



УКРАЇНА

(19) UA (11) 95811 (13) C2

(51) МПК (2011.01)  
C07D 513/04 (2006.01)  
A61K 31/519 (2006.01)  
A61P 11/06 (2006.01)  
A61P 25/00  
A61P 9/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

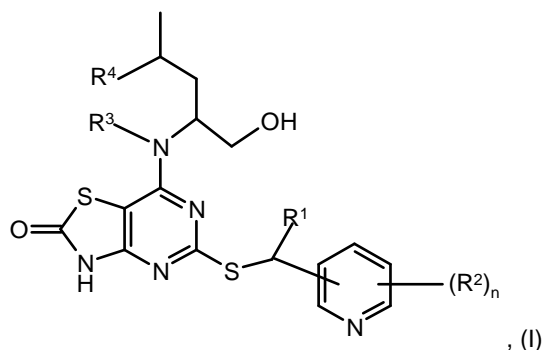
## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) 5,7-ДИЗАМІЩЕНІ ПОХІДНІ [1,3]ТІАЗОЛО[4,5-d]ПІРИМІДИН-2(3Н)-ОНУ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У ТЕРАПІЇ

1

2

(21) а200901648  
(22) 27.09.2007  
(24) 12.09.2011  
(86) PCT/SE2007/000857, 27.09.2007  
(31) 60/827,460  
(32) 29.09.2006  
(33) US  
(31) 60/828,125  
(32) 04.10.2006  
(33) US  
(46) 12.09.2011, Бюл.№ 17, 2011 р.  
(72) ЙОГАНССОН РОЛЬФ, SE, КАРЛСТРЬОМ  
СОФІЯ, SE, НОРДВОЛЛ ГУННАР, SE, КЕРС АННІ-  
КА, SE, РЕЙН ТОБІАС, SE, СЛІВО КЕН, SE  
(73) АСТРАЗЕНЕКА АБ, SE  
(56) WO 2005033115 A1  
WO 0125242 A1  
WO 2006107257 A1  
WO 2006064228 A2  
WO 2004026880 A1  
WO 2004026835 A1  
WO 0158906 A1  
(57) 1. Сполука формули (I)



де:  
R<sup>1</sup> - CH<sub>3</sub> або CF<sub>3</sub>;  
R<sup>2</sup> - галоген, CN або C<sub>1-6</sub>алкіл;  
R<sup>3</sup> - H або CH<sub>3</sub>;  
R<sup>4</sup> - H або CH<sub>3</sub>;  
n = 0, 1 або 2;

як вільна основа або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або сольват солі.

2. Сполука за п. 1, де n = 1.  
3. Сполука за п. 1, де R<sup>1</sup> - CH<sub>3</sub>.  
4. Сполука за п. 1, де R<sup>2</sup> - галоген або CN.  
5. Сполука за п. 1, де R<sup>2</sup> - F або Cl.  
6. Сполука за п. 1, де R<sup>2</sup> - CN.  
7. Сполука за п. 1, де n = 1; R<sup>1</sup> - CH<sub>3</sub>; та R<sup>2</sup> - F, Cl або CN.  
8. Сполука за п. 1, де піридин є приєднаним через свою 5-позицію та має Cl у 2-позиції.  
9. Сполука за п. 1, де піридин є приєднаним через свою 2-позицію та має CN у 4-позиції.  
10. Сполука за п. 1, де піридин є приєднаним через свою 2-позицію та має F у 5-позиції.  
11. Сполука за п. 1, де піридин є приєднаним через свою 2-позицію та має Cl у 5-позиції.  
12. Сполука за п. 1, де піридин є приєднаним через свою 2-позицію та має F у 3-позиції.  
13. Сполука за п. 1, де піридин є приєднаним через свою 4-позицію та має F у 3-позиції.  
14. Сполука за п. 1, де R<sup>3</sup> - H.  
15. Сполука за п. 1, де R<sup>4</sup> - CH<sub>3</sub>.  
16. Сполука, вибрана з групи:  
5-(((1S)-1-(5-хлорпіридин-2-іл)етил)тіо)-7-(((1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;  
5-(((1S)-1-(5-флуорпіридин-2-іл)етил)тіо)-7-(((1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;  
5-(((1R)-1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил)тіо)-7-(((1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;  
5-(((1S)-1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил)тіо)-7-(((1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;  
5-(((1R)-1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил)тіо)-7-(((1R)-1-(гідроксиметил)-3-

(13) C2

(11) 95811

(19) UA

метилбутил]аміно}[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;  
 5-[[[(1S)-1-(3-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно}[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;  
 2-[(1S)-1-[(7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно]-2-оксо-2,3-дигідро[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-5-іл)тіо]етил]ізонікотинонітрил;  
 5-[[[(1S)-1-(6-хлорпіридин-3-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)бутил]аміно}[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он та  
 5-[[[(1S)-1-(6-хлорпіридин-3-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)бутил](метил)аміно}[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;  
 як вільна основа або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват або сольват солі.  
 17. Сполука за будь-яким з пп. 1-16 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування як медикаменту.  
 18. Сполука за будь-яким з пп. 1-16 або її фармацевтично прийнятна сіль у суміші з фармацевтично прийнятним розріджувачем або носієм.  
 19. Застосування сполуки формули (I) за будь-яким з пп. 1-16 або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або

профілактики нейродегенеративних розладів, демієлінізаційної хвороби, серцево- та церебрально-васкулярних атеросклеротичних розладів, хвороби периферійних артерій, ревматоїдного артриту, хвороб легень, як-то COPD, астма або біль.  
 20. Застосування сполуки формули (I) за будь-яким з пп. 1-16 або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики розсіяного склерозу.  
 21. Застосування сполуки формули (I) за будь-яким з пп. 1-16 або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики атеросклерозу зміною складу бляшок для зменшення ризику руйнування бляшок та випадків атеротромбозу.  
 22. Застосування сполуки формули (I) за будь-яким з пп. 1-16 або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики атеросклерозу попередженням та/або зменшенням утворення нових атеросклеротичних уражень або бляшок та/або попередженням або уповільненням прогресування існуючих уражень та бляшок.  
 23. Застосування сполуки формули (I) за будь-яким з пп. 1-16 або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики інсульту або тимчасового пошкодження мозку (TBI).

Заявлений винахід розкриває нові 5,7-дизаміщені похідні [1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-ону разом зі способами їх отримання, фармацевтичні композиції, що їх містять та їх застосування у терапії.

Хемокини грають важливу роль в імунній та запальній реакціях у різних хворобах та розладах, як-то астма, атеросклероз та алергічні хвороби, а також автоімунні патології, як-то ревматоїдний артрит та розсіяний склероз. Ці малі секретовані молекули є зростаючою надродинию білків по 8-14 кДа, що характеризуються збереженням цистеїновим мотивом. Зараз надродина хемокинів має чотири групи, що виявляють характеристичні структурні мотиви, родини C-X-C, C-C та C-X<sub>3</sub>-C та XC. Родини C-X-C та C-C мають подібність послідовностей та відрізняються одна від одної на основі одиночної амінокислотної вставки між NH-проксимальною парою цистеїнових залишків. Родина C-X<sub>3</sub>-C відрізняється від інших двох родин на основі того, що має потрібну амінокислотну вставку між NH-проксимальною парою цистеїнових залишків. На відміну, члени родини XC втратили один з перших двох цистеїнових залишків.

Хемокини C-X-C охоплюють кілька потужних хемоатрактантів та активаторів нейтрофілів, як-то інтерлейкін-8 (IL-8) та нейтрофіл-активувальний пептид 2 (NAP-2).

Хемокини C-C охоплюють потужні хемоатрактанти моноцитів, лімфоцитів та нейтрофілів. Приклади охоплюють тимотаксини моноцитів людини 1-3 (MCP-1, MCP-2 та MCP-3), RANTES (Регульовані на активацію, експресовані та секретовані

нормальними Т-клітинами), еотаксин та запальні білки макрофагів 1α та 1β (MIP-1α та MIP-1β).

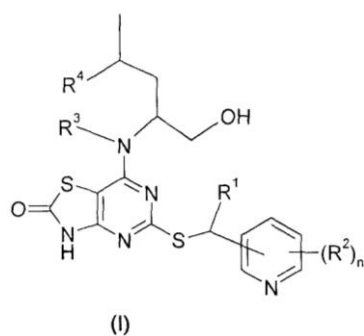
Хемокін C-X<sub>3</sub>-C (також відомий як фракталкін) є потужним хемоатрактантом та активатором мікроглії у центральній нервовій системі (ЦНС) а також моноцитів, Т-клітин, NK-клітин та мастоцитів.

Дослідження продемонстрували, що дія хемокинів опосередкована підродинами сполучених з G-білком рецепторів, серед котрих є рецептори, позначені як CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 та CCR11 (для родини C-C); CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 та CXCR5 (для родини C-X-C) та CX<sub>3</sub>CR1 для родини C-X<sub>3</sub>-C. Ці рецептори є гарними цілями для розробки ліків, оскільки засоби, що модулюють ці рецептори, могли б бути корисними у лікуванні вищезгаданих розладів та хвороб.

WO 01/25242 розкриває деякі похідні тіазоло[4,5-d]піримідину, що є корисними як антагоністи рецепторів, зв'язаних з родинними хемокинів C-X-C та C-C, зокрема як антагоністи рецептору CX3CR2.

Заявлений винахід розкриває групу сполук, що є спорідненими зі сполуками, розкритими у WO 01/58907, але мають тип структури, що не представлений там конкретно. При порівнянні з прикладами, розкритими у WO 01/58907, сполуки заявленого винаходу виявляють неочікувано корисні властивості як антагоністи рецептору CX3CR1.

Заявлений винахід розкриває сполуку формули (I)



де:

$R^1$  -  $\text{CH}_3$  або  $\text{CF}_3$ ;

$R^2$  - галоген, CN або  $\text{C}_{1-6}$ алкіл;

$R^3$  - H або  $\text{CH}_3$ ;

$R^4$  - H або  $\text{CH}_3$ ;

$n=0, 1$  або  $2$ ;

як вільну основу або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват або сольват солі.

В одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де  $n=1$ .

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де  $R^1$  -  $\text{CH}_3$ .

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де  $R^2$  - галоген або CN.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де  $R^2$  - F або Cl.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де  $R^2$  - CN.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де  $n=1$ ;  $R^1$  -  $\text{CH}_3$ ; та  $R^2$  - F, Cl або CN.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де піридин є приєднаним через свою 5-позицію та має Cl у 2-позиції.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де піридин є приєднаним через свою 2-позицію та має CN у 4-позиції.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де піридин є приєднаним через свою 2-позицію та має F у 5-позиції.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де піридин є приєднаним через свою 2-позицію та має Cl у 5-позиції.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де піридин є приєднаним через свою 2-позицію та має F у 3-позиції.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де піридин є приєднаним через свою 4-позицію та має F у 3-позиції.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де  $R^3$  - H.

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), де  $R^4$  -  $\text{CH}_3$ .

У ще одному втіленні винаходу розкрито сполуки формули (I), вибрані з групи:

5-[[[(1S)-1-(5-хлорпіридин-2-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;

5-[[[(1S)-1-(5-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-

метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;

5-[[[(1S)-1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;

5-[[[(1S)-1-(3-Флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;

5-[[[(1R)-1-(3-Флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;

5-[[[(1S)-1-(3-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;

2-[[[(1S)-1-[[7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно]-2-оксо-2,3-дігідро[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-5-іл]тіо]етил]ізонікотинонітрил;

5-[[[(1S)-1-(6-хлорпіридин-3-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)бутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он; та

5-[[[(1S)-1-(6-хлорпіридин-3-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)бутил](метил)аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он;

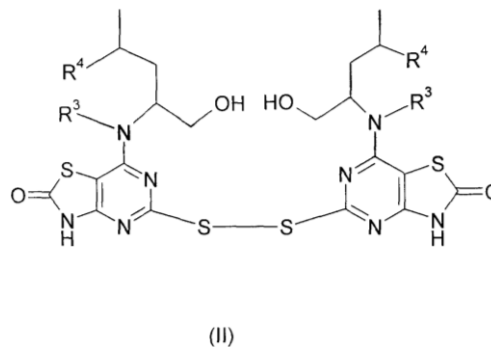
як вільні основи або її фармацевтично прийнятні солі, сольвати або сольвати солей.

Сполуки формули (I) можуть існувати у стереоізомерних та/або таутомерних формах. Слід розуміти, що усі енантіомери, діастереомери, рацемати, таутомери та їх суміші є охопленими рамками винаходу.

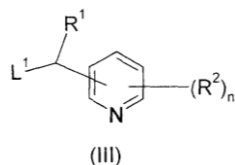
При порівнянні зі сполуками, розкритими у WO 01/25242, сполуки заявленого винаходу характеризуються наявністю розгалуженого тіоалкілпіридилу у 5-позиції тіазолопіримідинової кільцевої системи. Тобто, сполуки заявленого винаходу мають  $R^1$ , що не є гідрогеном.

Згідно з винаходом ми крім того розкриваємо спосіб отримання сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі, котрий полягає у наступному:

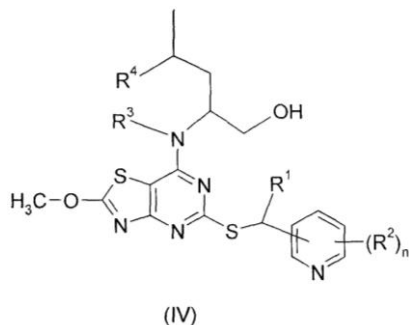
а) реакція сполуки формули (II):



де  $R^3$  та  $R^4$  визначені у формулі (I); зі сполукою формули (III):



де  $R^1$ ,  $R^2$  та  $n$  визначені у формулі (I) та  $L^1$  - відщеплювана група; або  
b) гідроліз сполуки формули (IV)



де  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  та  $n$  визначені у формулі (I);  
та де необхідно перетворення утвореної сполуки формули (I), або ще одної її солі в її фармацевтично прийнятну сіль; або перетворення утвореної сполуки формули (I) в іншу сполуку формули (I); та, де потрібно, перетворення утвореної сполуки формули (I) в її оптичний ізомер.

У способі (а), реагенти (II) та (III) сполучають разом у придатному органічному розчиннику, як-то диметилсульфоксид (ДМСО), ацетонітрил або 1-метил-2-піролідинон (NMP). Реакцію необов'язково проводять при наявності доданої органічної або неорганічної основи, як-то триетиламін, N,N-діізопропілетиламін (DIPEA) або натрій гідрид. Реакцію проводять при наявності помірного відновнику, як-то натрій борогідрид. Реакцію проводять при придатній температурі, звичайно між кімнатною температурою та температурою кипіння розчиннику. Реакція загалом продовжується протягом приблизно однієї години - одного тижня, або, доки аналіз не покаже, що утворення потрібного продукту завершено. Придатною відщеплюваною гру-

пою  $L^1$  є галоген, зокрема хлор або бром. В одному втіленні,  $L^1$  - хлор.

У способі (b), реагент (IV) є піддають каталізованому кислотою гідролізу у придатному органічному розчиннику, як-то 1,4-діоксан, тетрагідрофуран (ТГФ), диметилсульфоксид (ДМСО) або 1-метил-2-піролідинон (NMP). Придатні кислоти охоплюють неорганічні кислоти, як-то хлоридна кислота або бромідна кислота, або сильні органічні кислоти, як-то трифлуороцтова кислота. Реакцію проводять при придатній температурі, звичайно між кімнатною температурою та температурою кипіння розчиннику. Реакція загалом продовжується протягом приблизно однієї години - однієї доби, або, доки аналіз не покаже, що утворення потрібного продукту завершено.

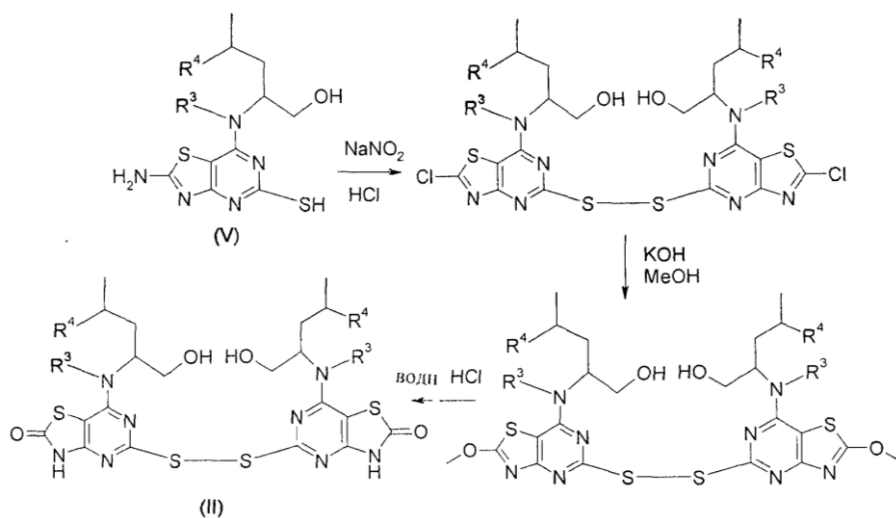
Спеціалісту треба розуміти, що у вищенаведених способах може бути потрібно або необхідно захищати амін, гідроксил або іншу потенційно реактивну групу. Придатні захисні групи та способи додавання та видалення таких груп є, загалом, добре відомими у рівні техніки. Дивись, наприклад, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd Edition (1999) by Greene та Wuts.

Заявлений винахід розкриває сполуки формули (I) у формі солей. Придатні солі охоплюють солі, утворені з органічними або неорганічними кислотами або органічними або неорганічними основами. Такі солі повинні звичайно бути фармацевтично прийнятними, хоча солі фармацевтично неприйнятних кислот або основ можна використовувати при отриманні та очистці сполук.

Солі сполук формули (I) можна утворювати реакцією вільної сполуки, або її солі, енантіомеру або рацемату з одним або більше еквівалентами прийнятної кислоти або основи. Реакцію можна проводити у розчиннику або середовищі, у котрих сіль є нерозчинною або у розчиннику, у котрому сіль є розчинною, як-то, вода, діоксан, етанол, тетрагідрофуран або діетил-етер, або суміші розчинників, котрі можна видаляти у вакуумі або сушкою сублімацією. Реакція може також бути обмінною або її можна проводити на іонообмінній смолі.

Сполуки формули (II) можна, загалом, отримувати відомими способами, що спеціалісту треба розуміти. Один такий придатний шлях є показаним у схемі 1.

Схема 1

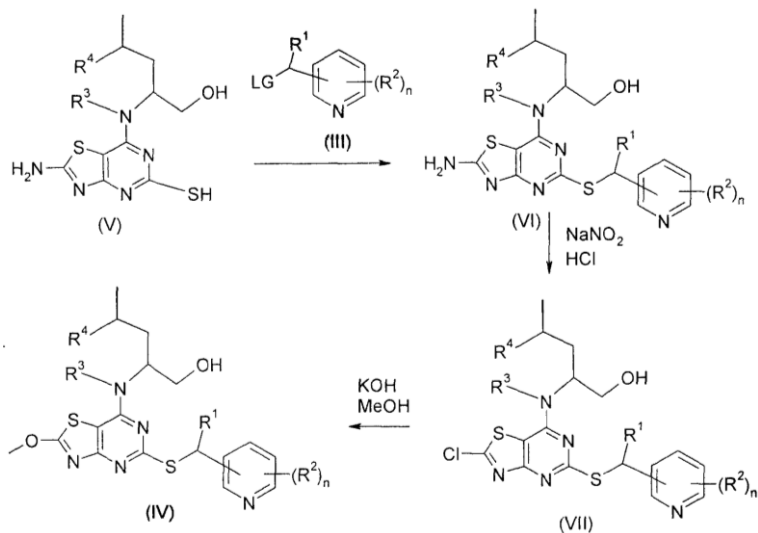


Сполуки формул (III) є у продажу, або відомі у літературі, або можуть бути отриманими відомими способами, що спеціалісту треба розуміти.

Сполуки формули (IV) є відомими, наприклад, з WO 01/25242 або WO 05/33115 або можуть бути

отриманими відомими способами, що спеціалісту треба розуміти. Один такий придатний шлях є показаним у схемі 2.

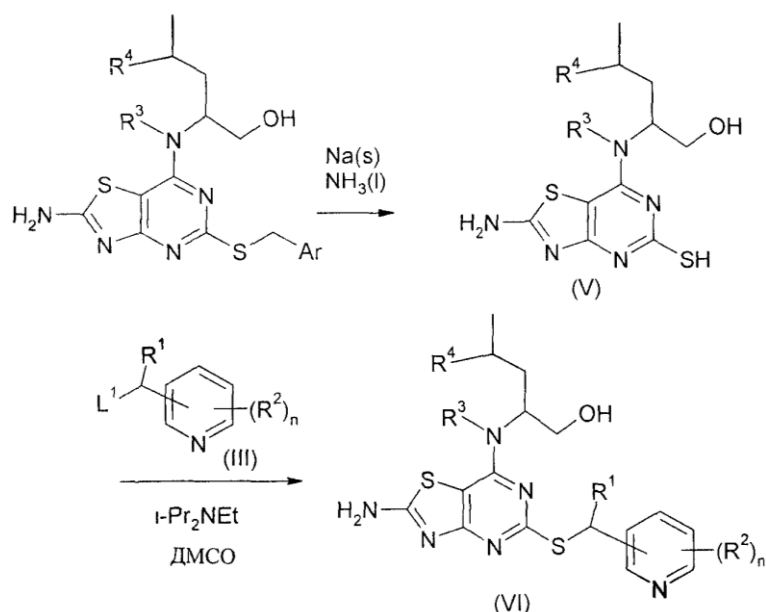
Схема 2



Сполуки формули (V) є відомими з WO 01/58907, WO 01/25242, або WO 02/76990 або можуть бути отриманими відомими способами, що спеціалісту треба розуміти.

Наприклад, сполуки формули (V), та тим самим сполуки формули (VI), можуть бути отриманими, як показано у схемі 3:

Схема 3



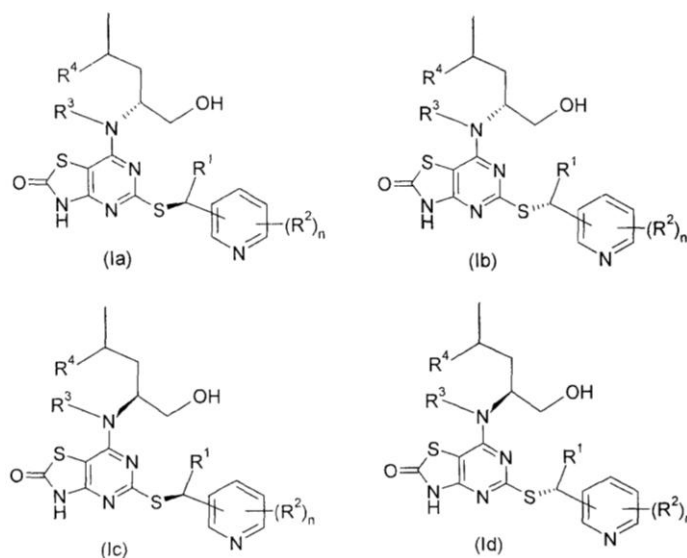
Придатні способи отримання сполук формул (II), (III), (IV), (V) та (VI) наведені далі у прикладах, такі способи представляють конкретні втілення способів винаходу.

Проміжні сполуки можна застосовувати як такі або у захищеній формі. Придатні захисні групи та способи додавання та видалення таких груп є, загалом, добре відомими у рівні техніки. Дивись, наприклад, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd Edition (1999) by Greene та Wuts.

Сполуки формули (I) можуть існувати у стереоізомерних формах. Тому, усі енантіомери, діас-

тереомери, рацемати та їх суміші є охоплені рамками винаходу. Різні оптичні ізомери можна виділяти розділенням стереоізомерної суміші сполук звичайними способами, наприклад, фракційною кристалізацією або ВЕРХ. Альтернативно, різні оптичні ізомери можуть бути отриманими безпосередньо з оптично активних вихідних матеріалів.

Сполуки формули (I) містять два стереогенні центри та можуть тому існувати у чотирьох окремих стереоізомерних формах, як показано у формулах (Ia)-(Id)



Усі такі чотири стереоізомери та будь-які їх суміші є охоплені рамками винаходу. В одному втіленні, сполуки формули (I) мають стереохімію, показану у формулі (Ia). У ще одному втіленні,

сполуки формули (I) мають стереохімію, показану у формулі (Ib).

Проміжні сполуки можуть також існувати у стереоізомерних формах та їх можна застосовува-

ти як очищені енантіомери, діастереомери, рацемати або суміші.

У цьому описі термін "C<sub>1-6</sub>алкіл" охоплює як нерозгалужений, так і розгалужений ланцюг а також циклічні алкіли. C<sub>1-6</sub>алкіл, що має 1-6 атомів карбону та може означати, але без обмеження, метил, етил, н-пропіл, і-пропіл, н-бутил, і-бутил, втор-бутил, т-бутил, н-пентил, і-пентил, т-пентил, нео-пентил, н-гексил, і-гексил або циклогексил.

У цьому описі термін "галоген" стосується флуору, хлору, бром та йоду.

Сполуки формули (I), та їх фармацевтично прийнятні солі є корисними, оскільки вони виявляють фармакологічну активність як антагоністи рецептору CX3CR1. Зокрема, при порівнянні зі сполуками, конкретно представленими у WO 01/25242, сполуки формули (I) заявленого винаходу виявляють значно поліпшену ефективність стосовно інгібування рецептору CX3CR1 та/або зменшену ефективність стосовно інгібування рецептору CX3CR2. Кращі сполуки заявленого винаходу виявляють поліпшену ефективність стосовно інгібування CX<sub>3</sub>CR1 та зменшену ефективність стосовно інгібування CXCR2.

В одному аспекті заявлений винахід розкриває сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль для застосування як медикаменту.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики хвороб або станів, у котрих антагонізм рецептору CX3CR1 є цілющим.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики нейродегенеративних розладів, демієлінізувальної хвороби, серцево- та церебрально-васкулярних атеросклеротичних розладів, хвороби периферійних артерій, ревматоїдного артриту, хвороб легень, як-то COPD, астма або біль.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики розсіяного склерозу (MS).

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики атеросклерозу попередженням та/або зменшенням утворення нових атеросклеротичних уражень або бляшок та/або попередженням або уповільненням прогресування існуючих уражень та бляшок.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві медикаменту для лікування або профілактики атеросклерозу зміною складу бляшок для зменшення ризику руйнування бляшок та випадків атеротромбозу.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі у виробництві

медикаменту для лікування або профілактики інсульту або тимчасового пошкодження мозку (TBI).

Згідно з винаходом також розкрито спосіб лікування або зменшення ризику хвороб або станів, у котрих антагонізм рецептору CX3CR1 є цілющим, котрий полягає у застосуванні до особи, яка потерпає від вказаної хвороби або стану або при її ризику, терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі.

Також розкрито спосіб лікування або зменшення ризику нейродегенеративних розладів, демієлінізувальної хвороби, серцево- та церебрально-васкулярних атеросклеротичних розладів, хвороби периферійних артерій, ревматоїдного артриту, хвороб легень, як-то COPD, астма або біль, у особи яка потерпає від вказаної хвороби або стану або при її ризику, де спосіб полягає у застосуванні до особи терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі.

Також розкрито спосіб лікування або зменшення ризику розсіяного склерозу (MS) у особи, яка потерпає від вказаної хвороби або стану або при її ризику, де спосіб полягає у застосуванні до особи терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі.

Також розкрито спосіб лікування або зменшення ризику атеросклерозу попередженням та/або зменшенням утворення нових атеросклеротичних уражень або бляшок та /або попередженням або уповільненням прогресування існуючих уражень та бляшок у особи, яка потерпає від вказаної хвороби або стану або при її ризику, де спосіб полягає у застосуванні до особи терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі.

Також розкрито спосіб лікування або зменшення ризику атеросклерозу зміною складу бляшок, щоб зменшити ризик руйнування бляшок та випадків атеротромбозу у особи, яка потерпає від вказаної хвороби або стану або при її ризику, де спосіб полягає у застосуванні до особи терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває фармацевтичну композицію, що містить терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі у суміші з фармацевтично прийнятим ад'ювантом, розріджувачем або носієм, для застосування у лікуванні або профілактиці хвороб або станів, у котрих антагонізм рецептору CX3CR1 є цілющим.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває фармацевтичну композицію, що містить терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі у суміші з фармацевтично прийнятим ад'ювантом, розріджувачем або носієм, для застосування у лікуванні або профілактиці нейродегенеративних розладів, демієлінізувальної хвороби, серцево- та церебрально-васкулярних атеросклеротичних розладів, хвороби периферійних артерій, ревматоїдного артриту, COPD, астма або біль.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває фармацевтичну композицію, що містить те-

рапевтично ефективну кількість сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі у суміші з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем або носієм, для застосування у лікуванні або профілактиці розсіяного склерозу.

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває фармацевтичну композицію, що містить терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі у суміші з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем або носієм, для застосування у лікуванні або профілактиці атеросклерозу попередженням та зменшення утворення нових атеросклеротичних уражень та/або бляшок та/або попередженням або уповільненням прогресування існуючих уражень та бляшок.

Сполуки можна застосовувати як монотерапію, або у комбінації, як профілактичне або терапевтичне лікування запальних хвороб або станів центральної нервової системи, як-то інсульт та тимчасове пошкодження мозку (TBI). (Soriano et al. *J. Neuroimmunology* 2002, 125, 59-65).

У ще одному аспекті заявлений винахід розкриває фармацевтичну композицію, що містить терапевтично ефективну кількість сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі у суміші з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем або носієм, для застосування у лікуванні або профілактиці атеросклерозу зміною складу бляшок, щоб зменшити ризик руйнування бляшок та випадків атеротромбозу.

Сполуки формули (I) та їх фармацевтично прийнятні солі показані для застосування у лікуванні або профілактиці хвороб або станів, у котрих модуляція активності стосовно рецептору CX3CR1 є потрібною. Зокрема, сполуки показані для застосування у лікуванні нейродегенеративних розладів або демієлінізувальної хвороби у ссавців, у тому числі людини. Більш конкретно, сполуки показані для застосування у лікуванні розсіяного склерозу. Сполуки також показані як корисні у лікуванні болю, ревматоїдного артриту, остеоартриту, серцево- та церебрально-васкулярних атеросклеротичних розладів, хвороби периферійних артерій та легеневої артеріальної гіпертензії.

Станами, що можна конкретно згадати, є: нейродегенеративні хвороби та розлади з деменцією, наприклад, хвороба Альцгеймера, бічний аміотрофічний склероз та інші хвороби моторних нейронів, хвороба Крейтцфельда-Якоба та інші пріонні хвороби, ВІЛ-енцефалопатія, хвороба Хантингтона, лобно-скронева деменція, деменція з тількими Леві та мультіінфарктна деменція; поліневропатії, наприклад, мієлополірадикулоневрит, хронічна запальна демієлінізувальна полірадикулоневропатія, багатофокальна моторна невропатія та плексопатії; демієлінізація центральної нервової системи, наприклад, гострий розсіяний/геморагічний енцефаломієліт та підгострий склерозувальний паненцефаліт; нейром'язові розлади, наприклад, бульбоспинальний параліч та синдром Лабберта-Ітона; спінальні розлади, наприклад, тропічний спастичний парепарез та синдром тугорухливості чоловіків; паранеопластичні синдроми, наприклад, мозочкова дегенерація та

енцефаломієліт; травматичне пошкодження мозку; мігрень; рак; відторгнення алотрансплантату, системний склероз, вірусні інфекції; передавані паразитами хвороби, наприклад, малярія; періодонтальна хвороба; інфаркт міокарду; інсульт; коронарна серцева хвороба; ішемічна серцева хвороба; рестеноз; ревматоїдний артрит; хвороби легень, як-то COPD; астма або біль.

Сполуки винаходу також показані для застосування у лікуванні атеросклерозу попередженням та/або зменшенням утворення нових атеросклеротичних уражень або бляшок та/або попередженням або уповільненням прогресування існуючих уражень та бляшок.

Сполуки винаходу також показані для застосування у лікуванні атеросклерозу зміною складу бляшок, щоб зменшити ризик руйнування бляшок та випадків атеротромбозу.

Сполуки винаходу також показані для застосування у лікуванні запальної хвороби кишечника (IBD), як-то хвороба Крона та виразковий коліт, індукуванням ремісії та/або підтриманням ремісії IBD.

Профілактика, як очікують, буде особливо релевантною стосовно лікування осіб, які раніше потерпали від такої хвороби або стану або мають збільшений ризик захворіти. Особи з ризиком розвитку конкретної хвороби або стану загалом охоплюють осіб, які мають родинну історію хвороби або стану, або осіб, які ідентифіковані генетичним тестуванням або скринінгом як особливо схильні до розвитку хвороби або стану.

Для вищезгаданих терапевтичних показань застосовуване дозування повинне, безумовно, варіювати залежно від застосовуваної сполуки, режиму застосування та потрібного лікування.

Однак, загалом, задовільні результати отримують, коли сполуки застосовують при дозуванні твердої форми у межах 1 мг - 2000 мг на добу.

Сполуки формули (I) та їх фармацевтично прийнятні похідні можна застосовувати самі по собі або у формі прийнятної фармацевтичної композиції, у котрій сполука або похідне є у суміші з фармацевтично прийнятним ад'ювантом, розріджувачем або носієм. Застосування може бути, але без обмеження, ентеральним (у тому числі пероральним, сублінгвальним або ректальним), інтраназальним, внутрішньовенним, місцевим або іншим парентеральним. Звичайні способи відбору та отримання придатних фармацевтичних композицій описані, наприклад, у "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988. Фармацевтична композиція переважно містить менше 80% та більш переважно менше 50% сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі.

Також розкрито спосіб отримання такої фармацевтичної композиції, спосіб полягає у змішуванні складових.

Заявлений винахід крім того розкриває комбінаційну терапію, де сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль чи фармацевтичну композицію або композицію, що містить сполуку формули (I), застосовують одночасно або послідовно з терапією та/або засобом для лікування будь-



чого з серцево- та церебрально-васкулярних атеросклеротичних розладів та хвороб периферійних артерій.

Зокрема, сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль можна застосовувати в асоціації зі сполуками з одної або більше наступних груп:

- 1) антизапальні засоби, наприклад,
  - а) NSAID (наприклад, ацетилсаліцилова кислота, ібупрофен, напроксен, флурбіпрофен, диклофенак, індометацин);
  - б) інгібітори синтезу лейкотриєну (інгібітори 5-LO, наприклад, AZD4407, зилейтон, лікофелон, CJ13610, CJ13454; інгібітори FLAP, наприклад, BAY-Y-1015, DG-031, MK591, MK886, A81834; інгібітори гідролази LTA4, наприклад, SC56938, SC57461A);
  - с) антагоністи рецептору лейкотриєну; (наприклад, CP195543, амелубант, LY293111, аколлат, MK571);
- 2) антигіпертензивні засоби, наприклад,
  - а) бета-блокатори (наприклад, метопролол, атенолол, соталол);
  - б) інгібітори ферменту перетворення ангіотензину (наприклад, каптоприл, раміприл, квінаприл, еналаприл);
  - с) блокатори каналу кальцію (наприклад, верапаміл, дилтіазем, фелодипін, амлодипін);
  - д) антагоністи рецептору ангіотензину II (наприклад, ірбесартан, кандесартан, телмісартан, лосартан);
- 3) антикоагулянти, наприклад,
  - а) інгібітори тромбіну (наприклад, ксимелагатран), гепарини, інгібітори фактору Ха;
  - б) інгібітори агрегації тромбоцитів (наприклад, клопідогрель, тиклопідин, прасугель, AZ4160);
- 4) модулятори метаболізму ліпідів, наприклад,
  - а) сенсibiliзатори інсуліну, як-то агоністи PPAR (наприклад, піоглітазон, розиглітазон, Галіда, мураглітазаар, гефемрозил, фенофібрат);
  - б) Інгібітори редуктази HMG-CoA, статини (наприклад, симвастатин, правастатин, аторвастатин, розувастатин, флувастатин, пітавастатин);
  - с) інгібітори поглинання холестерину (наприклад, езетиміб);
  - д) інгібітори IBAT (наприклад, AZD-7806);
  - е) агоністи LXR (наприклад, GW-683965A, T-0901317);
  - ф) модулятори рецептору FXR;
  - г) інгібітори фосфоліпази;
- 5) засоби проти стенокардії, наприклад, нітрати та нітрити;
- 6) модулятори окиснювального стресу, наприклад, антиоксиданти, (пробукол), інгібітори мієлопероксидази.

Винахід ілюстровано, але без обмеження, наступними прикладами:

Загальні способи

Усі застосовувані розчинники були аналітичного гатунку та наявні у продажу безводні розчинники застосовували для реакції. Реакції звичайно перебігали в інертній атмосфері азоту або аргону.

Спектри  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР реєстрували при 400 МГц для протона та 100 МГц для карбона-13 на спектрометрі Varian Unity+ 400 ЯМР із зондом BBO

5 мм із Z-градієнтами, або спектрометрі Bruker Avance 400 ЯМР із дуальним зондом 60 мкл інверсного потоку із Z-градієнтами, або спектрометрі Bruker DPX400 ЯМР з 4-центровим зондом із Z-градієнтами. Спектри 600 МГц  $^1\text{H}$  ЯМР реєстрували на спектрометрі Bruker av600 ЯМР із зондом BBO 5 мм із Z-градієнтами. Спектри 300 МГц  $^1\text{H}$  ЯМР реєстрували на спектрометрі Varian Gemini 300 ЯМР із зондом BBO 5 мм. Якщо не показане інше у прикладах, спектри реєстрували при 400 МГц для протона та 100 МГц для карбона-13. Наступні стандартні сигнали застосовували: середня лінія DMSO- $d_6$   $\delta$  2,50 ( $^1\text{H}$ ),  $\delta$  39,51 ( $^{13}\text{C}$ ); середня лінія CD $_3$ OD  $\delta$  3,31 ( $^1\text{H}$ ) або  $\delta$  49,15 ( $^{13}\text{C}$ ); ацетон- $d_6$  2,04 ( $^1\text{H}$ ), 206,5 ( $^{13}\text{C}$ ); та CDCl $_3$   $\delta$  7,26 ( $^1\text{H}$ ), середня лінія CDCl $_3$   $\delta$  77,16 ( $^{13}\text{C}$ ) (якщо не показане інше).

Енантімерний надлишок (ен) визначали за допомогою газової хроматографії на колонці Cyclodex B (ізотермічне елювання 100°C) або на колонці Cyclosil B (градієнт температури 110-130°C). Діастереомерний надлишок (дн) визначали за допомогою ВЕРХ.

Мас-спектри реєстрували на PX-MC Waters, що складався з Alliance 2795 (PX) та одиночного квадрупольного мас-спектрометра ZQ. Мас-спектрометр мав джерело електророзпилення іонів (ESI) у режимі позитивних чи негативних іонів. Напруга на капілярі була 3 кВ та мас-спектрометр сканував при  $m/z$  100-700 з часом сканування 0,3 або 0,8 с. Розділення проводили на колонках Waters X-Terra MC, C8, (3,5 мкм, 50 або 100 мм x 2,1 мм в.д.), колонці ScantecLab's ACE 3 AQ (100 мм x 2,1 мм в.д.). Температуру колонки доводили до 40°C. Лінійний градієнт застосовували, застосовуючи систему нейтральних або кислотних мобільних фаз, при 0%-100% органічної фази у 4-5 хвилин, швидкість потоку 0,3 мл/хвил. Система нейтральної або мобільної фази: ацетонітрил/[10 mM NH $_4$ OAc (водн.)/MeCN (95:5)], або [10 mM NH $_4$ OAc (водн.)/MeCN (1/9)]/[10 mM NH $_4$ OAc (водн.)/MeCN (9/1)]. Система кислотної мобільної фази: [133 mM HCOOH (водн.)/MeCN (5/95)]/[8 mM HCOOH (водн.)/MeCN (98/2)].

Альтернативно, мас-спектри реєстрували на мас-спектрометрі Micromass LCT з джерелом електророзпилення іонів (IEP) у режимі позитивних іонів.

Ідентифікацію сполук проводили за допомогою газової хроматографії-мас-спектроскопії (GC 6890, 5973N MSD) від Agilent Technologies. Застосовуваною колонкою була VF-5 MC, ID 0,25 мм x 30 м, 0,25 мкм (Varian Inc.). Лінійний градієнт температури застосовували, починаючи при 40°C (протягом 1 хвил) та закінчуючи при 300°C (протягом 1 хвил), 25°C/хвилин. MC мав джерело іонів EI. MS сканував між  $m/z$  50-500 та швидкість сканування доводили до 3,25 сканувань/с. Напругу електронів доводили до 70 eV.

ВЕРХ аналізи проводили на системі Agilent HP1000, що складалася з мікровакуумного дегазатора G1379A, бінарного насоса G1312A, автовідбірки G1367A Wellplate, термостатованої колонки G1316A та детектора з діюдною матрицею G1315B. Колонка: X-Terra MC, Waters, 4,6x50 мм, 3,5 мкм. Температуру колонки доводили до 40°C

та швидкість потоку до 1,5 мл/хвил. Детектор з діодною матрицею сканував від 210-300 нм, крок та ширину піку доводили до 2 нм та 0,05 хвил, відповідно. Лінійний градієнт застосовували від 0% до 100% ацетонітрилу, протягом 4 хвил. Мобільна фаза: ацетонітрил/10 мМ амоній ацетат у 5% ацетонітрилі у воді MilliQ.

Звичайний спосіб обробки після реакції складався з екстракції продукту розчинником, як-то етилацетат, промивання водою, а потім сушки органічної фази  $\text{MgSO}_4$  або  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , та концентрації розчину у вакуумі.

Тонко-шарову хроматографію (ТШХ) проводили на ТШХ-планшетах Merck (Silica gel 60 F<sub>254</sub>) та УФ застосовували для візуалізації плям. Флеш-хроматографію проводили на Combi Flash® Companion™ на нормально-фазових флеш-колонках RediSep™ або на Merck Silica gel 60 (0,040-0,063 мм). Звичайними розчинниками, застосовуваними для флеш-хроматографії, були суміші хлороформ/метанол, толусн/етилацетат та етилацетат/гексани.

Препаративну хроматографію проводили на автопрепаративній ВЕРХ Gilson з детектором з діодною матрицею на колонці XTerra MC (C8, 19x300 мм, 7 мкм), та градієнт із ацетонітрил/0,1М амоній ацетат у 5% ацетонітрилу у воді MilliQ, від 20% до 60% ацетонітрилу, протягом 13 хвил, та швидкість потоку 20 мл/хвил., якщо не показане інше у прикладах. Альтернативно, очистка була на напівпрепаративній ВЕРХ Shimadzu PX-8A з УФ-детектором Shimadzu SPD-10A з колонкою Waters Symmetry® (C18, 5 мм, 100 мм x 19 мм). Градієнт ацетонітрил/0,1% трифлуороцтової кислоти у воді

MilliQ, при від 35% до 60% ацетонітрилу у 20 хвил. Швидкість потоку: 10 мл/хвил.

Переكريсталізацію звичайно проводили у розчинниках або суміші розчинників, як-то етер, етилацетат/гептани та метанол/вода.

Застосовано такі скорочення: ДХМ = дихлорметан; дн = діастереомерний надлишок; DIPCl = β-хлордіізопінокамфенілборан (DIP-Хлорид™); DIPEA = N,N-діізопропілетиламін; ДМФ = N,N-диметилформамід; ДМСО = диметилсульфоксид; ен = енантіомерний надлишок; NCS = N-хлорсукцинімід; NMP = 1-метил-2-піролідинон; ТГФ = тетрагідрофуран; конц. = концентрований.

Вихідні матеріали були з комерційних джерел або отриманими літературними способами. Приклади вихідних матеріалів, що були отриманими:

(2R)-2-[(2-аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол: WO 02/076990 (Приклади 1-4);

5-(бензилтіо)-7-хлор[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2-амін: WO 00/09511 (Приклади 6 та 7);

5-Флуор-піридин-2-карбонітрил: WO 2005/066155 (Приклад 2);

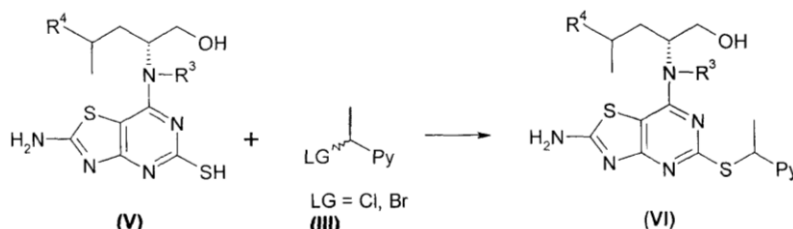
1-(3-флуорпіридин-4-іл)етанол: Marsais, F. et al. Tetrahedron 1983, 39, 2009-2021 (Приклад 3);

2-Ацетил-ізонікотинонітрил: Citterio et al. J. Chem. Res. Synopses 1982, 10, 272-273 (Приклад 5);

1-(6-Хлорпіридин-3-іл)етанон: Lee, C. et al. J. Med. Chem. 2001, 44, 2133 (Приклади 6 та 7).

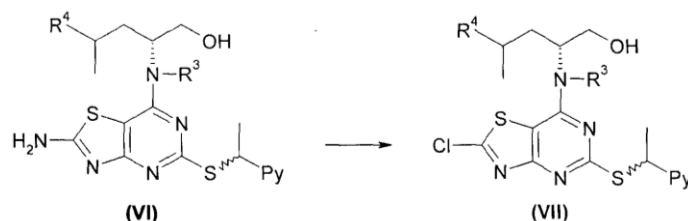
У нижченаведених загальних способах R<sup>3</sup> та R<sup>4</sup> визначені у формулі (I); Py -необов'язково заміщений піридил, а LG - відщеплювана група.

Загальний спосіб A



Натрій борогідрид (0,1 еквів.), DIPEA (1,5 еквів.) та (III) (1,2 еквів.) додавали (V) (1,0 еквів.) у ДМСО в атмосфері азоту. Утворену реакційну суміш перемішували при 40°C, доки реакція не була завершеною (за РХ-МС, ВЕРХ або ТШХ). Суміш виливали у льодяну воду та продукт екст-

Загальний спосіб B



Конц.. HCl (2,5 мл/ммоль (VI)) додавали до (VI) (1,0 еквів.) у  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Реакційну суміш охоло-

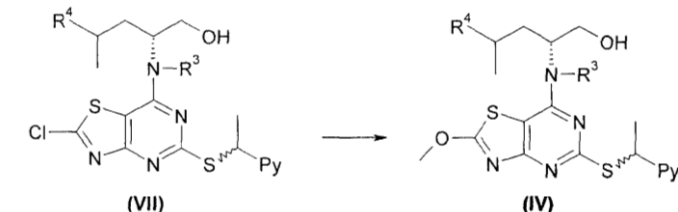
рагували ДХМ або EtOAc. Комбіновані органічні фази сушили та концентрували у вакуумі. Сирий продукт, якщо необхідно, очищали препаративною ВЕРХ або колонковою флеш-хроматографією.

джували у льодяній бані та додавали краплями натрій нітрит (2,0 еквів.) у мінімальній кількості

води. Реакційну суміш перемішували при 0°C, доки реакція не була завершеною (за РХ-МС, ВЕРХ або ТШХ) та тоді виливали у льодяну воду, нейтралізували натрій гідрогенкарбонатом та

екстрагували ДХМ або EtOAc. Комбіновані органічні фази сушили та концентрували у вакуумі, отримуючи продукт.

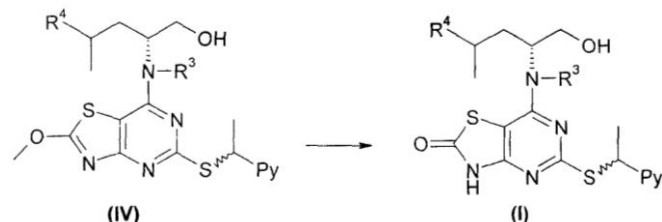
#### Загальний спосіб C



Калій гідроксид (2,0 еквів.) у метанолі додавали краплями до охолодженого (0°C) розчину (VII) (1,0 еквів.) у метанолі. Утворену суміш перемішували при 0°C, доки реакція не була завершеною

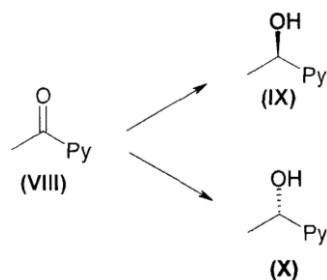
(за РХ-МС, ВЕРХ або ТШХ). Розчинник випарювали та продукт застосовували на наступному етапі без очистки.

#### Загальний спосіб D



Розчин концентрованої HCl (1,0 еквів.) додавали до охолодженого (0°C) розчину (IV) (1,0 еквів.) у 1,4-діоксані. Утворену суміш перемішували при 40°C, доки реакція не була завершеною (за РХ-МС, ВЕРХ або ТШХ). Реакційну суміш нейтралізували насиченим NaHCO<sub>3</sub> (водн) та діоксан випарювали. Залишок розчиняли у ДХМ або EtOAc, промивали розсоллом, сушили та концентрували у вакуумі. Сирий продукт, якщо необхідно, очищали препаративною ВЕРХ або колонковою флеш-хроматографією.

#### Загальний спосіб E1



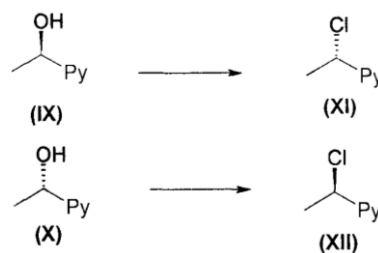
(VIII) (1,0 еквів.) у ТГФ додавали при 0°C до (+)-DIPCl (для отримання (IX)) або (-)-DIPCl (для отримання (X)) (1,5 еквів.) у ТГФ в атмосфері аргону. Реакційній суміші давали повільно досягти кімнатної температури протягом ночі. Розчинник випарювали з наступним додаванням Et<sub>2</sub>O та діетаноламіну (2,2 еквів.). Суміш перемішували, доки реакція не була завершеною (за РХ-МС, ВЕРХ або ТШХ). Осад, що утворився відфільтровували, промивали Et<sub>2</sub>O та фільтрат концентрували у вакуумі. Сирий продукт, якщо необхідно, очищали

препаративною ВЕРХ або колонковою флеш-хроматографією.

#### Загальний спосіб E2

(R)-(-)-2-метил-CBS-оксазаборолідин (1M у толуєні, 0,1-1 еквів.) розчиняли у ТГФ та охолоджували до 0°C. Комплекс боран-метилсульфід (2M у ТГФ, 1 еквів.) додавали краплями та реакційну суміш перемішували протягом 1 години. Реакційну суміш охолоджували до -10°C та (VIII) (1 еквів.), у ТГФ додавали краплями протягом 0,5 години. Утворену суміш перемішували протягом 1 години, або доки реакція не була завершеною, та температуру повільно підвищували до 10°C. 1M водн. HCl додавали для гасіння реакції. Насичений водн. NaHCO<sub>3</sub> додавали до pH приблизно 8. Продукт екстрагували ДХМ. Комбіновані органічні екстракти сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та концентрували у вакуумі, отримуючи (X). Продукт необов'язково очищали колонковою хроматографією.

#### Загальний спосіб F1



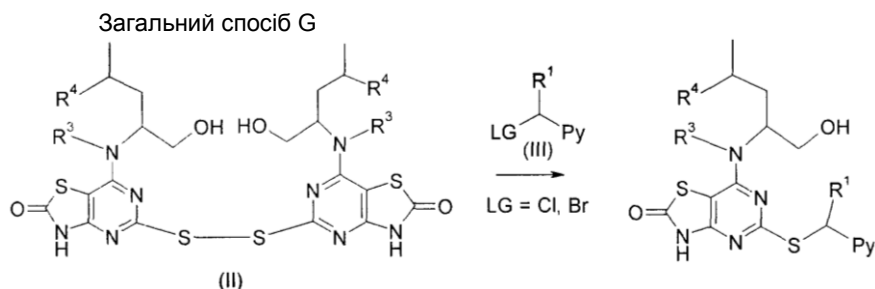
Трифенілфосфін (1,3 еквів.) у ТГФ додавали при 0°C до NCS (1,3 еквів.) у ТГФ в атмосфері аргону. Утворену суміш перемішували при температурі докілья протягом 30 хвил. (IX) або (X) (1 ек-

вів.) додавали при 0°C та реакційну суміш перемішували при температурі доквілля, доки реакція не була завершеною (за РХ-МС, ВЕРХ або ТШХ). Розчинник випарювали з наступним додаванням гексану та видаленням осаду фільтруванням. Фільтрат концентрували у вакуумі та сирий продукт, якщо необхідно, очищали препаративною ВЕРХ або колонковою флеш-хроматографією.

#### Загальний спосіб F2

Хлорангідрид ціанурової кислоти (0,6 еквів.) розчиняли в етилацетаті. ДМФ (1,5 еквів.) додава-

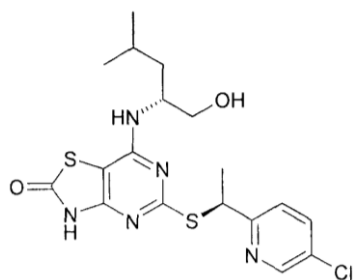
ли та суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хвил. Реакційну суміш охолоджували до 0°C. (IX) або (X) (1 еквів.) розчиняли в етилацетаті та додавали краплями протягом 10 хвил. Утворену суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Ізопропанол (приблизно 0,25 мл / ммоль (IX) або (X)) додавали. Осад відфільтровували та промивали EtOAc. Фільтрат концентрували, отримуючи (XI) або (XII).



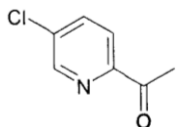
Натрій борогідрид (1-2 еквів.) додавали до (II) (1,0 еквів.) у ДМСО. Після припинення виділення газу, додавали (III) (2-2,5 еквів.). Утворену реакційну суміш перемішували при 40°C, доки реакція не була завершеною (за РХ-МС, ВЕРХ або ТШХ). Очистку, якщо необхідно, проводили препаративною ВЕРХ або колонковою флеш-хроматографією.

#### Приклад 1

5-[(1S)-1-(5-Хлорпіридин-2-іл)етил]тіо}-7-[[1(R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



a) 1-(5-Хлорпіридин-2-іл)етанол

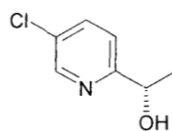


5-Хлорпіридин-2-карбонітрил (10,71 г, 77 ммоль) розчиняли у діетил-етері (65 мл) та ТГФ (35 мл) в атмосфері азоту. Суміш охолоджували до температури -63°C. Метил магній бромід (3М у ТГФ, 35 мл, 105 ммоль) додавали протягом 30 хвил. Реакційну суміш тоді перемішували при -60°C протягом 45 хвил та тоді нагрівали до кімнатної температури. 50 мл ТГФ додавали для розчинення будь-якого осадженого матеріалу. Через 1 годину при кімнатній температурі реакцію переви-

ряли на завершеність за допомогою ВЕРХ. 2М хлоридну кислоту (водн., 100 мл) додавали та реакційну суміш перемішували протягом 4 годин. рН доводили до 7 натрій гідрогенкарбонатом. Фази розділяли та продукт екстрагували з водної фази двічі ДХМ. Комбіновані органічні екстракти сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі. Продукт очищали колонковою хроматографією (елюент гептан: етилацетат градієнт), отримуючи 7,9 г (64% виходу) заголовної сполуки.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ мн<sup>-1</sup> 8,62 (m, 1H); 8,00 (m, 1H); 7,80 (m, 1H); 2,70 (s, 3H).

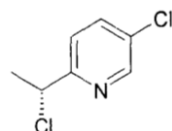
b) (1S)-1-(5-Хлорпіридин-2-іл)етанол



Заголовну сполуку отримували загальним способом E2, починаючи з 1-(5-хлорпіридин-2-іл)етанону (780 мг, 5 ммоль). Очистка колонковою флеш-хроматографією дала 695 мг (88% виходу) заголовної сполуки із 92% ен.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 8,47 (s, 1H); 7,65 (d, 1H); 7,26 (d, 1H); 4,87 (q, 1H); 3,87 (br s, 1H); 1,47 (d, 3H); МС (ІЕР) m/z 140 та 142 [M+1]<sup>+</sup>.

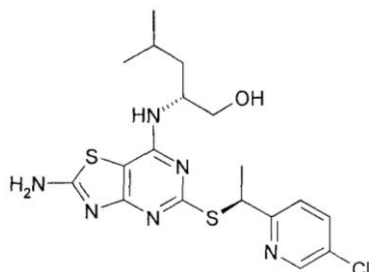
c) 5-Хлор-2-[(1R)-1-хлоретил]піридин



Заголовну сполуку отримували загальним способом F2, починаючи з (1S)-1-(5-хлорпіридин-2-іл)етанолу (695 мг, 4,41 ммоль). Сирий продукт застосовували на наступному етапі без очистки.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  млн $^{-1}$  8,46 (d, 1H), 7,64 (dd, 1H), 7,41 (d, 1H), 5,08 (q, 1H), 1,80 (d, 3H); МС (ІЕР)  $m/z$  176 та 178  $[\text{M}+1]^+$ .

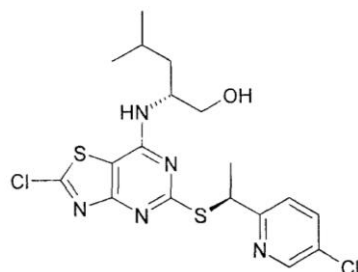
d) (2R)-2-[(2-аміно-5-[(1S)-1-(5-хлорпіридин-2-іл)етил]тіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували загальним способом А, починаючи з (2R)-2-[(2-аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (823 мг, 2,75 ммоль) та 5-хлор-2-[(1R)-1-хлоретил]піридин (<4,4 ммоль). Очистка колонковою флеш-хроматографією (елюент ДХМ: метанол градієнт) дала 350 мг (30% виходу) заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  млн $^{-1}$  8,49 (d, 1H), 7,79 (dd, 1H), 7,66 (d, 1H), 5,22 (q, 1H), 4,46 (br s, 1H), 3,40-3,57 (m, 2H), 1,66-1,78 (m, 4H), 1,40-1,61 (m, 2H), 0,93-1,03 (m, 6H); МС (ІЕР)  $m/z$  439 та 441  $[\text{M}+1]^+$ .

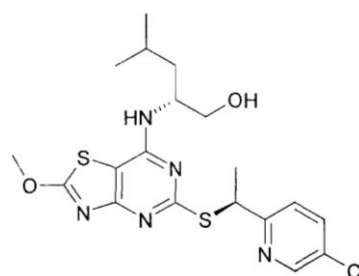
e) (2R)-2-[(2-Хлор-5-[(1S)-1-(5-хлорпіридин-2-іл)етил]тіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували загальним способом В, починаючи з (2R)-2-[(2-аміно-5-[(1S)-1-(5-хлорпіридин-2-іл)етил]тіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (340 мг, 0,77 ммоль).

МС (ІЕР)  $m/z$  458 та 460  $[\text{M}+1]^+$ .

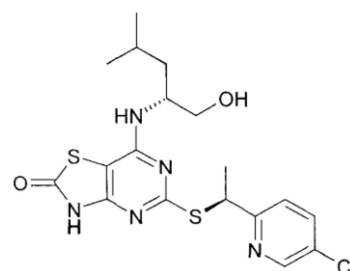
f) (2R)-2-[(5-[(1S)-1-(5-Хлорпіридин-2-іл)етил]тіо)-2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували з (2R)-2-[(2-хлор-5-[(1S)-1-(5-хлорпіридин-2-іл)етил]тіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу з попереднього етапу загальним способом С, за винятком того, що реакційну суміш гріли до 50°C протягом 1 години. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляли водою та продукт екстрагували ДХМ (чотири рази). Комбіновані органічні екстракти сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі, отримуючи заголовну сполуку, що застосовували на наступному етапі без очистки.

МС (ІЕР)  $m/z$  453 та 455  $[\text{M}+1]^+$ .

g) 5-[(1S)-1-(5-Хлорпіридин-2-іл)етил]тіо}-7-[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно[1,3]тіазоло[4,5-о]піримідин-2(3H)-он



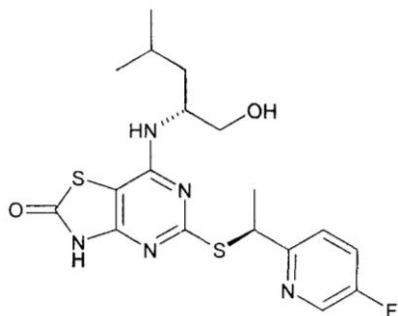
Заголовну сполуку отримували з (2R)-2-[(5-[(1S)-1-(5-хлорпіридин-2-іл)етил]тіо)-2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу з попереднього етапу загальним способом D за винятком того, що реакційну суміш перемішували при 50°C протягом 2,5 годин та тоді при кімнатній температурі протягом ночі. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляли розсолем та екстрагували ДХМ (три рази). Комбіновані органічні екстракти сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі. Продукт очищали флеш-хроматографією (елюент ДХМ: метанол градієнт), отримуючи 160 мг. Наступна очистка препаративною ВЕРХ (Колонка: Chiralcel OJ, елюент: етанол/гептан 30/70, швидкість потоку: 12 мл/хвил) дала 82 мг заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  млн $^{-1}$  8,24 (d, 1H), 7,56 (dd, 1H), 7,38 (d, 1H), 4,90 (q, 1H), 4,19 (br s, 1H), 3,16-3,30 (m, 2H), 1,39-1,51 (m, 4H), 1,15-1,34 (m, 2H), 0,68-0,76 (m, 6H);  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  млн $^{-1}$  12,36 (br s, 1H), 8,57 (d, 1H), 7,86 (dd, 1H); 7,57 (d, 1H); 7,23 (d, 1H); 5,03 (q, 1H); 4,69 (t, 1H); 4,29 (br s, 1H); 3,40-3,25 (m, 2H), 1,66 (d, 3H), 1,63-1,52 (m, 1H); 1,48-1,32 (m, 2H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d,

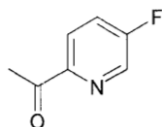
3H); MC (IEP)  $m/z$  440 та 442  $[M+1]^+$ , 438 та 440  $[M-1]^+$ .

#### Приклад 2

5-[[[(1S)-1-(5-Флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно]][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



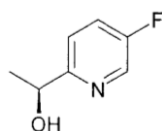
а) 1-(5-Флуорпіридин-2-іл)етанол



5-Флуор-піридин-2-карбонітрил (29 г, 240 ммоль) розчиняли у ТГФ (150 мл) в атмосфері азоту. Реакційну суміш охолоджували до температури  $-64^{\circ}\text{C}$ . Метил магній бромід (3М у ТГФ, 105 мл, 315 ммоль) додавали протягом 40 хвил. Реакційну суміш перемішували при  $-65^{\circ}\text{C}$  протягом 1,5 годин, тоді нагрівали до кімнатної температури. ТГФ (50 мл) додавали та суміш перемішували ще 3 години. 2М хлоридну кислоту (водн., 100 мл) додавали до слабкої кислотності та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Натрій гідрогенкарбонат тоді додавали для нейтралізації реакційної суміші. Фази розділяли та водну фазу екстрагували ДХМ. Комбіновані органічні екстракти промивали розсолон, сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі. Сирий продукт очищали колонковою флеш-хроматографією, отримуючи 18 г (55% виходу) заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,50 (m, 1H); 8,10 (m, 1H); 7,52 (m, 1H); 2,70 (s, 3H).

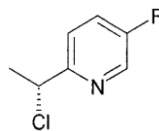
б) (1S)-1-(5-Флуорпіридин-2-іл)етанол



Заголовну сполуку отримували загальним способом E2, починаючи з 1-(5-флуорпіридин-2-іл)етанолу (3,18 г, 22,9 ммоль). Очистка колонковою флеш-хроматографією дала 2,73 г (84% виходу) заголовної сполуки із 84% ен.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,38 (m, 1H); 7,5-7,2 (m, 2H); 4,89 (q, 1H); 3,9 (br s, 1H); 1,49 (d, 3H).

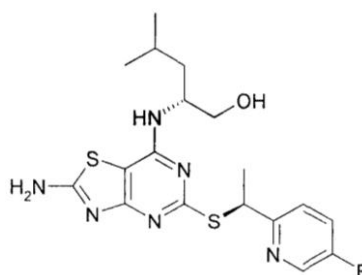
с) 2-[(1R)-1-Хлоретил]-5-флуорпіридин



Заголовну сполуку із 80% ен отримували загальним способом F2, починаючи з (1S)-1-(5-флуорпіридин-2-іл)етанолу (720 мг, 5,1 ммоль) Сирий продукт застосовували на наступному етапі без очистки.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,44-8,40 (m, 1H); 7,6-7,4 (m, 2H); 5,16 (q, 1H); 1,86 (d, 3H).

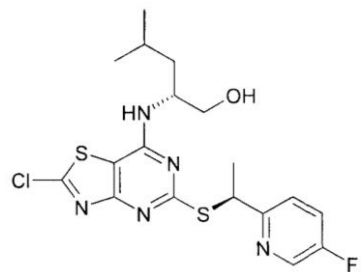
d) (2R)-2-[(2-Аміно-5-[[[(1S)-1-(5-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували загальним способом А, починаючи з (2R)-2-[(2-аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (940 мг, 3,1 ммоль) та 2-[(1R)-1-хлоретил]-5-флуорпіридину (0,81 г, 5,1 ммоль). Продукт очищали колонковою флеш-хроматографією, отримуючи 0,75 г (56% виходу) заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  млн $^{-1}$  8,51 (d, 1H), 7,98 (s, 2H), 7,65 (dt, 1H); 7,58 (dd, 1H), 6,88 (d, 1H); 5,12 (q, 1H); 4,66 (t, 1H); 4,27 (br s, 1H); 3,41-3,27 (m, 2H), 1,66 (d, 3H), 1,65-1,55 (m, 1H); 1,48-1,35 (m, 2H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d, 3H); MC (IEP)  $m/z$  423  $[M+1]^+$ .

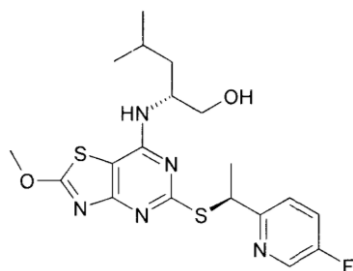
e) (2R)-2-[(2-Хлор-5-[[[(1S)-1-(5-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували загальним способом В, починаючи з (2R)-2-[(2-аміно-5-[[[(1S)-1-(5-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (750 мг, 1,77 ммоль).

MC (IEP)  $m/z$  442 та 444  $[M+1]^+$ .

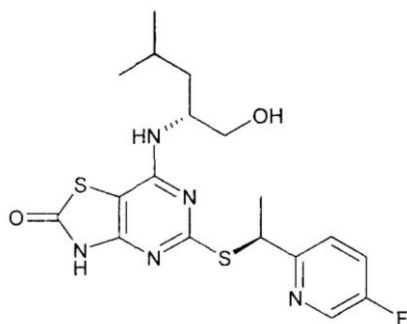
f) (2R)-2-[(5-[(1S)-1-(5-Флуорпіридин-2-іл)етил]тіо)-2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували з (2R)-2-[(2-хлор-5-[(1S)-1-(5-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу з попереднього етапу загальним способом С, за винятком того, що реакційну суміш гріли до 50°C протягом 1,5 годин. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляли водою та розсолем та продукт екстрагували хлороформом (три рази). Комбіновані органічні екстракти сушили магній сульфатом та концентрували у вакуумі, отримуючи заголовну сполуку, що застосовували без очистки.

МС (ІЕР)  $m/z$  438  $[M+1]^+$ .

g) 5-[(1S)-1-(5-Флуорпіридин-2-іл)етил]тіо)-7-[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



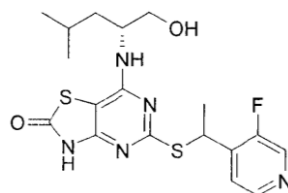
Заголовну сполуку отримували з (2R)-2-[(5-[(1S)-1-(5-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо)-2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу з попереднього етапу загальним способом D, за винятком того, що реакційну суміш перемішували при 50°C протягом 3 годин. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляли розсолем та екстрагували ДХМ (три рази). Комбіновані органічні екстракти сушили магній сульфатом та концентрували у вакуумі. Продукт очищали флеш-хроматографією (елюент ДХМ: метанол градієнт). Наступна очистка препаративною ВЕРХ (колонка Chiralcel OJ, елюент: етанол, швидкість потоку: 8 мл/хвил) дала 113 мг заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  млн $^{-1}$  8,19 (d, 1H), 7,46 (dd, 1H), 7,36 (dt, 1H), 4,97 (q, 1H), 4,26 (brs 1H), 3,23-3,34 (m, 2H), 1,44-1,55 (m, 4H), 1,19-1,37 (m, 2H), 0,75 (dd, 6H);  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  млн $^{-1}$  12,36 (br

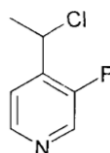
s, 1H), 8,52 (d, 1H), 7,66 (dt, 1H); 7,60 (dd, 1H), 7,23 (d, 1H); 5,07 (q, 1H); 4,69 (t, 1H); 4,30 (br s, 1H); 3,40-3,26 (m, 2H), 1,67 (d, 3H), 1,64-1,53 (m, 1H); 1,48-1,33 (m, 2H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d, 3H); МС (ІЕР)  $m/z$  424  $[M+1]^+$ .

Приклад 3

5-[(1-(3-Флуорпіридин-4-іл)етил]тіо)-7-[(1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



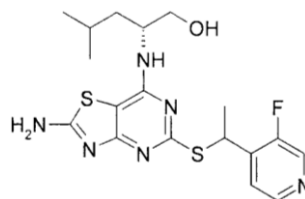
а) 4-(1-Хлоретил)-3-флуорпіридин



1-(3-флуорпіридин-4-іл)етанолу (0,8 г, 5,7 ммоль) обробляли тіонілхлоридом (5 мл) та утворену суміш гріли до 80°C протягом 2 годин. Вод (10 мл) та насич. натрій гідрогенкарбонат (водн., 10 мл) додавали. Продукт екстрагували ДХМ (три рази). Комбіновані органічні екстракти промивали розсолем, сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі. Сирий продукт очищали колонковою флеш-хроматографією (елюент гептан: етилацетат градієнт), отримуючи 0,36 г (39% виходу) заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ) 8,45 (m, 2H), 7,50 (m, 1H), 5,34 (q, 1H), 1,83 (d, 3H).

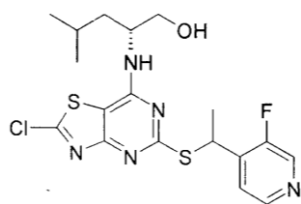
б) (2R)-2-[(2-Аміно-5-[(1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил]тіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку (370 мг, 47% виходу) отримували загальним способом А, починаючи з (2R)-2-[(2-аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (560 мг, 1,87 ммоль).

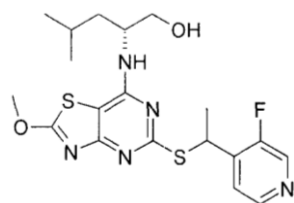
МС (ІЕР)  $m/z$  423  $[M+1]^+$ .

с) (2R)-2-[(2-Хлор-5-[(1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил]тіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



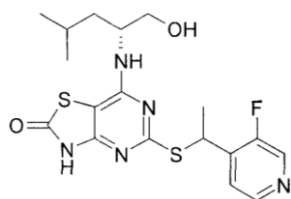
Заголовну сполуку отримували загальним способом В, починаючи з (2R)-2-[(2-аміно-5-[[1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил]тіо][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (370 мг, 0,84 ммоль).

d) (2R)-2-[(5-[[1-(3-Флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували з (2R)-2-[(2-хлор-5-[[1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил]тіо][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу з попереднього етапу загальним способом С, за винятком того, що реакційну суміш гріли до 50°C протягом 1,5 годин. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляли водою та розсолем (1:1) та продукт екстрагували ДХМ (двічі). рН води фаз тоді доводили до 7 амоній хлоридом та продукт екстрагували ДХМ (двічі). Комбіновані органічні екстракти сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі, отримуючи заголовну сполуку.

е) 5-[[1-(3-Флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-7-[[1(R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он

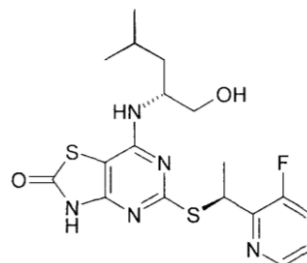


Заголовну сполуку отримували, починаючи з (2R)-2-[(5-[[1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу з попереднього етапу загальним способом D, за винятком того, що реакційну суміш перемішували при 50°C протягом 2 годин. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляли насич. водн. натрій гідрогенкарбонатом та водою (1:1) та екстрагували ДХМ (три рази). Комбіновані органічні екстракти сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі. Продукт очищали колонковою флеш-хроматографією (елюент гептан:етилацетат градієнт), отримуючи заголовну сполуку як суміш діастереомерів (194 мг).

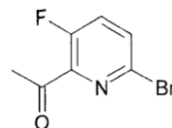
МС (IEP)  $m/z$  424  $[M+1]^+$ .

Приклад 4

5-[[1(S)-1-(3-Флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]-7-[[1(R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



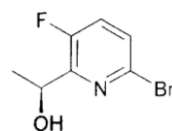
а) 1-(6-Бром-3-флуор-піридин-2-іл)етанол



2-Бром-5-флуор-піридин (11 г, 62,5 ммоль) розчиняли у діетил-етері при кімнатній температурі в атмосфері азоту. Реакційну суміш охолоджували до температури -66°C. Бутиллітій (2,5 М у гексані, 26 мл, 65 ммоль) додавали краплями протягом 0,5 годин. Утворену реакційну суміш залишали при -65°C протягом 1 години. N,N-диметилацетамід (6,5 мл, 70 ммоль) додавали протягом 10 хвил. та реакційну суміш перемішували при -65°C протягом 2 годин. 1М водну хлоридну кислоту (50 мл) додавали та суміш нагрівали до кімнатної температури. рН доводили до 7 додатковою хлоридною кислотою. Водну фазу екстрагували діетил-етером три рази. Комбіновані органічні фази промивали розсолем, сушили натрій сульфатом, та концентрували у вакуумі. Очистка колонковою флеш-хроматографією (елюент гептан:діетил-етер градієнт) дала 4,6 г (34% виходу) заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 8,0-7,8 (m, 2H); 2,57 (s, 3H); МС (IEP)  $m/z$  218 та 220  $[M+1]^+$ .

б) 1(S)-1-(6-Бром-3-флуор-піридин-2-іл)етанол

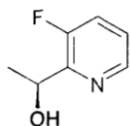


Заголовну сполуку отримували загальним способом E2, починаючи з 1-(6-бром-3-флуор-піридин-2-іл)етанолу (1,76 г, 8,19 ммоль). Продукт очищали колонковою флеш-хроматографією (елюент: гептан: етилацетат градієнт), отримуючи 1,31 г (73% виходу) заголовної сполуки із 80% ен.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ) 7,38 (m, 1H); 7,26 (m, 1H); 5,06 (q, 1H); 3,38 (br s, 1H); 1,47 (d, 3H); МС (IEP)  $m/z$  220 та 222  $[M+1]^+$ ,  $m/z$  202  $[M-H_2O]^+$ .

с) 1(S)-1-(3-Флуор-піридин-2-іл)етанол

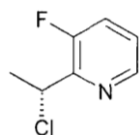




(1S)-1-(6-Бром-3-флуор-піридин-2-іл)етанол (1,3 г, 5,9 ммоль), триетиламін (1,6 мл, 11,5 ммоль) та паладій на вугіллі (0,64 г, 0,34 ммоль) змішували у ДХМ (25 мл). Колбу промивали воднем у 4 цикли та тоді залишали при 2,5 атм тиску водню при кімнатній температурі протягом 24 годин. Суміш фільтрували та твердий матеріал промивали ДХМ. Фільтрат промивали водою та розсоллом та сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі. Сирий продукт очищали колонковою флеш-хроматографією (елюент ДХМ:метанол градієнт), отримуючи 0,54 г (65% виходу) заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,38 (m, 1H); 7,39 (m, 1H); 7,26 (m, 1H); 5,11 (q, 1H); 4,16 (brs, 1H); 1,49 (d, 3H).

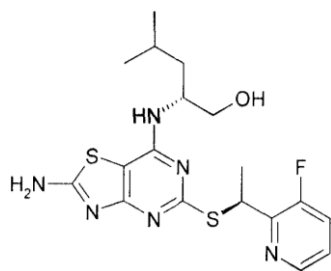
d) 2-((R)-1-Хлоретил)-3-флуор-піридин



Заголовну сполуку (0,24 г) отримували загальним способом F2, починаючи з (1S)-1-(3-флуорпіридин-2-іл)етанолу (254 мг, 1,8 ммоль).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,46 (m, 1H); 7,47 (m, 1H); 7,34 (m, 1H); 5,48 (q, 1H); 1,94 (d, 3H); MC (IEP) m/z 160 та 162  $[\text{M}+1]^+$ .

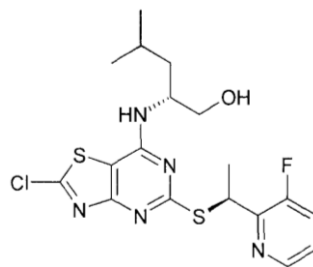
e) (2R)-2-[(2-Аміно-5-[[[(1S)-1-(3-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували загальним способом А, починаючи з (2R)-2-[(2-аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (348 мг, 1,16 ммоль) та 2-((R)-1-хлоретил)-3-флуор-піридину (240 мг, 1,5 ммоль). Очистка колонковою флеш-хроматографією (елюент ДХМ: метанол градієнт) дала 190 мг (47% виходу) заголовної сполуки з дн 60%.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  мн $^{-1}$  8,40 (dt, 1H); 7,98 (s, 2H); 7,70 (m, 1H); 7,40 (m, 1H); 6,92 (d, 1H); 5,45 (q, 1H); 4,65 (t, 1H); 4,27 (brs, 1H); 3,45-3,30 (m, 2H); 1,69 (d, 3H); 1,66-1,58 (m, 1H); 1,50-1,35 (m, 2H); 0,88 (d, 3H); 0,85 (d, 3H); MC (IEP) m/z 423  $[\text{M}+1]^+$ . MC (IEP) m/z 423  $[\text{M}+1]^+$ .

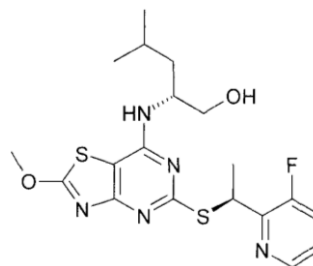
f) (2R)-2-[(2-Хлор-5-[[[(1S)-1-(3-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували загальним способом В, починаючи з (2R)-2-[(2-аміно-5-[[[(1S)-1-(3-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (135 мг, 0,32 ммоль).

MC (IEP) m/z 442 та 444  $[\text{M}+1]^+$ .

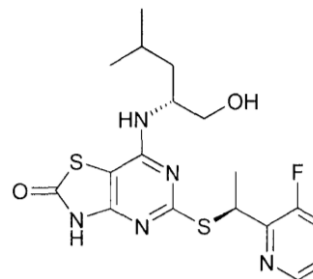
g) (2R)-2-[(5-[[[(1S)-1-(3-Флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]-2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-ол



Заголовну сполуку отримували з (2R)-2-[(2-хлор-5-[[[(1S)-1-(3-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу з наступного етапу загальним способом С, за винятком того, що реакційну суміш гріли до 50°C протягом 1,5 годин. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляли водою та розсоллом (2:1) та продукт екстрагували хлороформом (три рази). Комбіновані органічні екстракти сушили магній сульфатом та концентрували у вакуумі, отримуючи заголовну сполуку.

MC (IEP) m/z 438  $[\text{M}+1]^+$ .

h) 5-[[[(1S)-1-(3-Флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]-7-[[[(1H)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



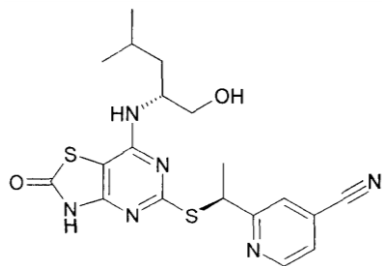
Заголовну сполуку отримували з (2R)-2-[[[(1S)-1-(3-флуорпіридин-2-іл)етил]тіо]-2-

метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу загальним способом D, за винятком того, що реакційну суміш гріли до 50°C протягом 1,5 годин. Після завершення реакції реакційну суміш розбавляли розсолем та екстрагували ДХМ (три рази). Комбіновані органічні екстракти сушили магній сульфатом та концентрували у вакуумі. Продукт очищали колонковою флеш-хроматографією (елюент ДХМ: метанол градієнт), а потім препаративною ВЕРХ, отримуючи 20 мг заголовної сполуки.

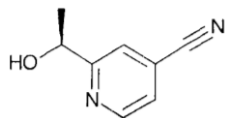
<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) δ мн<sup>-1</sup> 12,37 (br s, 1H), 8,41 (dt, 1H), 7,72 (m, 1H); 7,42 (m, 1H); 7,27 (br s, 1H); 5,43 (q, 1H); 4,67 (t, 1H); 4,30 (br s, 1H); 3,44-3,30 (m, 2H), 1,70 (d, 3H), 1,65-1,55 (m, 1H); 1,52-1,32 (m, 2H), 0,89 (d, 3H), 0,86 (d, 3H); МС (ІЕР) m/z 424 [M+1]<sup>+</sup>.

Приклад 5

2-((1S)-1-((7-((1R)-1-(Гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно)-2-оксо-2,3-дигідро[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-5-іл)тіо)етил)ізонікотинітрил



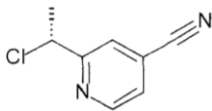
а) 2-((S)-1-Гідрокси-етил)-ізонікотинітрил



Заголовну сполуку (1,13 г, 7,63 ммоль) отримували загальним способом E1, починаючи з 2-ацетил-ізонікотинітрилу (1,42 г, 9,72 ммоль) та (-)-DIPCI (4,67 г, 14,57 ммоль).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,72 (d, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,44 (dd, 1H), 4,96 (q, 1H), 1,54 (d, 3H).

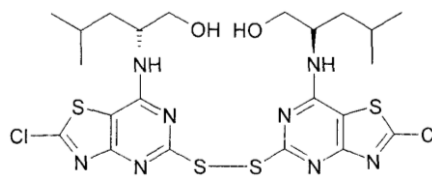
б) 2-((R)-1-Хлор-етил)-ізонікотинітрил



Заголовну сполуку (32,2 мг, 0,19 ммоль) отримували загальним способом F1, починаючи з 2-((S)-1-гідрокси-етил)-ізонікотинітрилу (400 мг, 2,7 ммоль).

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,74 (d, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,46 (dd, 1H), 5,16 (q, 1H), 1,88 (d, 3H).

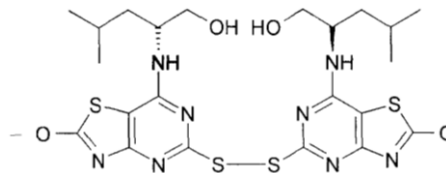
с) (2R)-2-{2-Хлор-5-[2-хлор-7-((1R)-1-гідроксиметил-3-метил-бутиламіно)-тіазоло[4,5-d]піримідин-5-ілдисульфаніл]-тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іламіно}-4-метил-пентан-1-ол



Натрій нітрит (5,19 г, 75 ммоль) у воді (25 мл) додавали краплями при 0°C до (2R)-2-[[2-аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]-4-метилпентан-1-олу (7,50 г, 25 ммоль) у конц. хлоридній кислоті (150 мл) та ацетонітрилі (150 мл). Реакційну суміш перемішували протягом 18 годин при 0-5°C, та тоді виливали на лід (500 мл), та екстрагували етилацетатом. Будь-який залишковий твердий матеріал відфільтровували. Комбіновані органічні фази промивали послідовно розсолем та насиченим водним розчином натрій гідрогенкарбонату. Органічну фазу сушили та випарювали та попередньо відфільтрований твердий матеріал додавали до цього. Загальний твердий матеріал суспендували в етилацетаті, що після фільтрування дало заголовну сполуку (6,3 г, 80% виходу).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,25 (d, 2H), 4,19 (m, 2H), 3,35 (m, 4H), 1,40 (m, 4H), 1,21 (m, 2H), 0,68 (d, 6H), 0,51 (d, 6H); МС (ІЕР) m/z 635 [M+1]<sup>+</sup>.

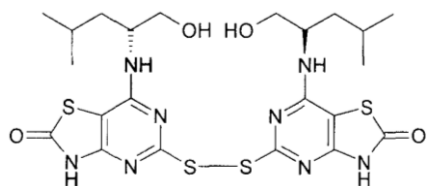
д) (2R)-2-{5-[7-((1H)-1-Гідроксиметил-3-метил-бутиламіно)-2-метокси-тіазоло[4,5-d]піримідин-5-ілдисульфаніл]-2-метокси-тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іламіно}-4-метил-пентан-1-ол



Калій гідроксид (0,53 г, 9,4 ммоль) у метанолі (5 мл) додавали при 0°C до розчину (2R)-2-{2-хлор-5-[2-хлор-7-((1R)-1-гідроксиметил-3-метил-бутиламіно)-тіазоло[4,5-d]піримідин-5-ілдисульфаніл]-тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іламіно}-4-метил-пентан-1-олу (3,0 г, 4,7 ммоль) у метанолі (200 мл). Реакційну суміш тримали при 0-5°C протягом 18 годин. Розчинник випарювали та залишок переносили у метанол/етилацетат (1:1). Цей розчин швидко хроматографували (елюент етилацетат), отримуючи заголовну сполуку (2,0 г, 68% виходу).

МС (ІЕР) m/z 627 [M+1]<sup>+</sup>.

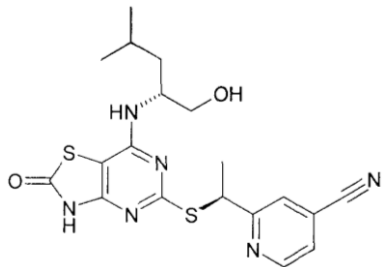
е) 5-[7-((1R)-1-(Гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно]-[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он-5-ілдисульфаніл]-7-((1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



Суміш конц. хлоридної кислоти (20 мл) та води (20 мл) додавали до розчину (2R)-2-{5-[7-((1R)-1-гідроксиметил-3-метил-бутиламіно)-2-метокси-тіазоло[4,5-d]піримідин-5-ілдисульфаніл]-2-метокси-тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іламіно}-4-метил-пентан-1-олу (1,5 г, 2,4 ммоль) у 1,4-діоксані (20 мл). Розчин тоді перемішували при 45°C протягом 18 годин. Розчинник випарювали та залишок переносили в етилацетат. Будь-який нерозчинений залишок збирали фільтруванням. Фільтрат піддавали колонковій флеш-хроматографії (елюент етилацетат: метанол 95:5). Твердий залишок та продукт, зібраний від хроматографії поєднували разом, отримуючи загальну сполуку (600 мг, 42% виходу).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,45 (s, 2H), 7,33 (d, 2H), 4,62 (t, 2H), 4,17 (br s, 2H), 1,48-1,31 (m, 4H), 1,25-1,14 (m, 2H), 0,72 (d, 6H), 0,56 (d, 6H); МС (ІЕР) m/z 599 [M+1]<sup>+</sup>.

f) 2-((1S)-1-((7-((1R)-1-(Гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно)-2-оксо-2,3-дігідро[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-5-іл)тіо)етилізонікотинонітрил

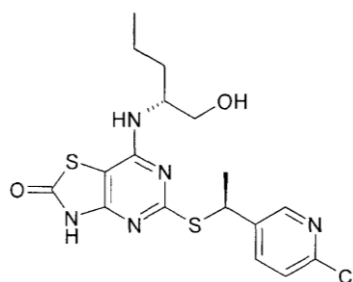


Заголовну сполуку отримували загальним способом G з додаванням DIPEA (2 еквів.), починаючи з 5,5'-дитіобіс[7-((1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил)аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-ону (64 мг, 0,096 ммоль) та 2-((R)-1-хлоретил)-ізонікотинонітрилу (32 мг, 0,192 ммоль), загальну сполуку (39 мг) отримували як діастереомерну суміш. Очистка препаративною ВЕРХ (Колонка: Kromasil-C18) дала 15 мг (36% виходу) загальної сполуки із 98% дн.

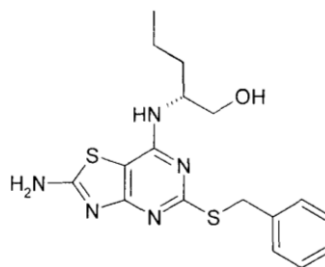
<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,71 (d, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,56 (d, 1H), 5,17 (q, 1H), 4,4 (s, 1H), 3,40-3,52 (m, 2H), 1,72 (d 3H), 1,60-1,71 (m 1H), 1,38-1,54 (m, 2H), 0,90-0,98 (m 6H); МС (ІЕР<sup>+</sup>) m/z 431 [M+H]<sup>+</sup>.

Приклад 6

5-((1S)-1-(6-Хлорпіридин-3-іл)етил)тіо-7-((1R)-1-(гідроксиметил)бутил)аміно[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



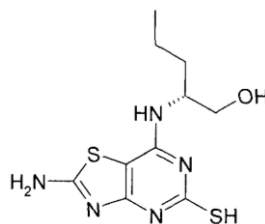
a) (2R)-2-((2-аміно-5-(бензилтіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно)пентан-1-ол



5-(Бензилтіо)-7-хлор[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2-амін (6,0 г, 19,4 ммоль) розчиняли у NMP (30 мл). DIPEA (8,4 мл, 48,5 ммоль) та додавали 2-аміно-(2R)-1-пентанол (3,5 г, 33,9 ммоль) і суміш гріли до 110°C протягом 4 доби. Після охолодження до кімнатної температури, суміш виливали у воду (200 мл). Осаджений продукт збирали фільтруванням, промивали водою та застосовували на наступному етапі без очистки (7,0 г, 97% виходу).

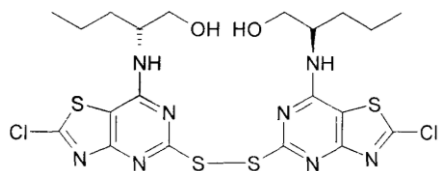
МС (ІЕР<sup>+</sup>) m/z 376 [M+H]<sup>+</sup>.

b) (2R)-2-((2-аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно)пентан-1-ол



Круглодонна колба була з холодильником сухий лід-етанол та зануреною у баню охолодження сухий лід-етанол. Аміак (250 мл) конденсували у колбу з наступним додаванням (2R)-2-((2-аміно-5-(бензилтіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно)-пентан-1-олу (6,8 г, 18,1 ммоль). Утворений суміші давали нагрітисся до -33°C та металевий натрій додавали малими шматками до появи синього кольору та його утримування протягом 30 с. Реакцію тоді гасили ложкою твердого амоній хлориду. Аміак випарювали та додавали до залишку воду (250 мл). Утворену суміш нейтралізували 1M хлоридною кислотою (водн). Осаджений продукт збирали фільтруванням, промивали водою та сушили у вакуумі, отримуючи 4,15 г (80% виходу) загальної сполуки.

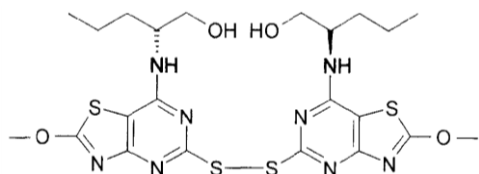
MC(IEP<sup>+</sup>)m/z286[M+H]<sup>+</sup>.  
 c) (2R)-2-{2-хлор-5-[2-хлор-7-((1R)-1-гідроксиметилбутиламіно)-тіазоло[4,5-d]піримідин-5-ілдисульфаніл]-тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іламіно}-пентан-1-ол



(2R)-2-[(2-аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)аміно]пентан-1-ол (4,0 г, 14 ммоль) розчиняли в ацетонітрилі (100 мл) та концентрованої хлоридній кислоті (150 мл). Натрій нітрит (1,93 г, 28 ммоль) розчиняли у воді (10 мл) та додавали при 0°C. Реакційну суміш залишали при 0°C протягом 2 діб, доки реакція не була завершеною за допомогою РХ-МС. Реакційну суміш виливали на лід та осаджений продукт збирали фільтруванням. Твердий матеріал сушили у вакуумі, отримуючи 3,3 г (78% виходу) заголовної сполуки.

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,27 (d, 1H), 4,32-3,81 (m, 2H), 3,50-3,23 (m, 2H), 1,37-1,19 (m, 2H), 1,10-0,93 (m, 1H), 0,94-0,78 (m, 1H), 0,49 (t, 3H); MC (IEP) m/z 607 [M+1]<sup>+</sup>.

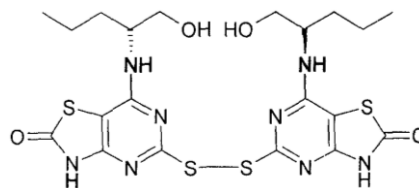
d) (2R)-2-{5-[7-((1H)-1-гідроксиметилбутиламіно)-2-метокси-тіазоло[4,5-d]піримідин-5-ілдисульфаніл]-2-метокси-тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іламіно}-пентан-1-ол



Калій гідроксид (495 мг, 8,8 ммоль) додавали до (2R)-2-{2-хлор-5-[2-хлор-7-((1R)-1-гідроксиметилбутиламіно)-тіазоло[4,5-d]піримідин-5-ілдисульфаніл]-тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іламіно}-пентан-1-олу (2,68 г, 4,41 ммоль) у метанолі (200 мл) при 0°C. Реакційну суміш перемішували при 0°C протягом ночі та тоді метанол випарювали. Залишок виливали у воду та утворений осад збирали фільтруванням. Сирий вологий продукт застосовували на наступному етапі без очистки.

MC (IEP) m/z 599 [M+1]<sup>+</sup>.

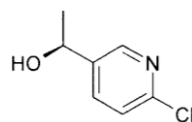
е) 5-[7-[(1R)-1-(гідроксиметил)аміно]-[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он-5-ілдисульфаніл]-7-[(1R)-1-(гідроксиметилбутил)аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



Сирий (2R)-2-{5-[7-((1R)-1-гідроксиметилбутиламіно)-2-метокси-тіазоло[4,5-d]піримідин-5-ілдисульфаніл]-2-метокси-тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іламіно}-пентан-1-ол (4,41 ммоль) з попереднього етапу розчиняли у 1,4-діоксані (100 мл). Конц. хлоридну кислоту (2 мл) та воду (2 мл) додавали та утворену суміш перемішували при 45°C протягом ночі. Розчинник випарювали у вакуумі та продукт було осаджено додаванням води. Осад збирали фільтруванням та промивали водою. Сирий продукт очищали колонковою флеш-хроматографією (елюент ДХМ: етилацетат градієнт), отримуючи 1,5 г (59% виходу за два етапи) заголовної сполуки.

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,46 (s, 1H), 7,33 (d, 1H), 4,61 (t, 1H), 4,10 (br. s., 1H), 3,35 (t, 2H), 1,37-1,20 (m, 2H), 1,13-1,10 (m, 1H), 0,96-0,82 (m, 1H), 0,59 (t, 3H); MC (IEP) m/z 571 [M+1]<sup>+</sup>.

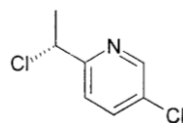
f) (1S)-1-(6-хлорпіридин-3-іл)етанол



Заголовну сполуку отримували загальним способом E1, застосовуючи 1-(6-хлорпіридин-3-іл)етанол (0,80 г, 5,14 ммоль), отримуючи 0,71 г (88% виходу) заголовної сполуки.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ мн<sup>-1</sup> 8,40-8,28 (m, 1H), 7,75-7,63 (m, 1H), 7,35-7,24 (m, 1H), 5,04-4,79 (m, 1H), 1,63-1,45 (m, 3H); MC (IEP) m/z 158 та 160 [M+1]<sup>+</sup>.

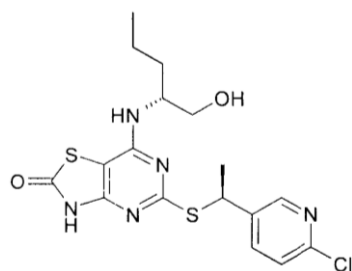
g) 2-хлор-5-[(1R)-1-хлоретил]піридин



Заголовну сполуку отримували загальним способом F1, застосовуючи (1S)-1-(6-хлорпіридин-3-іл)етанол (0,20 г, 1,27 ммоль), отримуючи 0,16 г (72% виходу) заголовної сполуки.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ мн<sup>-1</sup> 8,45-8,35 (m, 1H), 7,79-7,70 (m, 1H), 7,39-7,29 (m, 1H), 5,07 (q, 1H), 1,85-1,78 (m, 3H); MC (IEP) m/z 176 та 178 [M+1]<sup>+</sup>.

h) 5-[(1S)-1-(6-хлорпіридин-3-іл)етил]тіо-7-[(1R)-1-(гідроксиметил)бутил]-аміно[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он

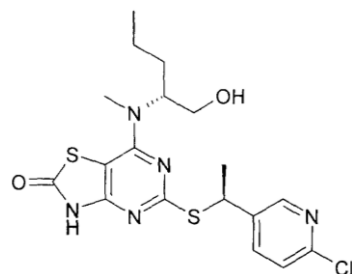


Заголовну сполуку отримували загальним способом G, застосовуючи 5-[7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)аміно]-[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он-5-їлдисульфанил]-7-[[[(1R)-1-(Гідроксиметилбутил)аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он (0,10 г, 0,175 ммоль), 2-хлор-5-[(1R)-1-хлоретил]піридин (0,069 г, 0,39 ммоль) та натрій борогідрид (0,040 г, 1,05 ммоль), отримуючи 0,055 г (37% виходу) заголовної сполуки.

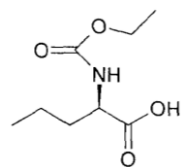
$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  млн $^{-1}$  8,52-8,38 (m, 1H), 7,87-7,72 (m, 1H), 7,30-7,26 (m, 1H), 4,91-4,81 (m, 1H), 4,74-4,65 (m, 1H), 4,29-4,17 (m, 1H), 3,68-3,52 (m, 2H), 1,69-1,64 (m, 3H), 1,56-1,46 (m, 2H), 1,46-1,32 (m, 2H), 0,98-0,90 (m, 3H); MC (IEP)  $m/z$  426 та 428  $[\text{M}+1]^+$ .

Приклад 7

5-[[[(1S)-1-(6-Хлорпіридин-3-іл)етилтіо]-7-[[[(1R)-1-(гідроксиметил)бутил](метил)аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



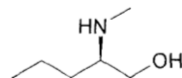
а) N-(Етоксикарбоніл)-D-норвалін



D-Норвалін (10,0 г, 85,3 ммоль) розчиняли у водному натрій гідроксиді (4М, 25 мл). Етил хлорформіат (10,6 мл, 111 ммоль) та водний натрій гідроксид (4М, 25 мл) додавали протягом 15 хвил. при 0°C. Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури та перемішували при цій температурі протягом 4 годин. Реакційну суміш промивали діетил-етером три рази та тоді підкислювали водною хлоридною кислотою (2М). Продукт екстрагували діетил-етером три рази. Комбіновані органічні фази сушили магній сульфатом та концентрували у вакуумі, отримуючи заголовну сполуку з кількісним виходом.

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  млн $^{-1}$  6,43 (br s, 1H), 5,22 (d, 1H), 4,37 (q, 1H), 4,13 (q, 2H), 1,84 (m, 1H), 1,68 (секстет, 1H), 1,42 (секстет, 1H), 1,25 (t, 3H), 0,95 (t, 3H); MC (XI) 144 (100%), 190  $[\text{M}+1]^+$ .

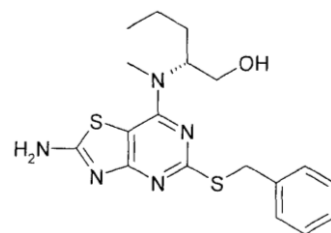
b) (2R)-2-(Метиламіно)пентан-1-ол



Алюмогідрид літію (6,5 г, 171 ммоль) суспендували у ТГФ при 0°C в атмосфері азоту. N-(Етоксикарбоніл)-D-норвалін розчиняли у ТГФ та додавали краплями при 0°C. Реакційну суміш гріли при кипінні під зворотним холодильником протягом ночі. Після охолодження до кімнатної температури, додавали насичений водний натрій сульфат для утворення кашки. Утворену суміш фільтрували через целіт. Твердий матеріал промивали ДХМ, доки усі продукт не екстрагувалися. Комбінований фільтрат сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі. Перегонка при 0,1 мбар, збираючи фракцію між 75-85°C дала 7,1 г (71% виходу) заголовної сполуки.

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ) 3,63 (dd, 1H); 3,30 (dd, 1H); 2,51 (m, 1H); 2,41 (s, 3H); 2,09 (brs, 2H), 1,50-1,28 (m, 4H); 0,93 (t, 3H); MC (XI) 86 (100%), 118  $[\text{M}+1]^+$ .

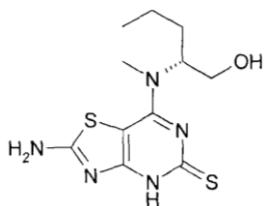
с) (2R)-2-[[2-Аміно-5-(бензилтіо)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл](метил)аміно]пентан-1-ол



5-(Бензилтіо)-7-хлор[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2-амін (6,0 г, 19,4 ммоль) розчиняли у NMP (25 мл). DIPEA (6,8 мл, 38,8 ммоль) та (2R)-2-(метиламіно)пентан-1-олу (3,4 г, 29,1 ммоль) додавали та суміш гріли до 120°C протягом 3 доби. Ще додавали (2R)-2-(метиламіно)пентан-1-ол (350 мг, 2,99 ммоль) та DIPEA (1 мл, 5,74 ммоль) та реакційну суміш гріли протягом 6 годин при 120°C. Після охолодження до кімнатної температури, суміш виливали на лід. Осаджений продукт збирали фільтруванням та очищали колонковою флеш-хроматографією (елюент ДХМ: етилацетат градієнт), отримуючи заголовну сполуку (5,74 г, 76% виходу).

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMCO-d}_6$ ) 7,98 (br s, 2H), 7,41 (m, 2H), 7,29 (m, 2H), 7,22 (m, 1H), 4,73 (t, 1H), 4,54 (br s, 1H), 4,33 (m, 2H), 3,55-3,40 (m, 2H), 3,01 (s, 3H), 1,52-1,44 (m, 2H), 1,25-1,10 (m, 2H), 0,84 (t, 3H); MC (IEP)  $m/z$  390  $[\text{M}+1]^+$ .

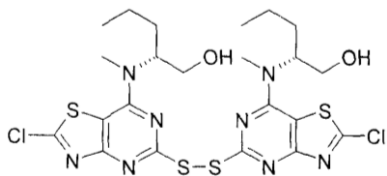
d) (2R)-2-[[2-Аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл](метил)аміно]пентан-1-ол



Крутодонна колба була з холодильником су-хий лід-етанол та зануреною у баню охолодження сухий лід-етанол. Аміак (200 мл) конденсували у колбу з наступним додаванням 2R)-2-{{2-аміно-5-(бензилтіо)[1,3]тіазоло[4,5-о]піримідин-7-іл}(метил)-аміно}пентан-1-олу (5,43 г, 13,9 ммоль). Утвореній суміші давали нагрітись до -33°C та металевий натрій додавали малими шматками до появи синього кольору та його утримування протягом 30 с. Реакцію тоді гасили ложкою твердого амоній хлориду. Аміак випарювали та воду (250 мл) додавали до залишку. Утворену суміш нейтралізували 1М хлоридною кислотою (водн.). Осаджений продукт збирали фільтруванням, промивали водою та ацетонітрилом та сушили у вакуумі, отримуючи 3,38 г (81% виходу) заголовної сполуки.

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>) 12,81 (br s, 1H); 8,45 (br s, 2H), 4,84 (br s, 1H), 3,55-3,40 (m, 2H), 3,02 (s, 3H), 1,48 (m, 2H), 1,21 (m, 2H), 0,87 (t, 3H); MC (IEP) m/z 300 [M+1]<sup>+</sup>.

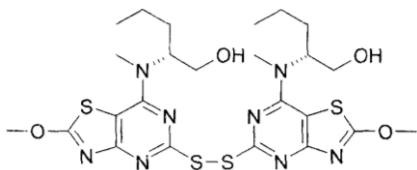
е) (2R,2'R)-2,2'-{Дитіобіс[(2-хлор[1,3]тіаозоло[4,5-d]піримідин-5,7-дііл)(метиліміно))}дипентан-1-ол



(2R)-2-[(2-Аміно-5-меркапто[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-7-іл)(метил)аміно]пентан-1-олу (1,0 г, 3,34 ммоль) розчиняли в ацетонітрилі (25 мл) та концентрований хлоридній кислоті (40 мл). Натрій нітрит (461 мг, 6,67 ммоль) розчиняли у воді (2 мл) та додавали при 0°C. Реакційну суміш тримали при 0°C протягом трьох діб. Реакційну суміш виливали на лід та осаджений продукт збирали фільтруванням та промивали водою. Сушка у вакуумі дала заголовну сполуку 800 мг (75% виходу).

MC (IEP)  $m/z$  635 та 637  $[M+1]^+$ .

г) (2R,2'R)-2,2'-{Дитіобіс[(2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-5,7-дііл)(метиліміно))}дипентан-1-ол

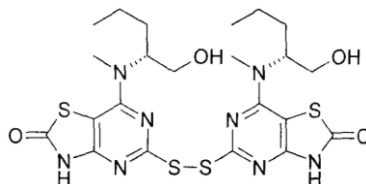


Калій гідроксид (210 мг, 3,75 ммоль) у метанолі (20 мл) додавали до (2R,2'R)-2,2'-{дитіобіс[2-

хлор[1,3]тіазолол[4,5-d]піримідин-5,7-діл(метипіміно)}}дипентан-1-олу (795 мг, 1,25 ммоль) у метанолі (40 мл) при 0°C. Реакційну суміш перемішували при 0°C протягом ночі та тоді метанол випарювали. Залишок виливали на лід та утворений осад збирали фільтруванням. Фільтрат екстрагували етилацетатом. Органічну фазу сушили натрій сульфатом та концентрували у вакуумі та залишок комбінували з раніше зібраним твердим матеріалом, отримуючи заголовну сполуку, яку застосовували на наступному етапі без очистки.

MC (IEP) m/z 627 [M+1]<sup>+</sup>.

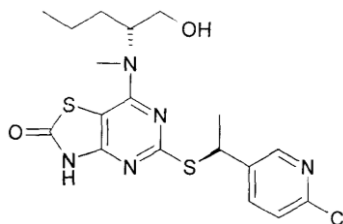
г) 5-[7-[[1(1R)-1-(Гідроксиметил)](метил)аміно]-[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он-5-ілдисульфаніл]-7-[[1(1R)-1-(гідроксиметилбутил)аміно][1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



Сирий (2R,2'R)-2,2'-{дітіобіс[(2-метокси[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-5,7-дііл)(метиліміно))}дипентан-1-ол (1,25 ммоль) з попереднього етапу розчиняли у 1,4-діоксані (25 мл). Конц.. хлоридну кислоту (0,5 мл) та воду (0,5 мл) додавали та утворену суміш перемішували при 45°C протягом ночі. Діоксан випарювали у вакуумі та залишок виливали на лід для осадження продукту, що збирали фільтруванням. Сушка у вакуумі дала 590 мг (78% виходу за два етапи) заголовної сполуки.

MC (IEP) m/z 599 [M+1]<sup>+</sup>.

h) 5-[[ $(1S)$ -1-(6-Хлорпіридин-3-іл)етил]тіо}-7-  
-[[ $(1R)$ -1-(гідроксиметил)бутил]-  
(метил)аміно]1,3]тіоазоло[4,5- $d$ ]піримідин-2(3H)-он



Заголовну сполуку отримували загальним способом G, застосовуючи 5-[7-((1R)-1-(гідроксиметил)](метил)аміно]-[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он-5-ілдисульфаніл]-7-((1R)-1-(гідроксиметилбутил)аміно)[1,3]тіазоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он (0,10 г, 0,167 ммоль), 2-хлор-5-((1R)-1-хлоретил)піридин (Приклад 6д, 0,065 г, 0,37 ммоль) та натрій борогідрид (0,038 г, 1,00 ммоль), отримуючи 0,060 г (41% виходу) заголовної сполуки.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) δ мЛн<sup>-1</sup> 8,56-8,38 (m, 1H), 7,87-7,73 (m, 1H), 7,28-7,26 (m, 1H), 4,86 (q, 1H), 4,75-4,62 (m, 1H), 3,76-3,55 (m, 3H), 3,03 (s, 3H), 1,70-

1,63 (m, 3H), 1,53-1,45 (m, 2H), 1,26-1,21 (m, 2H), 0,95-0,88 (m, 3H);

МС (ІЕР)  $m/z$  440 та 442  $[M+1]^+$ .

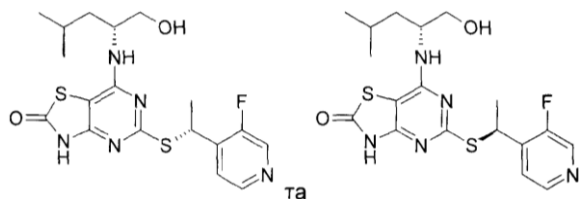
Приклад 8

Приклад 8a

5-[[1R)-1-(3-Флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-7-[[1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]-аміно][1,3]тіаозоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он та

Приклад 8b

5-[[1S)-1-(3-Флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-7-[[1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]-аміно][1,3]тіаозоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-он



Діастереомерну суміш 5-[[1-(3-флуорпіридин-4-іл)етил]тіо]-7-[[1R)-1-(гідроксиметил)-3-метилбутил]аміно][1,3]тіаозоло[4,5-d]піримідин-2(3H)-ону (179 мг) з прикладу 3 розділяли препаративною ВЕРХ, отримуючи 25 мг ельованого першим ізомеру:

$^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн $^{-1}$  12,31 (br s, 1H), 8,51 (m, 1H), 8,38 (d, 1H); 7,62 (m, 1H); 6,97 (br s, 1H); 5,16 (q, 1H); 4,66 (t, 1H); 4,12 (m, 1H); 3,44-3,30 (m, 2H, перекрито сигналом води), 1,66 (d, 3H), 1,61-1,27 (m, 3H), 0,84 (d, 3H), 0,74 (d, 3H); МС (ІЕР)  $m/z$  424  $[M+1]^+$ .

та 45 мг ельованого останнім ізомеру:

$^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн $^{-1}$  12,35 (br s, 1H), 8,52 (d, 1H), 8,38 (d, 1H); 7,62 (dd, 1H); 7,12 (br s, 1H); 5,15 (q, 1H); 4,62 (t, 1H); 4,21 (m, 1H); 3,35-3,15 (m, 2H, частково перекрито сигналом води), 1,65 (d, 3H), 1,63-1,29 (m, 3H), 0,88 (d, 3H), 0,85 (d, 3H); МС (ІЕР)  $m/z$  424  $[M+1]^+$ .

Фармакологічний скринінг

Матеріали

Рекомбінантний фрактактін людини (hCX<sub>3</sub>CL1) та рекомбінантний інтерлейкін-8 людини (IL-8 або hCXCL8) отримували від RperioTech Inc., UK. Рекомбінантний [ $^{125}\text{I}$ ]-фрактактін (людини) та [ $^{125}\text{I}$ ] hIL-8 зі специфічною активністю 2200 Ки/ммоль, отримували від NEN<sup>®</sup> Life Science Products, Inc., UK. Fluo4-AM отримували від Molecular Probes, US. Усі інші хімікати були аналітичного ґатунку.

Клітини

Повну кДНК людини CX<sub>3</sub>CR1 (GenBank № U20350) отримували з мРНК мозку людини (Superscript, Life Technologies) та лігували у вектор pCR-Blunt II TOPO (Invitrogen). Вставку, відповідну hCX<sub>3</sub>CR1 виділяли та субклонували у pCDNA3.1zeo. Плазмідну ДНК отримували, застосовуючи комплект Plasmid Midi Kit (Qiagen). Застосовуючи реагент трансфекції Superfect (Qiagen) згідно з протоколом виробника експресію плазмиду для hCX<sub>3</sub>CR1 тоді вводили у суспензію лінії клітин нирок ембріона людини (HEKS) 293, що містять вектор для стабільної експресії химерного G-білку G $\alpha_{q15}$ . Стабільний клон створювали, застосовуючи селекцію зеоцином (500 мкг/мл) та гіро-

міцином (100 мкг/мл). Для наступних застосувань клітини тримали у суміші модифіковане Дульбекко середовище Ігла/живильне середовище Гама F12 (DMEM/F12), що містить піридоксин та доповнене 10 об.% сироватки зародка теляти, 2 мМ L-глютаміну, 100 Од/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину, 250 мкг/мл зеоцину та 100 мкг/мл гігроміцину.

Клітини, що експресують CXCR2 людини, отримані від AstraZeneca Charnwood, культивують у EMEM, що містить Glutamax та доповнене 10% сироватки зародка теляти (від PAA, Austria), 1% замінних амінокислот (NEAA), 100 Од/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину (PEST) та 500 мкг/мл генетицину/G418.

Отримання мембран

Клітини вирощують при 37°C та 5% CO<sub>2</sub> та збирають при конфлюентності 60-80% у буфер, що містить 10 мМ Трис-НСІ рН 7,4, 5 мМ EDTA, 0,1 мкг/мл бацитрацину. Клітини центрифугують при 300хg протягом 10 хвил та пелету ресуспендують у буфері для збирання (10 мМ Трис-НСІ, рН 7,4, 5 мМ етилендіамінтетра-оцтова кислота (ЕДТА) та 0,1 мкг/мл бацитрацину), поєднують та гомогенізують, застосовуючи гомогенізатор Даунса. Гомогенат центрифугують при 48000хg протягом 10 хвил та ресуспендують у буфері для збирання, застосовуючи Ultra-Turrax T8. Аліквоти мембран тримають при -80°C. Концентрацію білку визначають у мікротирувальних планшетах, як описано Harrington (1990, Anal. Biochem. 186, 285-287).

Дослідження зв'язування рецептору in vitro

Дослідження конкурентного зв'язування [ $^{125}\text{I}$ ]-фрактактину проводили у глибоких 96-лункових планшетах на 2 мл (Beckman, Germany), у загальному об'ємі 1000 мкл/лунку. Кожна лунка містила 10 пМ [ $^{125}\text{I}$ ]-фрактактину та еквівалент мембран для концентрації рецептору 1 пМ у буфері для дослідження (50 мМ Гепес-КОН, рН 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ ЕДТА, 0,1мас./об.% желатину). Десять концентрацій (2 точки/лог. од.) тест-сполук спочатку розчиняли у ДМСО та давали досягти кінцевої концентрації 1 об.% ДМСО. Дослідження починали додаванням мембран та інкубували при 25°C протягом 24 годин. Реакції зупиняли швидким фільтруванням через скляні фільтри Whatman GF/B, попередньо оброблені 0,3% поліетиліміном, та наступним промиванням охолодженим льодом буфером (10 мМ Гепес-КОН рН 7,4, 500 мМ NaCl), застосовуючи збирач для зв'язування рецепторів Brandel. Додавали сцинтиляційну суміш та радіоактивність визначали у лічильнику рідинної сцинтиляції Packard 2500TR. (Perkin Elmer, USA)

Дослідження конкурентного зв'язування [ $^{125}\text{I}$ ]-hIL-8 проводять у білих 96-лункових планшетах з прозорим дном з кінцевим об'ємом 200 мкл та кожна лунка містить 150 пМ [ $^{125}\text{I}$ ]-hIL-8 (специфічна активність 2200 Ки/ммоль), препарату мембран-SPA, еквівалентного 20 пМ рецепторів, та 1,5 мкг кульок SPA у буфері для дослідження [50 мМ ГЕ-ПЕС-КОН рН 7,4, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ ЕДТА, 0,5мас./об.% желатину]. Тест-сполуки обробляли як вищезазначено. Неспецифічне зв'язування визначають при наявності 500 нМ неміченого hIL-8. Агоніст hIL-8 (крива концентрація-реакція від 3 пМ

до 30 нМ), застосовують як сполуку для порівняння при кожному тесті. Пептидна крива не містить ДМСО. Реакцію сполучення починають додаванням 140 мкл препарату мембран-SPA, та зразки інкубують у темряві при кімнатній температурі протягом 4 годин. Планшети для дослідження підраховують у лічильнику рідинної сцинтиляції (Wallac MicroBeta® TriLux 1450 від PerkinElmer, USA).

#### Зв'язування [<sup>35</sup>S]GTPγS

Дослідження зв'язування [<sup>35</sup>S]GTPγS проводили у мікротирувальних планшетах з прозорим дном з 10 концентраціями інгібітору (2 конц./лог. од.), розбавленого ДМСО (кінцева концентрація 1%), при кімнатній температурі. Мембрани, що експресують рецептор hCX3CR1 (кінцева концентрація 20 мкг білку/лунку) додавали разом з кульками SPA (кінцева концентрація 1 мкг/лунку), усі суспендовані у буфері зв'язування GTPγS (50 мМ Трис-НСІ, 100 мМ NaCl, 0,1 % желатину, 15 мкг сапоніну/мл та 3 мМ GDP, рН 7,4 при кімнатній температурі). Мембрани, кульки SPA та ліки попередньо інкубували 30 хвил перед додаванням 310 пМ фракталіну для максимальної стимуляції. Базову активність визначали як активність без стимуляції фракталіном (буфер зв'язування GTPγS). Через ще 30 хвил реакцію починали з додаванням [<sup>35</sup>S]GTPγS до кінцевої концентрації 0,1 нМ та кінцевого об'єму дослідження 0,2 мл. Експеримент завершували через 30 хвилин центрифугуванням при 2000 об/хвил протягом 2х5 хвилин (різні напрямки) та радіоактивність визначали у лічильнику рідинної сцинтиляції (Wallac MicroBeta® TriLux 1450).

#### Результати

Звичайні значення Кі CX<sub>3</sub>CR1 для сполук заявленого винаходу є у межах приблизно 0,1-1000 нМ. Інші значення Кі CX<sub>3</sub>CR1 є у межах приблизно 0,1 нМ - 500 нМ. Наступні значення Кі CX<sub>3</sub>CR1 є у межах приблизно 0,1 нМ - 25 нМ. Результати від дослідження зв'язування in vitro hCX<sub>3</sub>CR1 для кінцевої сполуки показані у таблиці.

Таблиця

Приклад №	Кі (нМ)
1	5,8
2	20
3	Не тестовано*
4	18
5	Не тестовано**
6	21,4
7	440
8a	97
8b	1,5

\*) Приклад 4 представляє суміш діастереомерів, що є розділеними у прикладі 9.

Сполуки заявленого винаходу, де R<sup>1</sup> - Me (містить розгалужений тіоалкілпіридил у 5-позиції) є більш потужними антагоністами стосовно рецептору CX<sub>3</sub>CR1 та/або менш потужними антагоністами стосовно рецептору CX<sub>3</sub>CR2, ніж відповідні сполуки для порівняння, де R<sup>1</sup> - H. Така посиленна

селективність стосовно антагонізму рецептору CX<sub>3</sub>CR1, як очікують, призводитиме до значної терапевтичної корисності.

Рекомбінантний фракталін людини (hCX<sub>3</sub>CL1) та рекомбінантний інтерлейкін-8 людини (IL-8 або hCXCL8) отримували від ReproTech Inc., UK. Рекомбінантний [<sup>125</sup>I]-фракталін (людини) та [<sup>125</sup>I] hIL-8 зі специфічною активністю 2200 Кі/ммоль, отримували від NEN® Life Science Products, Inc., UK. Fluo4-AM отримували від Molecular Probes, US. Усі інші хімікати були аналітичного ґатунку.

#### Клітини

Повну кДНК людини CX<sub>3</sub>CR1 (GenBank № U20350) отримували з мРНК мозку людини (Superscript, Life Technologies) та лігували у вектор pCR-Blunt II TOPO (Invitrogen). Вставку, відповідну hCX<sub>3</sub>CR1 виділяли та субклонували у pCDNA3,1zeo. Плазмідну ДНК отримували, застосовуючи комплект Plasmid Midi Kit (Qiagen). Застосовуючи реагент трансфекції Superfect (Qiagen) згідно з протоколом виробника експресію плазмиду для hCX<sub>3</sub>CR1 тоді вводили у суспензію лінії клітин нирок ембріона людини (HEKS) 293, що містять вектор для стабільної експресії химерного G-білку Gα<sub>q15</sub>. Стабільний клон створювали, застосовуючи селекцію зеоцином (500 мкг/мл) та гіроміцином (100 мкг/мл). Для наступних застосувань клітини тримали у суміші модифіковане Дульбекко середовище Ігла/живильне середовище Гама F12 (DMEM/F12), що містить піридоксин та доповнене 10 об.% сироватки зародка теляти, 2 мМ L-глутаміну, 100 Од/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину, 250 мкг/мл зеоцину та 100 мкг/мл гіроміцину.

Клітини, що експресують людини CXCR2 отримані від AstraZeneca Charnwood культивують у EMEM, що містить Glutamax та доповнене 10% сироватки зародка теляти (від PAA, Austria), 1% замінних амінокислот (NEAA), 100 Од/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину (PEST) та 500 мкг/мл генетицину/G3418.

#### Отримання мембран

Клітини вирощують при 37°C та 5% CO<sub>2</sub> та збирають при конфлюентності 60-80% у буфер, що містить 10 мМ Трис-НСІ рН 7,4, 5 мМ EDTA, 0,1 мкг/мл бацитрацину. Клітини центрифугують при 300хг протягом 10 хвил та пелету ресуспендують у буфері для збирання (10 мМ Трис-НСІ, рН 7,4, 5 мМ етилендіамінтетра-оцтова кислота (EDTA) та 0,1 мкг/мл бацитрацину), поєднують та гомогенізують, застосовуючи гомогенізатор Даунса. Гомогенат центрифугують при 48000хг протягом 10 хвил та ресуспендують у буфері для збирання, застосовуючи Ultra-Turrax T8. Аліквоти мембран тримають при -80°C. Концентрацію білку визначають у мікротирувальних планшетах, як описано Harrington (1990, Anal. Biochem. 186, 285-287).

#### Дослідження зв'язування рецептору in vitro

Дослідження конкурентного зв'язування [<sup>125</sup>I]фракталіну проводили у глибоких 96-лункових планшетах на 2 мл (Beckman, Germany), у загальному об'ємі 1000 мкл/лунку. Кожна лунка містила 10 пМ [<sup>125</sup>I]-фракталіну та еквівалент мембран для концентрації рецептору 1 пМ у буфері для дослідження (50 мМ Гепес-КОН, рН 7,4,



10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM ЕДТА, 0,1мас./об.% желатину). Десять концентрацій (2 точки/лог. од.) тест-сполук спочатку розчиняли у ДМСО та давали досягти кінцевої концентрації 1 об.% ДМСО. Дослідження починали додаванням мембран та інкубували при 25°C протягом 24 годин. Реакції зупиняли швидким фільтруванням через скляні фільтри Whatman GF/B, попередньо оброблені 0,3% поліетиліміном, та наступним промиванням охолодженим льодом буфером (10 mM Гепес-КОН pH 7,4, 500 mM NaCl), застосовуючи збирач для зв'язування рецепторів Brandel. Додавали сцинтиляційну суміш та радіоактивність визначали у лічильнику рідинної сцинтиляції Packard 2500TR. (Perkin Elmer, USA)

Дослідження конкурентного зв'язування [<sup>125</sup>I]-hIL-8 проводять у білих 96-лункових планшетах з прозорим дном з кінцевим об'ємом 200 мкл та кожна лунка містить 150 пМ [<sup>125</sup>I]-hIL-8 (специфічна активність 2200 Ки/ммоль), препарату мембран-SPA, еквівалентного 20 пМ рецепторів, та 1,5 мг кульок SPA у буфері для дослідження [50 mM ГЕ-ПЕС-КОН pH 7,4, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM ЕДТА, 0,5мас./об.% желатину]. Тест-сполуки обробляли як вищезазначено. Неспецифічне зв'язування визначають при наявності 500 нМ неміченого hIL-8. Агоніст hIL-8 (крива концентрація-реакція від 3 пМ до 30 нМ), застосовують як сполуку для порівняння при кожному тесті. Пептидна крива не містить ДМСО. Реакцію сполучення починають додаванням 140 мкл препарату мембран-SPA, та зразки інкубують у темряві при кімнатній температурі протягом 4 годин. Планшети для дослідження підраховують у лічильнику рідинної сцинтиляції (Wallac MicroBeta® TriLux 1450 від PerkinElmer, USA).

[<sup>35</sup>S]GTPγS зв'язування

Дослідження зв'язування [<sup>35</sup>S]GTPγS проводили у мікротирувальних планшетах з прозорим дном з 10 концентраціями інгібітору (2 конц./лог. од.), розбавленого ДМСО (кінцева концентрація 1%), при кімнатній температурі. Мембрани, що експресують рецептор hCX<sub>3</sub>CR1 (кінцева концентрація 20 мкг білку/лунку) додавали разом з кульками SPA (кінцева концентрація 1 мг/лунку), усі суспендовані у буфері зв'язування GTPγS (50 mM Трис-НСІ, 100 mM NaCl, 0,1 % желатину, 15 мкг сапоніну/мл та 3 мкМ GDP, pH 7,4 при кімнатній температурі). Мембрани, кульки SPA та ліки попе-

редньо інкубували 30 хвил перед додаванням 310 пМ фракталкіну для максимальної стимуляції. Базову активність визначали як активність без стимуляції фракталкіном (буфер зв'язування GTPγS). Через ще 30 хвил реакцію починали з додаванням [<sup>35</sup>S]GTPγS до кінцевої концентрації 0,1 нМ та кінцевого об'єму дослідження 0,2 мл. Експеримент завершували через 30 хвилин центрифугуванням при 2000 об/хвил протягом 2х5 хвилин (різні напрямки) та радіоактивність визначали у лічильнику рідинної сцинтиляції (Wallac MicroBeta® TriLux 1450).

Результати

Звичайні значення CX<sub>3</sub>CR1 для сполук заявленого винаходу є у межах приблизно 0,1-1000 нМ. Інші значення K<sub>i</sub> CX<sub>3</sub>CR1 є у межах приблизно 0,1 нМ - 500 нМ. Наступні значення K<sub>i</sub> CX<sub>3</sub>CR1 є у межах приблизно 0,1 нМ - 25 нМ. Результати від дослідження зв'язування in vitro hCX<sub>3</sub>CR1 для кінцевої сполуки показані у таблиці.

Таблиця

Приклад №	K <sub>i</sub> (нМ)
1	5,8
2	20
3	Не тестовано*
4	18
5	Не тестовано**
6	21,4
7	440
8a	97
8b	1,5

\*) діастереомерна суміш прикладів 8a та 8b.

\*\*) нема достатньої кількості для тестування у дослідженні зв'язування in vitro hCX<sub>3</sub>CR1.

Сполуки заявленого винаходу, де R<sup>1</sup> - Me (містить розгалужений тіоалкілпіридил у 5-позиції) є більш потужними антагоністами стосовно рецептору CX<sub>3</sub>CR1 та/або менш потужними антагоністами стосовно рецептору CX<sub>3</sub>CR2, ніж відповідні сполуки для порівняння, де R<sup>1</sup> - H. Така посилена селективність стосовно антагонізму рецептору CX<sub>3</sub>CR1, як очікують, призводитиме до значної терапевтичної корисності.