

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ**

**ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**

# ОПИС

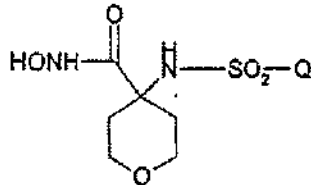
## ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

**(54) ГІДРОКСАМІДИ (4-СУЛЬФОНІЛАМІНО)ТЕТРАГІДРОПІРАН-4-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ**

1

**2**

(21) 2000105720  
(22) 24 03 1999  
(24) 15 04 2003  
(86) PCT/IB99/00505, 24 03 1999  
(31) 60/081,364  
(32) 10 04 1998  
(33) US  
(46) 15 04 2003, Бюл. № 4, 2003 р.  
(72) Рейтер Лоренс Алан, US  
(73) ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ИНК., US  
(56) EP 0 606 046 A, 13 07 1994  
(57) 1. Сполука формули



де

Q являє собою ( $C_1-C_6$ )алкіл, ( $C_8-C_{10}$ )арил, ( $C_2-C_9$ )гетероарил, ( $C_6-C_{10}$ )арилокси( $C_1-C_6$ )алкіл, ( $C_8-C_{10}$ )арилокси( $C_6-C_{10}$ )арил, ( $C_6-C_{10}$ )арилокси( $C_2-C_9$ )гетероарил, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_1-C_6$ )алкіл, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_6-C_{10}$ )арил, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_1-C_6$ )алкіл, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_6-C_{10}$ )арил, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_2-C_9$ )гетероарил, ( $C_2-C_9$ )гетероарил( $C_1-C_6$ )алкіл, ( $C_2-C_9$ )гетероарил( $C_6-C_{10}$ )арил, ( $C_2-C_9$ )гетероарил( $C_2-C_9$ )гетероарил, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_1-C_6$ )алкокси( $C_1-C_6$ )алкіл, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_1-C_6$ )алкокси( $C_6-C_{10}$ )арил, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_1-C_6$ )алкокси( $C_2-C_9$ )гетероарил, ( $C_2-C_9$ )гетероарилокси( $C_1-C_6$ )алкіл, ( $C_2-C_9$ )гетероарилокси( $C_6-C_{10}$ )арил, ( $C_2-C_9$ )гетероарилокси( $C_2-C_9$ )гетероарил, ( $C_2-C_9$ )гетероарил( $C_1-C_6$ )алкокси( $C_1-C_6$ )алкіл, ( $C_2-C_9$ )гетероарил( $C_1-C_6$ )алкокси( $C_6-C_{10}$ )арил або ( $C_2-C_9$ )гетероарил( $C_1-C_6$ )алкокси( $C_2-C_9$ )гетероарил, де кожний з ( $C_6-C_{10}$ )арильних або ( $C_2-C_9$ )гетероарильних записків вказаних ( $C_6-C_{10}$ )арилу, ( $C_2-C_9$ )гетероарилу, ( $C_6-C_{10}$ )арилокси( $C_1-C_6$ )алкілу, ( $C_8-C_{10}$ )арилокси( $C_6-C_{10}$ )арилу, ( $C_6-C_{10}$ )арилокси( $C_2-C_9$ )гетероарилу, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_1-C_6$ )алкілу, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_2-C_9$ )гетероарилу, ( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_6-C_{10}$ )арил( $C_1-C_6$ )алкілу, ( $C_6-$

C<sub>10</sub>)арил(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил(C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)арил(C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкілу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкілу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси(C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)арилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкокси(C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарилокси(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкілу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарилокси(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарилокси(C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкілу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилу або (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси(C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарилу є необов'язково заміщеним по будь-якому з атомів вуглецю на кільці, здатних до утворення додаткового зв'язку за допомогою одного або декількох замісників в кільці, незалежно вибраного з фтору, хлору, броду, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкілу, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси, перфтор(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкілу, перфтор(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкокси і (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилокси.

або її фармацевтично прийнятна сіль

2. Сполука за п. 1, де Q являє собою не-  
обов'язково заміщений (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил, (C<sub>6</sub>-  
C<sub>10</sub>)арил(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилокси(C<sub>6</sub>-  
C<sub>10</sub>)арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилокси(C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил, (C<sub>2</sub>-  
C<sub>9</sub>)гетероарил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>2</sub>-  
C<sub>9</sub>)гетероарил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)-арил(C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил,  
(C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил, (C<sub>2</sub>-  
C<sub>9</sub>)гетероарилокси(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил, (C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)арил(C<sub>1</sub>-  
C<sub>6</sub>)алкокси(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил або (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил(C<sub>1</sub>-  
C<sub>6</sub>)алкокси(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил

3 Сполука за п 1, де Q являє собою не-  
обов'язково заміщений (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилпокси(C<sub>6</sub>-  
C<sub>10</sub>)арил

4. Сполука за п. 3, де кільце (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилокси вказано (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилокси(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арильної групи є необов'язково монозаміщенням в 4-ому положенні кільця

5 Сполука за п 1, де вказана сполука вибрана з групи, що включає

гідроксамід  
фторфенок-  
си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-  
карбоної кислоти,

гідроксид 4-[4-(4-хлорфеноксид)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропран-4-карбонової кислоти, гідроксид 4-[4-(фенокси)бензолсульфоніламіно]-

тетрагідропіран-4-карбонової кислоти, гідроксамід 4-[4-(4-піридикокси)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти, гідроксамід 4-[4-(4-фторфеніл)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти, гідроксамід 4-[4-(4-фторфенілметокси)][бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти, гідроксамід 4-[4-(4-фторфенілметокси)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти, гідроксамід 4-[4-(4-фторфенілметокси)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти

6 Фармацевтична композиція для лікування станів, вибраних з групи, що включає артрит (включаючи остеоартрит і ревматоїдний артрит), запальну хворобу кишечника, хворобу Крона, емфізему, хронічну обструктивну хворобу легень, хворобу Альцгеймера, токсичний ефект трансплантації органів, кахексію, алергічні реакції, гіперчутливість по типу контактного дерматиту, злоякісну пухлину, покриття виразками тканин, рестеноз, захворювання періодонту, булезний епідермоліз, остеопороз, ослаблення імплантованого штучного суглоба, атеросклероз (включаючи відрив атеросклеротичних бляшок), анеризму аорти (включаючи анеризму черевної аорти і анеризму артерій головного мозку), застійну серцеву недостатність, інфаркт міокарда, інсульт, ішемію головного мозку, черепно-мозкову травму, травму спинного мозку, нейродегенеративні захворювання (гострі і хронічні), аутоімунні захворювання, хворобу Хантінгтона, хворобу Паркінсона, мігрень, депресію, периферичну нейропатію, біль, церебральну амілоїдну ангіопатію, ослаблення уваги або інтелектуальної діяльності, бічний аміотрофічний склероз, розсіяний склероз, ангіогенез судин в рогівці очей, травму рогівки, дегенерацію плями, аномальне загоєння ран, опіки, цукровий діабет, проростання пухлини, зростання пухлини, метастази пухлини, рубцювання сітчатки, склерит, СНІД, сепсис і септичний шок у ссавця, включаючи людину, що містить ефективну при таких лікуваннях кількість сполуки за п 1 і фармацевтично прийнятний носій

7 Спосіб лікування станів, вибраних з групи, що включає артрит (включаючи остеоартрит і ревматоїдний артрит), запальну хворобу кишечника, хворобу Крона, емфізему, хронічну обструктивну хворобу легень, хворобу Альцгеймера, токсичний ефект трансплантації органів, кахексію, алергічні реакції, гіперчутливість по типу контактного дерматиту, злоякісну пухлину, покриття виразками тканин, рестеноз, захворювання періодонту, булезний епідермоліз, остеопороз, ослаблення імплантованого штучного суглоба, атеросклероз (включаючи відрив атеросклеротичних бляшок), анеризму аорти (включаючи анеризму черевної аорти і анеризму артерій головного мозку), застійну серцеву недостатність, інфаркт міокарда, інсульт, ішемію головного мозку, черепно-мозкову травму, травму спинного мозку, нейродегенеративні захворювання (гострі і хронічні), аутоімунні захворювання, хворобу Хантінгтона, хворобу Паркінсона, мігрень, депресію, периферичну нейропатію, біль, церебральну амілоїдну ангіопатію, ослаблення уваги або інтелектуальної діяльності, бічний аміотрофічний склероз, розсіяний склероз, ангіогенез судин в рогівці очей, травму рогівки, дегенерацію плями, аномальне загоєння ран, опіки, цукровий діабет, проростання пухлини, зростання пухлини, метастази пухлини, рубцювання сітчатки, склерит, СНІД, сепсис і септичний шок у ссавця, включаючи людину, який полягає в тому, що вводять вказаному ссавцеві ефективну при лікуванні такого стану кількість сполуки за п 1

8 Фармацевтична композиція для лікування стану, який може бути виликаний шляхом інгібування матриксних металопротеїназ у ссавця, включаючи людину, що містить ефективну для такого лікування кількість сполуки за п 1 і фармацевтично прийнятний носій

9 Фармацевтична композиція для лікування стану, який може бути виликаний шляхом інгібування репролізину у ссавців, включаючи людину, що містить ефективну для такого лікування кількість сполуки за п 1 і фармацевтично прийнятний носій

10 Спосіб інгібування матриксних металопротеїназ у ссавця, включаючи людину, який полягає в тому, що вводять вказаному ссавцеві ефективну кількість сполуки за п 1

11 Спосіб інгібування репролізину у ссавців, включаючи людину, який полягає в тому, що вводять вказаному ссавцеві ефективну кількість сполуки за п 1

Даний винахід відноситься до похідних гідроксаміду (4-сульфоніламіно)тетрагідропіран-4-карбонової кислоти і до фармацевтичних композицій, і до способів лікування

Сполуки по даному винаходу є інгібіторами цинк-металоендопептидаз, особливо тих, які належать до підродин матриксних металопротеїназ (які також називаються МР або матриксином), і репролізину (також відомого як адамілзин) метцинкінів (Rawlings, et al, *Methods in Enzymology*, 248, 183 - 228 (1995) and Stocker, et al *Protein Science* 4, 823 - 840 (1995))

Підродина ферментів МР на теперішній час

містить сімнадцять членів (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-18, MMP-19, MMP-20) Ферменти підродини МР найбільш відомі своєю роллю в регуляції обороту білків міжклітинних тканин, і в такій якості грають важливу роль в таких важливих фізіологічних процесах як репродукція, розвиток і диференціювання Крім того, ферментим МР виразно присутні в багатьох патологічних ситуаціях, в яких здійснюється аномальний метаболізм з'єднувальної тканини, Наприклад, MMP-13, фермент, що володіє сильною деградуючою активністю відносно кола-

гену типу II (основний тип колагену в хрящі), як показано, присутній в надмірних кількостях в остеоартритному хрящі (Mitchell, et al, *J Clin Invest* 97: 761 (1996)). Інші ферменти MMP (MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-12) також присутні в надмірних кількостях в остеоартритному хрящі, і інгібування деяких або всіх цих ферментів гідролітичними MP, як очікується, буде сповільнювати або блокувати прискорену втрату хрящової тканини, типову для хвороб суглобів, таких як остеоартрит або ревматоїдний артрит.

Репролизини ссавців відомі як ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase) (Wolfberg et al, *J Cell Biol*, 131, 275 - 278 (1995)) і містять домен дизінтегрину в доповнення до домену, подібного металопротеїнази. У цей час ідентифіковані двадцять три різних ADAM.

ADAM-17, також відомий як фермент, що перетворює фактор некрозу пухлини – альфа (TACE), представляє собою найбільш відомий ADAM. ADAM-17 (TACE) є відповідальним за розщеплення пов'язаного з клітинами фактора некрозу пухлини – альфа (TNF- $\alpha$  також відомий в якості кахектину) TNF- $\alpha$ , як спостерігалось, бере участь в багатьох інфекційних і аутоімунних захворюваннях (W. Fiers, *FEBS Letters* 285, 199 (1991)). Більш того показано, що TNF- $\alpha$  є первинним медіатором запальної реакції, що спостерігається при сепсисі і септичному шоку (Spooner, et al, *Clinical Immunology and Immunopathology*, 62 S11 (1992)). Існують дві форми TNF- $\alpha$ , мембранний білок типу II з відносною молекулярною масою 26000 (26кДа) і розчинна форма з молекулярною масою 17кДа, що генерується із зв'язуючого клітини білка шляхом специфічного протеолітичного розщеплення. Розчинна форма TNF- $\alpha$  з молекулярною масою 17кДа вивільняється клітиною і асоційована з шкідливими ефектами TNF- $\alpha$ . Ця форма TNF- $\alpha$  є також здібною до дії в областях, віддалених від області синтезу. Таким чином, інгібітори TACE запобігають утворенню розчинного TNF- $\alpha$  і запобігають шкідливим ефектам розчинного фактора.

Вибрані сполуки по даному винаходу є сильними інгібіторами агреканаз, ферменту, що грає важливу роль при деградації агрекану хрящів. Агреканаз, як вважають, також є ADAM. Втрата агрекану з міжклітинної тканини хряща являє собою важливий фактор при розвитку таких захворювань суглобів, як остеоартрит і ревматоїдний артрит, і інгібування агреканаз, як очікується, буде сповільнювати або блокувати втрату хрящової тканини при цих захворюваннях.

Інші ADAM, які, як показано, виражено присутні в патологічних ситуаціях, включають ADAM TS-1 (Kuno, et al, *J Biol Chem*, 272 556 - 562 (1997)), і ADAM 10, 12 і 15 (Wu, et al, *Biochem Biophys Res Comm*, 235, 437 - 442, (1997)). Наскільки відомо, виражена присутність, наявність фізіологічних субстратів і зв'язок ADAM із захворюваннями збільшує загальну значущість ролі інгібування цього класу ферментів, яке буде зустрінуте з вдячністю.

Захворювання, при яких інгібування ферментів MP і/або ADAM буде забезпечувати терапевтичну перевагу, включають артрит (включаючи остеоартрит і ревматоїдний артрит), запальну хворобу кишечника, хворобу Крона, емфізему,

гострий респіраторний дистрес-синдром, бронхіальну астму, хронічну обструктивну хворобу легень, хворобу Альцгеймера, токсичний ефект трансплантації органів, кахексію, алергічні реакції, піщаність по типу контактного дерматиту, злоякісну пухлину, покриття виразками тканин, рестеноз, захворювання періодонту, булезний епідермоліз, остеопороз, ослаблення імплантованого штучного суглоба, атеросклероз, (включаючи відрив атеросклеротичних бляшок), аневризму аорти (включаючи аневризму черевної аорти і аневризму артерій головного мозку), застійну серцеву недостатність, інфаркт міокарда, інсульт, ішемію головного мозку, черепно-мозкову травму, травму спинного мозку, нейродегенеративні захворювання (гострі і хронічні), аутоімунні захворювання, хвороба Хантінгтона, хвороба Паркінсона, мігрень, депресію, периферичну нейропатію, біль, церебральну амілоїдну ангіопатію, ослаблення уваги або інтелектуальної діяльності, бічний аміотрофічний склероз, неуважний склероз, ангіогенез в рогівці очей, травму рогівки, дегенерацію плями сітчатки, аномальне загоєння ран, опіки, цукровий діабет, проростання пухлини, зростання пухлини, метастази пухлини, рубцювання сітчатки, склерит, СНІД, сепсис, септичний шок, і інші захворювання, що характеризуються вираженою експресією металопротеїнази або ADAM.

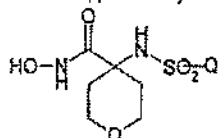
Даний винахід також відноситься до способу використання сполук по даному винаходу для лікування вказаних вище захворювань ссавців, зокрема, людей, і до фармацевтичних композицій, придатних для цього.

Помічено, що різні поєднанням MP і ADAM присутні в різних патологічних ситуаціях. Тому інгібітори зі специфічними селективностями до індивідуальних ADAM і/або MP можуть бути переважними для окремих захворювань. Наприклад, ревматоїдний артрит являє собою запальне захворювання суглобів, що характеризується надмірними рівнями TNF і втратами складових міжклітинної тканини суглоба. У цьому випадку, сполука, яка інгібує TACE і агреканазу, а також MP, такі як MMP-13, можуть являти собою переважну терапію. У протилежність цьому, при захворюванні суглоба з меншим запаленням, такому як остеоартрит, можуть бути переважними сполуки, які інгібують MMP, що руйнують міжклітинну тканину, такі як MMP-13, але не TACE.

Автори даного винаходу також виявили, що є можливим створення інгібіторів з диференційованою активністю до металопротеаз. Зокрема, наприклад, автори даного винаходу виявилися здатними створювати молекули, які селективно інгібують матриксну металопротеазу-13 (MMP-13) переважно в порівнянні з MMP-1.

Інгібітори матриксної металопротеїнази і репролизину добре відомі в літературі. Зокрема, публікація PCT WO 96/33172, опублікована 24 жовтня 1996 року, відноситься до циклічних арилсульфоніламіногідроксамових кислот, які придатні для використання в якості інгібіторів MP. Патент США 5672615, публікація PCT WO 97/20824, публікація PCT WO 98/08825, публікація PCT WO 98/27069, і публікація PCT WO 98/34918, опублікована 13 серпня 1998 року, озаглавлена "Arylsulfonyl

Короткий опис винаходу Даний винахід відно-  
ситься до сполуки формули



Q являє собою (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкіл, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилокси (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкіл, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилокси (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетеро-арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкіл, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкіл, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкіл, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-алкокси-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкіл, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетеро-арил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилокси (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкіл, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилокси (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>1</sub>-

де кожний з (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арильних або (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарильних залишків вказаних (C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>)арилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилокси (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкілу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилокси(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилокси (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкілу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкілу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкілу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкілу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилу, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)-гетероарилокси (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкілу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилокси(C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилокси (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкілу, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилу або (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилу є необов'язково заміщенням на будь-якому з атомів вуглецю на кільці, здатних до утворення додаткового зв'язку, за допомогою одного або декількох заступників на кожному кільці, незалежно вибраних з фтору, хлору, бром, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкілу, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси, перфтор-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкілу, перфтор (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) алкокси і (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>) арилокси.

Термін "алкіл", як він використовується тут, якщо не вказано іншого, включає насичені одновалентні вуглеводневі радикали, що містять прямі, розгалужені або циклічні групи, або їх поєднання

Термін "алкокси", як він використовується тут, включає О-алкільні групи, де "алкіл" є таким, як визначено вище.

Термін "арил", як він використовується тут, якщо не вказано іншого, включає органічний радикал, похідний ароматичного вуглеводню шляхом видалення одного атома водню, такий як феніл або нафтил, необов'язково замщений 1-3 заступниками, вибраними з групи, що включає фтор, хлор, бром, перфтор ( $C_1-C_6$ ) алкіл (включаючи трифторметил), ( $C_1-C_6$ ) алкокси, ( $C_6-C_{10}$ ) арилокси, перфтор ( $C_1-C_3$ ) алкокси (включаючи трифторметокси і дифторметокси) і ( $C_1-C_6$ ) алкіл

Термін "гетероарил", як він використовується тут, якщо не вказано іншого, включає органічний радикал, похідний ароматичної гетероциклічної сполуки шляхом видалення одного атома водню, такого як придил, фурил, піроіл, тієніл, ізотіазоліл, імідазоліл, бензімідазоліл, тетразоліл, пiazиніл, піримідил, хіноліл, ізохіноліл, бензофурил, ізобензофурил, бензотієніл, піразоліл, індоліл, ізоіндоліл, пуриніл, карбазоліл, ізоксазоліл, тiazоліл, оксазоліл, бензтіазоліл, або бензоксазоліл, необов'язково замішений 1-2 заступниками, вибраними з групи, що включає фтор, хлор, трифторметил, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арилкокси, трифторметокси, дифторметокси і (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкіл. Переважні гетероарили включають придил, фурил, тієніл, ізотіазоліл, пiazиніл, піримідил, піразоліл, ізоксазоліл, тiazоліл або оксазоліл. Найбільш переважні включають придил, фурил або тієніл.

Переважні сполуки формули I включають такі, де Q являє собою необов'язково заміщений (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>)арил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилокси (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>)гетероарил (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарилокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил, або (C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>) гетероарил (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) алкокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил

Інші переважні сполуки формули I включають такі, де Q являє собою необов'язково заміщений (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арилокси (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) арил

Конкретні переважні сполуки формули I включають наступні сполуки

Гідроксиамід 4-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти,

Гідроксиамід 4-[4-(4-хлорфенокси)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти,

Гідроксиамід 4-[4-(фенокси)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти,

Гідроксиамід 4-[4-(придилокси)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти,

Гідроксиамід 4-[4-(4-фторфеніл)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти,

Гідроксиамід 4-[4-(4-фторфенілметокси)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти,

Гідроксиамід 4-[4-(фенілметокси)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти, і

Гідроксиамід 4-[4-(4-фторфенілметокси)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти

Даний винахід також відноситься до фармацевтичної композиції для лікування станів, вибраних з групи, що включає артрит (включаючи остеоартрит і ревматоїдний артрит), запальну хворобу кишечника, хворобу Крона, емфізему, гострий респіраторний дистрес-синдром, бронхіальну астму, хронічну обструктивну хворобу легень, хворобу Альцгеймера, токсичний ефект трансплантації органів, кахексію, алергічні реакції, гіперчутливість по типу контактного дерматиту, злоякісну пухлину (таку як солідні ракові пухлини, включаючи рак прямої кишки, рак молочної залози, рак легень і рак простати, і гематопоетичні злоякісні захворювання, лейкомії і лімфоми), виразку тканин, респектеноз, захворювання періодонту, булезний епідермоліз, остеопороз, ослаблення імплантованого штучного суглоба, атеросклероз, (включаючи відрив атеросклеротичних бляшок), аневризму аорти (включаючи аневризму черевної аорти і аневризму артерій головного мозку), застійну серцеву недостатність, інфаркт міокарда, інсульт, ішемію головного мозку, черепно-мозкову травму, травму спинного мозку, нейродегенеративні захворювання (гострі і хронічні), аутоімунні захворювання, хворобу Хантінгтона, хворобу Паркінсона, мігрень,

депресію, периферичну нейропатію, біль, церебральну амлоїдну ангіопатію, \$?/адренія уваги або інтелектуальної діяльності, бічний аміотрофічний склероз, неухваний склероз, ангіогенез в рогівці очей, травму рогівки, дегенерацію плями сітчатки, аномальне загоєння ран, опіки, цукровий діабет, проростання пухлини, зростання пухлини, метастази пухлини, рубцювання сітчатки, склерит, СНІД, сепсис, септичний шок, і інші захворювання, що характеризується активністю репролізину, у ссавців, включаючи людину, що включає кількість сполуки формули I або її фармацевтичне прийнятної солі, ефективною при таких лікуваннях, і фармацевтичне прийнятної носія

Даний винахід також відноситься до фармацевтичних композицій для інгібування (а) матриксних металопротеїназ або інших металопротеїназ, що беруть участь в деградації міжклітинної тканини, або (б) репролізину ссавців (таких як агреканаз або ADAM TS-1, 10, 12, 15 і 17, найбільш переважно ADAM-17) у ссавців, включаючи людину, що містить ефективну кількість сполуки формули I або її фармацевтичне прийнятної солі

Даний винахід також відноситься до способу лікування станів, вибраних з групи, що включає артрит (включаючи остеоартрит і ревматоїдний артрит), запальну хворобу кишечника, хворобу Крона, емфізему, хронічну обструктивну хворобу легень, хворобу Альцгеймера, токсичний ефект трансплантації органів, кахексію, алергічні реакції, гіперчутливість по типу контактного дерматиту, злоякісну пухлину, покриття виразками тканин, респектеноз, захворювання періодонту, булезний епідермоліз, остеопороз, ослаблення імплантованого штучного суглоба, атеросклероз, (включаючи відрив атеросклеротичних бляшок), аневризму аорти (включаючи аневризму черевної аорти і аневризму артерій головного мозку), застійну серцеву недостатність, інфаркт міокарда, інсульт, церебральну ішемію, черепно-мозкову травму, травму спинного мозку, нейродегенеративні захворювання (гострі і хронічні), аутоімунні розлади, хворобу Хантінгтона, хвороба Паркінсона, мігрень, депресію, периферичну нейропатію, біль, церебральну амлоїдну ангіопатію, ослаблення уваги або інтелектуальної діяльності, бічний аміотрофічний склероз, неухваний склероз, ангіогенез в рогівці очей, травму рогівки, дегенерацію плями сітчатки, аномальне загоєння ран, опіки, цукровий діабет, проростання пухлини, зростання пухлини, метастази пухлини, рубцювання сітчатки, склерит, СНІД, сепсис, септичний шок, і інших захворювань, що характеризується активністю металопротеїнази, і інших захворювань, що характеризуються активністю репролізину, у ссавців, включаючи людину, що включає введення вказаному ссавцеві кількості сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі, ефективною при лікуванні подібних станів

Даний також відноситься до способу інгібування (а) матриксних металопротеїназ або інших металопротеїназ, що беруть участь в деградації міжклітинної тканини, або (б) репролізину ссавців (такого як агреканаз або ADAM TS-1, 10, 12, 15 і 17, переважно ADAM-17) у ссавців, включаючи людину, що включає введення ефективною кількості

ті сполуки формули I або II фармацевтично прийнятної солі

Даний винахід також визначає фармацевтичні композиції, що включають сполуки-попередники сполук формули I. Даний винахід також визначає способи лікування або профілактики розладів, які можуть бути лікувані або відвернені шляхом інгібування матричних металопротеїназ або інгібування репродукування осавців, що включають введення сполук-попередників сполук формули I. Сполуки формули I, що мають вільні аміно, амідні, гідроксильні або карбоксильні групи, можуть бути перетворені в сполуки-попередники. Сполуки-попередники включають сполуки, де амінокислотний залишок або поліпептидний ланцюг з двох або більше (наприклад, двох, трьох або чотирьох) амінокислотних залишків, які ковалентно приєднані через пептидні зв'язки до вільних аміно, гідроксильних груп або груп карбонових кислот сполук формули I. Амінокислотні залишки включають всі 20 існуючих в природі амінокислот, що звичайно означаються символами з трьох букв, а також включають 4-гідроксипролін, гідроксипілін, демозин, ізодемозин, 3-метилпісидин, норвалін, бета-аланін, гамма-аміномасляну кислоту, цитрулін, гомоцистеїн, гомосерин, орнітин, і метіонін сульфат. Сполуки-попередники також включають сполуки, де карбонати, карбамати, амідні і алкільні складні ефіри ковалентно пов'язані з вказаним заступником формули I через бічний вуглецевий ланцюг карбонільної групи сполуки-попередника.

Фахівець в даній області помітить, що сполуки по даному винаходу є придатними для використання при лікуванні широкого ряду захворювань. Фахівець в даній області також помітить, що при використанні сполуки по даному винаходу для лікування конкретного захворювання, сполуки по даному винаходу можуть об'єднуватися з різними існуючими терапевтичними агентами, що використовуються при такій хворобі.

Для лікування ревматоїдного артриту сполуки по даному винаходу можуть об'єднуватися з такими агентами, як інгібітори TNF- $\alpha$ , наприклад, анти-TNF моноклональні антитіла і молекули імуніглобулінів рецепторів TNF (такі як Enbrel®), з малими дозами метотрексату, лефуніміду, гідроксихлорхіну, D-пеніциламіну, ауранофіну, або парентерального або перорального золота.

Сполуки по даному винаходу можуть бути також використані в поєднанні з існуючими терапевтичними агентами для лікування остеоартриту. Відповідні агенти для комбінованого використання включають стандартні нестероїдні протизапальні засоби (тут і далі НСПЗЛЗ), такі як піроксикам, диклофенак, пропіонові кислоти, такі як напроксен, флубіпрофен, фенпрофен, кетопрофен і ібупрофен, фенамати, такі як мефенамова кислота, індометацин, суліндак, апазон, піразолони, такі як фенілбутазон, саліцилати, такі як аспірин, COX-2 інгібітори, такі як целекоксиб і рофекоксиб, анальгетики і речовини для внутрішньоближньої терапії,

такі як кортикостероїди і гіалуронові кислоти, такі як гіалган і синвіск.

Сполуки по даному винаходу можуть бути також використані в поєднанні з протипухлинними засобами, такими як ендостатин і ангіостатин або цитотоксичними лікарськими засобами, такими як адриаміцин, дауноміцин, цис-платина, етопозид, таксол, такотер, і алкалоїдами, такими як вінкристин, і антиметаболітами, такими як метотрексат.

Сполуки по даному винаходу можуть бути також використані в поєднанні з серцево-судинними засобами, такими як блокатори кальцієвих каналів, з агентами, що знижують рівень ліпідів, такими як статини, фібрати, бета-блокатори, інгібітори ACE, антагоністи рецепторів ангіотензину-2 і інгібітори агрегації тромбоцитів.

Сполуки по даному винаходу можуть бути також використані в поєднанні з агентами для центральної нервової системи, такими як антидепресанти (такі як сертралін), ліками від хвороби Паркінсона (такі як депреніл, L-допа, реквіп, мірапекс, інгібітори MAOB, такі як селегін, і расаглілін, інгібітори COMT такі як Tasmar, інгібітори A-2, інгібітори повторного витягання допаміну, антагоністи NMDA, агоністи нікотину, агоністи допаміну, і інгібітори нейронної синтази окислу азоту), і ліками проти хвороби Альцгеймера, такими як арицепт, такрин, інгібітори COX-2, пропентофолін або метрифонат.

Сполуки по даному винаходу можуть бути також використані в поєднанні з агентами проти остеопорозу, такими як дролоксифен або фосомакс і імунідепресивними агентами, такими як FK-506 і рапаміцин.

#### Докладний опис винаходу

Приведена далі схема реакції ілюструє отримання сполук по даному винаходу. Якщо не вказано по іншому, Q в схемах реакції і в дискусії, яка слідує далі, визначається також як і вище.

#### Схема I

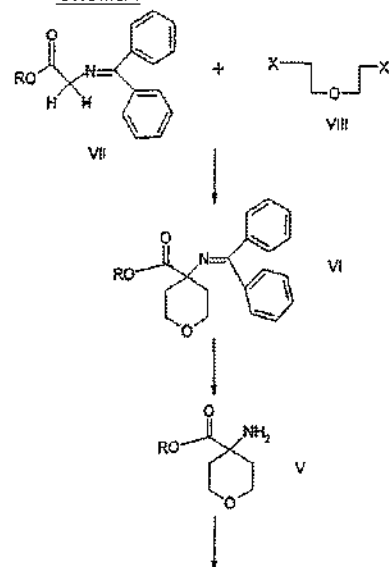


Схема 1 (продовження)

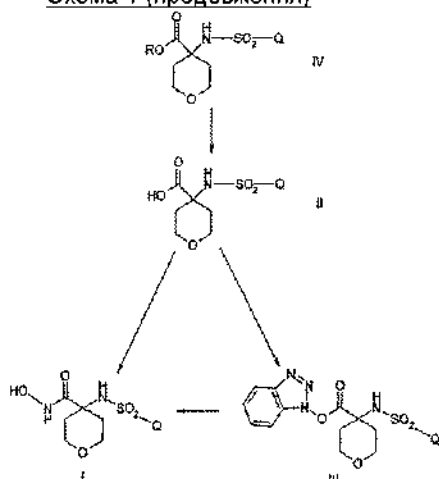


Схема 1 відноситься до отримання сполук формули I

Звертаючись до схеми 1, сполуки формули I отримують з карбонової кислоти формули II шляхом обробки 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодимідом і 1-гідроксибензотриазолом в іюлярному розчиннику, такому як N,N-диметилформамід, з подальшим доданням гідроксиаміну реакційну суміш через період часу в межах між приблизно 15 хвилинами і приблизно 1 годиною, переважно, приблизно через 30 хвилин. Гідроксиамін переважно отримують *in situ* з сольової юрми, такої як гідроксиамін гідрохлорид, в присутності основи, такої як триетиламін.

Альтернативно, сполука формули I може бути отримана із сполуки формули II шляхом взаємодії із захищеним похідним гідроксиаміну або його сольовою формою, де гідроксильна група є захищеною в якості трет-бутилового, бензильового, алілового або 2-триметилсилілетилового простого ефіру. Видалення гідроксильної захисної групи здійснюється шляхом гідрогенлізу, для бензильної захисної групи (5% паладій на сульфаті барію є переважним каталізатором), або шляхом обробки сильною кислотою, такою як трифтороцтова кислота, для трет-бутильної захисної групи. Алільна захисна група може бути видалена шляхом обробки пдридом трибутилового і оцтовою кислотою в присутності каталізатора біс(трифенілфосфін)паладій(II) хлориду. 2-Триметилсилілетиловий простий ефір може бути видалений шляхом взаємодії з сильною кислотою, такою як трифтороцтова кислота або шляхом взаємодії з джерелом фтору, таким як ефірат трифториду бору.

Взаємодія сполуки II з гідроксиаміном, сіллю гідроксиаміну, захищеним похідним гідроксиаміну або сіллю захищеного похідного гідроксиаміну може бути також здійснена в присутності (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламіно)фосфоній гексафторфосфату і основи, такої як триетиламін, в інертному розчиннику, такому як метиленхлорид. Реакційну суміш перемішують при температурі в межах між приблизно 0°C і приблизно 50°C, переважно, при кімнатній температурі, протягом періоду часу в межах між приблизно 1 годиною і при-

близько 3 днями, переважно протягом приблизно 1 дня.

Інша процедура перетворення сполуки формули II в сполуку формули I являє собою взаємодію сполуки формули II з O-бензилгідроксиамінгідрохлоридом в присутності (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламіно)фосфоній гексафторфосфату і триетиламіну, з використанням метиленхлориду як розчинника. Подальше видалення O-бензильної захисної групи для отримання сполуки формули I здійснюється потім шляхом гідрування при тиску водню 3 атмосфери і при кімнатній температурі, з використанням 5% паладію на сульфаті барію як каталізатора. Переважний розчинник являє собою метанол. Час реакції може змінюватися від близько 1 години до близько 2 днів (8 годин є переважним часом).

Переважна процедура для перетворення сполуки формули II в сполуку формули I являє собою взаємодію сполуки формули II з оксалілхлоридом в метиленхлориді в присутності каталітично ефектної кількості ДМФ протягом 16 годин. Отриманий хлорангідрид взаємодіє при 0°C з N,O-біс(триметилсиліл)гідроксиаміном, отриманим шляхом взаємодії гідроксиамін гідрохлориду з хлортриметилсиланом в піридині, при температурі від 0°C до кімнатної температури. Продукт формули I отримують після декількох годин взаємодії при температурі від 0°C до кімнатної температури з подальшою обробкою кислим водним розчином, яка видаляє всі триметилсилільні залишки.

У певних випадках є переважним отримання сполуки формули I шляхом взаємодії гідроксиаміну, солі гідроксиаміну, захищеного похідного гідроксиаміну або солі захищеного похідного гідроксиаміну з активованим складним ефіром формули III. Взаємодію здійснюють в інертному розчиннику, такому як N,N-диметилформамід, при температурі, що знаходиться в межах між приблизно від кімнатної температури до приблизно 80°C, переважно близько 60°C, протягом періоду часу від близько 1 години до близько 2 днів. Якщо використовується захищене похідне гідроксиаміну або сіль захищеного похідного гідроксиаміну, видалення захисної групи здійснюють так, як описано вище. Похідне активованого складного ефіру формули III отримують шляхом обробки сполуки формули II (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламіно)фосфоній гексафторфосфатом і основою, такою як триетиламін, в інертному розчиннику, такому як метиленхлорид. Реакційну суміш перемішують при температурі, що знаходиться між приблизно 0°C і приблизно 50°C, переважно, при кімнатній температурі, протягом періоду часу в межах між приблизно 1 годиною і приблизно 3 днями, переважно протягом приблизно 1 дня.

Проміжну сполуку формули II отримують шляхом омилення сполуки формули IV. Взаємодія здійснюється в розчиннику, такому як водний розчин етанолу, з надлишком гідроксидів металів, таких як гідроксид натрію або гідроксид літію, при температурі від близько 20°C до близько 100°C, (тобто, від кімнатної температури до температури дефлегмації розчинника), переважно близько

80°C Реакційну суміш, як правило, перемішують при кімнатній температурі протягом періоду часу в межах між приблизно 30 хвилинами і приблизно 1 тижнем, переважно, протягом приблизно 16 годин.

Сполуку формули IV отримують шляхом взаємодії сполуки формули V з реакційноспроможним функціональним похідним сульфенової кислоти ( $\text{QSO}_2\text{OH}$ ), наприклад, сульфонілхлоридом ( $\text{QSO}_2\text{Cl}$ ), в присутності основи. Відповідні основи включають гідроксид натрію, триетиламін або діізопропілетиламін, переважно триетиламін. Відповідні розчинники включають диметилформамід (ДМФ), метиленхлорид, тетрагідрофуран, діоксан, воду або ацетонітрил, переважно ДМФ. Реакційну суміш перемішують при температурі, що знаходиться в межах між близько 0°C і близько 50°C, переважно, від близько 20°C до близько 25°C (тобто кімнатна температура), протягом періоду часу в межах між приблизно 10 хвилинами і приблизно 2 днями, переважно, протягом приблизно 1 дня.

Сполуку формули V отримують шляхом гідролізу сполуки формули IV. Конкретно, сполуку формули VI обробляють водним розчином кислоти, переважно, в присутності органічного розчинника, що не змішується, такого як етиловий ефір, діізопропіловий ефір або метиленхлорид. Відповідні кислоти включають соляну кислоту і сірчану кислоту. Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі в межах між близько 0°C і близько 50°C, переважно, від близько 20°C до близько 25°C (тобто кімнатна температура), протягом періоду часу між близько 10 хвилинами і близько 2 днями, переважно, протягом близько 1 дня.

Сполуку формули VI отримують шляхом взаємодії амінокислотної похідної формули VII із сполукою формули VIII в присутності основи і розчинника, де X являє собою Cl, Br, I, тозилат або мезилат. Відповідні основи включають етиленгліколь, гідроксид натрію, діізопропіламіди літію або гексаметилдисіпазид натрію. Відповідні розчинники включають диметиловий ефір, диметилформамід, тетрагідрофуран або диметилсульфоксид. Реакційну суміш перемішують при температурі в межах від близько - 20°C до близько 25°C, переважно, від близько 0°C до близько 20°C (тобто кімнатна температура), протягом періоду часу між приблизно 10 хвилинами і приблизно 2 днями, переважно, протягом приблизно 1 дня.

Сполуки формули VII і VIII можуть бути отримані способами, добре відомими фахівцям в даній області. Приклади таких сполук включають метилгліцинбензофенонімін і етилгліцинбензофенонімін.

Фармацевтичне прийнятні солі кислотних сполук по даному винаходу є солями, утвореними з основами, а саме, катіонними солями, такими як солі лужних і лужноземельних металів, таких як натрій, літій, калій, кальцій, магній, а також солями амонію, такими як солі амонію, триметиламонію, діетиламонію і трис-(гідроксиметил)метиламонію.

Подібно цьому, кислотноадитивні солі, таких кислот як неорганічні кислоти, органічні карбонові і органічні сульфенові кислоти, наприклад, хлорисоводнева кислота, метансульфенова кислота, малеїнова кислота, які також здатні взаємодіяти з основною групою, такою як піридил, становлять

частину структури.

Здатність сполук формули I або їх фармацевтичне прийнятних солей (що далі також згадуються тут як сполуки по даному винаходу) інгібувати металопротеїнази або репролізин ссавців, і, як наслідок, демонструвати їх ефективність при лікуванні захворювань, що характеризуються металопротеїназою або продукуванням фактора некрозу пухлини, продемонстрована за допомогою приведених далі досліджень *in vitro*.

#### Біологічне дослідження

##### Інгібування колагенази людини (MMP-1)

Рекомбінатну колагеназу людини активують трипсином. Кількість трипсину оптимізують для кожної порції колагенази-1, але при типовій взаємодії використовують наступне відношення: 5мкг трипсину на 100мкг колагенази. Трипсин і колагеназу інкубують при кімнатній температурі протягом 10 хвилин, потім додають п'ятикратний надлишок (50мг/10 мг трипсину) інгібітору трипсину з соєвих бобів.

Готують початкові розчини (10М) інгібіторів в диметилсульфоксиді, а потім їх розбавляють, використовуючи наступну схему:

10мМ → 120мкМ → 12мкМ → 1,2мкМ → 0,12мкМ

Двадцять п'ять мікролітрів розчину кожної концентрації потім додають трикратно у відповідну лунку 96-лункового планшета для мікрофлуоресцентного аналізу. Кінцева концентрація інгібітору після додавання ферменту і субстрату буде являти собою розбавлення 1 : 4. Позитивний контроль (фермент, без інгібітору) розміщується в лунках D7-D12, і негативний контроль (без ферменту, без інгібітору) розміщується в лунках D1-D6.

Колагеназу-1 розбавляють до концентрації 240нг/мл, а потім додають по 25мл у відповідну лунку планшета для мікрофлуоресцентного аналізу. Кінцева концентрація колагенази в дослідженні становить 60нг/мл.

Субстрат (DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH<sub>2</sub>) приготровляють як 5мМ початковий розчин в диметилсульфоксиді, а потім розбавляють до 20мкМ в буфері для аналізу. Аналіз ініціюється шляхом додавання по 50мл субстрату на лунку планшета для мікрофлуоресцентного аналізу з отриманням кінцевої концентрації 10мМ.

Відліки флуоресценції (збудження 360нм, випускнення 460нм) здійснюють в момент часу 0, а потім через 20 хвилинні інтервали. Дослідження проводиться при кімнатній температурі з типовим часом проведення аналізу 3 години.

Графік залежності інтенсивності флуоресценції від часу будують потім як для контрольних, так і для утримуючих колагеназу зразків (усереднюють дані від трикратних визначень). Момент часу, який забезпечує хороший сигнал (щонайменше, в п'ять разів більше ніж контроль), і який знаходиться в лінійній частині кривої (як правило, біля 120 хвилин) вибирають для визначення значень IC<sub>50</sub>. Сигнал в нульовий момент часу використовується як контроль для кожної сполуки при кожній концентрації, і ці значення віднімають з даних для 120 хвилин. Дані представляють на графіку як залежність концентрації інгібітору від % контролю (інтенсивність флуоресценції інгібітору, ділена на інтенсивність флуоресценції самої колагенази x 100).



Значення  $IC_{50}$  визначають з концентрації інгібітору, яка дає сигнал, що становить 50% від контролю

Якщо значення, що отримуються  $IC_{50}$  складають менше ніж 0,03мМ, інгібітори досліджують при концентраціях 0,3мМ, 0,03мМ, і 0,003мМ

#### Інгібування желатинази (MMP-2)

Рекомбінантну желатиназу людини масою 72кД (MMP-2, желатиназа А) активують протягом 16 - 18 годин 1мМ п-амінофеніл-ртуть ацетатом (з свіжевикоротовленого 100мМ початкового розчину в 0,2н NaOH) при 4°C, з легким похитуванням

10мМ Початкові розчини інгібіторів в диметилсульфоксиді розбавляють послідовно в буфері для аналізу (50мМ Tris, pH 7,5, 200мМ NaCl, 5мМ  $CaCl_2$ , 20мМ  $ZnCl_2$  і 0,02% BRIJ-35 (об'єм/об'єм)), використовуючи наступну схему

10мМ → 120мкМ → 12мкМ → 1,2мкМ → 0,12мкМ

Подальші розбавлення проводяться, якщо це необхідно, слідує цій же схемі. Щонайменше, в кожному дослідженні готують чотири концентрації інгібітору для кожної сполуки. 25мкл кожної концентрації потім додають трикратно в лунку чорного 96-лункового планшета для мікрофлуоресцентного аналізу з круглим дном. Оскільки кінцевий об'єм проби становить 100мкл, кінцеві концентрації інгібітору отримують внаслідок ще одного розбавлення 1 : 4 (тобто 30мкМ → 3мкМ → 0,3мкМ, і так далі). Також приготують трикратний абсолютний (без ферменту, без інгібітору) і позитивний ферментний контроль (з ферментом, без інгібітору)

Активовані ферменти розбавляють до 100нг/мл в буфері для аналізу, по 25мкл на лунку додають у відповідну лунку мікропланшета. Кінцева концентрація ферменту при дослідженнях становить 25нг/мл (0,34нМ)

Початковий п'яти-мМ розчин субстрату (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH<sub>2</sub>) в диметилсульфоксиді розбавляють в буфері для аналізу до 20мкМ. Дослідження ініціюються шляхом додавання 50мкл розбавленого субстрату з отриманням кінцевої концентрації при аналізі субстрату 10мкМ. У нульовий момент часу безпосередньо записують відлік інтенсивності флуоресценції (збудження 320 випромінювання 390), і подальші відліки виробляють кожні п'ятнадцять хвилин при кімнатній температурі з допомогою PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well plate Reader з приростом по 90 одиниць

Будують графік залежності інтенсивності флуоресценції ферменту і абсолютного контролю від часу. Один з ранніх моментів часу на лінійній частині цієї кривої вибирають для визначення значення  $IC_{50}$ . Значення в нульовий момент часу для кожної сполуки при кожному розбавленні віднімається із значення в більш пізні моменти часу, і дані потім виражаються як процент від контролю з ферментом (інтенсивність флуоресценції інгібітору, ділена на інтенсивність флуоресценції позитивного контролю з ферментом x 100). Будують графік залежності концентрації інгібітору від процента контролю з ферментом. Значення  $IC_{50}$  визначають як концентрацію інгібітору, яка дає сигнал, що становить 50% від позитивного контролю з ферментом

#### Інгібування активності стромелізіну (MMP-3)

Рекомбінантний стромелізин людини (MMP-3, стромелізин-1) активують протягом 20 - 22 годин 2мМ ацетат п-амінофеніл-ртуті (з свіжевикоротовленого 100мМ початкового розчину в 0,2н NaOH) при 37°C

10мМ Початкові розчини інгібіторів в диметилсульфоксиді розбавляють послідовно в буфері для аналізу (50мМ Tris, pH 7,5, 150мМ NaCl, 10мМ  $CaCl_2$ , і 0,05% BRIJ-35 (об'єм/об'єм)), використовуючи наступну схему

10мМ → 120мкМ → 12мкМ → 1,2мкМ → 0,12мкМ

Подальші розбавлення проводяться, якщо це необхідно, слідує цій же схемі. Щонайменше, по чотири концентрації інгібітору для кожної сполуки приготують в кожному дослідженні 25мкл розчину кожної концентрації, потім додають трикратно в лунку чорного 96-лункового планшета для мікрофлуоресцентного аналізу з круглим дном. Оскільки кінцевий об'єм проби становить 100мкл, кінцеві концентрації інгібітору отримують внаслідок ще одного розбавлення 1 : 4 (тобто 30мкМ → 3мкМ → 0,3мкМ → 0,03мкМ, і так далі). Також приготують трикратний абсолютний (без ферменту, без інгібітору) і позитивний ферментний контроль (з ферментом, без інгібітору)

Активовані ферменти розбавляють до 200нг/мл в буфері для аналізу, додають по 25мкл на лунку у відповідну лунку мікропланшета. Кінцева концентрація ферменту при дослідженнях становить 50нг/мл (0,875нМ)

У початковий десяти-мМ розчин субстрату (Mca-Arg-Pro-Lys-Pro-Val-Glu-Nva-Trp-Arg-Lys(Dnp)-NH<sub>2</sub>) в диметилсульфоксиді розбавляють в буфері для аналізу до 6мкМ. Дослідження ініціюються шляхом додавання 50мкл розбавленого субстрату з отриманням кінцевої концентрації при аналізі субстрату 3мкМ. У нульовий момент часу безпосередньо записують відлік інтенсивності флуоресценції (збудження 320, випромінювання 390), і подальші відліки виробляють кожні п'ятнадцять хвилин при кімнатній температурі з допомогою PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader з приростом по 90 одиниць

Будують графік залежності середньої інтенсивності флуоресценції ферменту і абсолютного контролю від часу. Один з ранніх моментів часу на лінійній частині цієї кривої вибирають для визначення значення  $IC_{50}$ . Значення в нульовий момент часу для кожної сполуки при кожному розбавленні віднімається із значення в більш пізні моменти часу, і дані потім виражаються як процент від контролю з ферментом (інтенсивність флуоресценції інгібітору, ділена на інтенсивність флуоресценції позитивного контролю з ферментом x 100). Будують графік залежності концентрації інгібітору від процента контролю з ферментом. Значення  $IC_{50}$  визначають як концентрацію інгібітору, яка дає сигнал, що становить 50% від позитивного контролю з ферментом

#### Інгібування MMP-13

Рекомбінантний MMP-13 людини активують 2мМ АРМА (ацетат п-амінофенілртуті) протягом 2,0 годин, при 37°C і розбавляють до 240нг/мл у буфері для аналізу (50мМ Tris, pH 7,5, 200мМ хлориду натрію, 5мМ хлориду кальцію, 20мМ хлориду цинку, 0,02% BRIJ 35). По двадцять п'ять мікропл-

рів розбавленого ферменту додають на лунку 96-лункового планшета для мікрофлуоресцентного аналізу. Потім фермент при аналізі розбавляють у відношенні 1:4 шляхом додавання інгібітору і субстрату з отриманням кінцевої концентрації в пробі 60 нг/мл.

Початкові розчини інгібіторів (10 мМ) готують в диметилсульфоксиді, а потім розбавляють в буфері для аналізів таким же чином, як в схемі розбавлення інгібітору для інгібуння колагенази-1 людини (MMP-1). По двадцять п'ять мікролітрів розчину кожної концентрації додають трикратно на планшет для мікрофлуоресцентного аналізу. Кінцеві концентрації в дослідженні становлять 30 мМ, 3 мМ, 0,3 мМ, і 0,03 мМ.

Субстрат (Dnp-Pro-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH<sub>2</sub>) отримують таким же чином, як і для інгібуння колагенази людини (MMP-1), і по 50 мкл додають в кожну лунку з отриманням кінцевої концентрації проби 10 мМ. Відліки флуоресценції (збудження 360 нм, випускнення 450 нм) прочитують в момент часу 0 і кожні 5 хвилин протягом 1 години.

Позитивні контролю і негативні контролю пригтовляють трикратно, як описано для дослідження MMP-1.

Значення IC<sub>50</sub> визначаються так само, як при інгібуння колагенази людини (MMP-1). Якщо отримане значення IC<sub>50</sub> складає менше, ніж 0,03 мМ, інгібітори потім досліджують при кінцевих концентраціях of 0,3 мМ, 0,03 мМ, 0,003 мМ і 0,0003 мМ.

#### Інгібуння продукування TNF

Здатність сполук або їх фармацевтично прийнятних солей до інгібуння продукування TNF і, як наслідок, щоб продемонструвати їх ефективність для лікування захворювань, що включають продукцію TNF, демонструється за допомогою наступного дослідження *in vitro*.

Моноцити людини виділяють з обробленої антикоагулянтном крові людини з використанням одностадійного методу розділення з допомогою фікол-хайпак (2). Моноцити промивають три рази в збалансованому сольовому розчині Хенкса (HBSS) з двовалентними катіонами і повторно суспендують з щільністю  $2 \times 10^6$ /мл в HBSS, що містить 1% BSA. Диференціальні відліки, які зчитуються з використанням аналізатора Abbott Cell Dyn 3500, показують, що моноцити становлять оті 7 до 24% від загального числа клітин в цих препаратах.

180 мкл клітинної суспензії аликвотують в 96-лункові планшети з плоским дном (Costar). Додатки сполук і LPS (кінцева концентрація 100 нг/мл) дає кінцевий об'єм 200 мкл. Всі умови відтворюються трикратно. Після чотирьох годин інкубації при 37°C в інкубаторі з атмосферою зволоженого CO<sub>2</sub> планшети видаляють і центрифугують (10 хвилин приблизно при 250 x g), і супернатанти видаляють і досліджують на зміст TNF-α з використанням набору R&D ELISA Kit.

#### Інгібуння продукування розчинного TNF-α

Здатність сполук або їх фармацевтично прийнятних солей до інгібуння вивільнення клітинними TNF-α і, як наслідок, щоб продемонструвати їх ефективність при лікуванні захворювань, що включають дисрегуляцію розчинного TNF-α, демон-

струється за допомогою наступних досліджень *in vitro*.

#### Спосіб оцінки активності рекомбінантного ферменту, перетворюючого TNF-α

##### Експресія рекомбінантного TACE

Фрагмент ДНК, що кодує сигнальну послідовність, препродомен, продомен і каталітичний домен TACE (амінокислоти 1-473), може бути ампліфікований за допомогою ланцюгової реакції полімерази з використанням бібліотеки комплементарної ДНК легень людини як матриці. Ампліфікований фрагмент потім клонують у вектор pFastBac. Послідовність ДНК вставки підтверджується для обох спіралей. Бакмід, отриманий з використанням pFastBac у *E. coli* DH10Bac, трансфікують в клітини комм SF9. Вірусні частки потім ампліфікують до стадій P1, P2, P3. Вірус P3 інфікують в клітини комм, як SF9, так і High Five, і вирощують при 27°C протягом 48 годин. Середовище збирають і використовують для досліджень і подальшого очищення.

##### Отримання субстрату з гасінням флуоресценції

Готують модельний пептидний субстрат TNF-α (LY-ЛейцинАланінГлютамінАланінВалін-АргинінСерин-СеринЛізин(CTMR)-Аргинін(LY=Люцифер жовтий, CTMK=Карбокситетраметил-Родамін)), і концентрацію встановлюють по поглинанню на 560 нм (E<sub>560</sub>, 60000 M-1CM-1) по методу Geoghegan, KF, "Improved method for converting an unmodified peptide to an energy-transfer substrate for a proteinase" Bioconjugate Chem 7, 385 - 391 (1995). Цей пептид включає позицію розщеплення на про-TNF, який розщеплюється *in vivo* з допомогою TACE.

##### Експресія рекомбінантного TACE

Фрагмент ДНК, що кодує сигнальну послідовність, препродомен, продомен і каталітичний домен TACE (амінокислоти 1-473), ампліфікують за допомогою ланцюгової реакції полімерази з використанням бібліотеки комплементарної ДНК легень людини як матриці. Ампліфікований фрагмент потім клонують у вектор pFastBac. Послідовність ДНК вставки підтверджується для обох спіралей. Бакміду, отриману з використанням pFastBac у *E. coli* DH10Bac, трансфікують в клітини комм SF9. Вірусні частки потім розмножуються до стадій P1, P2, P3. Вірус P3 інфікують в клітини комм, як SF9, так і High Five, і вирощують при 27°C протягом 48 годин. Середовище збирають і використовують для досліджень і подальшого очищення.

##### Ферментативна реакція

Реакція, та, що проводиться на 96-лунковому планшеті (Dynatech) складається з 70 мкл буферного розчину (25 мМ HEPES-HCl, pH 7,5, плюс 20 мМ ZnCl<sub>2</sub>), 10 мкл 100 мМ субстрату з гасінням флуоресценції, 10 мкл розчину сполуки, що досліджується в ДМСО (5%), і кількостей ферменту γ-TACE, яке викликає 50% розщеплення через 60 хвилин - при загальному об'ємі 100 мкл. Специфічність ферментативного розщеплення амідного зв'язку між аланіном і валіном перевіряють з допомогою ВЕРХ і мас-спектрометрії. Початкові швидкості розщеплення відстежують шляхом вимірювання швидкості збільшення інтенсивності флуоресценції на 530 нм (збудження на 409 нм).

протягом 30 хвилин. Експеримент контролюють таким чином: 1) по базовій флуоресценції субстрату, 2) по флуоресценції повністю розщепленого субстрату, 3) по гасінню або приросту флуоресценції розчинами, що містять, сполуку, що досліджується.

Дані аналізують таким чином. Швидкості "контрольних" реакцій, що не містять сполуки, що досліджується, опосередковують для визначення значення 100% швидкості реакції в присутності сполуки, що досліджується порівнюють з швидкістю у відсутність сполуки і табулюють як "процент від контролю, що не містить сполуки, що досліджується". Будують графіки "% від контролю" як функції від логарифму концентрації сполуки, і визначають положення точки, відповідної половині максимального значення функції або значенню  $IC_{50}$ .

Всі сполуки по даному винаходу мають значення  $IC_{50}$ , менші, ніж 1мкМ, переважно, менші, ніж 50нМ. Найбільш переважні сполуки по даному винаходу, є, щонайменше, в 100 разів менш сильні діючими по відношенню до г-MMP-1, ніж у вказаних вище дослідженнях TACE.

#### Дослідження моноцитів людини

Моноцити людини виділяють з обробленої антикоагулянтном крові людини з використанням одностадійного методу розділення з допомогою фікоп-хайпак (2). Моноцити промивають три рази в збалансованому сольовому розчині Хенкса (HBSS) з двовалентними катіонами і повторно суспендують з щільністю  $2 \times 10^6$ /мл в HBSS, що містить 1% BSA. Диференціальні відліки, що зчитуються з використанням аналізатора Abbott Cell Dyn 3500,

показують, що моноцити складають від 17 до 24% від загального числа клітин в цих препаратах.

180мкл клітинної суспензії аликвотують в 96-лункові планшети з плоским дном (Costar). Додатки сполук і LPS (кінцева концентрація 100нг/мл) дає кінцевий об'єм 200мкл. Всі умови відтворюються трикратно. Після чотирьох годин інкубації при 37°C в інкубаторі з атмосферою зволоженою  $CO_2$  планшети видаляють і центрифугують (10 хвилин приблизно при 250 x g) і супернатанти видаляють і досліджують на зміст TNF- $\alpha$  з використанням набору R&D ELISA Kit.

#### Дослідження агреканаз

Первинні свині хондроцити з хряща суглобів кінцівки виділяють за допомогою послідовного розщеплення трипсину і колагенази з подальшим розщепленням колагенази протягом ночі і розміщують по  $2 \times 10^5$  клітин на лунку в 48-лункові планшети при 5мкКюрі/мл  $^{35}S$  (1000 Кюрі/ммоль) сірки, в планшети, покриті колагеном типу I. Клітинам надають можливість інкорпорувати мітку в їх протеоглікановий матрикс (близько 1 тижня) при 37°C, в атмосфері з 5%  $CO_2$ .

У ніч перед початком дослідження моношари хондроцитів промивають два рази DMEM/1% PSF/G, а потім залишають для інкубації протягом ночі в свіжому DMEM/1% FBS.

На наступний ранок хондроцити промивають один раз в DMEM/1%PSF/G. Останній промивці дозволяють осісти на планшети в інкубаторі під час здійснення розбавлення.

Середовища і розбавлення можуть бути отримані, як описано нижче в таблиці.

Контрольні середовища	Тільки DMEM (контрольні середовища)
Середовища IL-1	DMEM + IL-1(5нг/мл)
Розбавлення лікарських засобів	Приготування всіх початкових розчинів сполук при 10мМ ДМСО Приготування 100мкМ початкового розчину кожної сполуки в DMEM в 96-лунковому планшеті. Зберігання в холодильнику протягом ночі. Приготування на наступний день послідовних розбавлень в DMEM з IL-1 до 5мкМ, 500нМ і 50нМ. Відсмоктування останньої промивки з лунок і додавання 50мкл сполуки з вказаних вище розбавлень до 450мкл середовищ IL-1 у відповідні лунки 48-лункових планшетів. Кінцеві концентрації сполуки рівні 500нМ, 50нМ і 5нМ. Всі вільні лунки заповнюються трикратно пробамі з контролем і одним тільки IL-1 в кожній лунці.

Планшети мять і використовують тільки внутрішні 24 лунки на планшеті. На одному з планшетів декілька рядів лунок позначають як IL-1 (без ліків) і контроль (без IL-1, без ліків). З цих контрольних рядів періодично знімаються відліки для відстеження виходу протеоглікану, міченого  $^{35}S$ . Середовища з контролем і IL-1 додають в лунки (450мкл) з подальшим додаванням сполуки (50мкл) таким чином, щоб ініціювати дослідження. Планшети інкубують при 37°C, в атмосфері з 5%  $CO_2$ .

При 40 - 50% вивільнення (коли число відліків на хвилину від серед IL-1 в 4 - 5 разів більше ніж в контрольних середовищах), що оцінюється по відліках сцинтиляцій в рідині (LSC) зразків середовищ, дослідження закінчують (через 9 - 12 годин). Середовища видаляють з всіх лунок і вміщують в

сцинтиляційні пробірки. Додають сцинтиляційну рідину, і реєструють відліки радіоактивності (LSC). Для солюбілізації шарів клітин в кожен лунку додають 500мкл буферу з папайним гідролізатом (0,2М Tris, pH 7,0, 5мМ EDTA, 5мМ DTT, і 1мг/мл папаїну). Планшети з розщеплюючим розчином інкубують при 60°C протягом ночі. Шар клітин видаляють з планшета на наступний день і вміщують в сцинтиляційні пробірки. Потім додають сцинтилят, і реєструють відліки зразків (LSC).

Процент відліків від вивільненого ферменту визначається від загальної кількості, присутньої в кожній лунці. Визначаються середні значення по трьох точках, і віднімаються значення для контролю для кожної лунки. Процент інгібування для сполуки відлічують від зразків з IL-1 в якості 0% інгібування (100% від загального числа відліків).

Для введення ссавцям, включаючи людей, для інгібування матриксних металопротеїназ або продукування фактора некрозу пухлини (TNF), може бути використана безліч звичайних способів, включаючи пероральне, парентеральне і місцеве введення. Як правило, активну сполуку вводять перорально і парентерально при дозуванні в межах від близько 0,1 і 25 мг/кг маси тіла суб'єкта, що зазнає лікування, на добу, переважно від близько 0,3 до 5 мг/кг. Однак обов'язково буде здійснюватися деякі зміни дозування в залежності від стану суб'єкта, що зазнає лікування. Обличчя, відповідальне за введення, буде в кожному випадку визначати відповідне дозування для індивідуального суб'єкта.

Сполуки по даному винаходу можуть вводитися у вигляді великого числа різних лікарських форм, як правило, терапевтичне ефективні сполуки по даному винаходу присутні в таких дозованих формах при рівнях концентрації, що знаходяться в межах від близько 5,0% до близько 70% масових.

Для перорального введення, можуть бути використані таблетки, що включають різні наповнювачі, такі як мікрокристалічна целюлоза, цитрат натрію, карбонат кальцію, фосфат дикальцію і гліцин, разом з різними розрихлювачами, такими як крохмаль (і переважно крохмаль з кукурудзи, картоплі і тапіоки), альбінова кислота і деякі комплексні силікати, разом із зв'язуючими для гранулювання, такими як полівінілпіролідон, сахароза, желатин і смола акації. Крім того, для цілей таблетування часто є дуже корисними мастячі агенти, такі як стеарат магнію, лаурилсульфат натрію і тальк. Тверді композиції подібного типу можуть також бути використані як наповнювачі в желатинових капсулах, переважні матеріали в зв'язку з цим також включають лактозу або молочний цукор, а також високомолекулярні поліетиленгліколи. Коли для перорального введення є бажаними водні суспензії і/або еліксири, активний інгредієнт може бути об'єднаний з різними підсолоджуючими або ароматизуючими агентами, фарбувальним матеріалом або барвником, і, якщо це бажане, з емульгуючими і/або суспендуючими агентами, а також з такими розрихлювачами як вода, етанол, пропіленгліколь, гліцерин, і з різними подібними їх поєднаннями. У випадку тварин вони переважно містяться в кормі або питній воді при концентрації 5-5000 частин на мільйон, переважно від 25 до 500 частин на мільйон.

Для парентерального введення (внутрішньом'язового, внутрішньочеревного, підшкірного і внутрішньовенного використання), як правило, приготують стерильний розчин для ін'єкцій активного інгредієнта. Можуть бути використані розчини терапевтичної сполуки по даному винаходу або в кунжутному або в арахісовому маслі, або у водному розчині пропіленгліколю. У водних розчинах повинен міститися буфер, і повинен бути встановлений рН, більший, ніж 8, якщо, це необхідне, і рідкий розрихлювач спочатку повинен бути зроблений ізотонічним. Ці водні розчини є придатними для внутрішньовених ін'єкцій. Масляні розчини є придатними для внутрішньосуглобних, внутрішньом'язових і підшкірних ін'єкцій. Приготування всіх цих розчинів в стерильних умо-

вах легко здійснюють за допомогою стандартних фармацевтичних методик, добре відомих фахівцям в даній області. У випадку тварин, сполуки можуть вводитися внутрішньом'язово або підшкірно при рівнях доз від близько 0,1 до 50 мг/кг/день, переважно від 0,2 до 10 мг/кг/день, в одній дозі або аж до 3 розділених доз.

Для місцевого очного введення безпосереднє нанесення на підлягаюче впливу око може використовуватися в формі приготування очних крапель, аерозолів, гелів або мазей, або може бути включене в очний щиток з колагену (такого як полі-2-гідроксиетилметакрилат і його співполімери), або з гідрофільного полімеру. Матеріали можуть також наноситися у вигляді контактної лінзи або за допомогою локального резервуара, або як субкон'юнктивальний препарат.

Для введення в очницю, як правило, готують стерильний розчин для ін'єкцій активного інгредієнта. Можуть бути використані розчини терапевтичної сполуки по даному винаходу у водному розчині або суспензії (розмір часток, менший, ніж 10 мікрон). Водні розчини повинні містити відповідний буфер, і значення рН повинні бути встановлені переважно між 5 і 8, якщо необхідно, і рідкий розрихлювач спочатку повинен бути зроблений ізотонічним. Для збільшення в'язкості або для сповільнення вивільнення можуть бути додані невеликі кількості полімерів (таких як целюлозні полімери, декстран, поліетиленгліколь, або альбінова кислота). Такі розчини придатні для використання з метою введення в очницю. Приготування всіх цих розчинів в стерильних умовах легко здійснюється за допомогою стандартних фармацевтичних методик, добре відомих фахівцям в даній області. У випадку тварин, сполуки можуть вводитися в очницю при рівнях доз від близько 0,1 до 50 мг/кг/день, переважно від 0,2 до 10 мг/кг/день, в одній дозі або аж до 3 розділених доз.

Активні сполуки по даному винаходу також можуть бути представлені у вигляді ректальних композицій, таких як супозиторії, або клізм, що втримуються, наприклад, що містять звичайні основи для супозиторіїв, такі як масло какао або інші гліцериди.

Для назального введення або введення шляхом інгаляції, активні сполуки по даному винаходу можуть бути зручно доставлені у вигляді розчину або суспензії з контейнера із закачанним спреєм, який стискується або прокачується пацієнтом, або у вигляді аерозолі з контейнера, що знаходиться під тиском або розпилювача з використанням відповідного пропеланту, наприклад, дихлордифторметану, трихлорфторметану, дихлортетрафторетану, двоокису вуглецю або іншого відповідного газу. У випадку аерозолі, що знаходиться під тиском, стандартне дозування може визначатися шляхом створення клапана для доставки відміряної кількості. Контейнер, що знаходиться під тиском або розпилювач може містити розчин або суспензію активної сполуки. Капсули і картриджі (виготовлені, наприклад, з желатину) для використання в інгаляторі або при вдиханні можуть бути виготовлені, як утримуючу порошкоподібну суміш сполуки по даному винаходу і відповідної порошкоподібної основи, такої як лактоза або крохмаль.

Даний винахід ілюструється за допомогою наступних далі прикладів приготування і прикладів, але не є обмеженим їх деталями

#### Приклад 1

##### Гідроксиамід 4-[4-(4-

фторфенок-

си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-  
карбонової кислоти

(A) Етиловий ефір 4-[N-(дифенілметилден)аміно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти

До суспензії пдриду натрію (6,56 грам 0,164 моль) в диметилловому ефірі етиленгліколю (150мл) при 0°C по краплях через лійку додають розчин етилового ефіру N-(дифенілметилден)гліцину (20,60 грам, 0,07398 моль) в диметилловому ефірі етиленгліколю (50мл) Розчин 2-брометилового ефіру (23,21 грам, 0,090 моль) в диметилловому ефірі етиленгліколю (50мл) потім додають приблизно протягом 5 хвилин, 10мл частинами, до розчину диметилловому ефіру етиленгліколю Крижану баню видаляють і реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 16 годин Суміш розбавляють діетиловим ефіром і промивають водою Водний шар екстрагують діетиловим ефіром Об'єднані органічні екстракти промивають насиченим сольовим розчином, сушать над сульфатом магнію, і концентрують з отриманням каламутного жовтого масла (28,692 грам) Хроматографія на силікагелі, елювання спочатку 4л 5% етилацетату/гексану, потім 4 лтрами 10% етилацетату/гексану дає етиловий ефір 4-[N-(дифенілметилден)аміно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти у вигляді прозорого жовтого масла (16,114г, 64%)

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,58 (д, 2H), 7,36 (м, 4H), 7,28 (т, 2H), 7,08 (м, 2H), 3,99 (м, 2H), 3,70 (м, 2H), 3,66 (кв, 2H), 2,10 (м, 2H), 1,99 (м, 2H), 1,08 (т, 3H) MS Мас-спектри при хімічній іонізації і при атмосферному тиску 338 (M<sup>+</sup> + 1)

(B) Етиловий ефір 4-амінотетрагідропіран-4-карбонової кислоти

До розчину етилового ефіру 4-[N-(дифенілметилден)аміно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (16,0 грам 0,047 моль) в діетиловому ефірі (120мл) додають 1M водний розчин соляної кислоти (100мл) Суміш інтенсивно перемішують при кімнатній температурі протягом 16 годин Шари відділяють і водний шар промивають діетиловим ефіром Водний шар доводять до значення pH 10 за допомогою розбавленого водного розчину гідроксиду амонію і екстрагують дихлорметаном Органічний екстракт сушать над сульфатом натрію і концентрують з отриманням етилового ефіру 4-амінотетрагідропіран-4-карбонової кислоти (7,128г, 71,7%) у вигляді масла

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 4,15 (кв, 2H), 3,82 (м, 2H), 3,62 (м, 2H), 2,07 (м, 2H), 1,60 (с, 2H), 1,44 (м, 2H), 1,24 (т, 3H) <sup>13</sup>C ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ 176,48, 63,70, 61,09, 54,78, 35,05, 14,15 MS Мас-спектри при хімічній іонізації і при атмосферному тиску 210 (M<sup>+</sup> + 1)

(C) Етиловий ефір 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти

До розчину етилового ефіру 4-амінотетрагідропіран-4-карбонової кислоти (7,00 грам, 0,0404 моль) в N,N-диметилформаміді (40мл) додають триетиламін (5,94мл, 0,043 моль) Додають по частинах твердий 4-(4-фторфенокси)бензолсульфонілхлорид (12,165 грам, 0,0424 моль) Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 16 годин, і потім велику частину розчинника видаляють шляхом випаровування у вакуумі Залишок розподіляють між насиченим розчином бікарбонату натрію і дихлорметаном Водний шар екстрагують дихлорметаном Об'єднані органічні шари промивають насиченим сольовим розчином і сушать над сульфатом натрію Випаровування розчинника у вакуумі дає сирий етиловий ефір 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти у вигляді янтарного масла (21,05 грам) Флеш-хроматографія на силікагелі з елюванням 25% етилацетатом/гексаном, а потім 50% етилацетатом/гексаном дає етиловий ефір 4-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти у вигляді майже білого кристалічного твердого продукту (12,15 грам, 71%, т пл 116 - 117°C)

<sup>1</sup>H ЯМР (COCl<sub>2</sub>) δ 7,79 (д, 2H), 7,09 (т, 2H) 7,02 (м, 2H), 8,97 (д, 2H), 5,10 (з, 1H), 4,01 (кв, 2H), 3,80 (м, 4H), 2,08 (м, 2H) 1,84 (ушир, д, 2H), 1,23 (т, 3H) MS Мас-спектри при хімічній іонізації і при атмосферному тиску 424 (M<sup>+</sup> + 1)

(D) 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонова кислота

#### Спосіб А

Розчин етилового ефіру 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (12,1 грам, 0,0286 моль) в тетрагідрофурані (190мл) обробляють водним розчином 3 M гідроксиду натрію (95мл, 0,286 моль) і перемішують при кімнатній температурі протягом 4 днів Розчинник випаровують у вакуумі і залишок розподіляють між водою і діетиловим ефіром Водний шар промивають діетиловим ефіром, підкисляють до pH, рівного 1, 3л водним розчином соляної кислоти і екстрагують дихлорметаном Після промивання водою, органічний екстракт сушать над сульфатом натрію і концентрують з отриманням 4-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (11,241 грам, 99%) у вигляді жовтуватого твердого піни

#### Спосіб В

Розчин етилового ефіру 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (34,19 грам, 0,807 моль) в етанолі (330мл) обробляють водним розчином 3M гідроксиду натрію (330мл, 0,990 моль) і нагрівають із зворотним холодильником протягом ночі Розчинник випаровують у вакуумі і залишок розподіляють між водою і діетиловим ефіром Водний шар промивають діетиловим ефіром, підкисляють до pH 1 водним розчином 3л соляної кислоти і екстрагують етилацетатом Після промивання водою

органічний екстракт сушать над сульфатом натрію і концентрують з отриманням 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (31,26 грам, 98%) у вигляді білого кристалічного твердого продукту

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,73 (д, 2H), 7,03 (т, 2H) 6,96 (м, 2H), 6,91 (д, 2H), 3,56 (м, 2H), 3,43 (ушир, м, 3H), 2,01 (м, 2H) 1,80 (ушир, д, 2H) МС Мас-спектри при хімічній іонізації і при атмосферному тиску 394 ( $\text{M}^+ - 1$ ) (- іон)

(Е) N-бензилоксиамід 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]-тетрагідропіран-4-карбонової кислоти

Диізопропілетиламін (3,89 грам, 0,030 моль) і (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламіно)фосфоній гексафторфосфат (13,27 грам, 0,030 моль) додають послідовно до розчину 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (11,22 грам 0,028 моль) в безводному N,N-диметилформаміді (140мл) Отриманий розчин перемішують при кімнатній температурі протягом 16 годин Потім ще додають диізопропілетиламін (4,0мл, 0,051 моль) і O-бензилгідроксиламіногідрохлорид (5,46 грам 0,034 моль) і отриману суміш перемішують при 60°C протягом 18 годин Після концентрування у вакуумі залишок обробляють 0,5н водним розчином соляної кислоти і екстрагують етилацетатом Органічний екстракт промивають насиченим водним розчином бікарбонату натрію, водою, і насиченим сольовим розчином Розчин сушать над сульфатом магнію, відфільтровують і концентрують до однієї четвертої від початкового об'єму Додавання такого ж об'єму гексану осаджає N-бензилоксиамід 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (11,595г, 81,6%) у вигляді білого кристалічного твердого продукту (т пл 175 - 176°C)

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,76 (д, 2H), 7,35 (м, 5H), 7,05 (т, 2H), 6,96 (м, 4H) 5,38 (ушир с, 1H), 4,86 (з, 2H), 3,57 (м, 2H), 3,44 (м, 2H), 2,01 (м, 2H), 1,77 (ушир, д, 2H), 1,54 (ушир, з, 1H) МС при хімічній іонізації і при атмосферному тиску 501 ( $\text{M}^+ + 1$ )

(F) Гідроксиамід 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти

Спосіб А  
Розчин М-бензилоксиаміду 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (11,28 грам, 0,0225 моль) в етилацетаті (600мл) обробляють 5% паладієм на сульфаті барію (5,0 грам) і пдрують в апараті Парра зі струшуванням при тиску 3 атмосфери протягом 18 годин Після фільтрування через найлон (розмір пір 0,45mM) для видалення каталізатора, шар на фільтрі промивають метанолом Об'єднаний фільтрат і промивну рідину випаровують і залишок витягують гарячим метанолом Охолодження дає сирий підроксиамід 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-

карбонової кислоти (5,941 грам, 64%, т пл 176 - 177°C) у вигляді білого кристалічного твердого продукту Маточну рідину випаровують і залишок кристалізують з 50% метанол/дихлорметану з отриманням ще підроксиаміда 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (0,660 грам, т пл 184 - 185°C) у вигляді білих голок Маточну рідину знов випаровують і залишок кристалізують з метанол/дихлорметану з отриманням ще продукту (1,861 грам, т пл 176 - 177°C) Перекристалізація першої порції з метанолу/дихлорметану дає аналітичне чистий підроксиамід 4-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніламіно]тетрагідропіран-4-карбонової кислоти (3,091 грам, т пл 184 - 185°C)

Спосіб В

Оксалілхлорид (11,83 грам, 0,0932 моль, 1,1екв) і ДМФ (0,13мл) додають до суспензії, що перемішується карбонової кислоти (33,25 грам, 0,0841 моль) в сухому метиленхлориді (300мл) при кімнатній температурі Спостерігається деяке утворення пухирців Суспензію, яка повільно стає жовтуватим розчином, перемішують протягом ночі при кімнатній температурі У цей час, розчин підрохлориду підроксиламіну (7,65 грам, 0,110 моль, 1,3екв) в сухому пірідині (51,4мл, 0,635 моль, 7,5екв) при 0°C обробляють хлортриметилсила-ном, спричиняючи утворення білого осадка Цю суспензію перемішують при кімнатній температурі протягом ночі Обидві колби потім охолоджують до 0°C і додають розчин хлорангідриду кислоти до суспензії силілованого підроксиламіну Отриману суміш перемішують при 0°C протягом 1 години і при кімнатній температурі протягом 2 годин Додають 1000мл водного розчину 2н HCl і перемішують при кімнатній температурі протягом 1 години Шари розділяють, водний шар екстрагують три рази етилацетатом (500мл) Об'єднані органічні шари промивають водою і насиченим сольовим розчином і сушать над сульфатом магнію, відфільтровують, і об'єм фільтрату зменшують до 300мл, при цьому осаджується велика кількість білого кристалічного твердого продукту Його охолоджують протягом ночі в холодильнику Твердий продукт збирають шляхом вакуумного фільтрування, промивають холодним 1 1 етилацетатом/гексаном і сушать у високому вакуумі з отриманням 30,311 грамів бажаної підроксамової кислоти (87,8%) у вигляді білого кристалічного твердого продукту (т пл 189-190°C)

$^1\text{H}$  ЯМР ( $d_6$  DMSO)  $\delta$  10,35 (ушир, з, 1H), 8,68 (ушир, з, 1H), 7,78 (ушир, з, 1H), 7,74 (д, 2H), 7,26 (т, 2H), 7,16 (м, 2H), 7,04 (д, 2H), 3,40 (м, 2H), 3,31 (м, 2H), 1,78 (м, 4H)  $^{13}\text{C}$  ЯМР (DMSO)  $\delta$  169,65, 160,66, 137,50, 129,39, 122,34, 122,25, 117,75, 117,44, 117,24, 62,94, 58,45, 33,34 MS Мас-спектри при хімічній іонізації і при атмосферному тиску 409 ( $\text{M}^+ - 1$ ) (- іон)

Приклад приготування А

4-(4-Фторфенок-си)бензолсульфонілхлорид

Хлорсульфонову кислоту (26мл, 0,392 моль) додають по краплях до охолодженого на льоду 4-фторфенок-сибензолу (36,9 грам, 0,196 моль) з механічним перемішуванням Коли завершується

додавання, суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 4 годин. Суміш потім виливають у воду з льодом. Продукт, 4-(4-фторфенокси)бензолсульфонілхлорид (18,6 грам, 33%), збирають шляхом фільтрування і сушать на повітрі.

#### Приклад приготування В

##### Натрій 4-(3-метилбутоксид)бензолсульфонат

Розчин 4-гідроксибензолсульфонової кислоти (10,0 грам, 43,1мМоль) і гідроксиду натрію (3,3 грам, 83мМоль) у воді (40мл) перемішують з розчином 1-йод-3-метилбутану (11,3мл, 86,4мМоль) в ізопропанолі (80мл), і отриману суміш нагрівають із зворотним холодильником протягом 2 днів. Ізопропанол видаляють шляхом випаровування у вакуумі. Вказану в заголовку сполуку, 10,0 грам (87%), збирають шляхом фільтрування і промивають ізопропанолом.

#### Приклад приготування С

##### 4-(3-Метилбутоксид)бензолсульфонілхлорид

Суміш натрій 4-(3-метилбутоксид)бензолсульфонату (2,5 грам, 9,4мМоль), тіонілхлориду (10мл) і 5 крапель К,К-диметилформаміду нагрівають із зворотним холодильником протягом 5 годин. Після охолодження надлишок тіонілхлориду випаровують і залишок витягують етилацетатом. Розчин охолоджують на крижаній бані і додають воду. Органічну фазу випаровують і промивають водою і насиченим сольовим розчином. Після сушки над сульфатом натрію розчинник випаровують з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді масла, 2,34 грама (95%).

#### Приклад приготування D

##### Натрій 4-(2-циклопентилетоксид)бензолсульфонат

Розчин 4-гідроксибензолсульфонової кислоти (6,5 грам, 28,2мМоль) і гідроксиду натрію (2,2 грам 55мМоль) у воді (15мл) змішують з розчином 2-(брометил)циклопентану (15,0 грам, 84,7мМоль) в ізопропанолі (40мл) і отриману суміш нагрівають із зворотним холодильником протягом 2 днів. Ізопропанол видаляють шляхом випаровування у вакуумі. Вказану в заголовку сполуку, 4,7 грам (57%), збирають шляхом фільтрування і промивають ізопропанолом.

#### Приклад приготування Е

##### 4-(3-Метилбутоксид)бензолсульфонілхлорид

Суміш натрій 4-(2-циклопентилетоксид)бензолсульфонату (2,5 грам, 8,6мМоль), тіонілхлориду (15мл), і декількох крапель N,N-диметилформаміду нагрівають із зворотним холодильником протягом 5 годин. Після охолодження надлишок тіонілхлориду випаровують і залишок витягують етилацетатом. Розчин охолоджують на крижаній бані і додають воду. Органічну фазу відділяють і промивають водою і насиченим сольовим розчином. Після сушки над сульфатом натрію розчинник випаровують з отриманням вказаної в заголовку сполуки у вигляді масла, 2,24

грами (90%).

#### Приклад приготування F

##### 4-Фторбіфенілсульфонілхлорид

Хлорсульфонову кислоту (8,7мл, 0,13 моль) додають по краплях до 4-фторбіфенілу (10,2 грам, 59мМоль), перемішуючи при цьому на крижаній бані. Перемішування продовжують з охолодженням на льоду протягом 0,5 години, і потім реакційну суміш виливають на під. Отриманий білий осадок збирають шляхом фільтрування і розчиняють в хлороформі. Розчин хлороформу промивають водою і насиченим сольовим розчином, сушать над сульфатом магнію і концентрують з отриманням білого твердого продукту. Бажаний продукт, 4-фторбіфенілсульфоніл хлорид (4,3 грам, 27%), відділяють від 4-фторбіфенілсульфонової кислоти (небажаний побічний продукт) шляхом кристалізації останнього з етилацетату і кристалізації матеріалу, що залишився з гексану.

#### Приклад приготування G

##### Натрій 4-(4-фторбензилоксид)бензолсульфонат

До розчину 4-гідроксибензолсульфонової кислоти (5,13 грам, 22,1мМоль) у водному розчині 1 н гідроксиду натрію (23мл) додають розчин 4-фторбензилброміду (3,3мл, 26,5мМоль) в етанолі (20мл). Отриману суміш нагрівають із зворотним холодильником протягом 2 днів. При охолодженні і відстоюванні осаджується білий твердий продукт. Осаджений продукт, натрій 4-(4-фторбензилоксид)бензолсульфонат, 4,95 грам (74%) збирають шляхом фільтрування і промивають етилацетатом і діетиловим ефіром.

#### Приклад приготування H

##### 4-(4-Фторбензилоксид)бензолсульфонілхлорид

До суспензії натрій 4-(4-фторбензилоксид)бензолсульфонату (0,5 грам, 1,64мМоль) в метиленхлориді (5мл) додають пентахлорид фосфору (275мг, 1,31мМоль). Отриману суміш нагрівають із зворотним холодильником протягом 7 годин. Після охолодження на крижаній бані і гасіння водою (15мл) суміш екстрагують етилацетатом. Органічну фазу промивають насиченим сольовим розчином, сушать над сульфатом натрію і концентрують з отриманням 4-(4-фторбензилоксид)бензолсульфонілхлориду у вигляді білого твердого продукту (130мг, 26%).

#### Приклад приготування I

##### 4-(4-Хлорфенокси) бензолсульфонілхлорид

Хлорсульфонову кислоту (9,7мл, 0,147 моль) додають по краплях до 4-хлорфеноксибензолу (12,8мл, 73,4мМоль) при кімнатній температурі з перемішуванням. Коли додавання закінчується, суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1 години і потім виливають у воду з льодом. Твердий продукт збирають шляхом фільтрування, сушать на повітрі, і перекристалізують з петролейного ефіру і етилацетату з отриманням 4-(4-хлорфенокси)бензолсульфонілхлориду (7,43 грам, 33%).

