

Даний винахід стосується ряду заміщених імідазопіримідинів та фармацевтичних композицій, що містять їх. Сполуки даного винаходу інгібують утворення ряду запальних цитокінів, зокрема, TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ . Сполуки даного винаходу придатні у лікуванні хвороб, що виникають за участю p38, таких як ревматоїдний артрит, запалення кишечника, септичний шок, остеопороз, остеоартрит, нейродегенеративні розлади та хвороби, що пов'язані зі СНІД.

Запальні цитокіни TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  відіграють важливу роль у ряді запальних захворювань, таких як артрит (Dinarello et al., Curr. Opin. Immunol., 1991, 3: 941-8). Артрит є запальною хворобою, від якої потерпають мільйони людей і яка може уразити будь-який суглоб людського тіла. Її симптоми варіюють від легкого болю та запалення в уражених суглобах до жорстоких та знесилюючих болів та запалення. Хоча дана хвороба асоціюється, головним чином, з людьми похилого віку, вона не обмежується лише дорослими особами.

Найбільш широко розповсюджена терапія артриту для послаблення зазначених симптомів включає використання нестероїдних протизапальних ліків ("NSAID"). Проте, не зважаючи на широке розповсюдження NSAID, багато з пацієнтів не переносять дози, що необхідні для лікування даного захворювання на протязі тривалого часу. Крім того, NSAID просто лікує зазначені симптоми хвороби, а не впливає на її першопричини. Інші лікарські засоби, такі як метотрексат, D-пеніциламін, солі золота та Фредніон часто використовуються, коли пацієнти не реагують на NSAID. Ці ліки також мають значну токсичність, і механізми їх дії залишаються невідомими.

Як було показано в обмежених клінічних випробуваннях на людях, рецепторні антагоністи до IL-1 $\beta$  та моноклональні антитіла до TNF- $\alpha$  послаблюють симптоми ревматоїдного артриту.

Окрім терапій на основі білків, існують маломолекулярні агенти, які інгібують продукування цих цитокінів і які виявляють активність у тваринних моделях артриту (Boehm et al., J.Med. Chem., 1996, 39:3929-37). Серед цих мономолекулярних агентів SB 203580 виявився ефективним у зниженні утворення TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  у LPS (ліпополісахариди)-стимульованих моноцитних клітинних лініях людини з IC<sub>50</sub> значеннями 50-100nM (Adams et al, WO 93/14081, July 23, 1993). Окрім цього *in vitro* тесту, SB 203580 інгібуює утворення даних запальних цитокінів у щурах та мишах при IC<sub>50</sub> значеннях від 15 до 25мг/кг (Badger et al., J.Pharm. Exp. Therap., 1996, 279: 1453-61). Хоча у теперішній час дані випробувань на людях для SB 203580 відсутні, моноклональні антитіла до TNF- $\alpha$  виявились ефективними у лікуванні ревматоїдного артриту (Elliot et al., Arthritis Rheum, 1993, 36: 1681-90). Завдяки оральній активності SB 203580 та його потенціалу у тваринних моделях дослідники припускають, що сполука з таким профілем має перспективи як життєздатний лікарський засіб щодо ревматоїдного артриту (Badger et al., J.Pharm. Exp. Therap., 1996, 279: 1453-61).

SB 203580 та інші маломолекулярні агенти гальмують утворення запальних цитокінів шляхом інгібування активності серин/треонін кінази p38, на яку в деяких випадках посиляються як на CSBP, при IC<sub>50</sub> 200nM (Griswold et al., Pharm. Commun., 1996, 7: 323-9). Хоча точна роль, яку відіграє дана кіназа, невідома, вона, мабуть, залучена як у продукування TNF- $\alpha$ , так і у сигнальні реакції, пов'язані з TNF- $\alpha$  рецептором.

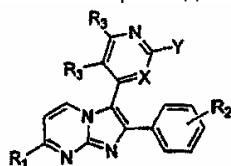
WO 91/00092 розкриває спосіб інгібування утворення інтерлейкіну-1 моноцитами та/або макрофагами у людини шляхом призначення діарил-заміщеного імідазолу, який є злитим з другим гетероциклічним кільцем, що містить атом азоту у голові містка, де друге кільце може також містити сірку, кисень або додатковий атом азоту, і може містити додаткову ненасиченість.

WO 90/15534 та EP 0403251 розкривають лікування людей, уражених Т-лімфоцитною вірусною інфекцією (TIV), яке включає призначення ефективної кількості агента, що знижує активність монокіну.

WO 91/19497 розкриває діарил-заміщену імідазольну сполуку, що придатна для подвійного інгібування захворювань, виникнення яких зв'язують з метаболічними шляхами 5-ліноксигенази та захворювань, виникнення яких зв'язують з метаболічними шляхами циклооксигенази. Ця сполука злита з другим ненасиченим 5- або 6-членним гетероциклічним кільцем, що містить атом азоту у голові містка, де друге 5-членне кільце також містить атом сірки або кисню, і дане 6-членне кільце може також містити додатковий атом азоту.

Не зважаючи на наявність розглянутих відомих сполук та способів, у даній галузі залишається потреба у поліпшених способах гальмування процесу утворення запальних цитокінів шляхом інгібування активності серин/треонін кінази p38 та у споріднених способах лікування, та запобігання артриту й інших запальних розладів.

Даний винахід запроваджує нові сполуки, що інгібують *in vitro* активність p38 у наномольному діапазоні, і також способи їх одержання. Крім того, сполуки даного винаходу інгібують *in vitro* секрецію TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  у наномольній області. Тваринні моделі демонструють інгібування індукованого LPS утворення TNF- $\alpha$ . Сполуки даного винаходу, яким відповідає Формула I, виявляють зазначену біологічну активність, як буде показано нижче на прикладі *in vitro* та *in vivo* проб.



Формула I

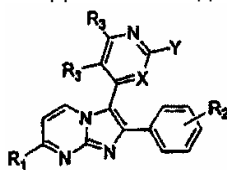
Даний винахід також запроваджує фармацевтичну композицію, що включає дану сполуку та фармацевтично прийнятний носій, та відповідні синтетичні способи її одержання.

Крім того, даний винахід запроваджує спосіб лікування суб'єкта, котрий потерпає від стану, що полегшується через гальмування процесу утворення запальних цитокінів, які спричиняють даний стан, спосіб, що включає призначення даному суб'єкту терапевтично ефективної дози зазначеної фармацевтичної композиції.

Крім того, даний винахід запроваджує спосіб інгібування у суб'єкта початку стану, що полегшується через

гальмування процесу утворення запальних цитокінів, які спричиняють даний стан, спосіб, що включає призначення даному суб'єкту профілактично ефективної дози зазначеної фармацевтичної композиції.

Даний винахід запроваджує сполуку Формули I,



Формула I

або її фармацевтично прийнятну сіль, де

(a)  $R_1$  вибирається із  $\text{NH}_2$ ,  $\text{C}_{1-5}$ алкіламіно, ді $\text{C}_{1-5}$ алкіламіно, гідрокси,  $\text{C}_{1-5}$ алкокси, фенілметиламіно, гетероциклілметил,  $\text{C}_{1-5}$ алкілкарбоніламіно та заміщеного фенілкарбоніламіно, де

зазначені фенілметиламіно та гетероциклілметил можуть бути заміщені по своїй фенольній складовій одним або більшою кількістю членів, котрі вибираються із групи, що включає галоген,  $\text{C}_{1-5}$ алкіл,  $\text{C}_{1-5}$ алкокси, арил $\text{C}_{1-3}$ алкіламіно,  $\text{R}'\text{R}''\text{NCH=N-}$  та  $\text{OR}'''$ ,  $\text{R}'$ ,  $\text{R}''$  та  $\text{R}'''$  вибираються незалежно із  $\text{H}$ ,  $\text{C}_{1-5}$ алкілу, фенілметилу, заміщеного фенілметилу,  $\alpha$ -алкіл-фенілметилу, заміщеного  $\alpha$ -алкіл-фенілметилу, гетероциклілметилу та заміщеного гетероциклілметилу;

(b)  $\text{Y}$  вибирається із групи, що включає  $\text{H}$ , галоген, гетероцикл,  $\text{OR}_4$ ,  $\text{SR}_4$ ,  $\text{NR}_4$  та  $\text{NR}_4\text{R}_5$ , де

$\text{R}_4$  та  $\text{R}_5$  вибираються незалежно із  $\text{H}$ , гетероциклілу,  $\text{C}_{3-5}$ карбоциклу, фенілу,  $\alpha$ -алкіл-феніл $\text{C}_{1-5}$ алкілу, прямого або розгалуженого алкілу, що заміщений при потребі  $\text{R}$ ,  $\text{NR}$ ,  $\text{N}(\text{R})_2$ ,  $\text{C}_{3-5}$ карбоциклом, фенілом або заміщеним фенілом, де (i)  $\text{R}$  - це  $\text{H}$ , галоген,  $\text{C}_{1-5}$ алкіл, фенілметил, заміщений фенілметил,  $\text{SO}_2\text{Ph}$ , піридил або піридилметил, і (ii) зазначені феніл, гетероцикліл та  $\alpha$ -алкіл-феніл $\text{C}_{1-5}$ алкіл можуть бути заміщені одним або більшою кількістю членів, котрі вибираються із групи, що включає галоген,  $\text{C}_{1-5}$ алкіл,  $\text{C}_{1-5}$ алкокси, арил $\text{C}_{1-3}$ алкіламіно, фенілметил, заміщений фенілметил,  $\text{R}'\text{R}''\text{NCH=N-}$  та  $\text{OR}'''$ , як визначено в (a);

(c)  $\text{R}_2$  - це від 1 до 5 членів, котрі вибираються незалежно із групи, що включає галоген, трифторометил,  $-\text{NCH}_2\text{PH}$ ,  $\text{C}_{1-5}$ алкіл та  $\text{C}_{1-5}$ алкокси;

(d)  $\text{R}_3$  -  $\text{H}$  або, сумісно, ароматичне кільце; та

(e)  $\text{X}$  -  $\text{N}$  або  $\text{CH}$ .

В одному варіанті даної сполуки  $\text{R}_1$  являє собою  $\text{NH}_2$ . В іншому варіанті  $\text{R}_2$  є членом, котрий вибирається із групи, що включає галоген, трифторометил,  $-\text{NCH}_2\text{PH}$ , та  $\text{C}_{1-5}$ алкокси. Ще в одному варіанті  $\text{Y}$  -  $\text{NR}_4$ , а  $\text{R}_4$  - фенілметил. Ще в одному варіанті  $\text{X}$  - це  $\text{CH}$ .

Якщо окремо не зазначено, термін "алкіл" стосується прямого, розгалуженого або циклічного замісника, що складається лише з вуглецю та  $\text{H}$  і не має ненасичених зв'язків. Термін "алкокси" стосується  $\text{O}$ -алкілу, де алкіл є таким, як визначено вище. Вираз "ароматичне кільце" стосується 5-6-членного кільця, що містить 6-електронну систему делокалізованих спряжених  $\text{pi}$ -зв'язків, такого як феніл, фураніл та піроліл. Термін "арил" включає моно та злиті ароматичні кільця, такі як феніл, нафтил, дифеніл, фторофеніл, дифторофеніл, бензил, бензоїлоксифеніл, карбоетоксифеніл, ацетилфеніл, етоксифеніл, феноксифеніл, гідроксифеніл, карбоксифеніл, трифторометилфеніл, метоксиетилфеніл, ацетамідофеніл, толіл, ксиліл, диметилкарбамілфеніл і таке подібне. Термін "гало" відповідає фторо, хлоро, бромо та йодо. Символ  $\text{Ph}$  стосується фенілу. Термін "гетероцикліл", "гетероцикл" або "гетероциклічний залишок" відповідає окремому або злитому кільцю, що містить як член даного кільця принаймні один атом, відмінний від вуглецю, наприклад, піридин, піримідин, оксазолін, пірол, імідазол, морфолін, фуран, індол, бензофуран, піразол, піролідін, піперидин та бензімідазол.

Заміщений гетероциклілметил та заміщений фенілметил мають таких замісників як галоген,  $\text{C}_{1-5}$ алкіл,  $\text{C}_{1-5}$ алкокси, арил $\text{C}_{1-3}$ алкіламіно,  $\text{R}'\text{R}''\text{NCH=N-}$  та  $\text{OR}'''$ , де  $\text{R}'$ ,  $\text{R}''$  та  $\text{R}'''$  вибираються незалежно із  $\text{H}$ ,  $\text{C}_{1-5}$ алкілу, фенілметилу, заміщеного фенілметилу,  $\alpha$ -алкіл-фенілметилу та заміщеного  $\alpha$ -алкіл-фенілметилу, гетероциклілметилу та заміщеного гетероциклілметилу.

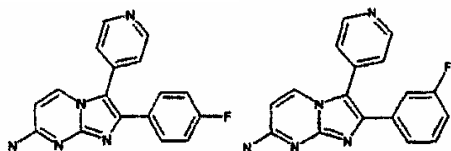
Термін "FCS" відповідає фетальній телячій сироватці, "TCA" відповідає трихлорооцтовій кислоті та "RPMI" відповідає середовищу від Roswell Park Memorial Inst. (Sigma cat # R0833). Під "незалежно" мається на думці, що коли є більше одного замісника, то ці замісники можуть бути різними. "DME" відповідає етиленглікольдиметилу. "NaHMDS" відповідає натрій гексаметилдисилазиду.

Під виразом "фармацевтично прийнятна сіль" маються на думці солі вільної основи, що мають бажану фармакологічну активність даної вільної основи і не є біологічно або іншим чином несумісними. Ці солі можуть бути одержані з неорганічних або органічних кислот. Прикладами неорганічних кислот є хлористоводнева кислота, бромистоводнева кислота, йодистоводнева кислота, хлорна кислота, азотна кислота, сірчана кислота та фосфорна кислота. Прикладами органічних кислот слугують оцтова кислота, пропіонова кислота, гліколева кислота, молочна кислота, піровиноградна кислота, малінова кислота, бурштинова кислота, яблучна кислота, малеїнова кислота, майєва кислота, фумарова кислота, винна кислота, лимонна кислота, бензойна кислота, корична кислота, мигдалева кислота, шавлева кислота, памова кислота, цукрова кислота, метансульфонова кислота, етансульфонова кислота,  $p$ -толуолсульфонова кислота, метилсульфонова кислота, саліцилова кислота, гідроетансульфонова кислота, бензолсульфонова кислота, 2-нафталінсульфонова кислота,  $p$ -толуолсульфонова кислота, циклогексансульфамінова кислота і таке подібне.

Коли сполуки, згідно з даним винаходом, мають один або більше стереогенних центрів, слід розуміти, \* що всі можливі оптичні ізомери, антиподи, енантіомери та діастереомери, які є результатом додаткових стереогенних центрів, що можуть існувати в оптичних антиподах, рацематах та їх рацемічних сумішах, є також частиною даного винаходу. Дані антиподи можуть бути розділені за допомогою методів, що відомі фахівцям у даній галузі, таких як, наприклад, дробна рекристалізація діастереомерних солей енантіомерно чистих кислот. Як альтернатива дані антиподи можуть бути розділені методом хроматографії на колонках типу Перкл (Pirkle).

Прикладами сполук даного винаходу є наступні сполуки:

Сполука 1: 2-(4-фторофеніл)-3-(4-піридиніл)-імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

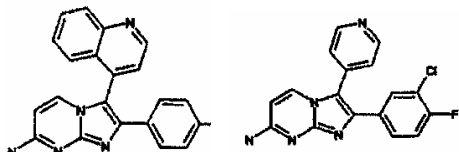


Сполука 1

Сполука 2

Сполука 2: 2-(3-фторофеніл)-3-(4-піридиніл)-імідазо[1,2-а]тримідин-7-амін;

Сполука 3: 2-(4-фторофеніл)-3-(4-хінолініл)-імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

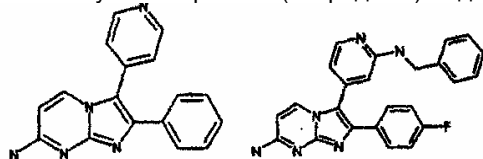


Сполука 3

Сполука 4

Сполука 4: 2-(3-хлоро-4-фторофеніл)-3-(4-піридиніл)-імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 5: 2-феніл-3-(4-піридиніл)-імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

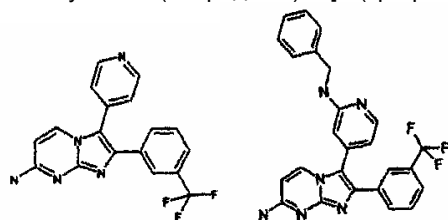


Сполука 5

Сполука 6

Сполука 6: 2-(4-фторофеніл)-3-[2-[(фенілметил)аміно]-4-піридиніл]-імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 7: 3-(4-піридиніл)-2-[3-(трифторометил)феніл]-імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

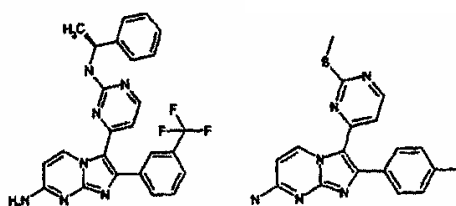


Сполука 7

Сполука 8

Сполука 8: 3-[2-[(фенілметил)аміно]-4-піридиніл]-2-[3-(трифторометил)феніл]-імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 9: 3-[2-[[1S]-1-фенілетил]аміно]-4-піримідиніл]-2-[3-(трифторометил)феніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

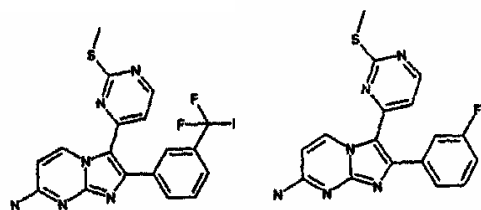


Сполука 9

Сполука 10

Сполука 10: 2-(4-фторофеніл)-3-[2-(метилтіо)-4-піримідиніл]імідазо[1,2-а]тримідин-7-амін;

Сполука 11: 3-[2-(метилтіо)-4-піримідиніл]-2-[3-(трифторометил)феніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

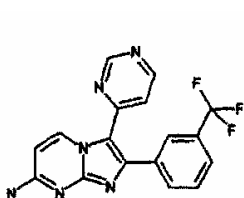


Сполука 11

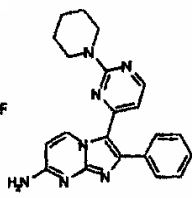
Сполука 12

Сполука 12: 2-(3-фторофеніл)-3-[2-(метилтіо)-4-піримідиніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 13: 3-(4-піримідиніл)-2-[3-(трифторометил)феніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;



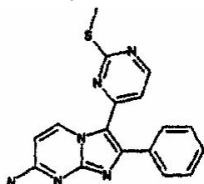
Сполука 13



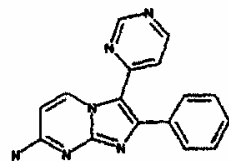
Сполука 14

Сполука 14: 2-феніл-3-[2-(1-піперидиніл)-4-піримідиніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 15: 3-[2-(метилтіо)-4-піримідиніл]-2-фенілімідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;



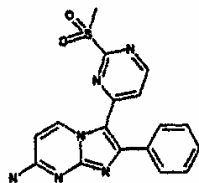
Сполука 15



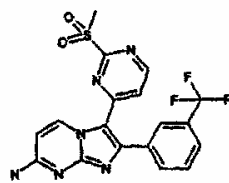
Сполука 16

Сполука 16: 2-феніл-3-(4-піримідиніл)імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 17: 3-[2-(метилсульфоніл)-4-піримідиніл]-2-фенілімідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;



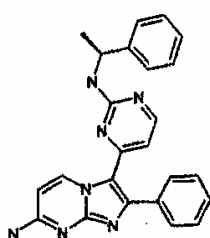
Сполука 17



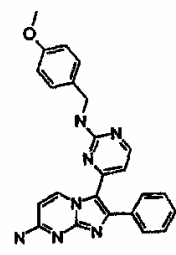
Сполука 18

Сполука 18: 3-[2-(метилсульфоніл)-4-піримідиніл]-2-[3-(трифторометил)феніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 19: 2-феніл-3-[2-[[1S]-1-фенілетил]аміно]-4-піримідиніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;



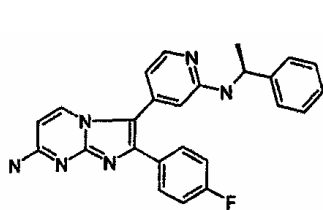
Сполука 19



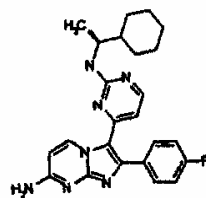
Сполука 20

Сполука 20: 3-[[[(4-метоксифеніл)метил]аміно]-4-піримідиніл]-2-фенілімідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 21: 2-(4-фторофеніл)-3-[3-[[1S]-1-фенілетил]аміно]-4-піримідиніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;



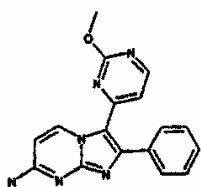
Сполука 21



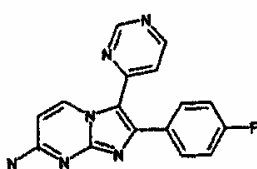
Сполука 22

Сполука 22: 3-[2-[[1S]-1-циклогексилетил]аміно]-4-піримідиніл]-2-(4-фторофеніл)імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

Сполука 23: 3-(2-метокси-4-піримідиніл)-2-фенілімідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

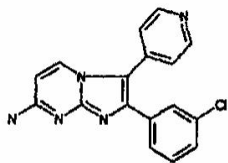


Сполука 23

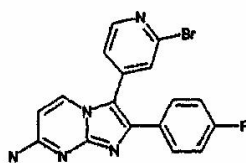


Сполука 24

Сполука 24: 2-(4-фторофеніл)-3-(4-піримідиніл)імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;  
Сполука 25: 2-(3-хлорофеніл)-3-(4-піридиніл)імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;

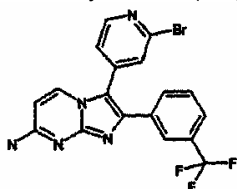


Сполука 25



Сполука 26

Сполука 26: 3-(2-бромо-4-піридиніл)-2-(4-фторофеніл)імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін; та  
Сполука 27: 3-(2-бромо-4-піридиніл)-2-[3-(трифторометил)феніл]імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін;



Сполука 27

Даний винахід також запроваджує фармацевтичну композицію, що включає дану сполуку та фармацевтично прийнятний носій.

Фармацевтичні композиції, що містять сполуку даного винаходу як активний інгредієнт у тісній суміші з фармацевтичним носієм, можуть бути отримані за допомогою звичайних фармацевтичних методів. Даний носій може мати широкий різновид форм у залежності від форми препарату, потрібної для введення, такого як локальне введення та системне введення, включаючи, але не обмежуючись цим, внутрішньовенне вливання, пероральне, назальне або парентеральне введення. При виготовленні даних композицій у пероральній дозовій формі можуть застосовуватись будь-які звичайні фармацевтичні носії, такі як вода, гліцерин, гліколи, олії, спирти, ароматизатори, консерванти, барвники, сиропи і таке подібне у випадку рідких пероральних препаратів (наприклад, суспензій, еліксирів та розчинів); або такі носії як крохмалі, цукри, метилцелюлоза, стеарат магнію, дикальцій фосфат, манітол і таке подібне у випадку твердих пероральних препаратів (наприклад, порошків, капсул та таблеток). Всі наповнювачі можуть змішуватись, при потребі, з агентами, що сприяють дезінтеграції, розріджувачами, агентами-грануляторами, мастилами, зв'язуючими речовинами і таким подібним з використанням звичайних методів, що відомі фахівцям у галузі приготування дозових форм.

Перевага надається пероральному введенню даного препарату. Завдяки легкості уживання, таблетки та капсули є корисними одиничними формами перорального дозування, і в цьому випадку застосовують тверді фармацевтичні носії. При потребі таблетки можуть покриватись цукром або ентросолубільною оболонкою з використанням стандартних технологій. Для парентерального введення носій звичайно включає стерильну воду, хоча можуть застосовуватись й інші інгредієнти, наприклад, для сприяння розчинності або з метою консервації. Можуть готуватись також суспензії для ін'єкцій, і в цьому випадку можуть, використовуватись відповідні рідкі носії, суспендуючі агенти і таке подібне.

Термін "цитокін" у даному тексті стосується TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  протеїнів. Пов'язані з цитокінами розлади є захворюваннями людей та інших ссавців, коли перепродукування цитокінів спричиняє виникнення симптомів даної хвороби. Перепродукування TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  цитокінів пов'язують з рядом захворювань.

Сполуки даного винаходу інгібують утворення TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ . Таким чином, даний винахід запроваджує спосіб лікування суб'єкта, котрий потерпає від стану, що полегшується через гальмування процесу утворення запальних цитокінів, які спричиняють даний стан, спосіб, що включає призначення даному суб'єкту терапевтично ефективної дози зазначеної фармацевтичної композиції. Термін "суб'єкт" у даному тексті включає, без обмеження, будь-яку тварину або штучно модифіковану тварину. У варіанті, якому надається перевага, даним суб'єктом є людина.

Даний винахід також запроваджує спосіб інгібування у суб'єкта початку стану, що полегшується через гальмування процесу утворення запальних цитокінів, які спричиняють даний стан, спосіб, що включає призначення даному суб'єкту профілактично ефективної дози зазначеної фармацевтичної композиції.

В одному варіанті зазначений стан вибирається із групи, що включає артрит, запалення кишечника, септичний шок, остеопороз, остеоартрит, невропатичні болі, реплікацію ВІЛ, ВІЛ деменції, вірусний міокардит, залежний від інсуліну діабет, незалежний від інсуліну діабет, періодонтальну хворобу, рестеноз, гніздову алопецію, виснаження Т-клітин у ВІЛ інфекції або СНІД, псоріаз, гострий панкреатит, відторгнення

алотрансплантата, легеневі алергічні запалення, атеросклероз, множинний склероз, кахексію, хворобу Альцгеймера, удар, хворобу Крона, ішемію, застійну серцеву недостатність, пневмосклероз, гепатит, гліобластому, синдром Гієна-Барре, та системний червоний вовчак. У варіанті, якому надається перевага, даним станом є ревматоїдний артрит.

Під терміном "лікування" розладу у даному тексті мається на думці ліквідація або послаблення його причини та/або ефектів. Під терміном "інгібування" початку розладу мається на думці «запобігання, відстрочення або зниження вірогідності його виникнення. Подібно до цього, "терапевтично ефективними" та "профілактично ефективними" дозами є такі дози, що дозволяють лікувати та інгібувати, відповідно, даний розлад. У даній галузі відомі методи для визначення терапевтично та профілактично ефективних доз для даної фармацевтичної композиції. Ефективну дозу для призначення даної фармацевтичної композиції людині, наприклад, можна визначити у математичний спосіб за результатами досліджень на тваринах.

В одному варіанті даного винаходу добові дози даних сполук перорального призначення варіюють від приблизно 0,05 до приблизно 100мг/кг. В іншому варіанті ці дози змінюються від приблизно 0,05 до приблизно 50мг/кг, і ще в одному варіанті - від приблизно 0,05 до приблизно 20мг/кг на добу. Дози вливання можуть варіювати, наприклад, від приблизно 1,0 до  $1,0 \times 10^{-6}$  мкг/кг/хвилину даної сполуки, яка змішана з фармацевтичним носієм, на протязі періоду, що змінюється від кількох хвилин до кількох днів. Для локального призначення дана сполука може бути змішана з фармацевтичним носієм при концентрації, наприклад, від приблизно 0,1 до приблизно 10% лікарської речовини по відношенню до носія.

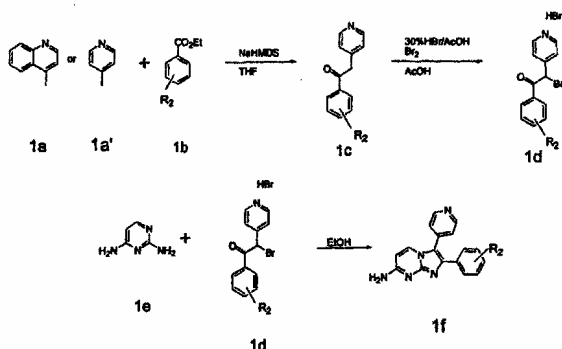
Нарешті, даний винахід запроваджує способи одержання даних сполук. Ці сполуки можуть бути одержані, як показано нижче, із легкодоступних вихідних матеріалів та/або проміжних продуктів згідно з процесами, що добре відомі у даній галузі.

Даний винахід стане краще зрозумілим після звернення до наступного розділу Експериментальні подробиці, але фахівцям у даній галузі легко зрозуміти, що цей розділ має лише ілюстративний характер щодо винаходу, який у більшій мірі описаний у Формулі винаходу. Крім того, у даній заявці процитовані різні публікації, на які зроблено посилання, призначені для більш повного описання стану справ у галузі, до якої належить даний винахід.

#### A. Схеми та синтез

Сполуки Формули I, де  $R_1 \in NH_2$ , і  $R_3$  та  $Y \in H$ , можуть бути одержані за схемою I. Вихідна сполука типу 1a, така як 4-метилпіридин або 4-метилхінолін, може змішуватись з бензойним ефіром типу 1b та двома еквівалентами прийнятої загальмованої основи, такої як натрій гексаметилдисилазид, у прийнятному розчиннику, такому як THF, при кімнатній температурі з утворенням феноляту 1c, котрий потім бромують до 1d. Проміжну сполуку типу 1d потім можна піддати реакції з 2,6-діамінопіримідином з утворенням сполуки Формули I, у якій  $R_1 \in NH_2$  і  $Y \in H$ .

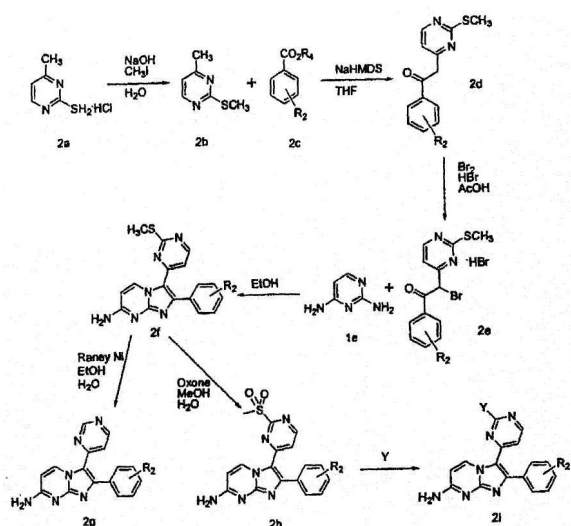
СХЕМА I



Хоча проілюстрований спосіб дає сполуку Формули I, де  $R_1 \in NH_2$ ,  $X \in CH$ , і  $Y \in H$ , ця схема може бути також використана для одержання інших сполук даного винаходу.

Схема II показує спосіб одержання сполук Формули I, де  $X \in N$ , і  $Y$ ,  $R_2$  та  $R_3 \in$  такими, як визначено як вище.

СХЕМА II



Примітка перекладача: на даній схемі Охоне відповідає оксону; Raney Ni відповідає нікелевому каталізатору гідрування, так званому нікелю Рені.

Схема III показує спосіб одержання сполук Формули I, де X є CH, Z' є F, Cl або Br, і Y, R<sub>2</sub> та R<sub>3</sub> визначені такими, як вище.

СХЕМА III

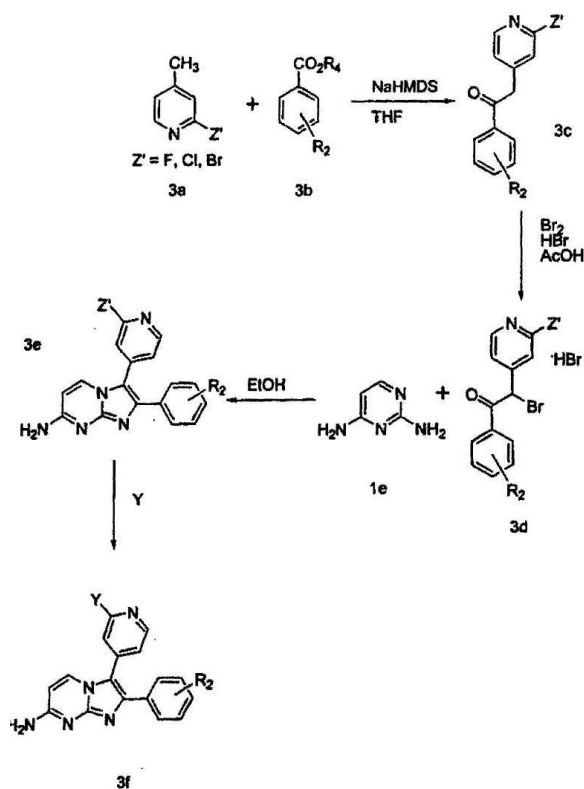
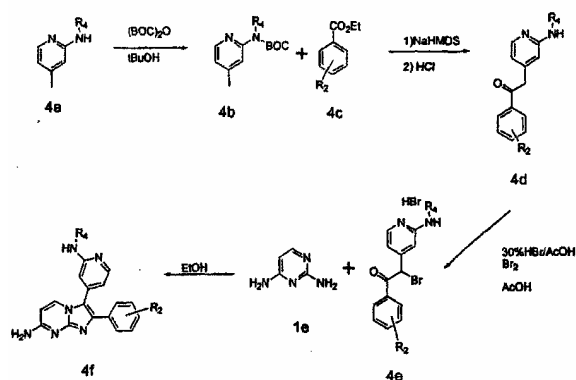


Схема IV показує спосіб одержання сполук Формули I, де X є CH, Y є NR<sub>4</sub>, і R<sub>4</sub> визначено як вище.

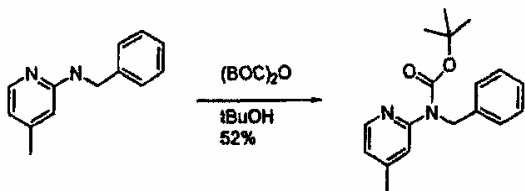
СХЕМА IV



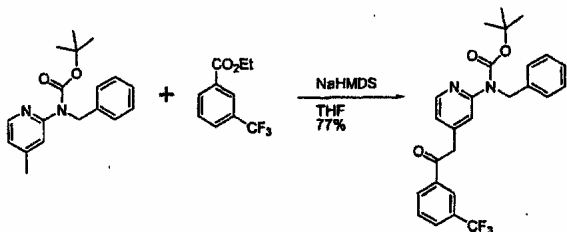
Приклади, що наведені нижче, описують більш детально хімічний синтез репрезентативних сполук даного винаходу. Інші сполуки, що розкриті у даному винаході, можуть бути одержані подібним чином, згідно з одним або більшою кількістю таких способів. Спроби оптимізувати виходи зазначених реакцій не робились, і фахівцю у даній галузі зрозуміло, що варіації часу реакції, температури, розчинників, та/або реагентів можуть підвищити такі виходи.

## Приклад 1

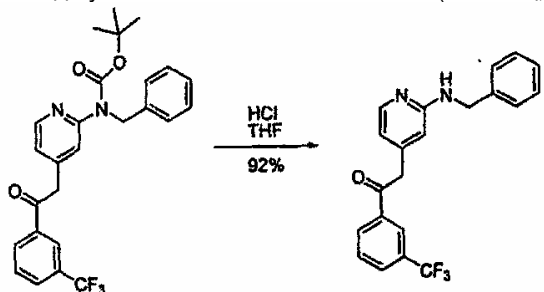
Імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін, 3-[2-[(фенілметил)аміно]-4-піридиніл]-2-[3-(трифторометил) феніл]



6,59г (31,18ммоль) ді-*t*-бутилдикарбонату додавали до 5,44г (27,44ммоль) 2-бензиламіно-4-метилпіридину у 40мл *t*-бутанолу. Через 18 годин даний розчинник був вилучений у вакуумі. Залишок розтирали з гексаном та фільтрували. Фільтрат концентрували у вакуумі з одержанням 4,25г захищеного аміну. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8,22 (1H, d, J=5,1 Гц), 6,99 (1H, d, J=5,1 Гц), 5,10 (2H, s), 2,31 (3H, s), 1,38 (9H, s).

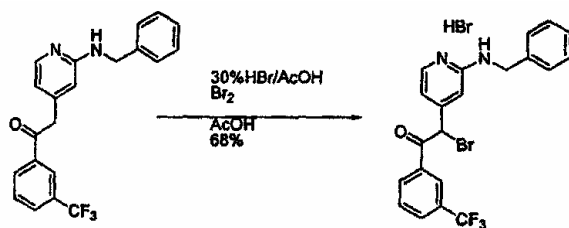


61мл (61ммоль) 1,0М натрій біс(триметилсиліл)аміду у тетрагідрофурані додавали по краплях до розчину 8,97г (30,07ммоль) *N*-Бос-2-бензиламіно-4-метилпіридину та 6,58г (39,07ммоль) етил 3-трифторометилбензоату у 60мл тетрагідрофурану за допомогою краплинної лійки під атмосферою азоту. Через 18 годин реакцію гасили насиченим розчином амонію хлориду і розчинник вилучали у вакуумі. Залишок екстрагували у 300мл етилацетату та промивали 2x200мл водою, 1x100мл розсолу, осушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі з утворенням коричневого масла. Після застосування колонкової хроматографії з використанням 5:1 гексан/етилацетату одержали 10,92г продукту у вигляді густого жовтого масла. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7,59 (1H, s), 5,11 (2H, s), 4,62 (2H, s), 1,33 (9H, s).

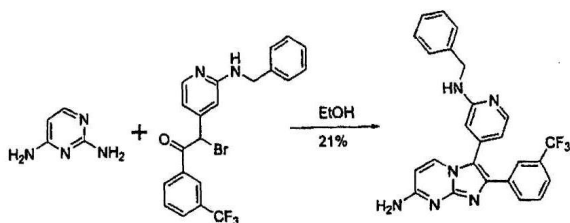


10,92г (23,21ммоль) даного захищеного аміну нагрівали із оберненим холодильником у 100мл тетрагідрофурану, що містив 20мл 6М розчину HCl, протягом 1 години, охолоджували, розводили 220мл води та екстрагували у 2x250мл етилацетату. Органічні шари розділяли, поєднували, промивали 200мл води, 2x100мл розсолу, осушували над сульфатом магнію, фільтрували та концентрували у вакуумі з утворенням 7,91г в'язкого червоного масла. *MN*<sup>\*</sup>=371.





1,30мл (6,61ммоль) 30% бромистого водню в оцтовій кислоті додавали до 2,33г (6,29ммоль) даного кетону у 10мл льодяної оцтової кислоти. По краплях додавали розчин 0,35мл (6,79ммоль) бром у 1,65мл льодяної оцтової кислоти, і реакційну суміш нагрівали до 60°C протягом 1 години, охолоджували до кімнатної температури та розводили ефіром. Маслянистий залишок, що утворився, промивали ефіром з одержанням 2,27г (4,28ммоль) неочищеного броміду.  $MH^*=450$ .



#### Сполука 8

Розчин 1,89г (17,13ммоль) 2,4-діаміноімідазину у 20мл етанолу нагрівали до 80°C. По краплях за допомогою краплинної лійки додавали розчин 2,27г (4,28ммоль) даного неочищеного броміду у 50мл етанолу. Дану реакційну суміш перемішували при 80°C протягом 1 години, потім охолоджували до кімнатної температури. Приблизно половину даного розчинника вилучали у вакуумі. Після охолодження до кімнатної температури реакційну суміш фільтрували. Фільтрат концентрували у вакуумі, розводили 250мл етилацетату та промивали 2x100мл 0,5M розчину гідроксиду натрію, осушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі з утворенням червоно-коричневого масла. Колонкова хроматографія з використанням 2% метанолу в етилацетаті дала 0,4161г сполуки 8 (імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін, 3-[2-[(феніл метил)аміно]-4-піридиніл]-2-[3-(трифторометил)феніл]-) у вигляді білої твердої речовини.  $MH^*=461$ .

#### Приклад 2

1-феніл-2-(4-піридиніл)-етанон та 1-феніл-2-бromo-2-(4-піридиніл)-етанон

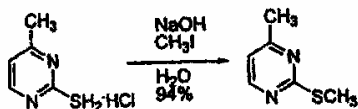
1,0M натрій біс(триметилсиліл)амід (40мл, 0,04моль) у тетрагідрофурані додавали по краплях до розчину 1,8г (0,02моль) 4-піколіну та 3,0г (0,02моль) етилбензоату у 60мл тетрагідрофурану за допомогою краплинної лійки під атмосферою азоту. Через 18 годин дану реакцію гасили насиченим розчином амонію хлориду, і розчинник вилучали у вакуумі. Залишок екстрагували у 100мл етилацетату та промивали 2x200мл води, 1x100мл розсолу, осушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі з утворенням масла. Розтирання з ефіром дало 1,6г продукту, 1-феніл-2-(4-піридиніл)-етанону.  $MH^+=198$ .

1,8мл (8,9ммоль) 35% броміду водню в оцтовій кислоті додавали до 1,6г (8,1ммоль) даного кетону у 10мл льодяної оцтової кислоти. По краплях додавали розчин 0,46мл (8,9ммоль) бром у 1,65мл льодяної оцтової кислоти, і дану реакційну суміш нагрівали до 60°C протягом 1 години, охолоджували до кімнатної температури та розводили ефіром. Тверду речовину, що утворилась, промивали ефіром з одержанням 2,5г броміду як HBr солі 1-феніл-2-бromo-2-(4-піридиніл)-етанону.  $MH^*=276$ ,

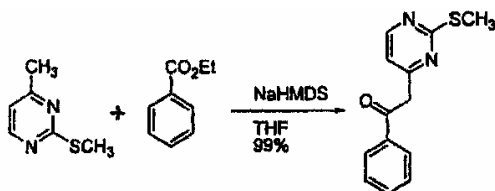
#### Приклад 3

Імідазо[1,2-а]піримідин-7-амін, 2-феніл-3-(4-піридиніл)

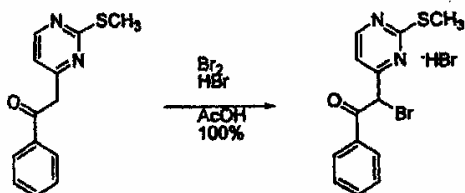
Розчин 1,2г (11ммоль) 2,4-діаміноімідазину у 10мл етанолу нагрівали до 80°C. За допомогою краплинної лійки додавали по краплях розчин 1,0г (2,8ммоль) даного броміду у 20мл етанолу. Реакційну суміш перемішували при 80°C протягом 3 годин, потім охолоджували до кімнатної температури. Приблизно половину даного розчинника вилучали у вакуумі. Після охолодження до кімнатної температури реакційну суміш фільтрували. Фільтрат концентрували у вакуумі, розводили 250мл етилацетату та промивали 2x100мл 0,5M розчину гідроксиду натрію, осушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі з утворенням червоно-коричневого масла. Розтирання з EtOAc з наступним фільтруванням дало 0,108г сполуки 5 у вигляді білої твердої речовини.  $MH^*=288$ .



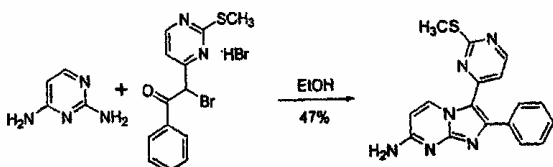
13,23г (93,2ммоль) йодометану додавали по краплях за допомогою шприца до розчину 13,38г (84,73 моль) 2-меркапто-4-метилпіримідину гідрохлориду та 7,46г (186,4ммоль) гідроксиду натрію у 120мл води. Через 2 години реакційну суміш екстрагували 2x125мл дихлорометану. Органічні шари розділяли, поєднували, осушували над  $Na_2SO_4$ , фільтрували та концентрували у вакуумі з одержанням 11,14г (79,45ммоль) 4-метил-2-(метилтіо)піримідину у вигляді червоного масла,  $MH^*=140,9$ .



86мл (86ммоль) 1,0М натрій біс(триметилсиліл)аміду у тетрагідрофурані додавали по краплях за допомогою краплинної лійки до розчину 6,03г (43ммоль) 4-метил-2-(метилтіо)піримідину та 6,46г (43ммоль) етилбензоату у 86мл тетрагідрофурану під атмосферою азоту. Через 2 години дану реакцію гасили насиченим розчином хлориду амонію. Більшість тетрагідрофурану вилучали у вакуумі. Залишок розводили 400мл етилацетату та 200мл води. Органічний шар відокремлювали та промивали 2x100мл насиченого розчину хлориду натрію, відокремлювали, осушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі з одержанням 10,45г (42,77ммоль) 2-[2-(метилтіо)піримидин-4-іл]-1-фенілетанону як в'язкого червоно-коричневого масла, що тверділо при вистовуванні.  $MH^*=244,9$ .

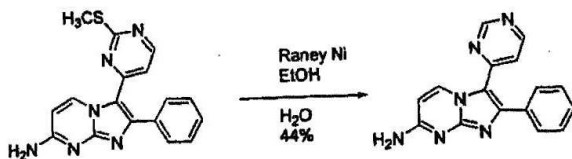


9мл (44,91ммоль) 30% броміду водню в оцтовій кислоті додавали до 10,45г (42,77ммоль) даного кетону у 80мл льодяної оцтової кислоти. По краплях додавали розчин 2,40мл (46,19ммоль) бром у 2,60мл льодяної оцтової кислоти, і дану реакційну суміш нагрівали до 60°C протягом 45 хвилин, охолоджували до кімнатної температури та розводили ефіром. Утворений в результаті шлам відфільтровували та промивали ефіром і висушували у вакуумі з одержанням 18,06г (44,69ммоль) неочищеного броміду.  $MH^*=324,9$ .



Сполука 15

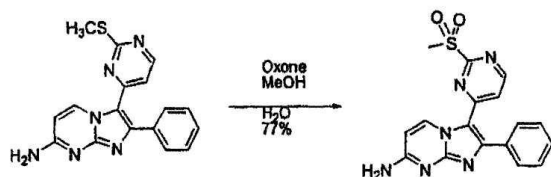
Розчин 18,83г (171,08ммоль) 2,4-діамінопіримідину у 150мл етанолу нагрівали до 80°C. Розчин 18,06г (42,77ммоль) даного неочищеного броміду у 350мл етанолу додавали по краплях з використанням краплинної лійки. Дану реакційну суміш перемішували та нагрівали із оберненим холодильником протягом 2 годин. Після охолодження до кімнатної температури дану реакційну суміш фільтрували. Осад перемішували у 150мл 0,5М розчину гідроксиду натрію. Даний осад збирали фільтрацією, промивали водою, ефіром та гексаном з одержанням 6,72г (21,1ммоль) продукту у вигляді світло-жовтої твердої речовини.  $MH^*=334,9$ .



Сполука 15

Сполука 16

Суміш 0,60г (1,79ммоль) тіометилпіримідину, приблизно 4мл 50% нікелю Рені у водному розчині, 40мл етанолу та 20мл води нагрівали із оберненим холодильником протягом 18 годин під атмосферою азоту. Дану реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури та фільтрували крізь целіт. Целіт промивали етанолом. Поєднані фільтрати концентрували у вакуумі. Залишок збирали розтиранням з етанолом, збирали фільтрацією та промивали ефіром з одержанням 0,2310г даного піримідину у вигляді жовтої твердої речовини (сполука 16).  $MH^*=289,0$ .

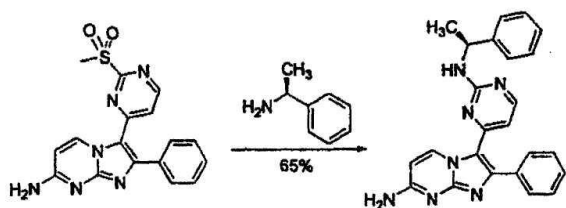


Сполука 15

Сполука 17

Розчин 8,28г (13,46ммоль) оксону у 75мл води додавали по краплях за допомогою краплинної лійки до 1,50г (4,49ммоль) тіометилпіримідину у 77мл метанолу. Утворений в результаті шлам перемішували при

кімнатній температурі протягом 18 годин, фільтрували, і фільтрат концентрували у вакуумі для вилучення метанолу. Залишок розводили 100мл води та нейтралізували твердим бікарбонатом натрію. Утворений в результаті шлам фільтрували і осад промивали водою, ефіром, висушували з одержанням 1,27г (3,46ммоль) метилсульфонпіримідину у вигляді жовтої твердої речовини (сполука 17).  $MH^*=367,0$ .



Сполука 17

Сполука 19

Суміш 0,55г (1,5ммоль) метилсульфонпіримідину та 1,82г (15ммоль) (S)-(-)- $\alpha$ -метилбензиламіну нагрівали при 140°C протягом 30 хвилин, охолоджували до кімнатної температури, розводили 100мл етилацетату та промивали 3x50мл води, 1x50мл насиченого розчину хлориду натрію, осушували над сульфатом натрію, фільтрували та концентрували у вакуумі з утворенням жовтого масла. Колонкова хроматографія з використанням 100% етилацетату як елюенту дала 0,3977г (0,98ммоль) продукту у вигляді світло-жовтої твердої речовини (сполука 19).  $MH^*=408,1$ .

В. Проби

Приклади

Проби на інгібування p38

Біологічні активності деяких сполук даного винаходу були продемонстровані за допомогою *in vitro* та *in vivo* проб. Як вказувалось раніше, агенти, що інгібують активність ферменту p38, інгібують утворення запальних цитокінів TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ .

Вибрані сполуки даного винаходу перелічені у Таблиці 1, де подані мас-спектральні дані (MC) та дані, що показують здатність кожної сполуки, інгібувати p38, як показано за даними інгібування утворення TNF- $\alpha$ . Проби, за допомогою яких збирались такі дані, описані нижче.

Таблиця 1

Сполуки, що випробувались на здатність інгібувати p38 за даними інгібування утворення TNF- $\alpha$

Сполука №	MC хім. іоніз. (M+1)	LPS/PBMC IC <sub>50</sub> nM (TNF- $\alpha$ )	% Інгібування (на мишах) Утворення TNF- $\alpha$ , 10 мг/кг
1	306	49	100
2	306	55	100
3	356	333	26
4	340	21	100
5	288	55	100
6	411	6	42
7	356	35	99
8	461	4	19
9	476	0,5	97
10	353	37	68
11	403	27	38
12	353	10	51
13	357	278	85
14	372	8	63
15	335	28	23
16	289	304	73
17	367	3414	-
18	435	520	10
19	408	0,40	100
20	424	14	-
21	425	2	97
22	432	1	74
23	319	90	87
24	307	199	91
25	322	162	47

Проба з цілісними PBMC клітинами

Показні сполуки даного винаходу випробувались у *in vitro* пробі з цілісними клітинами з використанням периферичних мононуклеарних клітин крові ("PBMC"), що були одержані з крові людини у наступний спосіб. Свіжоодержану венозну кров обробляли гепарином як антикоагулянт, розводили рівним об'ємом фосфатно-сольового буферного розчину ("PBS") та поміщали у стерильну пробірку або іншу посудину. Аліквотні кількості (30мл) цієї суміші переносили до центрифужних пробірок з шаром Ficoll-Нугауе (15мл). Підготовлені пробірки

центрифугували при 400хg без гальмування протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Приблизно від 1/2 до 2/3 тромбоцитного шару над смужкою мононуклеарних клітин вилучали за допомогою піпетки. Більшу частину мононуклеарного клітинного шару обережно вилучали за допомогою піпетки, і ці РВМС розводили PBS та центрифугували при 600хg протягом 15 хвилин. Одержані в результаті РВМС промивали ще однією порцією PBS та центрифугували при 400хg протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. Зібрані осадки були розведені у низькоендотоксинному RPMI/1% FCS культуральному середовищі і дали концентрацію клітин  $0,5\text{--}2,0 \times 10^5$  РВМС/мл. Невеликий об'єм даної суспензії відбирали для лічення на гемоцитометрі, і препарат, що залишився, центрифугували при 200хg протягом 15 хвилин при кімнатній температурі. Зібрані осадки РВМС повторно суспендували у RPMI/1% FCS до концентрації  $1,67 \times 10^6$ /мл.

Для проведення даної проби суспензію РВМС (180мкл) переносили до здвоєних комірок 96-коміркового плоскодонного титраційного мікропланшета та інкубували протягом 1 години при 37°C. Розчин тестової сполуки (10мкл, готували при 20 кратній потрібній кінцевій концентрації) вводили у кожну комірку, і планшет інкубували протягом 1 години при 37°C. Додавали розчин (10мкл) LPS у RPMI/1% FCS (200 г/мл), і комірки інкубували протягом ночі при 37°C. Надосадову рідину (100мкл) вилучали із кожної комірки та розводили RPMI/1% FCS (400мкл). Зразки аналізували на TNF-α з використанням комерційного набору ELISA (Genzyme). Результати подані у Таблиці 1 вище.

#### In vivo проба на гризунах

Здатність сполук Формули І інгібувати індуковане LPS продукування TNF-α демонструвалась у наступних in vivo пробах на гризунах. Перед пероральним введенням дози 5-10мг/кг тестової сполуки із розрахунку 5-50мг/кг мишам (BALB/cJ самиці, Jackson Laboratories) не давали їжі протягом 30 хвилин. Через 30 хвилин після введення дози мишам робили інтраперитонеальну ін'єкцію LPS із розрахунку 1мг/кг та повертали тварин у клітки на 1 годину. Потім тварин піддавали анестезії CO<sub>2</sub>, відбирали пробу крові через серцевий прокол, і кров збирали (0,1-0,7мл). Після згортання крові сироватку переносили до центрифужної пробірки. Даний зразок центрифугували, сироватку збирали, відбирали аліквотні проби та заморожували при -80°C. Дані зразки тестували за допомогою комерційного набору ELISA на TNF-α (ендогенного для TNF-α миші). Відсоток інгібування тестових сполук обчислювали за наступною формулою: % інгібування =  $[1 - (\text{зразок-CTRL}) / (\text{CTRL-BKG})] \times 100$ . Дані наведені у Таблиці 1 вище.

#### Проба з рекомбінантною р38

Сполуки даного винаходу досліджувались на здатність інгібувати активність р38 за допомогою наступної in vitro проби. Розчин (38мкл) очищеної рекомбінантної р38 (де кількість ферменту визначали емпіричним шляхом з урахуванням лінійного діапазону даної проби та прийнятного співвідношення сигнал-шум; 6хHis-р38, експресована у E.coli), мієліновий основний білковий субстрат (також визначений емпіричним шляхом) та буфер з pH7,5 (Нерес: 25мМ; MgCl<sub>2</sub>: 10мМ; MnO<sub>2</sub>: 10мМ) вводили до 92 комірок 96-коміркового кругло донного поліпропіленового планшета. Комірки, що залишились, використовувались для контролю ("CTRL") та фону ("BKG"). CTRL готували з даним ферментом, субстратним буфером та 21% DMSO (диметилсульфоксид), і BKG готували з субстратним буфером та 2% DMSO. Розчин (12мкл) даної тестової сполуки у DMSO (сполуки були розведені до 125мкМ у 10% DMSO/H<sub>2</sub>O і аналізувались при 25мкМ, де кінцева концентрація DMSO складала 2%) вводили у досліджувані комірки. Розчин АТФ/<sup>33</sup>P-АТФ (10мкл, що містить 50мкМ неміченого АТФ та 1мкКи <sup>33</sup>P-АТФ) вводили в усі комірки, і укомплектовані планшети перемішували та інкубували при 30°C протягом 30 хвилин. Льодяну суміш 50% TCA/10мМ фосфату натрію (60мкл) вводили у кожну комірку, і планшети витримували на льоду протягом 15 хвилин. Вміст кожної комірки переносили у комірки 96-коміркового фільтрувального планшета (Millipore, MultiScreen-DP), і даний планшет поміщали на вакуумну установку, обладнану лотком для збирання відходів. Дані комірки промивали п'ять разів сумішшю 10% TCA/10мМ фосфату натрію (200мкл) під вакуумом. Додавали сцинтилятор MicroScint-20, планшети герметизували з використанням листків Topseal-S і проводили лічення за допомогою сцинтиляційного лічильника Packard TopCount з використанням програми з поправкою на гасіння кольору, де вихід виражався у кількості імпульсів за хвилину, скоригованій на гасіння кольору. Хоча спочатку сполуки випробувались при 10мкМ, при потребі сполуки випробували також при 4-кратних відхиленнях від цієї концентрації в обидві боки. Крім того, для деяких сполук з використанням 4-параметричної програми апроксимації кривої по точках Deltagraph були обчислені значення IC<sub>50</sub>. Дані не наведені.

#### In vitro проба на IL-1β

Здатність сполук даного винаходу інгібувати утворення IL-1β може визначатись за допомогою наступної in vitro проби. Прикріплені до пластика клітини готували із РВМС. У короткому викладі, РВМС вводили в комірки 96-коміркового планшета, як описано вище, інкубували протягом 1 години при 37°C, і прикріплені клітини готували обережним ресуспендуванням неприкріплених клітин піпетором, їх вилученням та скиданням, і обережним трикратним промиванням комірок 200мкл культурального середовища. Після остаточного промивання у комірки додатково вводили культуральне середовище (180мкл). Додавання сполуки, стимулювання LPS, інкубування та збирання надосадової рідини проводилось аналогічно до випадку з TNF-α. Надосадову рідину аналізували на інтерлейкін-1β з використанням комерційного набору ELISA (Genzyme). Дані не наведені.