příkladu B), dimethylamidu kyseliny 2-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové (1,00 g, 3,4 mmol), BINAP (106 mg, 0,17 mmol), octanu palladnatého (38 mg, 0,17 mmol) a uhličitanu cesného (1,6 g, 4,9 mmol) v dioxanu (20 ml) se zahřívá 6 hodin na 110 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti se přidá heptan (30 ml) a směs se míchá 1 hodinu. Vzniklá suspenze se zfiltruje a filtrační koláč se suspenduje ve vodě za mohutného míchání. Vzniklá suspenze se znovu zfiltruje a filtrační koláč se promyje vodou a potom diethyletherem, načež se vysuší ve vakuu, čímž se získá dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-morfolin-4-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové jako světle hnědá pevná látka (1,30 g, 88 %).

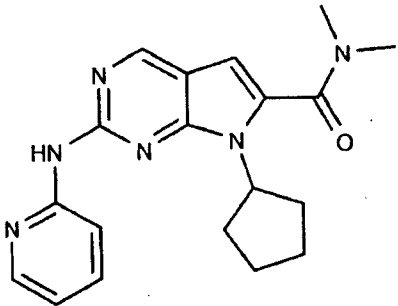
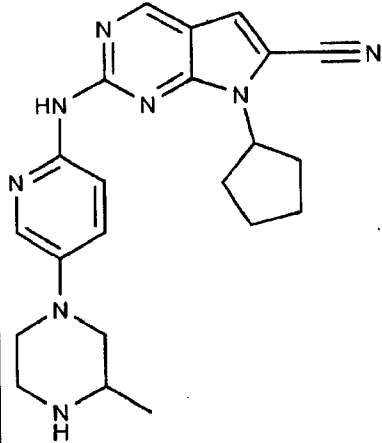
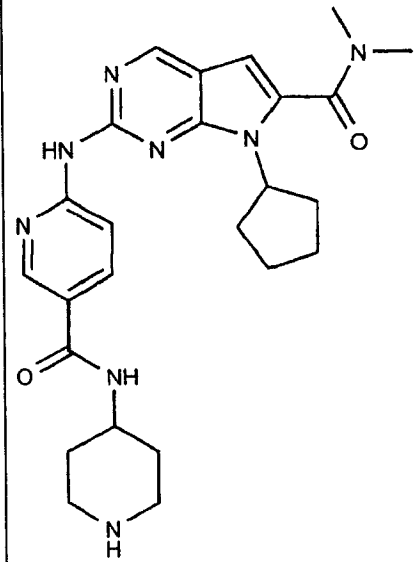
MS (ESI) $m/z = 436,1 [M+H]^+$.

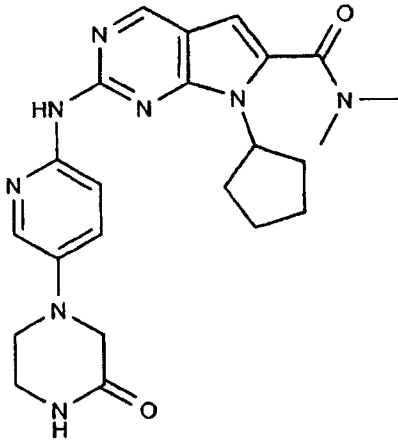
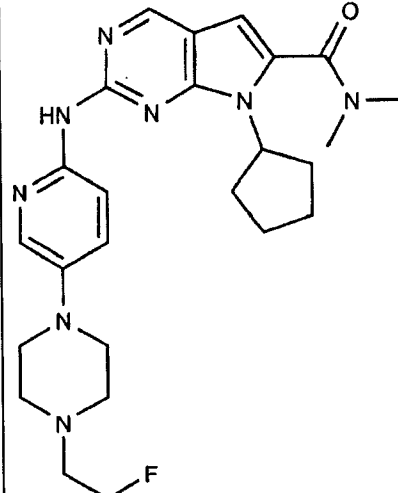
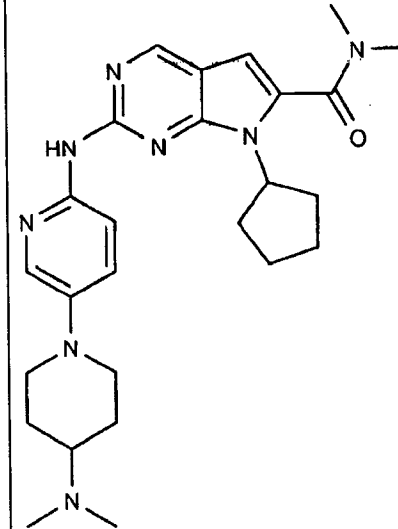
Následující sloučeniny v tabulce 1 a 2 jsou příklady sloučenin, které je možno připravit za použití syntetických postupů, exemplifikovaných v experimentální části. I když syntéza všech sloučenin není popsána, odborník v oboru může být schopen každou z těchto sloučenin za použití uvedených syntetických postupů připravit.

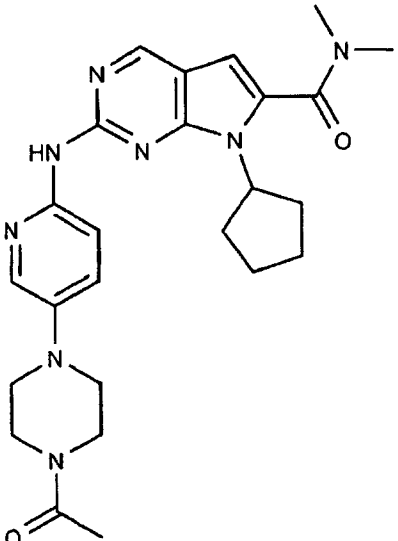
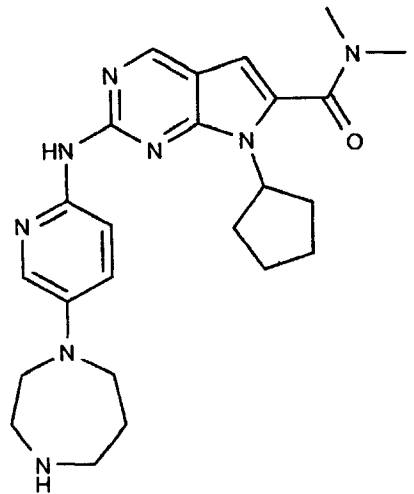
TABULKA 1

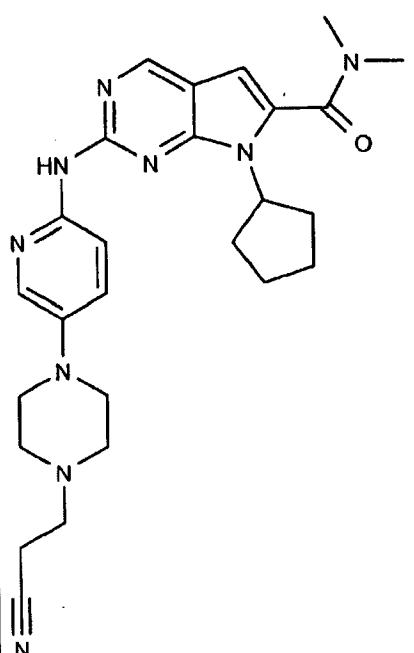
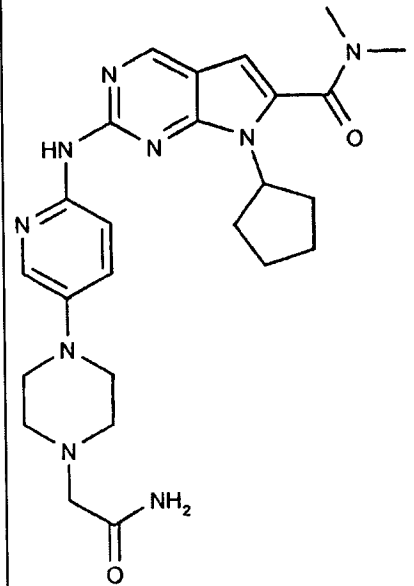
Sloučenina

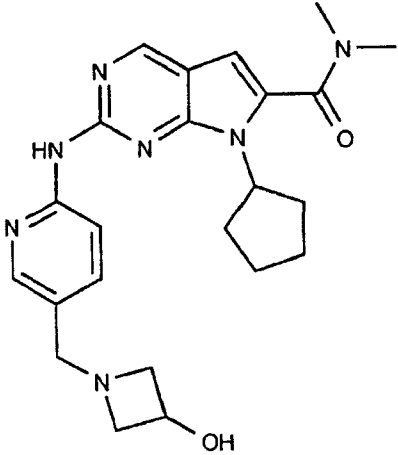
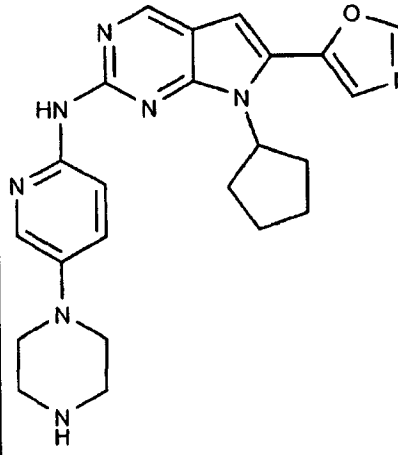
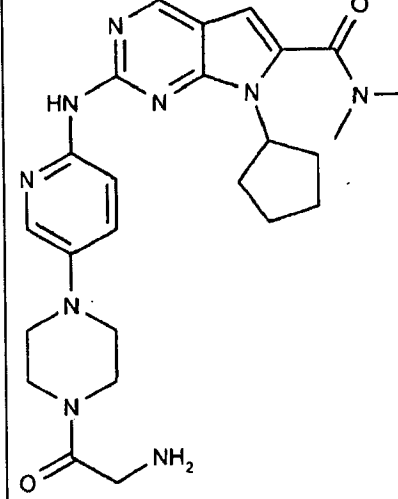
Číslo příkladu

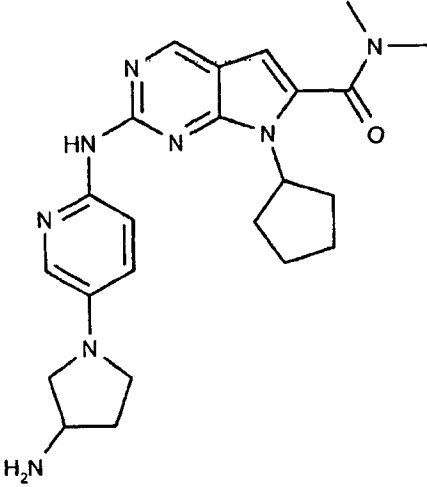
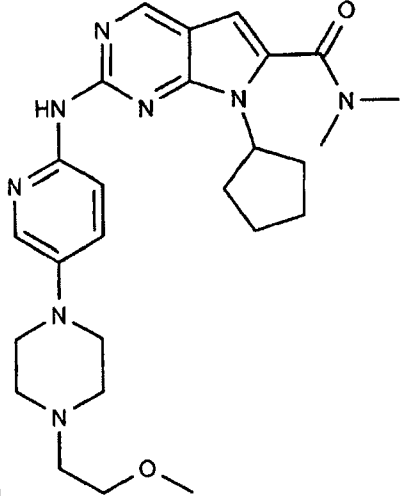
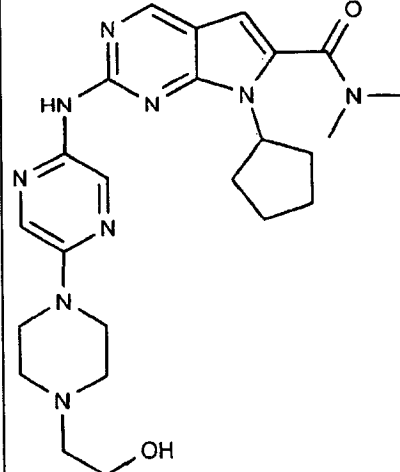
Sloučenina	Číslo příkladu
	Referenční příklad 1
	Referenční příklad 2
	Referenční příklad 3

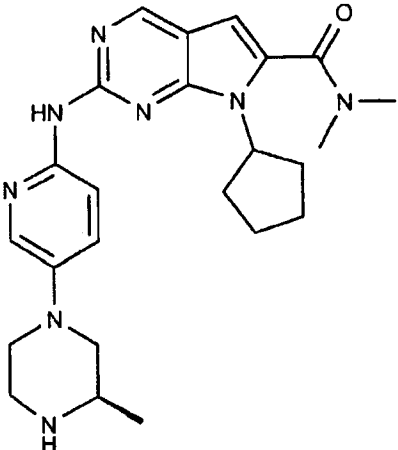
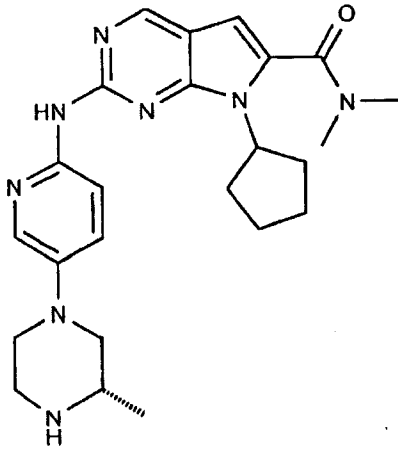
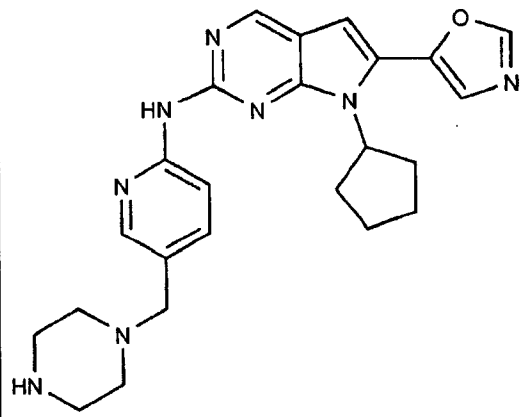
 <p>The structure shows a fused bicyclic system consisting of a pyridine ring and a piperazine ring. The pyridine ring is substituted with a carbonyl group (C=O) and a piperazine ring. The piperazine ring is further substituted with a carbonyl group (C=O) and a piperazine ring. The piperazine ring is also substituted with a carbonyl group (C=O) and a piperazine ring.</p>	<p>Referenční příklad 4</p>
 <p>The structure shows a fused bicyclic system consisting of a pyridine ring and a piperazine ring. The pyridine ring is substituted with a carbonyl group (C=O) and a piperazine ring. The piperazine ring is further substituted with a carbonyl group (C=O) and a piperazine ring. The piperazine ring is also substituted with a fluoromethyl group (-CH₂F).</p>	<p>Referenční příklad 5</p>
 <p>The structure shows a fused bicyclic system consisting of a pyridine ring and a piperazine ring. The pyridine ring is substituted with a carbonyl group (C=O) and a piperazine ring. The piperazine ring is further substituted with a carbonyl group (C=O) and a piperazine ring. The piperazine ring is also substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂).</p>	<p>Referenční příklad 6</p>

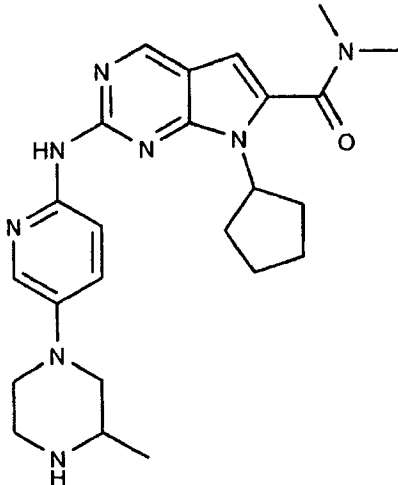
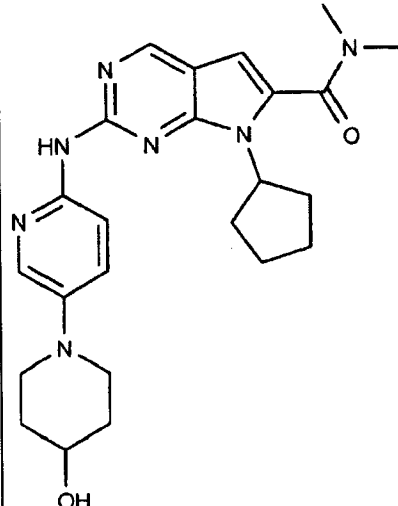
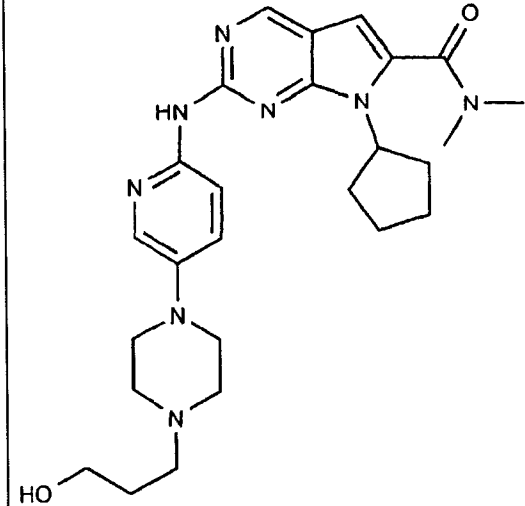
 <p>The structure shows a benzimidazole core. The 2-position of the benzimidazole ring is substituted with a piperazine ring, which is further substituted with an acetamide group (-NHCOCH₃). The 5-position of the benzimidazole ring is substituted with a dimethylacetamide group (-N(CH₃)₂COCH₃). The 6-position of the benzimidazole ring is substituted with a cyclopentyl ring.</p>	<p>Referenční příklad 7</p>
 <p>The structure shows a benzimidazole core. The 2-position of the benzimidazole ring is substituted with a piperazine ring, which is further substituted with a dimethylacetamide group (-N(CH₃)₂COCH₃). The 5-position of the benzimidazole ring is substituted with a dimethylacetamide group (-N(CH₃)₂COCH₃). The 6-position of the benzimidazole ring is substituted with a cyclopentyl ring.</p>	<p>Referenční příklad 8</p>

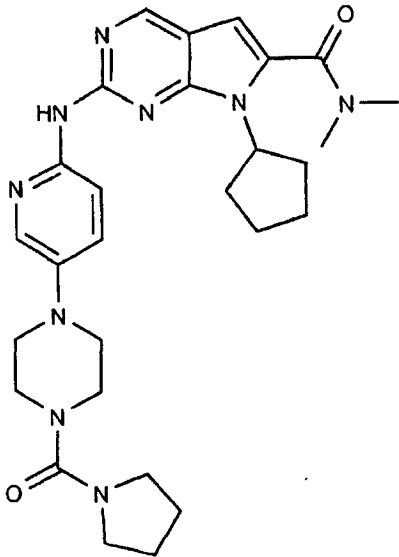
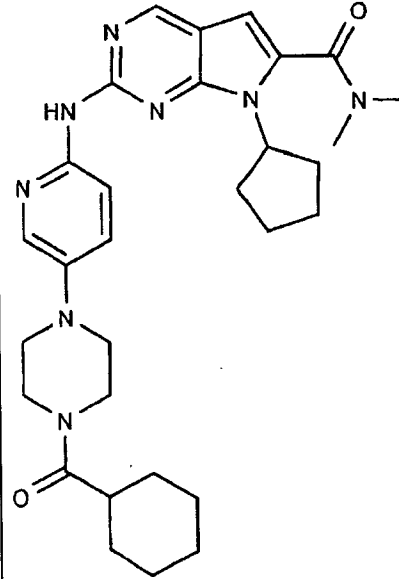
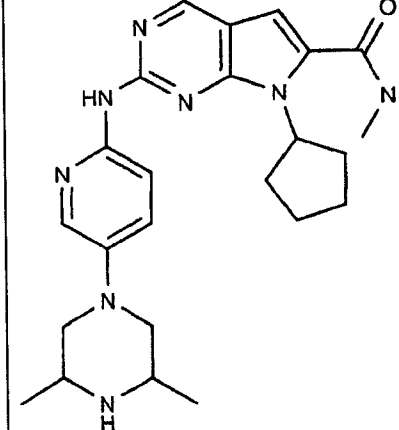
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 9 features a central benzimidazole ring system. The benzimidazole nitrogen is substituted with a cyclopentyl group. The 2-position of the benzimidazole is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 5-position is substituted with an amino group (-NH-), which is further connected to a 4-pyridyl ring. This pyridyl ring is linked via its nitrogen atom to a piperazine ring. The piperazine ring is further substituted with a propyl chain that terminates in a nitrile group (-C≡N).</p>	<p>Referenční příklad 9</p>
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 10 is similar to the one in the first row, but with a different substituent on the piperazine ring. Instead of a propyl nitrile chain, the piperazine ring is substituted with a 2-aminoethyl group (-CH₂-CH₂-NH₂).</p>	<p>Referenční příklad 10</p>

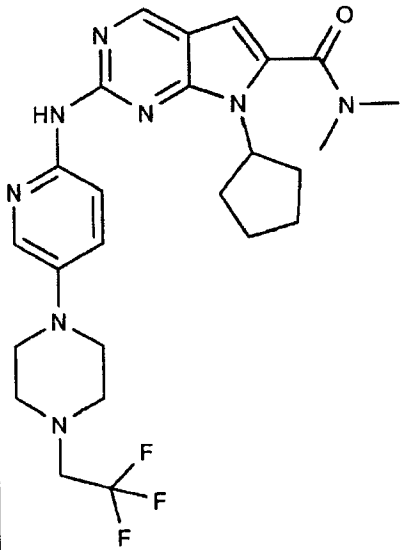
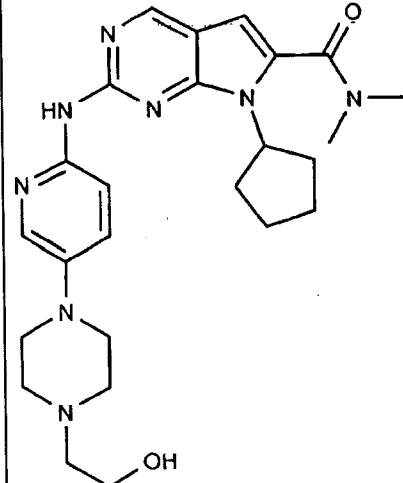
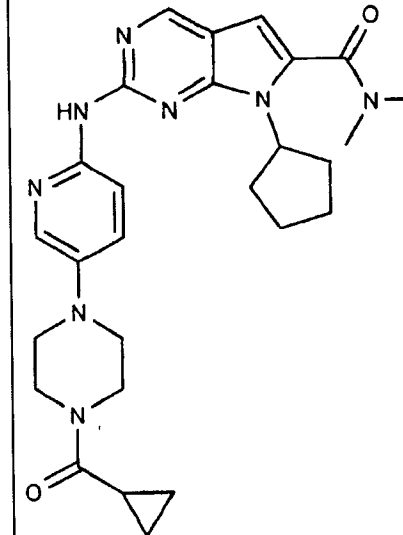
	<p>Referenční příklad 10A</p>
	<p>Referenční příklad 11</p>
	<p>Referenční příklad 12</p>

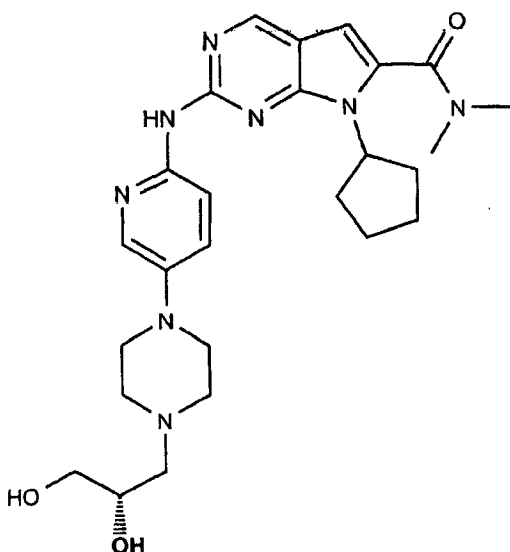
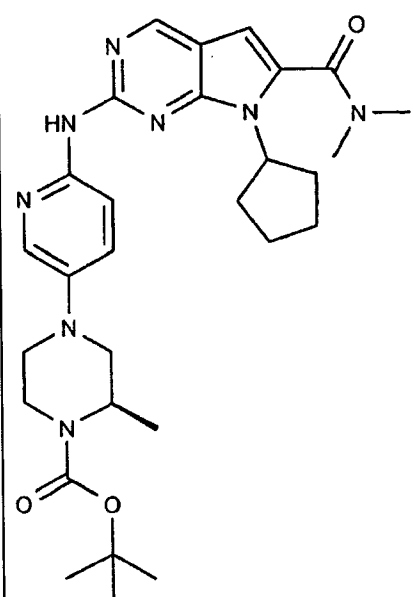
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 13: A central indazole ring system. The 2-position of the indazole is substituted with a 4-(aminomethyl)pyridin-2-ylamino group. The 3-position is substituted with a methylamino carbonyl group (-C(=O)NMe). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 2-aminoethylpyrrolidine ring.</p>	<p>Referenční příklad 13</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 14: A central indazole ring system. The 2-position is substituted with a 4-(aminomethyl)pyridin-2-ylamino group. The 3-position is substituted with a methylamino carbonyl group (-C(=O)NMe). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 2-(2-methoxyethyl)ethylpiperazine ring.</p>	<p>Referenční příklad 14</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 15: A central indazole ring system. The 2-position is substituted with a 4-(aminomethyl)pyridin-2-ylamino group. The 3-position is substituted with a methylamino carbonyl group (-C(=O)NMe). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 2-(2-hydroxyethyl)ethylpiperazine ring.</p>	<p>Referenční příklad 15</p>

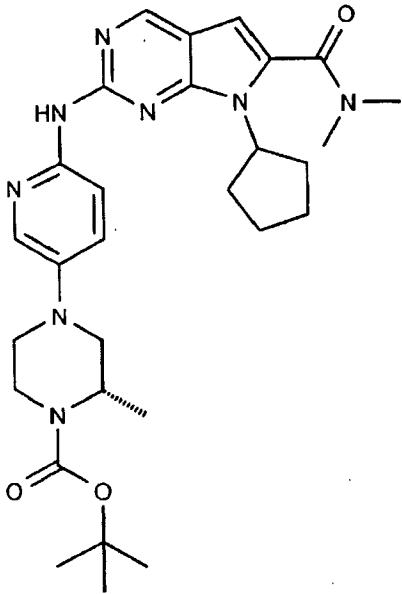
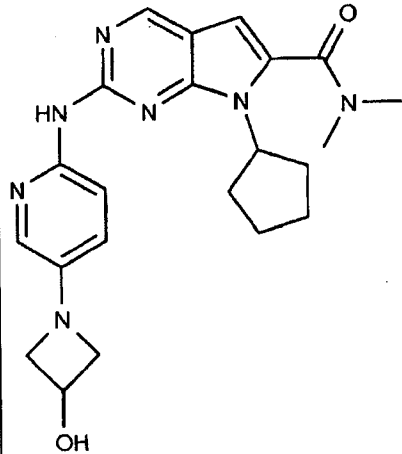
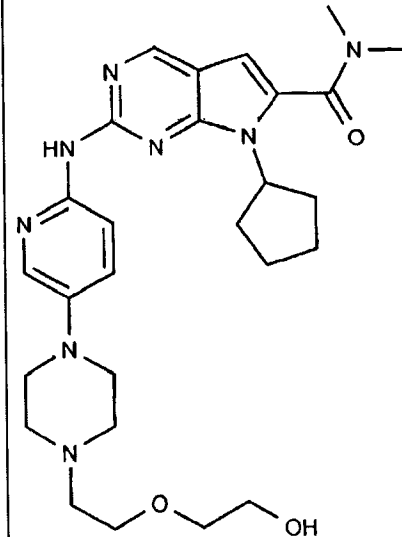
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 16: A complex molecule featuring a fused bicyclic system (indazole-like) with a carbonyl group and a methyl group on the nitrogen. It is substituted with a cyclopentane ring, a 4-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-ylamino group, and a methyl group on the nitrogen of the fused system.</p>	<p>Referenční příklad 16</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 17: Similar to Referenční příklad 16, but with a different stereochemistry at the methyl group on the piperazine ring, indicated by a dashed bond.</p>	<p>Referenční příklad 17</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 18: A complex molecule featuring a fused bicyclic system (indazole-like) with a carbonyl group and a methyl group on the nitrogen. It is substituted with a cyclopentane ring, a 4-(piperidin-1-ylmethyl)pyridin-2-ylamino group, and a methyl group on the nitrogen of the fused system.</p>	<p>Referenční příklad 18</p>

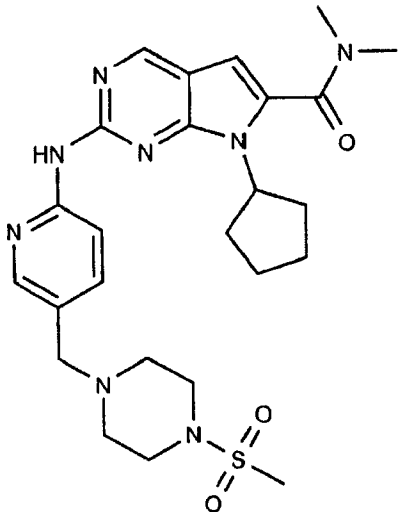
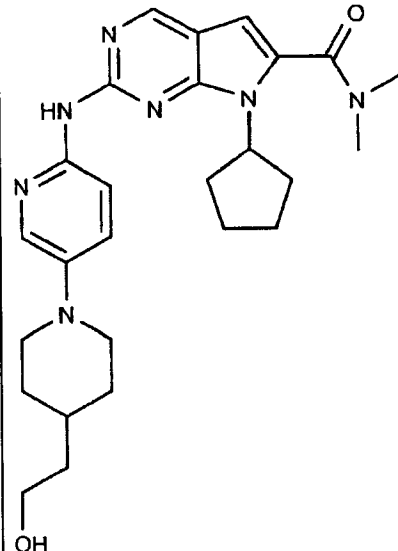
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 19: A fused bicyclic system consisting of a benzimidazole ring fused to a pyrrole ring. The benzimidazole ring has an NH group at position 2 and a methylamino group (-N(CH₃)₂) at position 4. The pyrrole ring has a methylamino group (-N(CH₃)₂) at position 2 and a cyclopentyl ring at position 3. The benzimidazole ring is substituted at position 5 with a 4-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-ylamino group.</p>	<p>Referenční příklad 19</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 20: Similar to Referenční příklad 19, but the piperazine ring is substituted with a hydroxyl group (-OH) at the 4-position.</p>	<p>Referenční příklad 20</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 21: Similar to Referenční příklad 19, but the fused ring system is a benzimidazopyrrole. The benzimidazole ring has an NH group at position 2 and a methylamino group (-N(CH₃)₂) at position 4. The pyrrole ring has a methylamino group (-N(CH₃)₂) at position 2 and a cyclopentyl ring at position 3. The benzimidazole ring is substituted at position 5 with a 4-(4-(3-hydroxypropyl)piperazin-1-yl)pyridin-2-ylamino group.</p>	<p>Referenční příklad 21</p>

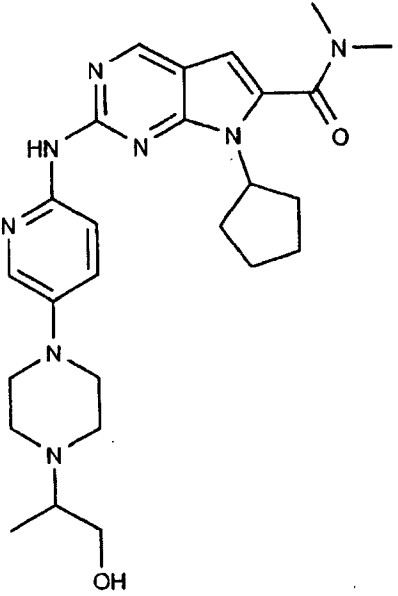
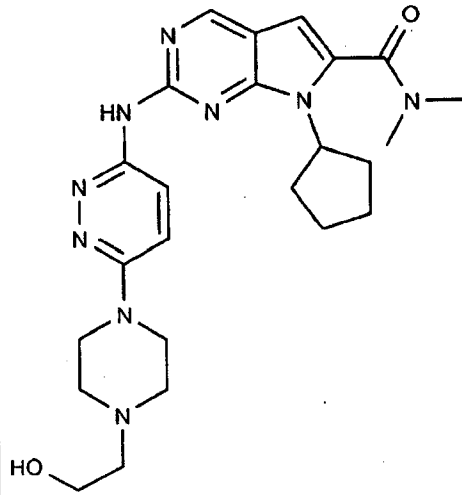
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 22 consists of a central indazole ring system. The indazole is substituted at the 3-position with a methyl-1H-imidazol-2-ylidene group. At the 4-position, it is substituted with a cyclopentyl ring. At the 7-position, it is substituted with a 4-(piperidin-1-yl)pyridin-2-ylideneamino group. The piperidine ring is further substituted at the 1-position with a pyrrolidine-2-carbonyl group.</p>	<p>Referenční příklad 22</p>
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 23 is identical to the one in Referenční příklad 22, except for the substituent on the piperidine ring. Instead of a pyrrolidine-2-carbonyl group, it features a cyclohexylmethyl group attached to the carbonyl carbon.</p>	<p>Referenční příklad 23</p>
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 24 is identical to the one in Referenční příklad 22, except for the piperidine ring. The piperidine ring is substituted at the 1-position with two methyl groups, making it a 1,4-dimethylpiperidine ring.</p>	<p>Referenční příklad 24</p>

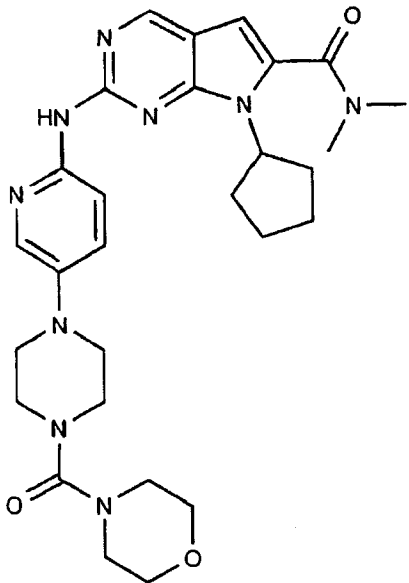
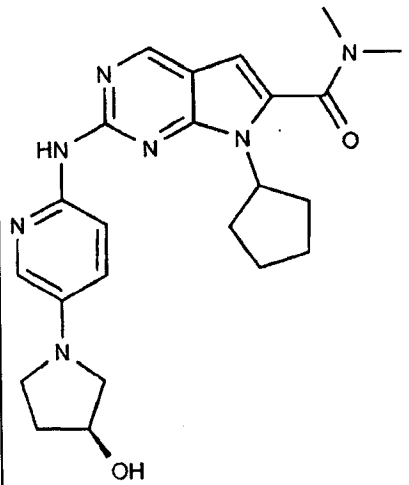
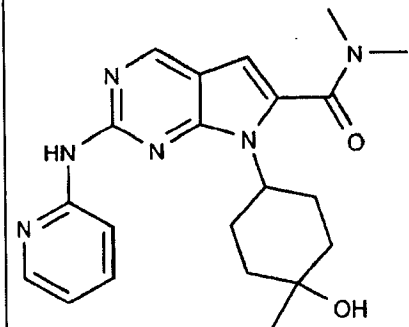
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 25: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen at position 7, a cyclopentane ring at position 3, and a 4-(4-(2,2,2-trifluoroethyl)pyrimidin-2-yl)pyrimidin-2-ylamino group at position 2.</p>	<p>Referenční příklad 25</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 26: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen at position 7, a cyclopentane ring at position 3, and a 4-(4-(2-hydroxyethyl)pyrimidin-2-yl)pyrimidin-2-ylamino group at position 2.</p>	<p>Referenční příklad 26</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 27: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen at position 7, a cyclopentane ring at position 3, and a 4-(4-(cyclopropylcarbonyl)pyrimidin-2-yl)pyrimidin-2-ylamino group at position 2.</p>	<p>Referenční příklad 27</p>

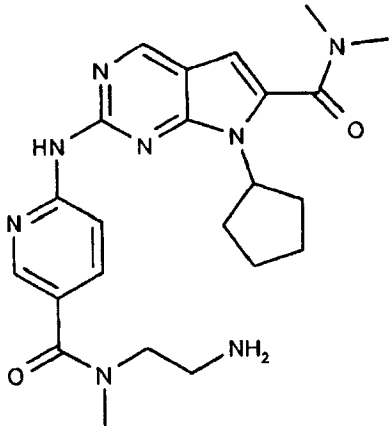
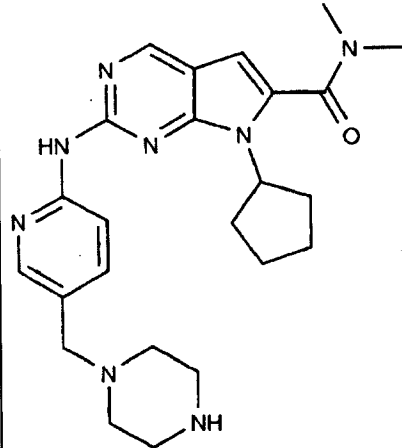
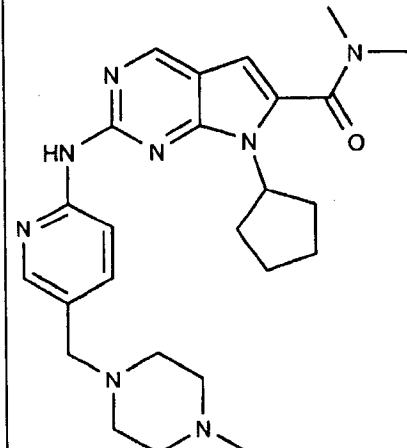
 <p>Chemical structure of a complex molecule. It features a piperazine ring substituted with a 4-pyridyl group and a 2-hydroxyethyl group. The piperazine ring is also connected to a bicyclic indazole-like core, which has a methyl group and a carbonyl group attached to it.</p>	<p>Referenční příklad 29</p>
 <p>Chemical structure of a complex molecule. It features a piperazine ring substituted with a 4-pyridyl group and a tert-butyl ester group. The piperazine ring is also connected to a bicyclic indazole-like core, which has a methyl group and a carbonyl group attached to it.</p>	<p>Referenční příklad 30</p>

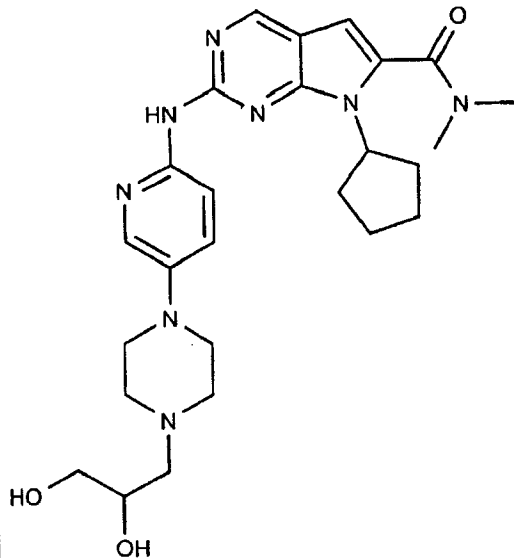
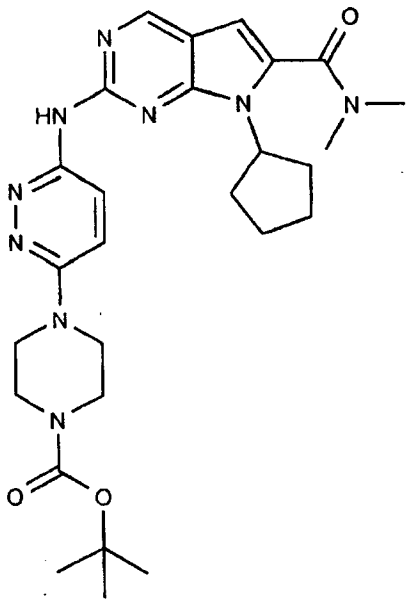
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 31: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen, a cyclopentane ring, and a carbonyl group. It is further substituted with a 4-(4-(tert-butyl) piperazine-1-yl)pyridin-2-ylamino group.</p>	<p>Referenční příklad 31</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 32: Similar to Referenční příklad 31, but the piperazine ring is replaced by a 4-hydroxypiperazine ring.</p>	<p>Referenční příklad 32</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 33: Similar to Referenční příklad 31, but the piperazine ring is replaced by a piperazine ring with a 2-hydroxyethyl group attached to one of the nitrogen atoms.</p>	<p>Referenční příklad 33</p>

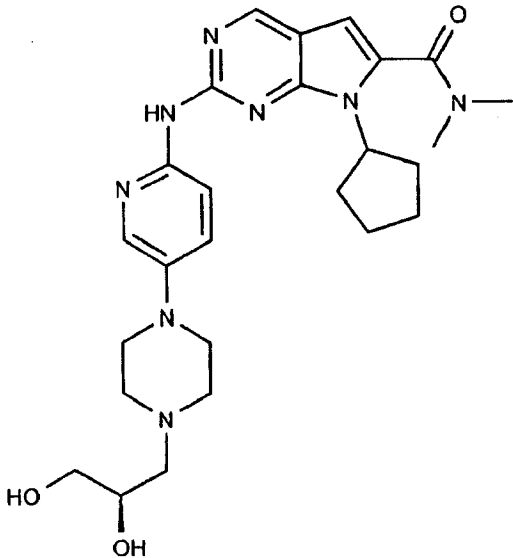
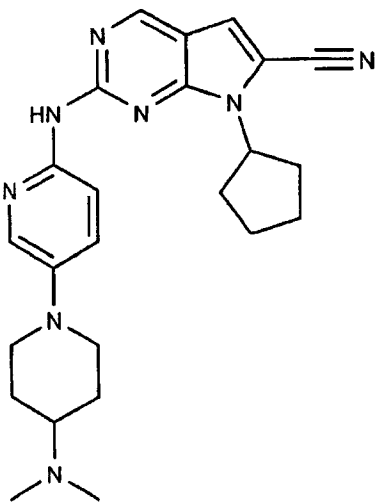
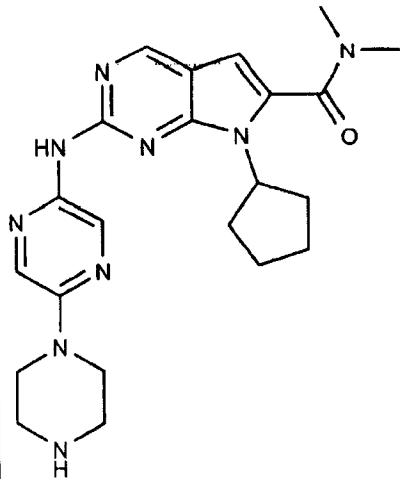
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 34 features a central indazole ring system. The indazole nitrogen is substituted with a cyclopentane ring. The 2-position of the indazole is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 3-position is substituted with a 4-(4-(methylsulfonyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group. The methylsulfonyl group is represented as a sulfur atom double-bonded to two oxygen atoms and single-bonded to a methyl group.</p>	<p>Referenční příklad 34</p>
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 35 features a central indazole ring system. The indazole nitrogen is substituted with a cyclopentane ring. The 2-position of the indazole is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 3-position is substituted with a 4-(4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group. The 2-hydroxyethyl group is represented as a two-carbon chain with a hydroxyl group (-OH) at the end.</p>	<p>Referenční příklad 35</p>

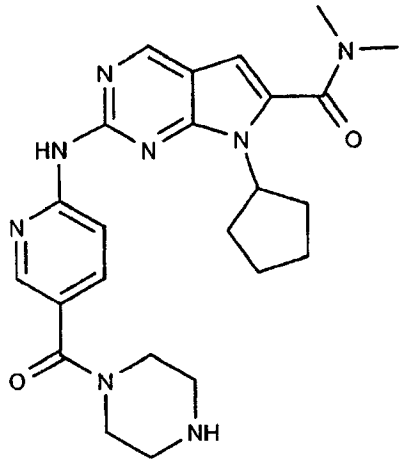
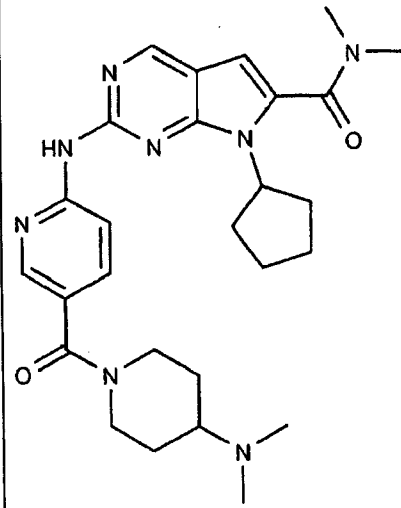
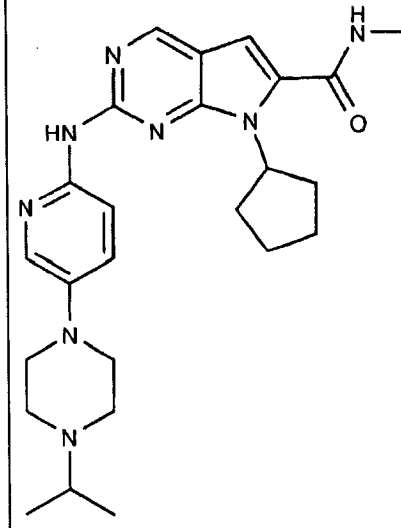
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 36 consists of a central indazole ring system. At the 2-position of the indazole, there is a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). At the 3-position, there is a cyclopentane ring. At the 4-position, there is a 4-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group (-NH-C₅H₄N-C₄H₈N-C(CH₃)₂-CH₂-OH).</p>	<p>Referenční příklad 36</p>
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 37 features a central indazole ring system. At the 2-position, there is a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). At the 3-position, there is a cyclopentane ring. At the 4-position, there is a 4-(4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group (-NH-C₅H₄N-C₄H₈N-CH₂-CH₂-OH).</p>	<p>Referenční příklad 37</p>

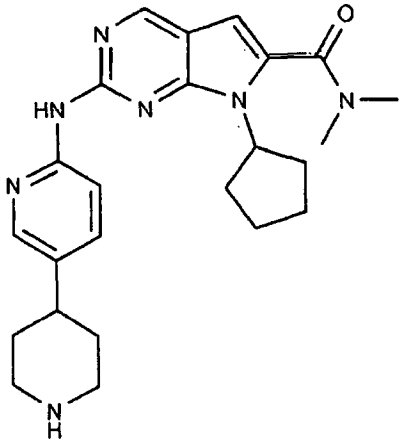
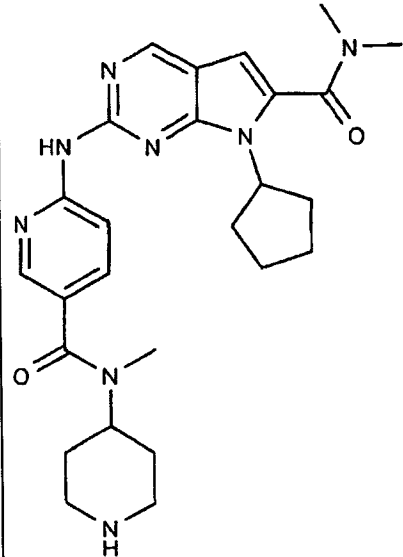
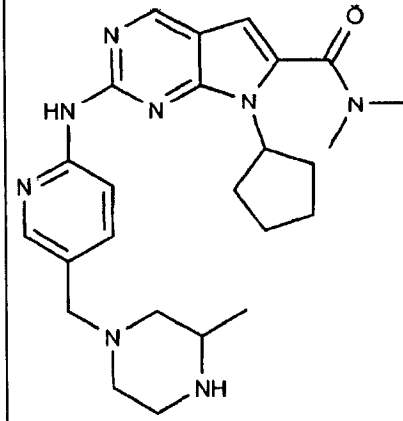
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 38: A complex molecule featuring a central benzimidazole ring system. The benzimidazole is substituted with a 4-(piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group at the 2-position and a 1-methyl-2-(cyclopentyl)imidazolidin-5(1H)-one group at the 3-position. The piperidine ring is further substituted with a morpholine-2-carbonyl group.</p>	<p>Referenční příklad 38</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 39: A complex molecule featuring a central benzimidazole ring system. The benzimidazole is substituted with a 4-(pyrrolidin-2-yl)pyridin-2-ylamino group at the 2-position and a 1-methyl-2-(cyclopentyl)imidazolidin-5(1H)-one group at the 3-position. The pyrrolidine ring is substituted with a hydroxyl group.</p>	<p>Referenční příklad 39</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 40: A complex molecule featuring a central benzimidazole ring system. The benzimidazole is substituted with a 4-(pyridin-2-yl)pyridin-2-ylamino group at the 2-position and a 1-methyl-2-(cyclohexyl)imidazolidin-5(1H)-one group at the 3-position. The cyclohexane ring is substituted with a hydroxyl group.</p>	<p>Referenční příklad 40</p>

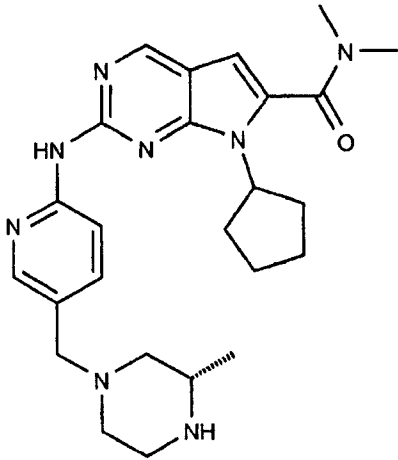
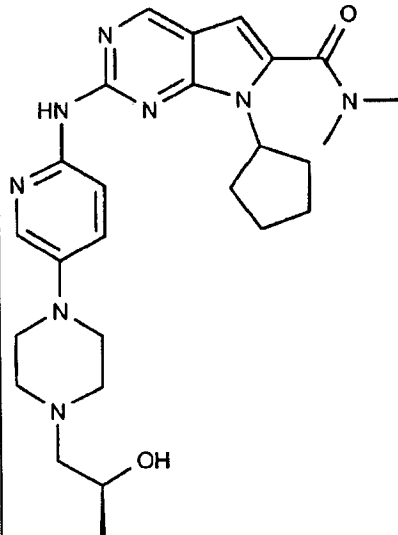
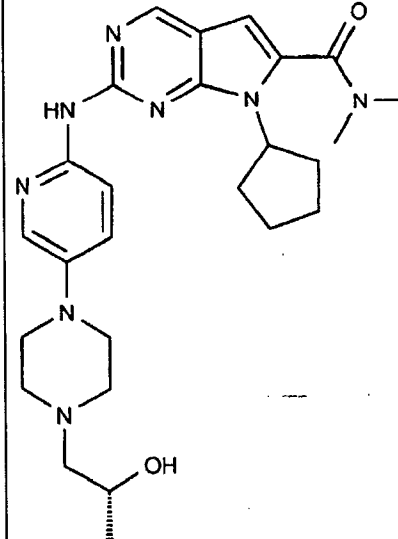
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 41: A central indazole ring system. The 2-position of the indazole is substituted with a 4-(dimethylamino)pyridin-2-ylidene group. The 3-position is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 4-(dimethylamino)pyridin-2-ylidene group.</p>	<p>Referenční příklad 41</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 42: A central indazole ring system. The 2-position of the indazole is substituted with a 4-(piperidin-1-ylmethyl)pyridin-2-ylidene group. The 3-position is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 4-(piperidin-1-ylmethyl)pyridin-2-ylidene group.</p>	<p>Referenční příklad 42</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 43: A central indazole ring system. The 2-position of the indazole is substituted with a 4-(1-methylpiperidin-1-ylmethyl)pyridin-2-ylidene group. The 3-position is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 4-(1-methylpiperidin-1-ylmethyl)pyridin-2-ylidene group.</p>	<p>Referenční příklad 43</p>

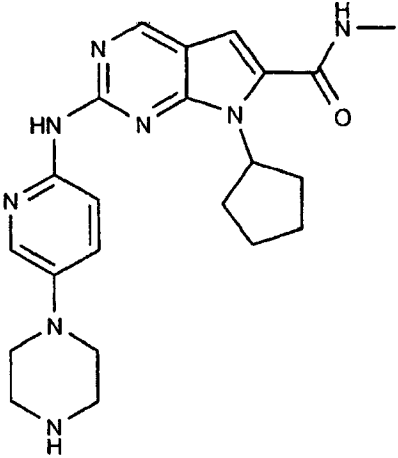
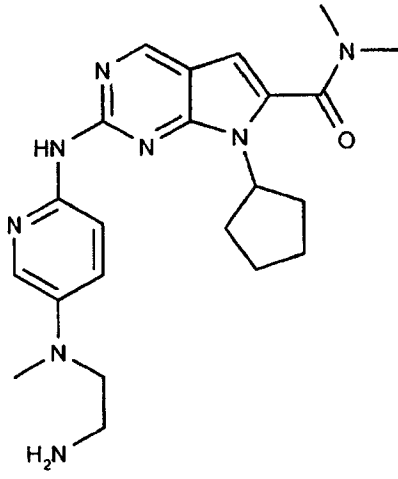
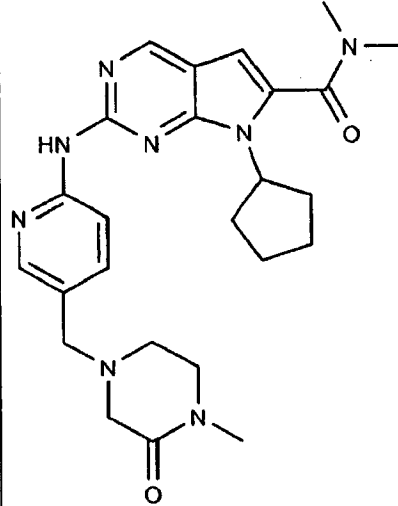
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 44: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen at position 7, a cyclopentane ring at position 5, and a 2-((4-(2-hydroxyethyl)piperazine-1-yl)phenyl)amino group at position 2. The amino group is attached to the 2-position of the indazole ring.</p>	<p>Referenční příklad 44</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 45: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen at position 7, a cyclopentane ring at position 5, and a 2-((4-(tert-butoxycarbonyl)piperazine-1-yl)phenyl)amino group at position 2. The amino group is attached to the 2-position of the indazole ring.</p>	<p>Referenční příklad 45</p>

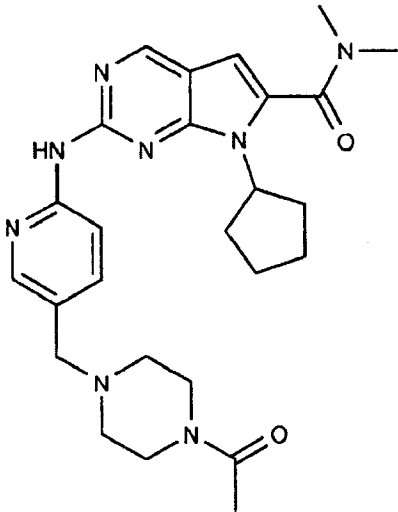
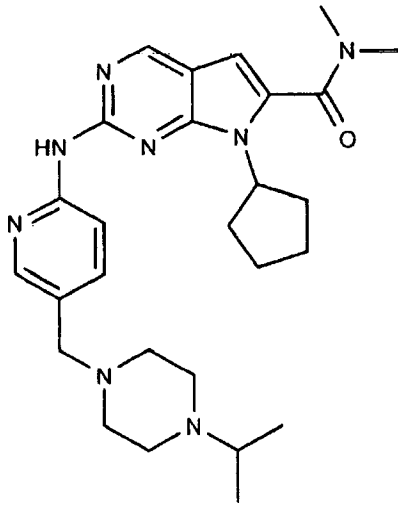
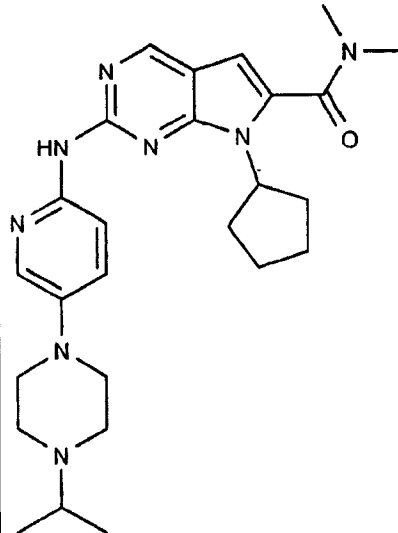
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 46: A complex molecule featuring a fused benzimidazole ring system. The benzimidazole core is substituted with a methyl group on the nitrogen atom, a cyclopentane ring, and a 4-(2-hydroxyethyl)piperazine ring. The benzimidazole core is further substituted with a 4-(2-hydroxyethyl)piperazine ring.</p>	<p>Referenční příklad 46</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 47: A complex molecule featuring a fused benzimidazole ring system. The benzimidazole core is substituted with a methyl group on the nitrogen atom, a cyclopentane ring, and a nitrile group. The benzimidazole core is further substituted with a 4-(2-hydroxyethyl)piperazine ring.</p>	<p>Referenční příklad 47</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 48: A complex molecule featuring a fused benzimidazole ring system. The benzimidazole core is substituted with a methyl group on the nitrogen atom, a cyclopentane ring, and a methylamino group. The benzimidazole core is further substituted with a 4-(2-hydroxyethyl)piperazine ring.</p>	<p>Referenční příklad 48</p>

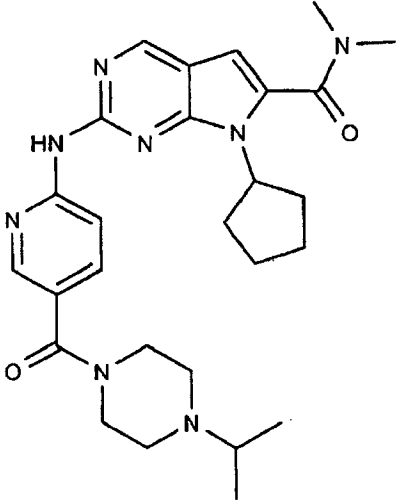
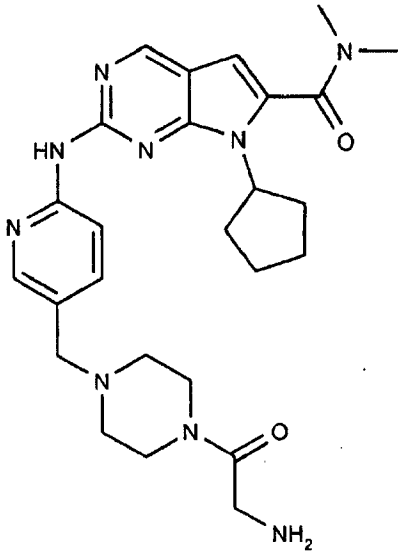
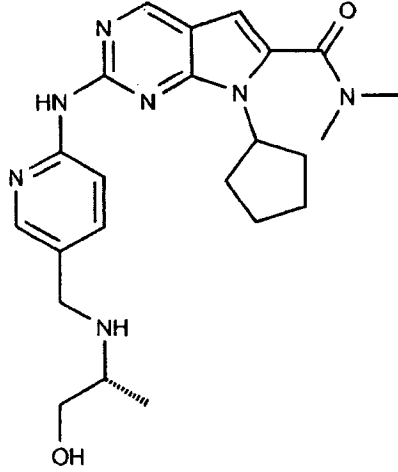
 <p>The structure shows a central indazole ring system. At position 2, there is a 4-(piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group. At position 3, there is a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). At position 4, there is a cyclopentyl group.</p>	<p>Referenční příklad 49</p>
 <p>The structure is identical to the one in the first row, showing the indazole core with the 4-(piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group, the dimethylamino group, and the cyclopentyl group.</p>	<p>Referenční příklad 50</p>
 <p>The structure is identical to the previous two, but the dimethylamino group at position 3 is shown as a primary amide (-NHCH₃).</p>	<p>Referenční příklad 51</p>

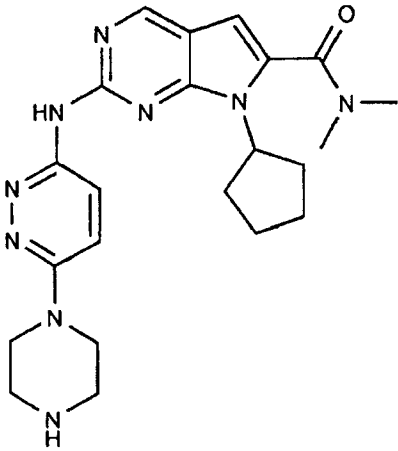
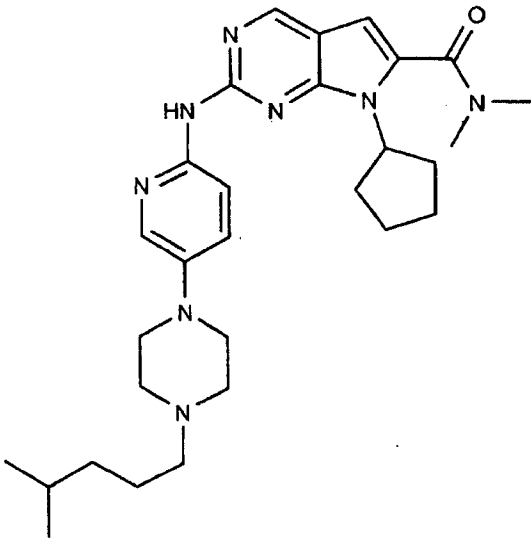
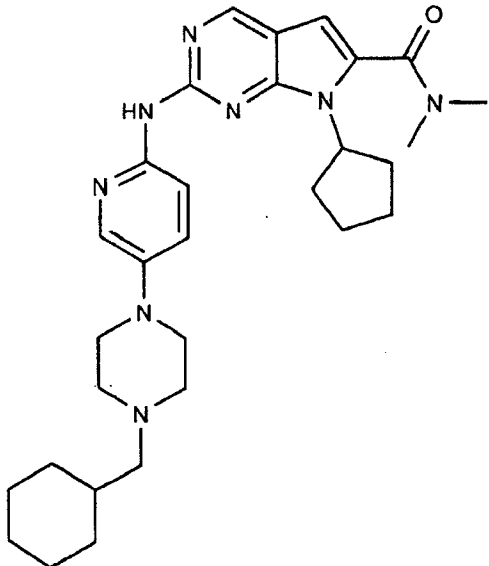
 <p>The structure shows a central benzimidazole ring system. The 2-position of the benzimidazole is substituted with a 4-(piperidin-4-yl)pyridin-2-ylamino group. The 5-position is substituted with a 1-methyl-2-pyrrolidinone ring.</p>	<p>Referenční příklad 52</p>
 <p>The structure shows a central benzimidazole ring system. The 2-position is substituted with a 4-(piperidin-4-yl)pyridin-2-ylamino group. The 5-position is substituted with a 1-methyl-2-pyrrolidinone ring. The 6-position is substituted with a 1-methyl-2-pyrrolidinone ring.</p>	<p>Referenční příklad 53</p>
 <p>The structure shows a central benzimidazole ring system. The 2-position is substituted with a 4-(4-(2-methyl-1H-imidazol-2-yl)butyl)pyridin-2-ylamino group. The 5-position is substituted with a 1-methyl-2-pyrrolidinone ring.</p>	<p>Referenční příklad 54</p>

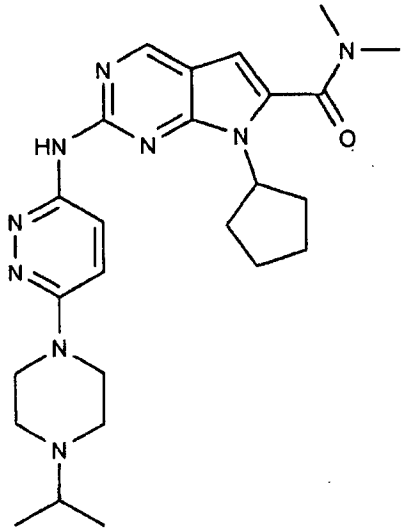
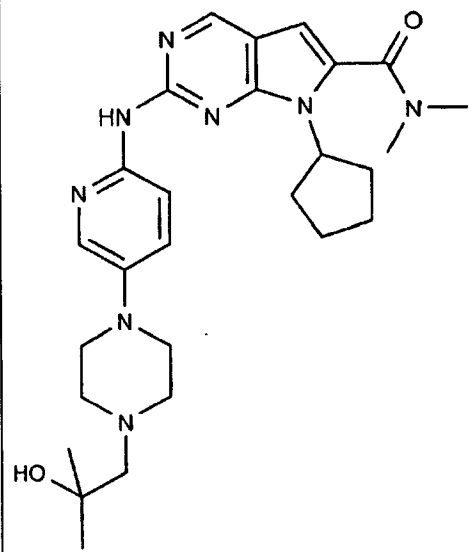
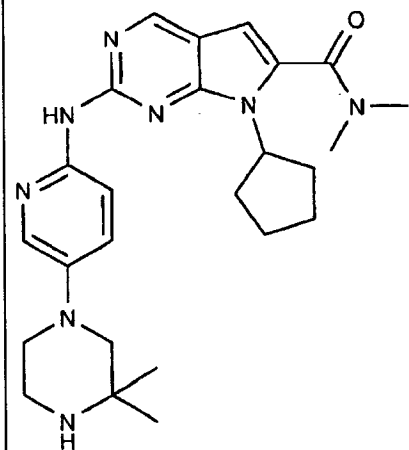
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 55: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂) at the 3-position, a cyclopentane ring at the 2-position, and a 4-(4-(2-(4-methylpiperidin-1-yl)phenyl)pyridin-2-yl)amino group at the 1-position.</p>	<p>Referenční příklad 55</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 56: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂) at the 3-position, a cyclopentane ring at the 2-position, and a 4-(4-(2-(4-hydroxybutyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)amino group at the 1-position.</p>	<p>Referenční příklad 56</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 57: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂) at the 3-position, a cyclopentane ring at the 2-position, and a 4-(4-(2-(4-hydroxybutyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)amino group at the 1-position.</p>	<p>Referenční příklad 57</p>

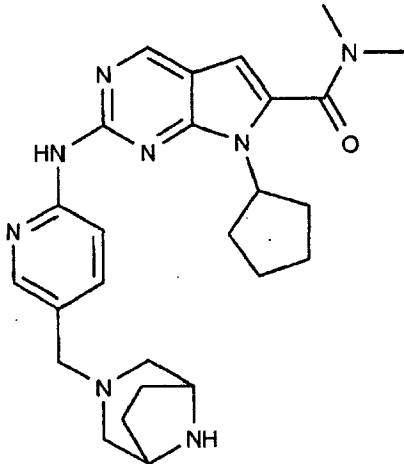
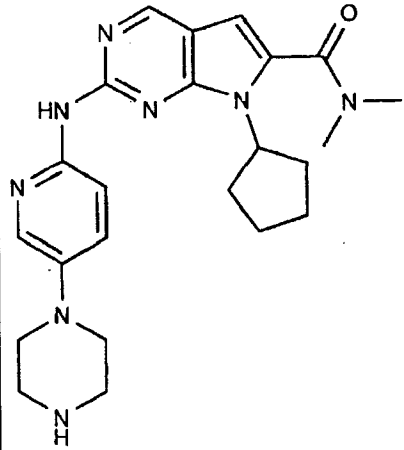
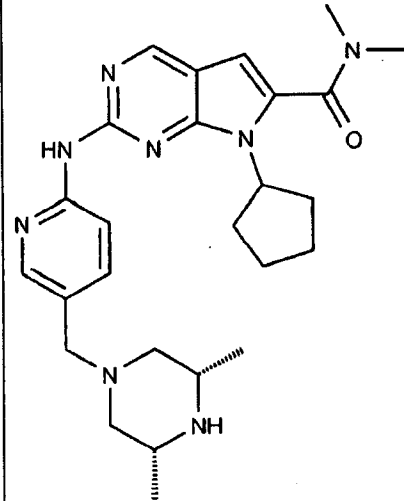
 <p>The structure shows a central indazole ring system. At position 2, there is a 4-(piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group. At position 3, there is a methylamide group (-NHCH₃). At position 4, there is a cyclopentyl group.</p>	<p>Referenční příklad 58</p>
 <p>The structure is similar to 58, but the piperidine ring is substituted with a methyl group and an amino group (-NH₂).</p>	<p>Referenční příklad 59</p>
 <p>The structure is similar to 58, but the piperidine ring is substituted with a methyl group and a carbonyl group (-C(=O)-), forming a piperidin-2-one derivative.</p>	<p>Referenční příklad 60</p>

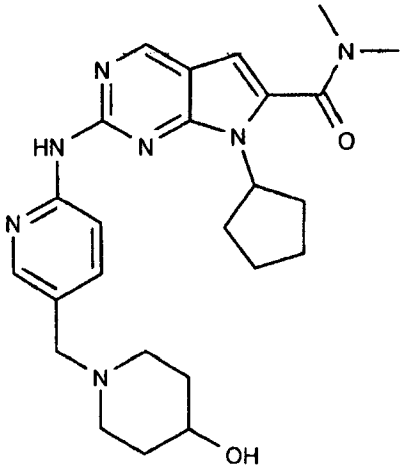
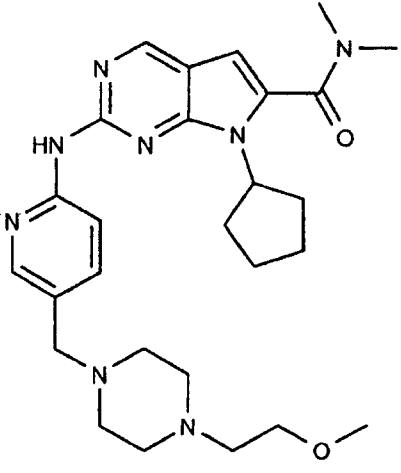
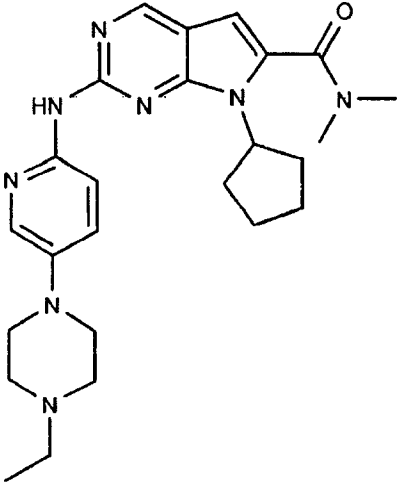
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 61 consists of a central indazole ring system. The indazole ring has a methylamino group (-NHMe) at the 2-position, a dimethylamino group (-NMe2) at the 3-position, and a cyclopentyl ring attached to the nitrogen at the 1-position. The 4-position of the indazole ring is connected to a 4-pyridyl ring. This pyridyl ring is further substituted with a piperazine ring, which has a methylamino group (-NHMe) attached to one of its nitrogen atoms.</p>	<p>Referenční příklad 61</p>
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 62 is identical to the structure in Referenční příklad 61, but the methylamino group (-NHMe) attached to the piperazine ring is replaced by an isopropylamino group (-NHCH(CH3)2).</p>	<p>Referenční příklad 62</p>
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 63 is identical to the structure in Referenční příklad 62, but the isopropylamino group (-NHCH(CH3)2) attached to the piperazine ring is replaced by a dimethylamino group (-NMe2).</p>	<p>Referenční příklad 63</p>

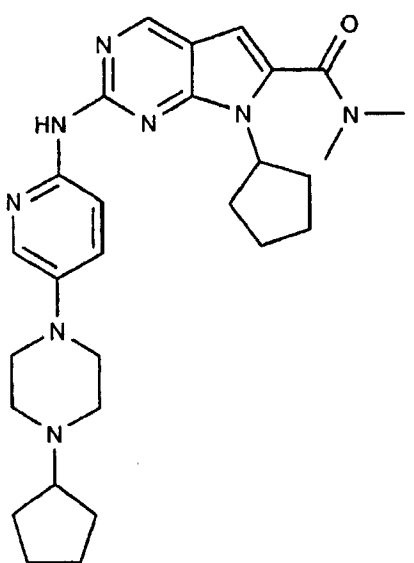
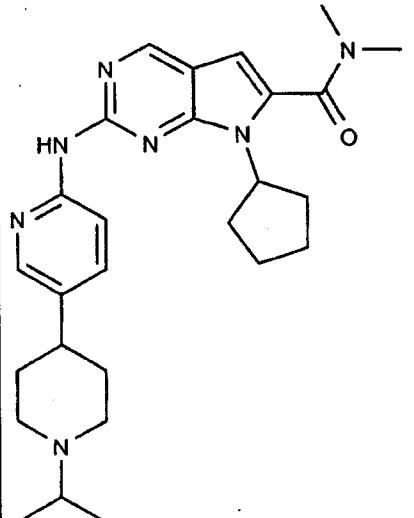
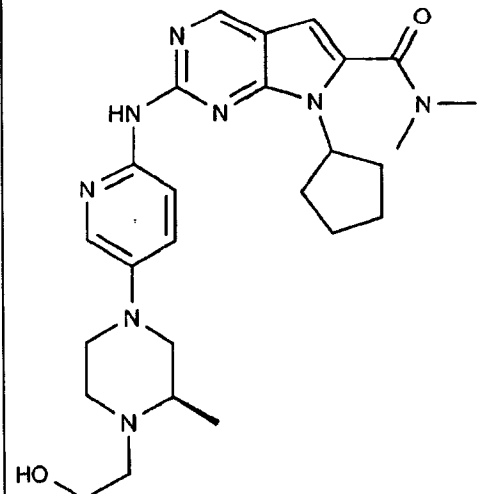
 <p>The structure shows a central indazole ring system. At position 2, there is a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). At position 3, there is a cyclopentyl ring. At position 4, there is a 4-pyridylamino group (-NH-C₅H₄N). At position 5, there is a piperazine ring connected via its nitrogen atom to a carbonyl group (-C(=O)-). The piperazine ring has an isopropyl group attached to its other nitrogen atom.</p>	<p>Referenční příklad 64</p>
 <p>The structure is similar to the first one, but the piperazine ring is connected to the indazole ring via its nitrogen atom to a methylene group (-CH₂-). The other nitrogen of the piperazine ring is connected to a propylamine chain (-CH₂-CH₂-NH₂).</p>	<p>Referenční příklad 65</p>
 <p>The structure is similar to the first one, but the piperazine ring is connected to the indazole ring via its nitrogen atom to a methylene group (-CH₂-). The other nitrogen of the piperazine ring is connected to a chiral amine chain (-CH₂-NH-CH(CH₃)-CH₂-OH), where the methyl group is on a wedge and the hydroxyl group is on a dash.</p>	<p>Referenční příklad 66</p>

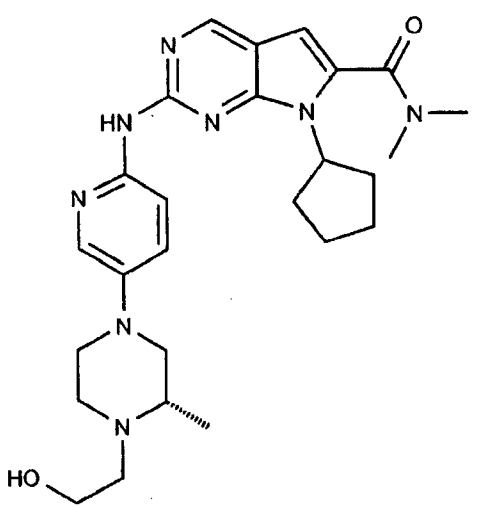
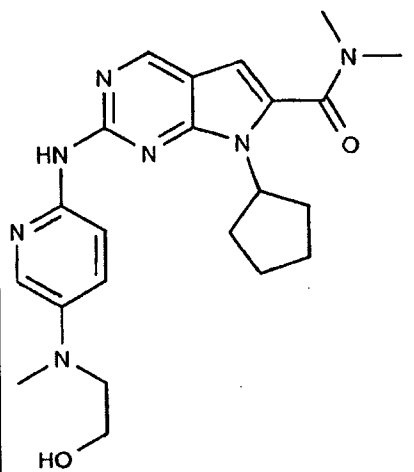
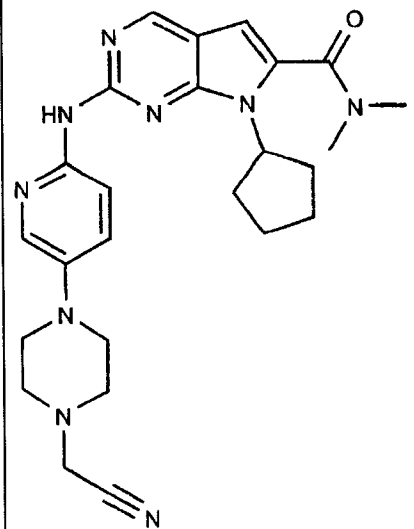
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 67: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen at position 3, a cyclopentane ring at position 4, and a 4-(4-(1H-imidazol-2-yl)phenyl)amino group at position 7. The imidazole ring is further substituted with a piperazine ring at its 2-position.</p>	<p>Referenční příklad 67</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 68: Similar to Referenční příklad 67, but the piperazine ring is substituted with a 4-(4-isobutylbutyl)amino group at its 2-position.</p>	<p>Referenční příklad 68</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 69: Similar to Referenční příklad 67, but the piperazine ring is substituted with a cyclohexylmethyl group at its 2-position.</p>	<p>Referenční příklad 69</p>

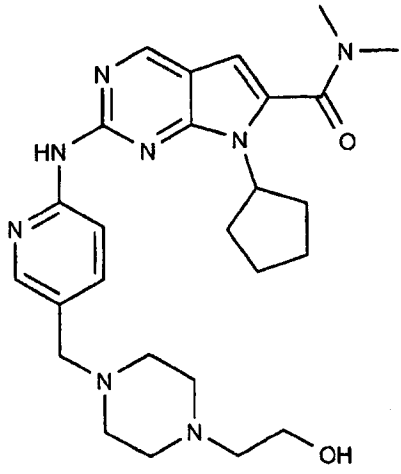
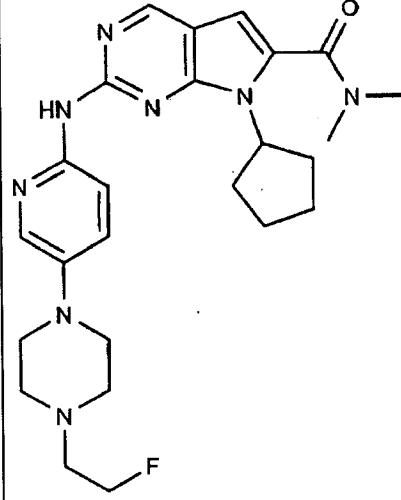
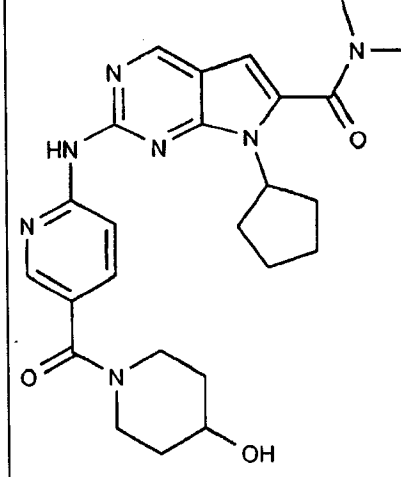
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 70 features a central indazole ring system. At the 2-position of the indazole, there is a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). At the 3-position, there is a cyclopentane ring. At the 4-position, there is a 4-(4-(isopropylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)amino group (-NH-). The indazole ring is fused to a pyridine ring, which has a nitrogen atom at the 5-position.</p>	<p>Referenční příklad 70</p>
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 71 is similar to the one in the first row. It features a central indazole ring system with a dimethylamino group at the 2-position and a cyclopentane ring at the 3-position. At the 4-position, there is a 4-(4-(2-hydroxypropan-2-yl)piperidin-1-yl)amino group (-NH-). The indazole ring is fused to a pyridine ring, which has a nitrogen atom at the 5-position.</p>	<p>Referenční příklad 71</p>
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 72 is similar to the one in the first row. It features a central indazole ring system with a dimethylamino group at the 2-position and a cyclopentane ring at the 3-position. At the 4-position, there is a 4-(4-(tert-butyl)piperidin-1-yl)amino group (-NH-). The indazole ring is fused to a pyridine ring, which has a nitrogen atom at the 5-position.</p>	<p>Referenční příklad 72</p>

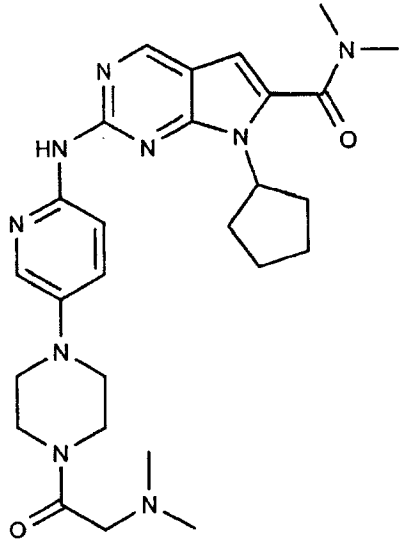
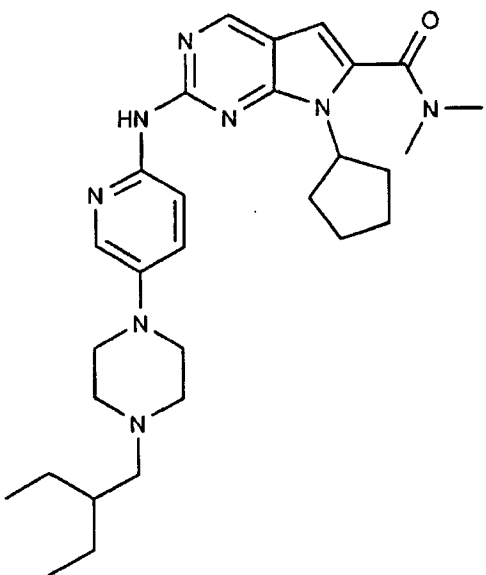
	<p>Referenční příklad 73</p>
	<p>Reference 74</p>
	<p>Referenční příklad 75</p>

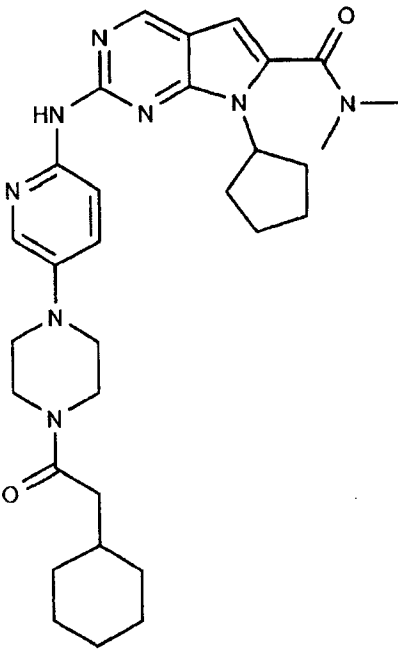
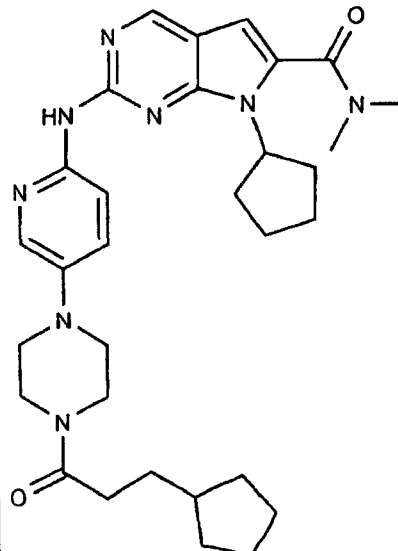
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 76: A central benzimidazole ring system. The 2-position is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 4-(4-hydroxypiperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group (-NH-C₅H₄N-CH₂-N(CH₂)₄-OH).</p>	<p>Referenční příklad 76</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 77: A central benzimidazole ring system. The 2-position is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 4-(4-(2-methoxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group (-NH-C₅H₄N-CH₂-N(CH₂)₄-CH₂-CH₂-OCH₃).</p>	<p>Referenční příklad 77</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 78: A central benzimidazole ring system. The 2-position is substituted with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂). The 4-position is substituted with a cyclopentyl ring. The 5-position is substituted with a 4-(4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group (-NH-C₅H₄N-CH₂-N(CH₂)₄-CH₂-CH₃).</p>	<p>Referenční příklad 78</p>

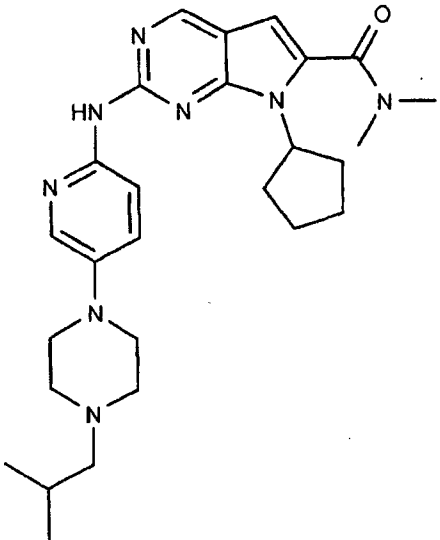
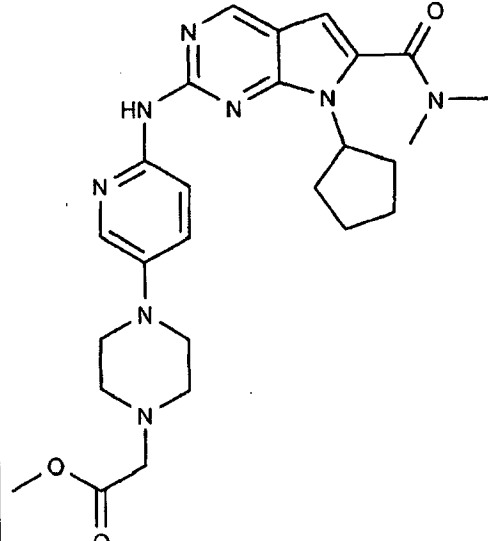
 <p>The structure shows a central indazole ring system. At position 3, there is a 4-(cyclopentylmethyl)pyridin-2-ylamino group. At position 4, there is a methylamino group. At position 7, there is a methylamino group. The pyridine ring is substituted at the 4-position with a cyclopentylmethyl group.</p>	<p>Referenční příklad 79</p>
 <p>The structure shows a central indazole ring system. At position 3, there is a 4-(isopropylmethyl)pyridin-2-ylamino group. At position 4, there is a methylamino group. At position 7, there is a methylamino group. The pyridine ring is substituted at the 4-position with an isopropylmethyl group.</p>	<p>Referenční příklad 80</p>
 <p>The structure shows a central indazole ring system. At position 3, there is a 4-(2-hydroxyethylmethyl)pyridin-2-ylamino group. At position 4, there is a methylamino group. At position 7, there is a methylamino group. The pyridine ring is substituted at the 4-position with a 2-hydroxyethylmethyl group.</p>	<p>Referenční příklad 81</p>

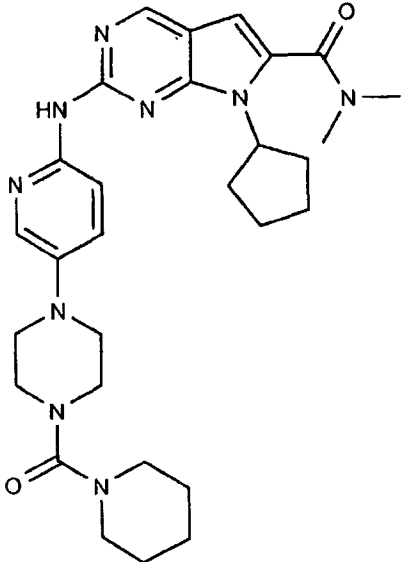
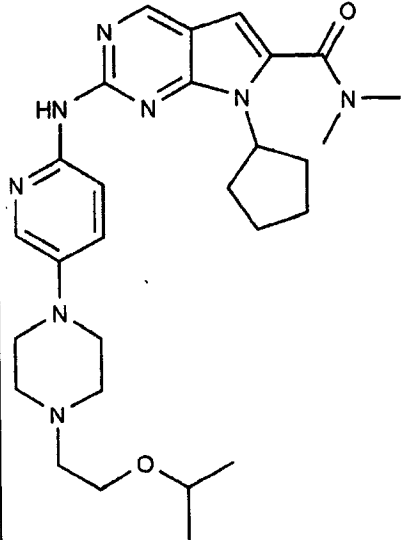
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 82: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen atom, a cyclopentane ring, and a carbonyl group. It is also linked via an NH group to a pyridine ring, which is further connected to a piperazine ring. The piperazine ring has a methyl group and a hydroxyethyl group attached to its nitrogens.</p>	<p>Referenční příklad 82</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 83: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen atom, a cyclopentane ring, and a carbonyl group. It is also linked via an NH group to a pyridine ring, which is further connected to a piperazine ring. The piperazine ring has a methyl group and a hydroxyethyl group attached to its nitrogens.</p>	<p>Referenční příklad 83</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 84: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted with a methyl group on the nitrogen atom, a cyclopentane ring, and a carbonyl group. It is also linked via an NH group to a pyridine ring, which is further connected to a piperazine ring. The piperazine ring has a methyl group and a hydroxyethyl group attached to its nitrogens.</p>	<p>Referenční příklad 84</p>

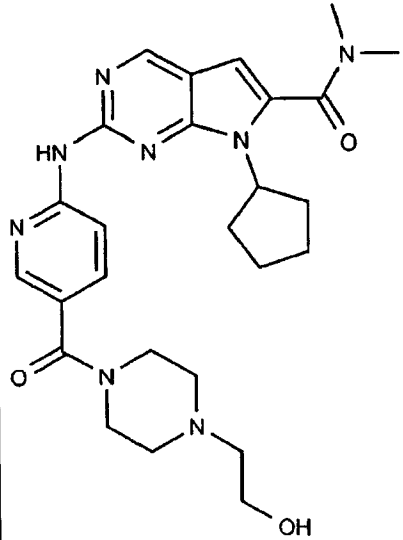
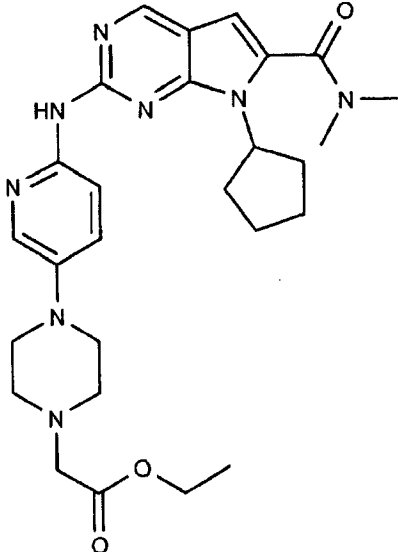
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 85: A central indazole ring system. The indazole ring has a dimethylamino group (-N(CH₃)₂) at position 3, a cyclopentyl group at position 2, and a 4-(2-(2-hydroxyethyl)pyrimidin-5-yl)amino group at position 4.</p>	<p>Referenční příklad 85</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 86: A central indazole ring system. The indazole ring has a dimethylamino group (-N(CH₃)₂) at position 3, a cyclopentyl group at position 2, and a 4-(2-(2-fluoroethyl)pyrimidin-5-yl)amino group at position 4.</p>	<p>Referenční příklad 86</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 87: A central indazole ring system. The indazole ring has a dimethylamino group (-N(CH₃)₂) at position 3, a cyclopentyl group at position 2, and a 4-(2-(4-hydroxypiperidin-1-yl)pyrimidin-5-yl)amino group at position 4.</p>	<p>Referenční příklad 87</p>

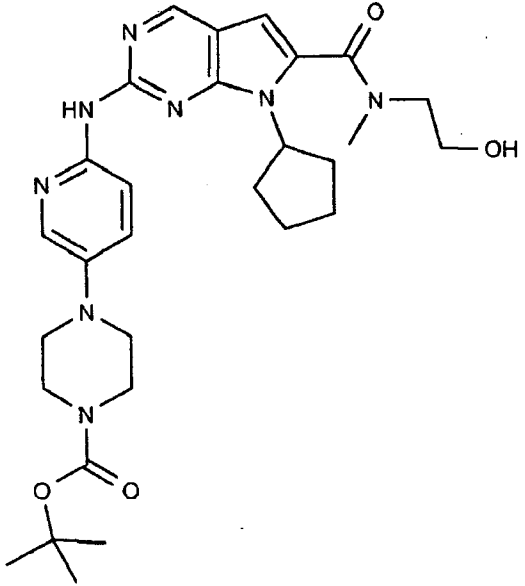
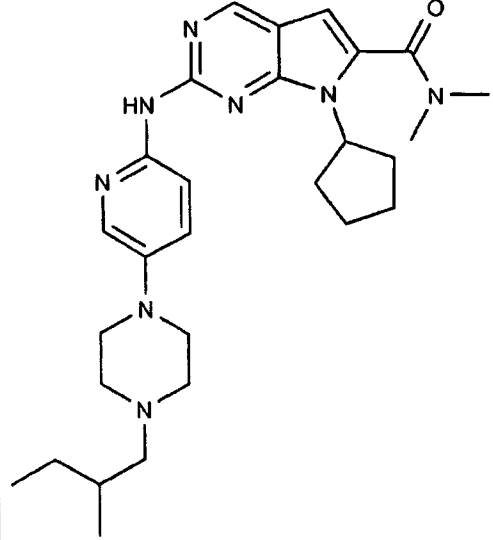
	<p>Referenční příklad 88</p>
	<p>Referenční příklad 89</p>

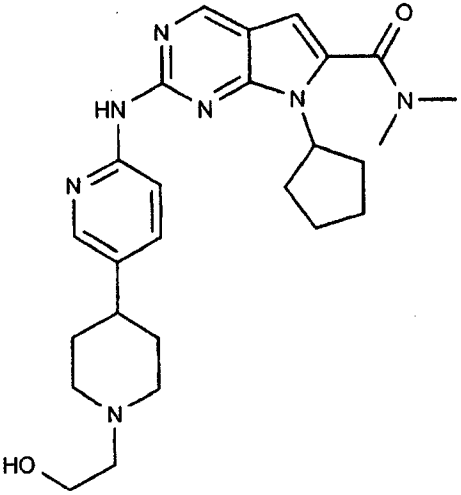
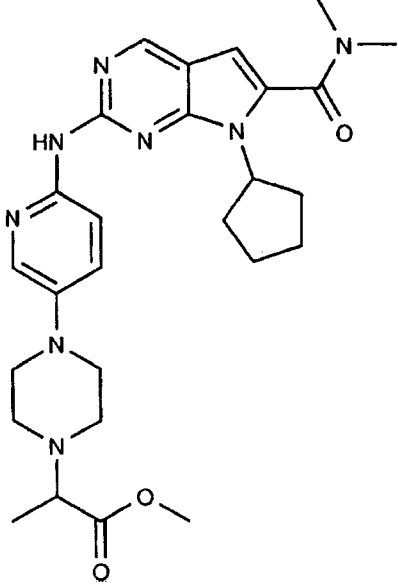
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 90 consists of a central indazole ring system. The indazole is substituted at the 2-position with a 4-pyridinylamino group (-NH-C₅H₄N). At the 3-position, it is substituted with a 1-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroindazole ring, which is further substituted at the 4-position with a cyclopentyl group. The 1-position of the indazole is substituted with a piperazine ring. The piperazine ring is substituted at the 4-position with a carbonyl group (-C(=O)-), which is further substituted at the 1-position with a cyclohexylmethyl group (-CH₂-C₆H₁₁).</p>	<p>Referenční příklad 90</p>
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 91 is identical to that of Referenční příklad 90, except for the substituent on the carbonyl group of the piperazine ring. Instead of a cyclohexylmethyl group, it features a cyclopentylpropyl group (-CH₂-CH₂-CH₂-C₅H₉).</p>	<p>Referenční příklad 91</p>

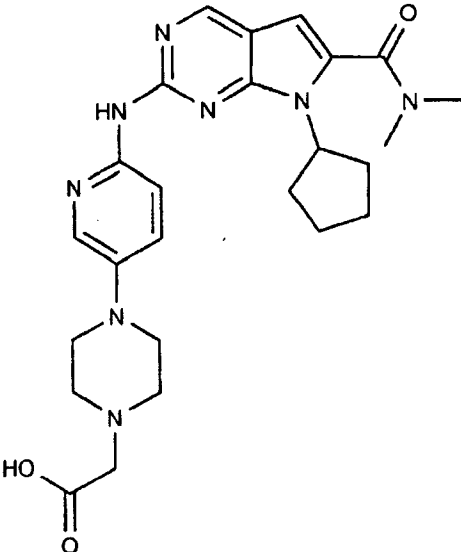
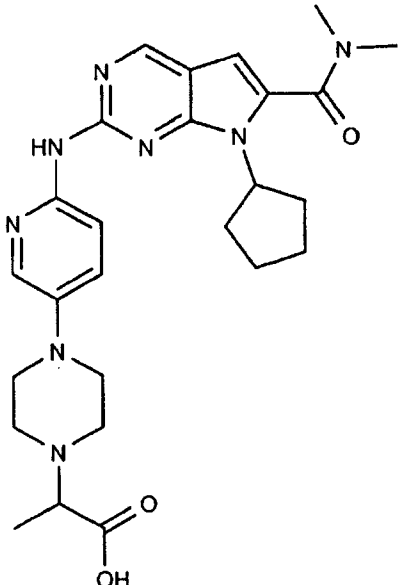
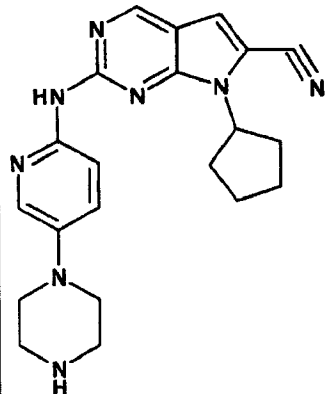
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 92 consists of a central indazole ring system. The indazole is substituted at the 3-position with a 4-(4-isobutylpiperazin-1-yl)pyridin-2-ylamino group. The indazole is also substituted at the 7-position with a 1-methyl-5-cyclopentyl-1H-imidazole-2-carbonyl group.</p>	<p>Referenční příklad 92</p>
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 93 is similar to Referenční příklad 92, but the 4-isobutylpiperazine group is replaced by a 4-(methoxycarbonylmethyl)piperazine group.</p>	<p>Referenční příklad 93</p>

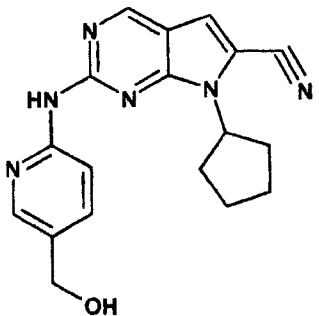
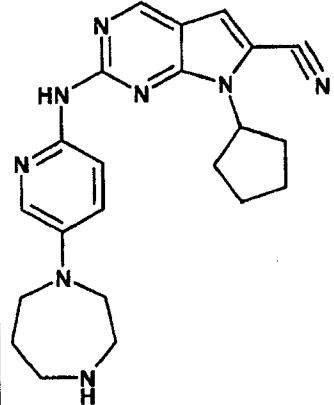
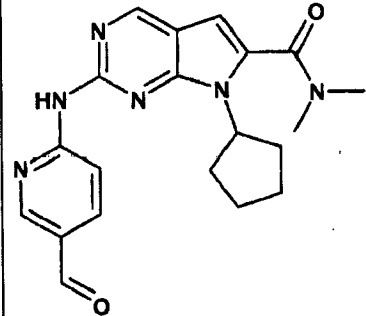
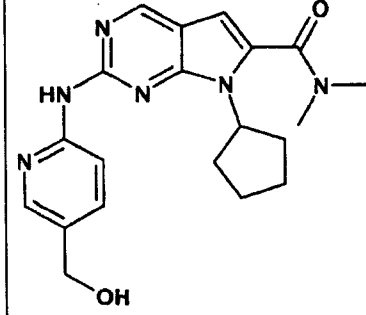
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 94 consists of a central indazole ring system. The indazole is substituted at the 3-position with a 4-pyridinylamino group (-NH-C₅H₄N). The indazole ring is also fused to a 5-membered ring containing a carbonyl group (=O) and a methyl group (-CH₃) on the nitrogen atom. The indazole nitrogen at the 2-position is connected to a piperazine ring. The piperazine ring is further substituted at the 4-position with a carbonyl group (-C(=O)-), which is in turn connected to a piperidine ring.</p>	<p>Referenční příklad 94</p>
 <p>The chemical structure for Referenční příklad 95 is similar to the one in the first row, but with a different substituent on the piperazine ring. Instead of a carbonyl group connected to a piperidine ring, it has a 2-isopropoxyethyl group (-CH₂-CH₂-O-CH(CH₃)₂) attached to the piperazine ring.</p>	<p>Referenční příklad 95</p>

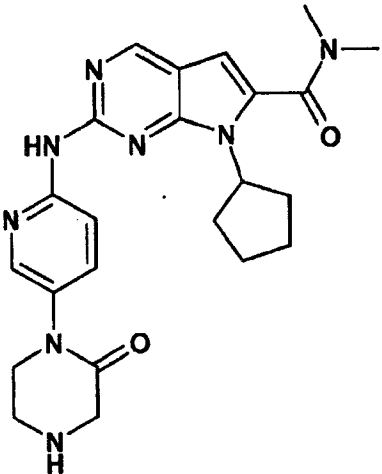
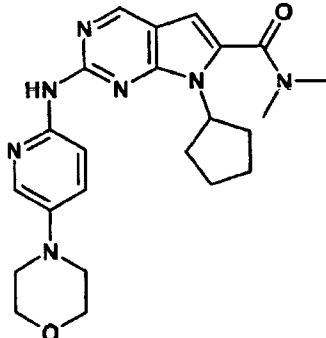
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 96 features a central indazole ring system. The indazole ring is substituted at the 2-position with a 4-pyridinylamino group (-NH-C₅H₄N), at the 3-position with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂), and at the 7-position with a cyclopentyl ring. The nitrogen atom of the indazole ring at the 1-position is also substituted with a cyclopentyl ring. The 4-pyridinylamino group is further substituted at the 4-position of the pyridine ring with a piperazine ring, which is in turn substituted at the 3-position with a hydroxyethyl group (-CH₂CH₂OH).</p>	<p>Referenční příklad 96</p>
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 97 features a central indazole ring system. The indazole ring is substituted at the 2-position with a 4-pyridinylamino group (-NH-C₅H₄N), at the 3-position with a dimethylamino group (-N(CH₃)₂), and at the 7-position with a cyclopentyl ring. The nitrogen atom of the indazole ring at the 1-position is also substituted with a cyclopentyl ring. The 4-pyridinylamino group is further substituted at the 4-position of the pyridine ring with a piperazine ring, which is in turn substituted at the 3-position with an ethyl ester group (-CH₂COOCH₂CH₃).</p>	<p>Referenční příklad 97</p>

 <p>The chemical structure of Referenční příklad 98 features a central indazole ring system. The indazole ring is substituted at the 2-position with a 4-(piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group. At the 3-position, it is substituted with a 2-(2-hydroxyethyl)isoindolin-1(1H)-one ring, which is further substituted at the 4-position with a cyclopentyl group. The nitrogen at the 1-position of the isoindolinone ring is substituted with a tert-butyl group.</p>	<p>Referenční příklad 98</p>
 <p>The chemical structure of Referenční příklad 99 is similar to the one in the first row, but with several modifications. The indazole ring is substituted at the 2-position with a 4-(piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group. At the 3-position, it is substituted with a 2-(1-methyl-2-propylamino)isoindolin-1(1H)-one ring, which is further substituted at the 4-position with a cyclopentyl group. The nitrogen at the 1-position of the isoindolinone ring is substituted with a methyl group.</p>	<p>Referenční příklad 99</p>

 <p>Chemical structure of Referenční příklad 100: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted at the 2-position with an NH group connected to a 4-pyridyl ring. This pyridyl ring is further substituted at the 4-position with a piperidine ring. The piperidine ring has a hydroxymethyl group (-CH₂OH) attached to its nitrogen atom. The indazole is also substituted at the 3-position with a carbonyl group (-C(=O)-) connected to a nitrogen atom, which is in turn connected to a cyclopentane ring.</p>	<p>Referenční příklad 100</p>
 <p>Chemical structure of Referenční příklad 101: A complex molecule featuring a central indazole ring system. The indazole is substituted at the 2-position with an NH group connected to a 4-pyridyl ring. This pyridyl ring is further substituted at the 4-position with a piperazine ring. The piperazine ring has a methyl group (-CH₃) attached to its nitrogen atom. The indazole is also substituted at the 3-position with a carbonyl group (-C(=O)-) connected to a nitrogen atom, which is in turn connected to a cyclopentane ring. Additionally, the indazole is substituted at the 5-position with a carbonyl group (-C(=O)-) connected to a nitrogen atom, which is in turn connected to a methyl group (-CH₃). The piperazine ring is also substituted at the 2-position with a carbonyl group (-C(=O)-) connected to a nitrogen atom, which is in turn connected to a methyl group (-CH₃).</p>	<p>Referenční příklad 101</p>

 <p>The structure shows a central indazole ring system. At position 2, there is an NH group connected to a 4-pyridyl ring. This pyridyl ring is further connected to a piperazine ring. One nitrogen of the piperazine ring is attached to a -CH2-COOH group. At position 3 of the indazole, there is a nitrogen atom bonded to a cyclopentane ring and a methyl group. At position 4, there is a carbonyl group (C=O) bonded to a nitrogen atom which is also bonded to a methyl group.</p>	<p>Referenční příklad 102</p>
 <p>The structure features an indazole core. At position 2, an NH group is linked to a 4-pyridyl ring, which is in turn connected to a piperazine ring. One nitrogen of the piperazine ring is attached to a -CH2-CH(OH)-CH3 group. At position 3, the nitrogen is bonded to a cyclopentane ring and a methyl group. At position 4, there is a carbonyl group (C=O) bonded to a nitrogen atom with two methyl groups.</p>	<p>Referenční příklad 103</p>
 <p>The structure consists of an indazole ring system. At position 2, an NH group is connected to a 4-pyridyl ring, which is further connected to a piperazine ring. At position 3, the nitrogen is bonded to a cyclopentane ring and a nitrile group (-C≡N).</p>	<p>Referenční příklad 104</p>

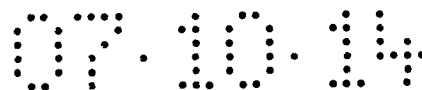
	<p>Referenční příklad 105</p>
	<p>Referenční příklad 106</p>
	<p>Referenční příklad 107</p>
	<p>Referenční příklad 108</p>

	Referenční příklad 109
	Referenční příklad 110

Biologická aktivita

Test enzymatické aktivity CDK4/cyklin D1

Za účelem měření CDK4/cyklin D1 kinázové aktivity byl použit Lance TR-FRET (time-resolved - fluorescence energy transfer) endpoint test ve 384-jamkové mikrotitrační destičce. Stejný test byl použit k určení IC₅₀ malých molekulových inhibitorů. Obecně byly kinázové reakce provedeny v 30 μ l objemech v reakčním roztoku, obsahujícím následující složky: 2 μ l sloučeniny (ve 20% DMSO), 18 μ l CDK4/cyklin D1 v testovém pufru (50 mM HEPES, pH 7,5, 5 mM MgCl₂, 2 mM MnCl₂, 1 mM DTT, 0,05% BSA, 0,02% Tween-20), 10 μ l směsi pRb152 a ATP. Finální reakční směs obsahuje sloučeninu (inhibitor) o koncentraci pohybující se od 0,005 - 10 μ M, 2% DMSO, 0,3 nM CDK4/cyklin D1, 175 nM pRb152 a 3 μ M ATP (Amersham Pharmacia, kat. č. 27-2056-01). Všechny reakce byly prováděny při laboratorní teplotě v bílé 384-jamkové destičce s plochým dnem značky OptiPlates (Perkin Elmer, kat. č.



6007290) po dobu 60 minut, poté byly zhasšeny přidavkem 10 μ l 120 mM EDTA. Signály byly zachyceny přidavkem 40 μ l detekčního roztoku obsahujícího následující: detekční pufr (50 mM HEPES, pH 7,5, 30 mM EDTA, 0,1% Triton x-100, 0,05% BSA), 70 ng/ml anti-fosfo-pRb(S780) (Cell Signaling Technology, kat. č. 9307S), 1 nM Lance Eu-W1024-králičí protilátky proti IgG (Perkin Elmer, kat. č. AD0082) a 20 nM SureLight™ Allofykocykanin-Streptavidin (Perkin Elmer, kat. č. CR130-100). Výsledné roztoky byly inkubovány při laboratorní teplotě po dobu 2 hodin před odečtením na čtečce Evision Multilabel (Perkin Elmer, Envision 2102-0010). Poznámka: $IC_{50} < 0,005$ nM nebo $IC_{50} > 10$ μ M indikuje, že skutečná IC_{50} je mimo detekční rozmezí.

CDK4/cyklin D1 rekombinantní protein, použitý v enzymatickém aktivním testu, byl připraven koexprimováním pDEST10-CDK4 (N-koncový His₆) a pFastBacDual-GST-hCyklinD1 virů v Sf21 buňkách. Nadměrně exprimovaný protein byl purifikován Ni-NTA afinitním vytažením na >80% čistotu pomocí gelové HPLC.

CDK1/cyklin B enzymatický aktivní test

Za účelem měření CDK1/cyklin B kinázové aktivity byl použit IMAF-FP™ (Molecular Devices Trade Mark Technology) endpoint test ve 384-jamkové mikrotitrační destičce. Stejný test byl použit k určení IC_{50} malých molekulových inhibitorů. Obecně byly kinázové reakce provedeny v 20 μ l objemech v reakčním roztoku, který obsahoval 2 μ l sloučeniny (ve 20% DMSO), 8 μ l CDK1/cyklin B v 1x reakčním pufru (Molecular Devices, kat. č. R8139), 10 μ l substrátové směsi Tamra Histon-H1 peptid (Molecular Devices, kat. č. R7384) a ATP (Amersham Pharmacia, kat. č. 27-2056-01) v 1x reakčním pufru s čerstvě přidaným 1 mM DTT. Finální reakční směs obsahuje sloučeninu (inhibitor) o koncentraci pohybující se od 0,005 do 10 μ M, 2% DMSO, 0,25 nM CDK1/cyklin B, 100 nM Tamra Histon-H1 peptid a 20 μ M ATP.

Všechny reakce byly prováděny při laboratorní teplotě v černé 384-jamkové destičce s plochým dnem značky Costar (Corning, kat. č. 3710) po dobu 120 minut, poté byly zhasšeny přidavkem 60 μ l 400-násobně ředěného 1x Progressive Binding pufru A (Molecular Devices, kat. č. R8139). Signály fluorescenční polarizace byly odečteny na čtečce Evision Multilabel (Perkin Elmer, Envision 2102-0010) po 2 hodinové inkubaci při laboratorní teplotě.



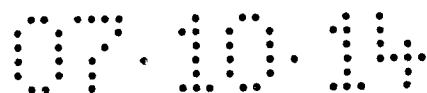
Poznámka: $IC_{50} < 0,005 \text{ nM}$ nebo $IC_{50} > 10 \text{ }\mu\text{M}$ indikuje, že skutečná IC_{50} je mimo detekční rozmezí.

CDK2/cyklin A enzymatický aktivní test

Test se prováděl za podmínek, které jsou identické s podmínkami pro CDK1/cyklin B, až na to, že 0,25 nM CDK1/cyklin B byl nahrazen 0,3 nM CDK2/cyklinem A. Výsledky testů jsou shrnuty v tabulce 2.

TABULKA 2

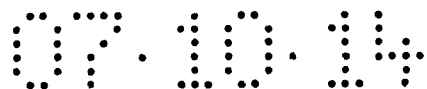
Číslo	CDK4 (μM)	CDK1 (μM)	CDK2 (μM)	MS (MH+)
Referenční příklad 1	*	>15	>15	351,1
74	***	>15	>15	435,3
Referenční příklad 78	***	>15	>15	463,3
Referenční příklad 86	**	>15	>15	481,3
Referenční příklad 26	**	>15	>15	479,3
Referenční příklad 14	**	>15	>15	493,3
Referenční příklad 95	**	>15	>15	521,3
Referenční příklad 33	**	>15	>15	523,4
Referenční příklad 57	**	>15	>15	493,3
Referenční příklad 56	**	>15	>15	493,3
Referenční příklad 71	**	>15	>15	507,3
Referenční příklad 21	***	>15	>15	493,3
Referenční příklad 44	**	>15	>15	509,3
Referenční příklad 46	**	>15	>15	509,3
Referenční příklad 29	**	15	>15	509,3
Referenční příklad 79	**	>15	>15	503,3
Referenční příklad 63	***	>15	>15	477,3
Referenční příklad 36	**	>15	>15	493,4
Referenční příklad 101	*	>15	>15	521,4
Referenční příklad 103	**	>15	>15	507,3
Referenční příklad 69	**	>15	>15	531,4
Referenční příklad 92	***	>15	>15	491,3
Referenční příklad 99	**	>15	>15	505,3
Referenční příklad 90	**	>15	>15	519,4



Číslo	CDK4 (μM)	CDK1 (μM)	CDK2 (μM)	MS (MH+)
Referenční příklad 68	***	>15	>15	519,4
Referenční příklad 25	**	>15	>15	517,3
Referenční příklad 10	**	>15	>15	492,4
Referenční příklad 84	**	>15	>15	474,3
Referenční příklad 9	**	>15	>15	488,3
Referenční příklad 7	**	>15	>15	477,3
Referenční příklad 27	**	>15	>15	503,3
Referenční příklad 23	**	>15	>15	545,3
Referenční příklad 90	**	>15	>15	559,4
Referenční příklad 91	**	>15	>15	559,4
Referenční příklad 12	**	>15	>15	492,3
Referenční příklad 88	***	>15	>15	520,5
Referenční příklad 22	**	>15	>15	532,3
Referenční příklad 94	**	>15	>15	546,3
Referenční příklad 38	**	>15	>15	548,3
Referenční příklad 30	*	>15	>15	549,3
Referenční příklad 31	*	>15	>15	549,3
Referenční příklad 19	***	>15	>15	448,3
Referenční příklad 16	***	>15	>15	449,3
Referenční příklad 81	**	>15	>15	493,3
Referenční příklad 17	**	>15	>15	449,3
Referenční příklad 82	**	>15	>15	493,3
Referenční příklad 72	**	>15	>15	463,3
Referenční příklad 24	**	>15	>15	463,3
Referenční příklad 4	**	>15	>15	449,2
Referenční příklad 8	**	14	8	449,3
Referenční příklad 13	**	>15	>15	435,3
Referenční příklad 39	**	>15	>15	436,3
Referenční příklad 32	**	>15	>15	422,5
Referenční příklad 59	**	>15	>15	423,4
Referenční příklad 83	*	>15	>15	424,2
Referenční příklad 10A	**	12	14	436,3
Referenční příklad 34	*	>15	>15	527,4
Referenční příklad 42	**	>15	>15	449,3



Číslo	CDK4 (μM)	CDK1 (μM)	CDK2 (μM)	MS (MH+)
Referenční příklad 43	**	>15	>15	463,6
Referenční příklad 54	**	>15	>15	463,3
Referenční příklad 55	**	>15	>15	463,4
Referenční příklad 60	*	>15	>15	477,4
Referenční příklad 61	*	>15	>15	491,5
Referenční příklad 62	**	>15	>15	491,4
Referenční příklad 65	**	>15	>15	506,4
Referenční příklad 73	**	>15	>15	475,6
Referenční příklad 75	**	>15	>15	477,2
Referenční příklad 76	**	>15	>15	464,4
Referenční příklad 77	**	>15	>15	507,5
Referenční příklad 85	**	>15	>15	493,4
Referenční příklad 66	**	>15	>15	438,3
Referenční příklad 3	**	>15	>15	477,3
Referenční příklad 53	**	>15	>15	491,3
Referenční příklad 49	**	>15	>15	463,3
Referenční příklad 96	**	>15	>15	507,3
Referenční příklad 50	**	>15	>15	505,5
Referenční příklad 87	**	13	>15	478,3
Referenční příklad 41	***	14,8	4,7	451,3
Referenční příklad 6	***	>15	>15	477,3
Referenční příklad 20	**	>15	>15	450,3
Referenční příklad 35	**	4,7	2,9	478,3
Referenční příklad 52	**	>15	>15	434,3
Referenční příklad 80	**	>15	>15	476,3
Referenční příklad 100	**	>15	>15	478,3
Referenční příklad 45	*	>15	20	536,3
Referenční příklad 67	**	>15	>15	436,3
Referenční příklad 70	**	>15	>15	478,3
Referenční příklad 37	**	>15	>15	480,3
Referenční příklad 48	*	>15	>15	436,3
Referenční příklad 15	*	>15	>15	480,6
Referenční příklad 40	*	>15	>15	395,3
Referenční příklad 47	***	2,6	8,3	431,3



Číslo	CDK4 (μM)	CDK1 (μM)	CDK2 (μM)	MS (MH+)
Referenční příklad 58	**	>15	>15	421,2
Referenční příklad 51	**	>15	>15	463,4
Referenční příklad 11	***	1,3	3,5	431,2
Referenční příklad 18	***	1,1	2,8	445,2
Referenční příklad 109	*	>15	>15	448,5
Referenční příklad 110	*	>15	>15	436,1

Klíč:

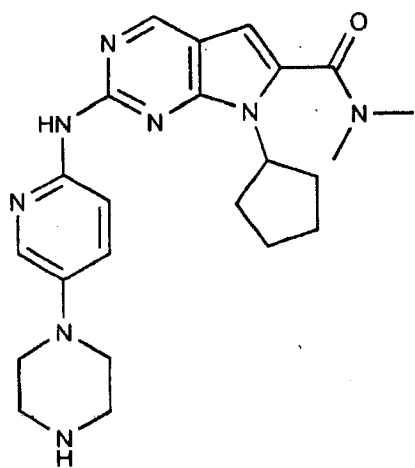
* Vyšší než 0,1 a nižší než, nebo rovno 1,0.

** Vyšší než 0,01 a nižší než, nebo rovno 0,1.

*** Vyšší než 0,001 a nižší než, nebo rovno 0,01.

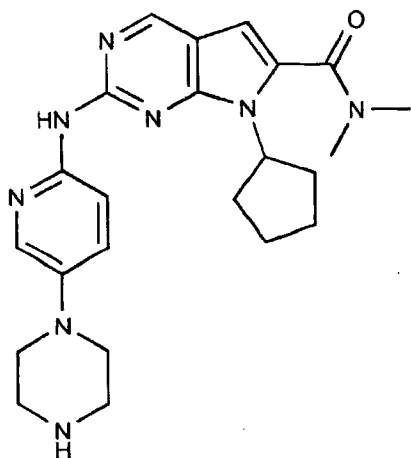
Patentové nároky

1. Sloučenina, která je dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové, a má následující vzorec:



nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

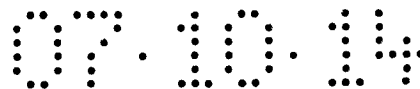
2. Sloučenina podle nároku 1, která je dimethylamid kyseliny 7-cyklopentyl-2-(5-piperazin-1-yl-pyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-karboxylové, a má následující vzorec:



3. Sloučenina nebo její farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 1 pro použití jako léčivo.



4. Farmaceutická kompozice, která obsahuje sloučeninu, nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl, podle nároku 1 a farmaceuticky přijatelný nosič.
5. Kombinace, zahrnující sloučeninu nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl podle nároku 1 spolu s jiným činidlem.
6. Sloučenina nebo její farmaceuticky přijatelná sůl podle nároku 1 pro použití v terapii rakoviny.
7. Sloučenina pro použití podle nároku 6, kde rakovina je vybrána z množiny, kterou tvoří: rakovina prsu, rakovina pankreatu, kolorektální rakovina, rakovina plic a melanom.
8. Sloučenina pro použití podle nároku 6, kde rakovinou je sarkom, leukémie, gliom, familiální melanom nebo melanom.
9. Sloučenina pro použití podle nároku 6, kde rakovinou je karcinom močového měchýře, prsu, tlustého střeva, ledvin, epidermu, jater, plic, jícnu, žlučníku, vaječnicků, pankreatu, žaludku, hrdla děložního, štítné žlázy, nosu, hlavy a krku, prostaty nebo kůže; hematopoetický nádor lymfoidní linie; hematopoetický nádor myeloidní linie, folikulární rakovina štítné žlázy; nádor mesenchymálního původu; nádor centrálního nebo periferního nervového systému; melanom; seminom; teratokarcinom; osteosarkom; xeroderma pigmentosum; keratoakantom; folikulární rakovina štítné žlázy; nebo Kaposiho sarkom.
10. Sloučenina pro použití podle nároku 9, kde hematopoetickým nádorem lymfoidní linie je leukémie, akutní lymfocytární leukémie, chronická lymfocytární leukémie, lymfom B-buněk, lymfom T-buněk, mnohočetný myelom, Hodgkinův lymfom, ne-Hodgkinův lymfom, lymfom vlasových buněk, nebo Burkettův lymfom.
11. Sloučenina pro použití podle nároku 6, kde rakovinou je rakovina prsu, rakovina vaječnicků, rakovina tlustého střeva, rakovina prostaty, rakovina jícnu, rakovina skvamózních buněk a nemalobuněčné karcinomy plic.



12. Sloučenina pro použití podle nároku 9, kde nádorem centrálního nebo periferního nervového systému je astrocytom, neuroblastom, gliom nebo schwannom.
13. Sloučenina pro použití podle nároku 6, kde rakovinou je malobuněčná rakovina plic, nemalobuněčná rakovina plic, rakovina pankreatu, rakovina prsu, glioblastoma multiforme, ALL T-buněk a lymfom plášťových buněk.
14. Sloučenina podle nároku 2 pro použití jako léčivo.
15. Farmaceutická kompozice, která obsahuje sloučeninu podle nároku 2 a farmaceuticky přijatelný nosič.
16. Kombinace, zahrnující sloučeninu podle nároku 2 spolu s jiným činidlem.
17. Sloučenina podle nároku 2 pro použití v terapii rakoviny.