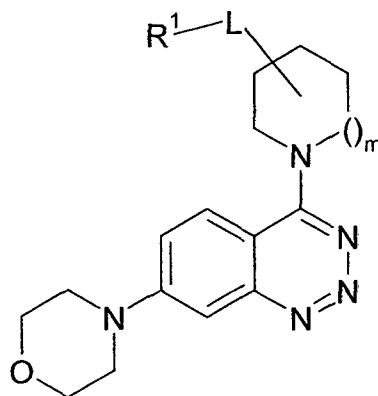


MORPHOLINYLBENZOTRIAZINE ZUR ANWENDUNG IN DER KREBSTHERAPIE

Die Erfindung betrifft Verbindungen der Formel (I)

5



(I)

worin R¹, L und m die in den Ansprüchen angegebene Bedeutung aufweisen, und/oder ihre
10 physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und Stereoisomere, einschließlich deren
Mischungen in allen Verhältnissen. Die Verbindungen der Formel (I) können zur Hemmung
von Serin-Threonin-Proteinkinasen sowie zur Sensibilisierung von Krebszellen gegenüber
Antikrebsmitteln und/oder ionisierender Strahlung verwendet werden. Gegenstand der
Erfindung ist auch die Verwendung der Verbindungen der Formel (I) in der Prophylaxe,
15 Therapie oder Verlaufskontrolle von Krebs, Tumoren, Metastasen oder Störungen der
Angiogenese, in Kombination mit Radiotherapie und/oder einem Antikrebsmittel. Die
Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zum Herstellen der Verbindungen der Formel (I)
durch Umsetzen von Verbindungen der Formeln (II) und (III) und gegebenenfalls
Umwandeln einer Base oder Säure der Verbindungen der Formel (I) in eines ihrer Salze.

20

Die DNA-abhängige Proteinkinase (DNA-PK) ist eine Serin/Threonin-Proteinkinase, die in
Verbindung mit DNA aktiviert wird. Biochemische und genetische Daten zeigen, dass DNA-
PK (a) aus einer katalytischen Untereinheit, die man DNA-PKcs nennt, und (b) zwei
regulatorischen Komponenten (Ku70 und Ku80) besteht. Funktional ist DNA-PK ein
25 entscheidender Bestandteil einerseits der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen
(DSBs) und andererseits der somatischen oder V(D)J Rekombination. Darüber hinaus
werden DNA-PK und ihre Komponenten mit einer Vielzahl weiterer physiologischer
Prozesse in Verbindung gebracht, darunter die Modulation der Chromatinstruktur sowie die
telomere Wartung (Smith & Jackson (1999) Genes and Dev 13: 916; Goytisolo et al. (2001)
30 Mol. Cell. Biol. 21: 3642; Williams et al. (2009) Cancer Res. 69: 2100).

Das menschliche Erbgut in Form der DNA ist fortwährend dem Angriff reaktiver Sauerstoff-Spezies (ROS) ausgesetzt, die vornehmlich als Nebenprodukte des oxidativen Metabolismus anfallen. ROS sind imstande, DNA-Schädigungen in Form von Einzelstrangbrüchen hervorzurufen. Doppelstrangbrüche können entstehen, wenn vorangegangene Einzelstrangbrüche in enger Nachbarschaft erfolgen. Darüber hinaus können Einzel- und Doppelstrangbrüche verursacht werden, wenn die DNA-Replikationsgabel auf beschädigte Basenmuster trifft. Des Weiteren sind körperfremde Einflüsse, wie ionisierende Strahlung (z.B. gamma- oder Schwerionen-Strahlung), und bestimmte Anti-Krebsmedikamente (z.B. Bleomycin) in der Lage, DNA-Doppelstrangbrüche hervorzurufen. DSB können ferner als Zwischenprodukte der somatischen Rekombination auftreten, einem Prozess, der bedeutend ist für die Ausbildung eines funktionalen Immunsystems aller Wirbeltiere. Werden DNA-Doppelstrangbrüche nicht oder fehlerhaft behoben, können Mutationen und/oder Chromosomenaberrationen auftreten, die in der Folge zum Zelltod führen können. Um den schwerwiegenden Gefährdungen, die von DNA-Doppelstrangbrüchen ausgehen, entgegenzuwirken, haben eukaryotische Zellen mehrere Mechanismen entwickelt, diese zu beheben. Höhere Eukaryoten bedienen sich dabei überwiegend der sogenannten *nicht-homologen Endverknüpfung (non-homologous end-joining, NHEJ)*, bei der die DNA-abhängige Proteinkinase die Schlüsselrolle einnimmt. Biochemische Untersuchungen haben gezeigt, dass DNA-PK am wirksamsten durch das Auftreten von DNA-DSBs aktiviert wird. Zelllinien, deren DNA-PK Komponenten mutiert und nicht funktional sind, erweisen sich als strahlungsempfindlich (Smith und Jackson, 1999).

DNA-PK gehört wegen Ihrer katalytischen Domäne, die in der etwa 500 Aminosäuren zählenden C-terminalen katalytischen Untereinheit (DNA-PKcs) liegt, zur Familie der *Phosphatidylinositol-3-kinase-related kinases (PIKK)*, wobei DNA-PK keine Lipid-Kinase darstellt (Hartley et al. (1995) Cell 82: 849; Smith & Jackson (1999) Genes and Dev 13: 916; Lempiäinen & Halazonetis (2009) EMBO J. 28: 3067).

Die Proteinkinase ATM (Ataxia-Telangiectasia-mutierte Kinase) gehört ebenfalls zur PIKK-Familie. Auch sie besitzt eine zentrale Bedeutung bei der Erkennung von DNA-Schäden. Patienten, die an Ataxia-Telangiectasia leiden, zeigen u.a. eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber ionisierender Strahlung. (Lavin & Shiloh (1997) Annu. Rev. Immunol. 15: 177; Rotman & Shiloh (1998) Hum. Mol. Genet. 7: 1555).

35

Es ist durch Izzard et al. (1999) Cancer Res. 59: 2581 beschrieben, dass der PI3-Kinase Inhibitor LY294002 in in-vitro Versuchen die Funktion von DNA-PK inhibiert. Der IC₅₀-Wert

(Konzentration bei der 50 % der Enzymaktivität gehemmt ist) liegt bei wenig wirksamen 1,25 μ M (5,0 mM ATP). Obwohl der Nachweis, dass der Inhibitor LY294002 Säugerzellen strahlungsempfindlicher werden lässt, d.h. die Zytotoxizität ionisierender Strahlung verstärkt wird, prinzipiell eine Anwendung bei der Bestrahlungstherapie von z.B. soliden

5 Krebstumoren impliziert, konnte für LY294002 zellulär lediglich eine schwache Empfindlichkeitssteigerung gegenüber ionisierender Bestrahlung nachgewiesen werden (Rosenzweig et al. (1999) Clin. Cancer Res. 3: 1149). KuDOS Pharmaceuticals Ltd. haben die Leitstruktur LY294002 optimiert und verschiedene DNA-PK-Inhibitoren vorgestellt. Die Einführung einer Dibenzothiophenylgruppe führte zum Inhibitor NU-7441, einer ATP-

10 kompetitiven Verbindung mit einem IC_{50} -Wert von 20.0 nM (Hardcastle et al. (2005) J. Med. Chem. 48: 7829). KU-0060648 vereint inhibitorische Eigenschaften gegenüber DNA-PK mit einem verbesserten Löslichkeitsprofil im wässrigen Medium, jedoch werden die Kinasen der PI3K-Isoenzym-Familie durch KU-0060648 ebenfalls potent gehemmt. Das seit

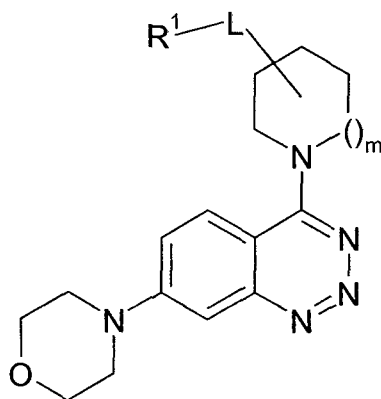
15 Langem bestehende Bedürfnis nach einem potenten und selektiven DNA-PK-Inhibitor ist folglich bisher nicht befriedigt worden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die im Stand der Technik aufgezeigten Nachteile zu überwinden und wirksame Inhibitoren der DNA-PK zu entwickeln, die selektiv gegenüber den verwandten Kinasen der PIKK Familie sowie von niedermolekularer Größe

20 sind und insbesondere eine effektive Anwendung in der Krebstherapie als Radio- und Chemosensibilisierer ermöglichen – mit dem Ziel, die therapeutische Wirksamkeit bei gleichzeitiger Verringerung der Nebenwirkungen zu verbessern.

Die Aufgabe der Erfindung wird gemäß den unabhängigen Ansprüchen gelöst. Die

25 Unteransprüche beinhalten bevorzugte Ausführungsformen. Erfindungsgemäß werden Verbindungen der Formel (I) bereitgestellt



(I)

worin

	R ¹	Het ¹ oder Ar;
	R ² , R ³	unabhängig voneinander Y oder OY, oder zusammen auch -O-(CH ₂) _n -;
5	R ⁴	A oder (CH ₂) _n OA;
10	L	-CR ² R ³ -, eine Einfachbindung, -(CH ₂) _n -, -CH(Hal)-, -C(Hal) ₂ -, -(CH ₂) _n CH(OY)-, -(CH ₂) _n CO-, -(CH ₂) _n NH-, -(CH ₂) _n CONY ₂ -, -NYCO-, -NHCO-NH-, -NR ⁴ CO-, -NYSO ₂ -, -C(=NR ⁴)-, -C(=NCN)-, -CY(NY ₂)-, -CY(CN)-, -CY(O-(CH ₂) _n CN)-, -CY(Het ²)- oder -CY(O-(CH ₂) _n Het ²)-;
	Y	H oder A;
15	A	unverzweigtes oder verzweigtes Alkyl mit 1-10 C-Atomen, wobei unabhängig voneinander 1-7 H-Atome durch Hal ersetzt sein können;
	Cyc	zyklisches Alkyl mit 3-7 C-Atomen, wobei unabhängig voneinander 1-4 H-Atome durch Hal ersetzt sein können;
20	Ar	unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH ₂) _p OY, R ⁴ , (CH ₂) _p OR ⁴ , COOY, NY ₂ , NYCOY und/oder CN substituiertes Phenyl;
25	Het ¹	ein- oder zweikerniges Heteroaryl mit 2-9 C-Atomen und 1-4 N-, O- und/oder S-Atomen, das unsubstituiert oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH ₂) _p OY, R ⁴ , (CH ₂) _p OR ⁴ , =O, COOY, NY ₂ , NYCOY, CONY ₂ , Cyc, Het ² und/oder CN substituiert sein kann;
30	Het ²	einen einkernigen gesättigten Heterozyklus mit 2-7 C-Atomen und 1-4 N-, O- und/oder S-Atomen, der unsubstituiert oder einfach durch A substituiert sein kann;
	Hal	F, Cl, Br oder I;
35	m	0, 1 oder 2; und
	n, p	unabhängig voneinander 0, 1, 2, 3, 4 oder 5 bedeuten,

und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

Überraschenderweise hat sich gezeigt, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen mit
5 inhibierenden Eigenschaften auf Serin-Threonin-Proteinkinasen versehen sind. Die Verbindungen der Formel (I) sind durch ihre Kernstruktur des Morpholinylbenzotriazins, dem vorzugsweise eine Piperidin-Substitution anhaftet, die wiederum mit einem Heteroaryl oder Aryl substituiert sein kann, derart ausgestaltet, dass eine potente und selektive Hemmung von DNA-PK erfolgt. Die erfindungsgemäßen Verbindungen eröffnen damit
10 völlig neue Möglichkeiten hinsichtlich der anti-cancerogenen Wirkung von Antikrebsmitteln. Bemerkenswerterweise spielen die Verbindungen der Formel (I) eine therapeutische Rolle als Radio- und Chemosensibilisierer in der Behandlung von Krebs.

Es ist bisher lediglich aus WO 1992/07844 bekannt, dass 2,4-Diaminochinazolin-Derivate
15 Verstärker von chemotherapeutischen Mitteln in der Krebsbehandlung sind. Die Derivate adressieren die Mehrfachresistenz von Tumorzellen infolge von Überexpression des *mdr1*-Gens, dessen Genprodukt einer Efflux-P-Glycoproteinpumpe die intrazelluläre Wirkstoffkonzentration gering hält. Weder sind physiko-chemische und pharmakologische Daten offenbart, noch ist ein vermarktetes Medikament bekannt. Im Gegensatz dazu enthüllt die
20 vorliegende Erfindung, dass gerade Verbindungen der Formel (I) zur spezifischen Hemmung von Serin-Threonin-Proteinkinasen wie DNA-PK befähigt sind. Die erfindungsgemäßen Verbindungen und ihre Salze besitzen folglich wertvolle pharmakologische Eigenschaften bei gleichzeitig guter Verträglichkeit.

Im Rahmen der Erfindung sind die Verbindungen der Formel (I) so definiert, dass man
25 darunter auch pharmazeutisch verwendbare Derivate, Salze, Hydrate, Solvate, Vorstufen der Verbindungen, Tautomere und optisch aktive Formen (wie z.B. Stereoisomere, Diastereomere, Enantiomere, Racemate) versteht. Unter Solvaten der Verbindungen werden Anlagerungen von inerten Lösungsmittelmolekülen an die Verbindungen verstanden, die
30 sich aufgrund ihrer gegenseitigen Anziehungskraft ausbilden. Solvate sind z.B. Mono- oder Dihydrate oder Alkoholate. Unter pharmazeutisch verwendbaren Derivaten versteht man z.B. die Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen als auch sogenannte Vorstufen der Verbindungen. Unter Vorstufen versteht man z.B. mit Alkyl- oder Acylgruppen, Zuckern oder Oligopeptiden abgewandelte Verbindungen der Formel (I), die im Organismus rasch
35 zu den wirksamen erfindungsgemäßen Verbindungen gespalten werden. Hierzu gehören auch bioabbaubare Polymerderivate der erfindungsgemäßen Verbindungen, wie dies z.B. in Int. J. Pharm. 115, 61-67 (1995) beschrieben ist. Jegliche Verbindung, die in-vivo in ein

bioaktives Mittel, d.h. Verbindungen der Formel (I) umgewandelt werden kann, ist eine Vorstufe im Sinne dieser Erfindung. Jegliche biologisch aktive Verbindung, die aus der in-vivo Verstoffwechslung einer erfindungsgemäßen Verbindung resultiert, ist ein Metabolit im Sinne der vorliegenden Erfindung. Die Verbindungen der Formel (I) können ein oder
5 mehrere chirale Zentren besitzen und daher in verschiedenen stereoisomeren Formen vorkommen. Die Formel (I) schließt alle diese Formen ein.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung von Mischungen der Verbindungen der Formel (I), z.B. Gemische zweier Diastereomere, z.B. im Verhältnis 1:1, 1:2, 1:3, 1:4,
10 1:5, 1:10, 1:100 oder 1:1000. Besonders bevorzugt handelt es sich dabei um Mischungen stereoisomerer Verbindungen.

Vor- und nachstehend haben die Radikale R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , L, Y, A, Cyc, Ar, Het¹, Het² und Hal sowie m, n und p die bei der Formel (I) angegebenen Bedeutungen, sofern nicht
15 ausdrücklich etwas anderes angegeben ist. Bei mehrfachem Auftreten einzelner Reste innerhalb einer Verbindung oder eines Radikals nehmen die Reste unabhängig voneinander die angegebenen Bedeutungen an, sofern nicht ausdrücklich etwas anderes angegeben ist. Beispielsweise sind die Reste YY im Radikal L, in dem sie mehrfach
vorkommen, identisch oder verschieden, aber vorzugsweise in jedem Fall unabhängig
20 voneinander unter den vorstehend und/oder nachstehend angegebenen Bedeutungen ausgewählt (z.B. Methyl und/oder Ethyl), sofern nicht ausdrücklich etwas anderes angegeben ist. Den vorliegend verwendeten Bezeichnungen zur Definition der Verbindungen liegen im Allgemeinen die Regeln der IUPAC-Organisation für chemische Verbindungen und insbesondere organische Verbindungen zugrunde. Die Bezeichnungen
zur Erläuterung der o.g. Verbindungen der Erfindung haben immer die nachstehenden
25 Bedeutungen, sofern die Beschreibung oder die Ansprüche nicht etwas anderes anzeigen.

Der Begriff „unsubstituiert“ bedeutet, dass ein Radikal, eine Gruppe oder ein Rest keine Substituenten trägt. Der Begriff „substituiert“ bedeutet, dass ein Radikal, eine Gruppe oder
30 ein Rest einen oder mehrere Substituenten trägt.

„Alkyl“ oder „A“ bezeichnet im Sinne der Erfindung ein gesättigtes oder ungesättigtes Kohlenwasserstoffradikal, das unverzweigt (linear), verzweigt oder zyklisch ist und vorzugsweise 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 oder 10 C-Atome besitzt, d.h. C₁₋₁₀-Alkanyl. Beispiele
35 für Alkylradikale sind Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, 1,1-, 1,2- oder 2,2-Dimethylpropyl, 1-Ethylpropyl, 1-Ethyl-1-methylpropyl, 1-Ethyl-2-methylpropyl, 1,1,2- oder 1,2,2-Trimethylpropyl, Butyl, Isobutyl, sek.-Butyl, tert.-Butyl, 1-, 2- oder 3-Methylbutyl, 1,1-, 1,2-, 1,3-,

2,2-, 2,3- oder 3,3-Dimethylbutyl, 1- oder 2-Ethylbutyl, Pentyl, Isopentyl, Neopentyl, tert.-Pentyl, 1-, 2-, 3- oder 4-Methylpentyl, Hexyl.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist „A“ unverzweigtes oder
5 verzweigtes Alkyl mit 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 oder 10 C-Atomen, wobei unabhängig
voneinander 1, 2, 3, 4, 5, 6 oder 7 H-Atome durch Hal ersetzt sein können. Besonders
bevorzugt als „A“ ist unverzweigtes oder verzweigtes Alkyl mit 1, 2, 3, 4, 5 oder 6 C-
Atomen, wobei unabhängig voneinander 1, 2, 3, 4 oder 5 H-Atome durch Hal ersetzt sein
können. Ganz besonders bevorzugt ist C₁₋₄-Alkyl, wobei unabhängig voneinander 1-3 H-
10 Atome durch Hal ersetzt sein können. Ein solches C₁₋₄-Alkyl ist beispielsweise Methyl,
Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, Isobutyl, sek.-Butyl, tert.-Butyl, Fluormethyl, Difluormethyl,
Trifluormethyl, Pentafluorethyl, 1,1,1-Trifluorethyl oder Brommethyl, höchst bevorzugt
Methyl, Ethyl oder Trifluormethyl. Es versteht sich, dass die jeweiligen Bedeutungen von
„A“ unabhängig voneinander in den Radikalen einer erfindungsgemäßen Formel sind.

15 „Cycloalkyl“ oder „Cyc“ bezeichnet im Sinne der Erfindung gesättigte und teilweise unge-
sättigte nicht-aromatische zyklische Kohlenwasserstoffgruppen mit 1 bis 3 Ringen, die 3 bis
20, vorzugsweise 3 bis 12, besonders bevorzugt 3 bis 9 C-Atome umfassen. Die Bindung
an das Grundgerüst der Formel (I) kann über jedes Ringmitglied der Cycloalkylgruppe
20 erfolgen. Beispiele für geeignetes Cycloalkyl sind Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl,
Cyclohexyl, Cycloheptyl, Cyclooctyl, Cyclodecyl, Cyclopentenyl, Cyclohexenyl und
Cyclooctadienyl.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist „Cyc“ zyklisches Alkyl mit 3-7 C-
25 Atomen, wobei unabhängig voneinander 1-4 H-Atome durch Hal ersetzt sein können.
Besonders bevorzugt ist zyklisches Alkyl mit 3-5 C-Atomen.

Grundgerüst der Formel (I) ist jede generische oder nicht-generische Struktur, an die
irgendein Radikal im Sinne der Erfindung, wie z.B. Ar, Het¹ oder Het², gebunden werden
30 kann, um zu einer erfindungsgemäßen Verbindung der Formel (I) zu gelangen.

Der Begriff „Aryl“, „Carboaryl“ oder „Ar“ bezeichnet im Sinne der Erfindung ein mono- oder
polyzyklisches aromatisches Kohlenwasserstoffsystem mit 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
oder 14, vorzugsweise 4-10, besonders bevorzugt 5-8 C-Atomen, die gegebenenfalls
35 substituiert sein können. Der Begriff „Aryl“ schließt solche Systeme ein, in denen der
aromatische Zyklus Teil eines bi- oder polyzyklischen gesättigten, teilweise ungesättigten
und/oder aromatischen Systems ist, z.B. wenn der aromatische Zyklus an „Aryl“, „Hetero-

aryl" oder „Heterocycl" über ein beliebiges Ringmitglied des Arylradikals fusioniert ist. Die Bindung an das Grundgerüst der Formel (I) kann über jedes Ringmitglied der Arylgruppe erfolgen. Beispiele für geeignetes „Aryl" sind Phenyl, Biphenyl, Naphthyl, 1-Naphthyl, 2-Naphthyl, Anthracenyl, Indanyl, Indenyl, 1,2,3,4-Tetrahydronaphthyl, insbesondere

5 Phenyl, o-, m- oder p-Tolyl, o-, m- oder p-Ethylphenyl, o-, m- oder p-Propylphenyl, o-, m- oder p-Isopropylphenyl, o-, m- oder p-tert.-Butylphenyl, o-, m- oder p-Trifluormethylphenyl, o-, m- oder p-Fluorphenyl, o-, m- oder p-Bromphenyl, o-, m- oder p-Chlorphenyl, o-, m- oder p-Hydroxyphenyl, o-, m- oder p-Methoxyphenyl, o-, m- oder p-Methylsulfonylphenyl, o-, m- oder p-Nitrophenyl, o-, m- oder p-Aminophenyl, o-, m- oder p-Methylaminophenyl,

10 o-, m- oder p-Dimethylaminophenyl, o-, m- oder p-Aminosulfonylphenyl, o-, m- oder p-Methylaminosulfonylphenyl, o-, m- oder p-Aminocarbonylphenyl, o-, m- oder p-Carboxyphenyl, o-, m- oder p-Methoxycarbonylphenyl, o-, m- oder p-Ethoxycarbonylphenyl, o-, m- oder p-Acetylphenyl, o-, m- oder p-Formylphenyl, o-, m- oder p-Cyanphenyl, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- oder 3,5-Difluorphenyl, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- oder 3,5-Dichlorphenyl, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- oder 3,5-Dibromphenyl, 2,3,4-, 2,3,5-, 2,3,6-, 2,4,6- oder 3,4,5-Trichlorphenyl, p-Iodphenyl, 4-Fluor-3-chlorphenyl, 2-Fluor-4-bromphenyl, 2,5-Difluor-4-bromphenyl oder 2,5-Dimethyl-4-chlorphenyl.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist „Ar" unsubstituiertes oder ein- oder

20 zweifach durch Hal, $(CH_2)_pOY$, R^4 , $(CH_2)_pOR^4$, $COOY$, NY_2 , $NYCOY$ und/oder CN substituiertes Phenyl, Naphthyl oder Biphenyl. Es ist ganz besonders bevorzugt, dass „Ar" unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal, $(CH_2)_pOY$, R^4 , $(CH_2)_pOR^4$, $COOY$, NY_2 , $NYCOY$ und/oder CN substituiertes Phenyl bedeutet. Es ist ganz besonders bevorzugt, dass „Ar" unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal und/oder $(CH_2)_pOY$

25 substituiertes Phenyl bedeutet, höchst bevorzugt ein- oder zweifach durch Hal und/oder OA substituiertes Phenyl.

Der Begriff „Heteroaryl" bezeichnet im Sinne der Erfindung ein 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 oder 15, vorzugsweise 2-9, besonders bevorzugt 5-, 6- oder 7-gliedriges mono-

30 oder polyzyklisches aromatisches Kohlenwasserstoffradikal, das mindestens 1, wenn passend auch 2, 3, 4 oder 5 Heteroatome umfasst, insbesondere Stickstoff, Sauerstoff und/oder Schwefel, wobei die Heteroatome identisch oder verschieden sind. Die Anzahl der Stickstoffatome ist vorzugsweise 0, 1, 2, 3 oder 4, und die der Sauerstoff- und Schwefelatome ist unabhängig voneinander 0 oder 1. Der Begriff „Heteroaryl" schließt

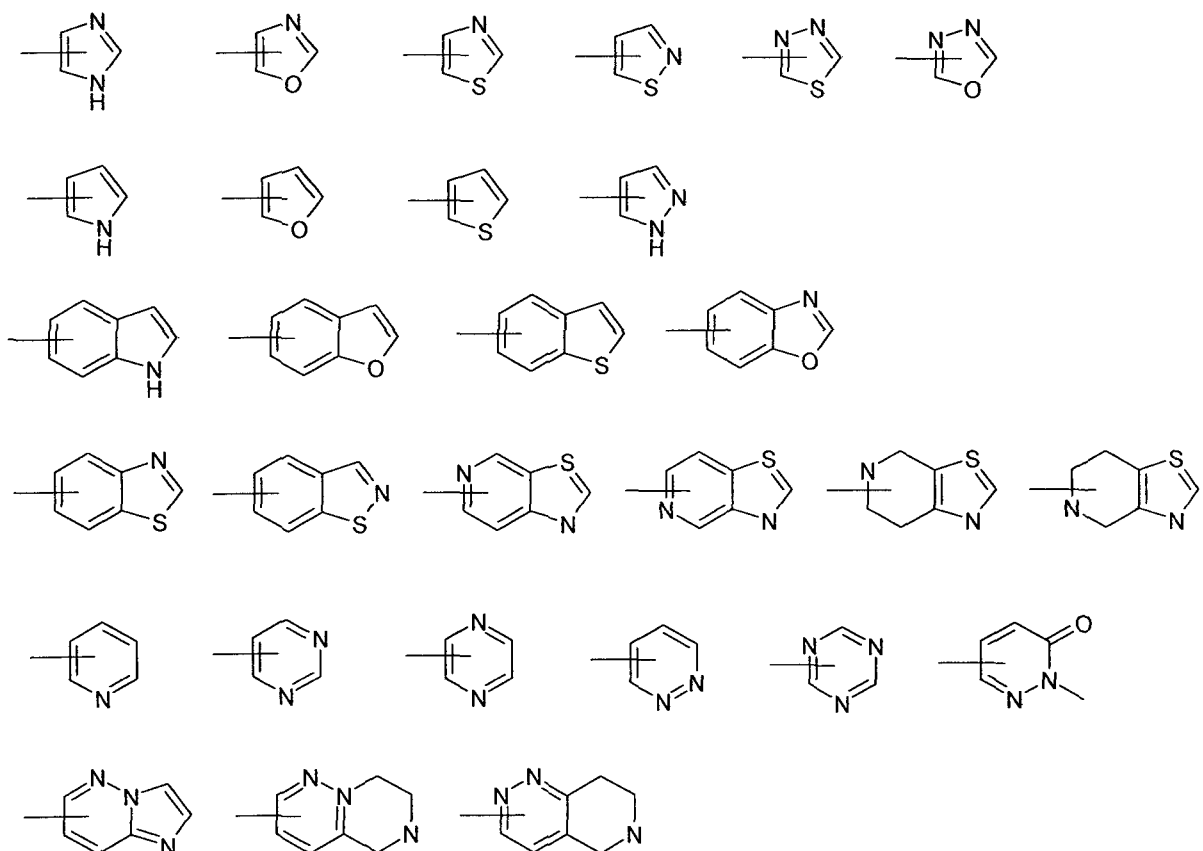
35 solche Systeme ein, in denen der heteroaromatische Zyklus Teil eines bi- oder polyzyklischen gesättigten, teilweise ungesättigten und/oder aromatischen Systems ist, z.B. wenn der heteroaromatische Zyklus an „Aryl" oder „Heterocycl" über ein beliebiges

Ringmitglied des Heteroarylradikals fusioniert ist. Die Bindung an das Grundgerüst der Formel (I) kann über jedes Ringmitglied der Heteroarylgruppe erfolgen, sofern es chemisch sinnvoll erscheint, wobei eine Bindung über die C-Atome bevorzugt ist.

- 5 „Heteroaryl“ bedeutet, ungeachtet weiterer Substitutionen, z.B. 2- oder 3-Furyl, 2- oder 3-Thienyl, 1-, 2- oder 3-Pyrrolyl, 1-, 2-, 4- oder 5-Imidazolyl, 1-, 3-, 4- oder 5-Pyrazolyl, 2-, 4- oder 5-Oxazolyl, 3-, 4- oder 5-Isoxazolyl, 2-, 4- oder 5-Thiazolyl, 3-, 4- oder 5-Isothiazolyl, 2-, 3- oder 4-Pyridyl, 2-, 4-, 5- oder 6-Pyrimidinyl, 1,2,3-Triazol-1-, -4- oder -5-yl, 1,2,4-Triazol-1-, -3- oder 5-yl, 1- oder 5-Tetrazolyl, 1,2,3-Oxadiazol-4- oder -5-yl, 10 1,2,4-Oxadiazol-3- oder -5-yl, 1,3,4-Thiadiazol-2- oder -5-yl, 1,2,4-Thiadiazol-3- oder -5-yl, 1,2,3-Thiadiazol-4- oder -5-yl, 3- oder 4-Pyridazinyl, Pyrazinyl, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-Indolyl, 4- oder 5-Isoindolyl, 1-, 2-, 4- oder 5-Benzimidazolyl, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-Indazolyl, 1-, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzopyrazolyl, 2-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzoxazolyl, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzisoxazolyl, 2-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzothiazolyl, 2-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzisothiazolyl, 4-, 5-, 6- oder 7-Benz-2,1,3-oxadiazolyl, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- oder 8-Chinolyl, 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- oder 8-Isochinolyl, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- oder 8-Cinolinyl, 2-, 4-, 5-, 6-, 7- oder 8-Chinazolinyl, 5- oder 6-Chinoxalinyll, 2-, 3-, 5-, 6-, 7- oder 8-2H-Benzo[1,4]-oxazinyl, 1,3-Benzodioxol-5-yl, 1,4-Benzodioxan-6-yl, 2,1,3-Benzothiadiazol-4- oder -5-yl, 2,1,3-Benzoxadiazol-5-yl, Imidazolyl, Triazinyl, Phthalazinyl, Indolizinyl, Pteridinyl, 20 Carbazolyl, Phenazinyl, Phenoxazinyl, Phenothiazinyl oder Acridinyl.

- Die heterozyklischen Reste können auch teilweise oder vollständig hydriert sein. Unsubstituiertes Heteroaryl kann also z.B. auch bedeuten 2,3-Dihydro-2-, -3-, -4- oder -5-furyl, 2,5-Dihydro-2-, -3-, -4- oder 5-furyl, Tetrahydro-2- oder -3-furyl, 1,3-Dioxolan-4-yl, Tetrahydro-25 2- oder -3-thienyl, 2,3-Dihydro-1-, -2-, -3-, -4- oder -5-pyrrolyl, 2,5-Dihydro-1-, -2-, -3-, -4- oder -5-pyrrolyl, 1-, 2- oder 3-Pyrrolidinyl, Tetrahydro-1-, -2- oder -4-imidazolyl, 2,3-Dihydro-1-, -2-, -3-, -4- oder -5-pyrazolyl, Tetrahydro-1-, -3- oder -4-pyrazolyl, 1,4-Dihydro-1-, -2-, -3- oder -4-pyridyl, 1,2,3,4-Tetrahydro-1-, -2-, -3-, -4-, -5- oder -6-pyridyl, 1-, 2-, 3- oder 4-Piperidinyl, 2-, 3- oder 4-Morpholinyl, Tetrahydro-2-, -3- oder -4-pyranyl, 1,4-Di-oxanyl, 1,3-Dioxan-2-, -4- oder -5-yl, Hexahydro-1-, -3- oder -4-pyridazinyl, Hexahydro-1-, 30 -2-, -4- oder -5-pyrimidinyl, 1-, 2- oder 3-Piperazinyl, 1,2,3,4-Tetrahydro-1-, -2-, -3-, -4-, -5-, -6-, -7- oder -8-chinolyl, 1,2,3,4-Tetrahydro-1-, -2-, -3-, -4-, -5-, -6-, -7- oder -8-isochinolyl, 2-, 3-, 5-, 6-, 7- oder 8-3,4-Dihydro-2H-benzo[1,4]oxazinyl, 2,3-Methylenedioxyphenyl, 3,4-Methylenedioxyphenyl, 2,3-Ethylendioxyphenyl, 3,4-Ethylendioxyphenyl, 3,4-(Difluormethylenedioxy)phenyl, 2,3-Dihydrobenzofuran-5- oder 6-yl, 2,3-(2-Oxo-methylenedioxy)phenyl, oder auch 3,4-Dihydro-2H-1,5-benzodioxepin-6- oder -7-yl, 2,3-Dihydrobenzofuranyl oder 2,3-Dihydro-2-oxo-furanyl.

- Es ist bevorzugt, dass „Heteroaryl“ im Rahmen von „Het¹“ einen ein- oder zweikernigen aromatischen Heterozyklus mit 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 oder 9 C-Atomen und 1, 2, 3 oder 4 N-, O- und/oder S-Atomen, der unsubstituiert ein- oder zweifach durch Hal, (CH₂)_pOY, R⁴, (CH₂)_pOR⁴, =O, COOY, NY₂, NYCOY und/oder CN substituiert sein kann, bedeutet. Es ist besonders bevorzugt, dass „Het¹“ ein- oder zweikerniges Heteroaryl mit 2, 3, 4, 5, 6, 7, oder 8 C-Atomen und 1, 2 oder 3 N-, O- und/oder S-Atomen, das unsubstituiert oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH₂)_pOY, A und/oder =O substituiert sein kann, bedeutet, ganz besonders bevorzugt unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH₂)_pOY, A und/oder =O substituiertes Heteroaryl, ausgewählt aus der Gruppe:



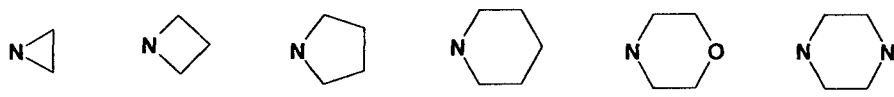
- Höchst bevorzugt ist unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch (CH₂)_pOY oder A substituiertes Thiazol. Weiterhin höchst bevorzugt ist unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch (CH₂)_pOY oder A substituiertes Pyridin, Pyridazin oder Pyrazol.

- Der Begriff „Heterozyklus“ bezeichnet im Sinne der Erfindung ein mono- oder polyzyklisches System mit 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 oder 20 Ringatomen, vorzugsweise 3-14 Ringatomen, besonders bevorzugt 3-10 Ringatomen, umfassend C-Atome und 1, 2, 3, 4 oder 5 Heteroatome, insbesondere Stickstoff, Sauerstoff

und/oder Schwefel, wobei die Heteroatome identisch oder verschieden sind. Das zyklische System kann gesättigt oder ein- oder mehrfach ungesättigt sein. Beispiele für geeignete Heterozyklen sind Pyrrolidinyl, Thiapyrrolidinyl, Piperidinyl, Piperazinyl, Oxapiperazinyl, Oxapiperidinyl, Oxadiazolyl, Tetrahydrofuryl, Imidazolidinyl, Thiazolidinyl,

5 Tetrahydropyranlyl, Morpholinyl, Tetrahydrothiophenyl, Dihydropyranlyl.

In einer Ausgestaltung der Erfindung ist „Het²“ ein einkerniger gesättigter Heterozyklus mit 2, 3, 4, 5, 6 oder 7 C-Atomen und 1, 2, 3 oder 4 N-, O- und/oder S-Atomen, der unsubstituiert oder einfach durch A substituiert sein kann. Es ist bevorzugt, dass „Het²“
 10 einen einkernigen gesättigten Heterozyklus mit 2, 3, 4 oder 5 C-Atomen und 1 oder 2 N- und/oder O-Atomen, der unsubstituiert oder einfach durch A substituiert sein kann, bedeutet, ganz besonders bevorzugt einen unsubstituierten oder einfach durch A substituierten Heterozyklus, ausgewählt aus der Gruppe:



15

Der Begriff „Halogen“, „Halogenatom“, „Halogensubstituent“ oder „Hal“ bezeichnet im Sinne der Erfindung ein oder mehrere Atome von Fluor (F), Brom (Br), Chlor (Cl) oder Iod (I). Die Bezeichnungen „Dihalogen“, „Trihalogen“ und „Perhalogen“ beziehen sich auf zwei, drei oder vier Substituenten, wobei jeder Substituent unabhängig voneinander aus der Gruppe
 20 von F, Cl, Br oder I ausgewählt werden kann. „Halogen“ meint vorzugsweise F, Cl oder Br. F und Cl sind besonders bevorzugt, insbesondere wenn die Halogene an einer Alkyl- (Haloalkyl) oder Alkoxygruppe substituiert sind (z.B. CF₃ und CF₃O).

Das Radikal R¹ bedeutet vorzugsweise Het¹ oder Ar, besonders bevorzugt Het¹.

25

Die Radikale R², R³ bedeuten insbesondere unabhängig voneinander Y oder OY, oder zusammen auch -O-(CH₂)_n-.

Das Radikal R² bedeutet vorzugsweise Y oder OY, besonders bevorzugt Y oder OH, ganz
 30 besonders bevorzugt Y, ebenso ganz besonders bevorzugt OH, höchst bevorzugt H.

Das Radikal R³ bedeutet vorzugsweise Y oder OY, besonders bevorzugt OY oder A, ganz besonders bevorzugt OY, höchst bevorzugt OH.

35

Das Radikal R⁴ bedeutet insbesondere A oder (CH₂)_nOA.

Das Radikal L bedeutet vorzugsweise $-CR^2R^3-$, eine Einfachbindung, $-(CH_2)_n-$, $-CH(Hal)-$, $-C(Hal)_2-$, $-(CH_2)_nCH(OY)-$, $-(CH_2)_nCO-$, $-(CH_2)_nNH-$, $-(CH_2)_nCONY_2-$, $-NYCO-$, $-NHCO-NH-$, $-NR^4CO-$, $-NYSO_2-$, $-C(=NR^4)-$, $-C(=NCN)-$, $-CY(NY_2)-$, $-CY(CN)-$, $-CY(O-(CH_2)_nCN)-$,
5 $-CY(Het^2)-$ oder $-CY(O-(CH_2)_nHet^2)-$, besonders bevorzugt $-CR^2R^3-$, ganz besonders bevorzugt $-CR^2R^3-$ in Verbindung mit den vorgenannten bevorzugten Ausführungsformen von R^2 und/oder R^3 .

Die Gruppe $-L-R1$ ist vorzugsweise in meta-Position am Pyrrolidin, Piperidin oder Azepan
10 angeordnet.

Der Index m bedeutet vorzugsweise 0, 1 oder 2, besonders bevorzugt 0 oder 1, ganz besonders bevorzugt 1.

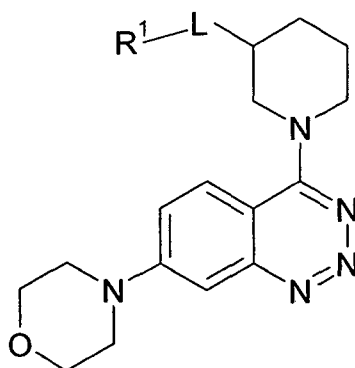
15 Der Index n bedeutet vorzugsweise 0, 1, 2, 3 oder 4, besonders bevorzugt 1, 2 oder 3. Es versteht sich, dass die jeweiligen Bedeutungen von „n“ unabhängig voneinander in den Radikalen einer erfindungsgemäßen Formel sind.

Der Index p bedeutet vorzugsweise 0, 1, 2, 3, 4 oder 5, besonders bevorzugt 0, 1, 2 oder 3,
20 ganz besonders bevorzugt 0, 1 oder 2, höchst bevorzugt 0 oder 1. Es versteht sich, dass die jeweiligen Bedeutungen von „n“ unabhängig voneinander in den Radikalen einer erfindungsgemäßen Formel sind.

Dementsprechend sind Gegenstand der Erfindung diejenigen Verbindungen der Formel (I),
25 in denen mindestens eines der genannten Radikale eine der vorstehend angegebenen Bedeutungen hat. Nicht näher bezeichneten Radikale im Kontext einer Ausführungsform der Formel (I), Teilformel davon oder irgendeines Restes daran sollen die bei der Formel (I) angegebene Bedeutung haben, wie sie hierin offenbart ist, um die Aufgabe der Erfindung zu lösen. Das heißt, dass die genannten Radikale sämtliche ihnen zugeordneten
30 Bedeutungen annehmen können, wie sie vor- oder nachstehend beschrieben sind, einschließlich jeglicher bevorzugter Ausführungsformen, ohne auf diese beschränkt zu sein und unabhängig von ihrem Auftreten in einem anderen bestimmten Kontext. Es versteht sich insbesondere, dass jede Ausführungsform eines bestimmten Radikals mit jeder Ausführungsform eines oder mehrerer anderer Radikale kombiniert werden kann.

35

In einer bevorzugten Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung werden Morpholinylbenzotriazin-Derivate der Teilformel (IA) bereitgestellt

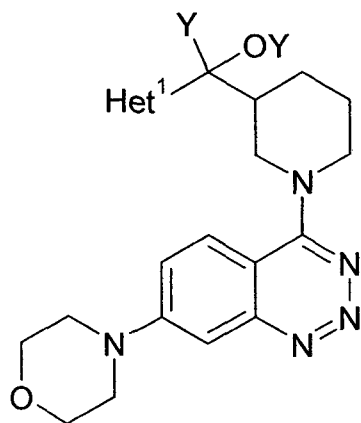


(IA)

	worin	
	R ¹	Het ¹ oder Ar;
5	R ²	Y oder OY;
	R ³	OY oder A;
10	R ² , R ³	zusammen auch -O-(CH ₂) _n -;
	L	-CR ² R ³ -;
	Y	H oder A;
15	A	unverzweigtes oder verzweigtes Alkyl mit 1-6 C-Atomen, wobei unabhängig voneinander 1-5 H-Atome durch Hal ersetzt sein können;
	Ar	unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal und/oder (CH ₂) _p OY substituiertes Phenyl;
20		
	Het ¹	ein- oder zweikerniges Heteroaryl mit 2-8 C-Atomen und 1-3 N-, O- und/oder S-Atomen, das unsubstituiert oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH ₂) _p OY, A und/oder =O substituiert sein kann;
25		
	Hal	F, Cl, Br oder I; und
	n, p	unabhängig voneinander 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeuten,
30		und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere,

einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

In einer ganz besonders bevorzugten Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung werden Morpholinylbenzotriazin-Derivate der Teilformel (IB) bereitgestellt



5

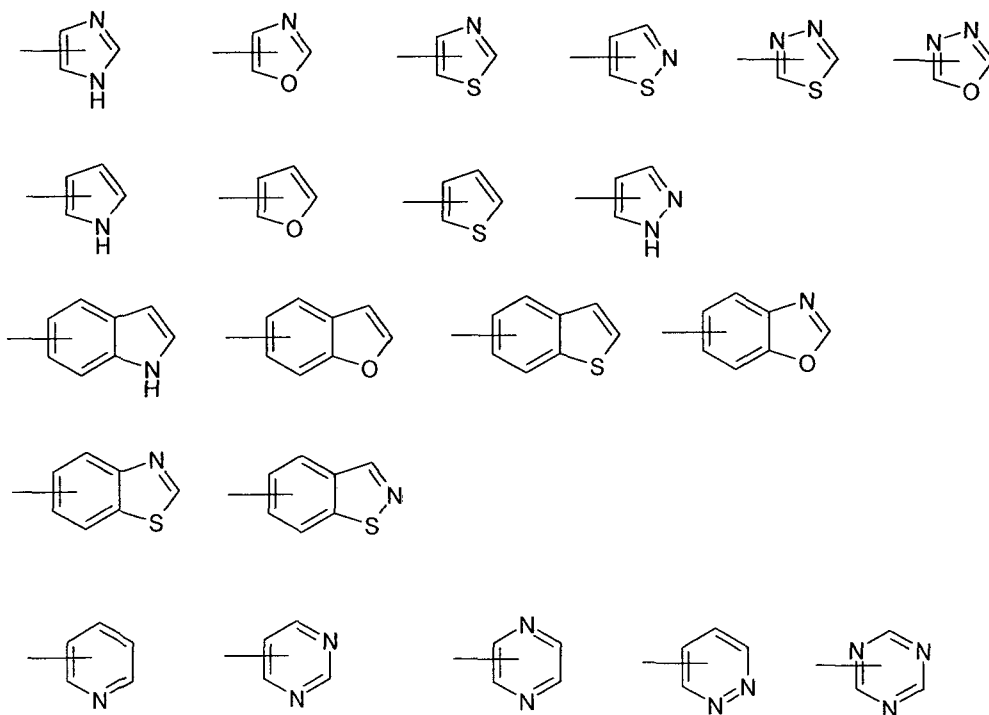
(IB)

worin

Y H oder A;

10 A unverzweigtes oder verzweigtes Alkyl mit 1-6 C-Atomen, wobei unabhängig voneinander 1-3 H-Atome durch Hal ersetzt sein können;

Het¹ unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal, $(CH_2)_pOY$, A und/oder =O substituiertes Heteroaryl, ausgewählt aus der Gruppe:



15

Hal F, Cl, Br oder I; und

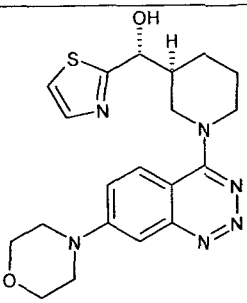
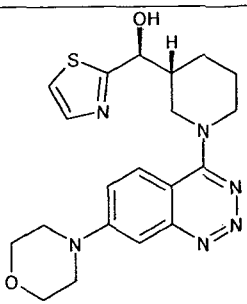
p 0, 1 oder 2 bedeuten,

5

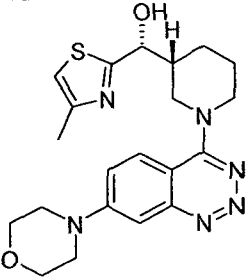
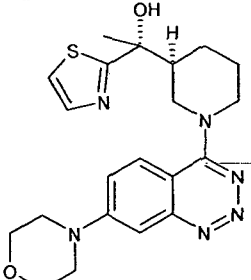
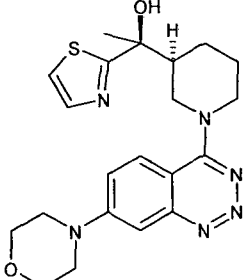
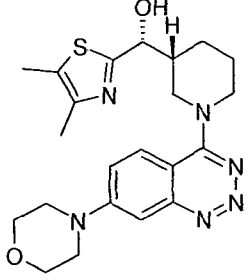
und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

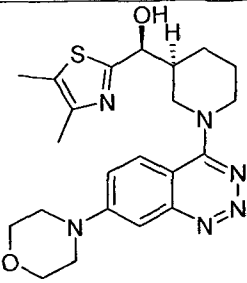
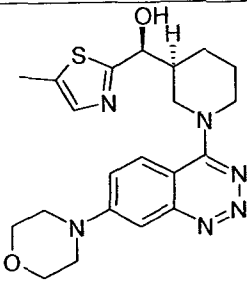
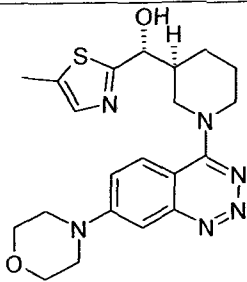
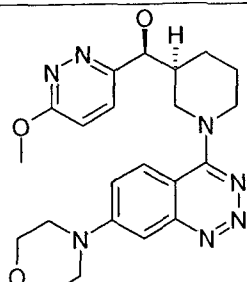
Höchst bevorzugt sind solche Verbindungen der Formeln (I), (IA) und (IB), die in Tabelle 1
10 zusammengestellt sind.

Tabelle 1: Höchst bevorzugte Verbindungen der Formeln (I), (IA) und (IB) und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

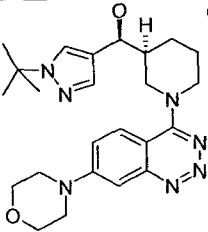
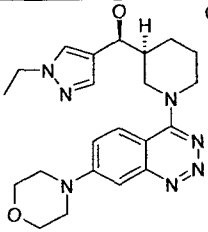
Nr.	Strukturformel	Name	Analytik ¹ H NMR (400 MHz, DMSO) δ Nr. 1-11, 13 ¹ H NMR (500 MHz, DMSO) δ Nr. 12, 14-20	Bindung DNA-PK IC ₅₀ [μM]
1		(R)-[(S)-1-(7-Morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-thiazol-2-yl-methanol	7.97 (t, J = 9.1, 1H), 7.91 (d, J = 3.3, 1H), 7.72 (d, J = 3.3, 1H), 7.56 (dt, J = 19.8, 9.9, 1H), 7.04 (d, J = 2.2, 1H), 5.07 (d, J = 5.0, 1H), 4.84 (d, J = 12.5, 1H), 4.75 (d, J = 12.2, 1H), 3.85 – 3.76 (m, 4H), 3.61 – 3.50 (m, 6H), 2.44 (dd, J = 14.3, 10.4, 1H), 1.99 (d, J = 9.4, 1H), 1.86 – 1.66 (m, 4H).	< 0.1
2		(S)-[(R)-1-(7-Morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-thiazol-2-yl-methanol	7.77 (t, J = 4.9, 1H), 7.71 (t, J = 11.9, 1H), 7.68 – 7.62 (m, 1H), 7.58 – 7.50 (m, 1H), 7.29 (t, J = 11.6, 1H), 6.32 (t, J = 12.0, 1H), 4.87 – 4.76 (m, 1H), 4.34 (dt, J = 31.3, 15.6, 2H), 3.83 – 3.72 (m, 4H), 3.46 – 3.37 (m, 4H), 3.15 – 2.96 (m, 3H), 2.29 – 2.18 (m, 1H), 1.88 – 1.73 (m, 2H), 1.68 – 1.50 (m, 2H)	< 0.1

3		(R)-[(R)-1-(7-Morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-thiazol-2-yl-methanol	7.86 (t, $J = 4.9$, 1H), 7.74 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.66 (d, $J = 3.2$, 1H), 7.57 – 7.49 (m, 1H), 7.30 (t, $J = 9.3$, 1H), 6.38 (d, $J = 5.4$, 1H), 4.80 (t, $J = 5.6$, 1H), 4.34 (d, $J = 13.0$, 1H), 4.23 (d, $J = 13.0$, 1H), 3.77 (dd, $J = 17.0$, 11.9, 4H), 3.46 – 3.37 (m, 4H), 3.21 – 3.06 (m, 2H), 2.25 (dt, $J = 10.2$, 7.1, 3.6, 1H), 1.90 – 1.82 (m, 1H), 1.77 (dd, $J = 12.4$, 2.9, 1H), 1.73 – 1.62 (m, 1H), 1.55 (ddd, $J = 24.1$, 12.1, 3.9, 1H)	< 0.1
4		(S)-(4-Methyl-thiazol-2-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-methanol	7.73 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.56 – 7.42 (m, 1H), 7.32 (t, $J = 10.6$, 1H), 7.17 (t, $J = 10.6$, 1H), 6.29 (d, $J = 5.2$, 1H), 4.71 (t, $J = 5.7$, 1H), 4.30 (t, $J = 14.1$, 2H), 3.77 (dd, $J = 16.9$, 11.9, 4H), 3.45 – 3.37 (m, 4H), 3.14 (ddd, $J = 24.6$, 13.5, 6.7, 2H), 2.36 (d, $J = 0.6$, 3H), 2.24 – 2.11 (m, 1H), 1.91 – 1.80 (m, 1H), 1.76 (dd, $J = 12.5$, 2.9, 1H), 1.72 – 1.62 (m, 1H), 1.53 (qd, $J = 12.0$, 3.9, 1H)	< 0.1
5		(R)-(4-Methyl-thiazol-2-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-methanol	7.71 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.53 (dd, $J = 9.3$, 2.5, 1H), 7.32 (t, $J = 10.2$, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.24 (d, $J = 5.3$, 1H), 4.74 (t, $J = 5.4$, 1H), 4.40 (d, $J = 12.9$, 1H), 4.32 (d, $J = 12.9$, 1H), 3.84 – 3.73 (m, 4H), 3.48 – 3.37 (m, 4H), 3.12 (dd, $J = 24.6$, 13.0, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.17 (d, $J = 3.7$, 1H), 1.90 – 1.71 (m, 2H), 1.70 – 1.51 (m, 2H)	< 0.1
6		(S)-(4-Methyl-thiazol-2-yl)-[(R)-1-(7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-methanol	7.71 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.53 (dd, $J = 9.4$, 2.6, 1H), 7.32 (t, $J = 10.6$, 1H), 7.17 (t, $J = 6.9$, 1H), 6.24 (d, $J = 5.3$, 1H), 4.74 (t, $J = 5.4$, 1H), 4.40 (d, $J = 13.0$, 1H), 4.32 (d, $J = 13.0$, 1H), 3.79 (dd, $J = 13.4$, 8.7, 4H), 3.45 – 3.36 (m, 4H), 3.12 (dd, $J = 24.1$, 12.6, 2H), 2.30 (d, $J = 0.7$, 3H), 2.18 (dd, $J = 5.2$, 3.7, 1H), 1.88 – 1.73 (m, 2H), 1.69 – 1.51 (m, 2H)	< 0.1

7		(R)-(4-Methylthiazol-2-yl)-[(R)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	7.73 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.56 – 7.47 (m, 1H), 7.31 (d, $J = 2.6$, 1H), 7.19 (d, $J = 0.9$, 1H), 6.27 (dd, $J = 22.3$, 5.3, 1H), 4.71 (t, $J = 5.7$, 1H), 4.38 – 4.18 (m, 2H), 3.79 (dd, $J = 13.7$, 9.1, 4H), 3.42 (dd, $J = 15.5$, 10.6, 4H), 3.23 – 3.09 (m, 2H), 2.35 (d, $J = 0.6$, 3H), 2.17 (qd, $J = 10.5$, 5.1, 1H), 1.90 – 1.81 (m, 1H), 1.76 (dd, $J = 12.5$, 2.8, 1H), 1.73 – 1.61 (m, 1H), 1.52 (ddd, $J = 24.0$, 12.0, 4.0, 1H)	< 0.1
8		(R)-1-[(S)-1-(7-Morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-1-thiazol-2-yl-ethanol	7.90 (d, $J = 3.3$, 1H), 7.59 (d, $J = 3.3$, 1H), 7.55 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.46 (dd, $J = 9.3$, 2.6, 1H), 7.25 (d, $J = 2.6$, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.45 (d, $J = 12.8$, 1H), 3.99 (d, $J = 13.0$, 1H), 3.85 – 3.72 (m, 4H), 3.48 – 3.37 (m, 4H), 2.99 (dd, $J = 13.0$, 11.6, 1H), 2.91 (td, $J = 12.8$, 2.5, 1H), 2.29 (tt, $J = 11.6$, 3.2, 1H), 2.04 (d, $J = 12.2$, 1H), 1.90 (dd, $J = 8.6$, 4.4, 1H), 1.66 (dt, $J = 12.8$, 3.9, 1H), 1.60 – 1.44 (m, 4H)	< 0.1
9		(S)-1-[(S)-1-(7-Morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-1-thiazol-2-yl-ethanol	7.77 (dd, $J = 13.1$, 6.7, 1H), 7.70 (t, $J = 14.6$, 1H), 7.60 (t, $J = 4.1$, 1H), 7.57 – 7.50 (m, 1H), 7.30 (d, $J = 2.6$, 1H), 6.05 (d, $J = 13.1$, 1H), 4.55 (t, $J = 25.4$, 1H), 4.36 (d, $J = 12.5$, 1H), 3.77 (dd, $J = 17.0$, 12.0, 4H), 3.46 – 3.38 (m, 4H), 3.00 – 2.89 (m, 1H), 2.86 – 2.72 (m, 1H), 2.24 – 2.05 (m, 1H), 1.87 – 1.70 (m, 2H), 1.68 – 1.51 (m, 5H)	< 0.1
10		(R)-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-[(R)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	7.74 (t, $J = 9.5$, 1H), 7.49 (dt, $J = 24.7$, 12.4, 1H), 7.30 (d, $J = 2.6$, 1H), 6.15 (dd, $J = 23.0$, 4.8, 1H), 4.66 – 4.57 (m, 1H), 4.29 (t, $J = 16.3$, 2H), 3.83 – 3.73 (m, 4H), 3.46 – 3.37 (m, 4H), 3.22 – 3.06 (m, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.18 – 2.07 (m, 1H), 1.92 – 1.79 (m, 1H), 1.78 – 1.59 (m, 2H), 1.59 – 1.44 (m, 1H)	< 0.1

11		(S)-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	7.74 (t, $J = 9.7$, 1H), 7.50 (dt, $J = 13.0$, 6.5, 1H), 7.31 (d, $J = 2.6$, 1H), 6.18 (d, $J = 5.3$, 1H), 4.61 (t, $J = 5.8$, 1H), 4.31 (d, $J = 12.9$, 2H), 3.77 (dd, $J = 17.0$, 11.9, 4H), 3.46 – 3.37 (m, 4H), 3.23 – 3.07 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.17 – 2.07 (m, 1H), 1.84 (dd, $J = 9.7$, 3.4, 1H), 1.77 – 1.59 (m, 2H), 1.50 (qd, $J = 11.8$, 3.9, 1H)	< 0.1
12	 Chiral	(S)-(5-Methylthiazol-2-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	7.75 (t, $J = 8.8$, 1H), 7.53 (dd, $J = 9.4$, 2.7, 1H), 7.52 – 7.46 (m, 1H), 7.30 (t, $J = 8.2$, 1H), 6.27 (d, $J = 5.3$, 1H), 4.69 (dd, $J = 12.0$, 6.3, 1H), 4.30 (dd, $J = 22.8$, 13.1, 2H), 3.82 – 3.75 (m, 4H), 3.43 (dd, $J = 17.1$, 12.1, 4H), 3.22 – 3.05 (m, 2H), 2.42 (d, $J = 1.0$, 3H), 2.18 (dt, $J = 14.1$, 6.9, 3.5, 1H), 1.91 – 1.79 (m, 1H), 1.79 – 1.72 (m, 1H), 1.72 – 1.58 (m, 1H), 1.59 (s, 1H)	< 0.1
13	 Chiral	(R)-(5-Methylthiazol-2-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	7.76 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.53 (dd, $J = 9.4$, 2.6, 1H), 7.48 (d, $J = 1.2$, 1H), 7.29 (d, $J = 2.6$, 1H), 6.28 (d, $J = 5.3$, 1H), 4.68 (t, $J = 5.7$, 1H), 4.38 – 4.20 (m, 2H), 3.83 – 3.72 (m, 4H), 3.46 – 3.37 (m, 4H), 3.21 – 3.04 (m, 2H), 2.42 (d, $J = 0.9$, 3H), 2.18 (d, $J = 6.4$, 1H), 1.85 (d, $J = 12.8$, 1H), 1.74 (d, $J = 13.2$, 1H), 1.70 – 1.59 (m, 1H), 1.51 (dt, $J = 11.5$, 7.9, 1H)	< 0.1
14		(S)-(6-Methoxypyridazin-3-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	7.85 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.68 (d, $J = 9.1$, 1H), 7.53 (dt, $J = 15.5$, 7.7, 1H), 7.31 (d, $J = 2.6$, 1H), 7.25 (t, $J = 10.7$, 1H), 5.82 (dd, $J = 16.9$, 5.1, 1H), 4.64 (dd, $J = 8.1$, 5.1, 1H), 4.46 (d, $J = 12.7$, 1H), 4.28 (d, $J = 13.1$, 1H), 4.07 – 4.02 (m, 3H), 3.83 – 3.73 (m, 4H), 3.43-3.37 (s, 4H), 3.23-3.20 (m, 1H), 2.23 – 2.07 (m, 1H), 1.86 – 1.76 (m, 1H), 1.73 – 1.51 (m, 1H), 1.42 (dd, $J = 13.0$, 3.6, 1H), 1.33 (ddd, $J = 15.1$, 12.2, 4.1, 1H)	< 0.1

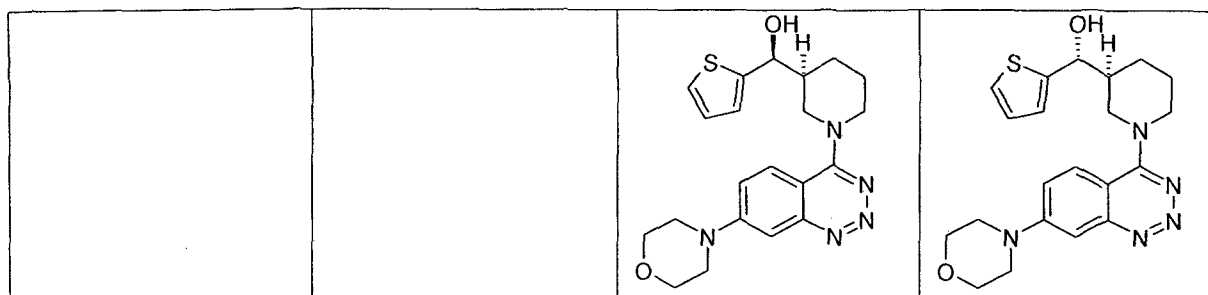
15		(R)-(6-Methoxypyridazin-3-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	7.72 – 7.68 (m, 1H), 7.60 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.45 (dd, $J = 9.3$, 2.7, 1H), 7.32 – 7.17 (m, 2H), 5.74 (d, $J = 5.1$, 1H), 4.72 – 4.63 (m, 1H), 4.32 (t, $J = 15.2$, 1H), 4.06 (d, $J = 11.9$, 1H), 4.04 – 3.97 (m, 3H), 3.81 – 3.73 (m, 4H), 3.41 (dd, $J = 11.9$, 6.9, 4H), 3.17 – 3.08 (m, 1H), 2.98 (dd, $J = 13.1$, 11.2, 1H), 2.25 – 2.11 (m, 1H), 1.99 – 1.91 (m, 1H), 1.84 (dt, $J = 30.0$, 13.4, 1H), 1.72 – 1.57 (m, 1H), 1.50 (ddd, $J = 24.9$, 12.5, 3.8, 1H)	< 0.1
16		(S)-(6-Methoxypyridin-3-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	8.14 – 8.08 (m, 1H), 7.81 (d, $J = 9.4$, 1H), 7.72 – 7.68 (m, 1H), 7.52 (dd, $J = 9.4$, 2.7, 1H), 7.35 – 7.29 (m, 1H), 6.85 – 6.75 (m, 1H), 5.46 (t, $J = 10.4$, 1H), 4.53 (d, $J = 12.9$, 1H), 4.38 (dd, $J = 8.1$, 4.6, 1H), 4.31 (d, $J = 13.0$, 1H), 3.84 (d, $J = 6.1$, 3H), 3.81 – 3.73 (m, 5H), 3.45 – 3.39 (m, 5H), 3.20 – 3.08 (m, 2H), 2.03 – 1.90 (m, 1H), 1.83 – 1.72 (m, 1H), 1.66 – 1.51 (m, 1H), 1.46 – 1.37 (m, 1H), 1.37 – 1.21 (m, 1H)	< 0.1
17		(R)-(6-Methoxypyridin-3-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	8.03 (t, $J = 7.3$, 1H), 7.69 (dt, $J = 8.5$, 2.6, 1H), 7.59 – 7.52 (m, 1H), 7.45 – 7.38 (m, 1H), 7.28 (d, $J = 2.6$, 1H), 6.82 (dd, $J = 8.4$, 4.6, 1H), 5.41 (d, $J = 4.6$, 1H), 4.43 (dd, $J = 6.6$, 4.7, 1H), 4.30 (d, $J = 13.0$, 1H), 4.00 (t, $J = 11.5$, 1H), 3.85 – 3.82 (m, 3H), 3.80 – 3.73 (m, 4H), 3.41 – 3.36 (m, 4H), 3.09 (td, $J = 12.9$, 2.6, 1H), 2.92 (dd, $J = 13.0$, 10.9, 1H), 2.06 – 1.93 (m, 2H), 1.93 – 1.82 (m, 1H), 1.69 – 1.56 (m, 1H), 1.41 (qd, $J = 12.4$, 3.8, 1H)	< 0.1
18		(S)-(1-Isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl)-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl]-piperidin-3-yl]-methanol	7.68 (d, $J = 9.3$, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.48 (dd, $J = 9.4$, 2.7, 1H), 7.35 (d, $J = 10.5$, 1H), 7.28 (d, $J = 2.6$, 1H), 5.03 (d, $J = 4.5$, 1H), 4.48 – 4.37 (m, 2H), 4.33 (d, $J = 12.9$, 1H), 4.17 (d, $J = 12.9$, 1H), 3.83 –	< 0.1

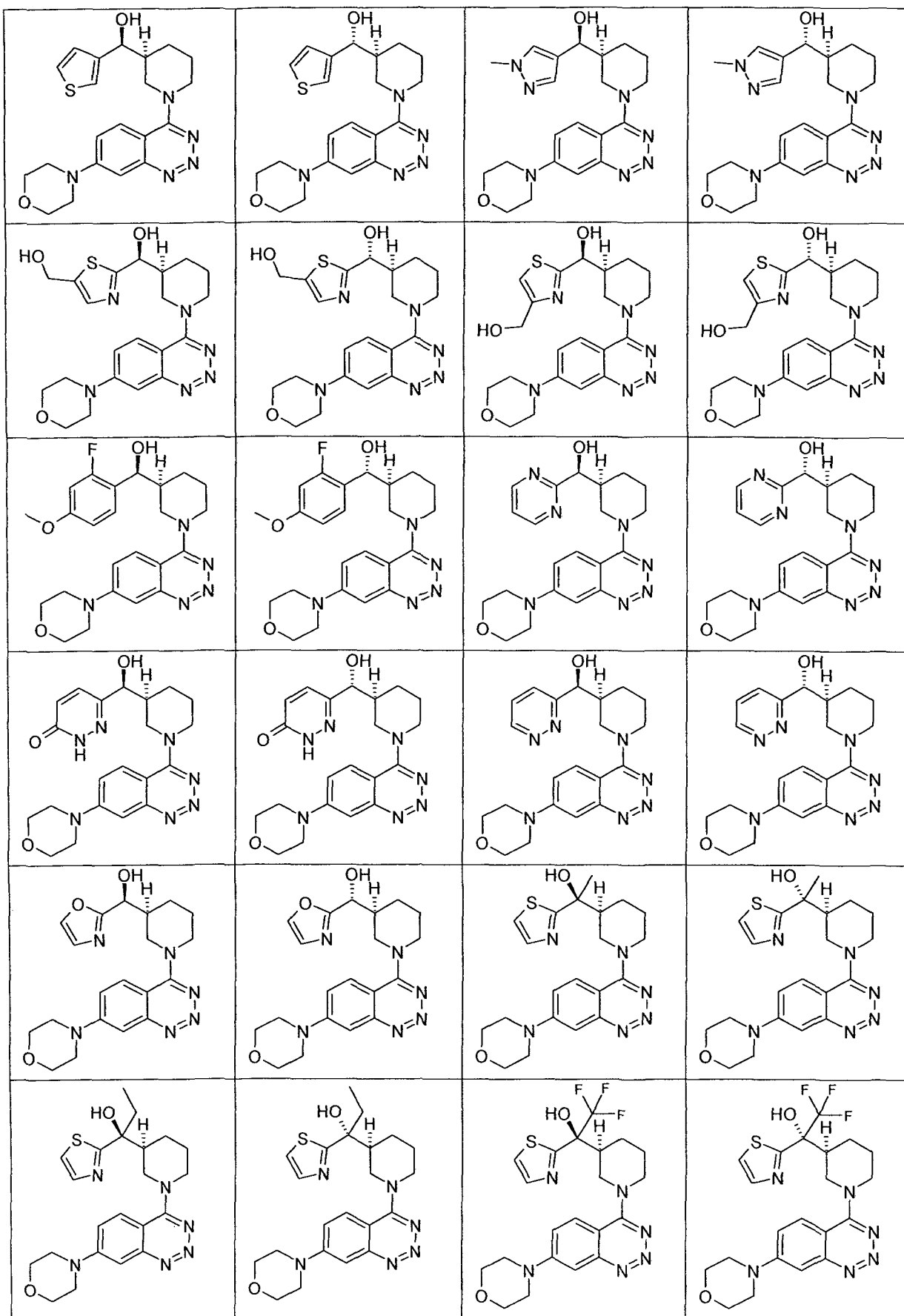
			3.72 (m, 4H), 3.46 – 3.36 (m, 4H), 3.10 (td, $J = 12.9, 2.7$, 1H), 2.94 (dd, $J = 13.0, 10.8$, 1H), 2.05 – 1.91 (m, 2H), 1.91 – 1.81 (m, 1H), 1.73 – 1.56 (m, 1H), 1.45 – 1.30 (m, 7H)	
19		Chiral (S)-(1-tert-Butyl-1H-pyrazol-4-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-methanol	7.85 (t, $J = 8.7$, 1H), 7.68 (d, $J = 6.6$, 1H), 7.53 (dt, $J = 13.8, 6.9$, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.33 – 7.19 (m, 1H), 5.07 (d, $J = 4.9$, 1H), 4.53 (d, $J = 12.7$, 1H), 4.43 – 4.25 (m, 2H), 3.77 (dd, $J = 17.0, 11.9$, 4H), 3.48 – 3.36 (m, 4H), 3.20 – 3.03 (m, 2H), 1.99 – 1.87 (m, 1H), 1.84 – 1.72 (m, 1H), 1.72 – 1.53 (m, 2H), 1.47 (d, $J = 13.6$, 9H), 1.32 (ddd, $J = 23.5, 12.6, 3.5$, 1H)	< 0.1
20		Chiral (S)-(1-Ethyl-1H-pyrazol-4-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-methanol	7.83 (t, $J = 12.7$, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.54 (dd, $J = 9.4, 2.7$, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.30 (d, $J = 2.6$, 1H), 5.08 (t, $J = 9.7$, 1H), 4.53 (d, $J = 12.6$, 1H), 4.34 (dt, $J = 12.9, 6.5$, 2H), 4.08 (p, $J = 7.5$, 2H), 3.77 (dd, $J = 17.0, 12.0$, 4H), 3.43 (dd, $J = 17.0, 12.1$, 4H), 3.12 (ddd, $J = 23.7, 13.4, 6.6$, 2H), 1.98 – 1.84 (m, 1H), 1.84 – 1.74 (m, 1H), 1.68 – 1.55 (m, 2H), 1.39 – 1.23 (m, 4H)	< 0.1

Weitere höchst bevorzugte Verbindungen der Formeln (I), (IA) und (IB) sind in den Tabellen 2-4 zusammengestellt.

5

Tabelle 2: Weitere höchst bevorzugte Verbindungen der Formeln (I), (IA) und (IB) und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.





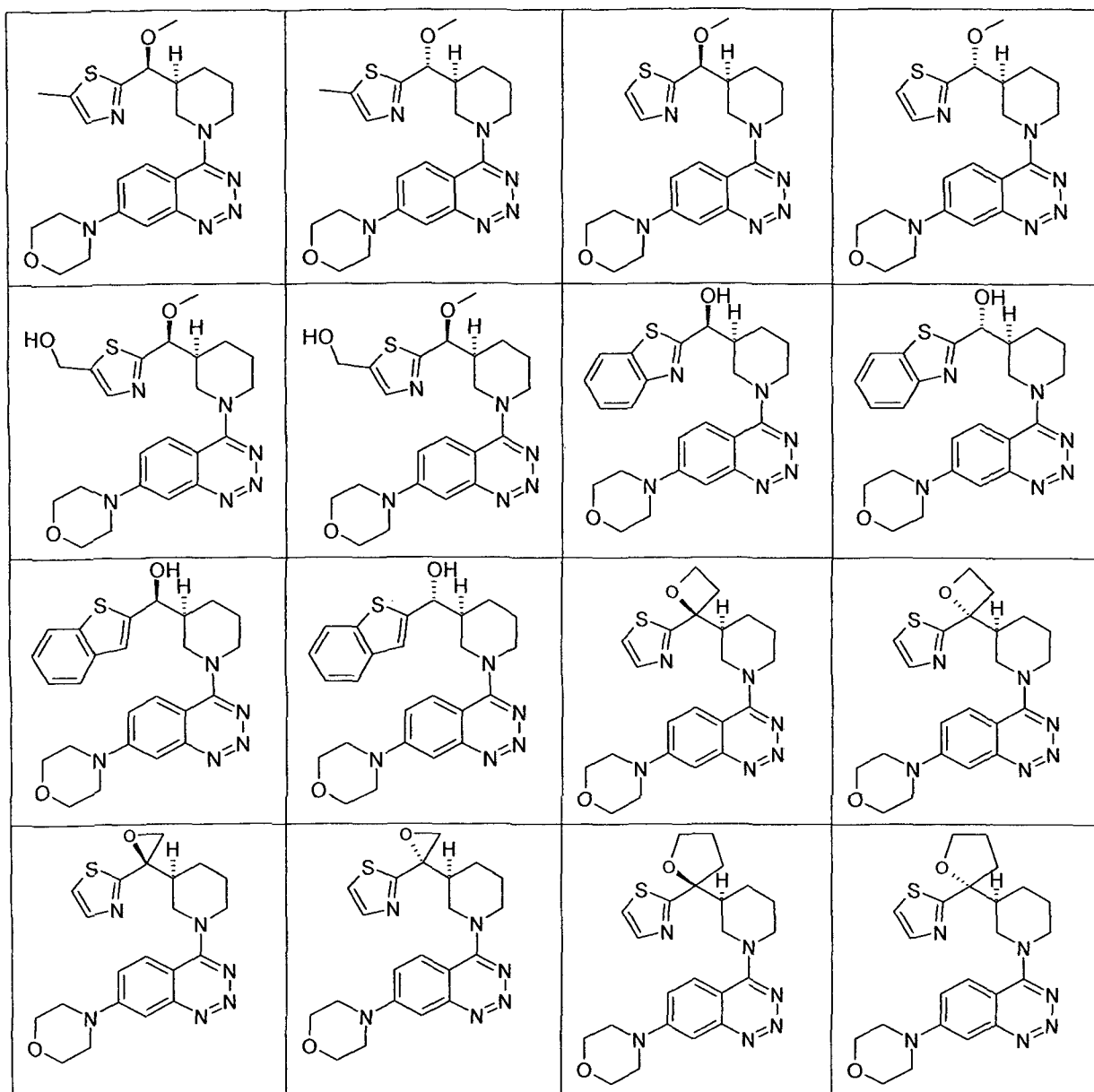
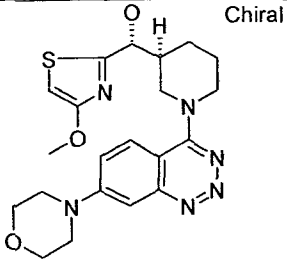
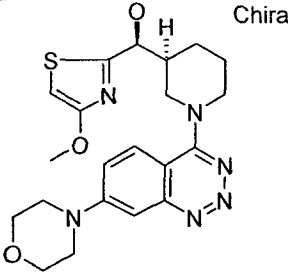
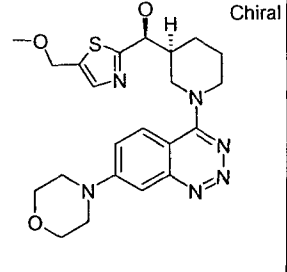
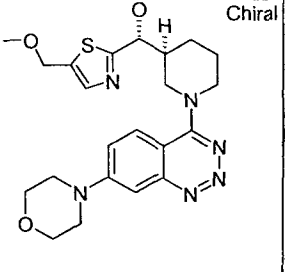
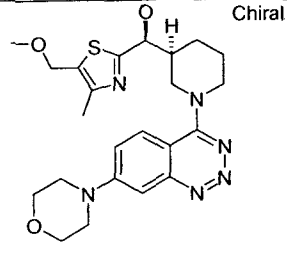
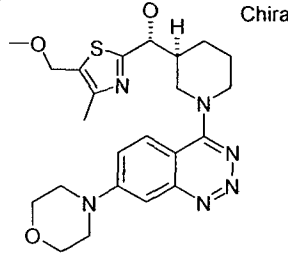
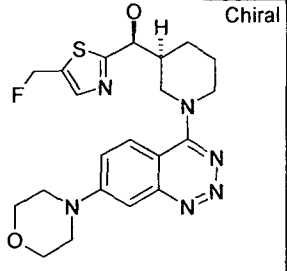
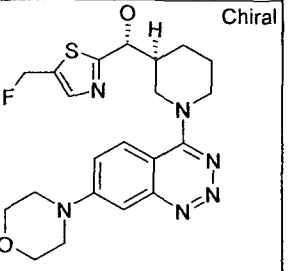
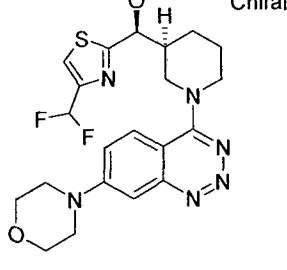
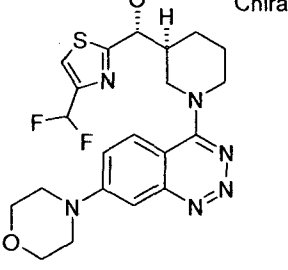
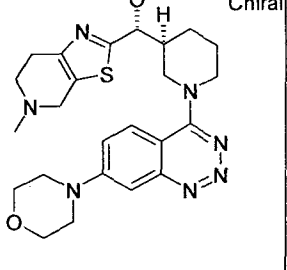
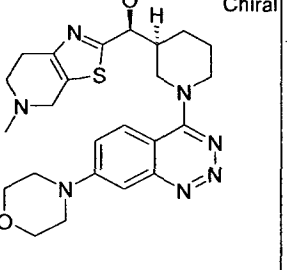
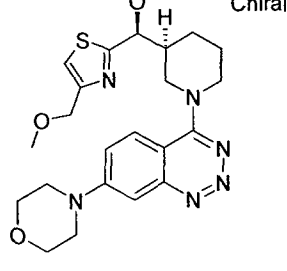
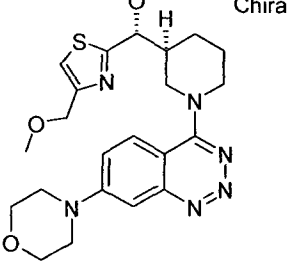
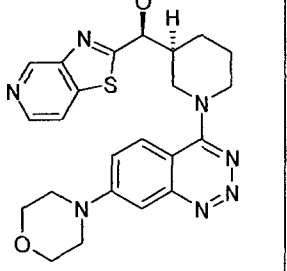
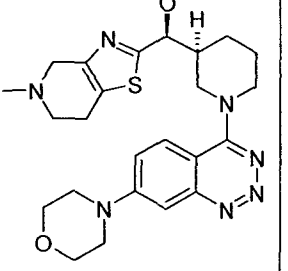
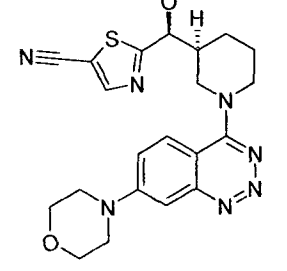
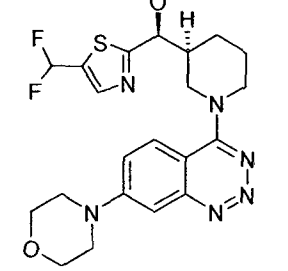
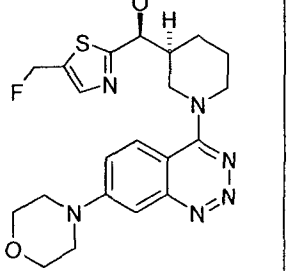
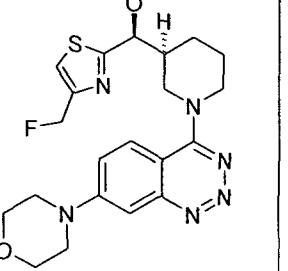


Tabelle 3: Noch weitere höchst bevorzugte Verbindungen der Formeln (I), (IA) und (IB) und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen. HPLC-MS (M+H)

5

 Chiral	 Chiral	 Chiral	
(M+H) 424	(M+H) 452	(M+H) 438	

 Chiral	 Chiral	 Chiral	 Chiral
(M+H) 443	(M+H) 443	(M+H) 457	(M+H) 457
 Chiral	 Chiral	 Chiral	 Chiral
(M+H) 471	(M+H) 471	(M+H) 445	(M+H) 445
 Chiral	 Chiral	 Chiral	 Chiral
(M+H) 463	(M+H) 463	(M+H) 482	(M+H) 482
 Chiral	 Chiral	 Chiral	 Chiral
(M+H) 457	(M+H) 457		
 Chiral	 Chiral	 Chiral	 Chiral

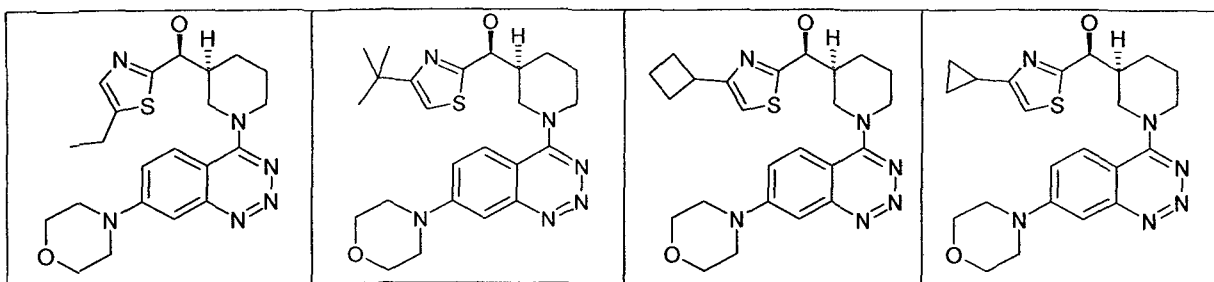
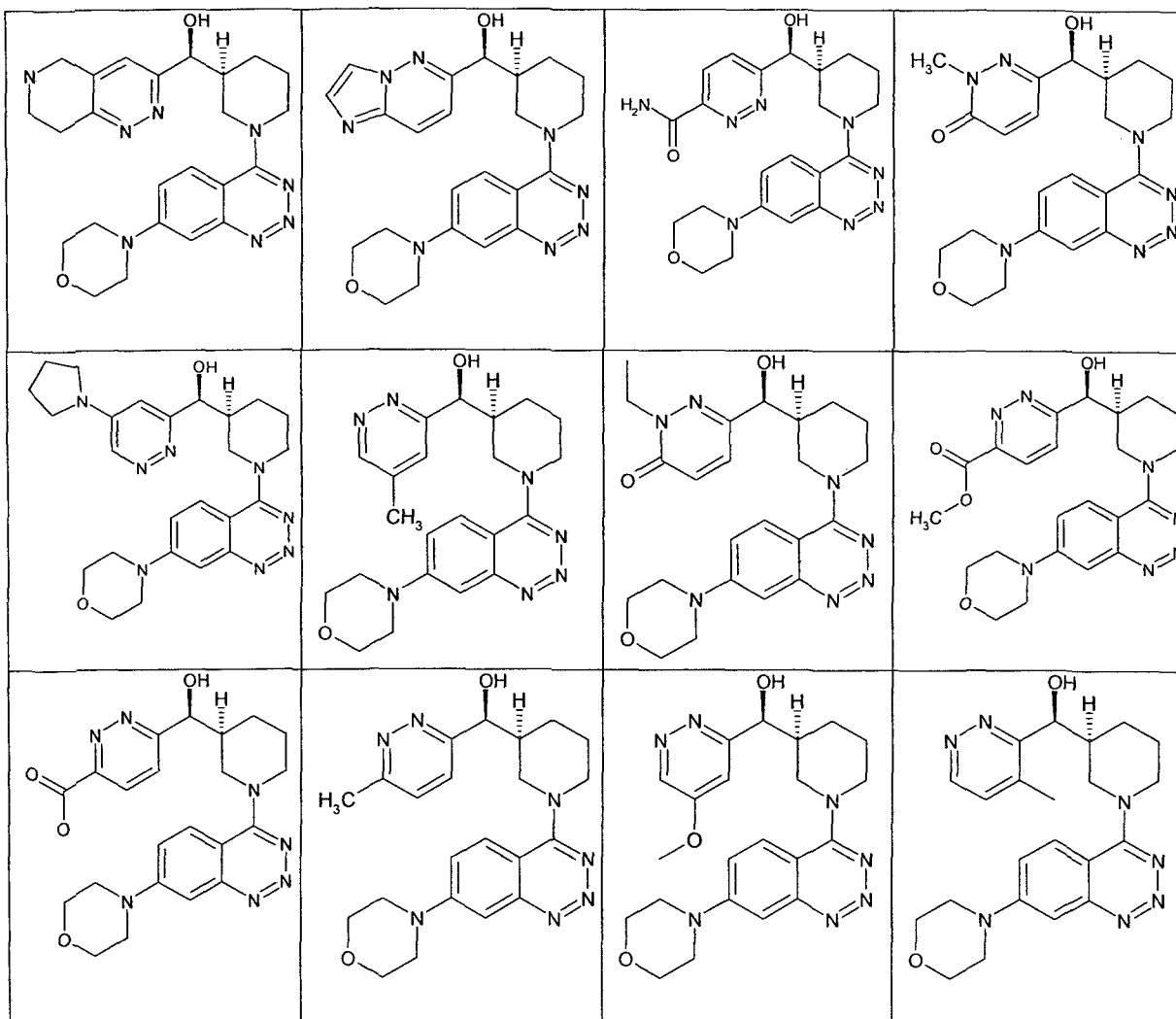


Tabelle 4: Weitere höchst bevorzugte Pyridazinanaloga der Formeln (I), (IA) und (IB) und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

5



Die Verbindungen der Formel (I) und auch die Ausgangsstoffe zu ihrer Herstellung werden nach an sich bekannten Methoden hergestellt, wie sie in der Literatur (z.B. in Standardwerken wie Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag,

Stuttgart) beschrieben und/oder Fachmann bekannt sind, sowie unter Reaktionsbedingungen, die für die genannten Umsetzungen bekannt und geeignet sind. Dabei kann man auch von an sich bekannten, hier nicht näher erwähnten Varianten Gebrauch machen.

- 5 Die Reaktionszeit liegt je nach angewendeten Bedingungen zwischen einigen Minuten und 14 Tagen, die Reaktionstemperatur zwischen -70°C und 150°C, normalerweise zwischen -50°C und 100°C, besonders bevorzugt zwischen -10°C und 70°C.

- Die Umsetzung erfolgt in einem inerten Lösungsmittel und in der Regel in Gegenwart eines
10 säurebindenden Mittels, vorzugsweise einer organischen Base wie DIPEA, Triethylamin, Dimethylanilin, Pyridin, Chinolin, Piperidin oder Diethanolamin. Auch der Zusatz eines Alkali- oder Erdalkalimetallhydroxids, -carbonats oder -bicarbonats oder eines anderen Salzes einer schwachen Säure der Alkali- oder Erdalkalimetalle, vorzugsweise des
15 Kaliums, Natriums, Calciums oder Cäsiums kann günstig sein. Als Basen eignen sich Metalloxide, wie z.B. Aluminiumoxid, Alkalimetallhydroxide (darunter Kaliumhydroxid, Natriumhydroxid und Lithiumhydroxid), Erdalkalimetallhydroxide (z.B. Bariumhydroxid und Calciumhydroxid) und Alkalimetallalkoholate (z.B. Kaliummethanolat und Natriumpropanolat).

- Als inerte Lösungsmittel eignen sich u.a. Kohlenwasserstoffe wie Hexan, Petrolether,
20 Benzol, Toluol oder Xylol; chlorierte Kohlenwasserstoffe wie Trichlorethylen, 1,2-Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform oder Dichlormethan; Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, n-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol; Ether wie Diethylether, Diisopropylether, Tetrahydrofuran (THF) oder Dioxan; Glykolether wie Ethylenglykolmonomethyl- oder -monoethylether (Methylglykol oder Ethylglykol),
25 Ethylenglykoldimethylether (Diglyme); Ketone wie Aceton oder Butanon; Amide wie Acetamid, Dimethylacetamid oder Dimethylformamid (DMF); Nitrile wie Acetonitril; Sulfoxide wie Dimethylsulfoxid (DMSO); Schwefelkohlenstoff; Carbonsäuren wie Ameisensäure oder Essigsäure; Nitroverbindungen wie Nitromethan oder Nitrobenzol; Ester wie Ethylacetat oder Gemische der genannten Lösungsmittel. Besonders bevorzugt
30 sind DMF, Methanol, Dichlormethan, THF, Essigsäure und Acetonitril.

- Das Verfahren und die anschließende Aufarbeitung des Reaktionsgemisches können grundsätzlich als Batch-Reaktion oder in kontinuierlicher Reaktionsweise durchgeführt werden. Die kontinuierliche Reaktionsweise umfasst z.B. die Reaktion in einem
35 kontinuierlichen Rührkesselreaktor, einer Rührkesselkaskade, einem Schlaufen- oder Querstromreaktor, einem Strömungsrohr oder in einem Mikroreaktor. Die Aufarbeitung der Reaktionsgemische erfolgt wahlweise, je nach Bedarf, durch Filtration über feste Phasen,

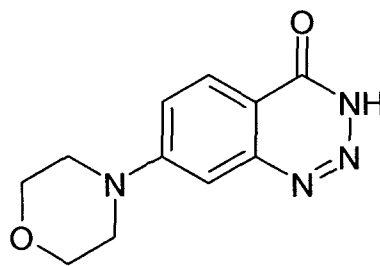
Chromatographie, Separation zwischen unmischbaren Phasen (z. B. Extraktion), Adsorption an festen Trägern, Abdestillieren von Lösungsmitteln und/oder azeotropen Gemischen, selektive Destillation, Sublimation, Kristallisation, Co-Kristallisation oder durch Nanofiltration an Membranen.

5

Die Verbindungen der Formel (I) können vorzugsweise erhalten werden, indem man Verbindungen der Formeln (II) und (III) umsetzt. Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist damit auch ein Verfahren zum Herstellen von Verbindungen der Formel (I), Teilformeln davon und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder

10 Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, mit den folgenden Schritten:

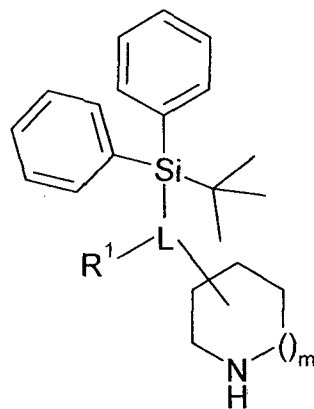
(a) Umsetzen einer Verbindung der Formel (II)



15

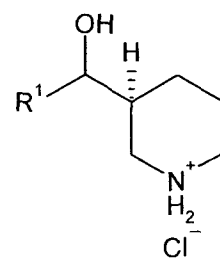
(II)

mit einer Verbindung der Formel (III) oder (V)



(III)

oder

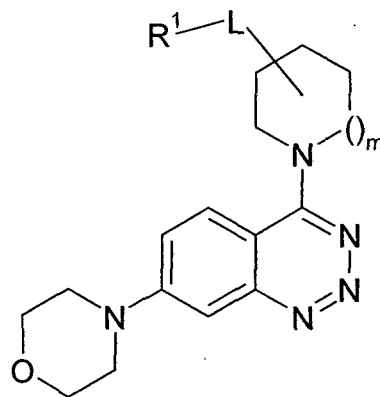


(V)

worin R^1 , L und m die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

20

unter Erhalt der Verbindungen der Formel (I)



(I)

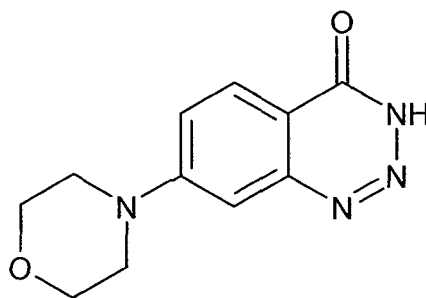
worin R^1 , L und m die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

5 und gegebenenfalls

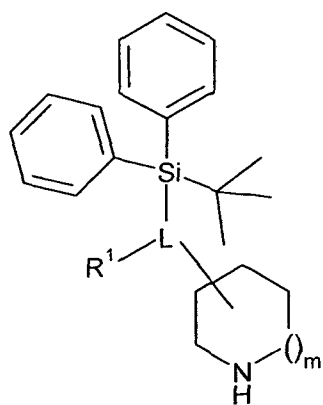
(b) Umwandeln einer Base oder Säure der Verbindungen der Formel (I) in eines ihrer Salze.

Es versteht sich hierbei im Sinne der Erfindung, dass ein Radikal durch Verweis auf „die
 10 oben angegebene Bedeutung“ ohne nähere Spezifizierung derselben sämtliche im bisherigen Verlauf der Beschreibung genannte Bedeutungen für das entsprechende Radikal annehmen kann.

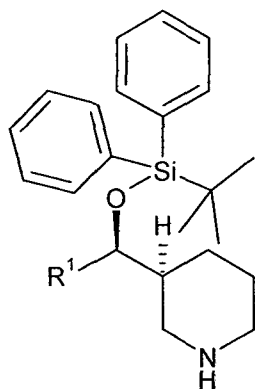
Die Erfindung betrifft auch Zwischenverbindungen der Formeln (II), (III), (IIIA), (IIIB), (IV),
 15 (IVA), (IVB), (V), (VA), (VIA), (VIB), (VIC) und/oder (VID)



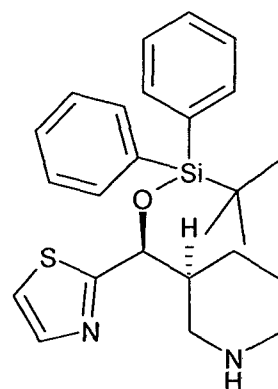
(II)



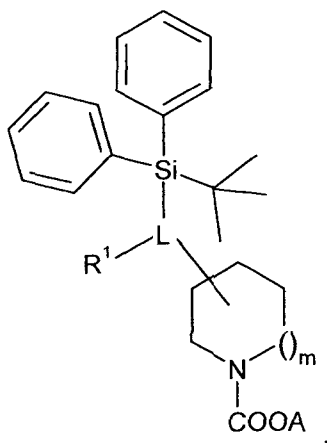
(III)



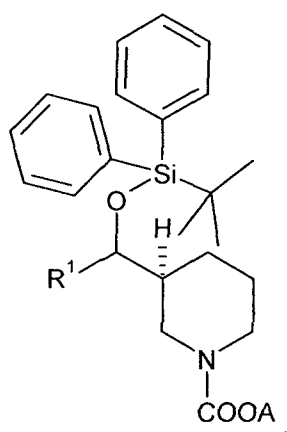
(IIIA)



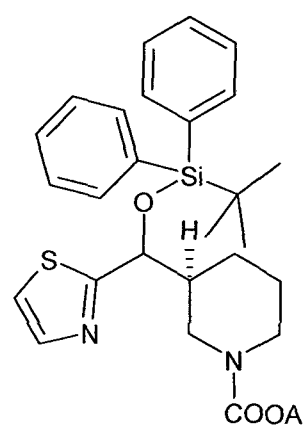
(IIIB)



(IV)

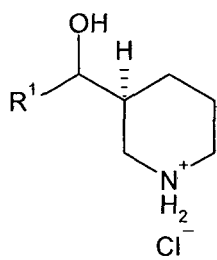


(IVA)

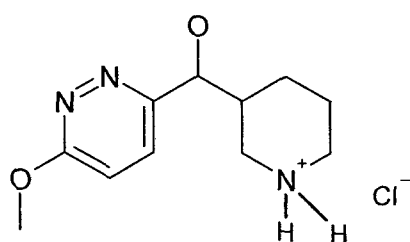


(IVB)

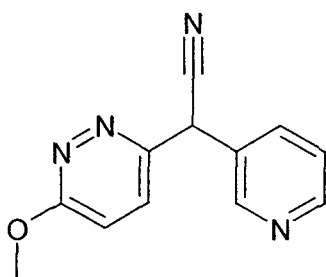
5



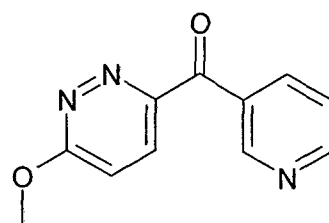
(V)



(VA)

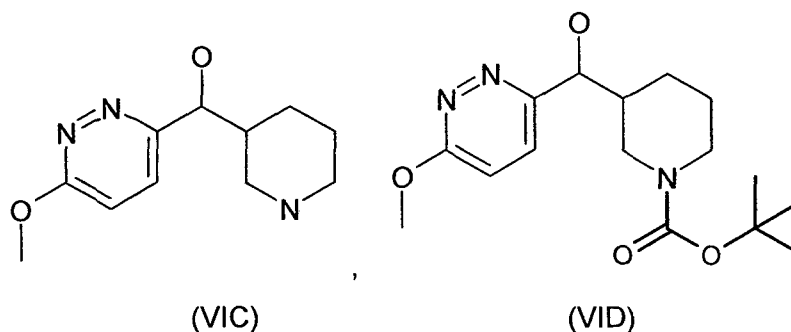


(VIA)



(VIB)

10



worin R¹, L, A und m die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

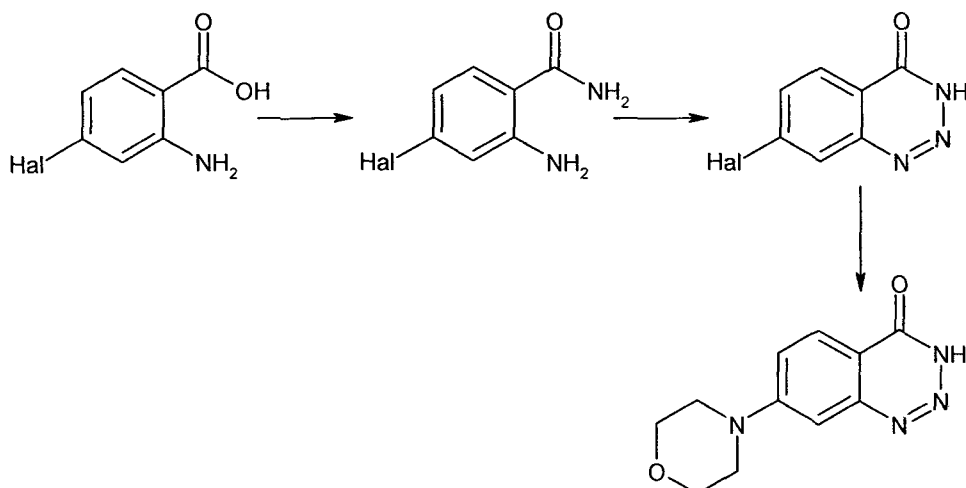
- 5 und/oder ihre Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

Eine bevorzugte COOA-Gruppe der Verbindungen der Formeln (IV), (IVA) und (IVB) ist die Boc-Schutzgruppe (tert-Butyloxycarbonyl-Rest).

10

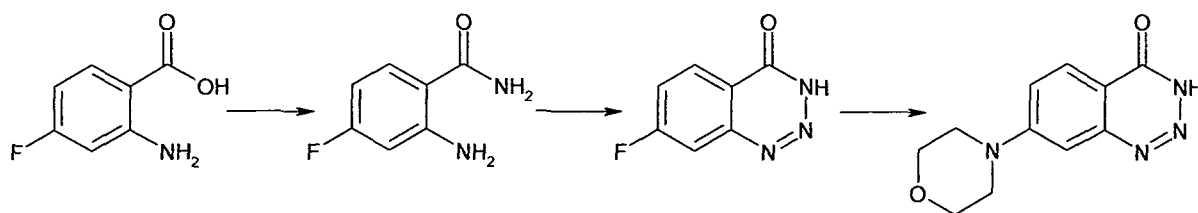
Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zum Herstellen von Zwischenverbindungen der Formel (II) und/oder ihrer Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, das einem, mehreren oder allen Schritten des nachstehenden generischen Reaktionsschemas folgt:

15

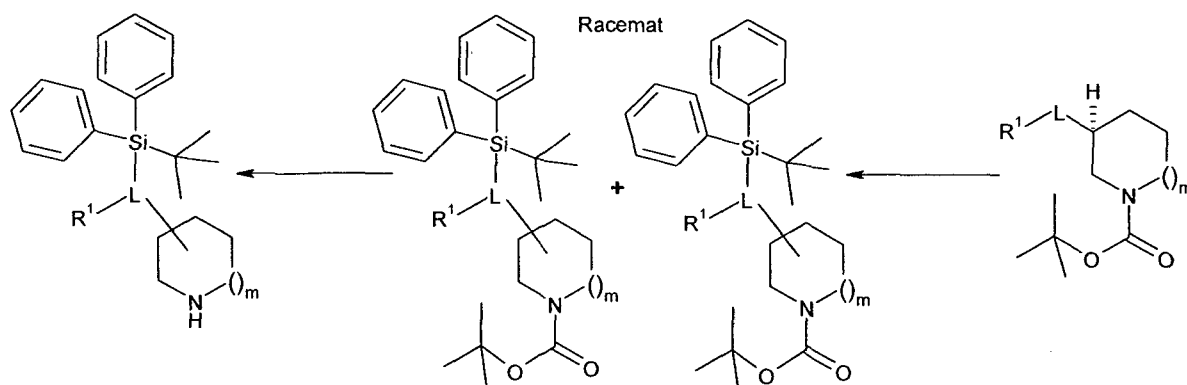


worin Hal die oben angegebene Bedeutung aufweist.

- 20 Ein bevorzugter Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum Herstellen von Zwischenverbindungen der Formel (II) und/oder ihrer Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, das einem, mehreren oder allen Schritten des nachstehenden generischen Reaktionsschemas folgt:

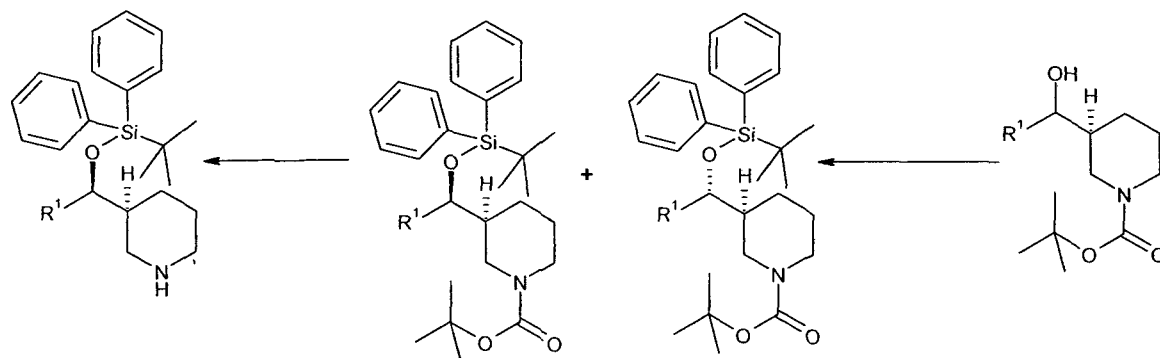


- Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zum Herstellen von Zwischenverbindungen der Formeln (III) und/oder (IV) und/oder ihrer Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, das einem oder allen Schritten des nachstehenden generischen Reaktionsschemas folgt:



worin R^1 , L und m die oben angegebene Bedeutung aufweisen.

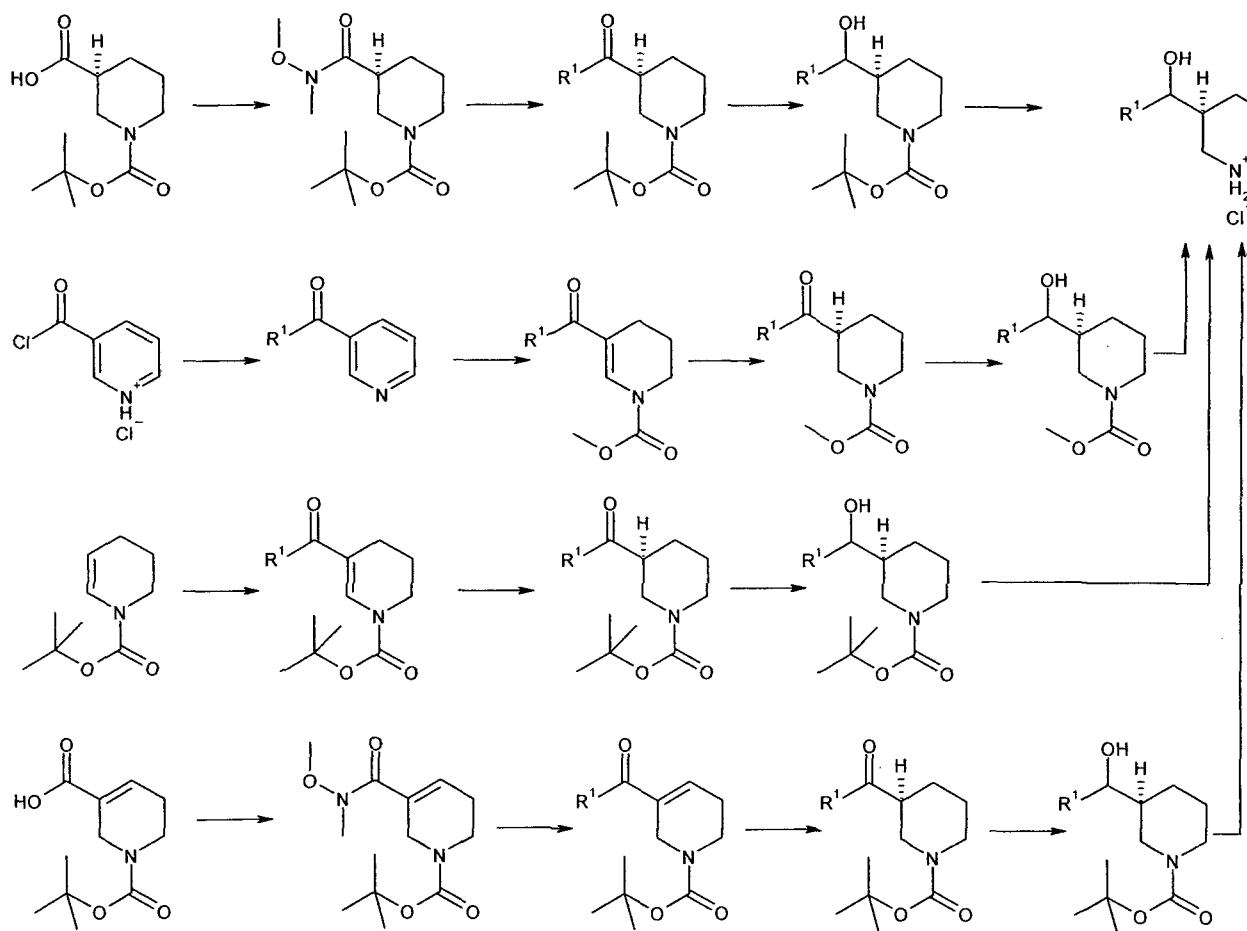
- 10 Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zum Herstellen von Zwischenverbindungen der Formeln (IIIA) und/oder (IVA) und/oder ihrer Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, das einem oder allen Schritten des nachstehenden generischen Reaktionsschemas folgt:



- 15 worin R^1 die oben angegebene Bedeutung aufweist.

In einem analogen Verfahren können Zwischenverbindungen der Formeln (IIIB) und/oder (IVB) und/oder ihrer Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, hergestellt werden.

- Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zum Herstellen von chiralen Piperidinbausteinen der Formel (V) und/oder ihrer Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, das einem,
- 5 mehreren oder allen Schritten des nachstehenden generischen Reaktionsschemas folgt:



worin R^1 die oben angegebene Bedeutung aufweist.

10

Es versteht sich, dass auch sämtliche vorgenannte Vorstufen aus den Reaktionsschemata für Zwischenverbindungen der Formeln (II), (III), (IIIA), (IIIB), (IV), (IVA), (IVB) und (V) in den Schutzbereich der vorliegenden Erfindung eingeschlossen sind.

15

Die Ausgangsverbindungen sind in der Regel bekannt. Sind sie neu, so können sie nach an sich bekannten Methoden hergestellt werden. Die Verbindungen der Formeln (II), (III), (IIIA), (IIIB), (IV), (IVA), (IVB) und (V) können nach bekannten Methoden bereitgestellt werden. Fall gewünscht, können die Ausgangsstoffe in-situ gebildet werden, so dass man sie aus dem Reaktionsgemisch nicht isoliert, sondern sofort weiter zu den

erfindungsgemäßen Verbindungen umgesetzt. Es ist ebenso möglich, die Reaktion schrittweise durchzuführen.

- Die genannten erfindungsgemäßen Verbindungen lassen sich in ihrer endgültigen Nicht-salzform verwenden. Andererseits umfasst die vorliegende Erfindung auch die Verwendung dieser Verbindungen in Form ihrer pharmazeutisch unbedenklichen Salze, die von verschiedenen organischen und anorganischen Säuren und Basen nach fachbekannten Vorgehensweisen abgeleitet werden können. Pharmazeutisch unbedenkliche Salzformen der Verbindungen der Formel (I) sowie ihrer Teilformeln werden größtenteils konventionell hergestellt. Sofern die Verbindungen eine Carbonsäuregruppe enthalten, lässt sich eines ihrer geeigneten Salze dadurch bilden, dass man die Verbindung mit einer geeigneten Base zum entsprechenden Basenadditionssalz umsetzt. Solche Basen sind zum Beispiel Alkalimetallhydroxide (z.B. Kaliumhydroxid, Natriumhydroxid und Lithiumhydroxid), Erdalkalimetallhydroxide (z.B. Bariumhydroxid und Calciumhydroxid), Alkalimetallalkoholate (z.B. Kaliummethanolat und Natriumpropanolat) sowie verschiedene organische Basen wie Piperidin, Diethanolamin und N-Methylglutamin. Eine Base der Formel (I) sowie deren Teilformeln kann mit einer Säure in das zugehörige Säureadditionssalz übergeführt werden, *beispielsweise durch Umsetzung äquivalenter Mengen der Base und der Säure in einem inerten Lösungsmittel, wie z.B. Ethanol, und Eindampfen im Anschluss.* Für diese Umsetzung kommen insbesondere Säuren in Frage, die physiologisch unbedenkliche Salze liefern, wie z.B. Halogenwasserstoffe (z.B. Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff oder Jodwasserstoff), andere Mineralsäuren und ihre entsprechenden Salzen (z.B. Sulfat, Nitrat oder Phosphat und dergleichen), Alkyl- und Monoarylsulfonaten (z.B. Ethansulfonat, Toluolsulfonat und Benzolsulfonat) sowie andere organische Säuren und ihre entsprechenden Salze (z.B. Acetat, Trifluoracetat, Tartrat, Maleat, Succinat, Citrat, Benzoat, Salicylat, Ascorbat und dergleichen. Salze mit physiologisch bedenklichen Säuren, z.B. Pikrate, können zur Isolierung und/oder Aufreinigung der Verbindungen der Formel (I) verwendet werden.
- Im Hinblick auf das oben Gesagte sieht man, dass unter dem Ausdruck "pharmazeutisch unbedenkliches Salz" im vorliegenden Zusammenhang ein Wirkstoff zu verstehen ist, der eine Verbindung der Formel (I) in der Form eines ihrer Salze enthält, insbesondere dann, wenn diese Salzform dem Wirkstoff im Vergleich zu der freien Form des Wirkstoffs verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften verleiht. Die pharmazeutisch unbedenkliche Salzform des Wirkstoffs kann diesem Wirkstoff auch erst eine gewünschte pharmakokinetische Eigenschaft verleihen und kann sogar die Pharmakodynamik dieses Wirkstoffs in Bezug auf seine therapeutische Wirksamkeit im Körper positiv beeinflussen.

Erfindungsgemäße Verbindungen können aufgrund ihrer Molekülstruktur chiral sein und dementsprechend in verschiedenen enantiomeren Formen auftreten. Sie können daher in racemischer oder in optisch aktiver Form vorliegen. Da sich die pharmazeutische

5 Wirksamkeit der Racemate bzw. der Stereoisomeren der Verbindungen der Formel (I) unterscheiden kann, mag es wünschenswert sein, die Enantiomere zu verwenden. In diesen Fällen kann das Endprodukt oder bereits das Zwischenprodukt in enantiomere Verbindungen, durch dem Fachmann bekannte chemische oder physikalische Maßnahmen, aufgetrennt oder bereits als solche bei der Synthese eingesetzt werden.

10

Es wurde überraschend gefunden, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen eine spezifische Hemmung von Serin-Threonin-Proteinkinasen bewirken. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft deshalb die Verwendung von Verbindungen der Formel (I) bzw. Teilformeln davon und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder

15 Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Hemmung von Serin-Threonin-Proteinkinasen, vorzugsweise PIKK und/oder ATM, besonders bevorzugt DNA-PK, ganz bevorzugt zur Hemmung vorgenannter Serin-Threonin-Proteinkinasen *in-vitro*. Der Begriff „Hemmung“ bezieht sich auf jede Verringerung der Aktivität, die auf der Wirkung der spezifischen erfindungsgemäßen Verbindungen basiert, indem letztere in der

20 Lage sind, mit dem Zielmolekül derart zu interagieren, dass eine Erkennung, Bindung und Blockierung ermöglicht wird. Die Verbindungen zeichnen sich durch hohe Affinität zu wenigstens einer Serin-Threonin-Proteinkinasen aus, wodurch eine verlässliche Bindung und vorzugsweise vollständige Blockade der Kinaseaktivität sichergestellt wird. Die Verbindungen sind besonders bevorzugt mono-spezifisch, um eine ausschließliche und

25 unmittelbare Erkennung der ausgewählten Kinase zu garantieren. Der Begriff der „Erkennung“ bezieht sich hierbei auf jede Art der Wechselwirkung zwischen der Verbindung und den genannten Zielmolekülen, insbesondere kovalente oder nicht-kovalente Bindungen, wie z.B. eine kovalente Bindung, hydrophobe/ hydrophile Wechselwirkungen, van der Waals'sche Kräfte, Ionenbeziehung, Wasserstoffbrücken, Ligand-Rezeptor-

30 Wechselwirkungen, Basenpaarungen von Nukleotiden oder Wechselwirkungen zwischen Epitop und Antikörper-Bindungsstelle.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen eine vorteilhafte biologische Aktivität, die in den hierin beschriebenen Tests nachweisbar ist, wie z.B. auf Enzymen basierenden

35 Assays. Die Messung der Kinaseaktivität ist eine dem Fachmann wohlbekannte Technik. Generische Testsysteme zur Bestimmung der Kinaseaktivität mit Substraten, z.B. Histon (Alessi et al. (1996) FEBS Lett. 399(3): 333) oder dem basischen Myelinprotein sind in der

Literatur beschrieben (Campos-González & Glenney (1992) JBC 267: 14535). Zur Identifikation von Kinase-Inhibitoren stehen verschiedene Assay-Systeme zur Verfügung. Beim Scintillation Proximity Assay (Sorg et al. (2002) J Biomolecular Screening 7: 11) und dem FlashPlate Assay werden die radioaktive Phosphorylierung eines Proteins oder Peptids als Substrat mit ATP gemessen. Bei Vorliegen einer inhibitorischen Verbindung ist kein oder ein vermindertes radioaktives Signal nachweisbar. Ferner sind die Homogeneous Time-resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer- (HTR-FRET-) und Fluoreszenz-polarisations- (FP-) Technologien als Assay-Verfahren nützlich (Sills et al. (2002) J Biomolecular Screening 191). Andere nicht-radioaktive ELISA-Verfahren verwenden spezifische Phospho-Antikörper (Phospho-AK). Der Phospho-AK bindet nur das phosphorylierte Substrat. Diese Bindung ist mit einem zweiten Peroxidase-konjugierten Anti-Schaf-Antikörper durch Chemilumineszens nachweisbar.

Die vorgenannte Verwendung der Verbindungen kann in in-vitro oder in-vivo Modellen geschehen. Die Suszeptibilität einer bestimmten Zelle gegenüber der Behandlung mit den erfindungsgemäßen Verbindungen kann durch Testen in-vitro bestimmt werden. Typischerweise wird eine Kultur der Zelle mit einer erfindungsgemäßen Verbindung bei verschiedenen Konzentrationen für eine Zeitdauer inkubiert, die ausreicht, um den aktiven Mitteln zu ermöglichen, Zelltod zu induzieren oder Zellproliferation, Zellvitalität oder Migration zu inhibieren, gewöhnlich zwischen ungefähr einer Stunde und einer Woche. Zum Testen in-vitro können kultivierte Zellen aus einer Biopsieprobe verwendet werden. Die Menge der nach der Behandlung zurückbleibenden Zellen wird dann bestimmt. Die Verwendung in-vitro erfolgt insbesondere an Proben von Säugerspezies, die an Krebs, Tumoren, Metastasen, Störungen der Angiogenese, retroviralen Erkrankungen, Immunerkrankungen und/oder pathogenen Alterungsprozessen leiden. Der Wirt oder Patient kann jeglicher Säugerspezies angehören, z. B. einer Primatenspezies, insbesondere Menschen, aber auch Nagetieren (einschließlich Mäusen, Ratten und Hamstern), Kaninchen, Pferden, Rindern, Hunden, Katzen usw. Tiermodelle sind für experimentelle Untersuchungen von Interesse, wobei sie ein Modell zur Behandlung einer Krankheit des Menschen zur Verfügung stellen.

Das Testen mehrerer spezifischer Verbindungen ermöglicht die Auswahl des Wirkstoffs, der am besten für die Behandlung des Patienten geeignet erscheint. Die in-vivo Dosis der gewählten Verbindung wird vorteilhaft auf die Suszeptibilität der Kinase und/oder Schwere der Erkrankung des Patienten mit Blick auf die in-vitro Daten abgestimmt, wodurch die therapeutische Wirksamkeit merklich erhöht ist. Die Dosis variiert abhängig von der verwendeten spezifischen Verbindung, der spezifischen Erkrankung, dem Patientenstatus

usw. Typischerweise ist eine therapeutische Dosis ausreichend, um die unerwünschte Zellpopulation im Zielgewebe erheblich zu vermindern, während die Lebensfähigkeit des Patienten aufrechterhalten wird. Die nachfolgende Lehre der Erfindung und deren Ausführungsformen betreffend die Verwendung von Verbindungen der Formel (I) für die Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe, Therapie und/oder Verlaufskontrolle ist gültig und ohne Einschränkungen auf die Verwendung der Verbindungen zur Hemmung der Kinaseaktivität anwendbar, sofern es sinnvoll erscheint.

Die Behandlung wird im Allgemeinen fortgesetzt, bis eine erhebliche Reduktion vorliegt, z.B. mindestens ca. 50 % Verminderung der Zelllast und kann fortgesetzt werden, bis im Wesentlichen keine unerwünschten Zellen mehr im Körper nachgewiesen werden. In derartigen Tests zeigen und bewirken die erfindungsgemäßen Verbindungen einen inhibierenden Effekt, der gewöhnlich durch IC_{50} -Werte in einem geeigneten Bereich, bevorzugt im mikromolaren Bereich und bevorzugter im nanomolaren Bereich dokumentiert wird. Die Kinase wird insbesondere zu 50 % gehemmt, wenn die Konzentration der Verbindungen kleiner als 1 μM ist, vorzugsweise gleich oder kleiner als 0,5 μM , besonders bevorzugt kleiner als 0,1 μM . Diese Konzentration wird als IC_{50} -Wert bezeichnet.

Gegenstand der Erfindung ist auch ein Arzneimittel umfassend mindestens eine Verbindung der Formel (I) bzw. Teilformeln davon und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen. Noch ein Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung umfassend als Wirkstoff eine wirksame Menge von mindestens einer Verbindung der Formel (I) bzw. Teilformeln davon und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zusammen mit pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen.

Ein „Arzneimittel“, „Medikament“ sowie eine „pharmazeutische Zusammensetzung“ oder „pharmazeutische Formulierung“ ist hierbei jedes Mittel, welches in der Prophylaxe, Therapie, Verlaufskontrolle oder Nachbehandlung von Patienten eingesetzt werden kann, die zumindest zeitweise eine pathogene Modifikation des Gesamtzustandes bzw. des Zustandes einzelner Teile des Patientenorganismus zeigen, vorzugsweise infolge von Krebs, Tumoren, Metastasen, Störungen der Angiogenese, retroviralen Erkrankungen, Immunerkrankungen und/oder beschleunigten Alterungsprozessen, besonders bevorzugt infolge von Krebs, Tumoren, Metastasen und/oder Störungen der Angiogenese.

Um die protektive oder therapeutische Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen zu erhöhen, können pharmazeutisch verträgliche Adjuvantien zugesetzt werden. Im Sinne der Erfindung ist jede Substanz, die mit den Verbindungen gemäß der Erfindung eine Wirkung ermöglicht, verstärkt oder modifiziert, ein „Adjuvans“. Bekannte Adjuvantien sind z.B.

- 5 Aluminiumverbindungen, wie z.B. Aluminiumhydroxid oder Aluminiumphosphat, Saponine, wie z.B. QS 21, Muramyl-dipeptid oder Muramyl-tripeptid, Proteine, wie z.B. Gamma-interferon oder TNF, MF 59, Phosphatidylcholin, Squalen oder Polyole. Ebenfalls kann die Co-Applikation von Ei-Albumin in komplettem Freund'schen Adjuvans eine gesteigerte zellvermittelte Immunität hervorrufen und somit die Wirkung gebildeter neutralisierender
- 10 Antikörper unterstützen. Des Weiteren kann DNA, die eine immunstimulatorische Eigenschaft hat, oder die ein Protein mit Adjuvanseffekt kodiert, wie z.B. ein Cytokin, parallel oder in einem Konstrukt appliziert werden.

- Das Einbringen des pharmazeutischen Mittels in eine Zelle respektive einen Organismus
- 15 kann erfindungsgemäß auf jede Art und Weise geschehen, die es ermöglicht, dass die Kinasen mit den in der Zusammensetzung enthaltenen Verbindungen in Kontakt gebracht werden, infolgedessen eine Antwort induziert wird. Das pharmazeutische Mittel der vorliegenden Erfindung kann oral, transdermal, transmucosal, transurethral, vaginal, rektal, pulmonal, enteral und/oder parenteral angewendet werden. Die gewählte Art der Verab-
- 20 reichung richtet sich nach der Indikation, der zu verabreichenden Dosis, Individuums-spezifischen Parametern etc. Insbesondere ermöglichen die verschiedenen Arten der Verabreichung eine ortsspezifische Therapie, die Nebenwirkungen minimiert und die Wirkstoffdosis verringert. Ganz besonders bevorzugte Injektionen sind die intradermale, subkutane, intramuskuläre oder intravenöse Injektion. Die Applikation kann z.B. mit Hilfe so
- 25 genannter Impfpistolen oder mittels Spritzen geschehen. Es ist auch möglich, die Substanz als Aerosol bereitzustellen, welches von dem Organismus, bevorzugt einem humanen Patienten, inhaliert wird.

- Die Darreichungsformen des pharmazeutischen Mittels werden mit den üblichen festen
- 30 oder flüssigen Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln und den üblicherweise eingesetzten Hilfsstoffen entsprechend der gewünschten Applikationsart in einer geeigneten Dosierung und in an sich bekannter Weise hergestellt. Grundsätzlich können also pharmazeutisch annehmbare und dem Fachkundigen bekannte Exzipienten einen Teil des erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittels bilden, wobei die Menge des Exzipienten-
- 35 materials, die mit dem Wirkstoff kombiniert wird, um eine Einzeldosierung herzustellen, in Abhängigkeit vom zu behandelnden Individuum und der Art der Verabreichung variiert. Diese pharmazeutisch verträglichen Zusätze umfassen Salze, Puffer, Füllstoffe, Stabilisa-

toren, Komplexbildner, Antioxidantien, Lösungsmittel, Bindemittel, Gleitmittel, Tablettenüberzüge, Geschmacksstoffe, Farbstoffe, Konservierungsmittel, Stellmittel und dergleichen. Beispiele für solche Exzipienten sind Wasser, pflanzliche Öle, Benzylalkohole, Alkylenglycol, Polyethylenglycol, Glycerintriacetat, Gelatine, Kohlenhydrate, wie z.B.

- 5 Laktose oder Stärke, Magnesiumstearat, Talk und Vaseline.

- Die pharmazeutische Formulierung kann als Tablette, Filmtablette, Dragee, Lutschtablette, Kapsel, Pille, Pulver, Granulat, Sirup, Saft, Tropfen, Lösung, Dispersion, Suspension, Suppositor, Emulsion, Implantat, Creme, Gel, Salbe, Paste, Lotion, Serum, Öl, Spray,
- 10 Aerosol, Kleber, Pflaster oder Verband vorliegen. Als orale Darreichungsform werden vorzugsweise Tabletten, Filmtabletten, Dragees, Lutschtabletten, Kapseln, Pillen, Pulver, Granulate, Sirupe, Säfte, Tropfen, Lösungen, Dispersionen oder Suspensionen – auch als Depotform – zubereitet. Des Weiteren sind parenterale Arzneiformen, wie z.B. Suppositorien, Suspensionen, Emulsionen, Implantate oder Lösungen, in Betracht zu
- 15 ziehen, vorzugsweise ölige oder wässrige Lösungen. Zur topischen Applikation wird der Arzneimittelwirkstoff mit mindestens einem pharmazeutisch annehmbaren Trägerstoff, wie z.B. mikrokristalliner Cellulose, und ggf. weiteren Hilfsstoffen, wie z.B. Feuchtigkeitspendern, zu auf die Haut auftragbaren festen Formulierungen, wie z.B. Cremes, Gelen, Salben, Pasten, Pulver oder Emulsionen bzw. zu auf die Haut auftragbaren flüssigen
- 20 Formulierungen, wie z.B. Lösungen, Suspensionen, Lotionen, Seren, Ölen, Sprays oder Aerosole in üblicher Weise formuliert. Vorzugsweise liegt das pharmazeutische Mittel als Injektionslösung vor. Für die Herstellung der Injektionslösung können wässrige Medien, wie z.B. destilliertes Wasser oder physiologische Salzlösungen verwendet werden, wobei letztere saure und basische Additionssalze einschließen. Das pharmazeutische Mittel kann
- 25 auch als feste Zusammensetzung, beispielsweise im lyophilisierten Zustand vorliegen, und dann durch Zugabe eines auflösenden Mittels, wie z.B. destilliertes Wasser, vor der Verwendung bereitete werden. Die Grundlagen der Herstellung von Lyophilisaten sind dem Fachmann vertraut.
- 30 Die Konzentration der aktiven Verbindung in der Formulierung kann 0,1 bis 100 Gewichtsprozent betragen. Entscheidend ist, dass die pharmazeutische Zusammensetzung als Wirkstoff eine effektive Menge der Verbindung zusammen mit den pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen umfasst. Die Begriffe „effektive Menge“ oder „wirksame Dosis“ werden hierin austauschbar verwendet und bezeichnen eine Menge des pharmazeutischen Wirk-
- 35 stoffs, die eine prophylaktisch oder therapeutisch relevante Wirkung auf eine Krankheit oder pathologische Veränderung in Zelle, Gewebe, Organ oder Säuger hat. Eine „prophylaktische Wirkung“ verhindert das Ausbrechen einer Krankheit oder sogar die

Infektion mit einem Pathogen nach dem Eindringen einzelner Vertreter derart, dass deren nachfolgende Ausbreitung stark verringert wird oder sie sogar vollständig inaktiviert werden. Eine „prophylaktische Wirkung“ umfasst auch die Erhöhung der normalen physiologischen Funktion. Eine Prophylaxe ist insbesondere ratsam, wenn ein Individuum

5 Veranlagungen für den Ausbruch der vorgenannten Krankheiten aufweist, wie z.B. eine familiäre Vorbelastung, einen Gendefekt oder eine kürzlich überstandene Krankheit. Eine „therapeutisch relevante Wirkung“ befreit teilweise oder vollständig von einem, mehreren oder allen Krankheitssymptomen oder führt zur teilweisen oder vollständigen Rückkehr

10 Krankheit oder pathologischen Veränderung in Zusammenhang stehen oder ursächlich dafür sind, in den Normalzustand. Auch wird die Verlaufskontrolle als Art der therapeutischen Behandlung verstanden, wenn die Verbindungen in bestimmten Intervallen verabreicht werden, z.B. um die Symptome einer Krankheit vollständig zu beseitigen. Die jeweilige Dosis bzw. der Dosisbereich für die Gabe der erfindungsgemäßen Verbindungen

15 ist groß genug, um den gewünschten prophylaktischen oder therapeutischen Effekt der Induktion einer biologischen oder medizinischen Antwort zu erreichen. Im Allgemeinen wird die Dosis mit dem Alter, der Konstitution und dem Geschlecht des Patienten variieren sowie die Schwere der Erkrankung berücksichtigen. Es versteht sich, dass die spezifische Dosis, Häufigkeit und Dauer der Verabreichung darüber hinaus von einer Vielzahl an

20 Faktoren abhängen, wie z.B. der Zielsteuerungs- und Bindungsfähigkeit der Verbindungen, Ernährungsgewohnheiten des zu behandelnden Individuums, Art der Verabreichung, Ausscheidungsrate und Kombination mit anderen Medikamenten. Die individuelle Dosis kann sowohl in Bezug auf die primäre Erkrankung als auch in Bezug auf das Eintreten eventueller Komplikationen eingestellt werden. Die exakte Dosis ist durch einen Fachmann

25 mit bekannten Mitteln und Methoden feststellbar. Diese Lehre der Erfindung ist gültig und ohne Einschränkungen auf die pharmazeutische Zusammensetzung umfassend die Verbindungen der Formel (I) anwendbar, sofern es sinnvoll erscheint.

In einer Ausführungsform der Erfindung werden die Verbindungen in einer Dosis von

30 0,01 mg bis 1 g pro Dosierungseinheit verabreicht, vorzugsweise zwischen 1 bis 700 mg, besonders bevorzugt 5 bis 100 mg. Die tägliche Dosierung liegt insbesondere zwischen 0,02 und 100 mg/kg Körpergewicht.

Zur Unterstützung der medizinischen Wirkung kann die pharmazeutische Zusammen-

35 setzung in einer Ausgestaltung der Erfindung auch einen oder mehrere weitere Wirkstoffe umfassen, wobei eine gleichzeitige oder aufeinander folgende Verabreichung denkbar ist. Die therapeutische Wirkung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung

kann beispielsweise darin bestehen, dass durch die Hemmung der DNA-PK als erwünschter Nebeneffekt bestimmte Antikrebsmittel besser wirken oder durch die Verminderung der Dosis die Anzahl der Nebenwirkungen dieser Medikamente reduziert wird.

- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung mit einem Antikrebsmittel kombiniert. Wie hier verwendet, betrifft der Begriff „Antikrebsmittel“ jedes Mittel, das einem Patienten mit Krebs, Tumoren, Metastasen und/oder Störungen der Angiogenese zum Zweck der Behandlung des
- 10 Krebses verabreicht wird. Das Antikrebsmittel ist besonders bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe umfassend Cytokine, Chemokine, pro-apoptotische Mittel, Interferone, radioaktive Verbindungen, Östrogenrezeptor-Modulatoren, Androgenrezeptor-Modulatoren, Retinoidrezeptor-Modulatoren, Zytotoxika, Zytostatika, Prenyl-Proteintransferase-Hemmer und Angiogenese-Hemmer oder Kombinationen davon. Es ist bevorzugt, dass das
- 15 Antikrebsmittel den Nukleinsäure- und/oder Proteinstoffwechsel, die Zellteilung, DNA-Replikation, Purin-, Pyrimidin- und/oder Aminosäure-Biosynthese, Genexpression, mRNA-Prozessierung, Proteinsynthese, Apoptose oder Kombinationen davon verändert, insbesondere abschwächt.

- Die Erfindung kann auch als Kit praktiziert werden, der die erfindungsgemäßen Verbindungen enthält. Das Kit besteht aus getrennten Packungen von (a) einer wirksamen
- 20 Menge einer Verbindung der Formel (I) und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, und (b) einer wirksamen Menge eines weiteren Wirkstoffs. Das Kit enthält geeignete Behälter, wie z.B. Schachteln oder Kartons, individuelle Flaschen, Beutel oder
- 25 Ampullen. Das Kit kann z.B. separate Ampullen enthalten, in denen jeweils eine wirksame Menge an einer Verbindung der Formel (I) und/oder ihrer pharmazeutisch verwendbaren Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, und einer wirksamen Menge eines weiteren Arzneimittelwirkstoffs gelöst oder in lyophilisierter Form vorliegt. Das Kit der Erfindung kann auch einen Artikel beinhalten, der
- 30 schriftliche Anweisungen enthält oder den Anwender auf schriftliche Anweisungen hinweist, die den Umgang mit den Verbindungen der Erfindung erläutern.

- Erfindungsgemäß werden die Verbindungen der Formel (I) bzw. deren Teilformeln und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere,
- 35 einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Prophylaxe, Therapie und/oder Verlaufskontrolle von Erkrankungen verwendet, die durch die Aktivität von Serin-Threonin-Proteinkinasen hervorgerufen, vermittelt und/oder verbreitet werden. Gegenstand der

vorliegenden Erfindung ist deshalb auch die Verwendung von Verbindungen der Formel (I) bzw. deren Teilformeln und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe, Therapie und/oder Verlaufskontrolle von

5 Erkrankungen, die durch die Aktivität von Serin-Threonin-Proteinkinasen hervorgerufen, vermittelt und/oder verbreitet werden. Erfindungsgemäß sind Verbindungen der Formel (I) bzw. deren Teilformeln und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Verwendung in der Prophylaxe, Therapie und/oder Verlaufskontrolle von Erkrankungen

10 geeignet, die durch Aktivität von Serin-Threonin-Proteinkinasen hervorgerufen, vermittelt und/oder verbreitet werden. Zur Identifizierung eines entsprechenden Signalübertragungswegs und zum Nachweis von Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Signalübertragungswegen sind geeignete Modelle oder Modellsysteme entwickelt worden, z.B. Zellkulturmodelle (Khwaja et al. (1997) EMBO 16: 2783) und Modelle transgener Tiere

15 (White et al. (2001) Oncogene 20: 7064). Zur Bestimmung bestimmter Stufen in der Signalübertragungskaskade können wechselwirkende Verbindungen genutzt werden, um das Signal zu modulieren (Stephens et al. (2000) Biochemical J 351: 95). Darüber hinaus können die erfindungsgemäßen Verbindungen auch als Reagenzien zur Testung kinaseabhängiger Signalübertragungswege in Tieren und/oder Zellkulturmodellen oder in

20 den in dieser Anmeldung genannten klinischen Erkrankungen verwendet werden. Wie hierin besprochen, sind diese Signalwege für verschiedene Erkrankungen relevant. Dementsprechend sind die erfindungsgemäßen Verbindungen nützlich bei der Prophylaxe, Therapie und/oder Verlaufskontrolle von Erkrankungen, die von Signalwegen mit Beteiligung von Serin-Threonin-Proteinkinasen abhängig sind.

25 Erfindungsgemäß sind die Verbindungen der Formel (I) bzw. deren Teilformeln und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Verwendung in der Prophylaxe, Therapie und/oder Verlaufskontrolle von Krebs, Tumoren, Metastasen, Störungen der Angiogenese, retroviralen Erkrankungen und/oder Immunerkrankungen geeignet, insbesondere Krebs,

30 Tumoren, Metastasen und/oder Störungen der Angiogenese. Erfindungsgemäß sind die Verbindungen der Formel (I) bzw. deren Teilformeln und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, auch zur Verwendung bei der Verlangsamung von

35 Alterungsprozessen geeignet, wobei die Verlangsamung anhand des Vergleichs der Lebensspanne des behandelten Wirts oder dessen Zellen, Zellkulturen, Geweben oder Organen mit entsprechenden Positiv- oder Negativkontrollen und/oder Statistiken erfolgt.

Es versteht sich, dass auch der Wirt der pharmazeutischen Verbindungen in den Schutzzumfang der vorliegenden Erfindung eingeschlossen ist.

Der Tumor ist insbesondere ausgewählt aus der Gruppe von Erkrankungen von
5 Plattenepithel, Blase, Magen, Nieren, Kopf, Hals, Ösophagus, Gebärmutterhals, Schilddrüse, Darm, Leber, Gehirn, Prostata, Urogenitaltrakts, lymphatisches System, Kehlkopf, Lunge, Haut, Blut und Immunsystem, und/oder der Krebs ist ausgewählt aus der Gruppe von Monozytenleukämie, Lungenadenokarzinom, kleinzelliges Lungenkarzinom, Bauchspeicheldrüsenkrebs, Glioblastom, Darmkarzinom, Brustkarzinom, akute myelotische
10 Leukämie, chronische myelotische Leukämie, akute lymphatische Leukämie, chronische lymphatische Leukämie, Hodgkin-Lymphom und non-Hodgkin-Lymphom.

Eine weitere Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung betrifft die erfindungsgemäßen Verbindungen in Kombination mit Radiotherapie und/oder mit mindestens einem weiteren
15 Wirkstoff, vorzugsweise in Kombination mit Radiotherapie und/oder einem Antikrebsmittel. Technische Bestrahlungsmethoden, die klinische Verwendung finden, umfassen vorzugsweise Photonenbestrahlung (klassische, elektromagnetische Röntgen-/Gamma-Strahlung), Protonenbestrahlung, Schwerionenbestrahlung (ionisierter Kohlenstoff) sowie Neutronenbestrahlung, ohne hierauf beschränkt zu sein. Dem Fachmann sind diese
20 Radiotherapien und weitere geeignete Bestrahlungstherapien im Sinne der Erfindung bekannt, wie z.B. aus Herrmann et al. (2006) Klinische Strahlenbiologie, Elsevier München, 4. Auflage, 67-68; Bhide & Nutting (2010) BMC Medicine 8: 25; Choi & Hung (2010) Current Urology Reports 11(3): 172. Als häufigste Anwendung ist die Photonenbestrahlung technisch durch die Verfahren IMRT (Intensitäts-modulierte Radiotherapie) sowie durch
25 bildgebende Verfahren (dreidimensional konforme Radiotherapie) bei der Bestrahlungsplanung und -durchführung zur möglichst exakten Fokussierung verfeinert worden. Die erfindungsgemäßen Verbindungen erzielen bei existierenden Krebs-Chemotherapien und Bestrahlungen synergistische Effekte und/oder stellen die Wirksamkeit existierender Krebs-Chemotherapien und Bestrahlungen wieder her. Die
30 synergistische Wirkung der Hemmung von VEGF in Kombination mit Radiotherapie ist im Stand der Technik beschrieben (WO 2000/61186). Als weitere Arzneimittelwirkstoffe sind besonders solche Chemotherapeutika bevorzugt, die die Angiogenese hemmen und dadurch das Wachstum und die Verbreitung von Tumorzellen inhibieren. Beispiele hierfür sind VEGF-Rezeptorinhibitoren, beinhaltend Ribozyme und Antisense, die auf VEGF-
35 Rezeptoren gerichtet sind, sowie Angiostatin und Endostatin. Weitere Beispiele antineoplastischer Agenzien, die in Kombination mit den erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden können, beinhalten im Allgemeinen alkylierende

Agenzien, Antimetaboliten, Epidophyllotoxin, ein antineoplastisches Enzym, einen Topoisomerase-Inhibitor, Procarbazin, Mitoxantron oder Platin-Koordinationskomplexe. In einer anderen Ausführungsform ist das Antikrebsmittel besonders bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe von Östrogenrezeptor-Modulator, Androgenrezeptor-Modulator, Retinoidrezeptor-Modulator, Zytotoxikum, Zytostatikum, Prenyl-Proteintransferase-Hemmer und Angiogenese-Hemmer. Im Übrigen ist die vorherige Lehre der Erfindung und deren Ausführungsformen betreffend pharmazeutische Zusammensetzung gültig und ohne Einschränkungen auf die zweite medizinische Indikation anwendbar, sofern es sinnvoll erscheint. Eine ganz besonders bevorzugte Ausführungsform umfasst die erfindungsgemäßen Verbindungen in Kombination mit Radiotherapie und/oder einem Zytostatikum.

Noch eine weitere Ausgestaltung der Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von mindestens einer Verbindung der Formel (I) und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Sensibilisierung von Krebszellen gegenüber einem Antikrebsmittel und/oder ionisierender Strahlung unter der Maßgabe, dass die Sensibilisierung in-vivo nicht am menschlichen oder tierischen Körper erfolgt. Die Sensibilisierung erfolgt vorzugsweise ex-vivo oder in-vitro, indem die Verbindungen Zellen, Zellkulturen, Geweben oder Organen verabreicht werden, die Serin-Threonin-Proteinkinasen umfassen. Die ex-vivo-Verwendung wird insbesondere bei tierischen Zellen angewandt, die aus einem tierischen Organismus stammen, der von einer Krankheit betroffen ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe von Krebs, Tumoren, Metastasen und/oder Störungen der Angiogenese. Die ex-vivo-behandelten Zellen können entweder für Folgeuntersuchungen weiter in Kultur gehalten oder in ein Tier überführt werden, wobei es sich um das Wirtstier oder ein anderes Tier handeln kann. Die erfindungsgemäße ex-vivo-Sensibilisierung ist insbesondere von Vorteil, um den spezifische Wirkung der Verbindungen zu testen, so dass unter Auswertung dieser ex-vivo-Daten die in-vivo-Dosis entsprechend voreingestellt werden kann. Im Ergebnis dessen wird der therapeutische Effekt signifikant erhöht. Alternativ ist die Erfindung auch für die Anwendung in-vivo ausgestaltet und betrifft mindestens eine Verbindung der Formel (I) und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Verwendung zur Sensibilisierung von Krebszellen gegenüber einem Antikrebsmittel und/oder ionisierender Strahlung.

Die Erfindung lehrt ferner ein Verfahren zur Prophylaxe, Therapie und/oder Verlaufskontrolle von Krebs, Tumoren, Metastasen, Störungen der Angiogenese, retroviralen

Erkrankungen, Immunerkrankungen und/oder Alterungsprozessen, wobei eine wirksame Menge mindestens einer erfindungsgemäßen Verbindung und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, einem zu behandelnden Probanden verabreicht wird.

- 5 Bevorzugte Probanden im Sinne der Erfindung sind Mensch oder Tier, besonders bevorzugt der Mensch. Dem Fachmann ist hierbei bekannt, dass er die erfindungsgemäßen Verbindungen, die selbstverständlich auch als das erfindungsgemäße pharmazeutische Mittel verwendet werden können, in verschiedenen Dosierungen einem Organismus, insbesondere einem humanen Patienten, applizieren kann. Die wirksame Menge und
10 die Art der Applikation können vom Fachmann durch Routineversuche bestimmt werden. Die vorherige Lehre der Erfindung und deren Ausführungsformen sind gültig und ohne Einschränkungen auf das Behandlungsverfahren anwendbar, sofern es sinnvoll erscheint.

- Sämtliche genannte sowie weitere Bestandteile bzw. Komponenten sind dem Fachmann
15 geläufig und können in Routineversuchen eine spezielle Ausgestaltung für die erfindungsgemäße Lehre erfahren. Sämtliche in der Beschreibung zitierten Dokumente sollen hiermit in ihrer Gesamtheit in die Offenbarung der vorliegenden Erfindung als Referenz einbezogen werden.

- 20 Im Rahmen der hier vorgestellten Erfindung wurden erstmals neuartige Morpholinylbenzotriazin-Verbindungen der Formel (I) bereitgestellt. Die erfindungsgemäßen Verbindungen steuern affin und/oder selektiv Serin-Threonin-Proteinkinasen, insbesondere DNA-PK, an. Die Verbindungen aus Formel (I) und deren Derivate zeichnen sich durch eine hohe Spezifität und Stabilität, niedrige Herstellungskosten und leichte Handhabung aus.
25 Auf diesen Eigenschaften basieren eine reproduzierbare Wirkungsweise, einschließlich des Fehlens von Kreuzreaktivitäten, und die verlässliche und sichere Wechselwirkung mit den entsprechenden Zielstrukturen. Die Erfindung beinhaltet auch die Verwendung der vorliegenden Morpholinylbenzotriazin-Derivate zur Hemmung, Regulation und/oder Modulation der Signalkaskade von Serin-Threonin-Proteinkinasen, insbesondere DNA-PK,
30 und bietet damit neuartige Werkzeuge für Forschung und/oder Diagnostik.

- Arzneimittel und pharmazeutische Zusammensetzungen, die die genannten Verbindungen enthalten, und der Einsatz dieser Verbindungen zur Behandlung Kinase-vermittelter Störungen sind außerdem ein vielversprechenden Ansatz für ein breites Spektrum von
35 Therapien, wodurch sich bei Mensch und Tier eine direkte und unmittelbare Linderung von Symptomen erreichen lässt. Dies ist besonders für die wirksame Bekämpfung schwerer Krankheiten wie Krebs von Vorteil, entweder als Monotherapie oder in Kombination mit

anderen anti-neoplastischen Therapien. Die Schlüsselbeteiligung von DNA-PK an DNA-Reparaturprozessen und der Nachweis, dass der DNA-PK-Inhibitoren Säugerzellen strahlungsempfindlicher werden lässt, ermöglicht eine therapeutische Anwendung der DNA-PK oder DNA-PK/ATM oder ATM spezifischen Inhibitoren im Rahmen der Behandlung von z.B. soliden Krebstumoren durch Bestrahlungs- und/oder einer auf DNA-DSBs abzielenden Chemotherapie. Die Verbindungen der Formel (I), ihre Salze, Isomere, Tautomere, Enantiomere, Diastereomere, Racemate, Derivate, Prodrugs und/oder Metaboliten sind nicht nur bei den genannten klinischen Krankheitsbildern wirkungsvoll, sondern ebenso in der Diagnose und Therapie sämtlicher Erkrankungen in Zusammenhang mit der DNA-PK-Signalkaskade, vor allem im Hinblick auf die Hemmung von Zellproliferation und -migration. Darüber hinaus sind die erfindungsgemäßen Inhibitoren in der Behandlung von retroviralen Erkrankungen durch ein Zurückdrängen der retroviralen Integration nutzbar (R. Daniel (1999) Science 284: 644). Schließlich können die erfindungsgemäßen Hemmstoffe als Immunmodulatoren sowie Modulatoren der telomeren Wartung eingesetzt werden. Die niedermolekularen Inhibitoren werden einzeln und/oder in Kombination mit anderen Behandlungsmaßnahmen verwendet, wie z.B. chirurgischen Eingriffen, Immun-, Strahlen- und/oder Chemotherapie. Letztere beziehen sich auf eine zielgerichtete Therapie mit einem beliebigen NME (d.h. NCE und/oder NBE) als Mono- und/oder On-Target-/Off-Target-Kombinationstherapie.

Aufgrund ihrer überraschend starken und/oder selektiven Hemmung von solchen Enzymen, die über die Reparatur von dsDNA zelluläre Prozesse regeln, können die Verbindungen der Erfindung bei vorteilhaft niedriger Dosierung verabreicht werden, während sie im Vergleich mit den weniger potenten bzw. weniger selektiven Inhibitoren des Stands der Technik eine ähnliche oder sogar überlegene biologische Wirksamkeit erzielen. Die reduzierte Dosis geht auch mit verringerten oder keinen medizinischen Nebenwirkungen einher. Darüber hinaus wird die hoch selektive Hemmung durch die erfindungsgemäßen Verbindungen auch durch eine Verringerung unerwünschter Nebenwirkungen reflektiert, die unabhängig von der Dosierung ist. Insbesondere haben die erfindungsgemäßen Verbindungen keine hERG-Aktivität. Diese fehlende Aktivität wird dem Benzotriazin-Gerüst zugeschrieben.

Es versteht sich, dass diese Erfindung nicht auf die spezifischen Verbindungen, pharmazeutischen Zusammensetzungen, Verwendungen und Verfahren beschränkt ist, wie sie hierin beschrieben sind, da solche Dinge variieren können. Es versteht sich des Weiteren, dass die vorliegend verwendete Terminologie ausschließlich dem Zweck der Beschreibung besonderer Ausführungsformen dient und nicht den Schutzzumfang der

Erfindung einschränken soll. Wie vorliegend in der Spezifikation einschließlich der anhängigen Ansprüche verwendet, schließen Wortformen im Singular, wie z. B. „ein“, „eine“, „einer“, „der“ oder „das“ die Entsprechung im Plural ein, sofern der Kontext nicht eindeutig etwas anderes vorgibt. Beispielsweise enthält der Bezug auf „eine Verbindung“
5 ein einzelne Verbindung oder mehrere Verbindungen, die wiederum identisch oder verschieden sein können, oder der Bezug auf „ein Verfahren“ schließt äquivalente Schritte und Verfahren ein, die dem Fachmann bekannt sind.

Im Folgenden wird die Erfindung anhand nicht limitierender Beispiele für konkrete
10 Ausführungsformen näher erläutert. Die Beispiele sind insbesondere dahingehend zu interpretieren, dass sie nicht auf die konkret veranschaulichten Merkmalskombinationen beschränkt sind, sondern die beispielhaften Merkmale wiederum frei kombiniert werden können, solange die Aufgabe der Erfindung gelöst wird.

15 Vor- und nachstehend sind alle Temperaturen in °C angegeben. In den nachfolgenden Beispielen bedeutet „übliche Aufarbeitung“: Man gibt, falls erforderlich, Wasser hinzu, stellt, falls erforderlich, je nach Konstitution des Endprodukts auf pH-Werte zwischen 2 und 10 ein, extrahiert mit Ethylacetat oder Dichlormethan, trennt ab, trocknet die organische Phase über Natriumsulfat, dampft ein und reinigt durch Chromatographie an Kieselgel und /oder
20 durch Kristallisation. R_F-Werte an Kieselgel; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 9:1.

NMR (¹H) wurde mit den folgenden Parametern durchgeführt.

Geräte: Bruker Avance DRX 500, Bruker Avance 400, Bruker DPX 300

Referenz: TMS

25 TD (Time Domaine = Anzahl der Datenpunkte oder digitale Auflösung): 65536

Lösungsmittel: DMSO d₆

NS (Number of Scans = Häufigkeit der Abtastung): 32

SF (Spectrometer Frequency = Sendefrequenz): 500 MHz

TE (Temperatur): 303 K

30

HPLC-MS wurde mit den folgenden Parametern durchgeführt.

Gerät: Agilent Technologies 1200 Series

Methoden: ESI1ROD.M und POLAR.M (3,8 min., Lösungsmittel-Gradient)

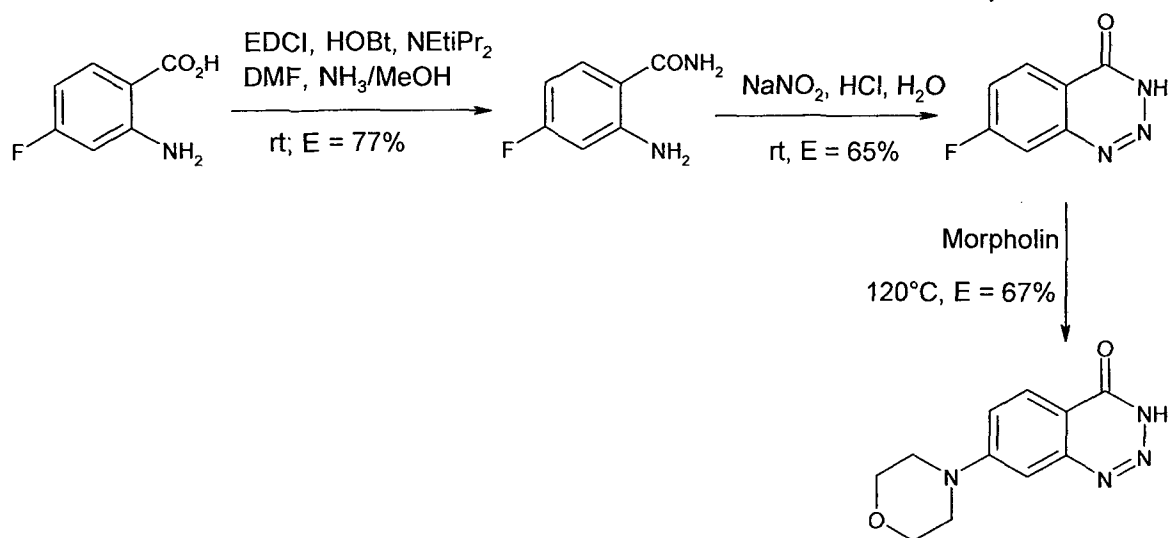
Säule: ChromolithSpeedROD RP18e50-4.6

35 Lösungsmittel: Acetonitril + 0,05 % HCOOH / VE-Wasser + 0,04 % HCOOH

Detektionswellenlänge: 220 nm

MS-Typ: API-ES

BEISPIEL 1: Synthese von 7-Morpholin-4-yl-3H-benzo[d][1,2,3]triazin-4-on

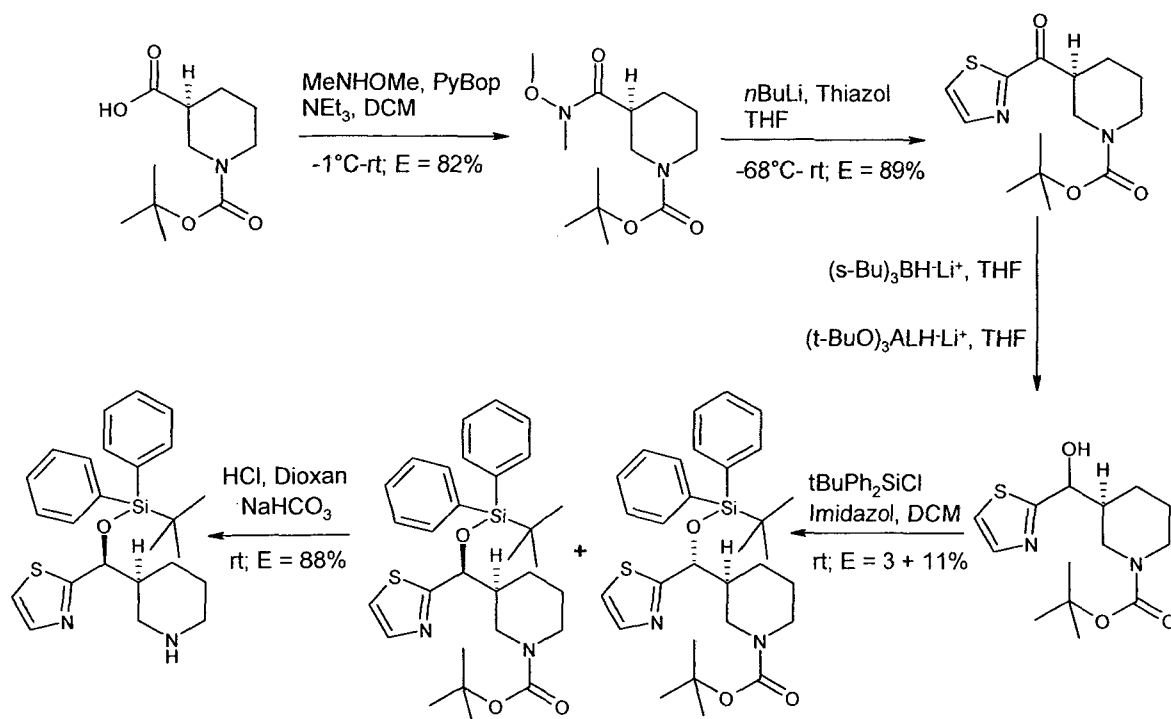


- 5 Zu einer Lösung von 50,0 g (0,322 mol) 2-Amino-4-fluorobenzoessäure in 600 mL Dimethylformamid wurden nacheinander bei Raumtemperatur 59,23 g (0,387 mol) Benzotriazol-1-ol, 65,776 mL (0,387 mol) N-Ethyl-diisopropylamin und 74,15 g (0,387 mol) N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimidhydrochlorid gegeben. Unter Rühren wurden 64,46 mL (0,451 mol) Ammoniak in Methanol (7 mol/L) zugetropft und 18 Stunden
- 10 gerührt. Zu dem Ansatz wurden Wasser (2 L) und konzentrierte Natriumchloridlösung (0,5 L) zugegeben. Die Mischung wurde dreimal mit Essigsäureethylester (je 0,75 L) extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und anschließend das Lösungsmittel am Rotavapor abgezogen. Der Rückstand wurde mit 2-Methoxy-2-methylpropan (0,2 L) und Petroleumbenzin (0,1 L) verrieben. Der kristalline Niederschlag wurde
- 15 abgesaugt und im Trockenschrank getrocknet. So erhielt man 44,5 g 2-Amino-4-fluorobenzamid als Feststoff.

- Zu einer Suspension von 44,5 g (0,289 mol) 2-Amino-4-fluorobenzamid in 1,4 L Salzsäure (25%-ig) wurden 35,85 g (0,520 mol) Natriumnitrit in 75 mL Wasser bei Raumtemperatur
- 20 zugetropft. Unter Eiskühlung wurde 2 Stunden gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser nachgewaschen und bei 60°C im Vakuumtrockenschrank getrocknet. So erhielt man 32,58 g 7-Fluor-3H-benzo[d][1,2,3]triazin-4-on als Feststoff; HPLC/MS (M+H)⁺ = 166; ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.32 (dd, J = 8.8, 5.7, 1H), 7.87 (dd, J = 9.0, 2.5, 1H), 7.64 (td, J = 8.7, 2.5, 1H).

- 32,5 g (0,196 mol) 7-Fluoro-3H-benzo[d][1,2,3]triazin-4-on wurden in 300 mL Morpholin unter Rühren 5 Stunden auf 120°C erhitzt. Das ausgefallene Produkt wurde bei 50°C abgesaugt, der Niederschlag mit Wasser gewaschen, abgesaugt und 48 Stunden im Vakuumtrockenschrank getrocknet. So erhielt man 30,5 g 7-Morpholin-4-yl-3H-benzo[d][1,2,3]triazin-4-on als Feststoff; ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.00 (d, *J* = 9.0, 1H), 7.52 (dd, *J* = 9.0, 2.6, 1H), 7.39 (dd, *J* = 22.8, 2.6, 1H), 3.78 (dd, *J* = 17.1, 12.3, 4H), 3.45 (dd, *J* = 17.1, 12.3, 4H).

BEISPIEL 2: Synthese von Thiazolpiperidin



10

- Zu einer Lösung von 500 g (2,18 mol) (S)-Piperidin-1,3-dicarbonsäure-1-tert-butylester in 2,5 L Dichlormethan wurden 310 mL (2,24 mol) Triethylamin bei Raumtemperatur unter Rühren zugegeben. Nach 15 Minuten wurde das Reaktionsgemisch auf -1°C abgekühlt und nacheinander 1135 g (2,18 mol) Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidino-phosphonium-hexafluorophosphat, 234 g (2,4 mol) N,O-Dimethylamin Hydrochlorid und 320 g (2,31 mol) Triethylamin zugetropft. Nach 15 Minuten wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und 18 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 3 L Dichlormethan verdünnt, mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und zu einem Öl eingengt. Das resultierende Öl (1,5 kg) wurde über Kieselgel chromatographiert. So erhielt man 489 g (S)-3-(Methoxy-methyl-carbamoyl)-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester als Öl; Drehwert in Methanol $[\alpha]_D^{20} = +19,3^\circ$; ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 3.94

20

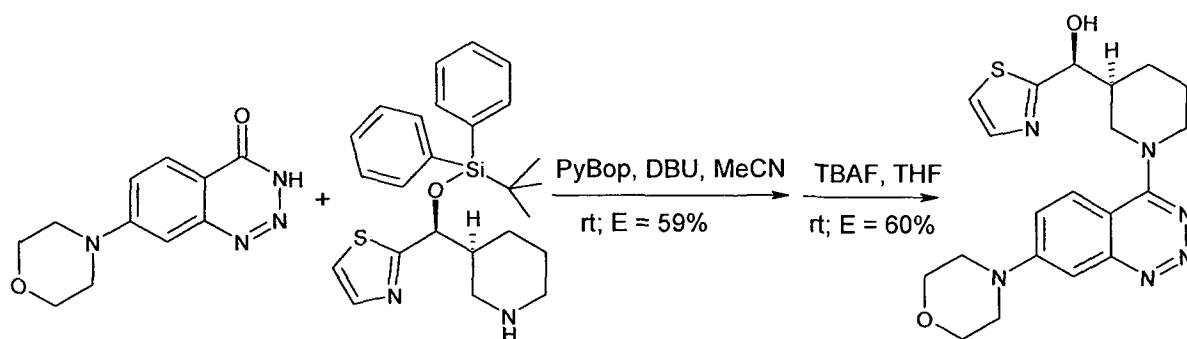
(d, $J = 10.1$, 1H), 3.86 (d, $J = 12.3$, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 2.74 (d, $J = 9.8$, 3H), 1.81 (d, $J = 12.8$, 1H), 1.71 – 1.61 (m, 1H), 1.60 – 1.48 (m, 2H), 1.39 (d, $J = 8.2$, 9H).

Bei -68°C wurden zu einer Lösung von 25 g (0,291 mol) Thiazol in 1 L Tetrahydrofuran
5 136,6 g (0,32 mol) n-Butyllithium (15%-ig in n-Hexan) zugetropft. Das Gemisch wurde auf 0°C erwärmt und anschließend auf -40°C gekühlt. Dieses Gemisch wurde nun zu einer Lösung von 79,2 g (0,291 mol) (S)-3-(Methoxy-methyl-carbamoyl)-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester in 1,4 L Tetrahydrofuran bei -50°C zugetropft. Danach wurde das Reaktionsgemisch langsam auf 0°C erwärmt und mit 2 L Eiswasser versetzt. Nach Zugabe
10 von 2 L Wasser und 2 L gesättigter Natriumchloridlösung wurde das Rohgemisch mit insgesamt 4 L Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt (87 g) wurde über einer Kieselgelsäule chromatographiert. So erhielt man 76,4 g (S)-3-(Thiazol-2-carbonyl)-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester als braunes Harz;
15 Drehwert in Methanol $[\alpha]_D^{20} = +27,4^{\circ}$; ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.22 (d, $J = 3.0$, 1H), 8.17 (d, $J = 3.0$, 1H), 4.22 – 3.86 (m, 1H), 3.84 – 3.69 (m, 2H), 3.60-3.52 (m, 1H), 3.20 – 3.05 (m, 1H), 2.08 – 1.92 (m, 2H), 1.89 – 1.60 (m, 2H), 1.35 (s, 9H).

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0,5 g (1,69 mmol) (S)-3-(Thiazol-2-carbonyl)-piperidin-
20 1-carbonsäure-tert-butylester in 20 mL Tetrahydrofuran gelöst und anschließend bei Raumtemperatur 3,374 mL (3,374 mmol) Lithium-tri-sec-butylborhydrid (1,0 M Lösung in Tetrahydrofuran) zugetropft. Nach 60 Minuten wurden 20 mL Essigsäure (10%-ig) zugesetzt. Danach wurden nacheinander Wasser, gesättigte Natriumchloridlösung und Essigsäureethylester zugefügt. Die organische Phase wurde abgetrennt, die wässrige
25 Phase nachextrahiert mit Essigsäureethylester und anschließend die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und eingeeengt. So erhielt man 0,5 g (S)-3-(Hydroxy-thiazol-2-yl-methyl)-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester als Diastereomergemisch des S-Piperidins im Verhältnis von 70:30 (polar : unpolar); HPLC/MS (M+H) $^{+} = 299$.

30 Unter Stickstoffatmosphäre wurden 17,2 g (0,058 mol) (S)-3-(Thiazol-2-carbonyl)-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester in 200 mL Tetrahydrofuran gelöst und anschließend zwischen -4 und $+2^{\circ}\text{C}$ 121,8 mL (0,122 mol) Lithium-tri-tert-butoxy-aluminiumhydrid (1,0 M Lösung in Tetrahydrofuran) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 30 Minuten bei 0°C
35 und danach 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Eiswasser hinzugefügt, wobei die Temperatur auf 1°C anstieg. Nach Zusatz von gesättigter Natriumchloridlösung und Essigsäureethylester wurde vom anorganischen Rückstand

- abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung versetzt, mit Essigsäureethylester extrahiert und die organische Phase eingeeengt. So erhielt man 19,0 g (S)-3-(Hydroxy-thiazol-2-yl-methyl)-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester als Diastereomerengemisch des S-Piperidins im Verhältnis von 30:70 (polar : unpolar);
- 5 HPLC/MS (M+H)⁺ = 299; Drehwert in Methanol [α]_D²⁰ = + 4,8°. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.72 (dd, *J* = 14.9, 3.3, 1H), 7.62 (dd, *J* = 3.2, 0.8, 1H), 6.22 (dd, *J* = 11.4, 5.3, 1H), 4.66 (dd, *J* = 9.8, 4.6, 1H), 3.82 (t, *J* = 11.8, 2H), 2.71 – 2.54 (m, 2H), 1.88 – 1.72 (m, 1H), 1.73 – 1.57 (m, 2H), 1.40-1.30 (m, 11H).
- 10 Zu einer Lösung von 19 g (0,058 mol) (S)-3-(Hydroxy-thiazol-2-yl-methyl)-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester [Diastereomerengemisch] in 250 mL Dichlormethan wurden bei 22°C nacheinander 6,91 g (0,102 mol) Imidazol und 26,435 mL (0,201 mol) tert-Butyldiphenylchlorsilan zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde mit 250 mL Eiswasser versetzt. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt.
- 15 Das Rohprodukt wurde über Kieselgel chromatographiert. So erhielt man 3,44 g (S)-3-[(R)-(tert-Butyl-diphenyl-silanyloxy)-thiazol-2-yl-methyl]-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester (Drehwert in Methanol [α]_D²⁰ = + 28.0°) und 1,19 g (S)-3-[(S)-(tert-Butyl-diphenyl-silanyloxy)-thiazol-2-yl-methyl]-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester (Drehwert in Methanol [α]_D²⁰ = -1,3°); HPLC/MS (M+H)⁺ = 537.
- 20 Zu einer Lösung von 1,08 g (2,0mmol) (S)-3-[(S)-(tert-Butyl-diphenyl-silanyloxy)-thiazol-2-yl-methyl]-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester in 30 mL Dichlormethan wurden bei +5°C 30 mL Hydrogenchlorid (4 M in 1,4-Dioxan) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Einengen erhielt man 1,03 g (S)-3-[(S)-(tert-Butyl-diphenyl-silanyloxy)-thiazol-2-yl-methyl]-piperidinium-hydrochlorid; HPLC/MS
- 25 (M+H)⁺ = 437; Drehwert in Methanol [α]_D²⁰ = - 18,1°. Das Hydrochlorid wurde in 10 mL Wasser gelöst, im Eisbad gekühlt und 1 mL Natronlauge (2 M) zugetropft. Das Präzipitat wurde mit Essigsäureethylester aufgenommen, mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. So erhielt man 0,8g (S)-
- 30 3-[(S)-(tert-Butyl-diphenyl-silanyloxy)-thiazol-2-yl-methyl]-piperidin als amorphes Harz; HPLC/MS (M+H)⁺ = 437; Drehwert in Methanol [α]_D²⁰ = - 22,1°. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.69 – 7.56 (m, 4H), 7.52 – 7.38 (m, 6H), 7.38 – 7.26 (m, 2H), 4.84 (d, *J* = 6.6, 1H), 4.03 (q, *J* = 7.1, 1H), 2.94 (d, *J* = 11.2, 1H), 2.73 (d, *J* = 11.8, 1H), 2.25 – 2.10 (m, 2H), 1.78 (dtd, *J* = 10.5, 6.9, 3.3, 1H), 1.49 – 1.30 (m, 2H), 1.19 – 1.10 (m, 2H), 1.04 – 0.93 (m, 9H).
- 35 BEISPIEL 3A: Synthese von (S)-[(S)-1-(7-Morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-thiazol-2-yl-methanol



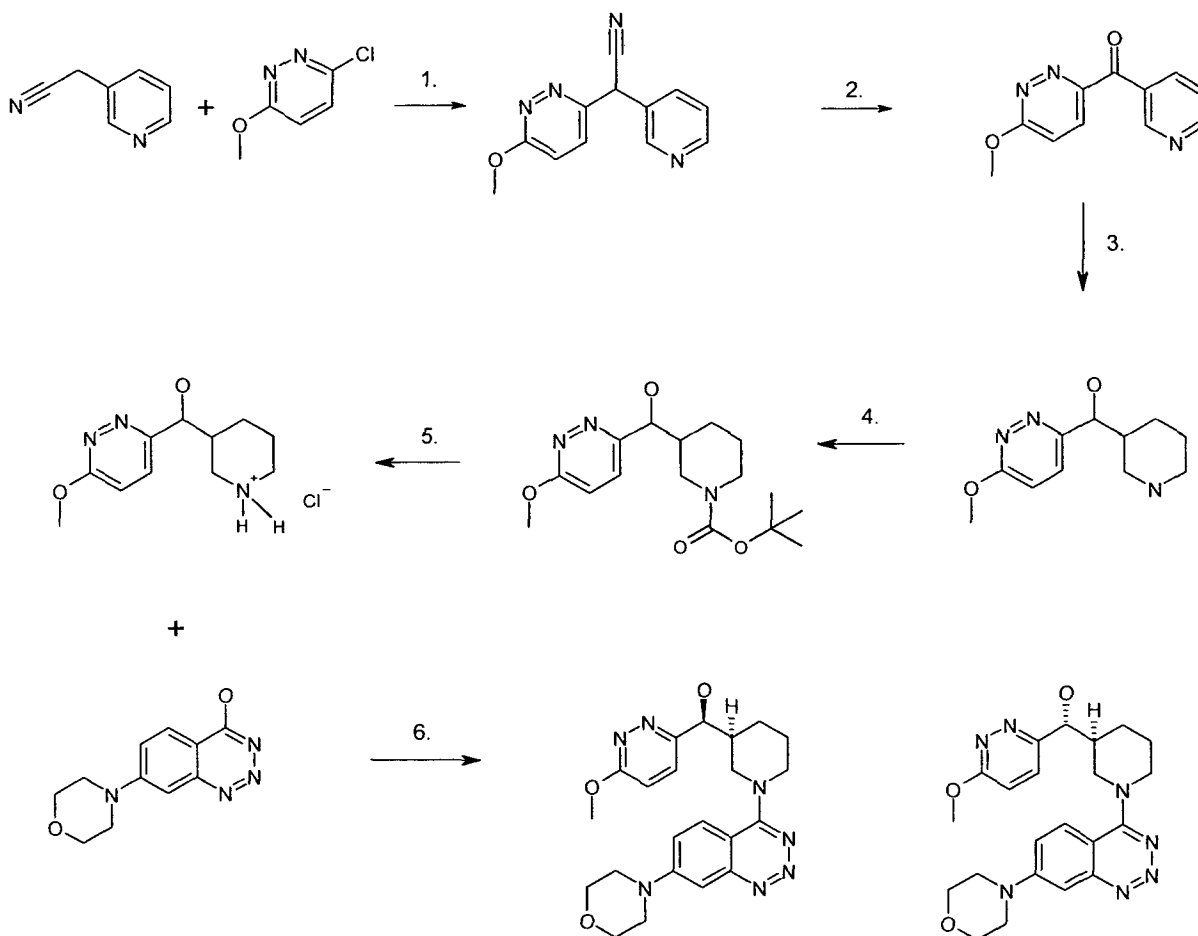
Zu einer Suspension von 87 mg (0,375 mmol) 7-Morpholin-4-yl-3H-benzo[d][1,2,3]triazin-4-on und 40 mL Acetonitril wurde bei Raumtemperatur eine Lösung von 258,6 mg (0,487 mmol) Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidino-phosphonium-hexafluorophosphat in 10 mL Acetonitril getropft. Anschließend wurden 83,87 μ L (0,562 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en hinzugefügt und 45 Minuten gerührt. Dazu wurde eine Lösung von 220,15 mg (0,487 mmol) (S)-3-[(S)-(tert-Butyl-diphenyl-silyanyloxy)-thiazol-2-yl-methyl]-piperidin in 8 mL Acetonitril zugetropft und 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohgemisch wurde eingeeengt, in Essigsäureethylester aufgelöst, mit Natriumhydrogencarbonat- und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und die organische Phase nach dem Trocknen über Natriumsulfat und Filtration eingeeengt. Das Rohprodukt wurde über Kieselgel chromatographiert. So erhielt man 156 mg 4-[(S)-3-[(S)-(tert-Butyl-diphenyl-silyanyloxy)-thiazol-2-yl-methyl]-piperidin-1-yl]-7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin; HPLC/MS ($M+H$)⁺ = 651.

Zu einer Lösung von 156 mg (0,222 mmol) 4-[(S)-3-[(S)-(tert-Butyl-diphenyl-silyanyloxy)-thiazol-2-yl-methyl]-piperidin-1-yl]-7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin in 7,5 mL Tetrahydrofuran wurde eine Lösung von 491,2 mg (1,557 mmol) Tetra-n-butylammonium-fluoridtrihydrat in 7,5 mL Tetrahydrofuran getropft und anschließend 2,5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Das Rohprodukt wurde über Kieselgel chromatographiert. So erhielt man 55,3 mg (S)-[(S)-1-(7-Morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-thiazol-2-yl-methanol; HPLC/MS ($M+H$)⁺ = 413; ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7.85 (t, J = 5.0, 1H), 7.77 – 7.72 (m, 1H), 7.70 – 7.64 (m, 1H), 7.58 – 7.48 (m, 1H), 7.29 (t, J = 4.1, 1H), 6.39 (d, J = 5.4, 1H), 4.84 – 4.76 (m, 1H), 4.34 (d, J = 13.0, 1H), 4.23 (d, J = 13.0, 1H), 3.82 – 3.72 (m, 4H), 3.40 (dd, J = 15.0, 10.1, 4H), 3.13 (dtd, J = 22.9, 12.8, 10.3, 2H), 2.30 – 2.20 (m, 1H), 1.89 – 1.82 (m, 1H), 1.82 – 1.74 (m, 1H), 1.72 – 1.61 (m, 1H), 1.61 (s, 1H).

Die biochemische Aktivität von (S)-[(S)-1-(7-Morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-thiazol-2-yl-methanol war 1 nM (Assay aus Beispiel 4), während die zelluläre Aktivität im submikromolaren Bereich lag (Assay aus Beispiel 5).

- 5 Verbindungen, die entsprechend Beispiel 3A hergestellt wurden, finden sich in den Tabellen 1 (ohne Pyridazinanaloge Nr. 14-15) und 2.

BEISPIEL 3B: Synthese von (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-methanol



10

Stufe 1: Pyridin-3-yl-acetonitril (14,3 g, 0,119 mol) wurden bei 21°C in Dimethylformamid (300 mL) unter Stickstoffatmosphäre gelöst. Die Lösung wurde auf -4°C abgekühlt und portionsweise Natriumhydrid (60%-ige Suspension in Paraffinöl, 9,96 g, 0,249 mol)

- 15 zugegeben. Die resultierende braune Suspension wurde 45 Minuten bei 0°C gerührt und anschließend 3-Chlor-6-methoxy-pyridazin (34,47 g, 0,231 mol) zugegeben. Die Mischung wurde auf 70°C erhitzt und 3 Stunden gerührt. Nach dem Abkühlen arbeitete man wie üblich auf und erhielt so 18,6 g (68% Ausbeute) (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-pyridin-3-yl-acetonitril;

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (d, J = 2.3, 1H), 8.61 – 8.59 (m, 1H), 7.92 – 7.85 (m, 1H), 7.72 (d, J = 9.2, 1H), 7.53 – 7.44 (m, 1H), 7.30 (d, J = 8.7, 1H), 6.20 (s, 1H), 4.07 (d, J $\approx$ 11.8, 3H).

- 5 Stufe 2: (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-pyridin-3-yl-acetonitril (7,7 g, 0,034 mol) wurden bei 23°C in Acetonitril (200 mL) unter Stickstoffatmosphäre gelöst und Kalium-tert-butylat (4,16 g, 0,037 mol) zugegeben. Die Suspension wurde 30 Minuten bei 23°C gerührt, auf -4°C gekühlt und Hydrogenperoxid (30%-ige Lösung, 11,34 mL, 0,11 mol) langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde noch 30 Minuten bei 0°C gerührt und anschließend 2
- 10 Stunden bei Raumtemperatur. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man so 3,46 g (48% Ausbeute) (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-pyridin-3-yl-methanon;
- ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.16 (dd, J = 2.2, 0.7, 1H), 8.83 (dd, J = 4.8, 1.7, 1H), 8.45 – 8.36 (m, 1H), 8.21 (d, J = 9.2, 1H), 7.61 (ddd, J = 7.9, 4.8, 0.8, 1H), 7.47 (d, J = 9.2, 1H), 4.17 (s, 3H).

- 15 Stufe 3: (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-pyridin-3-yl-methanon (1,31 g, 6,1 mmol) wurden in Ethanol (100 mL) gelöst, Platinium(IV)oxid hydrat (80% Pt, 0,5 g, 2,2 mmol) zugesetzt und unter Zufuhr von Wasserstoff gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man so 1,26 g (93% Ausbeute) (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-piperidin-3-yl-methanol als Rohprodukt,
- 20 welches direkt in die nächste Stufe eingesetzt wurde;
- MS (M+H)⁺ = 224.

- Stufe 4: (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-piperidin-3-yl-methanol (1,26 g, 5,64 mmol) wurden in Dioxan (10 mL) gelöst und Natriumhydrogencarbonat (0,95 g, 11,29 mmol) in Wasser (10
- 25 mL) zugegeben. Es wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend Di-tert-butyl dicarbonat (1,23 g, 6,64 mmol) zugesetzt. Es wurde noch 1 Stunde nachgerührt und danach wie üblich aufgearbeitet. So erhielt man 1,09 g (60% Ausbeute) 3-[Hydroxy-6-methoxy-pyridazin-3-yl]-methyl]-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester;
- MS (M+H)⁺ = 324.

- 30 Stufe 5: 3-[Hydroxy-6-methoxy-pyridazin-3-yl]-methyl]-piperidin-1-carbonsäure-tert-butylester (1,46 g, 4,52 mmol) wurden in Dichlormethan (5 mL) gelöst und mit Hydrogenchlorid in Dioxan (4 N, 45 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 4
- Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wie üblich aufgearbeitet. So erhielt
- 35 man 1,2 g (100% Ausbeute) (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-piperidin-3-yl-methanol-Hydrochlorid;
- MS (M+H)⁺ = 224.

Stufe 6: 7-Morpholin-4-yl-nezo[d][1,2,3]triazin-4-ol (325 mg, 1,4 mmol) wurden in Dimethylformamid (10 mL) bei Raumtemperatur suspendiert. Anschließend wurden Benzotriazol-1-yloxytris(pyrrolidino)phosphoniumhexafluorophosphat (960 mg, 1,8 mmol) und 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (320 g, 2,1 mmol) zugegeben und 30 Minuten gerührt. Nun wurde eine Lösung von (6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-piperidin-3-yl-methanol-Hydrochlorid (400 mg, 1,54 mmol) in Dimethylformamid (5 mL) tropfenweise zugegeben und 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung und Chromatographie erhielt man so (S)-(6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-methanol (26 mg) und (R)-(6-Methoxy-pyridazin-3-yl)-[(S)-1-(7-morpholin-4-yl-benzo[d][1,2,3]triazin-4-yl)-piperidin-3-yl]-methanol (40mg); Analytik siehe Tabelle 1.

Pyridazinanaloga, die entsprechend Beispiel 3B hergestellt wurden, finden sich in den Tabellen 1 und 4.

BEISPIEL 4: DNA-PK / Biochemischer Assay

Der Kinase-Assay erfolgte in mit Streptavidin beschichteten 384-Well-Mikrotiter-Flash-Plates. Dazu wurden 1,5 µg DNA-PK-Proteinkomplex und 100 ng biotinyliertes Substrat, wie z.B. PESQEAFLDWKK-Biotin-NH₂ („Biotin-DNA-PK-Peptid“), in einem Gesamtvolumen von 36,5 µl (34,25 mM HEPES/KOH; 7,85 mM Tris-HCl; 68,5 mM KCl; 5 µM ATP; 6,85 mM MgCl₂; 0,5 mM EDTA; 0,14 mM EGTA; 0,69 mM DTT; pH 7,4) mit 500 ng DNA aus Kälberthymus, 0,1 µCi ³³P-ATP und 1,8 % DMSO pro Well mit bzw. ohne die Testverbindung 90 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Reaktion wurde mit 50 µl/Well 200 mM EDTA gestoppt. Nach Inkubieren für weitere 30 min bei Raumtemperatur wurde die Flüssigkeit entfernt. Jedes Well wurde dreimal mit 100 µl 0,9 %-iger Kochsalzlösung gewaschen. Eine unspezifische Reaktion (Leerwert) wurde mit 10 µM eines eigenen Kinase-Inhibitors ermittelt. Die Radioaktivitätsmessung erfolgte mit einem TopCount. IC₅₀-Werte wurden in RS1 berechnet (Kashishian et al. (2003) Molecular Cancer Therapeutics 1257) und sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Diese Verbindungen haben vorzugsweise einen IC₅₀ kleiner 0.1 µM, besonders bevorzugt kleiner 0.02 µM. Alle Verbindungen der Tabellen 2, 3 und 4 zeigten eine Aktivität mit IC₅₀-Werten kleiner 1 µM, vorzugsweise kleiner 0.1 µM, besonders bevorzugt kleiner 0.02 µM, ganz besonders bevorzugt kleiner 0.01 µM.

BEISPIEL 5: Zelluläre DNA-PK Phosphorylierung an Serin 2056

HCT116 Zellen wurden in MEM alpha Medium mit 10% fötalem Kälberserum, 1 mM Natriumpyruvat und 2 mM Glutamin bei 37°C und 10% CO₂ kultiviert. Die Zellen wurden

mithilfe von Trypsin/EDTA vom Boden der Kulturgefäße abgelöst, in Zentrifugenröhrchen abzentrifugiert und in frischem Medium aufgenommen. Anschließend wurde die Zelldichte ermittelt. 200.000 Zellen wurden in 1 ml Kulturmedium pro Kavität einer 12-Well Zellkulturplatte ausgesät und über Nacht kultiviert. Am nächsten Tag wurde 10 µM Bleomycin und

5 Testsubstanzen in frischem Kulturmedium zu den Zellen hinzugefügt und diese für weitere sechs Stunden kultiviert. Im Anschluss erfolgte eine Zellyse. Die Zelllysate wurden nach SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese mittels DNA-PK spezifischem Antikörper (Abcam ab13852: Gesamt-DNA-PK; ab18192: phospho-Serin 2056 DNA-PK) und Western Blotting untersucht. Die Entwicklung der enzymatischen Reaktion erfolgte mithilfe eines Chemi-

10 lumineszenzreagenz. Die Chemilumineszenz wurde mithilfe eines Dokumentationssystems (VersaDoc™, Bio-Rad, USA) aufgezeichnet und unter Zuhilfenahme der gerätespezifischen Software (Quantity One) densitometrisch ausgewertet. Die Signale mit phospho-DNA-PK spezifischen Antikörper wurden auf das Signal mit dem Antikörper gegen das Gesamtprotein DNA-PK normalisiert. Die Ermittlung von IC₅₀ Werten sowie prozentualer

15 Inhibitionsdaten erfolgte durch Referenzierung auf das Signalniveau der Bleomycin behandelten Vehikelkontrollgruppe.

BEISPIEL 6: Zellulärer Koloniewachstumstest

Die kolorektale Karzinomzelllinie HCT116 wurde in MEM alpha Medium mit 10% fötalem

20 Kälberserum, 1 mM Natriumpyruvat und 2 mM Glutamin bei 37°C und 10% CO₂ kultiviert. Die Zellen wurden mithilfe von Trypsin/EDTA vom Boden der Kulturgefäße abgelöst, in Zentrifugenröhrchen abzentrifugiert und in frischem Medium aufgenommen. Anschließend wurde die Zelldichte ermittelt. 300 Zellen wurden in 2 ml Kulturmedium in 6-Well Zellkulturplatten ausgesät und über Nacht kultiviert. Am nächsten Tag wurden die Zellen mit Test-

25 substanzen für eine Stunde behandelt, bevor die Zellkulturplatten mit definierten Dosen Röntgenstrahlung (in der Regel 0, 2.4, 4.8, 12 Gray; Bestrahlungsgerät: Faxitron RX-650; Faxitron X-Ray LLC, USA) behandelt wurden. Zur Ermittlung von Dosiswirkungsbeziehungen wurden die Zellen mit verschiedenen Konzentrationen einer Testsubstanz behandelt. Nach Bestrahlung erfolgt eine weitere 24-stündige Kultivierung in Gegenwart

30 der Testsubstanz, das Kulturmedium wurde dann gegen Kulturmedium ohne Testsubstanz ausgetauscht und die Zellen für weitere 6-8 Tage kultiviert. Im Anschluss wurden die gebildeten Zellkolonien mithilfe von Kristallviolett angefärbt und in einem Koloniezählgerät (Gelcount, Oxford Optronics, UK) ausgezählt. Die Ermittlung von Dosiswirkungskurven, insbesondere von IC₅₀-Werten, erfolgte über Anwendung einer Kurvenanpassungsfunktion

35 für nichtlineare Dosiswirkungsbeziehungen. Die Verbindung des Beispiels 12 zeigte einen IC₅₀-Wert von kleiner 0.4 µM bei 4.8 Gray.

BEISPIEL 7: Zelluläre CHK2 Phosphorylierung an Threonin 68

HCT116 Zellen wurden in MEM alpha Medium mit 10% fötalem Kälberserum, 1 mM Natriumpyruvat und 2 mM Glutamin bei 37°C und 10% CO₂ kultiviert. Die Zellen wurden mithilfe von Trypsin/EDTA vom Boden der Kulturgefäße abgelöst, in Zentrifugenröhrchen abzentrifugiert und in frischem Medium aufgenommen. Anschließend wurde die Zelldichte ermittelt. 50.000 Zellen wurden in 0,1 ml Kulturmedium pro Kavität einer 96-Well Zellkulturplatte ausgesät und über Nacht kultiviert. Am nächsten Tag wurden 10 µM Bleomycin und Testsubstanzen in frischem Kulturmedium zu den Zellen hinzugefügt und diese für weitere sechs Stunden kultiviert. Nach Lyse der Zellen erfolgte die Detektion von phospho-Threonin 68 der CHK2 Kinase in den Lysaten mithilfe eines phospho-CHK2 (Thr68) spezifischen ELISA Detektionsystems (Katalognr. 7037, Cell Signaling Technologies, USA). Die ELISA Farbreaktion wurde spektralphotometrisch bei 450 nm gemessen. Die Extinktion der unstimulierten Kontrollen (Vehikelkontrolle ohne Bleomycin) wurde von den Extinktionswerten der Behandlungsgruppen subtrahiert. Die Kontrollen, die mit Bleomycin behandelt wurden, wurden gleich 100% gesetzt und alle anderen Extinktionswerte hierzu in Beziehung gesetzt. Die Bestimmung von IC₅₀-Werten erfolgte mithilfe der Statistikprogramme GraphPad Prism (GraphPad Software, USA) oder Assay Explorer (Symyx Technologies Inc., USA).

BEISPIEL 8: Pharmazeutische ZubereitungenBeispiel A: Injektionsgläser

Eine Lösung von 100 g erfindungsgemäßem Wirkstoff und 5 g Dinatriumhydrogenphosphat wurde in 3 l zweifach destilliertem Wasser mit 2 N Salzsäure auf pH 6,8 eingestellt, steril filtriert, in Injektionsgläser abgefüllt, unter sterilen Bedingungen lyophilisiert und steril verschlossen. Jedes Injektionsglas enthielt 5 mg erfindungsgemäßen Wirkstoff.

Beispiel B: Suppositorien

Man schmolz ein Gemisch von 20 g erfindungsgemäßem Wirkstoff mit 100 g Sojalecithin und 1400 g Kakaobutter, goss es in Formen und lies es erkalten. Jedes Suppositorium enthielt 20 mg erfindungsgemäßen Wirkstoff.

Beispiel C: Lösung

Man bereitete eine Lösung aus 1 g erfindungsgemäßem Wirkstoff, 9,38 g NaH₂PO₄ * 2 H₂O, 28,48 g Na₂HPO₄ * 12 H₂O und 0,1 g Benzalkoniumchlorid in 940 ml zweifach destilliertem Wasser. Man stellte auf pH 6,8 ein, füllte auf 1 l auf und sterilisierte durch Bestrahlung. Diese Lösung konnte in Form von Augentropfen verwendet werden.

Beispiel D: Salbe

Man mischte 500 mg erfindungsgemäßen Wirkstoff mit 99,5 g Vaseline unter aseptischen Bedingungen.

5 Beispiel E: Tabletten

Ein Gemisch von 1 kg erfindungsgemäßen Wirkstoff, 4 kg Laktose, 1,2 kg Kartoffelstärke, 0,2 kg Talk und 0,1 kg Magnesiumstearat wurde in üblicher Weise zu Tabletten verpresst, derart, dass jede Tablette 10 mg erfindungsgemäßen Wirkstoff enthielt.

10 Beispiel F: Dragees

Analog Beispiel E wurden Tabletten gepresst, die danach in üblicher Weise mit einem Überzug aus Saccharose, Kartoffelstärke, Talk, Tragant und Farbstoff überzogen wurden.

Beispiel G: Kapseln

- 15 2 kg erfindungsgemäßer Wirkstoff wurden in üblicher Weise in Hartgelatine kapseln gefüllt, so dass jede Kapsel 20 mg erfindungsgemäßen Wirkstoff enthielt.

Beispiel H: Ampullen

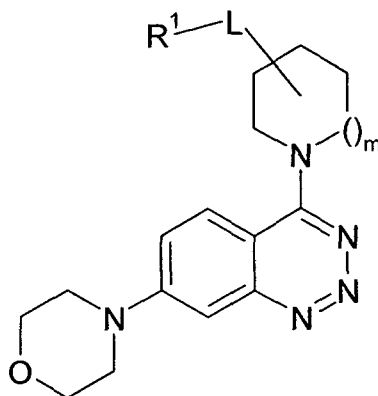
- 20 Eine Lösung von 1 kg erfindungsgemäßen Wirkstoff in 60 l zweifach destilliertem Wasser wurde steril filtriert, in Ampullen abgefüllt, unter sterilen Bedingungen lyophilisiert und steril verschlossen. Jede Ampulle enthielt 10 mg erfindungsgemäßen Wirkstoff.

Beispiel I: Inhalations-Spray

- 25 Man löste 14 g erfindungsgemäßen Wirkstoff in 10 l isotonischer NaCl-Lösung und füllte die Lösung in handelsübliche Sprühgefäße mit Pump-Mechanismus. Die Lösung konnte in Mund oder Nase gesprüht werden. Ein Sprühstoß (ca. 0,1 ml) entsprach einer Dosis von ca. 0,14 mg.

ANSPRÜCHE

1. Verbindungen der Formel (I)



5

(I)

worin

R¹ Het¹ oder Ar;

10 R², R³ unabhängig voneinander Y oder OY, oder zusammen auch -O-(CH₂)ₙ-;

R⁴ A oder (CH₂)ₙOA;

15 L -CR²R³-, eine Einfachbindung, -(CH₂)ₙ-, -CH(Hal)-, -C(Hal)₂-,
 -(CH₂)ₙCH(OY)-, -(CH₂)ₙCO-, -(CH₂)ₙNH-, -(CH₂)ₙCONY₂-, -NYCO-,
 -NHCO-NH-, -NR⁴CO-, -NYSO₂-, -C(=NR⁴)-, -C(=NCN)-, -CY(NY₂)-,
 -CY(CN)-, -CY(O-(CH₂)ₙCN)-, -CY(Het²)- oder -CY(O-(CH₂)ₙHet²)-;

Y H oder A;

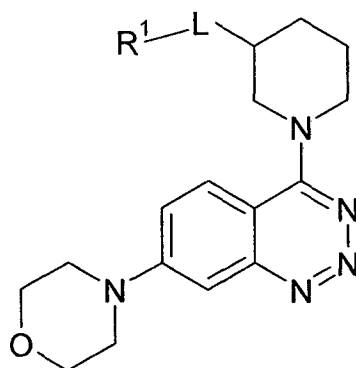
20

A unverzweigtes oder verzweigtes Alkyl mit 1-10 C-Atomen, wobei
 unabhängig voneinander 1-7 H-Atome durch Hal ersetzt sein können;

25 Cyc zyklisches Alkyl mit 3-7 C-Atomen, wobei unabhängig voneinander 1-4 H-
 Atome durch Hal ersetzt sein können;

Ar unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH₂)ₚOY, R⁴,
 (CH₂)ₚOR⁴, COOY, NY₂, NYCOY und/oder CN substituiertes Phenyl;

- 5 Het¹ ein- oder zweikerniges Heteroaryl mit 2-9 C-Atomen und 1-4 N-, O- und/oder S-Atomen, das unsubstituiert oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH₂)_pOY, R⁴, (CH₂)_pOR⁴, =O, COOY, NY₂, NYCOY, CONY₂, Cyc, Het² und/oder CN substituiert sein kann;
- Het² einen einkernigen gesättigten Heterozyklus mit 2-7 C-Atomen und 1-4 N-, O- und/oder S-Atomen, der unsubstituiert oder einfach durch A substituiert sein kann;
- 10 Hal F, Cl, Br oder I;
- m 0, 1 oder 2; und
- n, p unabhängig voneinander 0, 1, 2, 3, 4 oder 5 bedeuten,
- 15 und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.
2. Verbindungen nach Anspruch 1, worin
- 20 R¹ Het¹ bedeutet.
3. Verbindungen nach Anspruch 1 oder 2, worin
- R², R³ unabhängig voneinander Y oder OY bedeuten.
- 25 4. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin
- L -CR²R³- bedeutet.
5. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4, worin
- 30 Het¹ ein- oder zweikerniges Heteroaryl mit 2-8 C-Atomen und 1-3 N-, O- und/oder S-Atomen, das unsubstituiert oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH₂)_pOY, A und/oder =O substituiert sein kann, bedeutet.
6. Verbindungen nach Anspruch 1 mit der Teilformel (IA)



(IA)

worin

R¹ Het¹ oder Ar;

5

R² Y oder OY;R³ OY oder A;

10

R², R³ zusammen auch -O-(CH₂)_n-;L -CR²R³-;

Y H oder A;

15

A unverzweigtes oder verzweigtes Alkyl mit 1-6 C-Atomen, wobei unabhängig voneinander 1-5 H-Atome durch Hal ersetzt sein können;

Ar unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal und/oder (CH₂)_pOY substituiertes Phenyl;

20

Het¹ ein- oder zweikerniges Heteroaryl mit 2-8 C-Atomen und 1-3 N-, O- und/oder S-Atomen, das unsubstituiert oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH₂)_pOY, A und/oder =O substituiert sein kann;

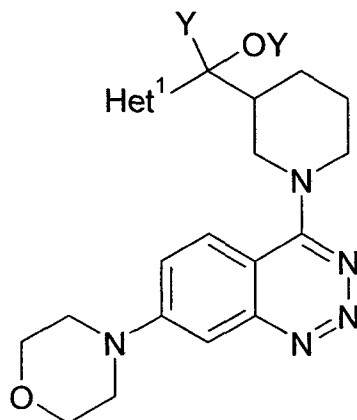
25

Hal F, Cl, Br oder I; und

n, p unabhängig voneinander 0, 1, 2, 3 oder 4 bedeuten,

und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

7. Verbindungen nach Anspruch 1 mit der Teilformel (IB)



5

(IB)

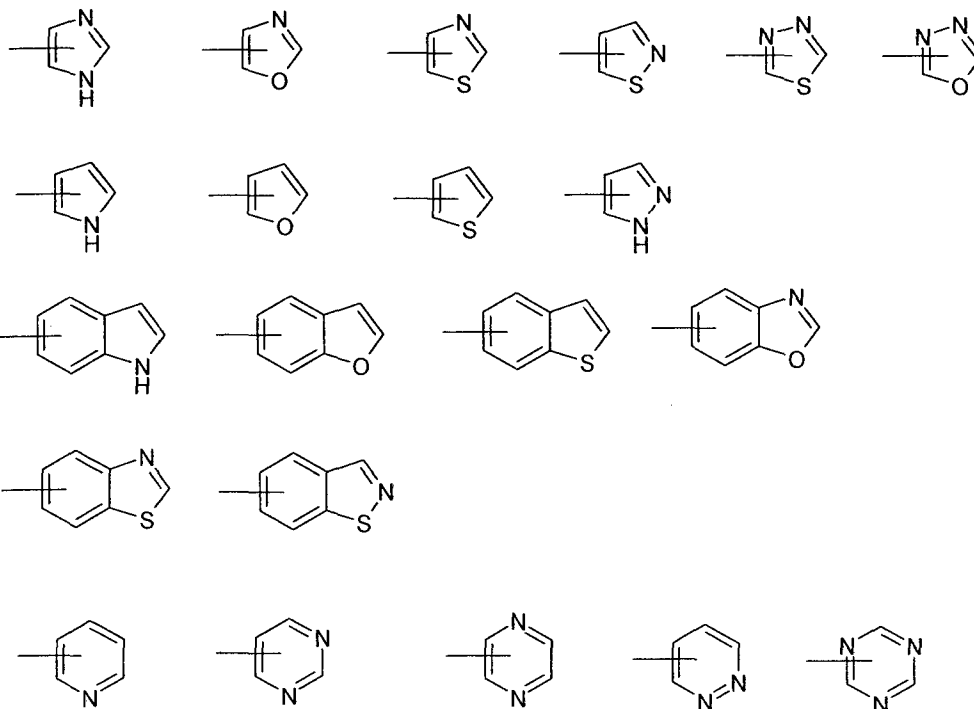
worin

Y H oder A;

10

A unverzweigtes oder verzweigtes Alkyl mit 1-6 C-Atomen, wobei unabhängig voneinander 1-3 H-Atome durch Hal ersetzt sein können;

Het¹ unsubstituiertes oder ein- oder zweifach durch Hal, (CH₂)_pOY, A und/oder =O substituiertes Heteroaryl, ausgewählt aus der Gruppe:



15

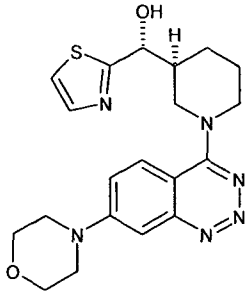
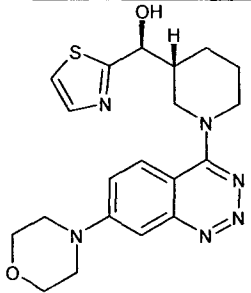
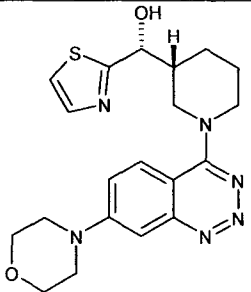
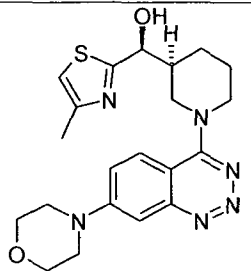
Hal F, Cl, Br oder I; und

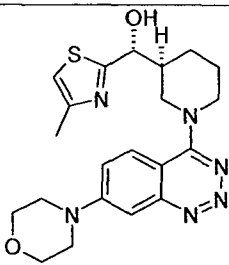
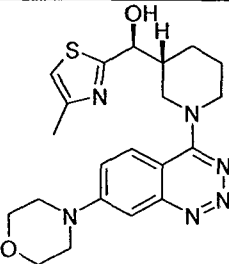
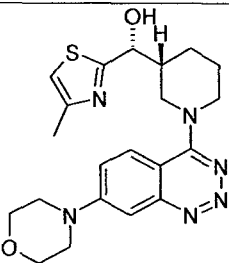
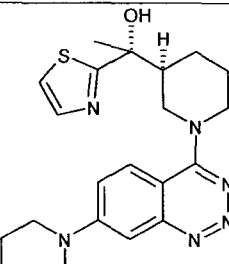
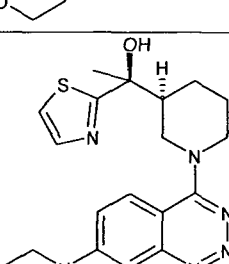
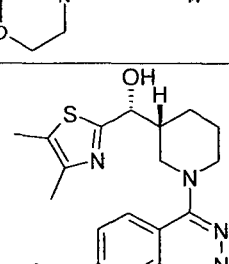
p 0, 1 oder 2 bedeuten,

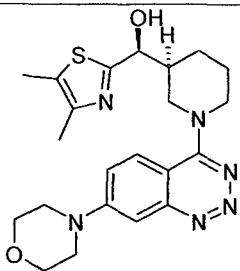
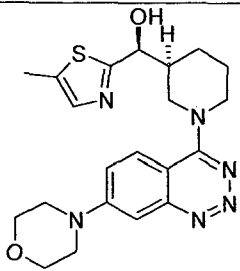
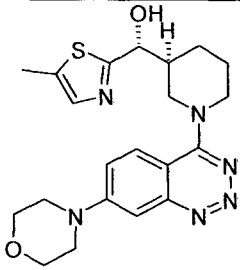
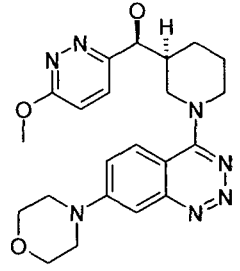
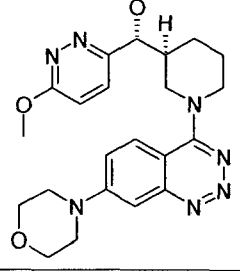
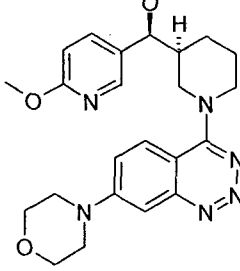
5

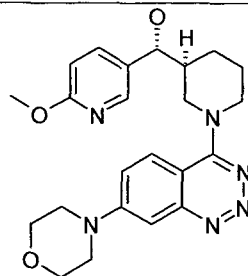
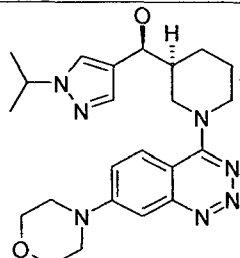
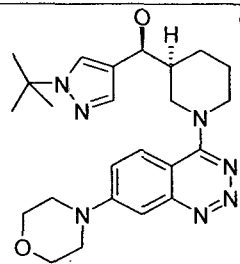
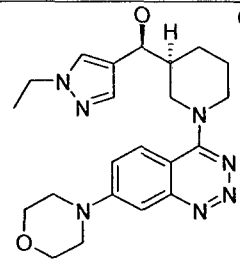
und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

8. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 7, ausgewählt aus der Gruppe:

1	
2	
3	
4	

5	
6	
7	
8	
9	
10	

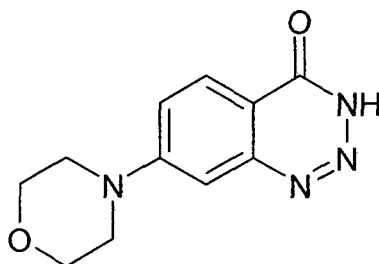
11	
12	
13	
14	
15	
16	

17	
18	 Chiral
19	 Chiral
20	 Chiral

und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.

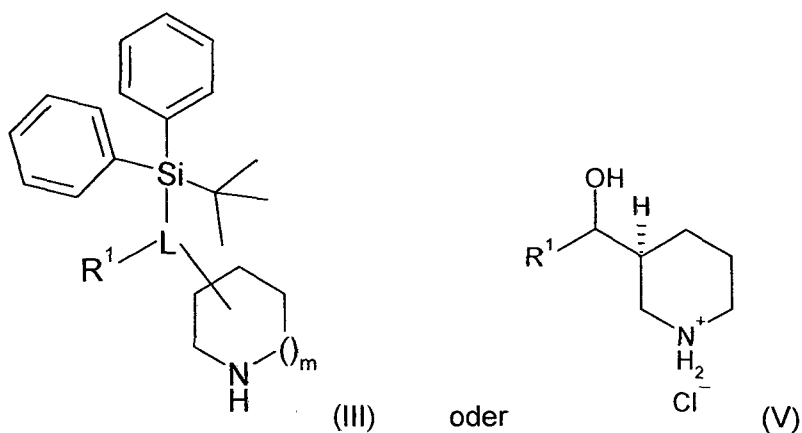
- 5 9. Verfahren zum Herstellen von Verbindungen der Formel (I) nach Anspruch 1 und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere mit den folgenden Schritten:

(a) Umsetzen einer Verbindung der Formel (II)



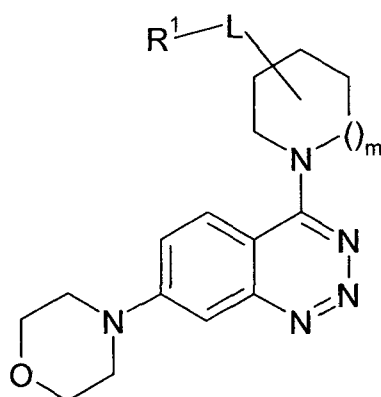
(II)

mit einer Verbindung der Formel (III) oder (V)



5 worin R^1 , L und m die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung aufweisen,

unter Erhalt der Verbindungen der Formel (I)



(I)

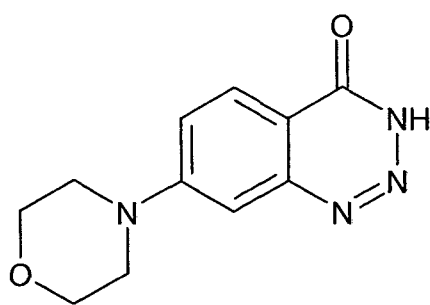
10 worin R^1 , L und m die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung aufweisen,

und gegebenenfalls

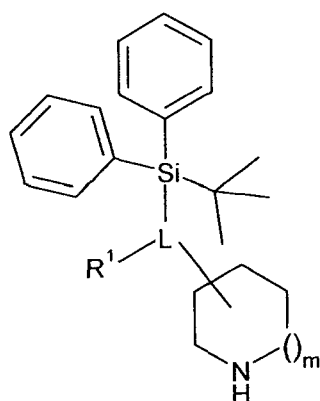
(b) Umwandeln einer Base oder Säure der Verbindungen der Formel (I) in eines ihrer Salze.

15

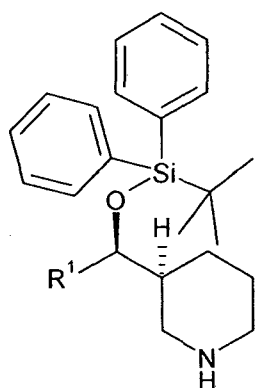
10. Zwischenverbindungen der Formeln (II), (III), (IIIA), (IIIB), (IV), (IVA), (IVB), (VIA), (VIB), (VIC) und/oder (VID)



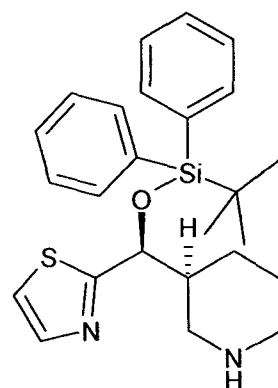
(II)



(III)

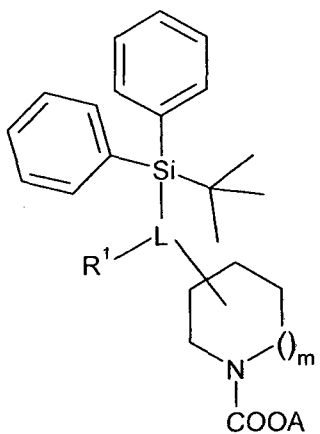


(IIIA)

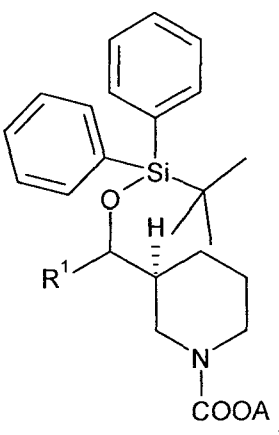


(IIIB)

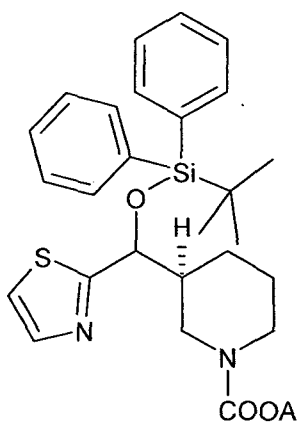
5



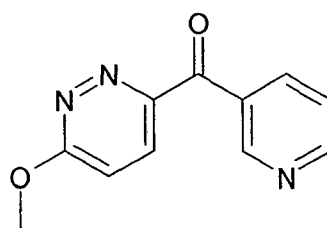
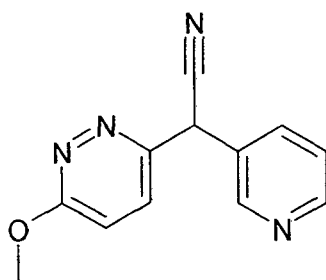
(IV)



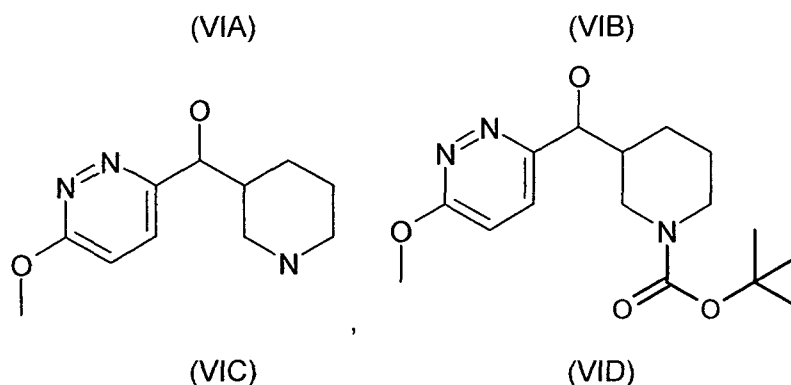
(IVA)



(IVB)



10



- 5 worin R¹, L, A und m die oben angegebene Bedeutung aufweisen,
und/oder ihre Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren
Mischungen in allen Verhältnissen.
11. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 8 und/oder ihrer
10 physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere,
einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Hemmung von Serin-
Threonin-Proteinkinasen, vorzugsweise PIKK, besonders bevorzugt DNA-PK.
12. Verwendung von mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 8
15 und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder
Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur
Sensibilisierung von Krebszellen gegenüber Antikrebsmittel und/oder ionisierender
Strahlung unter der Maßgabe, dass die Sensibilisierung in-vivo nicht am
menschlichen Körper erfolgt.
- 20 13. Arzneimittel umfassend mindestens eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1
bis 8 und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder
Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen.
- 25 14. Pharmazeutisches Zusammensetzung umfassend als Wirkstoff eine wirksame
Menge von mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 8
und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder
Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zusammen
mit pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen, in Kombination mit mindestens einem
30 Antikrebsmittel.

15. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 8 und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze, Tautomere und/oder Stereoisomere, einschließlich deren Mischungen in allen Verhältnissen, zur Verwendung in der Prophylaxe, Therapie und/oder Verlaufskontrolle von Krebs, Tumoren, Metastasen und/oder Störungen der Angiogenese, in Kombination mit Radiotherapie und/oder mit mindestens einem Antikrebsmittel.
- 5