



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **86977** (13) **C2**  
(51) МПК (2009)  
**C07D 401/14** (2006.01)  
**A61K 31/506**  
**A61P 11/00**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

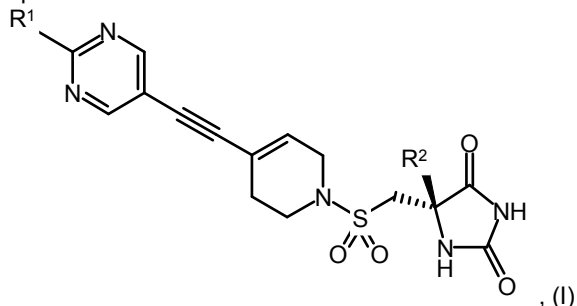
## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПОХІДНІ ГІДАНТОЇНУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОБСТРУКТИВНИХ ХВОРОБ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

1

2

(21) а200613009  
(22) 04.07.2005  
(24) 10.06.2009  
(86) PCT/SE2005/001092, 04.07.2005  
(31) 0401762-0  
(32) 05.07.2004  
(33) SE  
(46) 10.06.2009, Бюл.№ 11, 2009 р.  
(72) ГАБОС БАЛІНТ, SE, РІПА ЛЕНА, SE, СТЕН-  
ВАЛЛЬ КРІСТИНА, SE  
(73) АСТРАЗЕНЕКА АБ, SE  
(56) WO 02074767 A1  
WO 02074750 A1  
WO 02096426 A1  
(57) 1. Сполука формули (I) або її фармацевтично  
прийнятна сіль



де:  
R<sup>1</sup> представляє C<sub>1-2</sub>алкіл, циклопропіл, OCH<sub>3</sub>,  
SCH<sub>3</sub> або OCF<sub>3</sub>; вказані алкіл або циклопропіл, як  
варіант, крім того заміщені одним або більше ато-  
мами флуору; а  
R<sup>2</sup> представляє C<sub>1-3</sub>алкіл.

2. Сполука за п. 1, де R<sup>1</sup> представляє C<sub>1-2</sub>алкіл або  
циклопропіл; вказані алкіл або циклопропіл, як  
варіант, крім того заміщені одним або більше ато-  
мами флуору.

3. Сполука за п. 2, де R<sup>1</sup> представляє C<sub>1-2</sub>алкіл, як  
варіант, крім того заміщений одним або більше  
атомами флуору.

4. Сполука за п. 3, де R<sup>1</sup> - CF<sub>3</sub>.

5. Сполука за п. 2, де R<sup>1</sup> - циклопропіл.

6. Сполука за будь-яким із пп. 1-5, де R<sup>2</sup> - метил  
або етил.

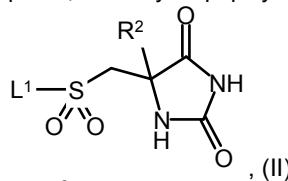
7. Сполука за п. 6, де R<sup>2</sup> - метил.

8. Сполука за п. 1, котру вибрано із групи:

(5S)-5-({[4-[(2-циклопропілпіримідин-5-іл)етиніл]-  
3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил)-5-  
метилімідазолідин-2,4-діон;  
(5S)-5-метил-5-({[4-[(2-(метилтіо)піримідин-5-  
іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-  
іл]сульфоніл}метил)імідазолідин-2,4-діон;  
(5S)-5-метил-5-({[4-[(2-(трифлуорметил)піримідин-  
5-іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-  
іл]сульфоніл}метил)імідазолідин-2,4-діон;  
(5S)-5-метил-5-({[4-[(2-метилпіримідин-5-іл)етиніл]-  
3,6-дигідропіридин-1(2H)-  
іл]сульфоніл}метил)імідазолідин-2,4-діон;  
(5S)-5-({[4-[(2-етилпіримідин-5-іл)етиніл]-3,6-  
дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил)-5-  
метилімідазолідин-2,4-діон;  
(5S)-5-({[4-[(2-метоксипіримідин-5-іл)етиніл]-3,6-  
дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил)-5-  
метилімідазолідин-2,4-діон,  
та її фармацевтично прийнятні солі.

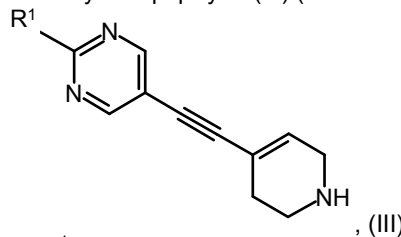
9. Спосіб отримання сполуки формули (I), яку ви-  
значено у п. 1, або її фармацевтично прийнятної  
солі, за яким здійснюють:

реакцію сполуки формули (II)



де R<sup>2</sup> визначено вище у формулі (I), а L<sup>1</sup> - відщеп-  
лювана група,

зі сполукою формули (III) (або її сіллю)



де R<sup>1</sup> визначено вище у формулі (I);

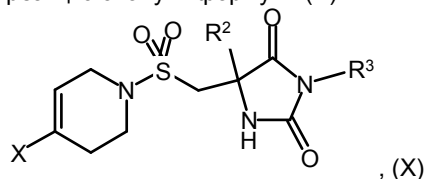
та, як варіант, далі реакції утворення її фармацев-  
тично прийнятної солі.

(13) **C2**

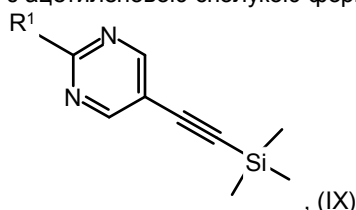
(11) **86977**

(19) **UA**

10. Спосіб отримання сполуки формули (I), яку визначено у п. 1, або її фармацевтично прийнятної солі, за яким здійснюють: реакцію сполуки формули (X)

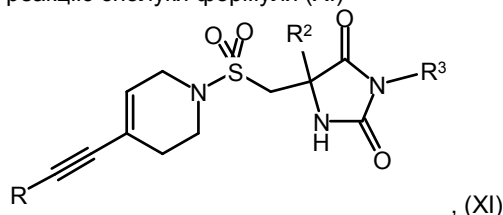


де  $R^2$  визначено вище у формулі (I),  $R^3$  - H або придатна захисна група, а X - відщеплювана група, як-то галогенідна або трифлатна; з ацетиленовою сполукою формули (IX)

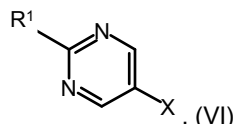


де  $R^1$  визначено вище у формулі (I); та, як варіант, далі реакції утворення її фармацевтично прийнятної солі.

11. Спосіб отримання сполуки формули (I), яку визначено у п. 1, або її фармацевтично прийнятної солі, за яким здійснюють: реакцію сполуки формули (XI)



де R - H або триметилсиліл,  $R^2$  визначено вище у формулі (I), а  $R^3$  - H або придатна захисна група; з арилгалогенідом або трифлатом формули (VI)



де  $R^1$  визначено вище у формулі (I), а X - галогенідна або трифлатна група;

та, як варіант, далі реакції утворення її фармацевтично прийнятної солі.

12. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль за будь-яким із пп. 1-8 в асоціації з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем чи носієм.

13. Спосіб отримання фармацевтичної композиції за п. 12, котрий полягає у перемішуванні сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, які визначено в будь-якому із пп. 1-8, з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем чи носієм.

14. Сполука формули (I) або її фармацевтично прийнятна сіль за будь-яким із пп. 1-8 для застосування у терапії.

15. Застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі за будь-яким із пп. 1-8 у виготовленні медикаменту для застосування в лікуванні обструктивної хвороби дихальних шляхів.

16. Застосування за п. 15, де обструктивна хвороба дихальних шляхів - астма або хронічна обструктивна хвороба легенів.

17. Спосіб лікування хвороби або стану, опосередкованого MMP12 та/або MMP9, за яким пацієнту вводять терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі за будь-яким із пп. 1-8.

18. Спосіб лікування обструктивної хвороби дихальних шляхів, за яким пацієнту вводять терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі за будь-яким із пп. 1-8.

Заявлений винахід стосується нових похідних гідантоїну, способів їх отримання, фармацевтичних композицій, що містять їх, та їх застосування у терапії.

Металопротеїнази є надсімейством протеїназ (ферментів), чия кількість в останні роки різко збільшується. На основі структурних та функціональних оцінок ці ферменти класифіковано на сімейства та підсімейства, як описано в [N.M. Hooper (1994) FEBS Letters 354:1-6]. Приклади металопротеїназ охоплюють матриксні металопротеїнази (MMP), як-то колагенази (MMP1, MMP8, MMP13), желатинази (MMP2, MMP9), стромелізини (MMP3, MMP10, MMP11), матрилізін (MMP7), метадаеластазу (MMP12), енамелізін (MMP19), MT-MMP (MMP14, MMP15, MMP16, MMP17); реполізін або адамалізін, або сімейство MDC, яке охоплює секретази та шедази, як-то TNF-конвертувальні ферменти (ADAM10 та TACE); сімейство астацину, яке охоплює ферменти, як-то

протеїназу процесингу проколагену (PCP); та інші металопротеїнази, як-то агреканазу, сімство ендотелін-конвертувального ферменту та сімство ангіотензин-конвертувального ферменту.

Металопротеїнази, можна вважати, є важливими у багатьох фізіологічних процесах хвороб, що охоплюють перебудову тканин, як-то ембріональний розвиток, утворення кісток та перебудову матки протягом менструації. Це базується на здатності металопротеїназ розщеплювати багато матриксних субстратів, як-то колаген, протеоглікан та фібронектин. Металопротеїнази, можна також вважати, є важливими у процесингу або секреції біологічно важливих клітинних медіаторів, як-то фактору некрозу пухлин (TNF); та процесингу післятрансляційного протеолізу або розкладання біологічно важливих мембранних білків, як-то рецептору IgE CD23 з низькою афінністю [для більш повного переліку дивись N. M. Hooper et al., (1997) Biochem. J. 321:265-279].

Металопротеїнази асоційовано з багатьма хворобами або станами. Інгибування активності одної або більше металопротеїназ може бути дуже корисним при хворобах або станах, наприклад: різних запальних та алергічних хворобах, як-то запаленні суглобів (особливо ревматоїдному артриті, остеоартриті та подагрі), запаленні шлунково-кишкового тракту (особливо запальній хворобі кишковика, виразковим коліті та гастриті), запаленні шкіри (особливо псоріазі, екземі, дерматиті); при метастазах або інвазії пухлин; при хворобі, асоційованій з неконтрольованим розкладом позаклітинного матриксу, як-то остеоартриті; при хворобі резорбції кісток (як-то остеопорозі та хворобі Педжета); при хворобах, асоційованих з аберантним ангіогенезом; асоційованому з джета); при хворобах, асоційованих з аберантним ангіогенезом; асоційованому з діабетом посиленому трансформованні колагену, періодонтальної хвороби (як-то гінгівіті), виразці рогової, виразці шкіри, станах після операцій (як-то ободовому анастомозі) та зарощуванні рани шкіри; при демієлінізувальних хворобах центральної та периферичної нервових систем (як-то розсіяному склерозі); хворобі Альцгеймера; перебудові позаклітинного матриксу, спостереженому при серцево-судинних хворобах, як-то рестенозі та атеросклерозі; астмі; риніті; та хронічних обструктивних хворобах легенів (COPD).

MMP12, також відому як еластаза макрофагу або металоеластаза, була спочатку клонована у миші Shapiro et al. [1992, Journal of Biological Chemistry 267: 4664], а у людини цією ж групою у 1995. MMP12 є переважно експресованою в активованих макрофагах, і було показано, що вона секретується із альвеолярних макрофагів курців [Shapiro et al., 1993, Journal of Biological Chemistry, 268: 23824], а також у пінних клітинах атеросклеротичних уражень [Matsumoto et al., 1998, Am. J. Pathol. 153: 109]. Мишача модель COPD базується на основі провокаційної випробовування миші на дим сигарет, дві сигарети на добу кожні шість днів тижня протягом шести місяців. У мишей дикого типу утворювалася емфізема легенів після цієї обробки. Коли нокаутних стосовно MMP12 мишей тестували у цій моделі, у них утворювалася незначна емфізема, чітко показуючи, що MMP12 є ключовим ферментом у патогенезі COPD. Роль MMP, як-то MMP12, у COPD (емфізема та бронхіт) дискутується у [Anderson та Shinagawa, 1999, Current Opinion in Anti-inflammatory and Immunomodulatory Investigation Drugs 1(1): 29-38]. Останнім часом виявлено, що куріння збільшує інфільтрування макрофагу та експресію похідного від макрофагу MMP-12 у бляшках сонної артерії людини Kangavari [Matetzky S, Fishbein MC et al., Circulation 102(18): 36-39 Suppl. S, Oct 31, 2000].

MMP9 (Желатиназа В; Колагеназа типу IV 92кДа; Желатиназа 92кДа) є секретованим білком, котрий в 1989 спершу очищали, тоді клонували та секвенсували [S.M. Wilhelm et al. (1989) J. Biol. Chem. 264 (29): 17213-17221; опублікована погрішність у J. Biol. Chem. (1990) 265 (36): 22570]. Останній огляд MMP9 дає чудове джерело детальної інформації та посилань на цю протеазу: [T.H. Vu & Z. Werb (1998) (Y : Matrix Metalloproteinases,

1998, edited by W.C. Parks & R.P. Mecham, pp. 115-148, Academic Press. ISBN 0-12-545090-7). Наступні точки зору в цьому огляді надано T.H. Vu & Z. Werb (1998)].

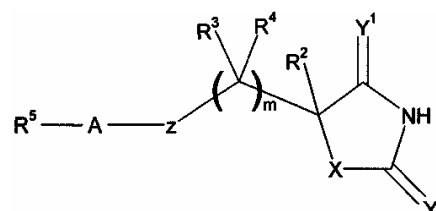
Експресія MMP9 звичайно обмежується кількома типами клітин, охоплюючи трофобласти, остеокласти, нейтрофіли та макрофаги. Однак, експресія може бути індукованою в цих самих клітинах та в клітинах інших типів декількома медіаторами, охоплюючи піддавання клітин дії факторів росту або цитокинів. Вони є медіаторами, що часто залучені до ініціювання запального відгуку. Як і інші секретовані MMP, MMP9 виділяється як інактивний профермент, котрий далі розщеплюється з утворенням ферментативно активного ферменту. Потрібні для цієї активації *in vivo* протеази невідомі. Баланс активного MMP9 відносно неактивного ферменту подальше регулюється взаємодією *in vivo* з TIMP-1 (тканинним інгібітором металопротеїнази-1), природним білком. TIMP-1 зв'язується з С-термінальною зоною MMP9, що призводить до інгибування каталітичної зони MMP9. Баланс індукованої експресії проMMP9, розщеплення про- до активної MMP9 та присутність TIMP-1 комбінують для визначення кількості каталітично активної MMP9 на локальній ділянці). Протеолітично активна MMP9 руйнує субстрати, котрі охоплюють желатин, еластин і природні колагени типу IV та типу V; вона не має активності проти природного колагену типу I, протеогліканів або ламінінів.

Існує зростаюча маса даних, що охоплює роль MMP9 у різних фізіологічних та патологічних процесах. Фізіологічна роль залучає інвазію ембріональних трофобластів через маточний епітелій на ранніх етапах ембріональної імплантації; деяку роль у зростанні і розвитку кісток; та міграцію запальних клітин з судинної мережі в тканини.

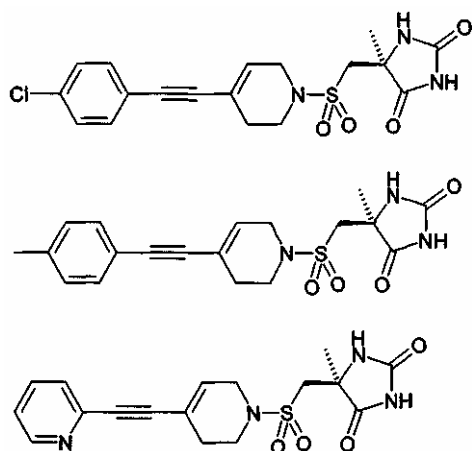
Вивільнення MMP9, виміряне застосуванням імунологічного дослідження ферменту, значно посилено у рідинах та у надосадових рідинах АМ нелікованих астматиків порівняно з астматиками з інших популяцій [Am. J. Resp. Cell & Моль. Bio.), Nov 1997, 17 (5):583-591]. Також збільшену експресію MMP9 спостерігали у деяких інших патологічних станах, таким чином, залучаючи MMP9 у процеси хвороб, як-то COPD, артрит, метастаз пухлин, хвороба Альцгеймера, розсіяний склероз та розрив бляшок при атеросклерозі, що призводить до гострих коронарних станів, як-то інфаркту міокарду.

Відомі чисельні інгібітори металопротеїназ [дивись, наприклад, огляди інгібіторів MMP Beckett R.P. та Whittaker M., 1998, Exp. Opin. Ther. Patents, 8(3):259-282, та Whittaker M. et al., 1999, Chemical Reviews 99(9):2735-2776].

[WO 02/074767] розкриває похідні гідантоїну формули

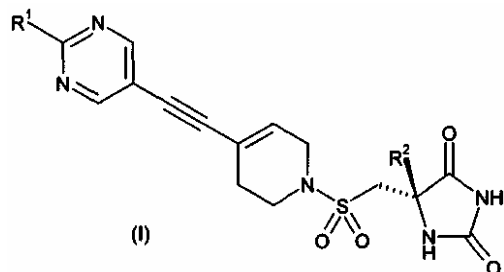


які є корисними як інгібітори MMP, зокрема, як потужні інгібітори MMP12. Наступні три сполуки конкретно розкрито в [WO 02/074767].

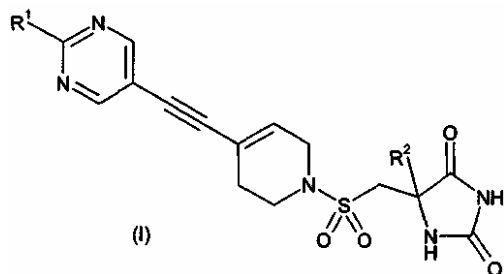


Зараз нами розкрито групу сполук, що є інгібіторами металопротеїназ та є особливо цікавими для інгібування MMP, як-то MMP12 та MMP9. Сполуки заявленого винаходу мають сприятливі потужність, селективність та/або фармакокінетичні властивості. Сполуки заявленого винаходу належать до ліків [WO 02/074767], але представляють тип, конкретно там не показаний.

Згідно з заявленим винаходом, запропоновано сполуку формули (I)



де



$R^1$  - C1-2 алкіл, циклопропіл,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$  або  $OCF_3$ ; вказаний алкіл або циклопропіл, як варіант, подалі заміщено одним або більше атомами флуору; а

$R^2$  представляє C1-3 алкіл;

та її фармацевтично прийнятні солі.

Сполуки формули (I) можуть існувати у енантіомерних формах. Слід розуміти, що усі енантіоме-

ри, діастереоізомери, рацемати та їх суміші охоплені рамками винаходу.

Сполуки формули (I) також можуть існувати у різних таутомерних формах. Усі можливі таутомерні форми та їх суміші охоплено рамками винаходу.

В одому втіленні  $R^1$  представляє C1-2 алкіл або циклопропіл; вказаний алкіл або циклопропіл, як варіант, подалі заміщено одним або більше атомами флуору.

У ще одому втіленні  $R^1$  представляє C1-2 алкіл, як варіант, подалі заміщений одним або більше атомами флуору.

В одому втіленні  $R^1$  - циклопропіл, як варіант, подалі заміщений одним або більше атомами флуору.

В одому втіленні  $R^1$  - циклопропіл.

В одому втіленні  $R^1$  - трифлуорметил.

В одому втіленні  $R^1$  -  $OCH_3$  або  $SCH_3$ .

В одому втіленні  $R^2$  - метил або етил. В одому втіленні  $R^2$  - метил.

В одому втіленні  $R^1$  представляє C1-2 алкіл або циклопропіл; вказаний алкіл або циклопропіл, як варіант, подалі заміщено одним або більше атомами флуору, та  $R^2$  - метил або етил.

В одому втіленні  $R^1$  представляє C1-2 алкіл або циклопропіл; вказаний алкіл або циклопропіл, як варіант, подалі заміщено одним або більше атомами флуору, та  $R^2$  - метил.

В одому втіленні  $R^1$  представляє C1-2 алкіл, як варіант, подалі заміщений одним або більше атомами флуору, та  $R^2$  - метил або етил.

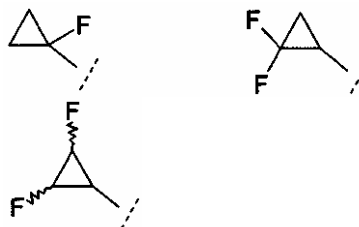
В одому втіленні  $R^1$  -  $CF_3$ , та  $R^2$  - метил або етил.

В одому втіленні  $R^1$  - циклопропіл, та  $R^2$  - метил або етил.

Якщо не вказане інше, згаданий тут термін "C1-3 алкіл" означає алкіл з лінійним чи розгалуженим ланцюгом, що має 1-3 атоми карбону. Приклади таких груп охоплюють метил, етил, н-пропіл та і-пропіл. Термін "C1-2 алкіл" означає метил або етил.

Приклади C1-2 алкілу, як варіант, подалі заміщеного одним або більше атомами флуору, охоплюють  $CF_3$ ,  $CH_2F$ ,  $CH_2CF_3$ ,  $CF_2CH_3$  та  $CF_2CF_3$ .

Приклади циклопропільного кільця, як варіант, подалі заміщеного одним або більше атомами флуору, охоплюють 1-флуор-1-циклопропіл, 2,2-дифлуор-1-циклопропіл та 2,3-дифлуор-1-циклопропіл:



Приклади сполук винаходу охоплюють:

(5S)-5-([4-[(2-циклопропілпіримідин-5-іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл)метил)-5-метилімідазолідин-2,4-діон;

(5S)-5-метил-5-([4-([2-(метилтіо)піримідин-5-іл]етиніл)-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл)метил]імідазолідин-2,4-діон;

(5S)-5-метил-5-([4-([2-(трифлуорметил)піримідин-5-іл]етиніл)-3,6-дигідропіридин-1(2H)-

іл]сульфоніл)метил]імідазолідин-2,4-діон;

(5S)-5-метил-5-([4-([2-метилпіримідин-5-іл]етиніл)-3,6-дигідропіридин-1(2H)-

іл]сульфоніл)метил]імідазолідин-2,4-діон;

(5S)-5-([4-([2-етилпіримідин-5-іл]етиніл)-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл)метил]-5-метилімідазолідин-2,4-діон;

(5S)-5-([4-([2-метоксипіримідин-5-іл]етиніл)-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл)метил]-5-метилімідазолідин-2,4-діон;

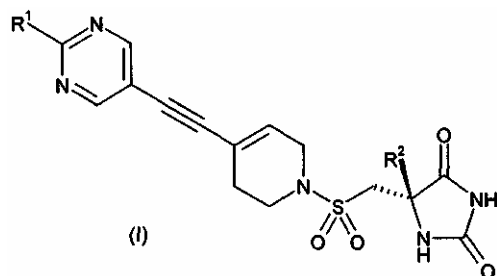
та їх фармацевтично прийнятні солі.

Кожна наведена сполука представляє конкретний та незалежний аспект винаходу.

Сполуки формули (I) можуть існувати у енантиомерних формах. Тому усі енантиомери, діастереоізомери, рацемати та їх суміші охоплено рамками винаходу. Різні оптичні ізомери можна виділяти розділенням рацемічної суміші сполук звичайними способами, наприклад, фракційною кристалізацією, або ВЕРХ. Альтернативно оптичні ізомери можна отримувати асиметричним синтезом, або синтезом із оптично активних вихідних матеріалів.

Там, де у сполуках винаходу існують оптичні ізомери, ми розкриваємо усі індивідуальні оптично активні форми та їх комбінації, як індивідуальні конкретні втілення винаходу, а також відповідні їх рацемати.

Переважно сполуки формули (I) мають (5S)-стереохімію як показано нижче:



Там, де у сполук винаходу існують таутомери, ми розкриваємо усі індивідуальні таутомерні форми та їх комбінації, як індивідуальні конкретні втілення винаходу.

Заявлений винахід стосується сполуки формули (I) у формі солі. Придатні солі охоплюють солі, утворені з органічними або неорганічними кислотами, органічними або неорганічними основами. Таким солям, звичайно, слід бути фармацевтично прийнятними солями, хоча фармацевтично неприйнятні солі можуть бути корисними у отриманні та очищенні конкретних сполук. Такі солі охоплюють кислотно-адитивні солі, як-то гідро-хлорид, гідробромід, цитрат, тозилат та малеат, та солі, утворені з фосфатною кислотою або сульфатною кислотою. Згідно з ще одним аспектом придатними солями є основні солі, як-то сіль лужного металу, наприклад, натрію або калію, сіль лужноземельно-

го металу, наприклад, кальцію або магнію, або сіль органічного аміну, наприклад, триетиламіну.

Солі сполук формули (I) можна утворювати реакцією вільної основи або іншої її солі з одним або більше еквівалентами належної кислоти або основи.

Сполуки формули (I) є корисними внаслідок того, що вони виявляють фармакологічну активність у тварин і, таким чином, є потенційно корисними як фармацевтичні препарати. Зокрема, сполуки винаходу є інгібіторами металопротеїнази, таким чином, їх можна застосовувати в лікуванні опосередкованих MMP12 та/або MMP9 станів з групи: астма, риніт, хронічні обструктивні хвороби легенів (COPD), артрит (як-то ревматоїдний артрит та остеоартрит), атеросклероз та рестеноз, рак, інвазію та метастаз, хвороби, які залучають деструкцію тканин, що розхищує ендопротез тазостегнового суглоба, періодонтальна хвороба, фіброзна хвороба, інфаркт та хвороба серця, фіброз печінки та нирок, ендометріоз, хвороби, пов'язані з послабленням позаклітинного матриксу, серцева недостатність, аневризми аорти, хвороби, пов'язані з хворобами ЦНС, як-то хвороба Альцгеймера та розсіяний склероз (МС), та гематологічні розлади.

Взагалі, сполуки заявленого винаходу є потужними інгібіторами MMP9 та MMP12. Сполуки заявленого винаходу також показують хорошу селективність щодо відсутності інгібування різних інших MMP, як-то MMP8, MMP14 та MMP19. На додаток, сполуки заявленого винаходу, взагалі, також мають покращене значення  $\log D$ , зокрема, які мають значення  $\log D$  у межі  $0,5 < \log D < 2,0$ .  $\log$  є коефіцієнтом, що відображує ліпофільність сполуки при фізіологічному pH. Як результат цього сприятливого значення  $\log D$ , сполуки заявленого винаходу виявляють покращені характеристики розчинності та зменшене зв'язування білку плазми, яке призводить до покращених фармакокінетичних та фармакодинамічних властивостей.

Відповідно, заявлений винахід стосується сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, як визначено вище, для застосування у терапії.

Згідно з ще одним аспектом винахід стосується застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, як визначено вище, у виготовленні медикаменту для застосування у терапії.

Згідно з ще одним аспектом винахід стосується застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, як визначено вище, у виготовленні медикаменту для застосування в лікуванні станів, де інгібування MMP12 та/або MMP9 є корисним.

Згідно з ще одним аспектом винахід стосується застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, як визначено вище, у виготовленні медикаменту для застосування в лікуванні запальної хвороби.

Згідно з ще одним аспектом винахід стосується застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, як визначено вище, у виготовленні медикаменту для застосування в

лікуванні обструктивної хвороби дихальних шляхів, як-то астми або COPD.

У контексті цього опису термін "терапія" також охоплює "профілактику", якщо немає особливих показань проти. Терміни "терапевтичний" та "терапевтично" слід тлумачити відповідно.

Профілактика, як очікують, є особливо важливою для лікування осіб, які страждали раніше від, або, як вважається, мають збільшений ризик до даної хвороби або стану. Особи при ризику розвитку конкретної хвороби або стану, звичайно, охоплюють тих, що мають сімейний анамнез хвороби або стану, або тих, яких ідентифіковано генетичним тестуванням або скринінгом як, зокрема, чутливих до розвитку хвороби або стану.

Винахід, крім того, стосується способу лікування хвороби або стану, де інгібування MMP12 та/або MMP9 є корисним, котрий полягає в застосуванні пацієнтові терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, як визначено вище.

Винахід також стосується способу лікування обструктивної хвороби дихальних шляхів, наприклад, астми або COPD, котрий полягає в застосуванні пацієнтові терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, як визначено вище.

Для вищезгаданих терапевтичних застосувань дози слід, безсумнівно, змінювати залежно від застосованої сполуки, режиму застосування, бажаного лікування та розладу, який лікують. Добова доза сполуки формули (I)/солі (активного інгредієнту) має бути у межах 0,001 мг/кг-75 мг/кг, зокрема, 0,5 мг/кг-30 мг/кг. Цю добову дозу можна надавати у розподілених дозах, як потрібно. Звичайно, одиничні дозовані форми повинні містити, приблизно, 1 мг-500 мг сполуки цього винаходу.

Сполуки формули (I) та її фармацевтично прийнятні солі можна застосовувати як такі, але слід, звичайно, застосувати у формі фармацевтичної композиції, де формула (I) сполука/сіль (активний інгредієнт) є в асоціації з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем чи носієм. Залежно від режиму застосування фармацевтичні композиції, переважно, повинні містити 0,05-99 мас. % (відсоток маси), більш переважно 0,10-70 мас. % активного інгредієнту, та 1-99,95 мас. %, більш переважно 30-99,90 мас. % фармацевтично прийнятного ад'юванту, розріджувачу чи носія, усі масові відсотки - на основі загальної композиції. Звичайні способи для вибору та отримання придатної фармацевтичної композиції описано, наприклад, у ["Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988].

Таким чином, заявлений винахід також стосується фармацевтичної композиції, що містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, як визначено вище, в асоціації з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем чи носієм.

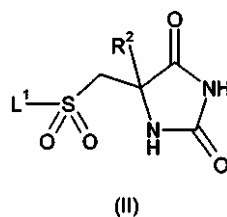
Винахід, крім того, стосується способу отримання фармацевтичної композиції винаходу, котрий полягає в застосуванні перемішування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі як визначено вище, з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем чи носієм.

Фармацевтичні композиції цього винаходу можна застосовувати стандартним способом при хворобі або стані, що потребує лікування, наприклад, перорально, місцево, парентерально, букально, назально, вагінально, ректально або інгаляцією. Для цього сполуки цього винаходу можна формувати способами, відомими у рівні техніки, наприклад, у вигляді таблеток, капсул, водних або масляних розчинів, суспензій, емульсій, кремів, мазей, гелів, назальних спреїв, супозиторіїв, тонко диспергованих порошків або аерозолів для інгаляції, та для парентерального застосування (охоплюючи внутрішньовенне, внутрішньом'язове або вливанням) стерильні водні або масляні розчини або суспензії або стерильні емульсії.

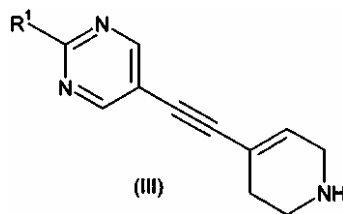
На додаток до сполук заявленого винаходу фармацевтичні композиції цього винаходу також можуть містити або бути співзастосованими (одночасно або послідовно) з одним або більше визначеними вище фармакологічними засобами в лікуванні одної або більше хвороб або станів, як-то продуктом "Symbicort" (торгова марка).

Заявлений винахід, крім того, стосується способу отримання сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі, як визначено вище, котрий полягає у:

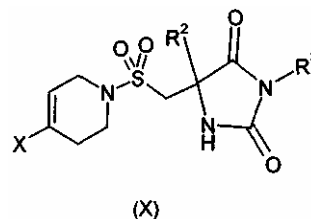
а) реакції сполуки формули (II)



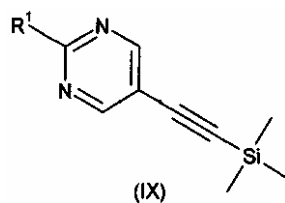
де R<sup>2</sup> визначено вище у формулі (I), та L<sup>1</sup> - відщеплювана група, зі сполукою формули (III) (або її сіллю)



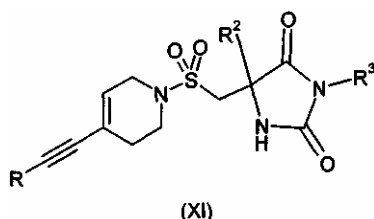
де R<sup>1</sup> визначено вище у формулі (I); або  
b) реакції сполуки формули (X)



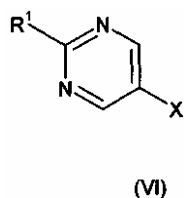
де R<sup>2</sup> визначено вище у формулі (I), R<sup>3</sup> - H або придатна захисна група, та X - відщеплювана група, як-то галогенід або трифлат; з ацетиленовою сполукою формули (IX)



де R<sup>1</sup> визначено вище у формулі (I); або  
с) реакції сполуки формули (XI)



де R - H або триметилсиліл, R<sup>2</sup> визначено вище у формулі (I), та R<sup>3</sup> - H або придатна захисна група; з арилгалогенідом або трифлатом формули (VI)

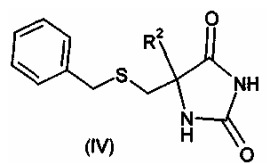


де R<sup>1</sup> визначено вище у формулі (I), та X - галогенід або трифлат; та, як варіант, далі - в утворенні її фармацевтично прийнятної солі.

У вищезазначеному способі (а), придатні відщеплюванні групи L<sup>1</sup> охоплюють галоген, зокрема, хлор. Реакцію, переважно, проводять у придатно-

му розчиннику, як варіант, у присутності доданої основи протягом придатного періоду часу, звичайно, 0,5-24 години, при температурі між зовнішньою та температурою кипіння під зворотним холодильником. Звичайно, застосовують розчинники піридин, диметилформамід, тетрагідрофуран, ацетонітрил або дихлорметан. При застосуванні доданої основи вона може бути органічною основою, як-то триетиламіном діізопропілетиламіном, N-метилморfolіном або піридином, або неорганічною основою, як-то карбонатом лужного металу. Реакцію, звичайно, проводять при зовнішній температурі протягом 0,5-16 годин, або до досягнення завершення реакції, як визначено хроматографічним або спектроскопічним способами. Реакції сульфоніл галогенідів з різними первинними та вторинними амінами добре відомі у літературі, та варіації умов слід знати фахівцям.

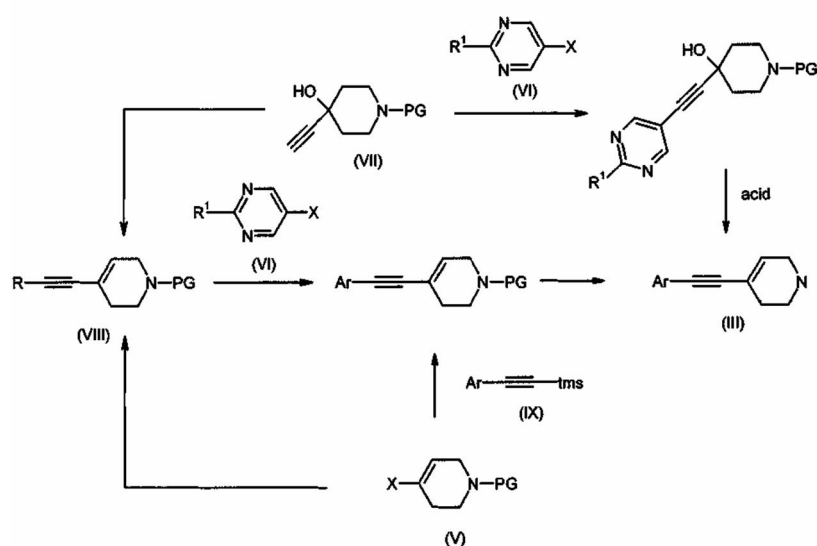
Сульфоніл хлориди формули (II) (де L<sup>1</sup> - хлор) легко отримують окиснювальним хлоруванням сполук формули (IV)



застосовуючи способи, що є очевидними для фахівців [Mosher, J., J. Org. Chem. 1958. 23,1257; Griffith, O., J. Biol. Chem. 1983. 258, (3), 1591; WO 02/074767].

Сполуки формули (III) можна отримувати різними способами, описаними у літературі, або варіаціями, які зрозумілі фахівцям синтетичної органічної хімії. Придатні способи охоплюють, але без обмеження, описані нижче та показані у Схемі 1.

Схема 1



У Схемі 1 PG - придатна захисна група, як-то t-Бос; X - відщеплювана група, як-то галогенід або

трифлат; R - гідроген або триметилсиліл; tms - триметилсиліл; Ar - кільце 5-піримідинілу, заміще-

не на 2-позиції R<sup>1</sup>; та R<sup>1</sup>, як визначено вище у формулі (I).

Реакція між похідним арилу або вінілу [(V) або (VI)] та ацетилену [(VII), (VIII) або (IX)] можуть завершуватися, як варіант, у придатному розчиннику, із застосуванням каталізатору, як-то придатної солі паладію, наприклад, PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> з/або без доданої солі міді, та з аміною основою, як-то піперидином, триетиламіном, діізопропіламіном або діізопропілетиламіном. Доданим розчинником може бути, наприклад, тетрагідрофуран, ацетонітрил або N,N-диметилформамід. Реакцію проводять при температурі між зовнішньою та температурою кипіння під зворотним холодильником протягом від 20 хвилин до декількох годин до завершення реакції, показаного хроматографічним або спектроскопічним способами. Реакції, каталізовані паладієм, які залучають ацетиленові сполуки, добре відомі у літературі, та варіації умов очевидні для фахівців. Загальну методологію цього типу, наприклад, описано в [Brandsma, L, Synthesis of Acetylenes, Allenes та Cumulenes: Methods and Techniques, 2004, Elsevier Academic Press, chapter 16, сторінки 293-317; Transition Metals-Catalysed Couplings of Acetylenes з sp<sup>2</sup>-halides, Sonogashira, K., J. Organomet. Chem., 2002, 653, 46-49; Tykwinski, R. R., Angew. Chem. Int. Ed., 2003, 42, 1566-1568].

Вінілтрифлат (V), де X - O-трифлат, та PG - t-Boc, можна отримувати, як описано у літературі [Wustrow, D. J., Синтез, 1991, 993-995].

Придатні заміщені піримідинілгалогеніди або трифлати формули (VI) можна отримувати різними способами, описаними у літературі, наприклад, [Budesinsky, Z. et al., Coll. Czech. Chem. Commun., 1949, 14, 223-235; Takahashi et al., Chem. Pharm. Bull., 1958, 6, 334-337; US 4,558,039].

Ацетиленову сполуку (VIII) можна отримувати із трифлату (V) через каталізовану паладієм реакцію сполучення з триметилсилілацетиленом, а потім, якщо потрібно, зняття захисту триметилсилілу, застосовуючи, наприклад, калій флуорид у придатному розчиннику. Альтернативно, отримання сполуки (VIII), де R - H та PG - t-Boc, можна завершити дегідратацією сполуки формули (VII), наприклад, мезилуванням, а потім - обробкою придатною основою, наприклад, діізопропілетиламіном.

Сполуки ацетиленового гетероарила формули (IX) можна отримувати різними способами, описаними у літературі.

У способі (b) реакцію проводили, застосовуючи способи, подібні до описаних вище для отримання сполук формули (VIII). Якщо потрібно, один нітроген у кільці гідантоїну сполуки формули (X) можна захищати, застосовуючи SEMCl (R<sup>3</sup>=SEM) перед проведенням реакції, каталізованої паладієм. Сполуки формули (X) можна отримувати каталізованим кислотою зняттям захисту сполуки формули (V) (PG=t-Boc), а потім - реакцією зі сполукою формули (II), описаним вище шляхом для отримання сполук формули (I).

У способі (c), реакцію проводили подібним до описаного вище способом для отримання сполук формули (VIII). Якщо потрібно, один нітроген кільця гідантоїну сполук формули (XI) можна захищати, застосовуючи SEMCl (R<sup>3</sup>=SEM) перед прове-

денням каталізованою паладієм реакції. Сполуку (XI) легко отримують із сполуки (VIII), де R - триметилсиліл та PG - t-Boc, каталізованим кислотою видаленням групи t-Boc (наприклад, застосовуючи ацетилхлорид у метанолі), а потім - реакцією зі сполукою формули (II), як описано вище для реакції між сполуками формули (II) та (III).

Фахівцям зрозуміло, що у способах заявленого винаходу деякі потенційно реактивні функціональні групи, як-то гідроксил або аміногрупи у вихідних реагентах або інтермедіатах, можуть потребувати захисту придатними захисними групами. Таким чином, отримання сполук винаходу можуть на різних етапах охоплювати додавання та видалення одної або більше захисних груп.

Придатні захисні групи та подробиці способів додавання та видалення таких груп описано в ['Protective Groups in Organic Chemistry', edited by J.W.F. McOmie, Plenum Press (1973) та 'Protective Groups in Organic Synthesis', 3rd edition, T.W. Greene та P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience (1999)].

Сполуки винаходу та інтермедіати, крім того, можна виділяти з їх реакційних сумішей та, якщо потрібно, далі очищати стандартними способами.

Заявлений винахід тепер пояснено посиланням на наступні приклади.

Загальні способи

Сpektри <sup>1</sup>H ЯМР та <sup>13</sup>C ЯМР реєстрували на приладі Varian Inova 400МГц або Varian Mercury-VX 300МГц. Головні піки хлороформу-d (δ<sub>H</sub> 7,27млн<sup>-1</sup>), диметилсульфоксиду-d<sub>6</sub> (δ<sub>H</sub> 2,50млн<sup>-1</sup>), ацетонітрилу-d<sub>3</sub> (δ<sub>H</sub> 195млн<sup>-1</sup>) або метанолу-d<sub>4</sub> (δ<sub>H</sub> 3,31млн<sup>-1</sup>) застосовували як внутрішні еталони. Колонкову хроматографію проводили, застосовуючи силікагель (0,040-0,063мм, Merck). У препаративній ВЕРХ застосовували колонку Kromasil KR-100-5-C<sub>18</sub> (250×20мм, Akzo Nobel) та суміші ацетонітрилу/води з 0,1% ТФК при швидкості потоку 10мл/хвилин. Якщо не вказано інше, вихідні матеріали були комерційно доступними. Усі розчинники та промислові реагенти були лабораторної якості та застосовували як отримані.

Для аналізу РХ/МС застосовували наступний спосіб:

Прилад Agilent 1100; колонка Waters Symmetry 2,1×30мм; Масс XIAT; швидкості потоку 0,7мл/хвилин; довжина хвилі 254 або 220нм; розчинник А: вода+0,1% ТФК; розчинник В: ацетонітрил+0,1% ТФК; градієнт 15-95%/В 2,7 хвилин, 95% В 0,3 хвилин.

Для РХ-аналізу застосовували наступний спосіб:

Спосіб А. Прилад Agilent 1100; колонка: Kromasil C18 100×3мм, розмір частинок 5мкм, розчинник А: 0,1%ТФК/вода, розчинник В: 0,08%ТФК/ацетонітрил. швидкість потоку 1мл/хвилину, градієнт 10-100%/В 20 хвилин, 100% В 1 хвилина. Поглинання вимірювали при 220, 254 та 280нм.

Спосіб В. Прилад Agilent 1100; колонка: XTerra C 8, 100×3мм, розмір частинок 5мкм, розчинник А: 15ммоль NH<sub>3</sub>/вода, розчинник В: ацетонітрил, швидкість потоку 1мл/хвилин, градієнт 10-100%/В 20 хвилин, 100% В 1 хвилина. Поглинання вимірювали при 220, 254 та 280нм.

Скорочення: Ас - ацетил



ДМФ - N,N-диметилформамід

ДМСО - диметилсульфоксид

eq. - еквівалент

Et - етил

LDA - літій діізопропіламід

Me - метил

МС - мас-спектроскопія

трет - третинний

ТГФ - тетрагідрофуран

ТФК - трифлуороцтова кислота

Приклад 1

(5S)-5-([4-([2-циклопропілпіримидин-5-іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл)сульфоніл]метил]-5-метилімідазолідин-2,4-діон

Заголовну сполуку отримували наступним загальним способом Yamanaka et al., Synth. Commun., 1983, 312-314. До 5-бром-2-циклопропілпіримідину (110мг, 0,55ммоль) та (5S)-5-([4-етиніл-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл)сульфоніл]метил]-5-метилімідазолідин-2,4-діону (180мг, 0,61ммоль) у ТГФ (3мл) додавали Et<sub>3</sub>N (1мл) та ДМФ (1мл) при 35°C. Після утворення розчину додавали CuI (4ммоль%) та PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (2ммоль%) і суміш гріли при 72°C протягом 6 годин. Суміш розподіляли між EtOAc (15мл) та водою (10мл), і водний шар екстрагували 3 рази EtOAc. Поєднані органічні шари сушили та концентрували для отримання сирого твердого продукту як жовтого масла. Заголовну сполуку (65мг) отримували очисткою, застосовуючи препаративну ВЕРХ.

<sup>1</sup>H-ЯМР (ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 10,75 (1H, c); 8,72 (2H, c); 8,03 (1H, c); 6,28 (1H, m); 3,84 (2H, m); 3,47 (2H, q); 3,30 (2H, m); 2,37 (2H, m); 2,21 (1H, m); 1,33 (3H, c); 1,10 (2H, m); 1,02 (2H, m).

XIAT-MC m/z: 416 [M<sup>+</sup>].

а) 5-Бром-2-циклопропілпіримідин

5-Бром-2-циклопропілпіримідин отримували способом [Budesinsky, Z., Coll. Czech. Chem. Commun., 1949, 14, 223-235]. Циклопропанкарбоксимідат гідрохлорид (2,5г, 20,7ммоль) розчиняли у EtOH (4мл), додавали тільки що отриманий 4,1М NaOEt у EtOH (4,8мл), а потім - мукобромідну кислоту (2,7г, 10,3ммоль). Суміш гріли до 56°C протягом 30 хвилин, додавали більше NaOEt у EtOH (4,1М, 3,2мл) та реакцію перемішували при 56 °C протягом ще 15 хвилин, і тоді при кімнатній температурі - протягом ночі. Розчинник випарювали, додавали водну HCl (2М, 10мл), коричневу тверду речовину відфільтровували. Водний шар 3 рази екстрагували дихлорметаном. Поєднані органічні шари сушили та концентрували для отримання коричневого масла, що разом з твердою речовиною дало сирий інтермедіат, 5-бром-2-циклопропілпіримідин-4-карбонову кислоту (1,6г). Сирий інтермедіат гріли при 140°C протягом 8 хвилин для отримання коричневого в'язкого масла, яке тоді частково розчиняли у дихлорметані. Розчин декантували від суміші та концентрували для отримання підзаголовної сполуки як масла (673мг).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 8,61 (2H, c); 2,25 (1H, m); 1,13 (4H, m).

XIAT-MC m/z: 199/201 1:1 [M<sup>+</sup>].

б) (5S)-5-([4-Етиніл-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл)сульфоніл]метил]-5-метилімідазолідин-2,4-діон

(5S)-5-Метил-5-([4-([триметилсиліл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл)сульфоніл]метил]імідазолідин-2,4-діон (2,27г, 6,0ммоль) та калій флуорид (1,07г, 18,4ммоль) перемішували протягом ночі при кімнатній температурі у метанолі (50мл). Розчинник випарювали, розчинений у EtOAc залишок промивали водою, а потім - розсоллом, сушили безводним натрій сульфатом та випарювали. Залишок очищали колонковою хроматографією, елюючи ізогексаном/EtOAc 1:1 для отримання твердого продукту (1,81г).

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,66 (3H, c), 2,37 (2H, dt), 2,95 (1H, c), 3,24-3,50 (4H, m), 3,89 (2H, t), 6,11 (1H, c), 6,68 (1H, c), 8,75 (1H, c).

XIAT-MC m/z: 298 [M<sup>+</sup>].

с) (5S)-5-Метил-5-([4-([триметилсиліл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл)сульфоніл]метил]імідазолідин-2,4-діон

4-([Триметилсиліл)етиніл]-1,2,3,6-тетрагідропіридин гідрохлорид (3,43г, 15,9ммоль) перемішували у ТГФ (100мл) з [(4S)-4-метил-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл]метансульфонілхлоридом (3,39г, 15ммоль) та охолоджували у льодяній соляній (температура приблизно -10°C). Краплями додавали N-етилдіізопропіламін (5,13мл, 30ммоль) у ТГФ (100мл) протягом 2 годин та суміш перемішували подальші 2 години. Реакційну суміш промивали водою, водний шар екстрагували EtOAc (x2), органічні фази поєднували, промивали 2М HCl (x2), насиченим розчином гідрокарбонату (x2), а потім - розсоллом, сушили безводним натрій сульфатом та випарювали для отримання сирого твердого продукту (5,06г). Його застосовували без наступної очистки.

<sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 10,74 (1H, c), 8,01 (1H, c), 6,13 (1H, квінтет), 3,75 (2H, d), 3,44 (2H, dd), 3,23 (2H, t), 2,18-2,28 (2H, m), 1,32 (3H, c), 1,32 (9H, c).

XIAT-MC m/z: 370 [M<sup>+</sup>].

д) 4-([Триметилсиліл)етиніл]-1,2,3,6-тетрагідропіридин гідрохлорид

трет-Бутил 4-([триметилсиліл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-карбоксилат (2,75г, 9,8ммоль) перемішували у метанолі (10мл), та краплями додавали ацетилхлорид (2,1мл, 29,2ммоль). Протягом додавання температура зростала від 18°C до 30°C, і суміш тримали при 40°C доки ТШХ не припинили виявляти залишки вихідного матеріалу. Суміш охолоджували до кімнатної температури, додавали EtOAc (15мл) та тверду речовину відфільтровували для отримання білуватого твердого продукту (1,6г).

<sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 9,46 (2H, c), 6,09 (1H, квінтет), 3,60 (2H, dd), 3,13 (2H, t), 2,35 (2H, t d), 0,17 (8H, c).

XIAT-MC m/z: 180 [M<sup>+</sup>].

е) трет-Бутил 4-([триметилсиліл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-карбоксилат

Отримано із N-Вос-піперидин-4-ону, як у [WO 96/05200].

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 6,05 (1H, c), 3,94 (2H, dd), 3,47 (2H, t), 2,23 (2H, dq), 1,45 (10H, c), 0,15 (8H, c).

GCMS-MC m/z: 223 [M-55].

ф) [(4S)-4-Метил-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл]метансульфонілхлорид

Отримано згідно зі способами, описаними у наступних публікаціях: [Mosher, J., J. Org. Chem. 1958. 23, 1257; Griffith, O., J. Biol. Chem. 1983. 258, (3), 1591; та WO 02/074767].

#### Приклад 2

(5S)-5-Метил-5-({[4-{[2-(метилтіо)піримідин-5-іл]етиніл}-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил)імідазолідин-2,4-діон

Заголовну сполуку отримували загальним способом, описаним [Nishihara et al., J. Org. Chem., 2000, 65, 1780-1787]. До розчину 2-(метилтіо)-5-[(триметилсиліл)етиніл]піримідину (0,55г, 2,47ммоль) та 1-{{[4-метил-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл]метил}сульфоніл}-1,2,3,6-тетрагідропіридин-4-іл трифлуорметансульфонату (0,94г, 2,22ммоль) у ДМФ (5мл) додавали CuI (10ммоль%) та PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (5ммоль%), і суміш гріли при 85°C протягом 6 годин.

Суміш розподіляли між EtOAc (20мл) та водою (10мл), водний шар екстрагували 3 рази EtOAc. Поєднані органічні шари промивали розсоллом, водою та концентрували до коричневого масла (1,6г). Заголовну сполуку отримували як тверду речовину (10мг) після очистки препаративною ВЕРХ (застосовуючи колонку Xterra-Prep-MS-C18 (50×19) з 12 хвилинним градієнтом 5-35% ацетонітрилу у воді з 0,06% NH<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H-ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>): δ 10,75 (1H, c); 8,73 (2H, c); 8,02 (1H, c); 6,29 (1H, m); 3,84 (2H, m); 3,48 (2H, q); 3,30 (2H, m); 2,53 (3H, c); 2,38 (2H, m); 1,33 (3H, c).

ХІАТ-МС m/z: 422 [M<sup>+</sup>].

#### а) 5-Бром-2-(метилтіо)піримідин

Підзаголовну сполуку отримували наступним способом [Takahashi et al., Chem. Pharm. Bull., 1958, 6, 334-337]. До розчину 5-бром-2-хлорпіримідину (1,0г, 5,2ммоль) у EtOH додавали натрій метантіолат (0,36г, 5,2ммоль) при кімнатній температурі та реакційну суміш перемішували протягом ночі. Суміш розподіляли між EtOAc (15мл) та водою (10мл). Водний шар екстрагували двічі EtOAc та промивали розсоллом. Поєднані органічні шари сушили та концентрували для отримання підзаголовної сполуки як білого твердого продукту (1,1г).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CD<sub>3</sub>OD): δ 8,66 (2H, c); 2,54 (3H, c).

ХІАТ-МС m/z: 204/206 1:1 [M<sup>+</sup>].

#### б) 2-(Метилтіо)-5-

[(триметилсиліл)етиніл]піримідин

Підзаголовну сполуку отримували наступним способом [Yamanaka et al., Synth. Commun., 1983, 312-314]. До 5-бром-2-(метилтіо)піримідину (0,60г, 2,9ммоль) у Et<sub>3</sub>N (3мл) додавали ДМФ (0,5мл), CuI (5ммоль%) та PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (3ммоль%). Суміш гріли при 95°C протягом 12 годин у герметизованій трубці і тоді розподіляли між Et<sub>2</sub>O (30мл) та водою (10мл). Водний шар екстрагували двічі Et<sub>2</sub>O, поєднані органічні шари промивали водою, сушили та концентрували для отримання сирого твердого продукту як коричневого масла. Сполуку очищали флеш-хроматографією, застосовуючи градієнт 10-60% EtOAc у гептані, що дало підзаголовну сполуку як безбарвне масло (0,55г).

<sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 8,56 (2H, c); 2,58 (3H, c); 0,27 (9H, c).

ХІАТ-МС m/z: 223 [M<sup>+</sup>].

с) 1-{{[4S)-Метил-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл]метил}сульфонал}-1,2,3,6-тетрагідропіридин-4-ілтрифлуорметансульфонат

4-{{[Трифлуорметил]сульфоніл]окси}-1,2,3,6-тетрагідропіридиній хлорид реагував з [[4S)-4-метил-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл]метансульфонілхлоридом (Приклад 1f) шляхом, наприклад, 1с.

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>) δ 10,77 (1H, c), 8,04 (1H, d), 6,10 (1H, t), 3,88 (2H, q), 3,36-3,58 (4H, m), 2,50-2,56 (2H, m), 1,32 (3H, c).

ХІАТ-МС m/z: 422 [M<sup>+</sup>].

d) 4-{{[Трифлуорметил]сульфоніл]окси}-1,2,3,6-тетрагідропіридиній хлорид трет-Бутил

4-{{[Трифлуорметил]сульфоніл]окси}-3,6-дигідропіридин-1(2H)-карбоксилат (3,77г, 11,4ммоль) змішували з ТГФ (15мл) і концентрованою гідрохлоридною кислотою (15мл). Через 1 годину суміш випарювали та сушили азеотропним випарюванням з толуолом та метанолом для отримання бежевої твердої речовини (88%), яку можна застосовувати без наступної очистки.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 9,72 (2H, c), 6,22 (1H, c), 3,75 (2H, q), 3,30 (2H, t), 2,65 (2H, td).

ХІАТ-МС m/z: 232 [M<sup>+</sup>].

e) трет-Бутил 4-{{[Трифлуорметил]сульфоніл]окси}-3,6-дигідропіридин-1(2H)-карбоксилат

Розчин N-вос-піперидин-4-ону (10,14г, 50ммоль) у ТГФ (80мл) додавали до охолодженого розчину (-78°C) 2M LDA у ТГФ (30мл, 60ммоль, 1,2екв.) та ТГФ (80мл) приблизно протягом 30 хвилин. Після перемішування протягом наступних 10 хвилин додавали розчин 1,1,1-трифлуор-N-феніл-N-

[[Трифлуорметил]сульфоніл]метансульфонамиду (20г, 56ммоль, 1,1екв.) у ТГФ (80мл), і суміші давали нагрітися до кімнатної температури. Розчин промивали водою, водний шар промивали EtOAc (×2), органічні фази поєднували та промивали насиченим розчином амоній хлориду, розсоллом, сушили безводним натрій сульфатом та випарювали. Залишок фільтрували через нейтральний алюміній оксид (200г), елюючи н-гептаном, а потім - н-гептаном/EtOAc 9:1. Після випарювання <sup>1</sup>H-ЯМР показав деяку присутність засобу трифлатування, але сирий продукт застосовували без наступної очистки. Вихід (13,17г, 79,5%). [Wustrow, D. J., Синтез, 1991, 993-995].

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 5,77 (1H, c), 4,05 (2H, q), 3,64 (2H, t), 2,45 (2H, квінтет), 1,48 (9H, c).

GCMS-МС m/z: 274 [M-57].

#### Приклад 3

(5S)-5-Метил-5-{{[4-{[2-(трифлуорметил)піримідин-5-іл]етиніл}-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил}імідазолідин-2,4-діон

Заголовну сполуку отримували з 48% виходом із 2-(трифлуорметил)-5-[(триметилсиліл)етиніл]піримідину способом, описаним у прикладі 2. Білий твердий продукт із 95% EtOH, розклад. 240-245°C.

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>) δ 10,8 (1H, br c), 9,16 (2H, c), 8,05 (1H, c), 6,42 (1H, m), 3,88 (2H, m), 3,56 (1H,

d), 3,42 (1H, d), 3,32 (2H, m), 2,41 (2H, m) та 1,33 (3H, c).

ХІАТ-МС m/z: 444 [МН<sup>+</sup>].

а) 2-(Трифлуорметил)-5-[(триметилсиліл)етиніл]піримідин

2-(Трифлуорметил)піримідин-5-іл трифлуорметансульфонат (0,45г, 1,5ммоль) та сухий триетиламін (1,0мл) змішували у склянці з ковпачком. Розчин продували сухим аргоном протягом 10 хвилин. Додавали триметилсилілацетилен (0,43мл, 3,0ммоль), добре розмолотий CuI (0,010г, 0,05ммоль) та PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0,020г, 0,030ммоль). Склянку герметизували та гріли у алюмінієвому блоці при 80°C. Після перемішування протягом 5 годин летючі випарювали при кімнатній температурі (продукт сублімується при 35-40°C/10мбар). Чорний залишок отримували у EtOAc (20мл) та концентрували силікагелем (приблизно 5-10г) до сухості. Флеш-хроматографія через силікагель з EtOAc/гептан (1:30) дала 2-(трифлуорметил)-5-[(триметилсиліл)етиніл]піримідин як білий твердий продукт (0,35г, 95%), т.пл. 75,5-76,0°C.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,90 (2H, c) та 0,30 (9H, c).

ХІАТ-МС m/z: 245 [МН<sup>+</sup>].

б) 2-(Трифлуорметил)піримідин-5-іл трифлуорметансульфонат

Флуораль (1,01мл, 6,0ммоль) додавали краплями при перемішуванні до суміші 2-(трифлуорметил)піримідин-5-олу [отримано згідно з патентом США 4,558,039] (0,82г, 5,0ммоль), толуолу (10мл) та водного трикалій фосфату (30мас.%, 10мл) при температурі льодяної бані [Frantz et al., Organic Letters, 2002, 4(26), 4717-4718]. Після завершення додавання льодяну баню видаляли і розчин перемішували при зовнішній температурі протягом 30 хвилин. Чисті фази розділяли, і органічний шар промивали водою, тоді розсолом. Сушка органічної фази безводним натрій сульфатом, фільтрування та концентрування роторним випарювачем при кімнатній температурі дало 2-(трифлуорметил)-піримідин-5-іл трифлуорметансульфонат як безбарвне масло (1,38г, 93%). Т.к. 75-77°C (10мбар).

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,90 (2H, c).

Приклад 4

(5S)-5-Метил-5-({[4-[(2-метилпіримідин-5-іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил)імідазолідин-2,4-діон

трет-Бутил 4-[(2-метилпіримідин-5-іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-карбоксилат обробляли ТФК у EtOH, після завершення реакції розчинник випарювали і суміш сушили виморожуванням. Залишок переносили у ДМФ (1,5мл) та суміш охолоджували до 4°C. Додавали N-етилдіізопропіламін (2,2екв.) і суміш перемішували протягом 20 хвилин перед додаванням [(4S)-4-метил-2,5-діоксоімідазолідин-4-іл]метансульфонілхлориду (Приклад 1f) (1,1екв.) у ДМФ (1мл). Суміш перемішували протягом 10 хвилин при 4°C, тоді перемішували протягом 2 годин при кімнатній температурі перед випарюванням розчиннику. Продукт очищали препаративною ВЕРХ для отримання заголовної сполуки (0,022г, 30%).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>): 10,75 (1H, c); 8,80 (2H, c); 8,02 (1H, c); 7,80 (1H, m); 7,32 (1H, d, J=8,1Гц); 6,24 (1H, c); 3,81 (2H, d, J=3,2Гц); 3,34-3,21 (2H, m); 3,30

(3H, c); 2,75 (2H, q, J=20,8Гц); 2,34 (2H, m); 1,29 (3H, c); 1,19 (3H, t, J=7,6Гц).

ХІАТ-МС m/z: 390 [МН<sup>+</sup>].

а) 2-Метил-5-[(триметилсиліл)етиніл]піримідин 5-Бром-2-метил-піримідин [отримано згідно з патентною заявкою Великобританії GB 2157288] (0,2г, 1,16ммоль), (триметилсиліл)ацетилен (164мкл, 1,3ммоль), CuI (0,022г, 0,116ммоль) та PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0,082г, 0,116ммоль) у Et<sub>3</sub>N (2мл) та ТГФ (2мл) перемішували при 80°C протягом 4 годин. Після охолодження, розчинники видаляли під вакуумом та залишок хроматографували для отримання підзаголовної сполуки (0,16г, 50%).

ХІАТ-МС m/z: 191 [МН<sup>+</sup>].

б) трет-Бутил 4-[(2-метилпіримідин-5-іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-карбоксилат

До розчину CuCl (1мг, 0,01ммоль) та PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0,003г, 0,004ммоль) у ДМФ (2мл) при кімнатній температурі додавали 2-метил-5-[(триметилсиліл)етиніл]піримідин (0,088г, 0,462ммоль) та трет-бутил 4-[(триметилсульфоніл)окси]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-карбоксилат (Приклад 2е) (0,183г, 0,555ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 8 годин при 80°C. Після охолодження, суміш гасили 1Н НСІ та екстрагували ефіром (3х). Поєднані органічні шари промивали насиченим водним розчином NaHCO<sub>3</sub>, розсолом та сушили. Фільтрування та випарювання дали коричневе масло, котре очищали ВЕРХ для отримання підзаголовної сполуки (0,062г, 45%).

ХІАТ-МС m/z: 300 [МН<sup>+</sup>].

Приклад 5

(5S)-5-({[4-[(2-Етилпіримідин-5-іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил)-5-метилімідазолідин-2,4-діонтрифлуорацетат

Заголовну сполуку отримували шляхом, описаним у Прикладі 4. Вихідну сполуку 5-бром-2-етил-піримідин отримували, застосовуючи методологію [GB 2157288].

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>): 10,75 (1H, c); 8,82 (2H, c); 8,05 (1H, c); 6,24 (1H, c); 3,81 (2H, d, J=3,2Гц); 3,34-3,21 (2H, m); 3,30 (3H, c); 2,92 (2H, q, J=17,8Гц); 2,75 (2H, q, J=20,8Гц); 2,34 (2H, m); 1,26 (3H, t, J=12,8Гц); 1,19 (1H, c).

ХІАТ-МС m/z: 404 [МН<sup>+</sup>].

Приклад 6

(5S)-5-({[4-[(2-Метоксипіримідин-5-іл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил)-5-метилімідазолідин-2,4-діон

Заголовну сполуку отримували із 5-бром-2-метоксипіримідину та (5S)-5-({[4-етиніл-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл}метил)-5-метилімідазолідин-2,4-діону шляхом, описаним у Прикладі 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>): δ 10,75 (1H, c); 8,73 (2H, c); 8,04 (1H, c); 6,26 (1H, c); 3,95 (3H, c); 3,81 (2H, d, J=3,2Гц); 3,34-3,21 (2H, m); 3,30 (3H, c); 2,75 (2H, q, J=20,8Гц); 2,34 (2H, m); 1,19 (3H, t, J=7,6Гц).

ХІАТ-МС m/z: 406 [МН<sup>+</sup>].

Фармакологічний приклад

Аналізи виділеного Ферменту

MMP12

Каталітичну зону рекомбінантного MMP12 людини можна експресувати та очищати, як описано [Parkar A.A. et al., (2000), Protein Expression та

Purification, 20, 152]. Очищений фермент можна застосовувати для контролю активності інгібіторів наступним чином: MMP12 (50нг/мл кінцева концентрація) інкубують протягом 60 хвилин при кімнатній температурі синтетичним субстратом Mca-Pro-Cha-Gly-Nva-His-Ala-Dpa-NH<sub>2</sub> (10мкмоль) у лабораторному буфері (буфер 0,1М "Трис-НСІ" (торгова марка), рН 7,3, який містить 0,1моль NaCl, 20ммоль CaCl<sub>2</sub>, 0,020ммоль ZnCl та 0,05% (маса в об'ємі) "Brij 35"<sup>а</sup> (торгова марка) детергенту) у присутності (10 концентрацій) або відсутності інгібіторів. Активність визначено вимірюванням флуоресценції при λ<sub>зб</sub> 320нм та λ<sub>ем</sub> 405нм. Відсоток інгібування розраховують наступним чином:

% інгібування дорівнює [Флуоресценція<sub>плюс інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>] ділена на [Флуоресценція<sub>мінус інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>].

#### MMP8

Очищену про-MMP8 отримано із Calbiochem. Фермент (при 10мкг/мл) активовано п-аміно-феніл-меркурій ацетатом (APMA) при 1ммоль протягом 2,5 годин, 35°C. Активований фермент можна застосовувати для контролю активності інгібіторів наступним чином: MMP8 (200нг/мл кінцева концентрація) інкубують протягом 90 хвилин при 35°C (80% H<sub>2</sub>O) з синтетичним субстратом Mca-Pro-Cha-Gly-Nva-His-Ala-Dpa-NH<sub>2</sub> (12,5мкмоль) у лабораторному буфері (0,1М "Трис-НСІ" (торгова марка) буфер, рН 7,5, що містить 0,1М NaCl, 30ммоль CaCl<sub>2</sub>, 0,040ммоль ZnCl та 0,05% (маса в об'ємі) "Brij 35" (торгова марка) детергенту) у присутності (10 концентрацій) або відсутності інгібіторів. Активність визначено вимірюванням флуоресценції при λ<sub>зб</sub> 320нм та λ<sub>ем</sub> 405 нм. Відсоток інгібування розраховують наступним чином:

% інгібування дорівнює [Флуоресценція<sub>плюс інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>] ділена на [Флуоресценція<sub>мінус інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>].

#### MMP9

Каталітичну зону рекомбінантної MMP14 людини експресували, тоді очищали Zn-хелатною колонковою хроматографією з, а потім - гідроксамат-спорідненою колонковою хроматографією. Фермент можна застосовувати для контролю активності інгібіторів наступним чином: MMP9 (кінцева концентрація 5нг/мл) інкубують протягом 30 хвилин при кімнатній температурі синтетичним субстратом Mca-Pro-Cha-Gly-Nva-His-Ala-Dpa-NH<sub>2</sub> (5мкмоль) у лабораторному буфері (0,1М "Трис-НСІ" (торгова марка) буфер, рН 7,3, що містить 0,1М NaCl, 20ммоль CaCl<sub>2</sub>, 0,020ммоль ZnCl та 0,05% (маса в об'ємі) "Brij 35"<sup>а</sup> (торгова марка) детергенту) у присутності (10 концентрацій) або відсутності інгібіторів. Активність визначено вимірюванням флуоресценції при λ<sub>зб</sub> 320нм та λ<sub>ем</sub> 405 нм. Відсоток інгібування розраховують наступним чином:

% інгібування дорівнює [Флуоресценція<sub>плюс інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>] ділена на [Флуоресценція<sub>мінус інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>].

#### MMP14

Каталітичну зону рекомбінантної MMP14 людини можна експресувати та очищати, як описано [Parkar A.A. et al., (2000), Protein Expression and Purification, 20, 152]. Очищений фермент можна застосовувати для контролю активності інгібіторів

наступним чином: MMP14 (кінцева концентрація 10нг/мл) інкубують протягом 60 хвилин при кімнатній температурі синтетичним субстратом Mca-Pro-Cha-Gly-Nva-His-Ala-Dpa-NH<sub>2</sub> (10мкмоль) у лабораторному буфері (0,1М "Трис-НСІ" (торгова марка) буфер, рН 7,5, що містить 0,1М NaCl, 20ммоль CaCl<sub>2</sub>, 0,020ммоль ZnCl та 0,05% (маса в об'ємі) "Brij 35"<sup>а</sup> (торгова марка) детергенту) у присутності (5 концентрацій) або відсутності інгібіторів. Активність визначено вимірюванням флуоресценції при λ<sub>зб</sub> 320нм та λ<sub>ем</sub> 405нм. Відсоток інгібування розраховують наступним чином:

% інгібування дорівнює [Флуоресценція<sub>плюс інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>] ділена на [Флуоресценція<sub>мінус інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>].

Протокол тестування у порівнянні з іншим матриксом металопротеїнази, яке охоплює MMP9 та застосовує експресований та очищений про-MMP, описано, наприклад, [C Graham Knight et al., (1992) FEBS Lett., 296(3), 263-266].

#### MMP19

Каталітичну зону рекомбінантної MMP19 людини можна експресувати та очищати, як описано [Parkar A.A. et al., (2000), Protein Expression and Purification, 20:152]. Очищений фермент можна застосовувати для контролю активності інгібіторів наступним чином: MMP19 (кінцева концентрація 40нг/мл) інкубують протягом 120 хвилин при 35°C синтетичним субстратом Mca-Pro-Leu-Ala-Nva-Dpa-Ala-Arg-NH<sub>2</sub> (5мкмоль) у лабораторному буфері (0,1М "Трис-НСІ" (торгова марка) буфер, рН 7,3, що містить 0,1М NaCl, 20ммоль CaCl<sub>2</sub>, 0,020ммоль ZnCl та 0,05% (маса в об'ємі) "Brij 35" (торгова марка) детергенту) у присутності (5 концентрацій) або відсутності інгібіторів. Активність визначено вимірюванням флуоресценції при λ<sub>зб</sub> 320нм та λ<sub>ем</sub> 405нм. Відсоток інгібування розраховують наступним чином:

% інгібування дорівнює [Флуоресценція<sub>плюс інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>] ділена на [Флуоресценція<sub>мінус інгібітор</sub>-Флуоресценція<sub>фон</sub>].

#### Зв'язування білку

Зв'язування білку плазми визначали ультрафільтруванням у форматі автоматизованого 96-коміркового аналізу. У кожному випадку тесту зв'язування білку плазми паралельно контролювали еталонну сполуку (будезонід).

Сполуки тесту (10ммоль, розчинено у ДМСО) додавали до плазми до кінцевої концентрації 10мкмоль та врівноважували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. 350мкл плазми переносили у планшет для ультрафільтрування, Місгосон-96 (10кДа cutoff, Millipore). Планшет для ультрафільтрування центрифугували при 3000G протягом 70 хвилин при кімнатній температурі. Після центрифугування, концентрацію сполуки в отриманій воді плазми (незв'язана фракція) визначали РХ-МС/МС, застосовуючи 3-точкову калібрувальну криву, та порівнювали з концентрацією у оригінальній spiked плазмі.

Аналіз проводили, застосовуючи як мобільну фазу систему хроматографічного градієнту з оцтовою кислотою/ацетонітрилом. Визначення робили, застосовуючи потрійний квадрупольний мас-спектрометр, API3000 або API4000, від Applied

Biosystem, з електророзпльовальним інтерфейсом.

Протокол визначення розчинності

Розчинність тест-сполуки у 0,1М фосфатному буфері, рН 7,4, визначали наступним чином:

Тест-сполуку (1мг) зважували в 2 мл склянці з кришкою з різьбленням та додавали 0,1М фосфатний буфер, рН 7,4. (1,00мл). Склянку зі зразками обробляли ультразвуком протягом, приблизно, 10 хвилин і тоді розміщали на струшувачі на ніч при 20°C. Потім для отримання прозорого розчину умісти зразку у склянці фільтрували через фільтр Millipore Millex-LH 0,45мкмоль у нову 2мл склянку. Прозорий розчин (40мкл) переносили у нову 2мл склянку та розбавляли 0,1М фосфатним буфером, рН 7,4 (960мкл).

Будували стандартну калібрувальну криву для кожної конкретної тест-сполуки, застосовуючи розчини відомої концентрації. Ці розчини відомої концентрації, звичайно, вибирали з концентрацією ~10мкг/мл та ~50мкг/мл. Їх отримували розчиненням сполуки відомої маси у 99,5% етанолі (500мкл) і тоді обробляли ультразвуком протягом одної хвилини, якщо потрібно. Якщо сполука цілком не розчинялася, додавали ДМСО (500мкл) і суміш додатково обробляли ультразвуком протягом одної хвилини. Тоді утворений розчин розбавляли до належного об'єму сумішшю ацетонітрилу/100ммоль амоній ацетату рН 5,5 20-50/80-50. Якщо потрібно, подальше розбавленням отримували розбавлений стандартний розчин.

Тоді розчини тест-сполуки та стандартні розчини аналізували ВЕРХ з УФ-визначенням, застосовуючи наступні параметри, і визначали розчинність тест-сполуки у 0,1М фосфатному буфері:

Апаратура ВЕРХ: HP1100/HP1050

Колонка: NuHURITY Advanced, 5мкмоль, 125×3мм

Температура колонки: RT

Швидкість потоку: 1мл/хвилину

Мобільна фаза: А=ацетонітрил

В=амоній ацетат 100ммоль, рН 5,5

Ізократичне співвідношення: А/В 20-50/80-50

УФ-детектор: 254нм (220-280нм)

Об'єм ін'єкції: 20мкл

Система управління хроматографічними даними: ATLAS/Xchrome

Протокол визначення LogD

Значення LogD при рН 7,4 визначали, застосовуючи спосіб струшування колби. Належну невелику кількість тест-сполуки розміщали у 2мл склянці з кришкою з різьбленням при кімнатній температурі, та додавали 600мкл 1-октанолу (насичений фосфатним буфером 10ммоль, рН 7,4). Склянку обробляли ультразвуком одну хвилину для повного розчинення сполуки. Тоді додавали 600мкл 10ммоль фосфатного буферу, рН 7,4 (насичений 1-октанолом) та склянку струшували протягом 4 хвилин до змішування двох фаз. Тоді дві фази розділяли центрифугуванням зразку при 1000g протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. Під кінець розділені водну та органічну фази подвійно аналізували ВЕРХ, застосовуючи наступні умови:

Інжектор: Spark Holland, Endurance

Насос: HP1050

Детектор: Kratos, Spectroflow 783

Колонка: YMC Pro C18, 5мкмоль, 50×4мм, Час-тина №.AS12S050504QT

Температура колонки: RT

Швидкість потоку: 1мл/хвилину

Мобільна фаза: А=ацетонітрил

В=25ммоль мурашина кислота

С=100ммоль амоній ацетат, рН 5,5

Д=0,05% амоній ацетат

Градiєнт: 0,00 хвилин А/В, А/С або А/Д 5/95

5,00 хвилин А/В, А/С або А/Д 100/0

7,00 хвилин А/В, А/С або А/Д 100/0

7,02 хвилин А/В, А/С або А/Д 5/95

УФ-детектор: 254нм

Об'єм ін'єкції: 50мкл нерозбавленої водної фази та 5мкл у 10 разів розбавленої (метанолом) органічної фази

Час циклу ін'єкції: 11 хвилин

Центрифуга: Hettich, Universal 30RF

Струшувач: Scientific Industries, Vortex-2 genie

Система управління хроматографічними даними: ATLAS/Xchrome

Значення logD<sub>pH7,4</sub> розраховували автоматично (дивись рівняння нижче) за допомогою Excel sheet після набору на клавіатурі відгуків сполук в області максимуму, котрі отримували із система управління хроматографічними даними ATLAS.

Розрахунок logD<sub>pH7,4</sub> згідно рівняння:

$$\text{LogD} = \frac{[\text{Аналіт}]_{\text{орг.}}}{[\text{Аналіт}]_{\text{водн.}}} = \log \frac{\text{Площа}_{\text{орг.}} \times \text{Фактор розбавлення}_{\text{орг.}}}{\text{Площа}_{\text{водн.}} \times \text{Фактор розбавлення}_{\text{водн.}} \times V_{\text{інжект.}}(\text{орг.}) / V_{\text{інжект.}}(\text{водн.})}$$

Наступна таблиця показує дані типового вибору сполук заявленого винаходу та для сполук, вибраних із [WO 02/074767].

Таблиця

Сполука	hMMP12 IK <sub>50</sub> (нМ)	hMMP9 IK <sub>50</sub> (нМ)	hMMP8 IK <sub>50</sub> (нМ)	hMMP14 IK <sub>50</sub> (нМ)	hMMP19 IK <sub>50</sub> (нМ)	Розчинність РН 7,4 (мкмоль)	Зв'язування білку (% вільного)
Приклад 5	9	9	1140	>10000	>10000	91	47
Приклад 3	6	5	547	>10000	7900	118	33
Приклад 1	6	5	2530	>10000	>10000	396	18
[WO 02/074767, стор. 120] (5S)-5-([4-[(4-хлорфеніл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл)-метил-5-метил-імідазолідин-2,4-діон	2	9	180	4300	3980	49	1,75
[WO 02/074767, стор. 120] (5S)-5-метил-5-([4-[(4-метилфеніл)етиніл]-3,6-дигідропіридин-1(2H)-іл]сульфоніл)-метил-імідазолідин-2,4-діон	3	34	384	4430	1970	72	225