



УКРАЇНА

(19) UA (11) 86862 (13) C2

(51) МПК (2009)

C07D 295/18 (2006.01)

C07D 317/34 (2006.01)

A61K 31/495

A61P 29/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПОХІДНІ N-ГІДРОКСІАМІДУ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

1

2

(21) а200708814

(22) 27.01.2006

(24) 25.05.2009

(86) РСТ/ЕР2006/050480, 27.01.2006

(31) 05100646.8

(32) 31.01.2005

(33) EP

(31) 60/648,931

(32) 01.02.2005

(33) US

(46) 25.05.2009, Бюл.№ 10, 2009 р.

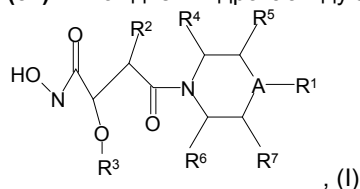
(72) СВИННЕН ДОМІНІК, ГОНЗАЛЕС ЖЕРОМ

(73) ЛАБОРАТУАР СЕРОНО С.А.

(56) WO 03084941 A

WO 9533731 A

(57) 1. Похідне N-гідроксіаміду за формулою (I)



де:

А вибраний з групи, яку складають -C(B)- та N;

В - Н або В утворює зв'язок або з R⁵ або R⁷;R¹ вибраний з групи, яку складають Н, С₁-С₆-алкіл, С₂-С₆-алкеніл, С₂-С₆-алкініл, С₃-С₈-циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арил, гетероарил, С₃-С₈-циклоалкіл-С₁-С₆-алкіл, гетероциклоалкіл-С₁-С₆-алкіл, гетероарил-С₁-С₆-алкіл, аміно- та алкоксигрупа;R² - Н;R³ вибраний з групи, яку складають Н, С₁-С₆-алкіл, С₂-С₆-алкеніл та С₂-С₆-алкініл;R⁴, R⁵, R⁶ та R⁷ незалежно один від одного вибрані з групи, яку складають Н, С₁-С₆-алкіл, С₂-С₆-алкеніл, С₂-С₆-алкініл; або R⁴ та R⁷ спільно утворюють -CH₂-місток;

а також оптично активні форми відповідних сполук, наприклад, енантіомери, діастереомери та рацемічні форми, а також фармацевтично прийнятні солі відповідних сполук.

2. Похідне N-гідроксіаміду за п. 1, де R¹ вибраний з групи, яку складають арил та гетероарил.3. Похідне N-гідроксіаміду за п. 1 або п. 2, де R¹ - феніл.4. Похідне N-гідроксіаміду за будь-яким із попередніх пунктів, де R³ - Н.5. Похідне N-гідроксіаміду за будь-яким із попередніх пунктів, де R⁵, R⁶ та R⁷ - Н.6. Похідне N-гідроксіаміду за будь-яким із попередніх пунктів, де R⁴ вибраний з групи, яку складають Н та метил.

7. Похідне N-гідроксіаміду за будь-яким із попередніх пунктів, де А - N.

8. Похідне N-гідроксіаміду за будь-яким із попередніх пунктів, де R¹ - феніл; R², R³, R⁵, R⁶ та R⁷ - Н; R⁴ вибраний з групи, яку складають Н та метил; А - N.

9. Похідне N-гідроксіаміду за будь-яким із попередніх пунктів, вибране з групи, яку складають:

(2R)-4-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід;

(2S)-4-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід;

(2S)-N,2-дигідрокси-4-[(2R)-2-метил-4-[4-(трифторметокси)феніл]піперазин-1-іл]-4-оксобутанамід;

(2S)-4-[(2R)-4-біфеніл-4-іл-2-метилпіперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід.

10. Сполука за будь-яким із пп. 1-9 для застосування як лікарський засіб.

11. Застосування сполуки за будь-яким із пп. 1-9, а також ізомерів або сумішей цих сполук для одержання лікарського засобу для профілактики та/або лікування запальних захворювань, нейродегенеративних захворювань, серцево-судинних захворювань, інсульту, раку, передчасних пологів, ендометріозу та респіраторних розладів.

12. Застосування за п. 11, причому згадане захворювання вибране з групи, яку складають запальне кишкове захворювання, розсіяний склероз та ревматоїдний артрит.

13. Застосування за п. 11, причому згадані захворювання вибрані з групи, яку складають астма, емфізема та хронічні обструктивні легеневі розлади.

(13) C2

(11) 86862

(19) UA

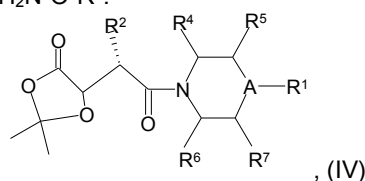
14. Застосування за п. 11, причому згадані захворювання вибрані з групи, яку складають пневмофіброз, панкреофіброз та фіброз печінки.

15. Застосування похідного N-гідроксіаміду за будь-яким із пп. 1-9 для одержання фармацевтичної композиції для модулювання металопротеаз.

16. Застосування за п. 15, де металопротеази вибрані з групи, до якої входять MMP-9, MMP-2 та MMP-12.

17. Фармацевтична композиція, що містить щонайменше одне похідне N-гідроксіаміду за будь-яким із пп. 1-9 та фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач.

18. Спосіб одержання похідного N-гідроксіаміду за будь-яким із пп. 1-9, який включає стадію проведення реакції сполуки Формули (IV) з похідним H_2N-O-R^8 :

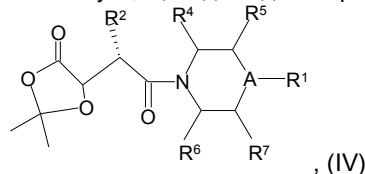


де A, R^1 , R^2 , R^4 , R^5 , R^6 та R^7 відповідають визначенню за попередніми пунктами, а R^8 вибраний з

групи, яку складають H та група захисту, вибрана з групи, яку складають трет-бутил, бензил, триалкілсиліл, тетрагідропіраніл.

19. Спосіб за п. 18, який додатково включає стадію відщеплення групи захисту.

20. Сполука, що відповідає Формулі (IV):



де A, R^1 , R^2 , R^4 , R^5 , R^6 та R^7 відповідають визначенню за попередніми пунктами.

21. Сполука за п. 20, вибрана з групи, до якої входять:

(5R)-5-{2-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-он;
(5S)-5-{2-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-он;
(5S)-2,2-диметил-5-[2-((2R)-2-метил-4-{4-[(трифторметил)окси]феніл}-піперазин-1-іл)-2-оксоетил]-1,3-діоксолан-4-он;
(5S)-5-{2-[2(2R)-4-біфеніл-4-іл-2-метилпіперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-он.

Цей винахід стосується похідних N-гідроксіаміду Формули (I), фармацевтичних композицій, що їх містять, способів їх одержання та застосування таких сполук для лікування та/або профілактики автоімунних захворювань та/або запальних захворювань, серцево-судинних захворювань, нейродегенеративних захворювань, раку, респіраторних захворювань та фіброзу. Зокрема, цей винахід стосується похідних N-гідроксіаміду для модулювання, особливо інгібування, активності або функціонування матричних металопротеаз, особливо желатиназ та металоеласти.

Металопротеази складають надгрупу протеаз (ферментів), названих так за ознакою їхньої залежності від іону металу (цинку) в активній ділянці.

Матричні металопротеази (MMPs) утворюють підгрупу металопротеаз, однією з головних біологічних функцій котрих є каталіз розкладу сполучної тканини або позаклітинної матриці за рахунок їхньої здатності гідролізувати різні компоненти згаданої тканини або матриці, наприклад, колагени, желатини, протеоглікани, фібронектини та еластин.

Групу матричних металопротеаз додатково розподіляють відповідно до їхніх функцій та субстратів (Bisce та ін. - Visse et al., 2003, Circ. Res., 92: 827-839), і вона включає колагенази (MMP-1, MMP-8, MMP-13 та MMP-18), желатинази (MMP-2 та MMP-9), стромелізини (MMP-3, MMP-10 та MMP-11), MMP мембранного типу (MT-MMP-1 - MT-MMP-6 та MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 та MMP-25), матрилізини (MMP-7 та MMP-26), а також інші некласифіковані MMP, наприклад, металоеластазу (MMP-12), енамелізин (MMP-20), епілізин (MMP-28), MMP-19, MMP-22 та MMP-23.

Окрім їхньої ролі у розкладі сполучної тканини, MMP беруть участь у біосинтезі TNF- α та у пост-

трансляційному протеолізі, або видаленні біологічно важливих мембранних протеїнів (Гупер та ін. - Hooper et al., 1997, Biochem J., 321: 265-279). Наприклад, MMP відіграють певну роль у локальному рості та поширенні злоякісних утворень і тому можуть бути мішенню при розробленні протипухлинних лікарських засобів (Фінгלטон та ін. - Fingleton et al., 2003, Expert Opin. Ther. Targets, 7(3):385-397). Показано, що з експресією та/або активністю MMP пов'язані, наприклад, такі розлади, як запальні захворювання, наприклад, артрит (Кларк та ін. - Clark et al., 2003, Expert. Opin. Ther. Targets, 7(1): 19-34), розлади дихальної системи, наприклад, емфізема, атеросклероз (Галіс та ін. - Galis et al., 2002, Circ. Res., 90:251-262), неврологічні розлади, наприклад, дегенеративні захворювання нервової системи, розсіяний склероз (Лепперт та ін. - Leppert et al., 2001, Brain Res. Rev., 36:249-257), періодонтит (Інгман та ін. - Ingman et al., 1996, J. Clin. Periodontol., 23:127-1132), передчасні пологи (Макратіс та ін. - Makratis et al., 2003, J. Matern Fetal & Neonatal Medicine, 14(3): 170-176) та процеси загоєння ран.

Розроблено широке різноманіття інгібіторів металопротеаз (MMPI) (Скайлс та ін. - Skiles et al., 2001, Current Medicinal Chemistry, 8, 425-474; Петерсон - Peterson, 2004, Heart Failure Reviews, 9, 63-79; Енротен та ін. - Henrotin et al., 2002, Expert Opin. Ther. Patents, 12(1):29-43). Однак багато MMPI спричиняють як дозообмежуючий побічний ефект м'язово-скелетний синдром (тендоніт, фіброплазії, мілазію, артралазію). Припускається, що причиною цих ефектів може бути інгібування MMP-1 або MMP-14.

Таким чином, існує постійно зростаюча потреба у розробленні інгібіторів матричних металопротеаз із виразним профілем специфічності.

Описані специфічні інгібітори, зокрема, спрямовані на MMP-1, в тому числі інгібітори MMP-13 (Стотніцькі та ін. - Stotnicki et al., 2003, *Current Opinion in Drug Discovery and Development*, 6(5):742-759), інгібітори MMP-12 (WO 01/83461), інгібітори MMP-2 та MMP-9 (Уейда та ін. - Wada et al., 2002, *J. Biol. Chem.* 45: 219-232).

Значна роль, яку відіграють процеси за участю металопротеаз у деяких широко розповсюджених захворюваннях, посилює потребу у розробленні інгібіторів, в тому числі селективних інгібіторів MMP, особливо желатиназ, наприклад, MMP-2 та/або MMP-9 та/або MMP-12.

Метою цього винаходу є запропонувати речовини, які є придатними для лікування та/або попередження розладів, що мають відношення до автоімунних захворювань та/або запальних захворювань, серцево-судинних захворювань, нейродегенеративних захворювань, інсульту, раку, передчасних пологів, ендометріозу, респіраторних захворювань та фіброзу.

Ще однією метою цього винаходу є запропонувати речовини, які є придатними для лікування та/або попередження розсіяного склерозу, ревматоїдного артриту, емфіземи, хронічного обструктивного легеневого захворювання та фіброзу.

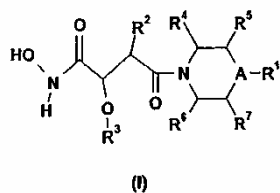
Особливою метою цього винаходу є запропонувати хімічні сполуки, здатні до модулювання, особливо інгібування, активності або функціонування матричних металопротеаз, особливо желатиназ та еластази у ссавців, особливо у людей.

Крім того, метою цього винаходу є запропонувати нову категорію фармацевтичних композицій для лікування та/або попередження захворювань, опосередкованих металопротеазами, вибраних з-посеред автоімунних захворювань, запальних захворювань, серцево-судинних захворювань, нейродегенеративних захворювань, інсульту, раку, передчасних пологів, ендометріозу, респіраторних захворювань та фіброзу.

Крім того, метою цього винаходу є запропонувати способи одержання хімічних сполук за цим винаходом.

І, нарешті, метою цього винаходу є надання способу лікування та/або попередження захворювань, вибраних з-посеред автоімунних захворювань, запальних захворювань, серцево-судинних захворювань, нейродегенеративних захворювань, інсульту, раку, передчасних пологів, ендометріозу, респіраторних захворювань та фіброзу.

За першим аспектом, цей винахід пропонує похідні N-гідроксіаміду Формули (I):



де A, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ та R⁷ визначені у детальному описі винаходу.

За другим аспектом, цей винахід пропонує сполуку, що відповідає Формулі (I), для застосування як лікарський засіб.

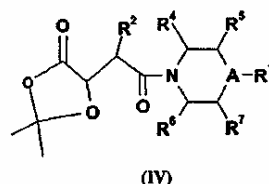
За третім аспектом, цей винахід пропонує застосування сполуки, що відповідає Формулі (I), для одержання фармацевтичної композиції для лікування захворювання, вибраного з-посеред автоімунних захворювань, запальних захворювань, серцево-судинних захворювань, нейродегенеративних захворювань, інсульту, раку, передчасних пологів, ендометріозу, респіраторних захворювань та фіброзу.

За четвертим аспектом, цей винахід пропонує фармацевтичну композицію, що містить щонайменше одну сполуку, що відповідає Формулі (I), та фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач.

За п'ятим аспектом, цей винахід пропонує спосіб лікування, який включає введення сполуки, що відповідає Формулі (I), в організм пацієнта, що потребує такого лікування.

За шостим аспектом, цей винахід пропонує способи синтезу сполуки, що відповідає Формулі (I).

За сьомим аспектом, цей винахід пропонує сполуки, що відповідають Формулі (IV):



де A, R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶ та R⁷ визначені у детальному описі винаходу.

У поданих нижче абзацах подано визначення різноманітних хімічних груп, що утворюють сполуки за цим винаходом, призначені для вживання у всьому тексті опису та формулі винаходу, якщо інше подане в явній формі визначення не є більш широким.

Абревіатура "MMP" означає "матричні металопротеази". Сучасні огляди MMP дивись Віссе та ін. (Visse et al., 2003, див. вище.); Фінглтон та ін. (Fingleton et al., 2003, див. вище.); Кларк та ін. (Clark et al., 2003, див. вище.) та Догерті та ін. (Doherty et al., 2002, *Expert Opinion Therapeutic Patents* 12(5):665-707).

Ілюстративними, але необмежувальними прикладами таких матричних металопротеаз є:

Колагенази: звичайно асоціюються із захворюваннями, пов'язаними з розкладом тканин на основі колагену, наприклад, із ревматоїдним артритом та остеоартритом:

MMP-1 (відома також під назвою колагеназа-1, або фібробластова колагеназа). Субстрати: колаген I, колаген II, колаген III, желатин, протеоглікани. Вважається, що надмірна експресія цього ферменту пов'язана з емфіземою, гіперкератозом та атеросклерозом; надмірно експресується тільки у папілярній карциномі.

MMP-8 (відома також під назвою колагеназа-2, або нейтрофільна колагеназа). Субстрати: колаген I, колаген II, колаген III, колаген V, колаген VII, колаген IX, желатин. Надмірна експресія цього ферменту може призвести до утворення невиліковних хронічних виразок.

MMP-13 (відома також під назвою колагеназа-3). Субстрати: колаген I, колаген II, колаген III, колаген IV, колаген IX, колаген X, колаген XIV, фібронектин, желатин. Останнім часом виявлено, що ця MMP надмірно експресується тільки у карциномі грудної залози та бере участь у розвитку ревматоїдного артриту.

Стромелізини:

MMP-3 (відома також під назвою стромелізин-1). Субстрати: колаген III, колаген IV, колаген V, колаген IX, колаген X, ларнінін, нідоген. Вважається, що надмірна експресія цього ферменту бере участь у розвитку атеросклерозу, аневризми та рестенозу.

Желатинази - вважається, що їх інгібування спричиняє сприятливий ефект при ракових захворюваннях, зокрема, при інвазіях та метастазах.

MMP-2 (відома також під назвою желатиназа-A, желатиназа 72 кДа, корінна мембранна желатиназа або протеогліканаза). Субстрати: колаген I, колаген II, колаген IV, колаген V, колаген VII, колаген X, колаген XI, колаген XIV, еластин, фібронектин, желатин, нідоген. Вважається пов'язаною з розвитком пухлин за рахунок специфічності до колагену типу IV (висока експресія спостерігається у твердих пухлинах та вважається пов'язаною з їхньою здатністю до росту, інвазії, розвитку нових кровоносних судин та метастазів); вважається також, що цей фермент бере участь у гострому запаленні легень та синдромі дихальної недостатності (Крішна та ін. - Krishna et al., 2004, Expert Opin. Invest. Drugs, 13(3): 255-267).

MMP-9 (відома також під назвою желатиназа-B або желатиназа 92 кДа). Субстрати: колаген I, колаген III, колаген IV, колаген V, колаген VII, колаген X, колаген XIV, еластин, фібронектин, желатин, нідоген. Вважається, що цей фермент пов'язаний із розвитком пухлин за рахунок специфічності до колагену типу IV, вивільнюється еозинофілами як реакція на екзогенні чинники, наприклад, на забруднювачі повітря, алергени та віруси, бере участь у розвитку запальної реакції, розсіяного склерозу (Opdenakker та ін. - Opdenakker et al., 2003, The Lancet Neurology, 2, 747-756) та астми, а також відіграє певну роль у гострому запаленні легень, синдромі дихальної недостатності, хронічному обструктивному легеневому захворюванні (COPD) та/або астмі (Krishna et al., 2004, див. вище). Вважається також, що MMP-9 відіграє певну роль при інсульті (Горстманн та ін. - Horstmann et al., 2003, Stroke, 34(9): 2165-2170).

Некласифіковані MMP:

MMP-12 (відома також під назвою металоеластаза, еластаза людського макрофага або HME). Субстрати: фібронектин, ларнінін. Вважається, що вона відіграє певну роль при інгібуванні росту пухлин та регуляції запалення, наприклад, розсіяного склерозу (Vos та ін. - Vos et al., 2003, Journal of Neuroimmunology, 138, 106-114), та спричиняє патологічний вплив при емфіземі, COPD (Бельвізі та ін. - Belvisi et al., 2003, Inflamm. Res. 52: 95-100) та при атеросклерозі, аневризмах та рестенозі.

Вираз "розлад, що має відношення до MMP" означає розлад, який може лікуватися згідно з цим винаходом, та охоплює усі розлади, при яких не-

обхідно послабити експресію та/або активність щонайменше однієї MMP, незалежно від причини таких розладів. До таких розладів належать, наприклад, розлади, спричинені невідповідним розкладом позаклітинної матриці (ECM).

Ілюстративними, але необмежувальними прикладами таких розладів, що мають відношення до MMP, є:

рак, наприклад, рак грудної залози та тверді пухлини; запальні розлади, такі як, наприклад, запальні кишкові захворювання та нейрозапалення, наприклад, розсіяний склероз; легеневі захворювання, наприклад, хронічний обструктивний легеневий розлад (COPD), емфізема, астма, гостре ураження легень та синдром гострої дихальної недостатності; стоматологічні захворювання, наприклад, захворювання періодонту та гінгівіт; захворювання суглобів та кісток, наприклад, остеоартрит та ревматоїдний артрит; захворювання печінки, наприклад, фіброз печінки, цироз та хронічне захворювання печінки; фіброзні захворювання, наприклад, пневмофіброз, панкреатит, червоний вовчак, гломерулосклероз, системний склероз, шкірний фіброз, післярадіаційний фіброз та кістозний фіброз; судинні патології, наприклад, аневризми аорти, атеросклероз, гіпертензія, кардіоміопатія та інфаркт міокарда; рестеноз; офтальмологічні розлади, наприклад, діабетична ретинопатія, синдром "сухого ока", дегенерація сітківки та викривання виразками рогівки, та дегенеративні захворювання центральної нервової системи, наприклад, бічний аміотрофічний склероз.

Термін "C₁-C₆-алкіл" означає одновалентні алкільні групи, що містять від 1 атому до 6 атомів вуглецю. Прикладами є такі групи, як метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, ізобутил, трет-бутил, к-гексил тощо. Аналогічно, "C₁-C₁₂-алкіл" означає одновалентні алкільні групи, що містять від 1 атому до 12 атомів вуглецю, в тому числі "C₁-C₆-алкіл" та гептил, октил, ноніл, деканоїл, ундеканоїл та додеканоїл, а "C₁-C₁₀-алкіл" означає одновалентні алкільні групи, що містять від 1 атому до 10 атомів вуглецю, "C₁-C₈-алкіл" означає одновалентні алкільні групи, що містять від 1 атому до 8 атомів вуглецю та "C₁-C₅-алкіл" означає одновалентні алкільні групи, що містять від 1 атому до 5 атомів вуглецю.

Термін "гетероалкіл" означає C₁-C₁₂-алкіл, відповідно до варіанта, якому віддається перевага, C₁-C₆-алкіл, де щонайменше один атом вуглецю замінений гетероатомом, вибраним з-посеред O, N та S, в тому числі 2-метоксietил.

Термін "арил" означає ненасичену ароматичну карбоциклічну групу з 6-14 атомів вуглецю, що містить один цикл (наприклад, феніл) або декілька конденсованих циклів (наприклад, нафтил). Термін «арил» охоплює феніл, нафтил, фенантренил тощо.

Термін "C₁-C₆-алкіларил" означає арильні групи, заміщені C₁-C₆-алкілом, в тому числі метилфеніл, етилфеніл тощо.

Термін "арил-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені арилом, в тому числі 3-фенілпропаноїл, бензил тощо.

Термін "гетероарил" означає моноциклічну гетероароматичну або біциклічну чи трициклічну конденсовану гетероароматичну групу. До конкретних прикладів гетероароматичних груп належать факультативно заміщені піридил, піроліл, піримідиніл, фурил, тієніл, імідазоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, тiazоліл, іzотiazоліл, піразоліл, 1,2,3-триазоліл, 1,2,4-триазоліл, 1,2,3-оксадіазоліл, 1,2,4-оксадіазоліл, 1,2,5-оксадіазоліл, 1,3,4-оксадіазоліл, 1,3,4-триазиніл, 1,2,3-триазиніл, бензофурил, [2,3-дигідро]бензофурил, ізобензофурил, бензотієніл, бензотриазоліл, ізобензотієніл, індоліл, ізоіндоліл, 3Н-індоліл, бензімідазоліл, імідазо[1,2-а]піридил, бензотіазоліл, бензоксазоліл, хінолізиніл, хіназолініл, фталазиніл, хіноксалініл, цинолініл, нафтиридиніл, піридо[3,4-б]піридил, піридо[3,2-б]піридил, піридо[4,3-б]піридил, хіноліл, ізохіноліл, тетразоліл, 5,6,7,8-тетрагідрохіноліл, 5,6,7,8-тетрагідроізохіноліл, пуриніл, птеридиніл, карбазоліл, ксантеніл або бензохіноліл.

Термін "C₁-C₆-алкілгетероарил" означає гетероарильні групи, заміщені C₁-C₆-алкілом, в тому числі метилфурил тощо.

Термін "гетероарил-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені гетероарилом, в тому числі фурилметил тощо.

Термін "C₂-C₆-алкеніл" означає алкенільні групи, які відповідно до варіанта, якому віддається перевага, містять від 2 атомів до 6 атомів вуглецю та мають щонайменше 1 або 2 ненасичені алкенільні зв'язки. До алкенільних груп, яким віддається перевага, належать етеніл (-CH=CH₂), n-2-пропеніл (аліл, -CH₂CH=CH₂) тощо.

Термін "C₂-C₆-алкеніларил" означає арильні групи, заміщені C₂-C₆-алкенілом, в тому числі вінілфеніл тощо.

Термін "арил-C₂-C₆-алкеніл" означає C₂-C₆-алкенільні групи, заміщені арилом, в тому числі фенілвініл тощо.

Термін "C₂-C₆-алкенілгетероарил" означає гетероарильні групи, заміщені C₂-C₆-алкенілом, в тому числі вінілпіридиніл тощо.

Термін "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл" означає C₂-C₆-алкенільні групи, заміщені гетероарилом, в тому числі піридинілвініл тощо.

Термін "C₂-C₆-алкініл" означає алкінільні групи, які відповідно до варіанта, якому віддається перевага, містять від 2 атомів до 6 атомів вуглецю та мають щонайменше 1-2 ненасичені алкінільні зв'язки, до алкінільних груп, яким віддається перевага, належать етиніл (-C≡CH), пропаргіл (-CH₂C≡CH) тощо.

Термін "C₃-C₈-циклоалкіл" означає насичену карбоциклічну групу з 3-8 атомів вуглецю, що містить один цикл (наприклад, циклогексил) або декілька конденсованих циклів (наприклад, норборніл). Термін «C₃-C₈-циклоалкіл» охоплює циклопентил, циклогексил, норборніл тощо.

Термін "гетероциклоалкіл" означає C₃-C₈-циклоалкільну групу за поданим вище визначенням, в якій до 3 атомів вуглецю замінені гетероатомами, вибраними з групи, яку складають O, S, NR, де R означає водень або метил. Термін «гетероциклоалкіл» охоплює піролідін, піперидин, піперазин, морфолін, тетрагідрофуран тощо.

Термін "C₁-C₆-алкілциклоалкіл" означає C₃-C₈-циклоалкільні групи, заміщені C₁-C₆-алкілом, в тому числі метилциклопентил тощо.

Термін "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені C₃-C₈-циклоалкілом, в тому числі 3-циклопентилпропіл тощо.

Термін "C₁-C₆-алкілгетероциклоалкіл" означає гетероциклоалкільні групи, заміщені C₁-C₆-алкілом, в тому числі 1-метилпіперазин тощо.

Термін "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені гетероциклоалкілом, в тому числі 4-метилпіперидил тощо.

Термін "карбокси(л)" означає групу -C(O)OH.

Термін "карбокси-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені карбоксилем, в тому числі 2-карбоксіетил тощо.

Термін "ацил" означає групу -C(O)R, де R охоплює "C₁-C₁₂-алкіл", відповідно до варіанта, якому віддається перевага, "C₁-C₆-алкіл", "арил", "гетероарил", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил-C₁-C₆-алкіл", "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "C₃-C₈-циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл" та "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

Термін "ацил-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені ацилом, в тому числі ацетил, 2-ацетилетил тощо.

Термін "ациларил" означає арильні групи, заміщені ацилом, в тому числі 2-ацетилфеніл тощо.

Термін "ацилокси(група)" означає групу -OC(O)R, де R охоплює H, "C₁-C₆-алкіл", "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

Термін "ацилокси-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені ацилоксигрупою, в тому числі етиловий складний ефір пропіонової кислоти тощо.

Термін "алкокси(група)" означає групу -O-R, де R означає "C₁-C₆-алкіл", або "арил", або "гетероарил", або "арил-C₁-C₆-алкіл", або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл". До алкоксигруп, яким віддається перевага, належать, наприклад, метокси-, етокси-, феноксигрупа тощо.

Термін "алкокси-C₁-C₆-алкіл" означає алкоксигрупи, заміщені C₁-C₆-алкілом, в тому числі метоксигрупу, метоксіетил тощо.

Термін "алкоксикарбоніл" означає групу -C(O)OR, де R означає H, "C₁-C₆-алкіл", або "арил", або "гетероарил", або "арил-C₁-C₆-алкіл", або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", або "гетероалкіл".

Термін "алкоксикарбоніл-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені алкоксикарбонілом, в тому числі 2-(бензилоксикарбоніл)етил тощо.

Термін "амінокарбоніл" означає групу -C(O)NRR', де кожний R, R' незалежно один від одного означає водень, або C₁-C₆-алкіл, або арил, або гетероарил, або "арил-C₁-C₆-алкіл", або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", в тому числі N-фенілформамід.

Термін "амінокарбоніл-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені амінокарбонілом, в

тому числі 2-(диметиламшокарбоніл)етил, N-етилацетамід, N,N-діетил-ацетамід тощо.

Термін "ациламіно(група)" означає групу -NRC(O)R', де кожний R, R' незалежно один від одного є водень, "C₁-C₆-алкіл", "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

Термін "ациламіно-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені ациламіногрупою, в тому числі 2-(пропіонаміно)етил тощо.

Термін "уреїдо(група)" означає групу -NRC(O)NR'R', де кожний R, R', R' незалежно один від одного є водень, "C₁-C₆-алкіл", "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", причому R' та R", спільно з атомом азоту, до якого вони приєднані, можуть факультативно утворювати 3-членний гетероциклоалкіл.

Термін "уреїдо-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені уреїдогрупою, в тому числі 2-(N'-метилуреїдо)етил тощо.

Термін "карбамат" означає групу -NRC(O)OR', де кожний R, R' незалежно один від одного є водень, "C₁-C₆-алкіл", "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "C₁-C₆-алкіларил" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

Термін "аміно(група)" означає групу -NRR', де кожний R, R' незалежно один від одного є водень, або "C₁-C₆-алкіл", або "арил", або "гетероарил", або "C₁-C₆-алкіларил", або "C₁-C₆-алкілгетероарил", або "циклоалкіл", або "гетероциклоалкіл", причому R та R', спільно з атомом азоту, до якого вони приєднані, можуть факультативно утворювати 3-8-членний гетероциклоалкіл.

Термін "аміно-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені аміногрупою, в тому числі 2-(1-піролідиніл)етил тощо.

Термін "амоній" означає позитивно заряджену групу -N⁺RR'R", де кожний R, R', R" незалежно один від одного є "C₁-C₆-алкіл" або "C₁-C₆-алкіларил", або "C₁-C₆-алкілгетероарил", або "циклоалкіл", або "гетероциклоалкіл", причому R та R' спільно з атомом азоту, до якого вони приєднані, можуть факультативно утворювати 3-8-членний гетероциклоалкіл.

Термін "амоній-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені амонієм, в тому числі 1-етилпіролідиніл тощо.

Термін "галоген" означає атоми фтору, хлору, бром та йоду.

Термін "сульфонілокси(група)" означає групу -OSO₂-R, де R вибраний з групи, яку складають H, "C₁-C₆-алкіл", "C₁-C₆-алкіл", заміщений галогенами,

наприклад, група -OSO₂-CF₃, "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

Термін "сульфонілокси-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені сульфонілоксигрупою, в тому числі 2-(метилсульфонілокси)етил тощо.

Термін "сульфоніл" означає групу "-SO₂-R", де R вибраний з групи, яку складають H, "арил", "гетероарил", "C₁-C₆-алкіл", "C₁-C₆-алкіл", заміщений галогенами, наприклад, група -SO₂-CF₃, "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

Термін "сульфоніл-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені сульфонілом, в тому числі 2-(метилсульфоніл)етил тощо.

Термін "сульфініл" означає групу "-S(O)-R", де R вибраний з групи, яку складають H, "C₁-C₆-алкіл", "C₁-C₆-алкіл", заміщений галогенами, наприклад, група -SO-CF₃, "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

Термін "сульфініл-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені сульфінілом, в тому числі 2-(метилсульфініл)етил тощо.

Термін "сульфаніл" означає групу -S-R, де R є H, "C₁-C₆-алкіл", "C₁-C₆-алкіл", заміщений галогенами, наприклад, група -SO-CF₃, "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "алкінілгетероарил-C₂-C₆", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл". До сульфанільних груп, яким віддається перевага, належать метилсульфаніл, етилсульфаніл тощо.

Термін "сульфаніл-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені сульфанілом, в тому числі 2-(етилсульфаніл)етил тощо.

Термін "сульфоніламіно(група)" означає групу -NRSO₂-R', де кожний R, R' незалежно один від одного є водень, "C₁-C₆-алкіл", "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

Термін "сульфоніламіно-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені сульфониламіногрупою, в тому числі 2-(етилсульфоніламіно)етил тощо.

Термін "аміносульфоніл" означає групу $-SO_2-NRR'$, де кожний R, R' незалежно один від одного означає водень, "C₁-C₆-алкіл", "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "C₃-C₈-циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил", "гетероарил", "арил-C₁-C₆-алкіл" або "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "арил-C₂-C₆-алкеніл", "гетероарил-C₂-C₆-алкеніл", "арил-C₂-C₆-алкініл", "гетероарил-C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл".

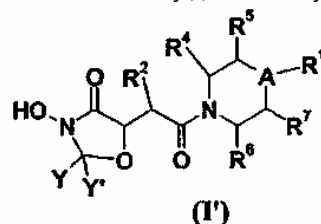
Термін "аміносульфоніл-C₁-C₆-алкіл" означає C₁-C₆-алкільні групи, заміщені аміносульфонілом, в тому числі 2-(циклогексиламіносульфоніл)етил тощо.

Термін "заміщений або незаміщений": якщо визначення індивідуального замісника не обмежене іншим чином, то вищезазначені групи, наприклад, "алкеніл", "алкініл", "арил", "гетероарил", "циклоалкіл", "гетероциклоалкіл" тощо можуть факультативно бути заміщені замісниками в кількості від 1 до 5, вибраними з групи, яку складають "C₁-C₆-алкіл", "C₂-C₆-алкеніл", "C₂-C₆-алкініл", "циклоалкіл", "гетероциклоалкіл", "арил-C₁-C₆-алкіл", "гетероарил-C₁-C₆-алкіл", "циклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл", "аміногрупа", "амоній", "ацил", "ацилокси-", "ацил аміногрупа", "амінокарбоніл", "алкоксикарбоніл", "уреїдогрупа", "арил", "карбамат", "гетероарил", "сульфініл", "сульфоніл", "алкоксигрупа", "сульфаніл", "галоген", "карбоксил", тригалогенметил, ціаногрупа, гідроксил, меркапто-, нітрогрупа тощо.

Термін "фармацевтично прийнятні солі або комплекси" означає солі або комплекси визначених нижче сполук Формули (I). Необмежувальними прикладами таких солей є солі основ, утворені шляхом проведення реакції сполук Формули (I) з органічними або неорганічними основами, наприклад, із гідроксидами, карбонатами або бікарбонатами катіонів металів, вибраних із групи, яку складають лужні метали (натрій, калій або літій), лужноземельні метали (наприклад, кальцій або магній), або з органічними первинними, вторинними або третинними алкіламінами. Мається на увазі, що обсяг цього винаходу охоплює солі амінів, одержані із застосуванням метиламіну, диметиламіну, триметиламіну, етиламіну, діетиламіну, триетиламіну, морфоліну, N-Me-D-глюкаміну, N,N'-біс(фенілметил)-1,2-етандіаміну, трометаміну, етаноламіну, діетаноламіну, етилендіаміну, N-метилморфоліну, прокаїну, піперидину, піперазину тощо.

Винахід охоплює також солі з кислотами, утворені із застосуванням неорганічних кислот (наприклад, хлористоводневої кислоти, бромистоводневої кислоти, сірчаної кислоти, фосфорної кислоти, азотної кислоти тощо), а також солі, утворені із застосуванням органічних кислот, наприклад, оцтової кислоти, щавлевої кислоти, винної кислоти, бурштинової кислоти, яблучної кислоти, фумарової кислоти, малеїнової кислоти, аскорбінової кислоти, бензойної кислоти, дубильної кислоти, павової кислоти, альгінової кислоти, полігалактової кислоти, нафталінсульфонової кислоти, нафталіндісульфонової кислоти та полігалактуронової кислоти.

Термін "фармацевтично активне похідне" означає будь-яку сполуку, яка при введенні в організм пацієнта здатна забезпечити прямим або непрямим шляхом дію, розкриту в цьому описі. Термін "непрямим шляхом" охоплює також проліки, які можуть бути перетворені в активну форму лікарського засобу під впливом ендогенних ферментів або метаболізму. Згадані проліки складаються з активної лікарської речовини та хімічної маскувальної групи. Такою маскувальною групою може бути циклічний ацетонід Формули (I'), де Y - метил або водень, а Y' - метил, C₂-C₄-алкіл, феніл, бензил, факультативно заміщені 1-3 замісниками, вибраними з групи, яку складають C₁-C₄-алкіл, C₁-C₄-алкоксигрупа, гідроксил, аміно-, метиламіно-, диметиламіногрупа, хлор та фтор; A, R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶ та R⁷ визначені у детальному описі винаходу.



Термін "енантіомерний надлишок" (ee) стосується продуктів, одержаних шляхом асиметричного синтезу, тобто синтезу із застосуванням нерacемічних вихідних матеріалів та/або реагентів, або синтезу, який включає щонайменше одну енантіоселективну стадію, при якій досягається надлишок одного енантіомеру (ee) порядку щонайменше 52%.

Термін "інтерферон" або "IFN", що вживається у цьому описі, означає будь-яку молекулу, що у літературі визначається як така, і включає, наприклад, інтерферони будь-яких типів, згадані у вищевизначеному розділі "Передумови створення винаходу". Вищевизначене визначення включає, зокрема, α -IFN, β -IFN і γ -IFN. IFN- β за цим винаходом є інтерфероном, якому віддають перевагу. Придатний за цим винаходом β -IFN є комерційно доступним, наприклад, у формах продуктів Rebif® (фірма Serono), Avonex® (фірма Biogen) або Betaferon® (фірма Schering).

Термін "бета-інтерферон (бета-IFN або β -IFN)", що вживається у цьому описі, означає фібробластовий інтерферон, зокрема, людського походження, який одержують шляхом виділення з біологічних рідин або за допомогою методів рекомбінантних ДНК із прокаріотних або еукаріотних клітин-хазяїв, а також його солі, функціональні похідні, варіанти, аналоги і активні фрагменти. Відповідно до варіанта, якому віддається перевага, бета-IFN означає рекомбінантний бета-1a-інтерферон.

Придатний за цим винаходом β -IFN є комерційно доступним, наприклад, як Rebif® (фірма Serono), Avonex® (фірма Biogen) або Betaferon® (фірма Schering). За цим винаходом також віддається перевага застосуванню інтерферонів людського походження. Термін інтерферон, що вживається у цьому описі, охоплює також його солі, функціональні похідні, варіанти, аналоги та активні фрагменти.

Rebif® (рекомбінантний β-інтерферон) є останньою розробкою в галузі інтерференової терапії розсіяного склерозу (MS) та забезпечує значний прогрес у такому лікуванні. Rebif® являє собою інтерферон β 1a-(IFN), що виробляється з клітинних ліній свавців. Було виявлено, що β-1a-інтерферон при підшкірному введенні тричі на тиждень є ефективним засобом лікування рецидивного розсіяного склерозу з періодичними ремісіями (RRMS). β-1a-інтерферон може давати позитивний ефект при довготривалому перебігу MS за рахунок зменшення кількості та тяжкості рецидивів та зниження тяжкості захворювання та активності захворювання, що характеризується показником MRI.

Дозування β-IFN при лікуванні рецидивного MS за цим винаходом залежить від типу застосовуваного β-IFN.

Згідно з цим винаходом, якщо IFN є рекомбінантним β1b-IFN, що продукується бактеріями *E. Coli*, наявним на ринку під торговельною назвою Betaseron®, то можна віддати перевагу його підшкірному введенню через день у дозах приблизно 250-300мкг, або від 8 MIU до 9,6 MIU на одного пацієнта.

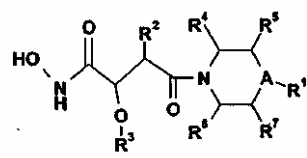
Згідно з цим винаходом, якщо IFN є рекомбінантним β1a-IFN, що продукується у клітинах яєчників китайського хом'яка (клітинах CHO), наявним на ринку під торговельною назвою Avonex®, то можна віддати перевагу його внутрішньом'язовому введенню один раз на тиждень у дозах приблизно 30-33мкг, або від 6 MIU до 6,6 MIU на одного пацієнта.

Згідно із цим винаходом, якщо IFN є рекомбінантним β1a-IFN, що продукується у клітинах яєчників китайського хом'яка (клітинах CHO), наявним на ринку під торговельною назвою Rebif®, то можна віддати перевагу його підшкірному введенню тричі на тиждень (TIW) у дозах від 22мкг до 44мкг, або від 6 MIU до 12 MIU на одного пацієнта.

Сполуки за цим винаходом також охоплюють фармацевтично прийнятні солі цих сполук. Серед фармацевтично прийнятних солей Формули (I) перевага віддається солям кислот, утвореним із фармацевтично прийнятними кислотами, таким, як наприклад, гідрохлориди, гідроброміди, сульфати або бісульфати, фосфати або гідрофосфати, ацетати, бензоати, сукцинати, fumarати, малеїнати, лактати, цитрати, тартрати, глюконати, метансульфонати, бензолсульфонати та паратолуолсульфонати.

На цей час встановлено, що сполуки за цим винаходом є модуляторами матричних металопротеаз, особливо желатиназ та еластази, в тому числі MMP-2, та/або MMP-9, та/або MMP-12. Якщо матричні металопротеїнази інгібовані сполуками за цим винаходом, то інгібовані матричні металопротеїнази нездатні виявляти свої ферментні, біологічні та/або фармакологічні ефекти. Сполуки за цим винаходом, таким чином, є корисними для лікування та попередження автоімунних захворювань та/або запальних захворювань, серцево-судинних захворювань, передчасних пологів, ендометріозу, нейродегенеративних захворювань, інсульту, раку, респіраторних захворювань та фіброзу.

За одним варіантом здійснення, цей винахід пропонує похідні Формули (I)



де:

A - вибраний з групи, яку складають -C(B)- та N; B - H або B утворює зв'язок або з R⁵, або з R⁷; R¹ вибраний з групи, яку складають H; факультативно заміщений C₁-C₆-алкіл;

факультативно заміщений C₂-C₆-алкеніл; факультативно заміщений C₂-C₆-алкініл;

факультативно заміщений C₃-C₈-циклоалкіл, в тому числі циклогексил;

факультативно заміщений гетероциклоалкіл;

факультативно заміщений арил, в тому числі факультативно заміщений феніл, наприклад, феніл, фторфеніл (наприклад, 2-фторфеніл, 4-фторфеніл, 3-хлорфеніл), хлорфеніл (наприклад, 2-хлорфеніл, 4-хлорфеніл), метоксифеніл (наприклад, 4-метоксифеніл, етоксифеніл (наприклад, 4-етоксифеніл), ціанофеніл (наприклад, 2-ціанофеніл), трифторметилфеніл (наприклад, 4-трифторметилфеніл), біфеніл (наприклад, 4-біфеніл) та 4-хлор-2-фторфеніл, 2-фтор-5-метоксифеніл;

факультативно заміщений гетероарил, в тому числі факультативно заміщений піридиніл, наприклад, піридиніл, метилпіридиніл (наприклад, 4-метилпіридин-2-іл, 6-метилпіридин-2-іл), хлорпіридиніл (наприклад, 6-хлорпіридин-2-іл, 5-хлорпіридин-2-іл, 3,5-дихлорпіридин-4-іл),

трифторметилпіридиніл (наприклад, 3-(трифторметил)-піридин-2-іл, 4-(трифторметил)-піридин-2-іл, 5-

(трифторметил)-піридин-2-іл), ціанопіридиніл (наприклад, 5-ціанопіридин-2-іл), фенілпіридиніл (наприклад, 5-фенілпіридин-2-іл) та факультативно заміщений конденсований піридиніл (наприклад, 4-[6-метил-2-(трифторметил)хінолін-4-іл]);

в тому числі факультативно заміщений піразиніл (наприклад, 4-піразин-2-іл); в тому числі факультативно заміщений тіадіазоліл, наприклад, 3-

фенілтіадіазоліл (наприклад, 3-феніл-1,2,4-тіадіазоліл-5-іл); в тому числі факультативно заміщений піримідиніл (наприклад, 4-піримідин-2-іл, 5-фторпіримідин-2-іл);

в тому числі факультативно заміщений оксадіазоліл, наприклад, 5-феніл-1,2,4-оксадіазол-3-іл, 4-піридин-4-іл-1,2,4-оксадіазол-3-іл та 5-(4-фторфеніл)-1,3,4-

оксадіазол-2-іл;

факультативно заміщений C₃-C₈-циклоалкк-C₁-C₆-алкіл;

факультативно заміщений гетероциклоалкіл-C₁-C₆-алкіл, в тому числі 2-морфолін-4-ілетил;

факультативно заміщений гетероарил-C₁-C₆-алкіл, в тому числі 2-тієнілетил;

факультативно заміщена аміногрупа, в тому числі факультативно заміщена феніламіногрупа (наприклад феніламіно-, 3-метоксифеніламіно-, 3-

(диметиламіно)феніламіно-, 4-

етоксифеніламіногрупа), гетероариламіногрупа (наприклад, 4-(трифторметил)піримідин-2-іл, 3-амінопіридин-2-іл) та факультативно заміщена алкоксигрупа, в тому числі 4-(піридин-2-ілокси-), 4-(трифторметил)фенокси- та 2-хлорфеноксигрупа;

$R^2 \in H$;

R^3 вибраний з групи, яку складають H, факультативно заміщений C_1-C_6 -алкіл, факультативно заміщений C_2-C_6 -алкеніл та факультативно заміщений C_2-C_6 -алкініл;

R^4 , R^5 , R^6 та R^7 незалежно один від одного вибрані з групи, яку складають H; факультативно заміщений C_1-C_6 -алкіл, в тому числі метил; факультативно заміщений C_2-C_6 -алкеніл; факультативно заміщений C_2-C_6 -алкініл; або R^4 та R^7 можуть спільно утворювати місток $-CH_2-$, наприклад, утворювати з піперазиновим циклом 2,5-діазабцикло[2.2.1]гепт-2-іловий цикл;

а також оптично активні форми відповідних сполук, наприклад, енантіомери, діастереомери та рацемічні форми, а також фармацевтично прийнятні солі відповідних сполук.

За одним варіантом здійснення, якому віддається перевага, цей винахід пропонує похідні Формули (I), де R^1 - факультативно заміщений арил, наприклад, факультативно заміщений феніл, в тому числі фторфеніл (наприклад, 4-фторфеніл), метоксифеніл (наприклад, 4-трифторметоксифеніл) та біфеніл (наприклад, 4-біфеніл-4-іл).

Відповідно до іншого варіанта здійснення, якому віддається перевага, винахід пропонує похідні Формули (I), де R^1 - факультативно заміщений арил, наприклад, факультативно заміщений феніл, в тому числі фторфеніл (наприклад, 4-фторфеніл), метоксифеніл (наприклад, 4-трифторметоксифеніл) та біфеніл (наприклад, 4-біфеніл-4-іл).

За іншим варіантом здійснення, якому віддається перевага, цей винахід пропонує похідні Формули (I), де R^3 - H.

За іншим варіантом здійснення, якому віддається перевага, цей винахід пропонує похідні Формули (I), де R^5 , R^6 та R^7 - H.

За іншим варіантом здійснення, якому віддається перевага, цей винахід пропонує похідні Формули (I), де R^4 вибраний з групи, яку складають H та факультативно заміщений C_1-C_6 -алкіл, в тому числі метил.

За іншим варіантом здійснення цей винахід пропонує похідні Формули (I), де R^4 - H.

За іншим варіантом здійснення цей винахід пропонує похідні Формули (I), де R^4 - метил.

За іншим варіантом здійснення, якому віддається перевага, цей винахід пропонує похідні Формули (I), де A - N.

За іншим варіантом здійснення, якому віддається перевага, цей винахід пропонує похідні Формули (Ib), де R^1 вибраний з групи, яку складають факультативно заміщений арил, в тому числі факультативно заміщений феніл; R^3 , R^5 , R^6 та R^7 - H; R^4 вибраний з групи, яку складають H та метил; A - N.

До сполук за цим винаходом, зокрема, належать сполуки, вибрані з нижченаведеної групи:

(2R)-4-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід;

(2S)-4-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід;

(2S)-N,2-дигідрокси-4-[(2R)-2-метил-4-[4-(трифторметокси)феніл]піперазин-1-іл]-4-оксобутанамід;

(2S)-4-[(2K)-4-біфеніл-4-іл-2-метилпіперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід.

За іншим варіантом здійснення цього винаходу, пропонуються похідні N-гідроксіаміду, що відповідають Формулі (I), для застосування як лікарський засіб.

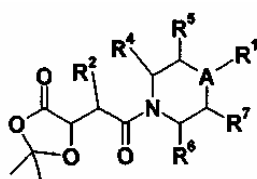
За іншим варіантом здійснення цього винаходу, пропонується фармацевтична композиція, що містить щонайменше одне похідне N-гідроксіаміду за цим винаходом та фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач.

За іншим варіантом здійснення цього винаходу, пропонується застосування похідних N-гідроксіаміду, що відповідають Формулі (I), для одержання лікарського засобу для профілактики та/або лікування захворювання, вибраного з групи, яку складають автоімунні захворювання, запальні захворювання, інсульт, серцево-судинні захворювання, нейродегенеративні захворювання, рак, передчасні пологи, ендометріоз, респіраторні захворювання та фіброз, в тому числі розсіяний склероз, запальне кишкове захворювання, ревматоїдний артрит, емфізема, хронічне обструктивне легеневе захворювання (COPD), фіброз, у тому числі пневмофіброз, панкреофіброз та фіброз печінки.

За іншим варіантом здійснення цього винаходу, пропонується застосування похідних N-гідроксіаміду, що відповідають Формулі (I) для одержання фармацевтичної композиції для модулювання, зокрема для інгібування, активності матричних металопротеаз. Зокрема, запропоновано застосування за цим винаходом, де згадана матрична металопротеаза вибрана з групи, яку складають MMP-2, MMP-9 та MMP-12. Відповідно до варіанта, якому віддається перевага, сполуки за цим винаходом є селективними інгібіторами металопротеаз, вибраних із групи, яку складають MMP-2, MMP-9 та/або MMP-12, у порівнянні з MMP-1.

За іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує спосіб лікування та/або профілактики захворювання, який включає введення сполуки, що відповідає Формулі (I), в організм пацієнта, що потребує такого лікування, причому згадане захворювання вибране з групи, яку складають автоімунні захворювання, запальні захворювання, серцево-судинні захворювання, передчасні пологи, ендометріоз, нейродегенеративні захворювання, інсульт, рак, респіраторні захворювання та фіброз, в тому числі розсіяний склероз, ревматоїдний артрит, емфізема, хронічне обструктивне легеневе захворювання (COPD) та фіброз, в тому числі пневмофіброз, панкреофіброз та фіброз печінки.

За іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує спосіб одержання похідних N-гідроксіаміду за цим винаходом, який включає стадію проведення реакції сполуки Формули (IV) з похідним H_2N-O-R^8 .

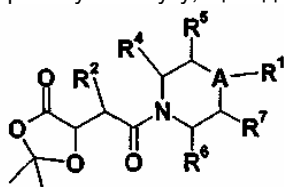


(IV)

де A, R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶ та R⁷ визначені вище, а R⁸ вибраний з групи, яку складають H та група захисту, наприклад, трет-бутил, бензил, триалкіл-силіл, тетрагідропіраніл.

За іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує спосіб одержання похідних N-гідроксаміду за цим винаходом, який факультативно додатково включає стадію відщеплення групи захисту (R⁸ видаляють, якщо R⁸ не є H).

За іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує сполуку, що відповідає Формулі (IV):



(IV)

де A, R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶ та R⁷ визначені вище.

За іншим варіантом здійснення, цей винахід пропонує сполуку, що відповідає Формулі (IV), вибрану з групи:

(5R)-5-{2-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-он;

(5S)-5-{2-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-он;

(5S)-2,2-диметил-5-[2-((2R)-2-метил-4-{4-((трифторметил)окси)феніл}-піперазин-1-іл)-2-оксоетил]-1,3-діоксолан-4-он;

(5S)-5-{2-[2(2R)-4-біфеніл-4-іл-2-метилпіперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-он.

Сполуки за винаходом були названі відповідно до стандартів, використовуваних у програмі "ACD/Name" від фірми Advanced Chemistry Development Inc., ACD/Labs (версія 7.06).

Сполуки Формули (I) придатні для лікування та/або профілактики аутоімунних захворювань, запальних захворювань, серцево-судинних захворювань, передчасних пологів, ендометріозу, нейродегенеративних захворювань, інсульту, раку, респіраторних захворювань та фіброзу, в тому числі розсіяного склерозу, ревматоїдного артриту, емфіземи, хронічного обструктивного легеневого захворювання та фіброзу, в тому числі пневмофіброзу, панкреофіброзу та фіброзу печінки.

За іншим варіантом здійснення, сполуки за цим винаходом можуть бути застосовані для лікування аутоімунних захворювань, особливо демієлінізуючих захворювань, наприклад, розсіяного склерозу, окремо або в поєднанні з додатковим засобом, корисним для лікування аутоімунних захворювань, де згаданий додатковий засіб, наприклад, вибраний з нижченаведених сполук:

(а) інтерферони, наприклад, зв'язані або незв'язані інтерферони, що вводяться, наприклад, підшкірним, внутрішньом'язовим або пероральним шляхами, причому перевага віддається β-інтерферону;

(b) глатирамер, наприклад, у формі ацетату;

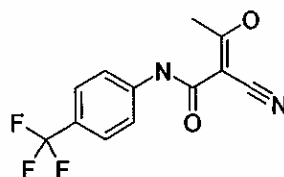
(с) імунодепресанти з факультативним антипроліферативним або протипухлинним ефектом, наприклад, мітоксантрон, метотрексат, азатиоприн, циклофосфамід, або стероїди, наприклад, метилпреднізолон, преднізон або дексаметазон, або засоби, що сприяють секреції стероїдів, наприклад, АСТН;

(d) інгібітори аденозин-деамінази, наприклад, кладрибін;

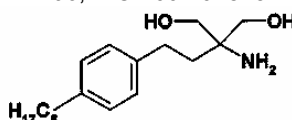
(е) інгібітори експресії VCAM-1 або антагоністи його ліганду, наприклад, антагоністи α4/β1-інтегрину VLA-4 та/або α-4-β-7-інтегринів, наприклад, наталізумаб (ANTEGRENO).

Нижче описано додаткові засоби, наприклад, протизапальні засоби (зокрема, для лікування захворювань, що викликають руйнування мієлінового шару, наприклад, розсіяного склерозу).

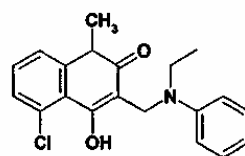
Одним із додаткових протизапальних засобів є терифлуномід (Teriflunomide), описаний у WO 02/080897.



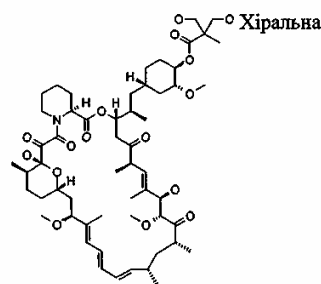
Ще одним додатковим протизапальним засобом є фінголімод (Fingolimod), описаний у EP-727406, WO 2004/028251 та WO 2004/028251.



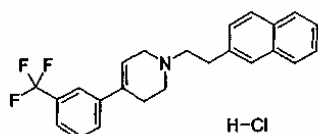
Ще одним додатковим протизапальним засобом є лакінімод (Laquinimod), описаний у WO 99/55678.



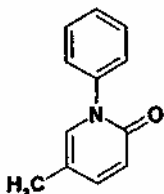
Ще одним додатковим протизапальним засобом є тензіролімус (Tensirolimus), описаний у WO 02/28866.



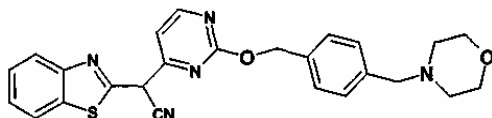
Ще одним додатковим протизапальним засобом є ксалипроден (Xaliprodene), описаний у WO 98/48802.



Ще одним додатковим протизапальним засобом є дескар-пірфенідон (Deskar Pirfenidone), описаний у WO 03/068230.

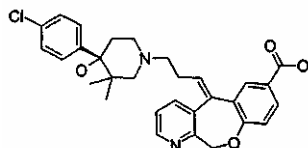


Ще одним додатковим протизапальним засобом є показане нижче похідне бензотіазолу, описане у WO 01/47920:

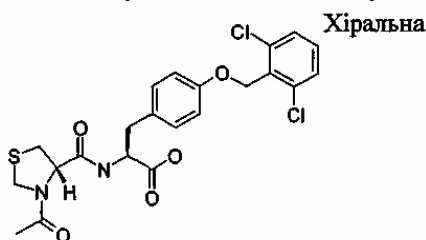


Ще одним додатковим протизапальним засобом є одне з похідних гідроксамової кислоти, описаних у WO 03/070711.

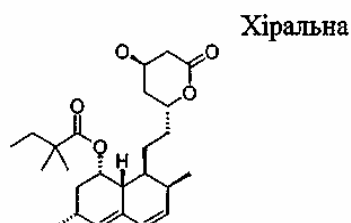
Ще одним додатковим протизапальним засобом є сполука MLN3897, описана у WO 2004/043965.



Ще одним додатковим протизапальним засобом є сполука CDP323, описана у WO 99/67230.



Ще одним додатковим протизапальним засобом є симвастатин (Simvastatin), описаний у WO 01/45698.



Ще одним додатковим протизапальним засобом є фампридин (Fampridine), описаний у US 5,540,938.

Сполуки за цим винаходом також охоплюють таутомери, геометричні ізомери, оптично активні форми, наприклад, енантіомери, діастереомери, та рацематні форми, а також фармацевтично прийнятні солі відповідних сполук. Серед фармацевтично прийнятних солей Формули (VI) перевага віддається солям кислот, утвореним із фармацевтично прийнятними кислотами, наприклад, таким солям, як гідрохлориди, гідроброміди, сульфати або бісульфати, фосфати або гідрофосфати, ацетати, бензоати, сукцинати, фумарати, малеїнати, лактати, цитрати, тартрати, глюконати, метансульфонати, бензолсульфонати та паратолуолсульфонати.

Похідні, описані як приклади сполук за цим винаходом, можна одержати з легко доступних вихідних матеріалів, застосовуючи описані нижче загальні способи та методики. Мається на увазі, що у випадках, коли вказано типові експериментальні умови або умови, яким віддається перевага (тобто температури проведення реакцій, тривалість реакцій, молярні кількості реагентів, розчинники тощо), можуть бути застосовані інші експериментальні умови, якщо явно не вказано інше. Оптимальні умови реакцій можуть варіювати в залежності від конкретних застосовуваних реагентів або розчинників, однак фахівець може визначити такі умови, застосовуючи звичайні процедури оптимізації.

При застосуванні сполук за цим винаходом як лікарські засоби ці сполуки, як правило, вводяться в організм у формі фармацевтичних композицій. Таким чином, фармацевтичні композиції, які містять сполуку за цим винаходом та фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач, також включено до обсягу цього винаходу. Фахівцям у галузі відоме усе різноманіття таких носіїв, розріджувачів або наповнювачів, придатних для виготовлення фармацевтичних композицій.

Сполуки за цим винаходом спільно зі звичайно застосовуваними допоміжними речовинами, носіями, розріджувачами або наповнювачами можуть бути перетворені у форми фармацевтичних композицій та їх дозованих одиниць, і в таких формах можуть застосовуватися у вигляді твердих препаратів, наприклад, таблеток або заповнених капсул, або рідин, наприклад, розчинів, суспензій, емульсій, еліксирів або капсул, заповнених такими рідинами (усі вищезгадані форми для перорального застосування), або у вигляді стерильних ін'єкційних розчинів для парентерального застосування (в тому числі для підшкірного введення). Такі фармацевтичні композиції та дозовані одиниці можуть містити інгредієнти у звичайних співвідношеннях, у комбінаціях із додатковими активними сполуками або речовинами або без них, при цьому такі дозовані одиниці можуть містити будь-яку відповідну ефективну кількість активного інгредієнта, співмірну з призначенням для застосування діапазоном дозових доз.

Фармацевтичні композиції, які містять сполуки за цим винаходом, можна виготовляти способами, добре відомими у фармацевтичній галузі, і містити щонайменше одну активну сполуку. Як правило, сполуки за цим винаходом застосовуються у фар-

мацевтично активній кількості. Конкретну кількість сполуки, яку вводять в організм пацієнта, у типових випадках визначає лікар з урахуванням релевантних обставин, у тому числі патологічного стану, який підлягає лікуванню, обраного способу введення, конкретної застосовуваної сполуки, віку, маси тіла та реакції конкретного пацієнта, тяжкості симптомів захворювання тощо.

Фармацевтичні композиції за цим винаходом можна вводити в організм пацієнта різноманітними способами, в тому числі пероральним, ректальним, черезшкірним, підшкірним, внутрішньовенним, внутрішньом'язовим та назальним шляхами. Композиції для перорального застосування можуть мати форму недозованих рідких розчинів або суспензій або недозованих порошків. Проте частіше такі композиції постачаються у формі дозованих одиниць для полегшення точного дозування. Термін "дозовані одиниці" означає фізично дискретні одиниці, придатні як одиничні дози для людей та інших ссавців, причому кожна одиниця містить заздалегідь визначену кількість активної речовини, розраховану на досягнення бажаного терапевтичного ефекту, у поєднанні з придатним фармацевтичним наповнювачем. До типових дозованих одиниць належать попередньо заповнені відміряною кількістю рідини ампули або шприци та пілюлі, таблетки, капсули тощо у випадку твердих композицій.

У таких композиціях похідне за цим винаходом є, як правило, неосновним компонентом (від приблизно 0,1% (мас.) до приблизно 50% (мас.), відповідно до варіанта, якому віддається перевага, - від приблизно 1% (мас.) до приблизно 40% (мас.)), а решту складають різноманітні носії та технологічні допоміжні речовини, що сприяють виготовленню бажаної лікарської форми.

Рідкі форми, придатні для перорального застосування, можуть включати придатний водний або неводний носій з буферними домішками, суспензаторами та диспергаторами, барвниками, ароматизаторами тощо. Тверді форми можуть включати, наприклад, будь-який з перелічених нижче інгредієнтів або сполук аналогічної природи: в'язуче, наприклад, мікрокристалічну целюлозу, трагантову камедь або желатин; наповнювач, наприклад, крохмаль або лактозу; розпушувальну речовину, наприклад, альгінову кислоту, Primogel або кукурудзяний крохмаль; змащувальний агент, наприклад, стеарат магнію; ковзний агент, наприклад, колоїдний діоксид кремнію; підсолоджувач, наприклад, сахарозу або сахарин; або смакоароматичну домішку, наприклад, м'яту, метилсаліцилат або цитрусовий ароматизатор.

Композиції для ін'єкцій у типових випадках виготовляють на основі стерильного сольового розчину для ін'єкцій або сольового розчину з фосфатним буфером, або інших носіїв для ін'єкцій, відомих у галузі. Як вказано вище, похідні N-гідроксіаміду Формули (I) у таких композиціях є, як правило, неосновним компонентом, вміст якого часто лежить у межах від 0,05% (мас.) до 10% (мас.), а решту складає носій для ін'єкцій тощо.

Вищезгадані компоненти для композицій, призначених для перорального застосування або для

ін'єкцій, є лише типовими прикладами. Додаткові матеріали та способи виготовлення тощо можна знайти у Частині 5 монографії «Фармацевтичні науки» (Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, 2000, Marck Publishing Company, Easton, Pennsylvania), яку включено до цього опису шляхом посилання.

Сполуки за цим винаходом можна застосовувати також у формах із модифікованим вивільненням або у системах постачання лікарських речовин із тривалим вивільненням (депо). Опис типових матеріалів із модифікованим вивільненням також можна знайти у вищезгаданій монографії Remington's Pharmaceutical Sciences.

Синтез сполук за дим винаходом

Нові похідні, що відповідають Формулі (I) можуть бути одержані з легкодоступних вихідних матеріалів за декількома методиками синтезу, використовуючи як рідинно-фазні, так і твердо-фазні хімічні методики. Приклади схем синтезу для них будуть описані.

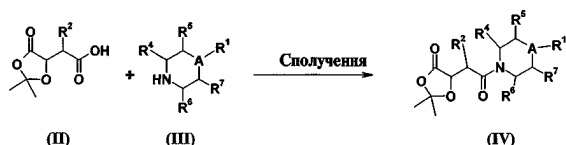
Нижченаведені аббревіатури відповідають таким означенням: водн. (водний розчин), екв. (еквівалент), год (година), г (грам), і.р. (внутрішньоочеревинно), л (літр), мг (міліграм), МГц (мегагерц), хв (хвилина), мм (міліметр), мкм (мікромметр), ммоль (мілімоль), мМ (мілімолярний), т.пл. (температура плавлення), мл (мілілітр), мкл (мікролітр), р.о. (перорально), s.c. (підшкірно), BINAP (2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафталін), CDCl₃ (дейтерований хлороформ), CH₃CN (ацетонітрил), с-hex (циклогексан), DCC (дициклогексилкарбодіімід), DCM (дихлорметан), DIC (діізопропілкарбодіімід), DIEA (діізопропілетиламін), DMF (диметилформамід), DMSO (диметилсульфоксид), DMSO-d₆ (дейтерований диметилсульфоксид), EDC (1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід), ESI (іонізація електророзпиленням), Et₂O (діетиловий ефір), HATU (гексафторфосфат диметиламіно-[1,2,3]триазоло-[4,5-b]піридин-3-ілокси)-метилен]-диметиламонію), PXBE (високоєфективна рідинна хроматографія), i-PrOH (2-пропанол), PX (LC) (рідинна хроматографія), MeOH (метанол), MS (мас-спектрометрія), MTBE (метил-трет-бутиловий простий ефір), NMM (N-метилморфолін), ЯМР (ядерний магнітний резонанс), к.т. (кімнатна температура), PyBOP® (гексафторфосфат бензотриазол-1-ілокси-трис-піролідинофосфонію), Rt (час затримання), TBTU (тетрафторборат 2-(1-H-бензотриазол-1-іл)-1,1,3,3-тетраметилуронію), TEA (триетиламін), TFA (трифтороцтова кислота), THF (тетрагідрофуран), THP (тетрагідропіраніл), ТШХ (хроматографія в тонкому шарі), УФ (ультрафіолет).

Принципи синтезу:

Спосіб виготовлення сполуки Формули (I), якому віддається перевага, полягає у сполученні захищеної діоксоланом дикарбонової кислоти Формули (II) з відповідним аміном (III) для одержання проміжної сполуки (IV), де A, R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶ та R⁷ відповідають вищенаведеним визначенням (Схема 1 нижче). Загальні методики такого сполучення, наведені нижче в Прикладах, використовують умови та способи, добре відомі фахівцям у галузі, для одержання амідного зв'язку з аміну та

карбонової кислоти або похідного карбонової кислоти (наприклад, хлориду кислоти), у присутності стандартного агента сполучення, наприклад, DIC, EDC, TBTU, DCC, HATU, PyBOP®, ізобутилхлорформіат, йодид 1-метил-2-хлорпіридинію (реактив Мукаями) тощо, або без нього, у присутності основи, наприклад, TEA, DIEA, NMM, або без неї, у придатному розчиннику, наприклад, DCM, THF або DMF.

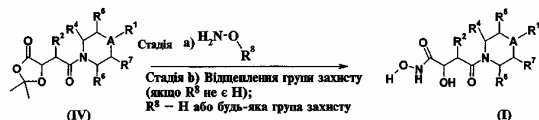
Схема 1



Сполуки Формули (III) можна придбати на ринку або одержати за методиками, розкритими у цьому документі.

Проміжну сполуку Формули (IV) можна ввести в реакцію з гідроксиламіном або із захищеним гідроксиламіном H₂NO-R⁸, де R⁸ - група захисту, наприклад, трет-бутил, бензил, триалкілсиліл або будь-яка придатна група захисту, і після відомої стадії відщеплення групи захисту одержати сполуку Формули (I) (Схема 2 нижче).

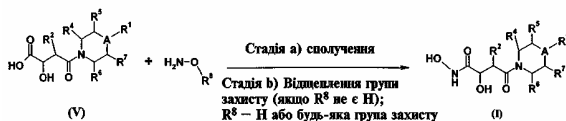
Схема 2



Проміжні продукти Формули (II) можна одержати відомими способами або за методиками, розкритими у цьому документі.

Альтернативним способом одержання сполук Формули (I) може бути сполучення карбонових кислот Формули (V) з гідроксиламіном або із захищеним гідроксиламіном H₂NO-R⁸, де R⁸ - група захисту, наприклад, трет-бутил, бензил, триалкілсиліл, тетрагідропіраніл (THP) або будь-яка інша придатна група захисту, із застосуванням або без застосування стандартних агентів сполучення, наприклад, DIC, EDC, TBTU, DCC, HATU, PyBOP®, ізобутилхлорформіату, йодиду 1-метил-2-хлорпіридинію (реагент Мукаями), з подальшим відщепленням групи захисту для утворення сполуки Формули (I) (Схема 3 нижче).

Схема 3



Дані PXBE, наведені в прикладах, описаних нижче, були одержані таким чином: PXBE колонки: колонка Waters Xterra® MS C₈ 50мм x 4,6мм при швидкості потоку 2мл/хв для Методик А та В. Колонка Waters Xterra® MS C₈ 150мм x 4,6мм при швидкості потоку 1мл/хв для Методик С та D.

Методика А: градієнт від 0,1% TFA у H₂O до 0,07% TFA у CH₃CN протягом 8хв.

Методика В: градієнт від 95% H₂O до 100% CH₃CN протягом 8хв.

Методика С: градієнт від 95% H₂O до 100% CH₃CN протягом 20хв.

Методика D: градієнт від 95% H₂O до 40% CH₃CN протягом 20хв. УФ детектування (при максимальній чутливості) для всіх Методик.

Препаративна PXBE була виконана на колонці Waters Xterra® Prep MS C₈ 10MKM 300мм x 30мм; УФ детектування (254 нм та 220 нм); швидкість потоку: 30мл/хв. Дані мас-спектрометрії (MS), наведені в прикладах, описаних нижче, були одержані таким чином: Мас-спектр: LC/MS Waters ZMD (ESI). Дані ЯМР, наведені в прикладах, описаних нижче, були одержані на приладі ¹H-ЯМР: Bruker DPX-300МГц.

Згідно з додатковим загальним методом, сполуки Формули (I) можна перетворювати в альтернативні сполуки Формули (I), застосовуючи придатні способи взаємоперетворення, відомі фахівцям у галузі.

Якщо описана вище сукупність загальних методів синтезу не є придатною для одержання сполук, що відповідають Формулі (I), та/або необхідних проміжних продуктів синтезу сполук Формули (I), то слід застосувати відповідні способи одержання, відомі фахівцям у галузі. Як правило, спосіб синтезу будь-якої конкретної сполуки Формули (I) залежить від конкретних замісників у кожній молекулі та від доступності необхідних проміжних продуктів; такі чинники знов-таки зрозумілі для пересічного фахівця у галузі.

Щодо всіх методів введення та відщеплення груп захисту дивись монографії Коценського «Групи захисту» (Philip J. Kocienski, in "Protecting Groups", Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1994) та Гріні та Вутса «Групи захисту в органічному синтезі» (Theodora W. Greene and Peter G.M. Wuts in "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley Interscience, 3rd Edition 1999). Для фахівців у галузі зрозуміло, що деякі реакції найкраще виконувати, коли потенційно реакційноздатні групи молекули замасковані або захищені, з метою усунення побічних реакцій та/або підвищення виходу по реакції. Приклади груп захисту можна знайти у вищезгаданих монографіях Коценського та Гріні та Вутса. Необхідність застосування груп захисту при конкретних реакціях та принципи вибору таких груп відомі фахівцям у галузі та залежать від природи функціональної групи, що має бути захищено (гідроксилу, аміногрупи, карбоксилу тощо), будови та стабільності молекули, частиною якої є замісник, та від умов реакції.

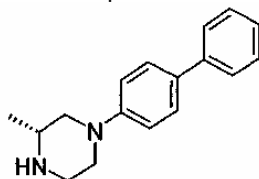
Сполуки за цим винаходом можна виділяти у поєднанні з молекулами розчинника шляхом кристалізації після випарювання відповідного розчинника. Фармацевтично прийнятні солі сполук Формули (I), які містять групи основного характеру, з кислотами можна одержати відомим способом. Наприклад, розчин вільної основи можна обробити відповідною кислотою, нерозведеною або у відповідному розчині, і одержану сіль відділити фільтруванням або випарюванням реакційного розчинника або вакуумі. Фармацевтично прийнятні солі з основами можна одержати аналогічним способом, шляхом оброблення розчину сполуки Формули (I) придатною основою. Обидва типи солей можна одержувати або взаємно перетворювати, застосовуючи іонообмінні смоли.

Цей винахід ілюстровано нижче деякими прикладами, які не слід розглядати як такі, що обмежують обсяг винаходу.

Були застосовані такі реагенти та смоли, наявні на ринку:

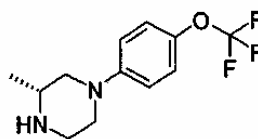
2,2-диметоксипропан (від фірми Fluka), хлорид, міді (II) (від фірми Aldrich), HOBt (від фірми Aldrich), EDC (від фірми Aldrich), дигідрохлорид 1-(4-фторфеніл)піперазину (від фірми Aldrich), (R)-(-)-2-метилпіперазин (від фірми Astatech), 1-бром-4-(трифторметокси)бензол (від фірми Aldrich), 4-бромбіфеніл (від фірми Fluka), 2,2'-бис-(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафталін (від фірми Fluka).

Проміжна сполука 1: (3R)-1-біфеніл-4-іл-3-метилпіперазин



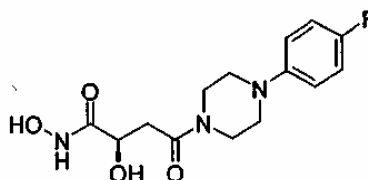
Толуол (700,00мл) знегажували азотом протягом 30хв. Додавали до розчину (R)-2-метилпіперазин (30,0г; 299,5ммоль; 1,0екв.), 4-бромфеніл (73,3г; 314,5ммоль; 1,05екв.), tBuONa (43,18г; 449,3ммоль; 1,5екв.), тример ацетату паладію (II) (3,36г; 15,0ммоль; 0,05екв.) та (+/-)-2,2'-бис-(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафталін (7,46г; 12ммоль; 0,04екв.), і нагрівали суміш зі зворотним холодильником протягом ночі. Спочатку фільтрували реакційну суміш, та додавали до фільтрату Et₂O для осадження фосфіну. Після випарювання розчинників одержували темну тверду речовину (133г). Після очищення препаративною хроматографією (800г діоксиду кремнію; DCM: MeOH 90:10) одержували темну тверду речовину. Цю речовину завантажували у Et₂O і додавали мінімальну кількість DCM для забезпечення повного розчинення. Додавали активоване деревне вугілля і одержану суміш перемішували протягом 30хв при кімнатній температурі. Фільтрували через шар целіту, і випарювали розчинники до осадження злегка забарвленого порошку. Охолоджували суміш до -20°C, і відділяли продукт фільтруванням. Одержану тверду речовину ополіскували охолодженням (0°C) Et₂O та сушили під зниженим тиском при 45°C, одержуючи першу партію вказаної в заголовку сполуки у вигляді білого порошку (17,3г). Повторно кристалізували продукт із маточних розчинів, і одержували другу партію білої твердої речовини (13,8г, загальний вихід 41%). M⁺(ESI): 253,3. ¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц) δ 7,47 (d, J=7,3 Гц, 2H), 7,43 (d, J=8,7 Гц, 2H), 7,32 (t, J=7,6 Гц, 2H), 7,19 (t, J=8,2 Гц, 1H), 6,91 (d, J=8,7 Гц, 2H), 3,49 (d, J=11,9 Гц, 2H), 2,89-3,06 (m, 3H), 2,66 (td, J=11,4,3,5 Гц, 1H), 2,31 (t, J= 10,6 Гц, 1H), 1,06 (d, J=6,2 Гц, 3H). PXBE (Методика A): Rt: 2,5хв (чистота за даними PXBE: 98,5%).

Проміжна сполука 2: (3R)-3-метил-1-(4-трифторметоксифеніл)-піперазин



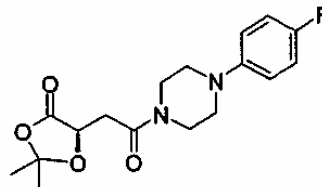
До суміші (R)-2-метилпіперазину (3,0г, 30ммоль), 4-трифторфенокси-бромбензолу (6,6г, 27,5ммоль) та трет-бутилату натрію (3,56г, 37,5ммоль) у безводному толуолі (50мл) в атмосфері азоту додавали Pd(OAc)₂ (0,28г, 12,5ммоль), а потім BINAP (0,62г, 1ммоль) і нагрівали зі зворотним холодильником протягом 16год. Потім реакційну суміш концентрували, і неочищений продукт очищали хроматографією на колонці із силікагелем, застосовуючи як елюенти хлороформ та метанол, і одержували вказану в заголовку сполуку у вигляді темнокоричневої рідини (3г, 38%).

Приклад 1: (2R)-4-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід (1)



(1)

Стадія а) Одержання (5R)-5-[2-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил]-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-ону



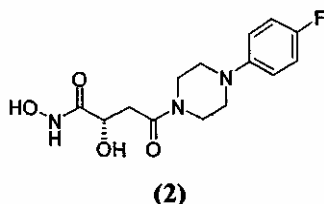
До розчину [(4R)-2,2-диметил-5-оксо-1,3-діоксолан-4-іл]оцтової кислоти (3,48г; 20,0ммоль; 1,0екв.), TEA (6,07г; 60,0ммоль; 3,0екв.) у DCM (60мл) додавали HOBt (2,97г; 22,0ммоль; 1,1екв.), і суміш швидко охолоджували до 0°C. Потім додавали EDC (4,6г; 24,0ммоль; 1,2екв.), і одержану реакційну суміш перемішували протягом 15хв при 0°C. Додавали дигідрохлорид 1-(4-фторфеніл)піперазину (5,57г; 22,0ммоль; 1,1екв.), і одержану реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Після очищення флеш-хроматографією (AcOEt/c-Hex: 50/50) одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді безбарвного масла (5,12г, 76%). M⁺(ESI): 337,2. PXBE (Методика A): Rt: 2,5хв (чистота за даними PXBE 97,4%).

Стадія б) Одержання (2R)-4-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанаміду (1)

До розчину (5R)-5-[2-[4-(4-фторфеніл)-1-піперазиніл]-2-оксоетил]-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-ону (336мг; 1,0ммоль; 1,0екв.) в i-PrOH/THF (25/75) (5мл) додавали водний розчин гідроксиламіну (50%, 0,295мл; 5,0ммоль; 5,0екв.). Після перемішування протягом 3год при кімнатній

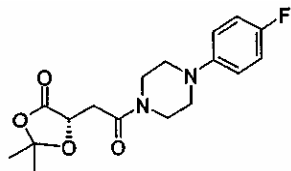
температурі розчинники випарювали, і одержували тверду речовину. Цю речовину перекристалізовували з AcOEt (шляхом додавання Et₂O та c-Hex), і одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді білого порошку (250 мг, 80%). M⁺(ESI): 312,1; M⁻(ESI): 310,1. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 300 МГц) δ 10,50 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 7,12-6,91 (m, 4H), 5,46 (d, J=3,0 Гц, 1H), 4,28 (q, J=6,3 Гц, 1H), 3,60 (s, 4H), 3,14-2,95 (m, 4H), 2,65 (d, J=6,3 Гц, 2H). PXBE (Методика А): Rt: 1,6хв (чистота за даними PXBE: 85,6%).

Приклад 2: (2S)-4-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід (2)



(2)

Стадія а) Одержання (5S)-5-{2-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-ону

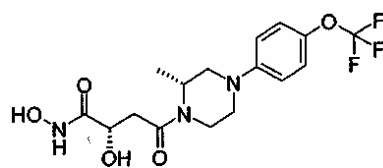


Вказану в заголовку сполуку одержували за методикою, описаною у Прикладі 1 (стадія а), але із застосуванням [(4S)-2,2-диметил-5-оксо-1,3-діоксолан-4-іл]оцтової кислоти (300мг; 1,72ммоль; 1,0екв.), і одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді білої піни (350мг, 60%). M⁺(ESI): 337,1. ¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц) δ 7,12-6,83 (m, 4H), 4,94 (dd, J=3,0 Гц, J=7,5 Гц, 1H), 3,90-3,68 (m, 2H), 3,70-3,57 (m, 2H), 3,19-3,08 (m, 4H), 3,05 (dd, J=3,0 Гц, J=16,6 Гц, 1H), 2,85 (dd, J=7,5 Гц, J=16,6 Гц, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,63 (s, 3H). PXBE (Методика А): Rt: 2,6хв (чистота за даними PXBE: 96,9%).

Стадія б) Одержання (2S)-4-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанаміду (2)

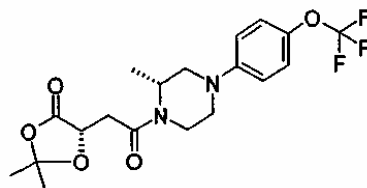
Вказану в заголовку сполуку одержували за методикою, описаною у Прикладі 1 (стадія б), але із застосуванням (5S)-5-{2-[4-(4-фторфеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-ону (343мг, 1,02ммоль), і одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді білого порошку (220мг, 69%). M⁺(ESI): 312,1; M⁻(ESI): 310,0. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 300МГц) δ 10,53 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 7,18-6,85 (m, 4H), 5,47 (d, J=3,0 Гц, 1H), 4,28 (q, J=6,2 Гц, 1H), 3,60 (s, 4H), 3,16-2,93 (m, 4H), 2,65 (d, J=6,3 Гц, 2H). PXBE (Методика А): Rt: 1,2хв (чистота за даними PXBE: 93,2%).

Приклад 3: (2S)-N,2-дигідрокси-4-[(2R)-2-метил-4-[4-(трифторметокси)-феніл]піперазин-1-іл]-4-оксобутанамід (3)



(3)

Стадія а) Одержання (5S)-2,2-диметил-5-{2-[(2R)-2-метил-4-[4-(трифторметил)окси]феніл]піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,3-діоксолан-4-ону

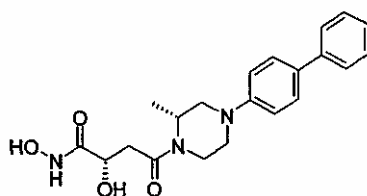


Вказану в заголовку сполуку одержували за методикою, описаною у Прикладі 1 (стадія а), але із застосуванням [(4S)-2,2-диметил-5-оксо-1,3-діоксолан-4-іл]оцтової кислоти (150мг; 0,86ммоль; 1,0екв.) та (3R)-3-метил-1-[4-[(трифторметил)окси]феніл]піперазину (Проміжна сполука 2, 247мг, 0,95ммоль, 1,1екв.), і одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді безбарвного масла (123мг, 34%). M⁺(ESI): 417,2. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 300МГц) δ 7,05 (d, J=8,3Гц, 2H), 6,79 (d, J=9,0 Гц), 4,91-4,74 (m, 1H), 4,91-4,74 (m, 1H), 4,51-4,39 (m, 0,5H), 4,11-3,95 (m, 0,5H), 3,68-3,21 (m, 3H), 3,16-2,55 (m, 4H), 1,57 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,40-1,20 (m, 3H). HPLC (Методика А): Rt: 4,3хв (чистота за даними PXBE: 97,2%).

Стадія б) Одержання (2S)-N,2-дигідрокси-4-[(2R)-2-метил-4-[4-(трифторметокси)феніл]піперазин-1-іл]-4-оксобутанаміду (3)

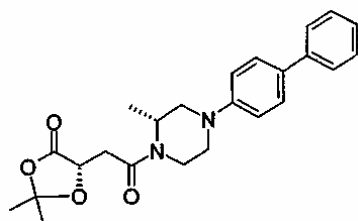
Вказану в заголовку сполуку одержували за методикою, описаною у Прикладі 1 (стадія б), але із застосуванням (5S)-2,2-диметил-5-{2-[(2R)-2-метил-4-[4-(трифторметил)окси]феніл]піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,3-діоксолан-4-ону (117мг, 0,28ммоль), і одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді білого порошку (81мг, 74%). M⁺(ESI): 392,2; M⁻(ESI): 390,2. HPLC (Методика А): Rt: 3,0хв (чистота за даними PXBE: 93,8%).

Приклад 4: (2S)-4-[(2R)-4-біфеніл-4-іл-2-метилпіперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанамід (4)



(4)

Стадія а) Одержання (5S)-5-{2-[(2R)-4-біфеніл-4-іл-2-метилпіперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-ону



Вказану в заголовку сполуку одержували за методикою, описаною у Прикладі 1 (стадія а), але із застосуванням [(4S)-2,2-диметил-5-оксо-1,3-діоксолан-4-іл]оцтової кислоти (150мг; 0,86ммоль; 1,0екв.) та (3R)-1-біфеніл-4-іл-3-метилпіперазину (Проміжна сполука 1, 239мг, 0,95ммоль, 1,1екв.) у вигляді безбарвного масла (107мг, 30%). $M^+(ESI)$: 409,3. PXEE (Методика А): Rt: 4,3хв (чистота за даними PXBE: 98,1%).

Стадія б) Одержання (2S)-4-[(2R)-4-біфеніл-4-іл-2-метилпіперазин-1-іл]-N,2-дигідрокси-4-оксобутанаміду (4)

Вказану в заголовку сполуку одержували за методикою, описаною у Прикладі 1 (стадія б), але із застосуванням (5S)-5-{2-[(2R)-4-біфеніл-4-іл-2-метилпіперазин-1-іл]-2-оксоетил}-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-ону (90мг, 0,22ммоль). Після очищення хроматографією з оберненою фазою одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді білого порошку (60мг, 71%). $M^+(ESI)$: 384,2; $M^-(ESI)$: 382,2. PXBE (Методика А): Rt: 3,0хв (чистота за даними PXBE: 99,0%).

Біологічні випробування

Сполуки за цим винаходом можуть бути піддані таким випробуванням:

Приклад 5: Випробування інгібування ферментів

Сполуки за цим винаходом випробовували з метою визначення їхньої активності як інгібіторів MMP-1, MMP-2, MMP-9 та MMP-12.

Методика випробування MMP-9

Сполуки за цим винаходом випробовували на інгібувальну активність відносно желатинази з молекулярною масою 92кДа (MMP-9) у пробах із застосуванням пептидного субстрату, міченого кумарином (7-метоксикумарин-4-іл)ацетил-Pro-Leu-Gly-Leu-(3-[2,4-динітрофеніл]-L-2,3-діамінопропіоніл)-Ala-Arg-NH₂ (McaPLGLDpaAR) (Knight et al, FEBS Lett. 1992; 263-266).

Вихідні розчини готували, як описано нижче:

Випробувальний буфер: 100мМ Трис-HCl, pH 7,6, що містить 100мМ NaCl, 10мМ CaCl₂ та 0,05% Brij 35.

Субстрат: вихідний розчин 0,4мМ McaPLGLDpaAR (від фірми Bachem) (0,437мг/мл) у 100% DMSO (зберігання при -20°C). Розведення до 8мМ у випробувальному буфері.

Фермент: рекомбінантна желатиназа 92кДа людини (MMP-9; в разі необхідності активована APMA (ацетатом 4-амінофенілртуті)), відповідним чином розведена у випробувальному буфері.

Випробовувані сполуки готували спочатку у вигляді вихідних 10мМ розчинів сполук у 100% DMSO, розводили до 1мМ 100% DMSO, а потім послідовно трічі розводили 100% DMSO у колонках 1-10 96-лункового мікротитрувального план-

шета. Діапазон випробовуваних концентрацій від 100мкМ (колонка 1) до 5,1нМ (колонка 10).

Випробування виконували у загальному об'ємі 100мкл на одну лунку 96-лункового мікротитрувального планшета. У лунку вносили активований фермент (20мкл), а потім 20мкл випробувального буфера. Потім додавали випробовувані сполуки у відповідних концентраціях, розчинені в 10мкл DMSO, а потім 50мкл McaPLGLDpaAR (8мкМ, приготований розведенням вихідного розчину випробувальним буфером). У кожному експерименті застосовували 10 концентрацій випробовуваної сполуки, виконуючи по 2 паралельні проби для кожної. У контрольні лунки не вносили або фермент, або випробовувану сполуку. Реакційні суміші інкубували при 37°C протягом 2год. Потім, не припиняючи реакцію, одразу ж вимірювали флуоресценцію на довжині хвилі 405 нм за допомогою флуориметра SLT Fluostar (виробник SLT Labinstmments GmbH, Grodig, Австрія) при збудженні довжиною хвилі 320 нм.

Ефект випробовуваної сполуки визначали з кривої доза-реакція, побудованої за даними двох паралельних проб для кожної з 10 концентрацій інгібітора. Значення IC₅₀ (концентрація сполуки, потрібна для забезпечення зниження активності ферменту на 50%) одержували шляхом наближення даних до рівняння $Y = a + ((b-a)/(1+(c/X)^d))$ (де Y - інгібування, досягнуте при певній дозі; X - згадана доза в наномолях; a - мінімальний відрізок на осі у або 0% інгібування; b - максимальний відрізок на осі у або 100% інгібування; c - значення IC₅₀; d - нахил кривої). Результат округлювали до однієї значущої цифри.

Методика випробування MMP-12

Сполуки за цим винаходом випробовували на інгібувальну активність відносно металоеластази (MMP-12) у пробах із застосуванням пептидного субстрату, міченого кумарином (7-метоксикумарин-4-іл)ацетил-Pro-leu-Gly-Leu-(3-[2,4-динітрофеніл]-L-2,3-діамінопропіоніл)-Ala-Arg-NH₂ (McaPLGLDpaAR) (Knight et al., 1992, дивись вище). Випробування виконували, як описано вище для випробування MMP-9.

Методика випробування MMP-1

Сполуки за цим винаходом випробовували на інгібувальну активність відносно колагенази (MMP-1) у пробах із застосуванням пептидного субстрату, міченого кумарином (7-метоксикумарин-4-іл)ацетил-Pro-leu-Gly-Leu-(3-[2,4-динітрофеніл]-L-2,3-діамінопропіоніл)-Ala-Arg-NH₂ (McaPLGLDpaAR) (Knight et al., 1992, дивись вище). Випробування виконували, як описано вище для випробування MMP-9.

Методика випробування MMP-2

Сполуки за цим винаходом випробовували на інгібувальну активність відносно желатинази А (MMP-2) у пробах із застосуванням пептидного субстрату, міченого кумарином (7-метоксикумарин-4-іл)ацетил-Pro-leu-Gly-Leu-(3-[2,4-динітрофеніл]-L-2,3-діамінопропіоніл)-Ala-Arg-NH₂ (McaPLGLDpaAR) (Knight et al., 1992, дивись вище). Випробування виконували, як описано вище для випробування MMP-9.

Результати виражені у формі значень IC₅₀ (концентрація сполуки, необхідна для одержання 50% зниження активності ферменту) та подані у нижченаведеній Таблиці 1 для сполук Формули (I).

Таблиця 1:

IC₅₀ для різних MMP:

Приклад	MMP-1 IC ₅₀ (нМ)	MMP-12 IC ₅₀ (нМ)
Приклад 1	>5000	264
Приклад 2	>5000	58
Приклад 3	>5000	5
Приклад 4	>5000	5

Приклад 6: Індуковане IL2 надходження лімфоцитів у очереvinу

Внутрішньоочереvinне введення IL2 (інтерлейкіну-2) спричиняє міграцію лімфоцитів у очереvinну порожнину. Це явище є моделлю міграції клітин, яка відбувається під час запалення.

Процедура експериментів

Мишам лінії C3H/HEJ (одержаним від Elevage Janvier, Франція) вводили внутрішньоочереvinно IL2 (одержаний від Serono Pharmaceutical Research Institute, 20мкг/кг, у сольовому розчині).

Сполуки за цим винаходом суспендували в розчині 0,5% карбоксиметилцелюлози (CMC) та 0,25% Твін-20 і вводили підшкірно або перорально (10мл/кг) за 15хв до введення IL2.

Через 24год після введення IL2 збирали білі кров'яні тільця у очереvinі шляхом трьохразового послідовного промивання очереvinної порожнини 5мл сольового розчину з фосфатним буфером (PBS) та 1мМ EDTA (+4°C).

Одержану суспензію центрифугували (1700gx10хв при +4°C). Одержаний осад суспендували в 1мл розчину PBS-1мМ EDTA.

Лімфоцити ідентифікували і рахували, використовуючи лічильник Beckman/Coulter.

Схема експерименту

Тварин розділяли на 6 груп (по 6 мишей у кожній групі):

Група 1: (базовий рівень) одержувала розчин 0,5% CMC/0,25% Твін-20 (носії сполуки за винаходом) і сольовий розчин (носії IL2);

Група 2: (контроль IL2) одержувала розчин 0,5% CMC/0,25% Твін-20 та ін'єкцію IL2;

Група 3: експериментальна група (сполука за винаходом, доза 1) одержувала сполуку за цим винаходом та ін'єкцію IL2;

Група 4: експериментальна група (сполука за винаходом, доза 2) одержувала сполуку за цим винаходом та ін'єкцію IL2;

Група 5: експериментальна група (сполука за винаходом, доза 3) одержувала сполуку за цим винаходом та ін'єкцію IL2;

Група 6: група порівняння одержувала сполуку порівняння (дексаметазон) та ін'єкцію IL2.

Розрахунки

Інгібування надходження лімфоцитів обчислювали за формулою:

$$\% \text{ інгібування} = \frac{1 - (LyX - Ly1)}{(Ly2 - Ly1)} \times 100\%,$$

де Ly1 - кількість лімфоцитів у тварин групи 1 (ЕЗ/мкл); Ly2 - кількість лімфоцитів у тварин групи 2 (ЕЗ/мкл), Ly X - кількість лімфоцитів у тварин групи X (3-5) (ЕЗ/мкл).

Результати для сполук, що відповідають Формулі (I), подані у Таблиці 2 нижче.

Таблиця 2:

Ступінь інгібування (%) індукованого IL2 надходження лімфоцитів у очереvinу сполуками за цим винаходом:

Приклад	Доза (мг/кг)	Спосіб введення	Ступінь інгібування, %
Приклад 2	1	Перорально	51

Приклад 7: Модель хронічного обструктивного легеневого захворювання (COPD)

Сполуки за цим винаходом можна оцінювати за їхньою здатністю попереджувати COPD, індуковане сигаретним димом.

Самок мишей лінії AJ (Harlan, маса тіла 17-25г) щоденно піддавали дії сигаретного диму (CS) на протязі 11 послідовних днів групами по 5 тварин у індивідуальних прозорих камерах. Тварин зважували перед початком оброблення, на 6-й день експерименту та на 12-й день. Сигаретний дим одержували з використанням сигарет 1R1, придбаних в Інституті дослідження тютюну (Institute of Tobacco Research, University of Kentucky, USA), і впускали в камери при швидкості потоку 100мл/хв.

З метою зведення до мінімуму можливих ускладнень, спричинених повторною щоденною дією великих кількостей сигаретного диму, кількість використовуваних сигарет в період від 5-го дня до 11-го дня поступово збільшували до максимальної (6 сигарет, тривалість впливу приблизно 48хв).

Порівняльну групу мишей також щоденно піддавали дії повітря протягом еквівалентних періодів часу (без оброблення CS).

Лікування

Виготовляли розчини сполук за цим винаходом, використовуючи як носій 0,5% розчин натрієвої солі карбоксиметилцелюлози (CMC, Sigma, номер за каталогом C-4888).

Тваринам вводили перорально шляхом згодування дози розчину випробовуваних сполук у кількості 5мл/кг двічі на день: за 1год до оброблення CS та через 6год після закінчення оброблення.

Тварини групи порівняння (n=10) одержували носій, і їх піддавали дії повітря протягом часу до 50хв на день. Тварини контрольної групи (n=10) одержували носій, і їх піддавали дії CS (до максимальної кількості 6 сигарет на день). Тварин дослідних груп піддавали дії CS (до максимальної кількості 6 сигарет на день) та лікували однією з випробовуваних сполук або сполукою порівняння.

Бронхоальвеолярне промивання та аналіз на цитоспін

Через 24год після останнього оброблення CS виконували бронхоальвеолярне промивання, як описано нижче:

Розсікали трахею під глибокою анестезією (пентобарбітон натрію) та катетеризували її, застосовуючи найлонову внутрішньовенну канюлю (Portex), укорочену приблизно до 8мм. Обережно вводили краплями сольовий розчин із фосфатним буфером (PBS, Gibco) з домішкою 10 одиниць гепарину на мл (0,4мл) та видаляли його, повторюючи ці операції тричі. Промивну рідину вміщували у пробірку Еппендорфа і зберігали на льоду до подальших аналізів. Потім промивну рідину відділяли від клітин центрифугуванням. Надосадову рідину видаляли та зберігали для аналізів у замороженому вигляді. Осад клітин знов суспендували у PBS та підраховували загальну кількість клітин у забарвленій аліквотній пробі (барвник Turks) під мікроскопом, застосовуючи гемоцитометр.

Потім виконували диференційний підрахунок клітин, як описано нижче: Залишок осаду клітин розводили до концентрації приблизно 10^5 клітин на мл. Об'єм 500мкл вміщували у лійку цитоспінового предметного скла і центрифугували протягом 8хв при 800об/хв. Сушили предметне скло на повітрі та забарвлювали, використовуючи розчини «Kwik-Diff» (Shandon) згідно з інструкціями виробника. Сушили стекла, накривали їх покривними стеклами та виконували диференційний підрахунок клітин під оптичним мікроскопом. Нараховували до 400 клітин на кожному склі. Клітини диференціювали, застосовуючи стандартні способи морфометрії.

Статистичний аналіз

Обчислювали середнє значення \pm СКВ для кожної групи експериментальних тварин.

Результати аналізували, застосовуючи односторонній дисперсійний аналіз (ANOVA) з подальшим коригуванням за Бонферроні (Bonferroni) для множинних порівнянь. Статистичну значущість визначали при $p < 0,05$.

Приклад 8: Експериментальна модель алергічного енцефаломієліту (EAE)

Сполуки за цим винаходом можна оцінювати за їхньою активністю у моделі розсіяного склерозу мишей.

Тварини

Використовували самок мишей лінії C57BL/6NCrlBR. Мишей тримали у дротяжних клітках (32x14см, висота 13см) з годівницями з нержавіючої сталі та годували стандартним кормом (4RF21, Charles River, Італія) при вільному доступі до води. Починаючи з 7-го дня на дно кліток також щоденно клали вологі гранули. На додаток до автоматичної системи водоподавання використовували пластикові пляшки.

Методика експерименту

Мишей імунізували (у день 0) шляхом підшкірного введення у лівий бік 0,2мл емульсії, що складалася з 200мкг пептиду MOG35-55 (Neosystem, Strasbourg, Франція) у повному ад'юванті за Фрейндом (CFA, Difco, Detroit, U.S.A.), яка містила 0,5мг *Mycobacterium tuberculosis*. Одразу ж після імунізації тварини одержували внутрішньоочеревинну ін'єкцію 500 нг коклюшного токсину (List Biological Lab., Campbell, CA, U.S.A.), розведеного у 400мкл буферу (0,5 M NaCl, 0,017% Triton X-100, 0,015 M

Tris, pH=7,5). У день 2 тваринам повторно вводили 500 нг коклюшного токсину.

У день 7 миші одержували другу ін'єкцію 200мкг пептиду MOG35-55 у CFA, яку вводили підшкірно у правий бік. Починаючи приблизно з 8-10-го дня, таке оброблення спричиняло поступовий параліч, що починався з хвоста і поширювався до передніх кінцівок.

Тварин поодиночі зважували та досліджували на наявність паралічу, який кількісно характеризували за поданою нижче шкалою:

0 = відсутність ознак захворювання;

0,5 = частковий параліч хвоста;

1 = параліч хвоста;

1,5 = параліч хвоста + частковий односторонній параліч задньої кінцівки;

2 = параліч хвоста + двостороння слабкість або частковий параліч задніх кінцівок;

2,5 = параліч хвоста + частковий параліч задніх кінцівок (опущений таз);

3 = параліч хвоста + повний параліч задніх кінцівок;

3,5 = параліч хвоста + параліч задніх кінцівок + нетримання сечі;

4 = параліч хвоста + параліч задніх кінцівок + слабкість або частковий параліч передніх кінцівок;

5 = тварина помирає або вмерла.

Смертність та клінічні ознаки контролювалися щодня у кожній групі тварин працівником, якому був невідомий тип оброблення.

Щоденне оброблення випробовуваними сполуками, носієм або сполукою порівняння починали з 7-го дня та продовжували протягом 15 або 21 послідовних днів для всіх груп.

Гістопатологічне дослідження

Наприкінці періоду оброблення кожну тварину анестезували пентобарбіталом натрію та піддавали транскардіальній перфузії та фіксації 4% парамальдегідом через лівий шлуночок. Потім обережно вирізали зафіксовані спинні мозки.

Зрізи спинних мозків заливали у парафінові блоки. Виконували розсікання та забарвлювання гематоксиліном та еозином і CD45 для виявлення запалення, забарвлення Kluver-PAS (Luxol fast blue та Periodic Acid Schiff) та забарвлення за Бельховським (Bielchowski) для виявлення демієлінізації та втрати аксонів.

У спинному мозку вимірювали загальну площу усіх зрізів для кожної тварини, виражену через кількість точок перетину сітки 10x10 при збільшенні 0,4x0,4мм для кожної сітки. Підраховували кількість периваскулярних запальних інфільтратів у кожному зрізі та одержували їхню загальну кількість для кожної тварини, виражену як кількість інфільтратів на кв. мм. Вимірювали площу демієлінізації та втрат аксонів для кожної тварини, виражену через кількість точок перетину сітки 10x10 при збільшенні 0,1x0,1мм для кожної сітки, та виражали їх як відношення загальної площі демієлінізації до загальної площі зрізів (у відсотках).

Оцінка даних та статистичний аналіз

Результати клінічних та гістопатологічних досліджень виражали у формі середніх значень (\pm СКВ) оцінок для кожної групи піддослідних тварин. Значення, одержані для груп, оброблюваних

випробовуваними сполуками, зіставляли зі значеннями для групи позитивного контролю. Значущість відмінностей між групами стосовно до клінічних оцінок аналізували, застосовуючи односторонній дисперсійний аналіз (ANOVA) з подальшим тестуванням за Фішером у разі значущості ($p < 0,05$).

Відмінності між групами стосовно до присутності периваскулярних запальних інфільтратів та ступеня демієлізації та втрат аксонів у спинному мозку, а також стосовно до маси тіла аналізували, застосовуючи односторонній дисперсійний аналіз (ANOVA) з подальшим тестуванням за Фішером у разі значущості ($p < 0,05$).

Приклад 9: Виготовлення лікарських форм

Подані нижче приклади лікарських форм ілюструють типові фармацевтичні композиції за цим винаходом, обсяг якого не обмежується цими прикладами.

Лікарська форма 1 - Таблетки

Сполуку за цим винаходом змішують у формі сухого порошку із сухим желатиновим в'язучим у масовому співвідношенні приблизно 1:2. Додають незначну кількість стеарату магнію як змащувальну домішку. Одержану суміш формують на таблетувальному пресі у таблетки масою 240-270мг (80-90мг активного похідного N-гідроксіаміду на таблетку).

Лікарська форма 2 - Капсули

Сполуку за цим винаходом змішують у формі сухого порошку з крохмалем як розріджувачем у масовому співвідношенні приблизно 1:1. Одержану суміш фасують у капсули по 250мг (125мг активного похідного N-гідроксіаміду на капсулу).

Лікарська форма 3 - Рідина

Сполуку за цим винаходом (1250мг), сахарозу (1,75г) та ксантанову камедь (4 мг) змішують у сухому вигляді, пропускають через сито 10 меш за стандартом СІЛА (розмір отворів 2,0мм), після чого змішують із попередньо виготовленим розчином мікрокристалічної целюлози та натрієвої карбоксиметилцелюлози (11:89, 50мг) у воді. Бензоат натрію (10мг), ароматизатор та барвник розводять водою і додають при перемішуванні до основного розчину. Потім додають воду до загального об'єму 5мл.

Лікарська форма 4 - Таблетки

Сполуку за цим винаходом змішують у формі сухого порошку із сухим желатиновим в'язучим у масовому співвідношенні приблизно 1:2. Додають незначну кількість стеарату магнію як змащувальну домішку. Одержану суміш формують на таблетувальному пресі у таблетки масою 450-900мг (150-300мг активного похідного N-гідроксіаміду).

Лікарська форма 5 - Розчин для ін'єкцій

Сполуку за цим винаходом розчиняють у стерильному буферованому сольовому водному розчині для ін'єкцій у концентрації приблизно 5мг/мл.