



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 103036

(13) C2

(51) МПК

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

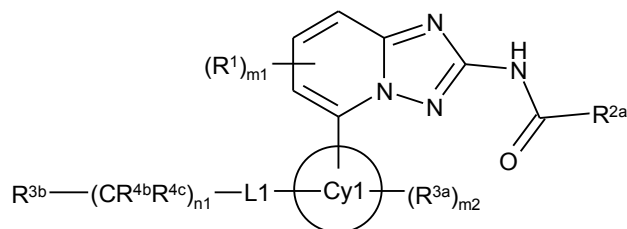
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2011 02195	(72) Винахідник(и):	Мене Крістель Жанн Марі (BE), Блан Хав'єр (BE)
(22) Дата подання заявки:	24.07.2009	(73) Власник(и):	ГАЛАПАГОС Н.В., Generaal De Wittelaan L11/ A3, B-2800 Mechelen, Belgium (BE)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.09.2013	(74) Представник:	Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/135,920, 61/220,685	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2008025821 A, 06.03.2008. WO 2007009773 A, 25.01.2007. US 2005222171 A1, 06.10.2005. WO 2009047514 A, 16.04.2009. WO 2008150015 A, 11.12.2008. WO 2009027283 A, 05.03.2009. WO 2009017954 A, 05.02.2009. WO 2009010530 A, 22.01.2009.
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	25.07.2008, 26.06.2009		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.07.2011, Бюл.№ 14		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.09.2013, Бюл.№ 17		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/EP2009/059605, 24.07.2009		

(54) [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-а]ПІРИДИН, ПРИЙНЯТНИЙ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ДЕГЕНЕРАТИВНИХ І ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

(57) Реферат:

Описана нова сполука [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину, що має формулу, яка відповідає формулі (I)

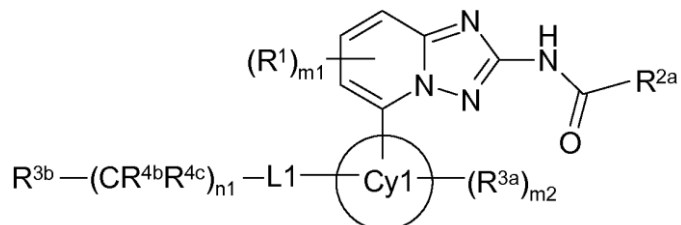


I.

Цю сполуку можна одержувати у вигляді фармацевтичної композиції і можна використовувати для запобігання і лікування різних станів у ссавців, включаючи людей, де стани включають, як необмежувачий приклад, захворювання, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, наприклад остеоартрит; і/або стани, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальні захворювання кишечника, хворобливі стани,

UA 103036 C2

зумовлені ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювання, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювань, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджені мальформації хрящової тканини, захворювання, пов'язані з підвищеною секрецією IL6 і відторгненням трансплантата (наприклад, відторгнення органного трансплантата), і проліферативні захворювання.



Галузь винаходу

Даний винахід належить до сполук, які є інгібіторами JAK, сімейства тирозинкіназ, що включені в модуляцію деградації хрящової тканини, дегенерацію суглобів і до захворювань, що включають подібну деградацію і/або запалення. Даний винахід також належить до способів одержання цих сполук, фармацевтичних композицій, що містять ці сполуки, способів попередження і/або лікування захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, станів, що включають запалення або імунні відповіді, хворобливих станів, зумовлених ендотоксином, захворювань, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджених мальформацій хрящової тканини, захворювань, асоційованих з підвищеною секрецією IL6, проліферативних захворювань і відторгнень при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата); і/або способом попередження і/або лікування захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, деградацію і/або запалення суглобів за допомогою введення сполуки за винаходом.

Янус-кінази (JAK) являють собою цитоплазматичні тирозинкінази, що здійснюють передачу цитокінового сигналу з мембранних рецепторів до факторів транскрипції STAT. Описано чотири члени сімейства JAK, це JAK1, JAK2, JAK3 і TYK2. При зв'язуванні цитокіну з його рецептором члени сімейства JAK ауто- і/або трансфосфорилують один одного з наступним фосфорилуванням STAT, що потім переміщаються в ядро для регулювання транскрипції. Внутрішньоклітинну передачу сигналу JAK-STAT використовують інтерферони, більшість інтерлейкінів, а також ряд цитокінів і ендокринних факторів, таких як EPO, TPO, GH, OSM, LIF, CNTF, GM-CSF, PRL Vainchenker W. et al. (2008).

Комбінація генетичних моделей і дослідження низькомолекулярного інгібітору JAK виявили терапевтичні можливості деяких JAK. Дослідження генетики людини і миші підтверджують можливість використання JAK3 як мішені для пригнічення імунної відповіді (O'Shea J. et al. (2004)). Інгібітори JAK3 успішно піддавали клінічним дослідженням, спочатку з приводу відторгнення органного трансплантата, але пізніше також із приводу інших імунізапальних показань, таких як ревматоїдний артрит (RA), псоріаз і хвороба Крона (<http://clinicaltrials.gov/>).

TYK2 є потенційною мішенню при імунізапальних захворюваннях, підтверджуваною дослідженнями генетики людини і нокаутних мишей (Levy D. and Loomis C. (2007)).

JAK1 є новою мішенню в галузі імунізапальних захворювань. Для передачі прозапального сигналу, що запускається цитокінами, JAK1 утворює гетеродимер з іншими JAK. Таким чином, інгібування JAK1 і/або інших JAK, як очікують, буде мати терапевтичну перевагу для ряду запальних станів, а також для інших захворювань, зумовлених JAK-опосередкованою передачею сигналу.

Передумови винаходу

Хрящова тканина являє собою тканину, позбавлену судин, у якій головний клітинний компонент представлений хондроцитами. Хондроцити в нормальному суглобовому хрящі займають приблизно 5 % об'єму тканини, у той час як позаклітинний матрикс заповнює 95 % тканини, що залишилася. Хондроцити секретують компоненти матрикса, в основному протеоглікани і колагени, що, у свою чергу, забезпечують хондроцитам умови, які підходять для їхньої виживаності при механічному навантаженні. У хрящовій тканині колаген типу II разом з білком - колагеном типу IX утворюють тверді фібрилоподібні структури, що забезпечують хрящову тканину великою механічною міцністю. Протеоглікани можуть абсорбувати воду і є відповідальними за еластичні і амортизуючі властивості хрящової тканини.

Одним з функціональних значень хрящової тканини в суглобі є забезпечення правильного з'єднання кісток одна з одною. Утрата суглобового хряща, таким чином, спричиняє тертя кісток одна об одну, що приведе до болю і втрати рухливості. Деградація хрящової тканини може мати різні причини. При запальних артритах, таких як, наприклад, ревматоїдний артрит, деградація хрящової тканини зумовлена секрецією збудженими тканинами (збудженою синовіальною оболонкою, наприклад) протеаз (наприклад, колагеназ). Деградація хрящової тканини може також бути результатом ушкодження хрящової тканини, результатом травми або хірургічного втручання, або підвищеного навантаження або зношування. Здатність хрящової тканини до регенерації після подібних ушкоджень обмежена. Хондроцити в ушкодженій хрящовій тканині часто виявляють знижену синтезуючу активність хрящової тканини (анаболічну) і/або підвищену деградууючу активність хрящової тканини (катаболічну).

Дегенерація хрящової тканини є відмітною ознакою різних захворювань, серед яких ревматоїдний артрит і остеоартрит є найбільш значимими. Ревматоїдний артрит (RA) являє собою хронічне суглобове дегенеративне захворювання, що характеризується запаленням і деструкцією суглобових структур. Якщо захворювання не контролюється, це приводить до

істотної втрати працездатності і болю внаслідок втрати функціональних властивостей суглобів і навіть до передчасної смерті. Метою терапії RA, таким чином, є не тільки уповільнення плинності захворювання, але і досягнення ремісії, з метою припинення суглобової деструкції. Крім того, тяжкість результату захворювання, висока поширеність RA (в усьому світі уражено ~0,8 % дорослого населення) означає високі соціально-економічні наслідки. (Для огляду по RA заявники посилаються на Smolen і Steiner (2003); Lee і Weinblatt (2001); Choy і Panayi (2001); O'Dell (2004) і Firestein (2003)).

Остеоартрит (позначається також як OA або артрит зношування) являє собою найбільш загальну форму артриту і характеризується втратою суглобового хряща, що часто пов'язано з гіпертрофією кістки і болем. Захворювання в основному уражає руки і суглоби, що несуть вагове навантаження, такі як колінні, тазостегнові суглоби і суглоби хребта. Цей процес стоншує хрящову тканину. Якщо внаслідок стоншення зникла площа поверхні, остеоартрит досягає ступеня I; якщо зникла площа поверхні тангенціальної зони, остеоартрит досягає ступеня II. Існують додаткові ступені дегенерації і деструкції, при яких порушені глибокі і кальциновані шари хрящової тканини, що межують із субхондральною кістою. Для більш докладного огляду по остеоартриту заявники посилаються на Wieland et al., 2005.

Клінічні прояви розвитку остеоартритного стану являють собою збільшений розмір суглоба, біль, крепітацію і функціональну непрацездатність суглоба, що призводить до болю і зниженої рухливості суглобів. При подальшому розвитку захворювання з'являється біль у стані спокою. Якщо стан залишається без корекції і/або лікування, суглоб руйнується, що приводить до втрати працездатності. Потім потрібно реконструктивне хірургічне втручання з загальним протезуванням.

Терапевтичні способи для корекції ділянок ураженню суглобового хряща, що виникають протягом розвитку остеоартриту, розроблені, але дотепер жоден з них не здатний опосередковувати регенерацію суглобового хряща *in situ* і *in vivo*.

Остеоартрит важко піддається лікуванню. В даний час немає доступного засоби і лікування спрямоване на полегшення болю і запобігання переходу суглоба з ураженого стану в деформоване. Загальноприйняті види лікування включають застосування нестероїдних протизапальних лікарських засобів (NSAID). Хоча харчові добавки, такі як хондроїтин і глюкозаміну сульфат рекомендовані як безпечні й ефективні варіанти для лікування остеоартриту, недавній клінічний дослідження показало, що обидва варіанти лікування не знижували біль, пов'язаний з остеоартритом. (Clegg et al., 2006). У сукупності, немає доступного лікарського засоби проти остеоартриту, що змінює перебіг захворювання.

У тяжких випадках може бути необхідна заміна суглоба. Це особливо актуально для тазостегнових і колінних суглобів. Якщо суглоб сильно болить і не може бути замінений, його можна зафіксувати в заданому положенні. Ця процедура знімає біль, але приводить до необоротної втрати функції суглоба, створюючи утруднення при ходьбі і згинанні.

Іншим можливим лікуванням є трансплантація культивованих аутологічних хондроцитів. У даному випадку хрящовий клітинний матеріал беруть у пацієнта, відправляють у лабораторію, де клітинний матеріал нарощують. Матеріал потім імплантують в ушкоджені тканини для покриття тканинних дефектів.

Інше лікування включає внутрішньосуглобову інстиляцію Hyal G-F 20 (наприклад, Synvisc®, Hyalgan®, Artz®), засоби, які тимчасово поліпшують реологію синовіальної рідини, що створює майже негайне відчуття волі руху і виражене зменшення болю.

Інші описані способи включають застосування сухожильного, надкісткового, фасціального, м'язового або перихондрального трансплантатів; імплантацію фібрину або культивованих хондроцитів; імплантацію штучних матриксів, таких як колаген, вуглецева нитка; введення електромагнітних полів. Усі вони показали мінімальні і недостатні дії, що приводять до утворення тканини низької якості, що не може ні витримати навантаження масою, ні забезпечити відновлення суглобової функції з нормальною рухливістю.

Стимулювання анаболічних процесів, блокування катаболічних процесів або комбінація цих двох процесів може приводити до стабілізації хрящової тканини, і можливо, навіть до анулювання ушкодження, і таким чином, запобігання подальшого прогресування захворювання. Різні ініціюючі фактори можуть викликати анаболічну стимуляцію хондроцитів. Інсуліноподібний фактор росту-I (IGF-I) являє собою переважний анаболічний фактор росту в синовіальній рідині і стимулює синтез як протеогліканів, так і колагену. Також показано, що члени сімейства морфогенетичного білка кістки (BMP), зокрема, BMP2, BMP4, BMP6 і BMP7, і члени сімейства трансформуючий фактора росту-β людини (TGF-β) можуть індукувати анаболічну стимуляцію хондроцитів (Chubinskaya and Kuettner, 2003). Недавно встановлена сполука, індукує анаболічну стимуляцію хондроцитів (US 6500854; EP 1391211). Однак більшість цих сполук

виявляють тяжкі побічні ефекти, і, таким чином, існує істотна необхідність у сполуках, що стимулюють диференціацію хондроцитів без цих побічних ефектів.

Vandeghinste et al. (WO 2005/124342) описали JAK1 як мішень, інгібування якої може мати терапевтичну значимість при лікуванні деяких захворювань, включаючи ОА. JAK1 належить до Янус-кіназ (JAK), сімейства цитоплазматичних тирозинкіназ, втягнених у внутрішньоклітинну передачу сигналу, опосередковану цитокиновим рецептором. Сімейство JAK складається з 4 членів: JAK1, JAK2, JAK3 і TYK2. JAK беруть участь у взаємодії з цитокиновими рецепторами, при зв'язуванні цитокінів, з наступною гетеродимеризацією цитокинового рецептора і загальної рецепторної субодиниці (загальний ланцюг гамма-с, gp130). JAK потім активуються за допомогою ауто- і/або трансфосфорилювання за допомогою інших JAK, що приводить до фосфорилювання рецептора і залучення і фосфорилювання членів сімейства сигнальних трансдукторів і активаторів транскрипції (STAT). Фосфорилювані STAT димеризуються і переміщуються в ядро, де вони зв'язуються з енансерними ділянками генів, чутливих до цитокінів. Нокаут гена JAK1 у мишей показав, що JAK1 приймає важливу і не надмірну участь у період розвитку: миші JAK1^{-/-} вмерли в межах 24 годин після народження, і спостерігають значне порушення розвитку лімфоцитів. Крім того, JAK1 ^{-/-} клітини не реагували або менше реагували на цитокіни, що використовують II клас цитокинових рецепторів, цитокинові рецептори, що використовують субодиницю гамма-с для передачі сигналу, і сімейство цитокинових рецепторів, що використовують субодиницю gp130 для передачі сигналу (Rodig et al., 1998).

Різні групи включають передачу сигналу JAK-STAT у біологію хондроцитів. Li et al. (2001) показали, що онкостатин М індукуює експресію генів MMP і TIMP3 у первинних хондроцитах за допомогою активації шляхів передачі сигналу JAK/STAT і MAPK. Osaki et al. (2003) показали, що опосередковане інтерферон-гамма інгібування колагену II у хондроцитах включає передачу сигналу JAK-STAT. IL1-бета індукуює катаболізм хрящової тканини за допомогою зниження експресії компонентів матрикса і за допомогою індукування експресії колагеназ і індукцибельної синтази оксиду азоту (NOS2), що опосередковує продукцію оксиду азоту (NO). Otero et al., (2005) показали, що лептин і IL1-бета синергично індукували продукцію NO або експресію NOS2 мРНК у хондроцитах, і що це зупиняли за допомогою інгібітору JAK. Legendre et al. (2003) показали, що в артикулярних хондроцитах бика IL6/IL6 рецептор індукував негативну регуляцію специфічних для матрикса хрящової тканини генів колагену II, агреканової структури і зв'язувального білка, і що це було опосередковано передачею сигналу JAK/STAT. Таким чином, ці дані спостереження припускають участь кінази JAK у гомеостазі хрящової тканини і терапевтичний потенціал для інгібіторів кінази JAK.

Члени сімейства JAK втягнуті в додаткові стани, що включають мієлопроліферативні порушення (O'Sullivan et al., 2007, Mol Immunol. 44(10):2497-506), у яких виявлені мутації в JAK2. Це показує, що інгібітори JAK, зокрема, JAK2 можна також використовувати при лікуванні мієлопроліферативних порушень. Додатково, сімейство JAK, зокрема JAK1, JAK2 і JAK3, пов'язані зі злоякісними пухлинами, зокрема лейкоміями, наприклад, гострим мієлолейкозом (O'Sullivan et al., 2007, Mol Immunol. 44(10):2497-506; Xiang et al., 2008, "Identification of somatic JAK1 mutations in patients with acute myeloid leukemia" Blood First Edition Paper, опублікованої в інтерактивному режимі 26 грудня 2007 року; DOI 10.1182/blood-2007-05-090308) і гострим лімфобластним лейкозом (Mullighan et al., 2009) або солідними пухлинами, наприклад, лейоміосаркомою матки (Constantinescu et al., 2007, Trends in Biochemical Sciences 33(3): 122-131), раком передміхурової залози (Tam et al., 2007, British Journal of Cancer, 97, 378-383). Ці результати показують, що інгібітори JAK, зокрема JAK1 і/або JAK2, можуть також бути корисні при лікуванні злоякісних пухлин (лейкемії і солідних пухлин, наприклад, лейоміосаркома матки, рак передміхурової залози).

Крім того, хвороба Кастлемана, множинна мієлома, мезангіально-проліферативний гломерулонефрит, псоріаз і саркома Капоші розвиваються, імовірно, унаслідок підвищеної секреції цитокіну IL-6, біологічні ефекти якого опосередковані внутрішньоклітинною передачею сигналу JAK-STAT (Tetsuji Naka, Norihiro Nishimoto and Tadimitsu Kishimoto, Arthritis Res 2002, 4 (suppl 3):S233-S242). Цей результат показує, що інгібітор JAK може також знайти застосування при лікуванні зазначених захворювань.

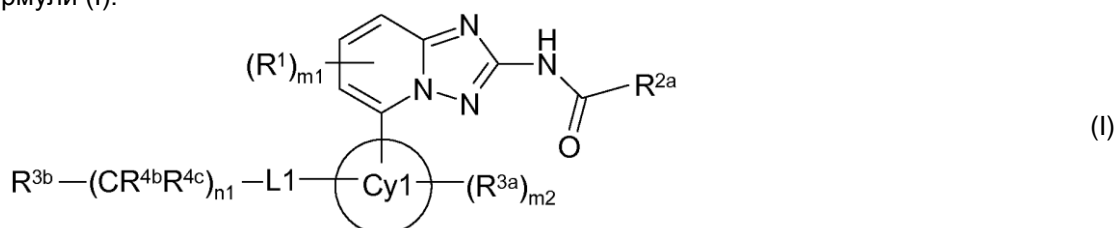
Установлено зв'язок з аутоімуними захворюваннями для JAK3 і Tyk2. Мутації в JAK3, а також у вищерозташованих компонентах передачі сигналу, рецепторного ланцюга гамма-с і рецептора IL7 зумовлюють, у сукупності, ~70 % випадків тяжкого комбінованого імунодефіциту людини (O'Shea et al., 2004). Відзначено, що JAK1 взаємодіє з JAK3 у передачі сигналів з рецепторного ланцюга гамма-с. Поліморфізми Tyk2 виявлені при системному червоному вовчаку (SLE) (O'Sullivan et al., 2007, Mol Immunol. 44(10):2497-506). Таким чином, націлювання на сімейство JAK може надати терапевтичні можливості в ділянці імунозапалення.

Існуючі способи лікування не є достатніми, і, таким чином, залишається необхідність у визначенні додаткових сполук, які можна використовувати при лікуванні захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, наприклад, остеоартриту; і/або станів, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювань, пов'язаних з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацького ідіопатичного артрит, коліту, запальних захворювань кишечника, хворобливих станів, зумовлених ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяють, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювань, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджених мальформацій хрящової тканини, захворювань, асоційованих з підвищеною секрецією IL6, проліферативних захворювань і відторгнення при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата). Інгібітори JAK можуть також знайти застосування при лікуванні проліферативних захворювань. Зокрема, інгібітори JAK знайшли застосування при лікуванні злоякісних пухлин, головним чином, лейкемій і солідних пухлин (наприклад, лейоміосаркома матки, рак передміхурової залози). Даний винахід, таким чином, надає сполуки, способи їхнього одержання і фармацевтичні композиції, що включають сполуку за винаходом разом із прийнятним фармацевтичним носієм. Даний винахід також належить до використання сполуки за винаходом в препараті лікарського засоби для лікування дегенеративних захворювань суглобів.

Суть винаходу

Даний винахід оснований на відкритті того, що інгібітори JAK прийнятні для лікування захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, наприклад, остеоартриту; і/або станів, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювань, пов'язаних з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальних захворювань кишечника, хворобливих станів, зумовлених ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювань, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджених мальформацій хрящової тканини, захворювань, асоційованих з підвищеною секрецією IL6, і відторгнення при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата). Інгібітори JAK можуть також знайти застосування в лікуванні проліферативних захворювань. Зокрема, інгібітори JAK знаходять застосування при лікуванні злоякісних пухлин, зокрема, лейкемій і солідних пухлин (наприклад, лейоміосаркоми матки, раку передміхурової залози). Даний винахід також належить до способів одержання цих сполук, фармацевтичних композицій, що містять ці сполуки і способів лікування захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, деградацію і/або запалення суглобів за допомогою введення сполуки за винаходом.

Таким чином, у першому аспекті винаходу описують сполуки 1,2,4-триазоло[1,5-a]піридину формули (I):



де Cy1 вибирають з арилу і гетероарилу;

L1 вибирають з одинарного зв'язку, -O-, -C(O)-, -C[=N(R^{4a})]-, -N(R^{4a})-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})CO-, або -N(R^{4a})SO₂-;

кожний з R¹ незалежно вибирають з C₁-C₆ алкілу, заміщеного C₁-C₆ алкілу, ацилу, заміщеного ацилу, заміщеного або незаміщеного ациламіно, заміщеного або незаміщеного C₁-C₆ алкокси, заміщеного або незаміщеного амід, заміщеного або незаміщеного аміно, заміщеного сульфінілу, заміщеного сульфонілу, заміщеного або незаміщеного аміноссульфонілу, сульфонової кислоти, складного ефіру сульфонової кислоти, карбокси, ціано, заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, галогену і гідроксилу;

кожний з R^{3a} незалежно вибирають з C₁-C₆ алкілу, заміщеного C₁-C₆ алкілу, ацилу, заміщеного ацилу, заміщеного або незаміщеного ациламіно, заміщеного або незаміщеного C₁-

C₆ алкокси, заміщеного або незаміщеного амідом, алкоксикарбонілу, заміщеного алкоксикарбонілу, арилалкілокси, заміщеного арилалкілокси, заміщеного або незаміщеного аміно, арилу, заміщеного арилу, арилалкілу, заміщеного сульфанілу, заміщеного сульфінілу, заміщеного сульфонілу, заміщеного або незаміщеного аміноссульфонілу, сульфонової кислоти, складного ефіру сульфонової кислоти, азидо, карбокси, ціано, заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, галогену, заміщеного або незаміщеного гетероарилу, гідроксилу, нітро і тіолу;

R^{2a} вибирають із заміщеного або незаміщеного C₁-C₆ або алкілу заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу;

R^{3b} незалежно вибирають із заміщеного або незаміщеного арилу, заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 5-10-членного гетероарилу; або R^{3b} незалежно вибирають із O-R^{3c}, CO-R^{3c} і CON(R^{4a})-R^{3c}; і R^{3c} незалежно вибирають із заміщеного або незаміщеного арилу, заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 5-10-членного гетероарилу;

кожний з R^{4a}, R^{4b} і R^{4c} незалежно вибирають з H, C₁-C₆ алкілу, заміщеного C₁-C₆ алкілу, C₃-C₇ циклоалкілу або заміщеного C₃-C₇ циклоалкілу;

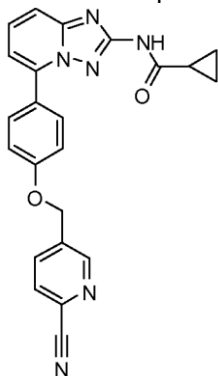
m1 являє собою 0, 1 або 2; m2 являє собою 0, 1, 2 або 3; і n1 являє собою 0, 1, 2, 3 або 4;

за умови

де L1 являє собою -O-, -N(R^{4a})-, -CON(R^{4a})- або -SO₂N(R^{4a})- і R^{3b} є відмінним від циклоалкілу, арилу або 5-10-членного гетероарилу, при цьому n1 являє собою 1, 2, 3 або 4;

або їх фармацевтично прийнятні солі або сольвати або сольвати фармацевтично прийнятних солей.

У більш конкретному варіанті здійснення сполука представлена формулою VIa:



(VIa)

або її фармацевтично прийнятною сіллю або сольватом або сольватом фармацевтично прийнятною солі.

У додатковому аспекті даний винахід належить до фармацевтичних композицій, що містять сполуку за винаходом і фармацевтичний носій, ексципієнт або розріджувач. У цьому аспекті винаходу фармацевтична композиція може містити одну або декілька сполук, описуваних у даному документі. Крім того, сполуки за даним винаходом прийнятні у фармацевтичних композиціях і в способах лікування, які описуються у даному документі, усі є фармацевтично прийнятними, як отримані і використані.

У додатковому аспекті винаходу даний винахід належить до способу лікування ссавця, підданого або ураженого станом з числа перерахованих у даному документі станів, і конкретно, такий стан може бути пов'язаний з порушеною активністю JAK, наприклад, захворювання, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглоба, наприклад, остеоартрит; і/або стани, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацьким ідіопатичним артритом, колітом, запальними захворюваннями кишечника, хворобливими станами, зумовленими ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворюваннями, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уродженими мальформаціями хрящової тканини, захворюваннями, асоційованими з підвищеною секрецією IL6, і відторгненням при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата). Інгібітори JAK можуть також знайти застосування при лікуванні проліферативних захворювань. Зокрема, інгібітори JAK знайшли застосування при лікуванні злоякісних пухлин, головним чином, лейкемій і солідних пухлин (наприклад,

лейоміосаркоми матки, раку передміхурової залози). У конкретному варіанті здійснення даний винахід належить до способу лікування станів, вибраних із запалення, такого як ревматоїдний артрит, юнацький ідіопатичний артрит, псоріаз, захворювань, пов'язаних з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), запальних захворювань кишечника (наприклад, хвороба Крона, коліт), хворобливих станів, зумовлених ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності) і відторгнення органного трансплантата; і деградації або дегенерації хрящової тканини, кісткової тканини і/або суглобів, такий як остеоартрит, де спосіб включає введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або сполук, описаних у даному документі.

У додатковому аспекті даний винахід належить до способу лікування ссавців, підданих або уражених проліферативними порушеннями, зокрема злоякісною пухлиною (наприклад, солідними пухлинами), лейкої, множинною мієломою або псоріазом, де спосіб включає введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або сполук, описаних у даному документі.

У додатковому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні або запобігання стану, вибраного з тих, котрі перераховані в даному документі, конкретно, таких станів, що можуть бути асоційовані з порушеною активністю JAK, таких як захворювання, що включають деградацію хрящової тканини, деградацію кісткової тканини і/або суглобову деградацію, наприклад, остеоартрит; і/або станів, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, респіраторна алергія (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальні захворювання кишечника, хворобливих станів, зумовлених ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювань, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджені мальформації хрящової тканини, захворювань, асоційованих з підвищеною секрецією IL6, і відторгнення при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата). Інгібітори JAK можуть також знайти застосування при лікуванні проліферативних захворювань. Зокрема, інгібітори JAK знайшли застосування при лікуванні злоякісних пухлин, головним чином, лейкої і солідних пухлин (наприклад, лейоміосаркоми матки, раку передміхурової залози). У конкретному варіанті здійснення стан вибирають із запалення, такого як ревматоїдний артрит, юнацький ідіопатичний артрит, псоріаз, захворювань, пов'язаних з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), запальних захворювань кишечника (наприклад, хвороби Крона, коліту), хворобливих станів, зумовлених ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), і відторгнення органного трансплантата; і деградації або дегенерації хрящової тканини, кісткової тканини і/або суглобів, такої як остеоартрит.

У додатковому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні або запобігання проліферативних порушень, зокрема злоякісної пухлини (наприклад, солідних пухлин), лейкої, множинної мієломи або псоріазу.

У ще одному аспекті способу лікування даний винахід належить до способу лікування ссавця, підданого стану або ураженого станом, що, як описано в даному документі, причинно пов'язаним з порушеною активністю JAK і включає введення ефективної кількості лікуючої стан або попереджуючої стан однієї або декількох фармацевтичних композицій або сполук, описаних у даному документі.

У додатковому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні або запобіганні стану, що причинно пов'язаний з порушеною активністю JAK.

У додаткових аспектах даний винахід належить до способів синтезу сполук за винаходом, з типовими протоколами і шляхами синтезу, описаними нижче в даному документі.

Таким чином, основною задачею по даному винаході є створення нової серії сполук, що можуть змінювати активність JAK і в такий спосіб запобігати або лікувати будь-які захворювання, що можуть бути причинно пов'язані з JAK.

Додатковою задачею по даному винаході є створення серії сполук, що можуть лікувати або полегшувати перебіг захворювань або симптомів захворювань, таких як деградація хрящової і/або кісткової тканини і пов'язане запалення, і захворювання суглобів, що можуть бути причинно пов'язані з активністю JAK.

Ще однією задачею по даному винаході є створення фармацевтичних композицій, який можна використовувати в лікуванні або запобіганні різним хворобливим станам, що включають

захворювання, пов'язані з активністю JAK, такі як захворювання, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, наприклад, остеоартрит; і/або станів, що включають запалення або імунні відповіді, таких як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальні захворювання кишечника, хворобливі стани, зумовлені ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювання, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджені мальформації хрящової тканини, захворювання, асоційовані з підвищеною секрецією IL6, і відторгнення при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата). Інгібітори JAK можуть також знайти застосування при лікуванні проліферативних захворювань. Зокрема, інгібітори JAK знайшли застосування при лікуванні злоякісних пухлин, головним чином, лейкемій і солідних пухлин (наприклад, лейоміосаркоми матки, раку передміхурової залози). У конкретному варіанті здійснення стан вибирають із запалення, такого як хвороба Крона, ревматоїдного артрит, псоріазу, захворювань, пов'язаних з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацького ідіопатичного артрит, коліту, запальних захворювань кишечника, хворобливих станів, зумовлених ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), і відторгнення органного трансплантата; і деградації або дегенерації хрящової тканини, кісткової тканини і/або суглобів, такий як остеоартрит, або злоякісних пухлин (наприклад, солідні пухлини або лейкемії).

Інші задачі і переваги будуть очевидні фахівцям у даній галузі з розгляду наступного докладного опису.

Докладний опис винаходу

Визначення

Наступні терміни призначені для визначення значень, викладених нижче, і є корисними для розуміння опису і передбачуваного обсягу по даному винаході.

При описі винаходу, що може включати сполуки, фармацевтичні композиції, що містять такі сполуки і способи застосування таких сполук і композицій, наступні терміни, якщо присутні, мають наступні значення, якщо не зазначено інакше. Варто також розуміти, що кожна з груп, описана в даному документі, визначена нижче, може бути заміщена поруч замісників, і передбачається, що відповідні визначення включають такі заміщені групи у свій обсяг, як викладено нижче. Якщо не зазначено інакше, термін "заміщений" повинний бути визначений так, як викладено нижче. Додатково, варто розуміти, що терміни "групи" і "радикали" при використанні в даному документі можна розглядати як взаємозамінні.

Форму однини можна використовувати в даному документі відносно одного або більше одного (тобто, щонайменше одного) граматичного об'єкта. Як приклад, "аналог" означає один аналог або більше одного аналога.

"Ацил" або "Алканойл", як визначено в даному описі, належить до радикала $-C(O)R^{20}$, де R^{20} являє собою водень, C_1-C_8 алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, C_3-C_{10} циклоалкілметил, 4-10-членний гетероциклоалкіл, арил, арилалкіл, 5-10-членний гетероарил або гетероарилалкіл. Типові приклади включають як необмежувальні приклади форміл, ацетил, циклогексилкарбоніл, циклогексилметилкарбоніл, набензойл і бензилкарбоніл. Ілюстративні "ацильні" групи являють собою $-C(O)H$, $-C(O)-C_1-C_8$ алкіл, $-C(O)-(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ арил), $-C(O)-(CH_2)_t(5-10\text{-членний гетероарил})$, $-C(O)-(CH_2)_t(C_3-C_{10}$ циклоалкіл) і $-C(O)-(CH_2)_t(4-10\text{-членний гетероциклоалкіл})$, де t являє собою ціле число від 0 до 4.

"Заміщений ацил" або "Заміщений алканойл" належить до радикала $-C(O)R^{21}$, де R^{21} являє собою незалежно

- C_1-C_8 алкіл, заміщений галоген або гідрокси; або

- C_3-C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6-C_{10} арил, арилалкіл, 5-10-членний гетероарил або гетероарилалкіл, кожний з яких заміщується незаміщеним C_1-C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1-C_4 алкокси, незаміщеним C_1-C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1-C_4 гідроксyalкілом або незаміщеним C_1-C_4 галогеналкокси або гідрокси.

"Ациламіно" належить до радикала $-NR^{22}C(O)R^{23}$, де R^{22} являє собою водень, C_1-C_8 алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6-C_{10} арил, арилалкіл, 5-10-членний гетероарил або гетероарилалкіл і R^{23} являє собою водень, C_1-C_8 алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6-C_{10} арил, арилалкіл, 5-10-членний гетероарил або гетероарилалкіл, як визначено в даному документі. Ілюстративний "ациламіно" включає, як необмежувальні приклади, форміламіно, ацетиламіно, циклогексилкарбоніламіно,

циклогексилметилкарбоніламіно, бензоїламіно і бензилкарбоніламіно. Ілюстративні групи "ациламіно" являють собою $-NR^{21}C(O)-C_1-C_8$ алкіл, $-NR^{21}C(O)-(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ арил), $-NR^{21}C(O)-(CH_2)_t(5-10\text{-членний гетероарил})$, $-NR^{21}C(O)-(CH_2)_t(C_3-C_{10}\text{циклоалкіл})$ і $-NR^{21}C(O)-(CH_2)_t(4-10\text{-членний гетероциклоалкіл})$, де t являє собою ціле число від 0 до 4, кожен R^{21} представляє

5 незалежно H або C_1-C_8 алкіл.

"Заміщений ациламіно" належить до радикала $-NR^{24}C(O)R^{25}$, де

R^{24} являє собою незалежно

- H, C_1-C_8 алкіл, заміщений галоген або гідрокси; або

10 - C_3-C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6-C_{10} арил, арилалкіл, 5-10-членний гетероарил або гетероарилалкіл, кожний з яких заміщують незаміщеним C_1-C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1-C_4 алкокси, незаміщеним C_1-C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1-C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1-C_4 галогеналкокси або гідрокси; і

R^{25} являє собою незалежно

- H, C_1-C_8 алкіл, заміщений галоген або гідрокси; або

15 - C_3-C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6-C_{10} арил, арилалкіл, 5-10-членний гетероарил або гетероарилалкіл, кожний з яких заміщують незаміщеним C_1-C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1-C_4 алкокси, незаміщеним C_1-C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1-C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1-C_4 галогеналкокси або гідроксилом;

надають щонайменше один з R^{24} і R^{25} є відмінним від H.

20 "Алкокси" належить групі $-OR^{26}$ де R^{26} являє собою C_1-C_8 алкіл. Конкретні алкоксигрупи являють собою метокси, етокси, н-пропокси, ізопропокси, н-бутокси, трет-бутокси, втор-бутокси, н-пентокси, н-гексокси і 1,2-диметилбутокси. Конкретні алкоксигрупи являють собою нижчий алкокси, тобто, містять від 1 до 6 атомів вуглецю. Додатково, конкретні алкоксигрупи містять від 1 до 4 атомів вуглецю.

25 "Заміщений алкокси" належить до алкоксигрупи, заміщеної одним або декількома з тих груп, що перераховані у визначенні "заміщений" у даному документі, і конкретно належить до алкоксигрупи, що містить 1 або більше замісників, наприклад від 1 до 5 замісників і зокрема, від 1 до 3 замісників, зокрема, 1 замісник, вибраний із групи, що складає з аміно, заміщеного аміно, C_6-C_{10} арилу, -O-арилу, карбоксилу, ціано, C_3-C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, галогену, 5-10-членного гетероарилу, гідроксилу, нітро, тіоалкокси, тіо-O-арилу, тіолу, алкіл-S(O)-, арил-S(O)-, алкіл-S(O)₂- і арил-S(O)₂-. Ілюстративні "заміщений алкоксигрупи" являють собою -O-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ арил), -O-(CH₂)_t(5-10-членний гетероарил), -O-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ циклоалкіл), і -O-(CH₂)_t(4-10-членний гетероциклоалкіл), де t являє собою ціле число від 0 до 4 і будь-які присутні арильні, гетероарильні, циклоалкільні або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C_1-C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1-C_4 алкокси, незаміщеним C_1-C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1-C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1-C_4 галогеналкокси або гідрокси. Конкретні ілюстративні "заміщені алкокси" групи являють собою OCF₃, OCH₂CF₃, OCH₂Ph, OCH₂-циклопропіл, OCH₂CH₂OH, OCH₂CH₂NMe₂.

40 "Алкоксикарбоніл" належить до радикала $-C(O)-OR^{27}$, де R^{27} являє собою C_1-C_8 алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, C_3-C_{10} циклоалкілалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкілалкіл, аралкіл, або 5-10-членний гетероарилалкіл, як визначено в даному документі. Ілюстративні "алкоксикарбонільні" групи являють собою C(O)O- C_1-C_8 алкіл, C(O)O-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ арил), C(O)O-(CH₂)_t(5-10-членний гетероарил), C(O)O-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ циклоалкіл) і C(O)O-(CH₂)_t(4-10-членний гетероциклоалкіл), де t являє собою ціле число від 1 до 4.

45 "Заміщений алкоксикарбоніл" належить до радикала $-C(O)-OR^{28}$, де R^{28} являє собою

- C_1-C_8 алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, C_3-C_{10} циклоалкілалкіл або 4-10-членний гетероциклоалкілалкіл, кожний з яких заміщують галогеном, заміщеним або незаміщеним аміно, або гідрокси; або

50 - C_6-C_{10} аралкіл або 5-10-членний гетероарилалкіл, кожний з яких заміщують незаміщеним C_1-C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1-C_4 алкокси, незаміщеним C_1-C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1-C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1-C_4 галогеналкокси або гідроксилом.

55 "Алкіл" означає прямий або розгалужений аліфатичний вуглеводень, що містить від 1 до 20 атомів вуглецю. Конкретний алкіл містить від 1 до 12 атомів вуглецю. Більш конкретно, являє собою нижчий алкіл, що містить від 1 до 6 атомів вуглецю. Додаткові конкретні групи містять від 1 до 4 атомів вуглецю. Ілюстративні групи, що утворюють прямий ланцюжок включають метил, етил, н-пропіл і н-бутил. Розгалужений означає, що одна або декілька нижчих алкільних груп, таких як метил, етил, пропіл або бутил, приєднана до лінійного алкільного ланцюга, ілюстративні групи з розгалуженим ланцюгом включають ізопропіл, ізобутил, трет-бутил і ізоаміл.

"Заміщений алкіл" належить до алкільної групи, як визначено вище, заміщеної однією або декількома з тих груп, що у даному документі перераховані у визначенні "заміщений", і, зокрема, належить до алкільної групи, що має 1 або більше замісників, наприклад, від 1 до 5 замісників, і зокрема, від 1 до 3 замісників, зокрема 1 замісник, вибраний із групи, що складається з ацилу, ациламіно, ацилокси (-O-ацилу або -OC(O)R²⁰), алкокси, алкоксикарбонілу, алкоксикарбоніламіно (-NR"-алкоксикарбонілу або -NH-C(O)-OR²⁷), аміно, заміщеного аміно, амінокарбонілу (карбамоїлу або амідно або -C(O)-NR²), амінокарбоніламіно (-NR"-C(O)-NR²), амінокарбонілокси (-O-C(O)-NR²), аміносульфонілу, сульфоніламіно, арилу, -O-арилу, азидо, карбоксилу, ціано, циклоалкілу, галогену, гідрокси, гетероарилу, нітро, тіолу, -S-алкілу, -S-арилу, -S(O)-алкілу, -S(O)-арилу, -S(O)₂-алкілу і -S(O)₂-арилу. У конкретному варіанті здійснення "заміщений алкіл" належить до C₁-C₈ алкільної групи, заміщеної галогеном, ціано, нітро, трифторметилом, трифторметокси, азидо, -NR³³SO₂R³³, -SO₂NR³³R³³, -C(O)R³³, -C(O)OR³³, -OC(O)R³³, -NR³³C(O)R³³, -C(O)NR³³R³³, -NR³³R³³ або -(CR³³R³³)_mOR³³; де кожен R³³ незалежно вибирають з H, C₁-C₈ алкілу, -(CH₂)_t(C₆-C₁₀ арил), -(CH₂)_t(5-10-членний гетероарил), -(CH₂)_t(C₃-C₁₀ циклоалкіл) і -(CH₂)_t(4-10-членний гетероциклоалкіл), де t являє собою ціле число від 0 до 4 і будь-який представлений арил, гетероарил, циклоалкіл або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C₁-C₄ алкілом, галогеном, незаміщеним C₁-C₄ алкокси, незаміщеним C₁-C₄ галогеналкілом, незаміщеним C₁-C₄ гідроксialкілом або незаміщеним C₁-C₄ галогеналкокси або гідрокси. Кожний з R³³ і R³³ незалежно являє собою H або C₁-C₈ алкіл.

"Аміно" належить до радикала -NH₂.

"Заміщений аміно" належить до аміногрупи, заміщеної однією або декількома тими групами, що перераховані в даному документі у визначенні "заміщений" і зокрема належить до групи -N(R³³)₂, де кожен з R³³ незалежно вибирають з

- водню, C₁-C₈ алкілу, C₆-C₁₀ арилу, 5-10-членного гетероарилу, 4-10-членного гетероциклоалкілу або C₃-C₁₀ циклоалкілу; або

- C₁-C₈ алкілу, заміщеного або галогену гідрокси; або
 - -(CH₂)_t(C₆-C₁₀ арилу), -(CH₂)_t(5-10-членного гетероарилу), -(CH₂)_t(C₃-C₁₀ циклоалкілу) або -(CH₂)_t(4-10-членного гетероциклоалкілу), де t являє собою ціле число від 0 до 8, кожний з яких заміщують незаміщеним C₁-C₄ алкілом, галогеном, незаміщеним C₁-C₄ алкокси, незаміщеним C₁-C₄ галогеналкілом, незаміщеним C₁-C₄ гідроксialкілом або незаміщеним C₁-C₄ галогеналкокси або гідрокси; або

- обидві групи R³³ з'єднують з утворенням алкіленової групи, де обидві групи R³³ являють собою водень, -N(R³³)₂ являє собою аміногрупу. Ілюстративні "заміщені аміно" групи являють собою -NR³³-C₁-C₈ алкіл, -NR³³-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ арил), -NR³³-(CH₂)_t(5-10-членний гетероарил), -NR³³-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ циклоалкіл) і -NR³³-(CH₂)_t(4-10-членний гетероциклоалкіл), де t являє собою ціле число від 0 до 4, де R³³ незалежно являє собою H або C₁-C₈ алкіл; і будь-які представлені алкільні групи, можуть бути самі заміщені галогеном, заміщеним або незаміщеним аміно або гідрокси; і будь-яким арилом, гетероариллом, циклоалкілом або представленим гетероциклоалкільні групи можуть бути самі заміщені незаміщеним C₁-C₄ алкілом, галогеном, незаміщеним C₁-C₄ алкокси, незаміщеним C₁-C₄ галогеналкілом, незаміщеним C₁-C₄ гідроксialкілом або незаміщеним C₁-C₄ галогеналкокси або гідрокси.

"Аміносульфоніл" або "сульфонамід" належить до радикала -S(O₂)NH₂.

"Заміщений аміносульфоніл" або "заміщений сульфонамід" належить до радикала, такого як -S(O₂)N(R⁴⁸)₂, де кожен R⁴⁸ незалежно вибирають з

- H, C₁-C₈ алкілу, C₃-C₁₀ циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C₆-C₁₀ арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу і гетероаралкілу; або

- C₁-C₈ алкілу, заміщеного або галогену гідрокси; або
 - C₃-C₁₀ циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C₆-C₁₀ арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу або гетероаралкілу, заміщеного незаміщеним C₁-C₄ алкілом, галогеном, незаміщеним C₁-C₄ алкокси, незаміщеним C₁-C₄ галогеналкілом, незаміщеним C₁-C₄ гідроксialкілом або незаміщеним C₁-C₄ галогеналкокси або гідрокси;

за умови, що щонайменше один R⁴⁸ є відмінним від H.

Ілюстративні групи "заміщеного аміносульфонілу" або "заміщеного сульфонамід" являють собою -S(O₂)N(R⁴⁸)-C₁-C₈ алкіл, -S(O₂)N(R⁴⁸)-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ арил), -S(O₂)N(R⁴⁸)-(CH₂)_t(5-10-членний гетероарил), -S(O₂)N(R⁴⁸)-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ циклоалкіл) і -S(O₂)N(R⁴⁸)-(CH₂)_t(4-10-членний гетероциклоалкіл), де t являє собою ціле число від 0 до 4; де R⁴⁸ незалежно являє собою H або C₁-C₈ алкіл; і будь-які представлені групи арилу, гетероарилу, циклоалкілу або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C₁-C₄ алкілом, галогеном,

незаміщеним C_1-C_4 алкокси, незаміщеним C_1-C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1-C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1-C_4 галогеналкокси або гідрокси.

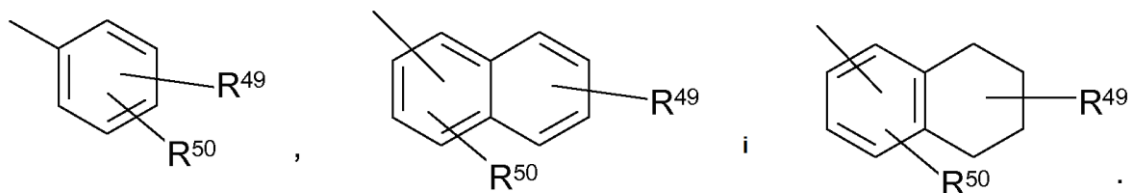
"Аралкіл" або "арилалкіл" належить до алкільної групи, як визначено вище, заміщеної однією або декількома арильними групами, як визначено вище. Конкретні аралкільні або

"Заміщений аралкіл" або "заміщений арилалкіл" належить до алкільної групи, як визначено вище, заміщеної однією або декількома арильними групами; і щонайменше одна з будь-яких представлених арильних груп, може бути сама заміщена незаміщеним C_1-C_4 алкілом, галогеном, ціано, незаміщеним C_1-C_4 алкокси, незаміщеним C_1-C_4 галогеналкілом, незаміщеним

"Арил" належить до моновалентної ароматичної вуглеводневої групи, отриманої за допомогою видалення одного атома водню від одного атома вуглецю батьківської ароматичної системи кілець. Зокрема, арил належить до ароматичної кільцевої структури, моноциклічної або поліциклічної, котра включає від 5 до 12 атомів у кільці, здебільшого від 6 до 10. Якщо арильна група являє собою моноциклічну кільцеву систему, вона, переважно, містить 6 атомів вуглецю. Типові арильні групи включають, але не обмежуються ними, групи, отримані з ацеантрилену, аценафтилену, ацефенантрилену, антрацену, азулену, бензолу, хризену, коронену, флуорантену, флуорену, гексацену, гексафену, гексалену, ас-індацену, с-індацену, індану, індену, нафталіну, октацену, октафену, окталену, овалену, пента-2,4-дієну, пентацену, пенталену, пентафену, перилену, феналену, фенантрену, піцену, пляєдену, пірену, пірантрену, рубіцену, трифенілену і тринафталіну. Конкретні арильні групи включають феніл, нафтил, інденіл і тетрагідронафтил.

"Заміщений арил" належить до арильної групи, заміщеної однією або декількома з тих груп, що у даному документі перераховані у визначенні "заміщений", і, зокрема, належить до арильної групи, яку можна заміщувати, необов'язково, 1 або більше замісників, наприклад, від 1 до 5 замісників, зокрема, від 1 до 3 замісників, зокрема 1 замісником. Зокрема, "заміщений арил" належить до арильної групи, заміщеної однією або декількома групами, вибраними з галогену, C_1-C_8 алкілу, C_1-C_8 галогеналкілу, C_1-C_8 галогеналкокси, ціано, гідрокси, C_1-C_8 алкокси й аміно.

Приклади відповідних заміщених арилів включають наступні



У цих формулах один з R^{49} і R^{50} може являти собою водень і щонайменше один з R^{49} і R^{50} кожен незалежно вибирають з C_1-C_8 алкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, алканолу, C_1-C_8 алкокси, гетеро-О-арилу, алкіламіно, ариламіно, гетероариламіно, $NR^{51}COR^{52}$, $NR^{51}SOR^{52}$, $NR^{51}SO_2R^{52}$, COO алкілу, COO арилу, $CONR^{51}R^{52}$, $CONR^{51}OR^{52}$, $NR^{51}R^{52}$, $SO_2NR^{51}R^{52}$, S-алкілу, SO алкілу, SO_2 алкілу, Sарилу, SO арилу, SO_2 арилу; або R^{49} і R^{50} можна з'єднувати з утворенням циклічної сполуки з від 5 до 8 атомів, що утворюють кільце (насиченого або ненасиченого), що необов'язково містить один або декілька гетероатомів, вибраних із групи N, O або S. R^{51} і R^{52} незалежно являють собою водень, C_1-C_8 алкіл, C_1-C_4 галогеналкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6-C_{10} арил, заміщений арил, 5-10-членний гетероарил.

"Арилалкілокси" належить до радикала -О-алкіларил, де алкіларил являє собою те, що визначено в даному документі.

"Заміщений арилалкілокси" належить до радикала -О-алкіларил, де алкіларил представляє собою те, що визначено в даному документі; і будь-які представлені арильні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C_1-C_4 алкілом, галогеном, ціано, незаміщеним C_1-C_4 алкокси, незаміщеним C_1-C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1-C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1-C_4 галогеналкокси або гідрокси.

"Азидо" належить до радикала $-N_3$.

"Карбамоїл або амід" належить до радикала $-C(O)NH_2$.

"Заміщений карбамоїл або заміщений амід" належить до радикала $-C(O)N(R^{53})_2$, де кожен R^{53} являє собою незалежно

- H, C_1-C_8 алкіл, C_3-C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6-C_{10} арил, аралкіл, 5-10-членний гетероарил, і гетероаралкіл; або

- C_1-C_8 алкіл, заміщений галоген або гідрокси; або

- C₃-C₁₀ циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C₆-C₁₀ арил, аралкіл, 5-10-членний гетероарил, або гетероаралкіл, кожний з яких заміщують незаміщеним C₁-C₄ алкілом, галогеном, незаміщеним C₁-C₄ алкокси, незаміщеним C₁-C₄ галогеналкілом, незаміщеним C₁-C₄ гідроксіалкілом або незаміщеним C₁-C₄ галогеналкокси або гідрокси;

5 за умови, що щонайменше один R⁵³ є відмінним від H.

Ілюстративні групи "заміщені амідо/карбамоїл" являють собою -C(O)NR^{53'}-C₁-C₈ алкіл, -C(O)NR^{53'}-(CH₂)_t(C₆-C₁₀ арил), -C(O)N^{53'}-(CH₂)_t(5-10-членний гетероарил), -C(O)NR^{53'}-(CH₂)_t(C₃-C₁₀ циклоалкіл) і -C(O)NR^{53'}-(CH₂)_t(4-10-членний гетероциклоалкіл), де t являє собою ціле число від 0 до 4, де R^{53'} незалежно являє собою H або C₁-C₈ алкіл і будь-які представлені групи арилу, гетероарилу, циклоалкілу або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C₁-C₄ алкілом, галогеном, незаміщеним C₁-C₄ алкокси, незаміщеним C₁-C₄ галогеналкілом, незаміщеним C₁-C₄ гідроксіалкілом або незаміщеним C₁-C₄ галогеналкокси або гідрокси.

"Карбокси" належить до радикала -C(O)OH.

15 "Циклоалкіл" належить до циклічних неароматичних алкільних груп, що мають від 3 до 10 атомів вуглецю. Такі циклоалкільні групи включають, як приклад, окремі кільцеві структури, такі як циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил і циклооктил.

"Заміщений циклоалкіл" належить до циклоалкільної групи, як визначено вище, заміщеної однією або декількома тими групами, що перераховані у визначенні "заміщений" у даному документі, і, зокрема, належить до циклоалкільної групи, що має 1 або більше замісників, 20 наприклад від 1 до 5 замісників, і зокрема, від 1 до 3 замісників, зокрема, 1 замісник.

"Ціано" належить до радикала -CN.

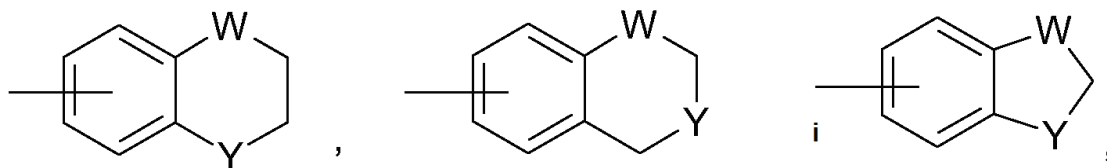
"Галоген" належить до фтору (F), хлору (Cl), бром (Br) і йоду (I). Конкретні галогенгрупи являють собою або фтор, або хлор.

25 "Гетеро" при використанні для опису сполуки або групи, що присутні у сполуці, означає, що один або декілька атомів вуглецю в сполуці або групі заміщені гетероатомами азоту, кисню або сірки. Гетеро можна застосовувати для будь-яких гідрокарбильних груп, описаних вище, таких як алкіл, наприклад, гетероалкіл, циклоалкіл, наприклад, гетероциклоалкіл, арил, наприклад, гетероарил, циклоалкеніл, наприклад циклогетероалкеніл, і т. п., що мають від 1 до 5, і зокрема, 30 від 1 до 3 гетероатомів.

"Гетероарил" означає ароматичну кільцеву структуру, моноциклічну або поліциклічну, котра включає один або декілька гетероатомів і від 5 до 12 елементів, що утворюють кільце, здебільшого від 5 до 10 елементів, що утворюють кільце. Гетероарильна група може, наприклад, являти собою п'ятичленну або шестичленну моноциклічну або біциклічну кільцеву 35 структуру, утворену з конденсованих п'яти- і шестичленних кілець або двох конденсованих шестичленних кілець, або як приклад, двох конденсованих п'ятичленних кілець. Кожне кільце може містити аж до чотирьох гетероатомів, вибраних, як правило, з азоту, сірки і кисню. Як правило, гетероарильне кільце буде містити аж до 4 гетероатомів, здебільшого аж до 3 гетероатомів, здебільшого аж до 2, наприклад, один гетероатом. В одному з варіантів здійснення гетероарильне кільце містить у кільці щонайменше один атом азоту. Атоми азоту в гетероарильних кільцях можуть виявляти властивості основи, як у випадку імідазолу або піридину, або, по суті, бути неосновними, як у випадку індолу або пірольного азоту. В основному, число атомів азоту з властивостями основи, представленими в гетероарильній групі, включаючи будь-які замісники аміногрупи кільця, будуть являти собою менше ніж п'ять. 45 Приклади п'ятичленних моноциклічних гетероарильних груп включають, але не обмежуються ними, пірол, фуран, тіофен, імідазол, фуразан, оксазол, оксадіазол, оксатриазол, ізоксазол, тіазол, ізотіазол, піразол, триазол і тетразолні групи. Приклади шестичленних моноциклічних гетероарильних груп включають, але не обмежуються ними, піридин, піразин, піридазин, піримідин і триазин. Конкретні приклади біциклічних гетероарильних груп, що містять 50 п'ятичленне кільце, конденсоване з іншим п'ятичленним кільцем, включають, але не обмежуються ними, імідазотіазол і імідазоімідазол. Конкретні приклади біциклічних гетероарильних груп, що містять шестичленне кільце, конденсоване з п'ятичленним кільцем включають, але не обмежуються ними, бензфуран, бензтіофен, бензімідазол, бензоксазол, ізобензоксазол, бензізоксазол, бензтіазол, бензізотіазол, ізобензофуран, індол, ізоіндол, ізоіндолон, індолізін, індолін, ізоіндолін, пурин (наприклад, аденін, гуанін), індазол, піразолопіримідин, триазолопіримідин, бензодіоксол і піразолопіридинової групи. Конкретні приклади біциклічних гетероарильних груп, що містять два конденсованих шестичленних кілець включають, але не обмежуються ними, хінолін, ізохінолін, хроман, тіохроман, хромен, ізохромен, хроман, ізохроман, бензодіоксан, хінолізин, бензоксазин, бензодіазин, піридопіридин, 60 хіноксалін, хіназолін, цинолін, фталазін, нафтиридинові і птеридинові групи. Конкретні

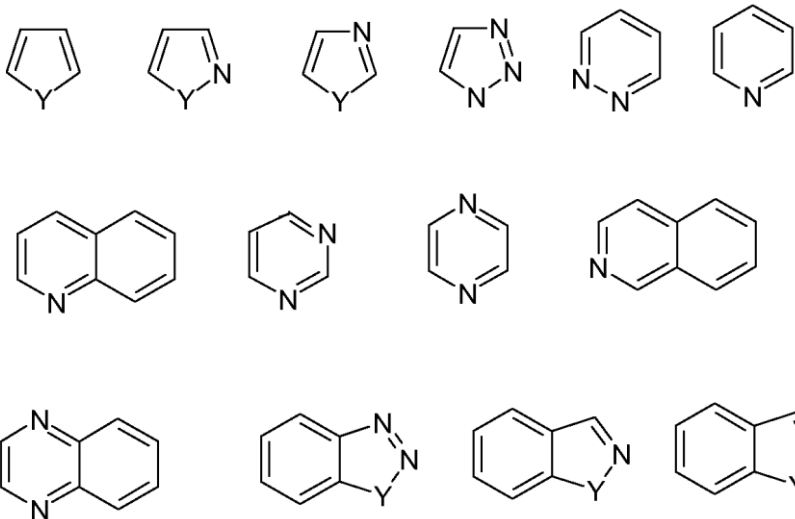
гетероарильні групи являють собою ті, котрі отримані з тіофену, піролу, бензотіофену, бензофурану, індолу, піридину, хіноліну, імідазолу, оксазолу і піразину.

Приклади типового арилу, що має гетероатоми, які містять заміну, включають наступне:



- 5 де кожен W вибирають з $C(R^{54})_2$, NR^{54} , O і S; і кожен Y вибирають з карбонілу, NR^{54} , O і S; і R^{54} незалежно являє собою водень, C_1 - C_8 алкіл, C_3 - C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6 - C_{10} арил і 5-10-членний гетероарил.

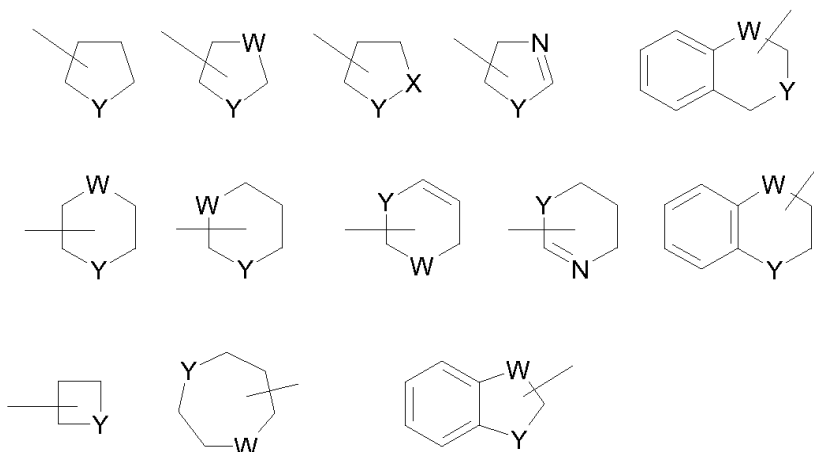
Приклади типових гетероарилів включають наступні:



- 10 де кожен Y вибирають з карбонілу, N, NR^{55} , O і S; і R^{55} незалежно являє собою водень, C_1 - C_8 алкіл, C_3 - C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6 - C_{10} арил і 5-10-членний гетероарил.

Як застосовують у даному документі, термін "гетероциклоалкіл" належить до 4-10-членного, стабільного гетероциклічного неароматичного кільця і/або, що включає конденсовані кільця, які містять один або декілька гетероатомів, незалежно вибраних з N, O і S. Конденсована

- 15 гетероциклічна система кілець може включати карбоциклічні кільця, і необхідно тільки включити одне гетероциклічне кільце. Приклади гетероциклічних кілець включають, але не обмежуються ними, морфолін, піперидин (наприклад, 1-піперидиніл, 2-піперидиніл, 3-піперидиніл і 4-піперидиніл), піролідін (наприклад, 1-піролідиніл, 2-піролідиніл і 3-піролідиніл), піролідон, піран (2H-піран або 4H-піран), дигідротіофен, дигідропіран, дигідрофуран, дигідротіазол, 20 тетрагідрофуран, тетрагідротіофен, діоксан, тетрагідропіран (наприклад, 4-тетрагідропіраніл), імідазолін, імідазолідинон, оксазолін, тіазолін, 2-піразолін, піразолідін, піперазин і N-алкілпіперазини, такі як N-метилпіперазин. Додаткові приклади включають тіоморфолін і його S-оксид і S, S-діоксид (зокрема, тіоморфолін). Ще додаткові приклади включають азетидин, піперидон, піперазон і N-алкілпіперидини, такі як N-метилпіперидин. Конкретні приклади 25 гетероциклоалкільних груп показані в наступних ілюстративних прикладах:



де кожен W вибирають з CR^{56} , $C(R^{56})_2$, NR^{56} , O і S; і кожен Y вибирають з NR^{56} , O і S; і R^{56} незалежно являють собою водень, C_1 - C_8 алкіл, C_3 - C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, C_6 - C_{10} арил, 5-10-членний гетероарил. Ці гетероциклоалкільні кільця необов'язково можуть бути заміщені однієї або декількома групами, вибраними з групи, що складається з ацилу, ациламіно, ацилокси ($-O$ -ацил або $-OC(O)R^{20}$), алкокси, алкоксикарбонілу, алкоксикарбоніламіно ($-NR''$ -алкоксикарбоніл або $-NH-C(O)-OR^{27}$), аміно, заміщеного аміно, амінокарбонілу (амідо або $-C(O)-NR''_2$), амінокарбоніламіно ($-NR''-C(O)-NR''_2$), амінокарбонілокси ($-O-C(O)-NR''_2$), аміносульфонілу, сульфоніламіно, арилу, $-O$ -арилу, азидо, карбоксилу, ціано, циклоалкілу, галогену, гідрокси, нітро, тіолу, $-S$ -алкілу, $-S$ -арилу, $-S(O)$ -алкіл, $-S(O)$ -арилу, $-S(O)_2$ -алкілу і $-S(O)_2$ -арилу. Заміщуючі групи включають карбоніл або тіокарбоніл, що утворюють, наприклад, похідні лактаму і сечовини.

"Гідрокси" належить до радикала $-OH$.

"Нітро" належить до радикала $-NO_2$.

"Заміщений" належить до групи, у якій один або кілька атомів водню, кожен незалежно, замінюють однаковими або різними замісниками. Типові замісники можуть бути вибрані з групи, що складається з

галогену, $-R^{57}$, $-O-$, $=O$, $-OR^{57}$, $-SR^{57}$, $-S-$, $=S$, $-NR^{57}R^{58}$, $=NR^{57}$, $-CCl_3$, $-CF_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-S(O)_2O-$, $-S(O)_2OH$, $-S(O)_2R^{57}$, $-OS(O)_2O-$, $-OS(O)_2R^{57}$, $-P(O)(O)_2$, $-P(O)(OR^{57})(O-)$, $-OP(O)(OR^{57})(OR^{58})$, $-C(O)R^{57}$, $-C(S)R^{57}$, $-C(O)OR^{57}$, $-C(O)NR^{57}R^{58}$, $-C(O)O-$, $-C(S)OR^{57}$, $-NR^{59}C(O)NR^{57}R^{58}$, $-NR^{59}C(S)NR^{57}R^{58}$, $-NR^{60}C(NR^{59})NR^{57}R^{58}$ і $-C(NR^{59})NR^{57}R^{58}$;

де кожен R^{57} , R^{58} , R^{59} і R^{60} незалежно являє собою:

- водень, C_1 - C_8 алкіл, C_6 - C_{10} арил, арилалкіл, C_3 - C_{10} циклоалкіл, 4-10-членний гетероциклоалкіл, 5-10-членний гетероарил, гетероарилалкіл; або

- C_1 - C_8 алкіл, заміщений галоген або гідрокси; або

- C_6 - C_{10} арил, 5-10-членний гетероарил, C_6 - C_{10} циклоалкіл або 4-10-членний гетероциклоалкіл, заміщений незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси.

У конкретному варіанті здійснення заміщувані групи заміщують одним або декількома замісниками, зокрема, від 1 до 3 замісників, зокрема, однією заміщуючою групою.

У додатковому конкретному варіанті здійснення заміщувану групу або групи вибирають з галогену, ціано, нітро, трифторметилу, трифторметокси, азидо, $-NR'''SO_2R''$, $-SO_2NR'''R''$, $-C(O)R''$, $-C(O)OR''$, $-OC(O)R''$, $-NR'''C(O)R''$, $-C(O)NR'''R''$, $-NR'''R''$, $-(CR'''R'')_mOR'''$, де, кожен R'' незалежно вибирають з H, C_1 - C_8 алкілу, $-(CH_2)_t(C_6-C_{10}$ арилу), $-(CH_2)_t(5-10-членного$ гетероарилу), $-(CH_2)_t(C_3-C_{10}$ циклоалкілу) і $-(CH_2)_t(4-10-членного$ гетероциклоалкілу), де t являє собою ціле число від 0 до 4; і

- будь-яка представлена алкільна група може бути сама заміщена галогеном або гідрокси; і

- будь-які представлені арильні, гетероарильні, циклоалкільні або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси. Кожен R'' незалежно являє собою H або C_1 - C_6 алкіл.

"Заміщений сульфаніл" належить до групи $-SR^{61}$, де R^{61} вибирають з

- C_1 - C_8 алкілу, C_3 - C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C_6 - C_{10} арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу і гетероаралкілу; або

- C_1 - C_8 алкілу, заміщеного галогену, заміщеним або незаміщеним аміно, або гідрокси; або

- C_3 - C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C_6 - C_{10} арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу або гетероаралкілу, кожний з яких заміщують незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси.

5 Ілюстративні "заміщені сульфанільні" групи являють собою $-S-(C_1-C_8 \text{ алкіл})$ і $-S-(C_3-C_{10} \text{ циклоалкіл})$, $-S-(CH_2)_t(C_6-C_{10} \text{ арил})$, $-S-(CH_2)_t(5\text{-}10\text{-членний гетероарил})$, $-S-(CH_2)_t(C_3-C_{10} \text{ циклоалкіл})$ і $-S-(CH_2)_t(4\text{-}10\text{-членний гетероциклоалкіл})$, де t являє собою ціле число від 0 до 4 і будь-які представлені арильні, гетероарильні, циклоалкільні або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, 10 незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси.

"Заміщений сульфініл" належить до групи $-S(O)R^{68}$, де R^{68} вибирають з

- C_1 - C_8 алкілу, C_3 - C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C_6 - C_{10} арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу і гетероаралкілу; або

15 - C_1 - C_8 алкілу, заміщеного галогеном, заміщеним або незаміщеним аміно, або гідрокси; або
- C_3 - C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C_6 - C_{10} арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу або гетероаралкілу, заміщеного незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси.

20 Ілюстративні "заміщені сульфінільні" групи являють собою $-S(O)-(C_1-C_8 \text{ алкіл})$ і $-S(O)-(C_3-C_{10} \text{ циклоалкіл})$, $-S(O)-(CH_2)_t(C_6-C_{10} \text{ арил})$, $-S(O)-(CH_2)_t(5\text{-}10\text{-членний гетероарил})$, $-S(O)-(CH_2)_t(C_3-C_{10} \text{ циклоалкіл})$ і $-S(O)-(CH_2)_t(4\text{-}10\text{-членний гетероциклоалкіл})$, де t являє собою ціле число від 0 до 4 і будь-які представлені арильні, гетероарильні, циклоалкільні або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, 25 незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси.

"Заміщений сульфоніл" належить до групи $-S(O)_2R^{75}$, де R^{75} вибирають з

- C_1 - C_8 алкілу, C_3 - C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C_6 - C_{10} арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу і гетероаралкілу; або

30 - C_1 - C_8 алкілу, заміщеного галогеном, заміщеного або незаміщеного аміно або гідрокси; або
- C_3 - C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C_6 - C_{10} арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу або гетероаралкілу, кожний з яких заміщують незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси.

35 Ілюстративні "заміщені сульфонільні" групи являють собою $-S(O)_2-(C_1-C_8 \text{ алкіл})$ і $-S(O)_2-(C_3-C_{10} \text{ циклоалкіл})$, $-S(O)_2-(CH_2)_t(C_6-C_{10} \text{ арил})$, $-S(O)_2-(CH_2)_t(5\text{-}10\text{-членний гетероарил})$, $-S(O)_2-(CH_2)_t(C_3-C_{10} \text{ циклоалкіл})$ і $-S(O)_2-(CH_2)_t(4\text{-}10\text{-членний гетероциклоалкіл})$, де t являє собою ціле число від 0 до 4 і будь-які представлені арильні, гетероарильні, циклоалкільні або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, 40 незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси.

"Сульфо" або "сульфонова кислота" належить до радикала, такому як $-SO_3H$.

"Заміщений сульфо" або "складний ефір сульфонової кислоти" належить до групи $-S(O)_2OR^{82}$, де R^{82} вибирають з

45 - C_1 - C_8 алкілу, C_3 - C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C_6 - C_{10} арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу і гетероаралкілу; або

- C_1 - C_8 алкілу, що заміщений галогеном, заміщеним або незаміщеним аміно або гідрокси; або

50 - C_3 - C_{10} циклоалкілу, 4-10-членного гетероциклоалкілу, C_6 - C_{10} арилу, аралкілу, 5-10-членного гетероарилу або гетероаралкілу, кожний з яких заміщений незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або гідрокси.

Ілюстративні "заміщені сульфогрупи" або "складні ефіри сульфонової кислоти" являють собою $-S(O)_2-O-(C_1-C_8 \text{ алкіл})$ і $-S(O)_2-O-(C_3-C_{10} \text{ циклоалкіл})$, $-S(O)_2-O-(CH_2)_t(C_6-C_{10} \text{ арил})$, $-S(O)_2-O-(CH_2)_t(5\text{-}10\text{-членний гетероарил})$, $-S(O)_2-O-(CH_2)_t(C_3-C_{10} \text{ циклоалкіл})$ і $-S(O)_2-O-(CH_2)_t(4\text{-}10\text{-членний гетероциклоалкіл})$, де t являє собою ціле число від 0 до 4 і будь-які представлені арильні, гетероарильні, циклоалкільні або гетероциклоалкільні групи, можуть бути самі заміщені 55 незаміщеним C_1 - C_4 алкілом, галогеном, незаміщеним C_1 - C_4 алкокси, незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкілом, незаміщеним C_1 - C_4 гідроксіалкілом або незаміщеним C_1 - C_4 галогеналкокси або 60 гідрокси.

"Тіол" належить до групи -SH.

Фахівцям у даній галузі органічного синтезу буде зрозуміло, що максимальне число гетероатомів у стабільному, хімічно можливому гетероциклическому кільці, будь воно ароматичним або неароматичним, визначається розміром кільця, ступенем ненасиченості і валентністю гетероатомів. В основному, гетероциклическе кільце може мати від одного до чотирьох гетероатомів за умови, що гетероароматичне кільце є хімічно можливим і стабільним.

"Фармацевтично прийнятний" означає схвалений або такий, що заслуговує схвалення федеральною регулюючою організацією або урядом держави, або відповідною організацією в країнах, відмінних від Сполучених Штатів Америки, або той, котрий перерахований у фармакопеї США або в іншій загальновизнаній фармакопеї для застосування на тваринах, і більш конкретно, на людях.

"Фармацевтично прийнятна сіль" належить до солі сполуки за винаходом, що є фармацевтично прийнятною і містить необхідну фармакологічну активність вихідної сполуки. Зокрема, такі солі є нетоксичними, можуть являти собою неорганічні або органічні кислотно-адитивні солі й основно-адитивні солі. Конкретно, такі солі включають: (1) кислотно-адитивні солі, утворені з неорганічними кислотами, такими як соляна кислота, бромистоводнева кислота, сірчана кислота, азотна кислота, фосфорна кислота, і т. п.; або утворені з органічними кислотами, такими як оцтова кислота, пропіонова кислота, гексанова кислота, циклопентанпропіонова кислота, гліколева кислота, піровиноградна кислота, молочна кислота, малінова кислота, бурштинова кислота, яблучна кислота, малеїнова кислота, фумарова кислота, винна кислота, лимонна кислота, бензойна кислота, 3-(4-гідроксинабензоїл)бензойна кислота, корична кислота, мигдальна кислота, метансульфонова кислота, етансульфонова кислота, 1,2-етан-дисульфонова кислота, 2-гідроксіетансульфонова кислота, бензолсульфонова кислота, 4-хлорбензолсульфонова кислота, 2-нафталінсульфонова кислота, 4-толуолсульфонова кислота, камфорсульфонова кислота, 4-метилбіцикло[2.2.2]-окт-2-ен-1-карбонова кислота, глюконеоптонова кислота, 3-фенілпропіонова кислота, триметилоцтова кислота, третично-бутилоцтова кислота, лаурилсірчана кислота, глюконова кислота, глутамінова кислота, гідроксинафтоїна кислота, саліцилова кислота, стеаринова кислота, муконова кислота, і т. п.; або (2) солі, утворені, коли кислотний протон, представлений у вихідній сполуці, або замінений іоном металу, наприклад, іоном лужного металу, лужноземельним іоном, або іоном алюмінію; або координує з органічною основою, такою як етаноламін, діетаноламін, триетаноламін, N-метилглюкамін і т. п. Солі додатково включають, тільки як приклад, натрій, калій, кальцій, магній, амоній, тетраалкіламоній і т. п.; і, коли сполука містить основну функцію, солі нетоксичних органічних або неорганічних кислот, таких як гідрохлорид, гідробромід, сіль винної кислоти, мезилат, ацетат, малеат, оксалат і т. п. Термін "фізіологічно прийнятний катіон" означає нетоксичний, фізіологічно прийнятний катіонний протіон кислоти функціональної групи. Такі катіони ілюструються катіонами натрію, калію, кальцію, магнію, амонію і тетраалкіламонію і т. п.

"Фармацевтично прийнятне середовище для лікарського засоби" належить до розріджувача, ад'юванта, ексципієнта або носія, з яким вводять сполуку за винаходом.

"Проліки" належать до сполук, що включають похідні сполук за винаходом, що мають групи, які розщеплюються, і стають за допомогою сольволізу або у фізіологічних умовах сполуками за винаходом, що є фармацевтично активними *in vivo*. Такі приклади включають, як необмежувальні приклади, похідні холінових складних ефірів і т. п., складних ефірів N-алкілморфоліну і т. п.

"Сольват" належить до форм сполуки, яку зв'язують з розчинником, як правило, за допомогою реакції сольволізу. Це фізичне зв'язування включає утворення водневих зв'язків. Загальноприйняті розчинники включають воду, етанол, оцтову кислоту і т. п. Сполуки за винаходом можна одержувати, наприклад, у кристалічній формі і можна піддавати сольватуванню або гідратуванню. Прийнятні сольвати включають фармацевтично прийнятні сольвати, такі як гідрати, і додатково включають і стехіометричні сольвати, і нестехіометричні сольвати. У деяких випадках сольвати будуть здатні до відокремлення, наприклад, коли одна або декілька молекул розчинника вбудовуються в кристалічні ґрати кристалічного твердого тіла. "Сольват" включає і фазу розчину і відособлені сольвати. Типові сольвати включають гідрати, етанолати і метанолати.

"Суб'єкт" включає людей. Терміни "людина", "пацієнт" і "суб'єкт" у даному документі використовують взаємозамінно.

"Терапевтично ефективна кількість" означає кількість сполуки, що при введенні суб'єкту для лікування захворювання є достатньою для дії такого лікування на захворювання. "Терапевтично

ефективна кількість" може варіювати в залежності від сполуки, захворювання і його тяжкості, і віку, маси, і т. д. суб'єкта, що підлягає лікуванню.

"Запобігання" або "попередження" належать до зниження ризику придбання або розвитку захворювання або порушення перед проявом хвороби (тобто, коли щонайменше один із клінічних симптомів захворювання не розвивається в суб'єкта, що може бути підданий дії засоби, що викликає захворювання або схильний до захворювання).

Термін "профілактика" належить до "попередження", і належить до впливу або способу, мета яким попередження, а не лікування або усунення захворювання. Необмежувальні приклади профілактичних заходів можуть включати введення вакцин; введення гепарину з низькою молекулярною масою госпіталізованим пацієнтам з ризиком розвитку тромбозу внаслідок, наприклад, втрати рухливості; і введення протималярійного засоби, такого як хлорохін, перед відвідуванням географічних областей, у яких малярія є ендемічним захворюванням або якщо існує високий ризик зараження малярією.

"Лікування" або "терапія" будь-якого захворювання або порушення належить, в одному з варіантів здійснення, до поліпшення стану при захворюванні або порушенні (тобто, зупинці захворювання або зменшенню прояву, ступеня або тяжкості щонайменше одного з клінічних симптомів захворювання). В іншому варіанті здійснення "лікування" або "терапія" належить до поліпшення щонайменше одного фізичного параметра, що може не бути явним для суб'єкта. У ще одному варіанті здійснення "лікування" або "терапія" належить до модулювання захворювання або порушення, або фізично (наприклад, стабілізацією явного симптому), фізіологічно (наприклад, стабілізацією фізичного параметра), або і тим і іншим. У додатковому варіанті здійснення "лікування" або "терапія" належить до уповільнення прогресування захворювання.

Як застосовують у даному документі термін "стан(и), що залучає запалення" належить до групи станів, що включають ревматоїдний артрит, остеоартрит, юнацький ідіопатичний артрит, псоріаз, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), запальні захворювання кишечника (наприклад, хвороба Крона, коліт), стани, зумовлені дією ендотоксину (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), і пов'язаним із хрящовою тканиною захворюванням, таким як захворювання суглобів. Зокрема, термін належить до ревматоїдного артриту, остеоартриту, захворювань, пов'язаних з респіраторною алергією (наприклад, астмою) і запальних захворювань кишечника.

Як застосовують у даному документі, термін "стан(и), що залучає імунну відповідь" або "аутоімунні захворювання" використовують взаємозамінно і відносять до групи захворювань, що включають обструктивні захворювання дихальних шляхів, що включають такі стани, як COPD, астма (наприклад, ендогенна астма, екзогенна астма, пилова астма, дитяча астма) зокрема, хронічна або тяжковилікова астма (наприклад, астма з пізнім початком і гіперчутливість дихальних шляхів), бронхіт, включаючих бронхіальну астму, системний червоний вовчак (SLE), розсіяний склероз, цукровий діабет I типу й асоційовані з ними ускладнення, атопічну екзему (атопічний дерматит), контактний дерматит і додатково екзематозний дерматит, запальне захворювання кишечника (наприклад, хвороба Крона і виразковий коліт), атеросклероз і бічний аміотрофічний склероз. Зокрема, термін належить до COPD, астми, системного червоного вовчака, цукрового діабету I типу і запального захворювання кишечника.

Як застосовують у даному документі, термін "відторгнення трансплантата" належить до гострого або хронічного відторгнення клітин, алло- або ксенотрансплантатів або тканини паренхіматозного органа, наприклад, панкреатичних островців, стовбурних клітин, кісткового мозку, шкірної, м'язової тканини, тканини роговиці, нейрональної тканини, серця, легенів, комбінованих серце-легені, нирок, печінки, травного тракту, підшлункової залози, трахеї або стравоходу, або до реакцій "трансплантат проти хазяїна".

Як застосовують у даному документі, термін "проліферативне захворювання" належить до станів, таких як злоякісна пухлина (наприклад, лейоміосаркома матки або рак передміхурової залози), мієлопроліферативних порушень (наприклад, справжня поліцитемія, ідіопатичні тромбоцитоз і мієлофіброз), лейкоз (наприклад, гострий мієлолейкоз і гострий лімфобластний лейкоз), множинна мієлома, псоріаз, рестенос, склеродерміт або фіброз. Зокрема, термін належить до злоякісної пухлини, лейкозу, множинної мієломи і псоріазу.

Як застосовують у даному документі, термін "злоякісна пухлина" належить до злоякісного або доброякісного росту клітин у шкірі або в органах тіла, наприклад, але без обмеження, у молочній залозі, передміхуровій залозі, легенях, нирках, підшлунковій залозі, шлунку або шлунково-кишковому тракту. Злоякісна пухлина має схильність проникати в прилеглі тканини і поширюватися (метастазувати) у віддалені органи, наприклад, у кісткову тканину, печінку, легені

або мозок. Як застосовують у даному документі, термін "злаякісна пухлина" включає і типи клітин, що належать до метастатичної пухлини, такої як, але не обмежуючись ними, меланома, лімфома, лейкемія, фібросаркома, рабдіоміосаркома і мастоцитомі і види карциноми з тканин, такі як, але не обмежуючись ними, колоректальний рак, рак передміхурової залози, дрібноклітинний рак легенів і недрібноклітинний рак легенів, рак молочної залози, рак підшлункової залози, рак сечового міхура, злаякісна пухлина нирки, рак шлунка, гліобластома, первинна злаякісна пухлина печінки, рак яєчників, рак передміхурової залози і лейоміосаркома матки.

Як застосовують у даному документі, термін "лейкемія" належить до неопластичних захворювань крові і кровотворних органів. Такі захворювання можуть викликати розлад функції кісткового мозку й імунної системи, що робить хазяїна дуже сприйнятливим до інфекцій і кровотечі. Зокрема, термін "лейкоз" належить до гострого мієлолейкозу (AML) і гострого лімфобластного лейкозу (ALL).

Як застосовують у даному документі, термін "захворювання, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини" і конкретно "захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів" включають стани, такі як остеоартрит, псоріатичний артрит, юнацький ревматоїдний артрит, подагричний артрит, септичний або інфекційний артрит, реактивний артрит, симпатична рефлекторна дистрофія, альгодістрофія, синдром Тітце або реберний хондрит, фіброміалгія, остеохондрит, неврогенний або невропатичний артрит, артропатія, ендемічні форми артрити, такі як остеоартрит ендемічно деформуючий, захворювання Mseleni і захворювання Handigodu; дегенерація, отримана в результаті фіброміалгії, системний червоний вовчак, склеродермія й анкілозуючий спондиліт.

Як застосовують у даному документі, термін "уроджена мальформація(ї) хрящової тканини" включає стани, такі як спадкоємний хондроліс, хондродисплазії і псевдохондродисплазії, зокрема, але не обмежуючись ними, мікродію, анотію, метафізарну хондродисплазію і пов'язані порушення.

Як застосовують у даному документі, термін "захворювання, пов'язані з підвищеною секрецією IL6" включає стани, такі як хвороба Кастлемена, множинна мієлома, псоріаз, саркома Капоші і/або мезангіально-проліферативний гломерулонефрит.

"Сполука(и) за винаходом" і рівноцінні терміни націлені на включення сполук формул, описаних раніше в даному документі, де термін включає фармацевтично прийнятні солі і сольвати, наприклад, гідрати і сольвати фармацевтично прийнятних солей, якщо контекст це дозволяє. Аналогічно, посилення на проміжні сполуки, незалежно від того, чи є вони самі заявленими, націлені на включення їхніх солей і сольватів, якщо контекст це дозволяє.

Якщо діапазони позначають як у даному документі, наприклад, але не обмежуючи ним, C₁-C₈ алкіл, перерахування діапазону потрібно вважати описом кожного елемента зазначеного діапазону.3

Інші похідні сполук за винаходом мають активність і у формі їхньої кислоти, і у формі кислотних похідних, але кислотно-чутлива форма часто забезпечує переваги в розчинності, тканинній сумісності або у відстроеному вивільненні в організм ссавця (див., Bundgard, H., Design of Prodrugs, pp. 7-9, 21-24, Elsevier, Amsterdam 1985). Проліки включають кислотні похідні, добре відомі практикуючим в даній галузі фахівцям, такі як, наприклад, складні ефіри, отримані реакцією вихідної кислоти з прийнятим спиртом, або аміді, отримані в реакції сполуки вихідної кислоти з заміщенням або незаміщенням аміном, або ангідриди кислот, або змішані ангідриди. Прості аліфатичні або ароматичні складні ефіри, аміді й ангідриди, отримані на основі бічних кислотних груп сполук по даному винаході, є особливо прийнятними проліками. У деяких випадках бажано одержувати проліки у вигляді подвійних складних ефірів, таких як складні (ацилокси)алкілові ефіри або ((алкоксикарбоніл)оксі)алкілові ефіри. Зокрема такі проліки являють собою C₁-C₈ алкіл, C₂-C₈ алкеніл, арил, C₇-C₁₂ заміщений арил і складні C₇-C₁₂ арилалкілові ефіри сполук за винаходом.

Як застосовують у даному документі, термін "варіант ізотопів" належить до сполуки, що містить співвідношення ізотопів, що не зустрічаються в природі, в одному або декількох атомах, що утворюють таку сполуку. Наприклад, "варіант ізотопів" сполуки може містити один або декілька нерадіоактивних ізотопів, таких як, наприклад, дейтерій (²H або D), вуглець-13 (¹³C), азот-15 (¹⁵N) або подібні. Буде зрозуміло, що в сполуці, у якій зроблена така заміна ізотопів, наступні атоми, якщо вони присутні, можуть варіювати таким чином, що, наприклад, будь-який водень може являти собою ²H/D, будь-який вуглець може бути ¹³C або будь-який азот може являти собою ¹⁵N, і що присутність і розміщення таких атомів може визначати фахівець у даній галузі. Крім того, винахід може включати одержання варіантів ізотопів з радіоактивними ізотопами, у випадку, наприклад, якщо сполуки, отримані в результаті, можна використовувати

для дослідження розподілу в тканині лікарського засоби і/або субстрату. Радіоактивні ізотопи тритію, тобто, ^3H , і вуглецю-14, тобто, ^{14}C , особливо прийнятні для цієї мети в зв'язку з їхнім легким включенням і швидкими способами детекції. Додатково, сполуки можна одержувати у вигляді сполук, що заміщують позитронно-активними ізотопами, такими як ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O і ^{13}N , і які

були б корисні в дослідженнях способом позитронно-емісійної томографії (PET) для дослідження ступеня зайнятості рецептора субстратом.

Усі варіанти ізотопів сполук, представлені в даному документі, радіоактивні чи ні, призначені для включення в межі обсягу винаходу.

Також буде зрозуміло, що сполуки, які мають однакову молекулярну формулу, але

відрізняються по природі або послідовності приєднання їхніх атомів або розташування їхніх атомів у просторі, називають "ізомери". Ізомери, що відрізняються по розташуванню їхніх атомів у просторі, називають "стереоізомери".

Стереоізомери, що не є дзеркальними зображеннями один одного, називають "діастереомери", а ті, котрі являють собою дзеркальні зображення один одного, що не накладаються, називають "енантіомери". Якщо сполука має центр асиметрії, наприклад, коли він зв'язує чотири різні групи, існує можливість пари енантіомерів. Енантіомер можна характеризувати абсолютною конфігурацією його асиметричного центра, і описувати за допомогою R- і S- правил послідовності Cahn і Prelog або способом, у якому молекула обертає площину поляризованого світла і позначається як правообертальна або лівообертальна (тобто, як (+)- або (-)-ізомери, відповідно). Хіральна сполука може знаходитися у вигляді індивідуального енантіомера або у вигляді їхньої суміші. Суміш, що містить рівні співвідношення енантіомерів, називають "рацемічна суміш".

"Таутомери" позначають сполуки, що являють собою взаємозамінні форми конкретної структури сполуки і, які відрізняються переміщенням атомів водню й електронів. Таким чином, дві структури можуть знаходитися в стані рівноваги за допомогою переміщення π електронів і атомів (як правило, H). Наприклад, еноли і кетони являють собою таутомери, оскільки вони перетерплюють швидкі взаємоперетворення під дією або кислоти, або лугу. Іншим прикладом таутомерії є аци- і нітроформи фенілнітрометану, що також утворюються під дією кислоти або лугу.

Таутомерні форми можуть мати відношення до набуття оптимальної реакційної здатності і біологічної активності сполуки, що представляє інтерес.

Сполуки по даному винаході можуть включати один або декілька асиметричних центрів; такі сполуки можна одержувати, таким чином, у вигляді індивідуальних (R)- або (S)-стереоізомерів або у вигляді їхньої суміші.

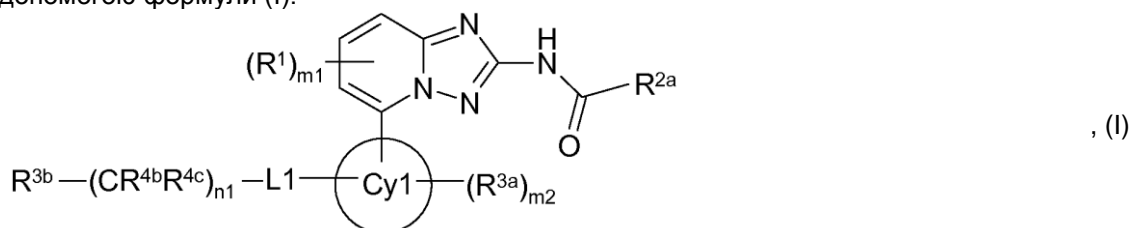
Якщо не зазначено інакше, опис або найменування конкретної сполуки в описі винаходу й у пунктах формули винаходу призначені для включення як індивідуальних енантіомерів, так і їхніх сумішей, рацемічних або інших. Способи визначення стереохімії і поділи стереоізомерів є добре відомими в даній галузі.

Сполуки

Даний винахід оснований на відкритті того, що інгібітори JAK придатні для лікування захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, наприклад, остеоартриту; і/або стани, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальні захворювання кишечника, хворобливі стани, зумовлені ендотоксином (наприклад ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювання, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджені мальформації хрящової тканини, захворювання, асоційовані з підвищеною секрецією IL6, і відторгнення при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата). Інгібітори JAK можуть також знайти застосування при лікуванні проліферативних захворювань. Зокрема, інгібітори JAK знайшли застосування при лікуванні злоякісних пухлин, головним чином, лейкемій і солідних пухлин (наприклад, лейоміосаркоми матки, раку передміхурової залози). Зокрема, захворювання, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або суглобову деградацію і/або запалення, наприклад, остеоартрит. Даний винахід також належить до способів одержання цих сполук, фармацевтичних композицій, що містять ці сполуки, і способів лікування захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або суглобову деградацію, і/або запалення за допомогою введення сполуки за винаходом. Дані сполуки можуть бути інгібіторами одного або декількох членів сімейства

JAK; конкретно, сполуки можуть інгібувати активність одного або декількох з JAK1, JAK2, JAK3 і/або TYK2.

Таким чином, у першому аспекті винаходу, сполуки 1,2,4-триазоло[1, 5-а]піридину описують за допомогою формули (I):



5

де

Cy1 вибирають з арилу і гетероарилу;

L1 вибирають з одинарного зв'язку, -, -O-, -C(O)-, -C[=N(R^{4a})]-, -N(R^{4a})-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})CO- або -N(R^{4a})SO₂-;

кожен R¹ незалежно вибирають з C₁-C₆ алкілу, заміщеного C₁-C₆ алкілу, ацилу, заміщеного ацилу, заміщеного або незаміщеного ациламіно, заміщеного або незаміщеного C₁-C₆ алкокси, заміщеного або незаміщеного амідю, заміщеного або незаміщеного аміно, заміщеного сульфінілу, заміщеного сульфонілу, заміщеного або незаміщеного аміноссульфонілу, сульфонові кислоти, складного ефіру сульфонові кислоти, карбокси, ціано, заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, галогену і гідроксилу;

кожен R^{3a} незалежно вибирають з C₁-C₆ алкілу, заміщеного C₁-C₆ алкілу, ацилу, заміщеного ацилу, заміщеного або незаміщеного ациламіно, заміщеного або незаміщеного C₁-C₆ алкокси, заміщеного або незаміщеного амідю, алкоксикарбонілу, заміщеного алкоксикарбонілу, арилалкілокси, заміщеного арилалкілокси, заміщеного або незаміщеного аміно, арилу, заміщеного арилу, арилалкілу, заміщеного сульфанілу, заміщеного сульфінілу, заміщеного сульфонілу, заміщеного або незаміщеного аміноссульфонілу, сульфонові кислоти, складного ефіру сульфонові кислоти, азидо, карбокси, ціано, заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, галогену, заміщеного або незаміщеного гетероарилу, гідроксилу, нітро і тіолу;

R^{2a} вибирають із заміщеного або незаміщеного C₁-C₆ або алкілу заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу;

R^{3b} незалежно вибирають із заміщеного або незаміщеного арилу, заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 5-10-членного гетероарилу; або R^{3b} незалежно вибирають із O-R^{3c}, CO-R^{3c} і CON(R^{4a})-R^{3c}; і R^{3c} незалежно вибирають із заміщеного або незаміщеного арилу, заміщеного або незаміщеного C₃-C₇ циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 5-10-членного гетероарилу;

кожен R^{4a}, R^{4b} і R^{4c} незалежно вибирають з H, C₁-C₆ алкілу, заміщеного C₁-C₆ алкілу, C₃-C₇ циклоалкілу або заміщеного C₃-C₇ циклоалкілу;

m1 являє собою 0, 1 або 2; m2 являє собою 0, 1, 2 або 3; і n1 являє собою 0, 1, 2, 3 або 4;

за умови, що

якщо L1 являє собою -O-, -N(R^{4a})-, -CON(R^{4a})- або -SO₂N(R^{4a})- і R^{3b} відрізняється від циклоалкілу, арилу

або 5-10-членного гетероарилу, то n1 являє собою 1, 2, 3 або 4;

або фармацевтично прийнятні солі або сольвати або сольвати фармацевтично прийнятних солей.

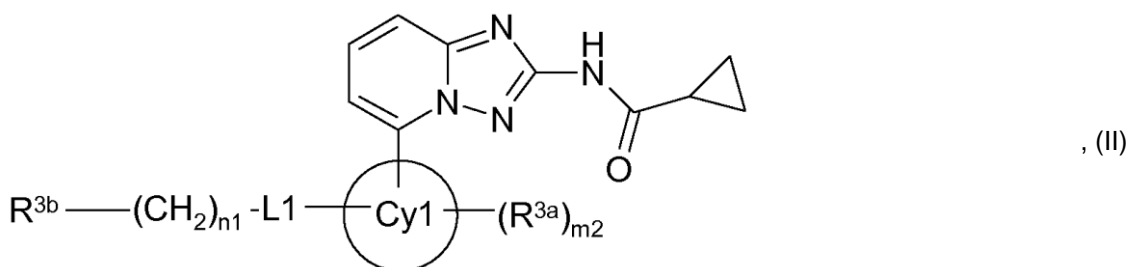
В одному з варіантів здійснення відносно сполук формули I, m1 являє собою 0.

В іншому варіанті здійснення відносно сполук формули I, R^{2a} являє собою заміщений або незаміщений C₃-C₇ циклоалкіл.

У конкретному варіанті здійснення відносно сполук формули I, R^{2a} являє собою циклопропіл, циклобутил, або циклопентил.

У додатковому варіанті відносно сполук формули I, R^{4b} і R^{4c} незалежно вибирають з H і Me.

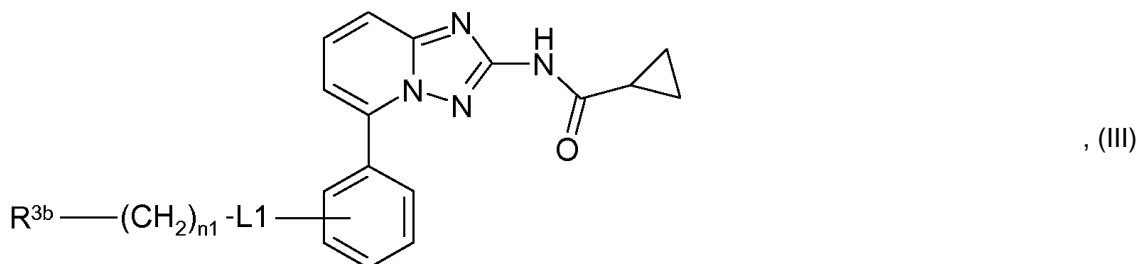
У більш конкретному варіанті здійснення відносно сполук формули I, сполука представлена формулою II:



де Cy1, L1, R^{3a}, R^{3b}, m2 і n1 описані раніше.

В одному з варіантів здійснення відносно сполуки формули II, Cy1 являє собою Ph; і m2 являє собою 0.

У більш конкретному варіанті здійснення сполука представлена формулою III:



5 де L1, R^{3b} і n1 аналогічні описаними вище.

В одному з варіантів здійснення відносно сполук формули III, R^{3b} являє собою заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений 5-10-членний гетероарил, заміщений або незаміщений C₃-C₇ циклоалкіл, або заміщений або незаміщений 4-7-членний гетероциклоалкіл.

10 У конкретному варіанті здійснення відносно сполук формули III, L1 вибирають з одинарного зв'язку, -O-, -N(R^{4a})-, -C(O)-, -C[=N(R^{4a})]-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})SO₂- і -N(R^{4a})CO-; n1 являє собою 0, 1, 2, 3 або 4; і R^{3b} являє собою заміщений або незаміщений арил, заміщений або незаміщений 5-10-членний гетероарил, заміщений або незаміщений C₃-C₇ циклоалкіл, заміщений або незаміщений 4-7-членний гетероциклоалкіл.

15 В одному з варіантів здійснення відносно сполук формули III, L1 вибирають з одинарного зв'язку, -O-, -N(R^{4a})-, -C(O)-, -C[=N(R^{4a})]-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})SO₂- і -N(R^{4a})CO-;

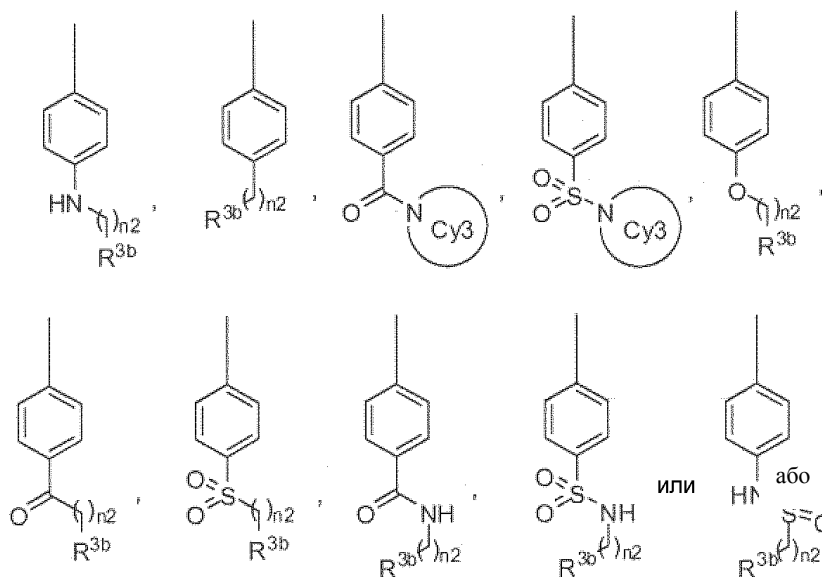
n1 являє собою 0, 1, 2, 3 або 4; і R^{3b} являє собою заміщений або незаміщений арил або заміщений або незаміщений 5-10-членний гетероарил.

20 У конкретному варіанті здійснення відносно сполуки формули III, L1 вибирають з одинарного зв'язку, -O-, -N(R^{4a})-, -C(O)-, -C[=N(R^{4a})]-, -CON(R^{4a})-, -SO₂N(R^{4a})-, -S(O)₂-, -N(R^{4a})SO₂- і -N(R^{4a})CO-; n1 являє собою 0, 1, 2, 3 або 4; і R^{3b} являє собою заміщений або незаміщений феніл, заміщений або незаміщений піридил, заміщений або незаміщений піроліл, заміщений або незаміщений піразоліл, заміщений або незаміщений імідазоліл, заміщений або незаміщений триазоліл, заміщений або незаміщений тетразоліл, заміщений або незаміщений оксазоліл, 25 заміщений або незаміщений оксадіазоліл, заміщений або незаміщений тіазоліл, заміщений або незаміщений тіофеніл, заміщений або незаміщений індоліл, заміщений або незаміщений індазоліл, заміщений або незаміщений бензімідазоліл, заміщений або незаміщений бензофураніл, заміщений або незаміщений бензодіоксаніл, заміщений або незаміщений бензоксазоліл, заміщений або незаміщений хінолініл, або заміщений або незаміщений ізохінолініл.

30 В іншому конкретному варіанті здійснення відносно сполук формули III, L1 вибирають з -O-, і -N(R^{4a})-.

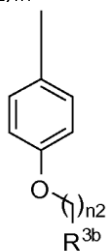
В іншому конкретному варіанті здійснення відносно сполук формули III, L1 являє собою -O-.

35 В одному з варіантів здійснення сполука представлена відповідно до формули III, і -Ph-L1-(CH₂)_{n1}-R^{3b} вибирають з



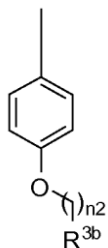
де n_2 являє собою n_1 ; і R^{3b} , і n_1 є тим же, що й у формулі 1; і Cy_3 являє собою заміщений або незаміщений азот, що містить 4-7-членну гетероциклоалкільну групу.

В одному з варіантів здійснення сполука представлена відповідно до формули III, і-Ph-L1-
 5 $(CH_2)_{n1}-R^{3b}$ являє собою



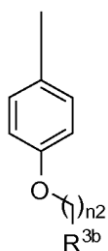
де n_2 являє собою n_1 ; і R^{3b} , і n_1 є тим же, що й у формулі 1.

В одному з варіантів здійснення сполука представлена відповідно до формули III, і-Ph-L1-
 10 $(CH_2)_{n1}-R^{3b}$ являє собою



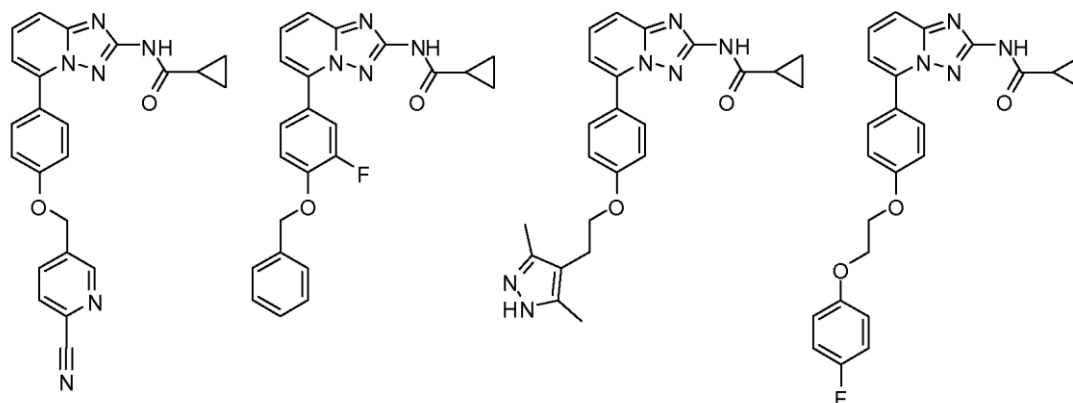
де n_2 являє собою n_1 ; R^{3b} незалежно вибирають із заміщеного або незаміщеного арилу, заміщеного або незаміщеного C_3-C_7 циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 5-10-членного гетероарилу; або R^{3b} незалежно вибирають із $O-R^{3c}$, $CO-R^{3c}$ і $CON(R^{4a})-R^{3c}$; і R^{3c} незалежно вибирають із заміщеного або незаміщеного арилу, заміщеного або незаміщеного C_3-C_7 циклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 4-7-членного гетероциклоалкілу, заміщеного або незаміщеного 5-10-членного гетероарилу, і n_1 являє собою 0, 1, 2, 3 або 4.

В одному з варіантів здійснення сполука представлена відповідно до формули III, і-Ph-L1-
 15 $(CH_2)_{n1}-R^{3b}$ являє собою



де n_2 являє собою n_1 ; R^{3b} являє собою заміщений або незаміщений 5-10-членний гетероарил і n_1 являє собою 0, 1, 2, 3 або 4.

У більш конкретному варіанті здійснення сполука представлена формулою VIa, VIb, VIc або VId:



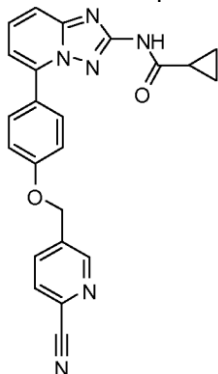
VIa

VIb

VIc

VIb

У більш конкретному варіанті здійснення сполука представлена формулою VIa:



(VIa)

або її фармацевтично прийнятною сіллю або сольватом або сольватом фармацевтично прийнятної солі.

В одному з варіантів здійснення сполука за винаходом не є варіантом ізотопів.

В одному з варіантів здійснення відносно формули I, сполуку вибирають зі сполук, проілюстрованих у таблиці 1.

В одному з варіантів здійснення відносно формули I, сполука являє собою сполуку 176 з таблиці 1.

У визначених аспектах даний винахід також належить до проліків і похідних сполук, представлених формулою(ами) вище. Проліки являють собою похідні сполук за винаходом, що мають метаболічно розщеплювані групи, і стають за допомогою сольволізу або під впливом фізіологічних умов сполуками за винаходом, що є фармацевтично активними, *in vivo*. Такі приклади включають, але не обмежуються ними, похідні холінового складного ефіру і т. п., складні ефіри N-алкілморфоліну і т. п.

Інші похідні сполук за винаходом мають активність і у формі кислоти, і у формі кислотних похідних, але кислотнo-чутлива форма часто забезпечує переваги в розчинності, тканинній сумісності або у відстроченому вивільненні в організм ссавця (див., Bundgard, H., Design of Prodrugs, pp. 7-9, 21-24, Elsevier, Amsterdam 1985). Проліки включають кислотні похідні, добре відомі практикуючим в даній галузі фахівцям, такі як, наприклад, складні ефіри, отримані

реакцією вихідної кислоти з прийнятим спиртом, або аміді, отримані в реакції сполуки вихідної кислоти із заміщеним або незаміщеним аміном, або ангідриди кислот, або змішані ангідриди. Прості аліфатичні або ароматичні складні ефіри, аміді й ангідриди, отримані на основі бічних кислотних груп сполук по даному винаході, є переважними проліками. У деяких випадках

бажано одержувати проліки у вигляді подвійних складних ефірів, таких як складні (ацилокси)алкілові або ефіри ((алкоксикарбоніл)окси)алкілові ефіри. Зокрема такі проліки являють собою C₁-C₈ алкіл, C₂-C₈ алкеніл, арил, C₇-C₁₂ заміщений арил і складні C₇-C₁₂ арилалкілові ефіри сполук за винаходом.

Фармацевтичні композиції

При використанні як фармацевтичних сполуки за винаходом, як правило, вводять у формі фармацевтичної композиції. Такі композиції можна одержувати способом, добре відомим в галузі фармацевтики, і композиції включають щонайменше одну активну сполуку. Як правило, сполуки по даному винаході вводять у фармацевтично ефективній кількості. Кількість фактично введеної сполуки буде, як правило, визначати лікар, виходячи з відповідних умов, що включають стан, що підлягають лікуванню, вибраний шлях уведення, конкретну введену сполуку, вік, масу і реакцію окремого пацієнта, тяжкість симптомів у пацієнта і т. п.

Фармацевтичні композиції за винаходом можна вводити різними шляхами, що включають пероральний, ректальний, трансдермальний, підшкірний, внутрішньосуглобовий, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий і інтраназальний. У залежності від передбачуваного шляху доставки сполуки за даним винаходом, переважно, складають у суміш, або у вигляді ін'єктованих, або у вигляді оральних композицій, або у вигляді мазей, лосьйонів або у вигляді пластирів - усі для трансдермального введення.

Композиції для перорального введення можуть бути у формі нерозфасованих рідких розчинів або суспензій або нерозфасованих порошків. Частіше, однак, композиції випускають у стандартних лікарських формах для полегшення точного дозування. Термін "стандартні лікарські форми" належить до фізично окремих одиниць, що підходять як єдині дози для людини й іншого ссавця, де кожна одиниця містить задану кількість активного матеріалу, розрахованого таким чином, щоб одержати належний терапевтичний ефект, і знаходиться в поєднанні з прийнятим фармацевтичним ексципієнтом, основою або носієм. Типові стандартні лікарські форми включають попередньо наповнені, з попередньо розрахованою кількістю, ампули або шприци рідких композицій, або у випадку твердих композицій, пігулки, таблетки, або капсули т. п. У таких композиціях, сполука фурансульфонової кислоти являє собою, як правило, мінорний компонент (від приблизно 0,1 до приблизно 50 % по масі, або, переважно, від приблизно 1 до приблизно 40 % по масі), де інше являє собою різні основи або носії і технологічні добавки, корисні для створення необхідної дозованої форми.

Рідкі форми, що підходять для перорального введення, можуть включати прийнятну водну або неводну основу з буферами, суспендуючими і диспергуючими засобами, барвниками, ароматизаторами і т. п. Тверді форми можуть включати, наприклад, будь-якої з наступних інгредієнтів або сполук аналогічної природи: зв'язувальний засіб, такий як мікрокристалічна целюлоза, трагакант або желатин; ексципієнт, такий як крохмаль або лактоза, засіб для поліпшення розпаду таблеток, такий як альгінова кислота, Примогель або кукурудзяний крохмаль; змашувальний засіб, такий як стеарат магнію; засіб, що поліпшує ковзання, такий як колоїдний діоксид кремнію; підсолоджувач, такий як сахароза або сахарин; або ароматизатор, такий як перцева м'ята, метил саліцилат або апельсиновий ароматизатор.

Ін'єктовані композиції, як правило, основані на ін'єктованому стерильному фізіологічному розчині або фізіологічному розчині, забуференому фосфатом, або інших ін'єктованих носіях, відомих у даній галузі. Як і сказано раніше, активна сполука в таких композиціях є, як правило, мінорним компонентом, частіше представленим від приблизно 0,05 до 10 % по масі, де інше представлено ін'єктованим носієм і т. п.

Трансдермальні композиції, як правило, складають у суміш у вигляді мазі або крему для місцевого застосування, що містять активний інгредієнт(и), як правило, у кількості в діапазоні від приблизно 0,01 до приблизно 20 % по масі, переважно, від приблизно 0,1 до приблизно 20 % по масі, переважно, від приблизно 0,1 до приблизно 10 % по масі, і більш переважно від приблизно 0,5 до приблизно 15 % по масі. У випадку складання в суміш у вигляді мазі активні інгредієнти будуть, як правило, або комбінувати з парафіновою або з водорозчинною мазевою основою. Альтернативно, активні інгредієнти можна складати в суміш у вигляді крему, наприклад, з водно-жировою кремовою основою. Такі трансдермальні суміші є добре відомими в даній галузі і, як правило, включають додаткові інгредієнти для збільшення шкірного проникнення, стабільності активних інгредієнтів або сумішей. Усі подібні відомі трансдермальні суміші й інгредієнти включені в обсяг по даному винаході.

Сполуки за винаходом можна також вводити за допомогою пристосування для трансдермального введення. Таким чином, трансдермальне введення можна виконувати, використовуючи або пластир резервуарного типу, або тип пластиру з пористою мембраною або варіантом твердого матрикса.

5 Компоненти для перорального введення, описані вище, ін'єктовані або композиції, що вводяться місцево, представлені тільки для прикладу. Інші матеріали, а також способи одержання і т. п. викладені в Part 8 °F Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, 1985, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, включеному в даний опис як посилання.

10 Сполуки по даному винаході можна також вводити у формах уповільненого вивільнення або із систем доставки лікарського засоби уповільненого вивільнення. Опис типових матеріалів уповільненого вивільнення можна знайти в Remington's Pharmaceutical Sciences.

Наступні приклади сумішей ілюструють типові фармацевтичні композиції, які можна одержувати відповідно до даного винаходу. Даний винахід, однак, не обмежений наступними фармацевтичними композиціями.

15 Суміш 1 - Таблетки

Сполуку за винаходом можна змішувати у вигляді сухого порошку з зв'язувальним засобом сухим желатином у масовому відношенні приблизно 1:2. Незначну кількість стеарату магнію додають як змащувальний засіб. Суміш формують у 240-270 мг таблетки (80-90 мг активної амідної сполуки на таблетку) у таблетковому пресі.

20 Суміш 2 - Капсули

Сполуку за винаходом можна змішувати у вигляді сухого порошку з розріджувачем крохмалем у масовому відношенні приблизно 1:1. Сумішшю можна заповнювати 250 мг капсули (125 мг активної амідної сполуки на капсулу).

Суміш 3 - Рідка

25 Сполуку за винаходом (125 мг), можна змішувати із сахарозою (1,75 г) і ксантановою камеддю (4 мг) і отриману в результаті суміш можна змішати, пропускати через отвори сита U.S. № 10, і потім змішати з приготовленим заздалегідь розчином мікрокристалічної целюлози і натрій-карбоксиметилцелюлози (11:89, 50 мг) у воді. Бензоат натрію (10 мг), ароматизатор і барвник розбавляють водою і додають з перемішуванням. Належну кількість води можна потім додати з перемішуванням. Належну кількість води потім додають для одержання загального об'єму 5 мл.

Суміш 4 - Таблетки

35 Сполуку за винаходом можна змішувати у вигляді сухого порошку з зв'язувальним засобом сухим желатином у масовому відношенні приблизно 1:2. Незначну кількість стеарату магнію додають як змащувальний засіб. Суміш формують у 450-900 мг таблетки (150-300 мг активної амідної сполуки) у таблетковому пресі.

Суміш 5 - Ін'єкція

40 Сполуку за винаходом можна розчиняти або суспендувати у ін'єктованому водному середовищу, забуференому стерильним фізіологічним розчином, до концентрації приблизно 5 мг/мл.

Суміш 6 - Місцево

45 Стеариловий спирт (250 г) і медичний вазелін (250 г) розтоплюють при приблизно 75 °C, і потім суміш сполуки за винаходом (50 г), метилпарабену (0,25 г), пропілпарабену (0,15 г), лаурилсульфату натрію (10 г) і пропіленгліколю (120 г), розчинених у воді (приблизно 370 г), додають і отриману в результаті суміш перемішують, доки вона не застигне.

Способи лікування

Дані сполуки можна використовувати як терапевтичні засоби для лікування в ссавців станів, що причинно зв'язують або приписують порушеній активності JAK. Зокрема, стани, пов'язані з порушеною активністю одного або декількох з JAK1, JAK2, JAK3 і/або TYK2. Таким чином, сполука за винаходом і фармацевтичні композиції по даному винаході знайшли застосування як терапевтичні засоби для запобігання і/або лікування захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, наприклад, остеоартрит; і/або станів, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювань, пов'язаних з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацького ідіопатичного артриту, коліту, запальних захворювань кишечника, хворобливих станів, зумовлених ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювань, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджених мальформацій хрящової тканини, захворювань, асоційованих з підвищеною секрецією IL6, проліферативних

захворювань і відторгнень при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата). Інгібітори JAK можуть також знайти застосування при лікуванні проліферативних захворювань. Зокрема, інгібітори JAK знайшли застосування при лікуванні злоякісних пухлин, головним чином, лейкемій і солідних пухлин (наприклад, лейоміосаркоми матки, раку передміхурової залози). Зокрема, стани вибирають із запальних станів, станів, пов'язаних з деградацією хрящової тканини і/або суглобів у ссавців, включаючи людей. В іншому варіанті здійснення сполуки і фармацевтичних композицій за даним винаходом знайшли застосування як терапевтичні засоби для запобігання і/або лікування проліферативних порушень у ссавців, включаючи людей. У конкретному варіанті здійснення сполука за винаходом і її фармацевтичні композиції знайшли застосування у вигляді терапевтичних засобів для запобігання і/або лікування злоякісної пухлини в ссавців, включаючи людей.

У додаткових аспектах способу лікування даний винахід належить до способів лікування ссавця, підданого або ураженого станом, що включає імунну відповідь або аутоімунне захворювання. Способи включають введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або сполуки за винаходом, описаних у даному документі, для лікування стану або запобігання стану. У конкретному варіанті здійснення аутоімунне захворювання вибирають з COPD, астми, системного червоного вовчака, цукрового діабету I типу і запальних захворювань кишечника.

В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, або запобіганні профілактиці стану, що включає аутоімунний відповідь або аутоімунне захворювання. У конкретному варіанті здійснення аутоімунне захворювання вибирають з COPD, астми, системного червоного вовчака, цукрового діабету I типу і запального захворювання кишечника.

В аспекті способу лікування даний винахід належить до способу лікування, запобігання або профілактики в ссавця, підданого або ураженого захворюванням, що включає порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, стан, пов'язаний з анаболічною стимуляцією хондроцитів або, що включає анаболічну стимуляцію хондроцитів), наприклад, остеоартрит, псоріатичний артрит, юнацький ревматоїдний артрит, подагричний артрит, септичний або інфекційний артрит, реактивний артрит, симпатичну рефлексорну дистрофію, альгодістрофію, синдром Тітце або реберний хондрит, фіброміалгію, остеохондрит, неврогенний або невропатичний артрит, артропатію, ендемічні форми артриту, такі як остеоартрит ендемічний деформуючий, захворювання Mseleni і захворювання Handigodu; дегенерацію, отриману в результаті фіброміалгії, системного червоного вовчака, склеродермію й анкілозуючий спондиліт, де спосіб включає введення терапевтично ефективної кількості сполуки за винаходом, або однієї або декількох фармацевтичних композицій або однієї або декількох сполук, описаних у даному документі.

В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, або запобіганні профілактиці в ссавця, підданого або ураженого захворюванням, що включає порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, стан, пов'язаний з анаболічною стимуляцією хондроцитів або, що включає анаболічну стимуляцію хондроцитів), наприклад, остеоартрит, псоріатичний артрит, юнацький ревматоїдний артрит, подагричний артрит, септичний або інфекційний артрит, реактивний артрит, симпатичну рефлексорну дистрофію, альгодістрофію, синдром Тітце або реберний хондрит, фіброміалгію, остеохондрит, неврогенний або невропатичний артрит, артропатію, ендемічні форми артриту, такі як остеоартрит ендемічне деформуючий, захворювання Mseleni і захворювання Handigodu; дегенерацію, отриману в результаті фіброміалгії, системного червоного вовчака, склеродермію й анкілозуючий спондиліт.

Даний винахід також належить до способу лікування уроджених мальформацій хрящової тканини, що включають спадкоємний хондроліс, хондродисплазію і псевдохондродисплазію, зокрема, але не обмежуючи ними, мікродію, анотію, метафізарну хондродисплазію і пов'язані порушення, де спосіб включає введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або однієї або декількох сполук, описаних у даному документі.

В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, або запобіганні профілактиці уроджених мальформацій хрящової тканини, що включають спадкоємний хондроліс, хондродисплазію і псевдохондродисплазію, зокрема, але не обмежуючи ними, мікродію, анотію, метафізарну хондродисплазію і пов'язані порушення.

В іншому аспекті даний винахід належить до способу лікування ссавця, підданого або ураженого станом, що включає запалення. У додаткових аспектах способу лікування даний винахід належить, до способів лікування ссавця, підданого або ураженого захворюванням і порушенням, що опосередковані або є результатом запалення, такі як, наприклад ревматоїдний

артрит і остеоартрит, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальні захворювання кишечника, хворобливі стани, зумовлені ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності) і пов'язані з захворювання, що втягують хрящову тканину, таку як хрящова тканина суглобів, де спосіб включає введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або однієї або декількох сполук, описаних у даному документі. У конкретному варіанті здійснення стан, що включає запалення, вибирають з ревматоїдного артриту, остеоартриту, захворювання, пов'язаного з респіраторною алергією (наприклад, астма) і запальних захворювань кишечника. Способи включають введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або однієї або декількох сполук, описаних у даному документі, для лікування або запобігання стану.

В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, або запобіганні профілактиці стану, що включає запалення. В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, або запобіганні профілактиці захворювання і порушення, що опосередковують або є результатом запалення, такі як, наприклад, ревматоїдний артрит і остеоартрит, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальні захворювання кишечника, хворобливі стани, зумовлені ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), і пов'язані з захворювання, що втягують хрящову тканину, таку як хрящова тканина суглобів. У конкретному варіанті здійснення стан, що включає запалення, вибирають з ревматоїдного артриту, остеоартриту, захворювання, пов'язаного з респіраторною алергією (наприклад, астма), і запальних захворювань кишечника.

У додаткових аспектах способу лікування даний винахід належить до способів лікування ссавця, підданого або ураженого проліферативним захворюванням, зокрема, злоякісною пухлиною (наприклад, солідні пухлини, такі як лейоміосаркома матки або рак передміхурової залози), лейкозом (наприклад, AML або ALL), множинною мієломою і/або псоріазом, де способи включають введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або однієї або декількох сполук, описаних у даному документі. У додаткових аспектах способу лікування, даний винахід належить до способів лікування ссавця, підданого або ураженого злоякісною пухлиною (наприклад, солідні пухлини, такі як лейоміосаркома матки або рак передміхурової залози) і/або лейкозом.

В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, запобіганні або профілактиці проліферативного захворювання, зокрема, злоякісної пухлини (наприклад, солідні пухлини, такі як лейоміосаркома матки або рак передміхурової залози), лейкозу (наприклад, AML або ALL), множинної мієломи і/або псоріазу. В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, або запобіганні профілактиці злоякісної пухлини, (наприклад, солідні пухлини, такі як лейоміосаркома матки або рак передміхурової залози) і/або лейкозу.

У додаткових аспектах способу лікування даний винахід належить до способів лікування ссавця, підданого або ураженого захворюваннями, пов'язаними з гіперсекрецією IL6, зокрема, хворобою Кастлемена або мезангіально-проліферативним гломерулонефритом, де способи включають введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або однієї або декількох сполук, описаних у даному документі.

В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, запобіганні або профілактиці захворювань, пов'язаних з гіперсекрецією IL6, зокрема, хворобою Кастлемена або мезангіально-проліферативним гломерулонефритом.

У додаткових аспектах способу лікування даний винахід належить до способів лікування ссавця підданого або ураженого процесом відторгнення трансплантата, де способи включають введення ефективної кількості однієї або декількох фармацевтичних композицій або однієї або декількох сполук, описаних у даному документі. У конкретному варіанті здійснення винахід належить до способів лікування відторгнення органного трансплантата.

В іншому аспекті даний винахід належить до сполуки за винаходом для застосування в лікуванні, запобіганні або профілактиці процесу відторгнення трансплантата. У конкретному варіанті здійснення винахід належить до способів лікування відторгнення органного трансплантата.

Як додатковий аспект винаходу дані сполуки надають для застосування як фармацевтичних, зокрема, у лікуванні або запобіганні зазначених вище станів і захворювань. Також

представленим у даному документі є застосування дійсних сполук у виробництві лікарських засобів для лікування або запобігання одного із зазначених вище станів і захворювань.

Конкретна схема лікування за даним способом включає введення суб'єкту, що страждає на захворювання, що включає запалення, ефективної кількості сполуки за винаходом протягом періоду часу, достатнього для зниження рівня запалення в пацієнта і, переважно, завершення процесів, відповідальних за зазначене запалення. Конкретний варіант здійснення способу включає введення ефективної кількості сполуки за винаходом суб'єкту, пацієнту, що страждає на ревматоїдний артрит або підданому розвитку ревматоїдного артриту, протягом періоду часу, достатнього для зменшення або запобігання, відповідно, запалення в суглобах зазначеного пацієнта і, переважно, завершення процесів, відповідальних за зазначене запалення.

Додаткова конкретна схема лікування за даним способом включає введення суб'єкту, що страждає на хворобливий стан, що характеризується деградацією хрящової тканини або суглобів (наприклад, остеоартрит), ефективного кількості сполуки за винаходом протягом періоду часу, достатнього для зменшення і, переважно, завершення самопідтримуваних процесів, відповідальних за зазначену деградацію. Конкретний варіант здійснення способу включає введення ефективної кількості сполуки за винаходом суб'єкту-пацієнту, що страждає на остеоартрит або підданому розвитку остеоартриту, протягом періоду часу, достатнього для зменшення або запобігання, відповідно, деградації хрящової тканини в суглобах зазначеного пацієнта і, переважно, завершення самопідтримуваних процесів, відповідальних за зазначену деградацію. У конкретному варіанті здійснення зазначені сполуки демонструють анаболічні і/або протикатаболічні властивості в хрящовій тканині.

Рівні ін'єктованої дози знаходяться у межах від приблизно 0,1 мг/кг/год. до щонайменше 10 мг/кг/год., усі для від приблизно 1 до приблизно 120 годин і, зокрема, від 24 до 96 годин. Попередньо заданий об'єм болюса від приблизно 0,1 мг/кг до приблизно 10 мг/кг або більше також можна вводити для досягнення належного плато концентрації. Максимальна загальна доза не повинна перевищувати приблизно 2 г/доба на від 40 до 80 кг маси пацієнта, що є людиною.

Для запобігання і/або лікування хронічних станів, таких як дегенеративні стани, схема лікування, як правило, розтягується на багато місяців або років, таким чином, для зручності і перенесення лікування пацієнтом кращим є оральне дозування. При оральному дозуванні від однієї до п'яти і, зокрема, від двох до чотирьох і, як правило, три оральні дози на добу являють собою типові схеми лікування. При використанні цих прикладів дозування кожна доза забезпечує від приблизно 0,01 до приблизно 20 мг/кг сполуки за винаходом, зокрема, кожна доза забезпечує від приблизно 0,1 до приблизно 10 мг/кг і конкретно, від приблизно 1 до приблизно 5 мг/кг.

Трансдермальні дози, як правило, вибирають для забезпечення в крові подібних або більш низьких рівнів, ніж досягають при використанні доз ін'єкціями.

При використанні для запобігання початку прояву запального стану, сполуки по даному винаході будуть вводити пацієнту з ризиком розвитку стану, як правило, за порадою і під спостереженням лікаря, у дозуванні, що відповідає рівню, описаному вище. Пацієнти з ризиком розвитку конкретного стану, як правило, включають пацієнтів, що мають сімейний анамнез стану, або тих пацієнтів, у яких за допомогою генетичного тестування або скринінгу знайшли схильність розвитку конкретного стану.

Сполуки по даному винаході можна вводити як у вигляді окремого активного засоби, так і в сполученні з іншими засобами, що включають інші сполуки, що показали таку ж або схожу терапевтичну активність і, які визначені як безпечні й ефективні при таких комбінованому введенні. У конкретному варіанті здійснення комбіноване введення двох (або більше) засобів допускає значно нижчі дози кожного використовуваного засоби, тим самим знижуючи побічні ефекти, що спостерігаються.

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання захворювання, що включає запалення; конкретні засоби включають, але не обмежуються ними, імунорегуляторні засоби, наприклад, азатіоприн, кортикостероїди (наприклад, преднізолон або дексаметазон), циклофосфамід, циклоспорин А, такролімус, мікофенолату мофетил, муромонаб-CD3 (ОКТ3, наприклад, Orthocolone®), ATG, аспірин, ацетомінофен, ібупрофен, напроксен і піроксикам.

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання артриту (наприклад, ревматоїдного артриту); конкретні засоби включають, але не обмежуються ними, анальгетики, нестероїдні протизапальні лікарські засоби (NSAIDS), стероїди, синтетичні DMARDS (наприклад, але не обмежуючись ними, метотрексат, лефлуномід, сульфасалазин, ауранофін, натрію

ауротіомалат, пеніциламін, хлорохін, гідроксихлорохін, азатіоприн і циклоспорин), і біологічні DMARDS (наприклад, але не обмежуючись ними, Інфліксимаб, Етанерцепт, Адалімумаб, Ритуксимаб і Абатацепт).

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання проліферативних порушень; конкретні засоби включають, але не обмежуються ними, метотрексат, лейковорин, адриаміцин, пренізон, блеоміцин, циклофосфамід, 5-фторурацил, паклітаксел, доцетаксел, вінкрисдин, вінбластин, винорелбін, доксорубіцин, тамоксифен, тореміфен, мегестролу ацетат, анастрозол, гозерелін, моноклональне антитіло проти HER2 (наприклад, HerceptinTM), капецитабін, ралоксифену гідрохлорид, інгібітори EGFR (наприклад, Iressa®, TarcevaTM, ErbituxTM), інгібітори YEGF (наприклад, AvastinTM), інгібітори протеасом (наприклад, VelcadeTM), Glivec® або інгібітори hsp90 (наприклад, 17-AAG). Додатково, сполуку за винаходом можна вводити в сполученні з іншими видами терапії, включаючи як необмежувальні приклади променевої терапії або хірургічне втручання. У конкретному варіанті здійснення проліферативне порушення вибирають зі злоякісної пухлини, мієлопроліферативного захворювання або лейкемії.

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання аутоімунних захворювань, конкретні засоби включають, але не обмежуються ними, глюкокортикоїди, цитостатичні засоби (наприклад, аналоги пурину), алкілюючі засоби (наприклад, азотисті іприти (циклофосфамід), нітрозосечовина, сполуки платини й інші), антиметаболіти (наприклад, метотрексат, азатіоприн і меркаптопурин), цитотоксичні антибіотики (наприклад, дактиномицин, антрацикліни, мітомицин С, блеоміцин і митрамицин), антитіла (наприклад, моноклональні антитіла проти CD20, проти CD25 або проти CD3 (ОТК3), Atgam® і Thymoglobuline®), циклоспорин, такролімус, рапаміцин (сиролімус), інтерферони (наприклад, IFN-β), зв'язуючі TNF білки (наприклад, інфліксімаб (Ремікейд), етанерцепт (Енбрел), або адалімумаб (Хуміра)), мікофенолат, Фінголімод, Міріоцин.

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання відторгнення трансплантата, конкретні засоби включають, але не обмежуються ними, інгібітори кальциневрину (наприклад, циклоспорин або такролімус (FK506)), інгібітори mTOR (наприклад, сиролімус, еверолімус), антипроліферативні (наприклад, азатіоприн, мікофенолова кислота), кортикостероїди (наприклад, преднізолон, гідрокортизон), антитіла (наприклад, моноклональні антитіла проти рецептора IL-2Rα, базиліксимаб, даклізумаб), поліклональні антитіла проти Т-клітин (наприклад, глобулін проти тимоцитів (ATG), глобулін проти лімфоцитів (ALG)).

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання астми, і/або риніту, і/або COPD, конкретні засоби включають як необмежувальні приклади агоністів бета₂-адренорецептора (наприклад, сальбутамол, левальбутерол, тербуталін і бітолтерол), епінефрин (інгальований або таблетки), антихолінергічні засоби (наприклад, іпратропія бромід), глюкокортикоїди (оральні або інгальовані) довгостроково діючі β₂-агоністи (наприклад, салметерол, формотерол, бамбутерол і оральний альбутерол уповільненого вивільнення), комбінації інгальованих стероїдів і довгостроково діючих бронхолітиків (наприклад, флутиказон/салметерол, будесонід/формотерол), антагоністів і інгібіторів синтезу лейкотріну (наприклад, монтелукаст, зафірлукаст і zileuton), інгібітори вивільнення медіаторів (наприклад, кромоглікат і кетотифен), біологічні регулятори відповіді Ig (наприклад, омалізумаб), протигістамінні засоби (наприклад, цетирезин, циннаризин, фексофенадин), судинозвужувальні засоби (наприклад, оксиметазолін, ксилометазолін, нафазолін і трамазолін).

Додатково, сполуку за винаходом можна вводити в сполученні з видами терапії невідкладної допомоги, у випадку астми і/або COPD, такі види терапії включають введення кисню або киснево-гелієвої суміші, розпилюваного сальбутамолу або тербуталіну (необов'язково комбінованого з антихолінергічними (наприклад, іпратропій), системними стероїдами (оральним або внутрішньовенним, наприклад, преднізон, преднізолон, метилпреднізолон, дексаметазон, або гідрокортизон), сальбутамолом для внутрішньовенного введення, неспецифічними бета-агоністами, ін'єктованими або інгальованими (наприклад, епінефрин, ізоетарин, ізопротеренол, метапротеренол), антихолінергічними засобами (IV або розпилюваними, наприклад, глікопіролат, атропін, іпратропій), метилксантинами (теофілін, амінофілін, баміфілін), анестетиками для застосування у вигляді інгаляцій, що мають ефект бронходилататорів (наприклад, ізофлуран, галотан, енфлуран), кетаміном, сульфатом магнію для внутрішньовенного ведення.

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання IBD, конкретні засоби включають, але

не обмежуються ними, глюкокортикоїдні (наприклад, преднізон, будезонід) синтетичні засоби, що модифікують захворювання, імуномодуючі засоби (наприклад, метотрексат, лефлуномід, сульфасалазін, мезалазін, азатіоприн, 6-меркаптопурин і циклоспорин) і біологічні засоби, що модифікують захворювання, імуномодуляторні засоби (інфліксімаб, адалімумаб, ритуксімаб і абатацепт).

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання SLE, конкретні засоби включають, але не обмежуються ними, протиревматичні лікарські засоби, що модифікують захворювання (DMARD), такі як протималярійні засоби (наприклад, плаквеніл, гідроксихлорохін), імуносупресанти (наприклад, метотрексат і азатіоприн), циклофосфамід і мікофенолова кислота; імуносупресивні лікарські засоби й анальгетики, такі як нестероїдні протизапальні лікарські засоби, опіати (наприклад, декстропропоксифен і ко-кодамол), опіоїди (наприклад, гірокодон, оксикодон, MS контин або метадон) і трансдермальний пластр з фентанілом - дурагезик.

В одному з варіантів здійснення сполуку за винаходом вводять разом з іншим терапевтичним засобом для лікування і/або запобігання псоріазу, конкретні засоби включають, але не обмежуються ними, лікарські засоби для місцевого введення, такі як омиваючі рідини, зволожувальні засоби, креми, що містять лікарські засоби, і мазі, що містять дьоготь, дитранол (антралін), кортикостероїди, такі як дезоксиметазон (Topicort), флуоціонід, аналоги вітаміну D₃ (наприклад, кальципотріол), олію залізного дерева і ретиноїди (етретинат, ацитретин, тазаротен), системні лікарські засоби, такі як метотрексат, циклоспорин, ретиноїди, тіогуанін, гідроксисечовина, сульфасалазін, мікофенолату мофетил, азатіоприн, такролімус, складні ефіри фумарової кислоти або біологічні препарати, такі як Amevive, Енбрел, Хуміра, Ремікейд, Раптіва й устекінумаб (блокатор IL-12 і IL-23). Додатково, сполуку за винаходом можна вводити в сполученні з іншими терапевтичними засобами, включаючи, як необмежувальні приклади, фототерапію або фотохіміотерапію (наприклад, псорален і ультрафіолетові промені спектра А (PUVA)).

Як буде очевидно фахівцю, за допомогою спільного введення в рамки єдиної схеми лікування включають будь-які способи доставки двох або більше терапевтичних засобів пацієнту. Хоча два або більше засобів можна вводити одночасно в одній суміші, це не є істотним. Засоби можна вводити в різних сумішах і в різний час.

Загальні синтетичні способи

Загальне

Сполуки за винаходом можна одержувати з легкодоступних вихідних матеріалів, використовуючи наступні загальні способи і процедури. Варто розуміти, що у випадку, якщо використовують типові або переважні умови процесу (тобто, температури реакції, час, молярне співвідношення сполук, що вступають у реакцію, розчинників, тиск і т. д.), також можна використовувати інші умови процесу, якщо не зазначено інакше. Оптимальні умови реакції можуть варіювати в залежності від конкретних використовуваних у реакції засобів або розчинника, але такі умови може визначити фахівець у даній галузі за допомогою загальноприйнятих способів оптимізації.

Додатково, як буде очевидно фахівцям у даній галузі, для захисту деяких функціональних груп від участі в небажаних реакціях можуть знадобитися традиційні захисні групи. Вибір прийнятної захисної групи для конкретної функціональної групи, а також умови, що підходять для захисту і видалення захисту, добре відомі в даній галузі. Наприклад, ряд захисних груп і їхнє введення і видалення описують у T. W. Greene and P. H. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Second Edition, Wiley, New York, 1991 і цитовані в них посилання.

Для одержання типових біциклогетероарилів, що перераховані в даному документі раніше, у деталях представлені наступні способи. Сполуки за винаходом фахівець у даній галузі органічного синтезу може одержати з відомих або комерційно доступних вихідних матеріалів і реагентів.

Усі реагенти були технічними і використовувалися в стані постачання, без додаткового очищення, якщо не зазначено інакше. Комерційно доступні безводні розчинники використовували для реакцій, проведених в інертній атмосфері. Хімічно чисті розчинники використовували у всіх випадках, якщо не зазначено інакше. Хроматографію проводили на колонках із силікагелем 60 (35-70 мкм). Тонкошарову хроматографію здійснювали, використовуючи планшети, попередньо покриті силікагелем F-254 (товщина 0,25 мм). Спектри ¹H ЯМР записали на спектрометрі Bruker DPX 400 ЯМР (400 МГц). Хімічні зсуви (δ) для спектрів ЯМР ¹H представили в частинах на мільйон (м. ч.) відносно тетраметилсилану (δ 0,00) або прийнятого піка залишкового розчинника, тобто, CHCl₃ (δ 7,27), як внутрішнього джерела

порівняння. Множинність сигналу вказується як синглет (s), дублет (d), триплет (t), квартет (q), мультиплет (m) і уширений (br). Константи взаємодії (J) вказуються в Гц. MS спектри з розпиленням в електричному полі одержали на спектрометрі LC/MS Micromass platform. Колонка, використовувана для всього аналізу LCMS: Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 мкм, 2,1 мм ID × 50 мм L (партія № 186002350)). Препаративна ВЕРХ: Waters XBridge Prep C18 5 мкм ODB 19 мм ID × 100 мм L (партія № 186002978). В усіх способах використовували градієнт MeCN/H₂O. H₂O містить або 0,1 % TFA або 0,1 % NH₃.

Список скорочень, використовуваних в експериментальній частині:

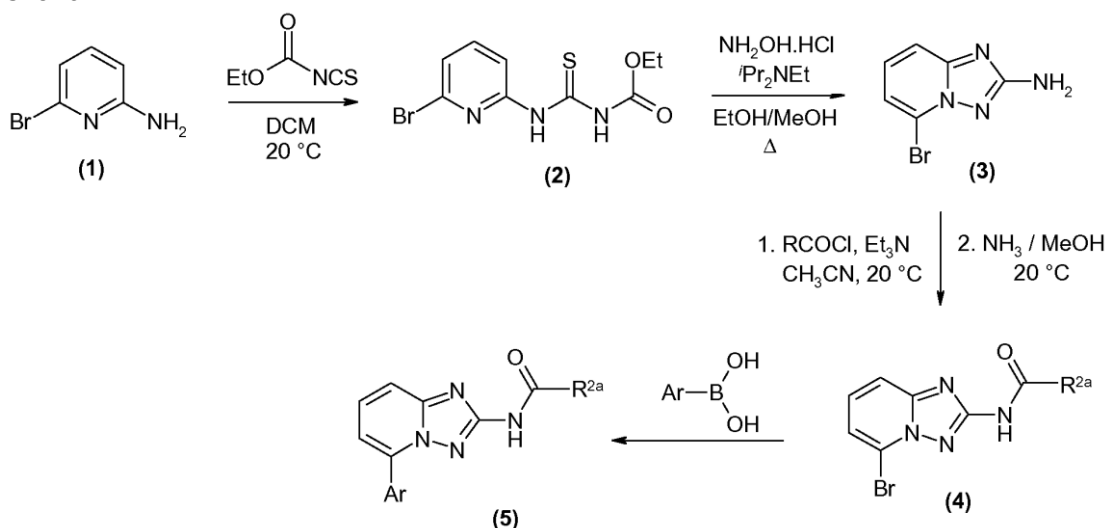
DCM	Дихлорометан
DiPEA	N, N-діізопропілетиламін
MeCN	Ацетонітрил
BOC	трет-Бутилоксикарбоніл
DMF	N, N-диметилформамід
TFA	Трифтороцтова кислота
THF	Тетрагідрофуран
ЯМР	Ядерний магнітний резонанс
ДМСО	Диметилсульфоксид
DPPA	Дифенілфосфорилазид
LC-MS	Рідинна хроматографія-мас-спектрометрія
М. ч.	Частин на мільйон
EtOAc	Етилацетат
APCI	Хімічна іонізація при атмосферному тиску
Rt	Час утримування
s	Синглет
br s	Розширений синглет
m	Мультиплет
d	Дублет
PdCl ₂ dppf	[1,1'-Біс(дифенілфосфіно)фероцен] дихлоропаладій(II)
TEA	Триетиламін

Синтетичне одержання сполук за винаходом

Сполуку за винаходом можна одержувати за наступною схемою.

Загальний спосіб синтезу

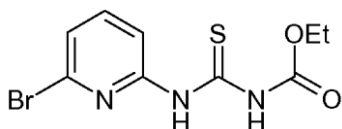
Схема 1



де Ar являє собою Cy1-L1-(CR^{4b4c})_{n1}-R^{3b}, і Cy1, L1, n1, R^{2a}, R^{3b}, R^{4b} і R^{4c} такі, як описано в даному документі.

Загальне

1.1.1 1-(6-бромпіридин-2-іл)-3-карбоетокситіосечовина (2)

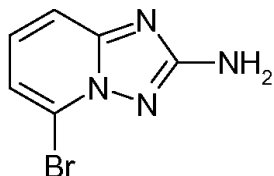


(2)

До розчину 2-аміно-6-бромпіридину (1) (253,8 м, 1,467 моль) у DCM (2,5 л), охолодженого до 5 °С додають етоксикарбонілізотіоціанат (173,0 мл, 1,467 моль) по краплях, протягом 15 хв. Потім реакційну суміш залишають нагріватися до кімнатної температури (20 °С) і перемішують протягом 16 год. Випаровування *in vacuo* привело до утворення твердої речовини, яку можна одержувати фільтрацією, ретельно промивати бензином (3×600 мл) і піддавати повітряному сушінню для надання (2). Тіосечовину як таку можна використовувати для наступної стадії без будь-якого очищення.

¹H (400 МГц, CDCl₃), δ: 12,03 (ушир. с, 1H, NH), 8,81 (д, J=7,8 Гц, 1H, H-3), 8,15 (ушир. с, 1H, NH), 7,60 (т, J=8,0 Гц, 1H, H-4), 7,32 (дд, J=7,7 Гц, J=0,6 Гц, 1H, H-5), 4,31 (кв., J=7,1 Гц, 2H, CH₂), 1,35 (т, J=7,1 Гц, 3H, CH₃).

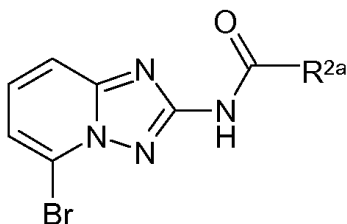
1.1.2 5-бром-[1,2,4]триазоло[1,5-a]піридин-2-іламін (3)



(3)

До суспензії гідроксиламіну гідрохлориду (101,8 г, 1,465 моль) у EtOH/MeOH (1:1, 900 мл) додають N, N-діізопропілетиламін (145,3 мл, 0,879 моль) і суміш перемішують при кімнатній температурі (20 °С) протягом 1 год. 1-(6-бромпіридин-2-іл)-3-карбоетокситіосечовину (2) (89,0 г, 0,293 моль), можна потім додавати і повільно нагрівати суміш зі зворотним холодильником (примітка: для уловлювання виділеного H₂S потрібен скруббер з розчином гіпохлориту натрію). Після 3 год. зі зворотним холодильником суміші давали охолонути і фільтрували для збору твердої речовини, що випала в осад. Додатково продукт можна зібрати випаровуванням фільтрату *in vacuo*, додаванням H₂O (250 мл) і фільтрацією. Комбіновані тверді речовини промивають послідовно з H₂O (250 мл), EtOH/MeOH (1:1, 250 мл) і Et₂O (250 мл), потім висушують *in vacuo* для одержання похідного триазолопіридину (3) у вигляді твердої речовини. Сполука може бути використана як така для наступної стадії без будь-якого очищення. ¹H (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,43-7,34 (м, 2H, 2 × ароматичний-H), 7,24 (дд, 1H, J=6,8 Гц J=1,8 Гц, ароматичний-H), 6,30 (ушир., 2H, NH₂); m/z 213/215 (1:1, M+H⁺, 100 %).

1.1.3 Загальний спосіб моноацилювання для одержання проміжної сполуки (4):



(4)

До розчину 2-амінотриазолопіридину (3) (7,10 г, 33,3 ммоль) у сухому CH₃CN (150 мл) при 5 °С додають Et₃N (11,6 мл, 83,3 ммоль) з наступним додаванням належного хлорангідриду (83,3 ммоль). Реакційній суміші потім дають охолонути до температури навколишнього середовища і перемішують доти, доки не витратиться вихідний матеріал (3). Якщо необхідно, Et₃N (4,64 мл, 33,3 ммоль) і хлорангідрид (33,3 ммоль) можна додати додатково, для забезпечення завершення реакції. Після випарювання розчинника *in vacuo* залишок обробляють 7 N розчином аміаку в метанолі (50 мл) і перемішують при температурі навколишнього середовища (протягом 1-16 год.) для гідролізу будь-якого біс-ацилованого продукту. Виділення продукту здійснюють за допомогою видалення летких речовин *in vacuo* з наступним титруванням Et₂O (50 мл). Тверду речовину можна зібрати фільтрацією, промити H₂O (2×50 мл), ацетоном (50 мл) і Et₂O (50 мл), потім висушити *in vacuo* для одержання необхідної ацильної проміжної сполуки (4). У деяких випадках може знадобитися хроматографія на колонці (бензин/EtOAc для одержання чистих сполук).

Спосіб А

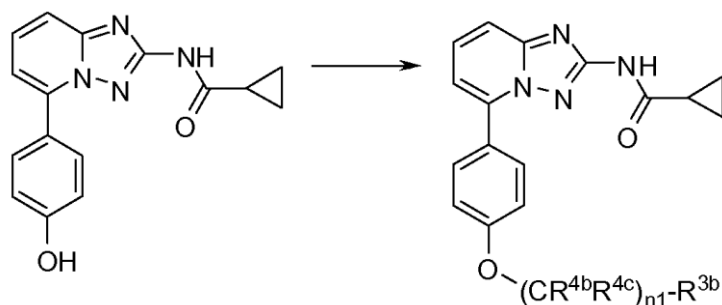
1.1.4 Одержання сполук за винаходом за допомогою сполучення Suzuki (5):

Належну боронову кислоту (2 екв.) додають до розчину проміжної сполуки бром (4) у 1,4-діоксан/вода (5:1). У розчин додають K₂CO₃ (2 екв.) і PdCl₂dppf (5 %). Отриману в результаті

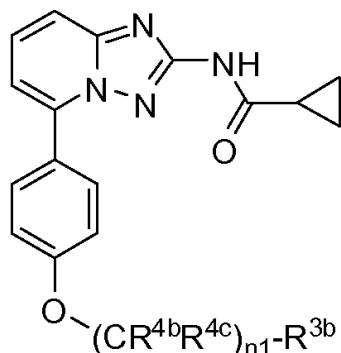
суміш потім нагрівають під дією електромагнітних хвиль при 140 °С протягом 30 хв (цю реакцію можна також виконувати традиційним нагріванням на масляній бані при 90 °С протягом 16 год. в атмосфері N₂). Додають воду і розчин екстрагують етилацетатом. Органічні шари висушують над MgSO₄ і випарюють in vacuo. Готову сполуку одержують після очищення флеш-хроматографії.

5

Спосіб С



де R^{4a}, R^{4b}, R^{4c}, R^{3b} і n1 такі, як описано в даному документі.
Реакція алкілювання (загальний спосіб)



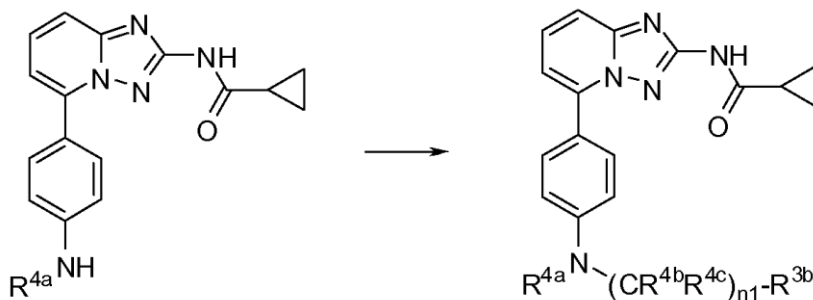
10

Циклопропанкарбонову кислоту [5-(4-гідроксифеніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл]амід (1,1 екв.) отриману за допомогою способу А, і K₂CO₃ (5 екв.) (або AgCO₃) розчиняють у DMF в атмосфері N₂ і по краплях додають належний алкілюючий засіб (1,1 екв.). Отриману в результаті суспензію нагрівають при 50 °С протягом 16 год. Після закінчення цього часу реакцію завершують. Сполуку екстрагують EtOAc і водою, промивають насиченим сольовим розчином і висушують під MgSO₄. Органічні шари фільтрують і випарюють. Готову сполуку виділяють за допомогою препаративної ВЕРХ. Препаративна ВЕРХ: Waters XBridge Prep C18 5 мкм ODB 19 мм ID × 100 мм L (партія № 186002978). В усіх способах використовують градієнти MeCN/H₂O. H₂O містить або 0,1 % TFA або 0,1 % NH₃.

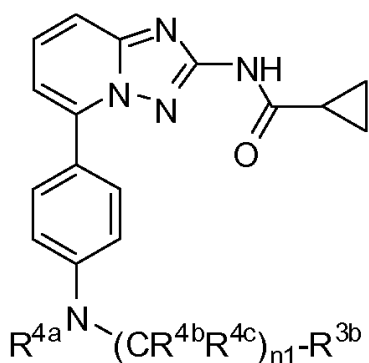
15

20

Спосіб Е



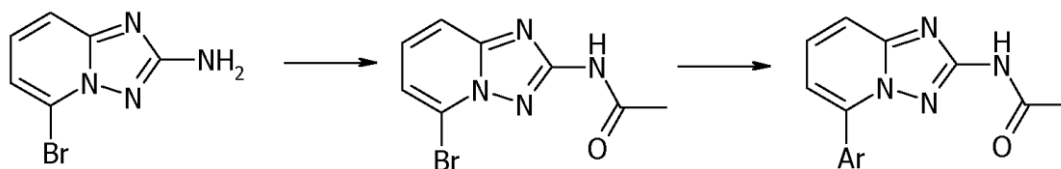
де R^{4a}, R^{4b}, R^{4c}, R^{3b} і n1 такі, як описано в даному документі.
Відновлюване амініування (загальний спосіб)



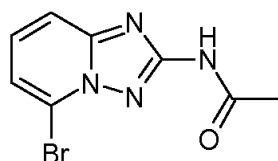
Належний альдегід (2 екв.), анілінову похідну (1 екв.), отримані способом А і $\text{Ti}(\text{OPr})_4$ змішують і перемішують при кімнатній температурі протягом 3 годин. Суміш розбавляють етанолом і додають $\text{Na}(\text{CN})\text{BH}_3$ (1 екв.). Отриманий у результаті розчин перемішують при кімнатній температурі протягом 16 годин. Суміш розбавляють водою і фільтрують. Фільтрат промивають етанолом. Комбіновані розчинні фази випарюють під вакуумом. Готову сполуку виділяють препаративною ВЕРХ.

Препаративна ВЕРХ: Waters XBridge Prep C18 5 мкм ODB 19 мм ID \times 100 мм L (партія № 186002978). В усіх способах використовують градієнти $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$. H_2O містить або 0,1 % TFA або 0,1 % NH_3 .

Спосіб F

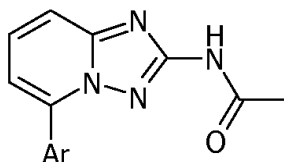


де Ar is $\text{Cy1-L1-(CR}^{4b4c})_{n1}\text{-R}^{3b}$; і Cy1, L1, n1, R^{3b} , R^{4b} і R^{4c} такі, як описано в даному документі.
N-(5-бром-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)ацетамід



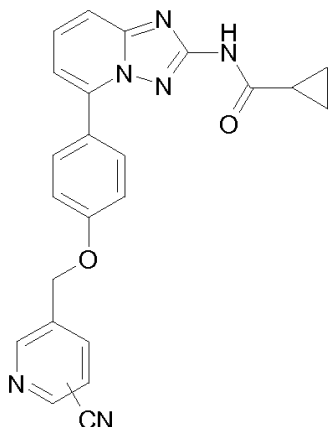
До розчину 5-бром-2-амінотриазолопіридину (1 екв.) у сухому CH_3CN при 5 °C додають Et_3N (2,5 екв.) з наступним додаванням ацетилхлориду (2,5 екв.). Реакційній суміші потім дозволяють нагрітися до температури навколишнього середовища і перемішують доти, доки не витратиться вихідний матеріал. Якщо необхідно, додатково Et_3N (1 екв.) і хлорангідрид (1 екв.) додають для забезпечення повної реакції. Після випарювання розчинника in vacuo осад обробляють 7 N розчином аміаку в метанолі і перемішують при температурі навколишнього середовища (протягом 1-16 год.) для гідролізу будь-якого біс-ацилованого продукту. Виділення продукту здійснюють за допомогою видалення летких речовин in vacuo з наступним додаванням води й екстракцією етилацетатом. Органічну фазу потім висушують над MgSO_4 , випарюють in vacuo. Сполуку використовують без додаткового очищення.

Сполучення Suzuki (загальний спосіб)



Боронову кислоту (2 екв.) додають до розчину N-(5-бром-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)ацетаміду в 1,4-діоксан/вода (5:1). K_2CO_3 (2 екв.) і $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (5 %) (dppf =1,1'-Біс(дифенілфосфіно)фероцен) додають у розчин. Суміш, отриману в результаті, потім нагрівають у мікрохвильовій печі (CEM discover) у запаяній пробірці при 140 °C протягом 30 хв. Додають воду і розчин екстрагують етилацетатом. Органічні шари висушують над MgSO_4 і випарюють in vacuo. Готову сполуку одержують після очищення препаративною ВЕРХ. Аналітична: Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 мкм, 2,1 мм ID \times 50 мм L (партія № 186002350).

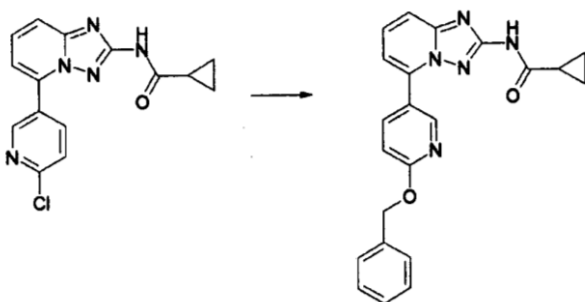
N.1 {5-[4-(нітриларилметокси)феніл]-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл}амід
циклопропанкарбонової кислоти



5 Pd(PPh₃)₄ (0,04 ммоль) додають до дегазованого розчину циклопропанкарбонової кислоти {5-[4-(галогенарил-3-ілметокси)феніл]-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл}амід, отриманої в способі В (0,24 ммоль) і Zn(CN)₂ (0,24 ммоль) у DMF (1 мл). Реакційну суміш піддають мікрохвильовому випромінюванню (W:150 W; T:150 °C) протягом 30 хв. Суміш розбавляють етилацетатом і промивають водою. Органічний шар висушують над MgSO₄, фільтрують і розчинник видаляють під вакуумом. Сполуку очищають препаративною ВЕРХ для одержання продукту (30 % до 50 %).

Синтез сполук за винаходом

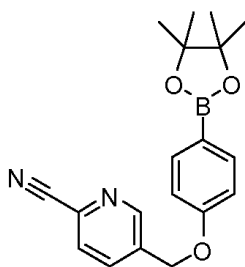
Сполука 57: [5-(6-бензилоксипіридин-3-іл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл]амід циклопропанкарбонової кислоти



15 При 0 °C і в атмосфері N₂, бензиловий спирт (2 екв.) у розчині THF обробляють NaNH 60 % у мінеральному маслі (4 екв.) протягом 30 хв. Потім [5-(6-хлорпіридин-3-іл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл]амід циклопропанкарбонової кислоти, отриманий способом А, додають до розчину і суміш перемішують при 70 °C протягом 3 годин. Реакцію завершують. Реакційну суміш гасять водою і сполуку екстрагують EtOAc. Сполуку промивають насиченим сольовим розчином, висушують над MgSO₄, фільтрують і концентрують. Сполуку очищають на Prep ВЕРХ.

20 Сполука 176: N-(5-(4-((6-ціанопіридин-3-іл)метокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід

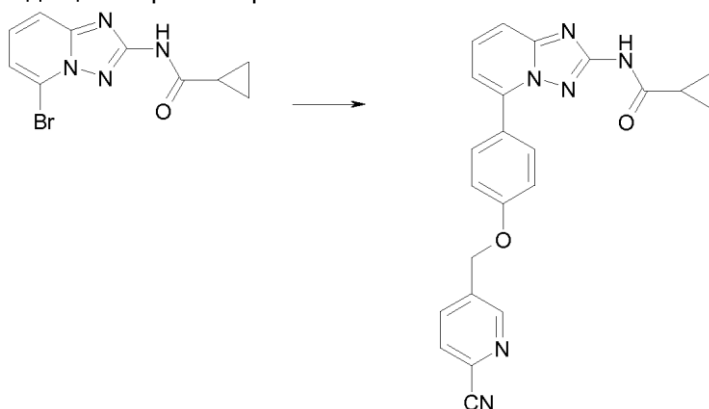
176.1: Синтез 5-[4-(4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]діоксаборолан-2-іл)феноксиметил]піридин-2-карбонітрилу



25 До складного ефіру 4-гідроксифенілборонової кислоти і пінаколу (25 г; 0,11 моль; 1,0 екв.) в ацетоні (250 мл) при кімнатній температурі додають в атмосфері аргону 5-хлорметилпіридин-2-карбонітрил (19 г; 0,12 моль; 1,1 екв.) і карбонат цезію (73,9 г, 0,22 моль; 2 екв.). Реакційну суміш нагрівають протягом 4 годин зі зворотним холодильником. Потім суміш прохолоджують до

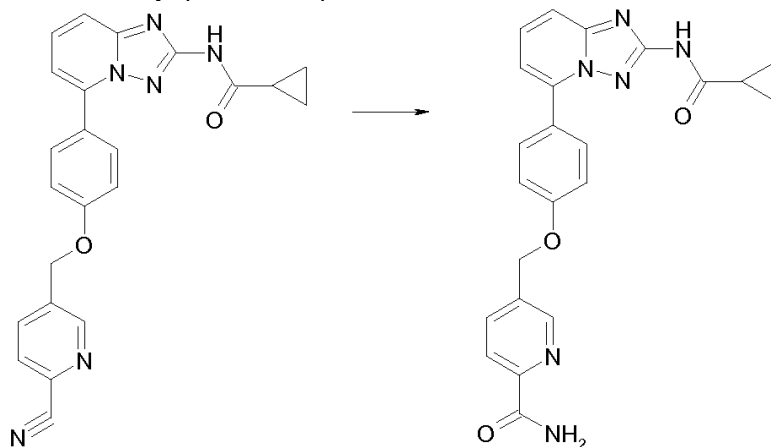
кімнатної температури, ацетон випарюють. Додають воду (200 мл) і продукт екстрагують EtOAc (3×200 мл). Органічний шар висушують над сульфатом магнію, фільтрують і концентрують досуха. Осад, отриманий у результаті, очищають хроматографією на силікагелі (отриманий залишок:EtOAc 10:1) для одержання цільового боронату у вигляді білої твердої речовини.

5 176.2: Синтез {5-[4-(6-ціанопіридин-3-ілметокси)феніл]-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл}аміди циклопропанкарбонової кислоти



5-[4-(4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]діоксаборолан-2-іл)феноксиметил]піридин-2-карбонітрил (10 г, 0,03 моль, 1,1 екв.) додають до розчину (5-бром-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)аміду циклопропанкарбонової кислоти (7,6 г, 0,027 моль) у 1,4-діоксан/вода (4:1; 70 мл). K₂CO₃ (7,45 г, 0,054 моль, 2 екв.) і PdCl₂dppf (5 %) додають до розчину. Отриману в результаті суміш потім нагрівають на масляній бані при 90 °C в атмосфері N₂ до завершення (контролюють LCMS). 1,4-Діоксан видаляють під вакуумом і додають вода/EtOAc і відфільтровують тверду речовину. Отриману тверду речовину розчиняють у метанол/DCM, сушать над MgSO₄ і одержують готову сполуку після очищення флеш-хроматографій, елюють чистим EtOAc з одержанням білої твердої речовини.

Сполука 192: Амід 5-[4-[2-(циклопропанкарбоніламіно)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-5-іл]феноксиметил]піридин-2-карбонової кислоти

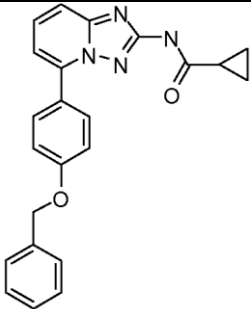
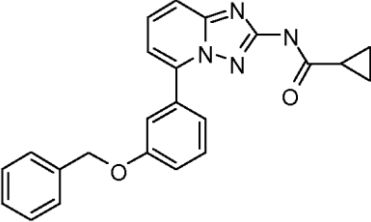
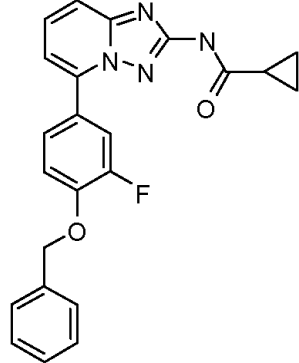
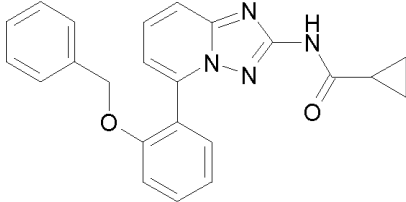
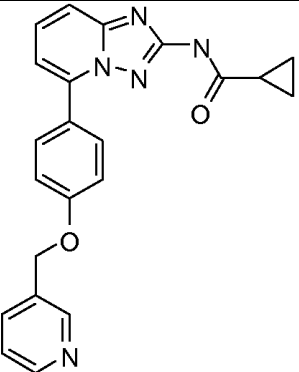


20 До розчину {5-[4-(6-ціанопіридин-3-ілметокси)феніл]-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл}аміду циклопропанкарбонової кислоти (30 мг, 0,073 ммоль, 1 екв.) і K₂CO₃ (10 мг, 0,073 ммоль, 1 екв.) у ДМСО (0,2 мл) при 10 °C, 30 % H₂O₂ (17 мкл, 0,146 ммоль, 2 екв.) додають по краплях. Після перемішування суміші при кімнатній температурі протягом 4 год. суміш розбавляють ДМСО і фільтрують. Фільтрат надають для препаративного очищення ВЕРХ: система UPLC (колонка XBridge™ Prep C18, 5 мкм, 19×100 мм); 8 хв LC; швидкість потоку: 20 мл/хв; градієнт: від 30 % до 70 % ацетонітрилу у воді 0,1 % TFA; виділення готового чистого продукту.

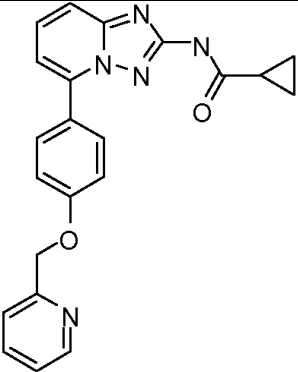
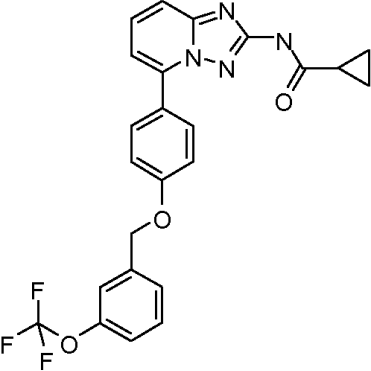
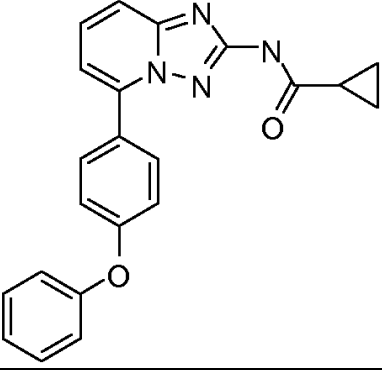
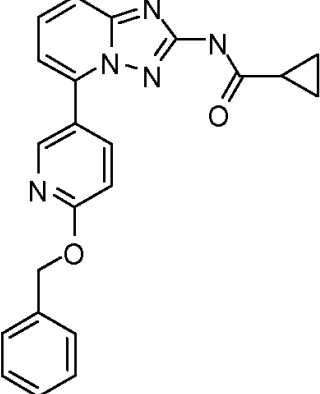
Ілюстративні сполуки, отримані або, які можна одержати відповідно до синтетичних способів, описуваних у даному документі, перераховані нижче в таблиці I. Спектральні дані ЯМР типових сполук за винаходом дані в таблиці II.

30

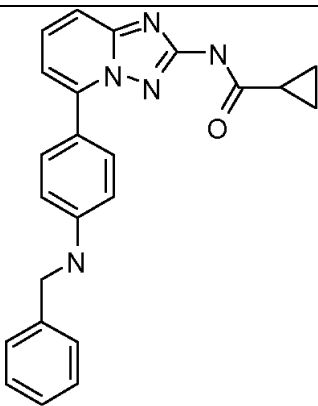
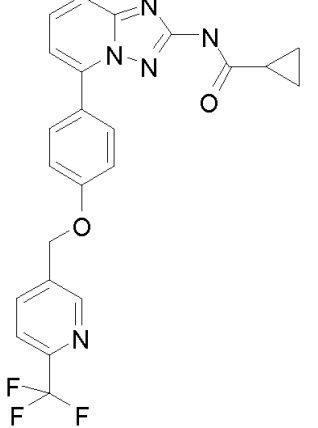
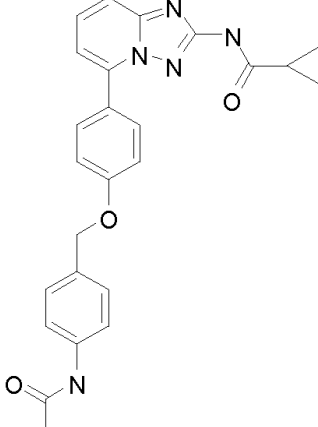
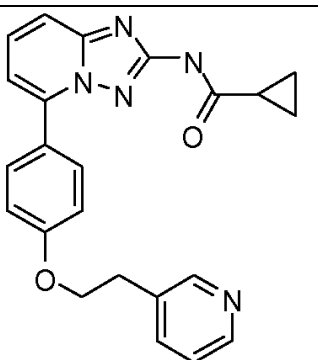
Таблиця І

№ сполуки	Структура	Назва	Спосіб	MW	MS Mes'd
12		N-(5-(4-(бензилокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	A	384,44	385,10
14		N-(5-(3-(бензилокси)феніл)- [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	A	384,44	385,20
15		N-(5-(4-(бензилокси)-3-фторфеніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	A	402,43	403,10
16		N-(5-(2-(бензилокси)феніл)- [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	A	384,44	385,20
36		N-(5-(4-(піридин-3-ілметокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	C	385,43	408,0 (M ⁺ +Na)

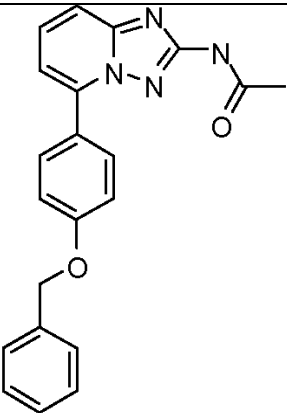
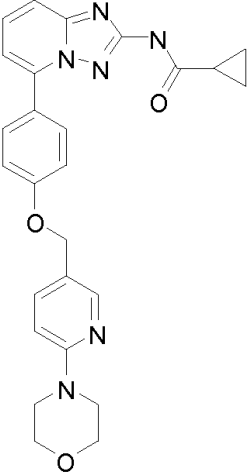
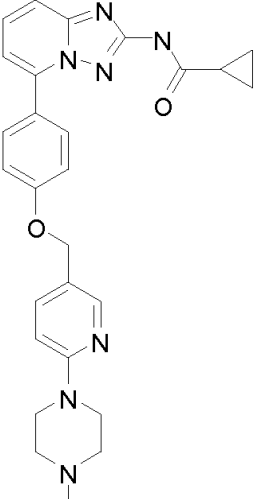
Продовження таблиці I

№ сполуки	Структура	Назва	Спосіб	MW	MS Mes'd
37		N-(5-(4-(піридин-2-ілметокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	C	385,43	408,0 (M ⁺ +Na)
38		N-(5-(4-(3-(трифторметокси)бензилокси)-феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	C	468,44	469,00
46		N-(5-(4-феноксифеніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	A	370,41	371,00
57		N-(5-(6-(бензилокси)піридин-3-іл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	Описано вище	385,43	386,00

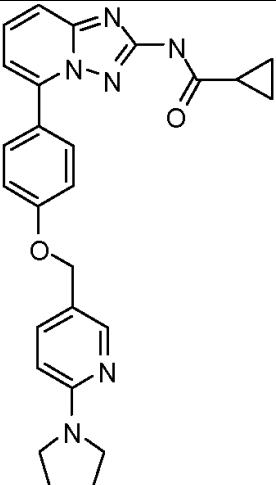
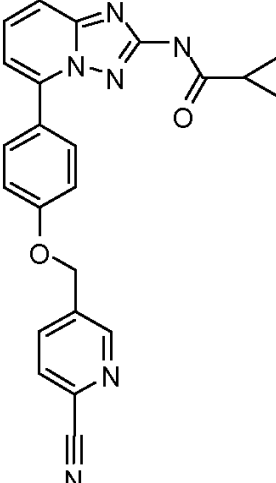
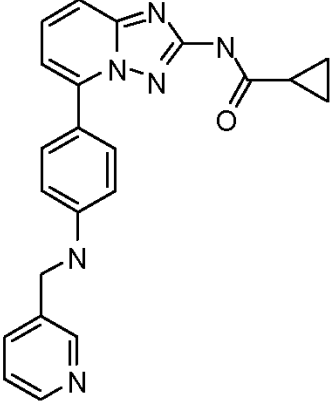
Продовження таблиці I

№ сполуки	Структура	Назва	Спосіб	MW	MS Mes'd
72		N-(5-(4-(бензиламіно)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	E	383,46	384,00
78		N-(5-(4-((6-(трифторметил)піридин-3-іл)метокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	C	453,43	454,00
92		N-(5-(4-(4-ацетамідобензилокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл) циклопропанкарбоксамід	C	441,49	442,00
127		N-(5-(4-(2-(піридин-3-іл)етокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл) циклопропанкарбоксамід	C	399,45	400,0

Продовження таблиці I

№ сполуки	Структура	Назва	Спосіб	MW	MS Mes'd
163		N-(5-(4-(бензилокси)феніл)- [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин- 2-іл)ацетамід	F	358,40	359,00
165		N-(5-(4-((6-морфолінопіридин- 3-іл)метокси)феніл)- [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин- 2-іл)циклопропанкарбоксамід	L	470,53	471,1
167		N-(5-(4-((6-(4-метилпіперазин- 1-іл)піридин-3- іл)метокси)феніл)- [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин- 2-іл)циклопропанкарбоксамід	L	483,58	484,1

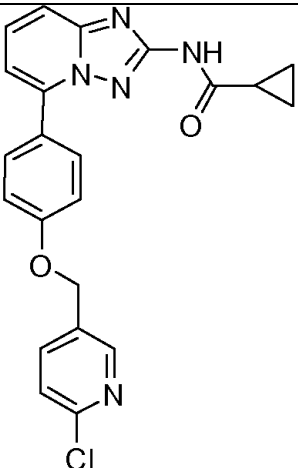
Продовження таблиці I

№ сполуки	Структура	Назва	Спосіб	MW	MS Mes'd
174		N-(5-(4-((6-(піролідин-1-іл)піридин-3-іл)метокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	L	454,53	455,1
176		N-(5-(4-((6-ціанопіридин-3-іл)метокси)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл)циклопропанкарбоксамід	Метод описаний вище	410,44	411,0
182		N-(5-(4-(піридин-3-ілметиламіно)феніл)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл) циклопропанкарбоксамід	E	384,44	385,0

Продовження таблиці I

№ сполуки	Структура	Назва	Спосіб	MW	MS Mes'd
190		метил 6-((4-(2-(циклопропанкарбоксамідо)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-5-іл)фенілциклопропанкарбоксамідо)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-5-іл)фенокси)метил)нікотинат	C	443,47	444,0
192		5-((4-(2-(циклопропанкарбоксамідо)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-5-іл)фенілциклопропанкарбоксамідо)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-5-іл)фенокси)метил)піколінамід	Описано вище	428,45	429,1
197		{5-[4-(6-метилпіридин-3-ілметокси)феніл]-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл}амід циклопропанкарбонової кислоти	C	399,45	400,1

Продовження таблиці I

№ сполуки	Структура	Назва	Спосіб	MW	MS Mes'd
198		{5-[4-(6-хлорпіридин-3-ілметокси)феніл]-[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-іл}амід циклопропанкарбонової кислоти	C	419,87	420,0

Таблиця II

Дані ЯМР типових сполук за винаходом

№ сполуки	Дані ЯМР (δ)
12	¹ H-ЯМР (CDCl ₃): 8,70 (ушир., 1H, NH), 7,97 (д, 2H, Ar), 7,60-7,30 (м, 7H, Ar), 7,15 (м, 2H, Ar), 7,07 (м, 1H, Ar), 5,17 (с, 2H, CH ₂), 1,60 (при водяному піку, 1H, CH), 1,21 (м, 2H, CH ₂), 0,94 (м, 2H, CH ₂)
15	¹ H-ЯМР (DMSO): 11,04 (ушир., 1H, NH), 8,08 (д, 1H, Ar), 7,88 (д, 1H, Ar), 7,68 (м, 2H, Ar), 7,51 (д, 2H, Ar), 2,48-7,30 (м, 5H, Ar), 5,32 (с, 2H, CH ₂), 2,02 (ушир., 1H, CH), 0,83 (м, 4H, 2×CH ₂)
36	¹ H-ЯМР (DMSO): 11,03 (ушир., 1H, NH), 8,62 (м, 1H, Ar), 8,02 (д, 2H, Ar), 7,89 (м, 1H, Ar), 7,66 (м, 2H, Ar), 7,58 (д, 1H, Ar), 7,40 (дд, 1H, Ar), 7,27 (д, 1H, Ar), 7,21 (д, 2H, Ar), 5,31 (с, 2H, CH ₂), 2,02 (ушир., 1H, CH), 0,83 (м, 4H, 2×CH ₂)
37	¹ H-ЯМР (DMSO): 11,01 (ушир., 1H, NH), 8,04 (д, 2H, Ar), 7,68 (м, 2H, Ar), 7,55 (м, 2H, Ar), 7,50 (с, 1H, Ar), 7,38 (д, 1H, Ar), 7,28 (д, 1H, Ar), 7,20 (д, 2H, Ar), 5,30 (с, 2H, CH ₂), 2,02 (ушир., 1H, CH), 0,82 (м, 4H, 2×CH ₂)
38	¹ H-ЯМР (DMSO): 11,01 (ушир., 1H, NH), 8,00 (д, 2H, Ar), 7,69 (д, 2H, Ar), 7,69 (дд, 1H, Ar), 7,64 (д, 1H, Ar), 7,26 (д, 1H, Ar), 7,11 (д, 2H, Ar), 4,07 (д, 2H, CH ₂), 2,78 (м, 1H, CH), 2,2-1,8 (м, 7H, CH, 3×CH ₂), 0,83 (м, 4H, 2×CH ₂),
57	¹ H-ЯМР (DMSO): 11,18 (ушир., 1H, NH), 8,01 (д, 2H, Ar), 7,68 (м, 2H, Ar), 7,26 (д, 1H, Ar), 7,09 (д, 2H, Ar), 4,12 (т, 2H, CH ₂), 2,86 (т, 2H, CH ₂), 2,28 (с, 6H, 2×CH ₃), 2,02 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, 2×CH ₂),
72	¹ H-ЯМР (DMSO): 10,95 (ушир., 1H, NH), 7,85 (д, 2H, Ar), 7,61 (дд, 1H, Ar), 7,51 (д, 1H, Ar), 7,40 (м, 4H, Ar), 7,36 (м, 1H, Ar), 7,24 (д, 1H, Ar), 7,09 (м, 4H, Ar), 6,88 (м, 1H, Ar), 6,70 (д, 2H, Ar), 4,37 (д, 2H, CH ₂), 2,02 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, 2×CH ₂)
73	¹ H-ЯМР (DMSO): 11,05 (с, 1H, NH), 8,09 (д, 2H, Ar), 8,02 (д, 2H, Ar), 7,3-7,56 (м, 7H, Ar), 7,36 (м, 1H, Ar), 4,54 (ушир., 1H, CH), 3,80 (м, 2H, CH ₂), 3,06 (ушир., 1H, CH), 2,02-1,80 (ушир., 4H, 2×CH, CH ₂), 1,58 (м, 2H, CH ₂), 0,81 (м, 4H, 2×CH ₂)
78	¹ H-ЯМР (DMSO): 11,05 (с, 1H, NH), 8,09 (д, 2H, Ar), 8,02 (д, 2H, Ar), 7,3-7,56 (м, 7H, Ar), 7,36 (м, 1H, Ar), 4,54 (ушир., 1H, CH), 3,80 (м, 2H, CH ₂), 3,06 (ушир., 1H, CH), 2,02-1,80 (ушир., 4H, 2×CH, CH ₂), 1,58 (м, 2H, CH ₂), 0,81 (м, 4H, 2×CH ₂)
92	¹ H-ЯМР (DMSO): 11,03 (ушир., 1H, NH), 10,01 (ушир., 1H, NH), 8,00 (д, 2H, Ar), 7,65 (м, 4H, Ar), 7,41 (д, 2H, Ar), 7,27 (м, 1H, Ar), 7,17 (д, 2H, Ar), 5,15 (с, 2H, CH ₂), 2,04 (м, 4H, CH ₃ , CH), 0,82 (м, 4H, 2×CH ₂)

№ сполуки	Дані ЯМР (δ)
127	¹ H-ЯМР (ДМСО): 10,98 (с, 1H, NH), 8,63 (с, 1H, Ar), 8,51 (м, 1H, Ar), 8,00 (д, 2H, Ar), 7,91 (д, 1H, Ar), 7,64 (м, 2H, Ar), 7,46 (м, 1H, Ar), 7,24 (м, 1H, Ar), 7,13 (м, 2H, Ar), 4,36 (т, 2H, CH ₂), 3,14 (т, 2H, CH ₂), 2,04 (ушир., 1H, CH), 0,82 (м, 4H, 2×CH ₂)
163	¹ H-ЯМР (ДМСО): 10,72 (ушир., 1H, NH), 7,99 (м, 2H, Ar), 7,65 (ушир., 2H, Ar), 7,48 (ушир., 4H, Ar), 7,18 (м, 2H, Ar), 5,21 (д, 2H, CH ₂), 2,12 (ушир., 3H, CH ₃)
165	¹ H-ЯМР (ДМСО): 8,26 (д, 1H, Ar), 8,01 (д, 2H, Ar), 7,68 (м, 2H, Ar), 7,62 (д, 1H, Ar), 7,26 (д, 1H, Ar), 7,17 (д, 2H, Ar), 6,87 (д, 1H, Ar), 5,10 (с, 2H, CH ₂), 3,69 (т, 4H, 2×CH ₂), 3,46 (т, 4H, 2×CH ₂), 2,07 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, CH ₂)
167	¹ H-ЯМР (ДМСО): 11,00 (ушир., 1H, NH), 10,03 (ушир., 1H, NH), 8,31 (д, 1H, Ar), 8,03 (д, 2H, Ar), 7,76 (д, 1H, Ar), 7,69 (м, 1H, Ar), 7,63 (д, 1H, Ar), 7,26 (м, 1H, Ar), 7,18 (м, 2H, Ar), 7,00 (д, 1H, Ar), 5,12 (с, 2H, CH ₂), 4,41 (ушир., 2H, CH ₂), 3,49 (ушир., 2H, CH ₂), 3,15 (ушир., 4H, 2×CH ₂), 2,84 (с, 3H, CH ₃), 2,04 (ушир., 1H, CH), 0,82 (м, 4H, 2×CH ₂)
174	¹ H-ЯМР (ДМСО): 11,02 (ушир., 1H, NH), 8,14 (с, 1H, Ar), 8,03 (м, 3H, Ar), 7,66 (м, 2H, Ar), 7,27 (д, 1H, Ar), 7,20 (дд, 2H, Ar), 7,10 (д, 1H, Ar), 5,17 (с, 2H, CH ₂), 3,53 (т, 4H, 2×CH ₂), 2,02 (т, 5H, 2×CH ₂ , CH), 0,82 (м, 4H, 2×CH ₂)
176	¹ H-ЯМР (ДМСО): 11,01 (ушир., 1H, NH), 8,89 (с, 1H, Ar), 8,16 (д, 1H, Ar), 8,09 (д, 1H, Ar), 8,04 (д, 2H, Ar), 7,67 (м, 2H, Ar), 7,27 (д, 1H, Ar), 7,23 (д, 2H, Ar), 5,41 (с, 2H, CH ₂), 2,04 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, 2×CH ₂)
182	¹ H-ЯМР (ДМСО): 10,94 (ушир., 1H, NH), 8,62 (с, 1H, Ar), 8,46 (д, 1H, Ar), 7,86 (д, 2H, Ar), 7,78 (д, 1H, Ar), 7,62 (дд, 1H, Ar), 7,51 (д, 1H, Ar), 7,37 (м, 1H, Ar), 6,89 (м, 1H, NH), 6,73 (д, 2H, Ar), 6,57 (с, 1H, Ar), 4,42 (д, 2H, CH ₂), 2,05 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, 2×CH ₂)
190	¹ H-ЯМР (ДМСО): 11,04 (ушир., 1H, NH), 9,11 (с, 1H, Ar), 8,38 (д, 1H, Ar), 8,02 (д, 2H, Ar), 7,69 (м, 3H, Ar), 7,22 (м, 3H, Ar), 5,41 (с, 2H, Ar), 3,90 (с, 3H, Ar), 2,04 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, 2×CH ₂)
192	¹ H-ЯМР (ДМСО): 11,07 (ушир., 1H, NH), 8,76 (с, 1H, Ar), 8,16 (ушир., 1H, Ar), 8,09 (с, 2H, Ar), 8,03 (д, 2H, Ar), 7,68 (м, 3H, Ar), 7,28 (д, 1H, Ar), 7,23 (д, 2H, Ar), 5,38 (с, 2H, CH ₂), 2,02 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, 2×CH ₂)
197	¹ H-ЯМР (ДМСО): 10,99 (ушир., 1H, NH), 8,57 (д, 1H, Ar), 8,02 (д, 2H, Ar), 7,79 (дд, 1H, Ar), 7,69 (дд, 1H, Ar), 7,63 (дд, 1H, Ar), 7,29 (д, 1H, Ar), 7,26 (дд, 1H, Ar), 7,20 (д, 2H, Ar), 5,22 (с, 2H, CH ₂), 2,50 (с, 3H, CH ₃), 2,03 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, CH ₂)
198	¹ H-ЯМР (ДМСО): 10,99 (ушир., 1H, NH), 8,56 (м, 1H, Ar), 8,03 (д, 2H, Ar), 7,99 (дд, 1H, Ar), 7,69 (дд, 1H, Ar), 7,63 (дд, 1H, Ar), 7,58 (д, 1H, Ar), 7,27 (дд, 1H, Ar), 7,21 (д, 2H, Ar), 5,29 (с, 2H, CH ₂), 2,04 (ушир., 1H, CH), 0,81 (м, 4H, CH ₂)

Біологічні приклади

Приклад 1 – Аналізи in vitro

5 Приклад 1.1 Аналізи інгібування JAK1

Каталітичний домен рекомбінантного JAK1 людини (амінокислоти 850-1154; номер у каталозі 08-144) придбали в Cerna Biosciences. 10 нг JAK1 інкубували з 12,5 мкг субстрату полі-GT (номер у каталозі Sigma P0275) у буфері для кіназної реакції (кінцеві концентрації 15 мМ трис-HCl pH 7,5, 1 мМ DTT, 0,01 % Tween-20, 10 мМ MgCl₂, 2 мкМ нерадіоактивних АТФ, 0,25 мкКі ³³P-гамма-АТФ (GE Healthcare, номер у каталозі AN9968)) з наявністю або відсутністю 5 мкл, що містять тестовану сполуку або носій (кінцева концентрація ДМСО 1 %), у сумарному об'ємі 25 мкл, у поліпропіленовому 96-ячковому планшеті (Greiner, V-подібне дно ямок). Після 45 хвилин при 30 °С реакції зупинили додаванням 25 мкл/ямка 150 мМ фосфорної кислоти. Усі завершені кіназні реакції перенесли в попередньо промиті (75 мм фосфорною кислотою) 96-ячкові фільтр-планшети (номер у каталозі Perkin Elmer 6005177), використовуючи клітинний харвестер (Perkin Elmer). Планшети промили 6 разів 300 мкл 75 мм розчину фосфорної кислоти на ямку, і нижню частину планшетів запечатали. Додали 40 мкл/ямка Microscint-20, верхню частину планшетів запечатали, а зчитування проводили, використовуючи Topcount (Perkin Elmer). Кіназну активність розраховали, віднімаючи число імпульсів за хвилину (срп), отримане

в присутності позитивного контролю інгібітору (10 мкм стауроспорину), з срт, отриманого в присутності носія. Здатність тестованої сполуки інгібувати цю активність визначили як

Відсоток інгібування = $\left(\frac{\text{срт, визначене для зразка, у якому присутня тестована сполука,} - \text{срт, визначене для зразка з позитивним контролем інгібітору}}{\text{срт, визначене в присутності носія,} - \text{срт, визначене для зразка з позитивним контролем інгібітору}} \right) * 100 \%$.

Для сполук одержали серії розведення дози, що дозволяють тестування ефекту дози при аналізі JAK1 і обчислення IC_{50} для кожної сполуки. Кожну сполуку тестували загальноприйнятим способом при концентрації 20 мкм із наступним серійним розведенням 1/3, 8 значень (20 мкм – 6,67 мкм – 2,22 мкм - 740 нм - 247 нм - 82 нм - 27 нм - 9 нм) у ДМСО з кінцевою концентрацією 1 %. При підвищеній ефективності серій сполук одержували більше розведень і/або знижували верхнє значення концентрації (наприклад, 5 мкм, 1 мкм).

Напівкількісна оцінка:

* >501 нМ
 ** 101-500 нМ
 *** 0,1-100 нМ

Таблиця III

Значення IC_{50} сполук відносно JAK1

№ сполуки	JAK1
12	***
14	**
15	***
36	***
37	***
38	**
57	***
72	***
78	***
92	***
127	**

G100833
 G106233

№ сполуки	JAK1
163	***
165	**
167	**
174	*
176	***
182	***
190	***
192	***
197	***
198	***

Приклад 1.2 Аналіз інгібування JAK2

Каталітичний домен рекомбінантного JAK2 людини (амінокислоти 808-1132; номер у каталозі PV4210) придбали в Invitrogen. 0,025 мЕД JAK2 інкубували з 2,5 мкг субстрату полі-GT (номер у каталозі Sigma P0275) у буфері для кіназної реакції (кінцеві концентрації 5 мМ MOPS pH 7,5, 9 мМ MgAc, 0,3 мМ EDTA, 0,06 % Brij і 0,6 мМ DTT, 1 мкМ нерадіоактивних АТФ, 0,25 мкКі ^{33}P -гамма-АТФ (GE Healthcare, номер у каталозі AH9968)), з наявністю або відсутністю 5 мкл, що містять тестовану сполуку або носій (ДМСО в кінцевій концентрації 1 %), у сумарному об'ємі 25 мкл, у поліпропіленовому 96-ямковому планшеті (Greiner, V-подібне дно ямок). Після 90 хвилин при 30 °C реакції зупинили додаванням 25 мкл/ямка 150 мМ фосфорної кислоти. Усі завершені кіназні реакції перенесли в попередньо промиті (75 мм фосфорною кислотою) 96-ямкові фільтр-планшети (номер у каталозі Perkin Elmer 6005177), використовуючи клітинний харвестер (Perkin Elmer). Планшети промили 6 разів 300 мкл 75 мм розчину фосфорної кислоти на ямку і нижню частину планшетів запечатали. Додали 40 мкл/ямка Microscint-20, верхню частину планшетів запечатали і зчитування проводили, використовуючи Topcount (Perkin Elmer). Кіназну активність обчислили, віднімаючи число імпульсів за хвилину (срт), отримане в присутності позитивного контролю інгібітору (10 мкм стауроспорину) з срт, отриманого в присутності носія. Здатність тестованої сполуки інгібувати цю активність визначили як

Відсоток інгібування = $\left(\frac{\text{срт, визначене для зразка, у якому присутня тестована сполука,} - \text{срт, визначене для зразка з позитивним контролем інгібітору}}{\text{срт, визначене в присутності носія,} - \text{срт, визначене для зразка з позитивним контролем інгібітору}} \right) * 100 \%$.

Для сполук одержали серії розведення дози, що дозволяють тестування ефекту дози в аналізі JAK2 і обчислення IC_{50} для кожної сполуки. Кожну сполуку тестували загальноприйнятими способами при концентрації 20 мкм із наступним серійним розведенням 1/3, 8 значень (20 мкм – 6,67 мкм – 2,22 мкм - 740 нм - 247 нм - 82 нм - 27 нм - 9 нм) у ДМСО з кінцевою концентрацією 1 %. При підвищеній ефективності серій сполук одержували більше розведень і/або знижували верхнє значення концентрації (наприклад, 5 мкм, 1 мкм).

Напівкількісна оцінка:

>501 нМ
101-500 нМ
1-100 нМ

Таблиця IV

Значення IC₅₀ сполук відносно JAK2

№ сполуки	JAK2
12	###
14	#
36	###
37	###
57	###
72	###
78	###
92	##
163	####
176	###
197	###
198	###

5 Приклад 1.3 Аналіз інгібування JAK3

Каталітичний домен рекомбінантного JAK3 людини (амінокислоти 781-1124; номер у каталозі PV3855) придбали в Invitrogen. 0,025 мЕд JAK3 інкубували з 2,5 мкг субстрату полі-GT (номер у каталозі Sigma P0275) у буфері для кінзної реакції (кінцеві концентрації 25 мМ Tris pH 7,5, 0,5 мМ EGTA, 0,5 мМ Na₃VO₄, 5 мМ b-гліцеринфосфат, 0,01 % triton X-100, 1 мкМ нерадіоактивного АТФ, 0,25 мкМ ³³P-гамма-АТФ (GE Healthcare, номер у каталозі AH9968)) з наявністю або відсутністю 5 мкл, що містять тестовану сполуку або носій (ДМСО, кінцева концентрація 1 %), у сумарному об'ємі 25 мкл, у поліпропіленовому 96-ямковому планшеті (Greiner, V-подібне дно ямок). Після 105 хвилин при 30 °С реакції зупинили додаванням 25 мкл/ямка 150 мМ фосфорної кислоти. Усі завершені кінзні реакції перенесли в попередньо промиті (75 мМ фосфорною кислотою) 96-ямкові фільтр-планшети (номер у каталозі Perkin Elmer 6005177), використовуючи клітинний харвестер (Perkin Elmer). Планшети промили 6 разів 300 мкл 75 мМ розчину фосфорної кислоти на ямку і нижню частину планшетів запечатали. Додали 40 мкл/ямка Microscint-20, верхню частину планшетів запечатали, а зчитування проводили, використовуючи Topcount (Perkin Elmer). Кінзну активність обчислили, віднімаючи число імпульсів за хвилину (срт), отримане в присутності позитивного контролю інгібітору (10 мкМ стауроспорину), з срт, отриманого в присутності носія. Здатність тестованої сполуки інгібувати цю активність визначили як

Відсоток інгібування = ((срт, визначене для зразка, у якому присутня тестована сполука, – срт, визначене для зразка з позитивним контролем інгібітору), поділене на (срт, визначене в присутності носія, – срт, визначене для зразка з позитивним контролем інгібітору)) * 100 %.

Для сполук одержали серії розведення дози, що дозволяють тестування ефекту дози в аналізі JAK3 і обчислення IC₅₀ для кожної сполуки. Кожну сполуку тестували загальноприйнятим способом при концентрації 20 мкМ із наступним серійним розведенням 1/3, 8 значень (20 мкМ – 6,67 мкМ – 2,22 мкМ – 740 нМ – 247 нМ – 82 нМ – 27 нМ – 9 нМ) у ДМСО з кінцевою концентрацією 1 %. При підвищеній ефективності серій сполук одержували більше розведень і/або знижували верхнє значення концентрації (наприклад, 5 мкМ, 1 мкМ).

Напівкількісна оцінка:

+ >501 нМ
++ 101-500 нМ
+++ 1-100 нМ

Таблиця V

Значення IC₅₀ сполук відносно JAK3

№ сполуки	JAK3
12	+++
15	++
36	++
37	+
57	+
72	+
78	++
163	++
176	+++

Приклад 1.4 Аналіз інгібування TYK2

Каталітичний домен рекомбінантного TYK2 людини (амінокислоти 871-1187; номер у каталозі 08-147) придбали в Carna biosciences. 5 нг TYK2 інкубували з 12,5 мкг субстрату полі-GT (номер у каталозі Sigma P0275) у буфері для кінзної реакції (кінцеві концентрації 25 мМ Hepes pH 7,5, 100 мМ NaCl, 0,02 мМ Na₃VO₄, 0,1 % NP-40, 0,1 мкМ нерадіоактивного АТФ, 0,125 мкКі ³³P-гамма-АТФ (GE Healthcare, номер у каталозі AN9968)) з наявністю або відсутністю 5 мкл, що містять тестовану сполуку або носій (ДМСО, кінцева концентрація 1 %), у сумарному об'ємі 25 мкл, у поліпропіленовому 96-ямковому планшеті (Greiner, V-подібне дно ямок). Після 90 хвилин при 30 °C реакції зупинили додаванням 25 мкл/ямка 150 мМ фосфорної кислоти. Усі завершені кінзні реакції перенесли в попередньо промиті (75 мМ фосфорною кислотою) 96-ямкові фільтр-планшети (номер у каталозі Perkin Elmer 6005177), використовуючи клітинний харвестер (Perkin Elmer). Планшети промили 6 разів 300 мкл 75 мМ розчину фосфорної кислоти на ямку і нижню частину планшетів запечатали. Додали 40 мкл/ямка Microscint-20, верхню частину планшетів запечатали, а зчитування проводили, використовуючи Topcount (Perkin Elmer). Кінзную активність обчислили, віднімаючи число імпульсів за хвилину (срм), отримане в присутності позитивного контролю інгібітору (10 мкМ стауроспорину), з срм, отриманого в присутності носія. Здатність тестованої сполуки інгібувати цю активність визначили як

Відсоток інгібування = ((срм, визначене для зразка, у якому присутня тестована сполука, – срм, визначене для зразка з позитивним контролем інгібітору), ділене на (срм, визначене в присутності носія, – срм, визначене для зразка з позитивним контролем інгібітору)) * 100 %.

Для сполук одержали серії розведення дози, що дозволяють тестування ефекту дози при аналізі TYK2 і обчислення IC₅₀ для кожної сполуки. Кожну сполуку тестували загальноприйнятим способом при концентрації 20 мкМ із наступним серійним розведенням 1/3, 8 значень (20 мкМ – 6,67 мкМ – 2,22 мкМ – 740 нМ – 247 нМ – 82 нМ – 27 нМ – 9 нМ) у ДМСО з кінцевою концентрацією 1 %. При підвищеній ефективності серій сполук одержували більше розведень і/або знижували верхнє значення концентрації (наприклад, 5 мкМ, 1 мкМ).

Напівкількісна оцінка:

*	>1001 нМ
**	501-1000 нМ
***	101-500 нМ
****	1-100 нМ

Таблиця VI

Значення IC₅₀ сполук відносно TYK2

№ сполуки	TYK2
15	*
36	***
37	**
57	*
72	*
92	*
163	*
176	****

Приклад 2. Клітинний аналіз

Приклад 2.1 Аналіз передачі сигналу JAK-STAT:

Клітини HeLa підтримували в модифікованому по способу Дульбекко середовищі Ігла (DMEM), що містить 10 % інактивовану нагріванням ембріональну сироватку теляти, 100 Од/мл пеніциліну і 100 мкг/мл стрептоміцину. Для трансфекції використовували клітини HeLa при 70 % змиканні моношару. 20000 клітин у 87 мкл середовища для культивування клітин тимчасово трансфікували 40 нг рSTAT1(2)-репортерний ген люциферази (Panomics), 8 нг репортерного гена Lac як внутрішній контроль репортерного гена, і 52 нг рBSK, використовуючи 0,32 мкл Jet-PEI (Polyplus) як реагент трансфекції на ямку, у форматі 96-ямкового планшета. Після інкубації протягом ночі при 37 °C 10 % CO₂ середовище для трансфекції видалили. Додавали 75 мкл DMEM+1,5 % інактивовану нагріванням ембріональну сироватку теляти. 15 мкл сполуки з 6,7× концентрацією додавали протягом 60 хвилин і потім додали 10 мкл OSM людини (Peprtech) у кінцевій концентрації 33 нг/мл.

Усі сполуки тестували з дублюванням, починаючи з 20 мкМ, з наступним серійним розведенням 1/3, всього 8 доз (20 мкМ – 6,6 мкМ – 2,2 мкМ-740 нМ - 250 нМ - 82 нМ - 27 нМ - 9 нМ) у кінцевій концентрації 0,2 % ДМСО.

Після інкубації протягом ночі при 37 °C, 10 % CO₂, клітини лізували в 100 мкл буфера для лізису/ямка (PBS, 0,9 мМ CaCl₂, 0,5 мМ MgCl₂, 5 % трегалозу, 0,025 % тергітол NP9, 0,15 % БСА).

40 мкл клітинного лізату використовували для визначення активності β-галактозидази, додаючи 180 мкл розчину βGal (30 мкл ONPG 4 мг/мл + 150 мкл буфера для β-галактозидази (0,06 М Na₂HPO₄, 0,04 М Na₂PO₄, 1 мМ MgCl₂)) протягом 20 хвилин. Реакцію зупинили додаванням 50 мкл 1 М Na₂CO₃. Оптичну густину визначили при 405 нм.

Люциферазну активність вимірювали, використовуючи 40 мкл клітинного лізату плюс 40 мкл SteadyLite®, як описано у виробника (Perkin Elmer), на Envision (Perkin Elmer).

10 мкМ rap-JAK інгібітору використовували як позитивний контроль (100 % інгібування). Як негативний контроль використовували 0,5 % ДМСО (0 % інгібування). Позитивний і негативний контроль використовували для розрахунку значення 'z' і 'відсоток інгібування' (PIN).

Відсоток інгібування = ((флуоресценція, визначена в присутності носія, - флуоресценція, визначена для зразка, у якому присутня тестована сполука), поділена на (флуоресценція, визначена в присутності носія, - флуоресценція, визначена для зразка без ініціюючого фактора)) * 100 %.

Значення PIN графічно зобразили для сполук, тестованих на ефект дози й одержали значення EC₅₀.

ТАБЛИЦЯ VII:

*	>1001 нМ
**	501-1000 нМ
***	101-500 нМ
****	1-100 нМ

Таблица VII

Значення EC₅₀ передачі сигналу JAK-STAT

№ сполуки	EC ₅₀ (нМ)
12	***
14	*
15	***
36	***
37	**
57	*
72	*
78	*
92	*
163	*
176	****
182	*

Продовження таблиці VII

№ сполуки	EC ₅₀ (нМ)
190	*
192	***
197	***
198	***

Приклад 2.2 Аналіз передачі сигналу OSM/IL-1 β

OSM і IL-1 β , як показують, синергічно підвищують рівні MMP13 у клітинній лінії хондросаркоми SW1353 людини. Клітини пересівали в 96-ямковий планшет з розрахунку 15000 клітин/ямка в об'ємі 120 мкл DMEM (Invitrogen), що містить 10 % (об./об.) FBS і 1 % пеніцилін/стрептоміцин (Invitrogen), інкубували при 37 °C 5 % CO₂. Клітини попередньо інкубували з 15 мкл сполуки в середовищі M199 з 2 % ДМСО 1 годину перед ініціюванням реакції 15 мкл OSM і IL-1 β , для одержання 25 нг/мл OSM і 1 нг/мл IL-1 β , і рівні MMP13 вимірювали в кондиційованому середовищі через 48 годин після ініціювання реакції. Активність MMP13 виміряли, використовуючи аналіз активності з іммобілізованим антитілом. З цією метою 384-ямкові планшети (NUNC, 460518, MaxiSorb black) обробляли 35 мкл 1,5 мкг/мл розчином антитілу до MMP13 людини (R&D Systems, MAB511) протягом 24 годин при 4 °C. Після 2-кратного промивання ямок з PBS+0,05 % Tween, центри зв'язування, що залишилися, блокували з 100 мкл 5 % знежиреного сухого молока (Santa Cruz, sc-2325, Blotto) у PBS протягом 24 годин при 4 °C. Потім ямки промили 2 рази з PBS+0,05 % Tween і додали 35 мкл супернатанту культури з розведенням 1/10, що містить MMP13 у 100-кратному розведеному блокуючому буфері, і інкубували протягом 4 годин при кімнатній температурі. Потім ямки промили двічі з PBS+0,05 % Tween з наступною активацією MMP13 за допомогою додавання 35 мкл 1,5 мМ розчину ацетату 4-амінофеніл-ртуті (APMA) (Sigma, A9563) і інкубацією при 37 °C протягом 1 години. Ямки промили знову з PBS+0,05 % Tween і додали 35 мкл субстрату для MMP13 (Biotool, PH-126, OmniMMP флуорогенний субстрат). Після інкубації протягом 24 годин при 37 °C флуоресценцію субстрату, що вступив у реакцію, виміряли в Perkin Elmer Wallac EnVision 2102 Multilabel Reader (довжина хвилі збудження: 320 нм, довжини хвилі випромінювання: 405 нм).

Відсоток інгібування = ((флуоресценція, визначена в присутності носія, - флуоресценція, визначена для зразка, у якому присутня тестована сполука), поділена на (флуоресценцію, визначену в присутності носія, - флуоресценція, визначена для зразка без ініціюючого фактора)) * 100 %.

* >1001 нМ
 ** 501-1000 нМ
 *** 1-500 нМ

Таблиця VIII

Значення EC₅₀ для MMP13

№ сполуки	EC ₅₀ (нМ)
12	*
15	*
36	**
37	*
57	*
72	**
78	**
163	*
176	***
182	*
192	*
197	*
198	*

Приклад 2.3 Аналіз проліферації PBL

Лімфоцити периферичної крові людини (PBL) стимулювали IL-2 і проліферацію виміряли, використовуючи аналіз включення Brd. PBL спочатку стимулювали протягом 72 годин з PHA, для індукування рецептора IL-2, залишали без харчування протягом 24 годин для зупинки клітинної проліферації, з наступним стимуляцією IL-2 ще протягом 72 годин (включаючи 24 години на мічення Brd). Клітини піддавали попередній інкубації з тестованими сполуками протягом 1 години перед додаванням IL-2. Клітини культивували в RPMI 1640, що містить 10 % (об./об.) FBS.

Приклад 3. Моделі in vivo

Приклад 3.1 Модель CIA

3.1.1 Матеріали

Повний ад'ювант Фрейнда (CFA) і неповний ад'ювант Фрейнда (IFA) придбали в Difco. Бичачий колаген типу II (CII), ліпополісахарид (LPS) і Енбрел одержали в Chondrex (Л'Іль-д'Або, Франція); Sigma (P4252, Л'Іль-д'Або, Франція), Whyett (25 мг шприц для ін'єкцій, Франція) Acros Organics (Пало-Альто, штат Каліфорнія), відповідно. Всі інші використовувані реагенти були чистими, а всі розчинники мали ступінь чистоти для аналітичних цілей.

3.1.2 Тварини

Щурів Dark Agouti (самці, у віці 7-8 тижнів) одержували з Harlan Laboratories (Месонс-Алфо, Франція). Щурів утримували при 12-годинному циклі чергування світла і темряви (0700-1900). Температуру підтримували при 22 °C, і їжею і водою забезпечували ad libitum.

3.1.3 Артрит, індукований колагеном (CIA)

За одну добу до експерименту одержали розчин CII (2 мг/мл) з 0,05 М оцтовою кислотою і зберігали при 4 °C. Безпосередньо перед імунізацією рівні об'єми ад'юванта (IFA) і CII перемішали гомогенізатором у попередньо охолодженій скляній колбі на бані з крижаною водою. Додаткова кількість ад'юванта і більш тривала гомогенізація могли б знадобитися, якби емульсія не сформувалася. 0,2 мл емульсії увели внутрішньошкірно в основу хвоста кожного щура на добу 1, другу внутрішньошкірну бустер-ін'єкцію (2 мг/мл розчину CII у 0,1 мл фізіологічному розчині CFA) виконували на добу 9. Цей спосіб імунізації змінили щодо опублікованих способів (Sims et al., 2004; Jou et al., 2005).

3.1.4 План дослідження

Терапевтичні ефекти тестованих сполук тестували на моделі CIA у щурів. Щурів випадковим чином розділили на рівні групи, і кожна група містила 10 щурів. Усі щура були імунізовані на добу 1 і вдруге імунізовані на добу 9. Терапевтичне дозування тривало з доби 16 до доби 30. Групі негативного контролю вводили носій (МС 0,5 %), а групі позитивного контролю Енбрел (10 мг/кг, 3× тиждень, s.c.). Сполука, що представляє інтерес, як правило, тестували в 3 дозах, наприклад, 3, 10, 30 мг/кг, рН.о.

3.1.5 Клінічне дослідження артриту

Артрит оцінили відповідно до способу Khachigian 2006, Lin et al. 2007 і Nishida et al. 2004. Припухлість кожної з чотирьох лап класифікували, по оцінці на артрит, у такий спосіб: 0 – немає симптомів; 1 - легка, але зумовлена почервоніння і припухлість одного типу суглоба, такого як щиколотка або зап'ястя, або очевидне почервоніння і припухлість, обмежена окремими пальцями, незалежно від числа вражених пальців; 2 - помірне почервоніння і припухлість двох або більше типів суглобів; 3 – сильне почервоніння і припухлість усієї лапи, включаючи пальці; 4 - максимально збуджена кінцівка, включаючи множину суглобів (максимальна сумарна клінічна оцінка артриту 16 на тварину) (Nishida et al., 2004).

3.1.6 Зміна в масі тіла (%) після прояву артриту

Клінічно втрату маси тіла пов'язують з артритом (Shelton et al., 2005; Argiles et al., 1998; Rail, 2004; Walsmith et al., 2004), таким чином, зміни в масі тіла після прояву артриту можна використовувати як неспецифічний очікуваний результат, для оцінки, на моделі щура, ефекту терапії. Зміну в масі тіла (%) після прояву артриту розраховували в такий спосіб:

$$\text{Миші: } \frac{\text{Маса тіла}_{(6\text{-ий тиждень})} - \text{Маса тіла}_{(5\text{-ий тиждень})}}{\text{Маса тіла}_{(5\text{-ий тиждень})}} \times 100\%$$

$$\text{Щури: } \frac{\text{Маса тіла}_{(4\text{-ий тиждень})} - \text{Маса тіла}_{(3\text{-ий тиждень})}}{\text{Маса тіла}_{(3\text{-ий тиждень})}} \times 100\%$$

3.1.7 Рентгенологія

Для задніх лап кожної окремої тварини зробили рентгенівські знімки. Кожному зі знімків привласнили ідентифікаційний номер, наосліп, випадковим чином, і тяжкість ерозії кісткової

тканини класифікували по двох незалежних оцінках по радіологічній системі оцінки Ларсена в такий спосіб: 0 - нормальний з неушкодженими контурами кістки і нормальною суглобовою щільною; 1 – незначне ушкодження на поверхні будь-якої однієї або двох плюсневих кісток, що мають незначну ерозію кісткової тканини; 2 – визначене початкове ушкодження на поверхні
 5 будь-яких трьох-п'яти плюсневих кісток, що мають ерозію кісткової тканини; 3 – середнє деструктивне ушкодження на поверхні всіх плюсневих кісток, а також усередині будь-якої однієї або двох плюсневих кісток, що мають визначену ерозію кісткової тканини; 4 - тяжке деструктивне ушкодження у всіх плюсневих кістах, що мають визначену ерозію кісткової
 10 тканини і щонайменше один із плюсневих суглобів усередині повністю уражених ерозією, зі збереженням деяких частково збережених кісткових суглобових контурів; 5 – ушкодження, що калічить, без кісткових контурів. Ця система оцінки є модифікацією Salvemini et al., 2001; Bush et al., 2002; Sims et al., 2004; Jou et al., 2005.

3.1.8 Гістологія

Після рентгенівського аналізу задні лапи мишей фіксували в 10 % формаліні, забуференому
 15 фосфатом (pH 7,4), декальцифікували з декальцифікатором для тонкої гістології rapide bone (Laboratories Eurobio) і залили парафіном. Для забезпечення найбільш повної оцінки артричних суглобів одержали щонайменше чотири серійні зрізи (5 мкм товщиною), і проміжок між кожними серіями зрізів склав 100 мкм. Зрізи пофарбували гематоксиліном і еозином (H&E). Гістологічні дослідження на синовіальне запалення й ушкодження кістки і хряща проводили подвійним
 20 сліпим дослідженням. Для кожної лапи визначали чотири параметри, використовуючи шкалу з чотирьох пунктів. Параметри являли собою клітинну інфільтрацію, тяжкість поверхневого дифузійного судинного кератиту, ерозію хрящової і кісткової тканини. Оцінку проводили в такий спосіб: 1 - нормальний, 2 – слабо виражений, 3 - помірний, 4 - виражений. Ці чотири оцінки підсумували разом і представили як додаткову оцінку, а саме, "загальна оцінка RA".

3.1.9 Мікрокомп'ютерний томографічний аналіз (мкс) п'яткової кістки (кістки п'яти):

Деградація кісткової тканини, що спостерігається при RA, зустрічається, зокрема, у
 25 трубчастій кістці і може бути виявлена аналізом мкс (Sims NA et al., 2004; Oste L et al., ECTS Montreal 2007). Після сканування і тривимірної об'ємної реконструкції п'яткової кістки, деградацію кістки вимірювали як число присутніх дискретних об'єктів на слайд, виділених,
 30 комп'ютерним моделюванням, перпендикулярно до подовжньої осі кістки. Чим більший деградації піддається кіста, тим більше дискретних об'єктів вимірювали. Проаналізовані 1000 зрізів, рівномірно розподілених уздовж п'яткової кістки (проміжки приблизно 10,8 мкм).

3.1.10 Результати

Сполука 176 була ефективною у всіх результатах, отриманих при дослідженні CIA щура.
 35 Статистично значиме значення отримане для 3 мг/кг за результатами клінічної оцінки і припухлості лапи. Відібрані додаткові сполуки також тестували в CIA дослідженні щура, сполука 36 була активною при 30 мг/кг, сполука 37 була активною при 10 мг/кг.

Приклад 3.2 Модель септичного шоку

Ін'єкція ліпополісахариду (LPS) викликає швидке вивільнення розчинного фактора некрозу
 40 пухлини (TNF-альфа) у периферичну кров. Цю модель використовують для аналізу потенційних блокаторів вивільнення TNF in vivo.

Шістьом самкам миші BALB/cJ (20 г) на групу однократно ввели задане дозування, п/о. Через тридцять хвилин LPS (15 мкг/кг; серотип E. coli 0111:B4) ввели і/п. Через дев'яносто
 45 хвилин мишей піддали евтаназії і зібрали кров. Рівні циркулюючого TNF-альфа визначили, використовуючи комерційно доступні набори ELISA. Дексаметазон (5 мкг/кг) використовували як контрольну протизапальну сполуку. Відібрані сполуки тестували в одній або багатьох дозах, наприклад, 3, і/або 10, і/або 30 мг/кг, п./о.

Сполука 176 показала статистично значиме зниження вивільнення TNF (>50 %) при 3, 10 і
 50 30 мг/кг п./о.

Відібрані додаткові сполуки також тестували на моделі септичного шоку, сполука 36 була
 55 активною при 30 мг/кг, сполуки 37 і 197 були активними при 3 мг/кг.

Приклад 3.3 Модель МАВ

Модель МАВ дозволяє швидке дослідження модуляції за допомогою способів лікування, подібної RA запальної відповіді (Kachigian LM. Nature Protocols (2006) 2512-2516: Collagen
 60 antibody-induced arthritis). Мишам DBA/J увели в/в суміш mAb, спрямовану проти колагену II. Через добу ініціювали лікування сполукою (носії: 10 % (об./об.) HPβCD). Через троє діб у мишей, що одержали і/п ін'єкцію LPS (50 мкг/миша), одержали в результаті швидкий прояв запалення. Лікування сполукою продовжували аж до 10 доби після ін'єкції mAb. Запалення визначали, вимірюючи припухлість лапи і реєструючи клінічну оцінку для кожної лапи. Сумарну клінічну оцінку артриту чотирьох кінцівок представили, щоб показати тяжкість запалення.

Систему оцінки застосовують до кожної кінцівки, використовуючи шкалу 0-4, де 4 відповідає найбільш тяжкому запаленню.

0 Відсутність симптомів

Легка, але певне почервоніння і припухлість одного типу суглоба, такого як щиколотка або

1 зап'ястя, або очевидне почервоніння і припухлість, обмежена окремими пальцями, незалежно від числа уражених пальців

2 Помірне почервоніння і припухлість двох або більше типів суглобів

3 Тяжке почервоніння і припухлість усієї лапи, включаючи пальці

4 Максимально збуджена кінцівка із залученням множини суглобів

Сполука 176, дозована п/о в 10 і 30 мг/кг статистично значимо знижувала клінічну оцінку при 30 мг/кг і статистично значимо знижувала запалення як при дозі 10, так і 30 мг/кг.

5 Відібрані додаткові сполуки також тестували на моделі MAB, сполуки 36 і 37 були активними при 30 мг/кг.

Приклад 3.4 Онкологічні моделі

In vivo моделі для обґрунтування ефективності низькомолекулярних сполук при мієлопроліферативних захворюваннях, викликаних JAK2, описані Wernig et al. Cancer Cell 13, 311, 2008 and Geron et al. Cancer Cell 13, 321, 2008.

Приклад 3.5 Модель IBD на миші

In vitro і in vivo моделі для обґрунтування ефективності низькомолекулярних сполук при IBD описані Wirtz et al. 2007.

Приклад 3.6 Модель астми на миші

In vitro і in vivo моделі для обґрунтування ефективності низькомолекулярних сполук при астмі описані Nials et al., 2008; Ip et al. 2006; Pernis et al., 2002; Kudlacz et al., 2008.

Приклад 4: Моделі токсичності, DMPK і безпеки

Приклад 4.1 Термодинаміка розчинення

1 мг/мл розчину тестованої сполуки одержують у 0,2 М фосфатному буфері pH 7,4 або 0,1 М цитратному буфері pH 3,0 при кімнатній температурі в скляній пробірці.

Зразки піддавали обертанню в Rotator drive STR 4 (Stuart Scientific, Bibby) на швидкості 3,0 при кімнатній температурі протягом 24 годин.

Через 24 години 800 мкл зразка переносять у пробірки Еппендорф і центрифугують 5 хвилин при 14000 об./хв. 200 мкл супернатанту зразка переносять потім у планшет Multiscreen Solubility (Millipore, MSSLBPC50) і супернатант фільтрують (10-12" Hg) за допомогою вакуумного колектора в чистий поліпропіленовий 96-ямковий планшет з V-подібним дном ямок Greiner (номер у каталозі 651201). 5 мкл фільтрату розводять у 95 мкл (F20) того ж буфера, використовуюваного для інкубації в планшеті, що містить зразки, що є каліброваною кривою (Greiner, номер у каталозі 651201).

Зразки, що є каліброваною кривою для сполуки, одержують свіжоприготовленими в ДМСО, виходячи з 10 мм основного розчину ДМСО, з фактором розведення 2 у ДМСО (5000 мкм) і потім додатково розбавляючи ДМСО до 19,5 мкм. 3 мкл із серії розведень, починаючи від 5000 мкм, потім переносять у 97 мкл суміші ацетонітрил-буфер (50/50). Діапазон кінцевої концентрації складає від 2,5 до 150 мкм.

Планшет запечатують герметизуючою плівкою (MA96RD-04S, www.kinesis.co.uk) і зразки вимірюють при кімнатній температурі на LCMS (ZQ 1525 від Waters) в оптимальних умовах, використовуючи Quanoptimize, для визначення відповідної маси молекули.

Зразки аналізують на LCMS зі швидкістю потоку 1 мл/хв. Розчинником А є 15 мм аміак і розчинник В являє собою ацетонітрил. Зразок пропускають під спреєм з позитивних іонів на колонку XBridge C18 3,5 мкм (2,1×30 мм) від Waters. Градієнт розчинника має загальний час пробігу 2 хвилини і знаходиться в межах від 5 % В до 95 % В.

Області піків аналізують за допомогою пакета програмного забезпечення Masslynx і площі піків зразків відображають на графіку щодо зразків, що є каліброваною кривою, для одержання розчинності сполуки.

Значення розчинності вказують у мкМ або мкг/мл.

Приклад 4.2 Розчинність у воді

Виходячи з 10 мм основного розчину ДМСО, у ДМСО одержують серійне розведення сполуки. Серії розведень переносять у 96-ямковий планшет NUNC Maxisorb з F-подібним дном ямок (номер у каталозі 442404) і додають при кімнатній температурі 0,2 М фосфатний буфер pH 7,4 або 0,1 М цитратний буфер pH 3,0.

Діапазон кінцевої концентрації розташовувався від 200 мкм до 2,5 мкм у 5 еквівалентних стадіях розведення. Кінцева концентрація ДМСО не перевищувала 2 %. 200 мкм пірену

додають у кутові точки кожного 96-ямкового планшета, що служить орієнтиром для калібрування осі Z на мікроскопі.

Аналізовані планшети запечатували і інкубували протягом 1 години при 37 °C, зі струшуванням при 230 об./хв. Планшети потім аналізують під мікроскопом білого світла з одержанням індивідуальних зображень преципітату на концентрацію. Преципітат аналізують і перетворюють у число, що відображають на графіку. Перша концентрація, при якій сполука здається цілком розчиненою, є шуканою концентрацією, однак дана концентрація знаходиться між цією концентрацією й одним кроком розведення вище.

Значення розчинності вказують у мкг/мл.

Приклад 4.3 Зв'язування білків плазми (рівноважний діаліз)

10 мм основного розчину сполуки в ДМСО розбавляють з фактором 5 у ДМСО. Цей розчин додатково розбавляють у свіжорозмороженій плазмі людини, щура, миші або собаки (BioReclamation INC) у кінцевій концентрації 10 мкм і кінцевій концентрації ДМСО 0,5 % (5,5 мкл у 1094,5 мкл плазми в 96-ямковому PP-Masterblock (Greiner, номер у каталозі 780285)).

Pierce Red Device планшет зі вставками (ThermoScientific, номер у каталозі 89809) одержують і заповнюють буферну камеру 750 мкл PBS і камеру для плазми 500 мкл плазми з відомою кількістю зумовленої речовини. Планшет інкубують протягом 4 годин при 37 °C зі струшуванням при 230 об./хв. Після інкубації 120 мкл вмісту з обох камер переносять до 360 мкл ацетонітрилу в 96-ямковий круглодонний PP планшет із глибокими ямками (Nunc, номер у каталозі 278743) і запечатують кришкою з алюмінієвої фольги. Зразки перемішують і поміщають у лід на 30 хвилин. Цей планшет потім центрифугують 30 хвилин при 1200 об./хв при 4 °C і супернатант переносять у 96 PP планшет з V-подібним дном ямок (Greiner, 651201) для аналізу на LCMS.

Планшет запечатують герметизуючою плівкою (MA96RD-04S, www.kinesis.co.uk) і зразки вимірюють при кімнатній температурі на LCMS (ZQ 1525 від Waters) в оптимальних умовах, використовуючи QuanOptimize для визначення відповідної маси молекули.

Зразки аналізують на LCMS зі швидкістю потоку 1 мл/хв. Розчинником А був 15 мм аміак, і розчинником В був ацетонітрил. Зразок пропускали під спреєм позитивних іонів на колонку XBridge C18 3,5 мкм (2,1×30 мм) знаходиться полягає в межах від 5 % В до 95 % В.

Площі піків сполуки в буферній камері і камері для плазми, як вважали, складали 100 % сполуки. З цих результатів одержали відсоток зв'язування з плазмою, і звіт відправили в LIMS як відсоток зв'язування з плазмою.

Розчинність сполуки в кінцевій тестованій концентрації в PBS перевірили під мікроскопом для перевірки того, чи спостерігається випадання чи осаду ні.

Приклад 4.4 Можливість подовження інтервалу QT

Можливість подовження інтервалу QT оцінили в аналізі фіксації потенціалу hERG.

4.4.1 Традиційний спосіб фіксації потенціалу цілої клітини

Вимірювання показань фіксації потенціалу цілої клітини проводили, використовуючи підсилювач EPC10, під контролем програмного забезпечення Pulse v8.77 (HEKA). Опір серій являв собою, як правило, менше ніж 10 МОм і компенсували більше ніж 60 %, показання не враховували витік. Електроди одержали на основі скляної піпетки GC150TF (Harvard), опір знаходився між 2 і 3 МОм.

Зовнішній розчин для занурення містив: 135 mM NaCl, 5 mM KCl, 1,8 mM CaCl₂, 5 mM глюкозу, 10 mM HEPES, pH 7,4.

Внутрішній розчин для мікропіпетки містив: 100 mM К-глюконат, 20 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 5 mM Na₂ATP, 2 mM глутатіон, 11 mM EGTA, 10 mM HEPES, pH 7,2.

Лікарські засоби перфузували, використовуючи систему для швидкої перфузії Biologic MEV-9/EVN-9.

Усі вимірювання проводили на клітинах HEK293, стабільно експресуючих канали hERG. Клітини культивували на 12-мм круглих покривних скліках (German glass, Bellco), закріплених у камері для вимірювання, використовуючи два платинових стрижні (Goodfellow). Викликають електричний струм у hERG, використовуючи активуючі імпульси у +40 мВ протягом 1000 мс, з наступним загасаючим імпульсним струмом у -50 мВ протягом 2000 мс, вихідний потенціал складав -80 мВ. Імпульси застосовували кожні 20 с і всі експерименти проводили при кімнатній температурі.

4.4.2 Аналіз даних

Значення IC₅₀ і IC₂₀ обчислили для кожної тестованої сполуки. Розрахували кратну різницю між IC₂₀ і концентраціями непов'язаної тестованої сполуки C_{max}, отриманими у відповідних лікувальних дозах, визначених за допомогою результатів, отриманих на щурячій моделі CIA.

Для кривих концентрація-ефект амплітуду піка загасаючого струму виміряли під час стрибка напруги на -50 мВ. Побудова кривої значень концентрація-ефект виконували, використовуючи рівняння:

$$y = a + [(b-a) / (1 + 10^{((\log(-x)-d))})]$$

де a - мінімальний ефект, b - максимальний ефект і d – коефіцієнт Хілла, це рівняння можна використовувати для розрахунку як IC_{50} (де $y=50$ і s є значенням IC_{50}), так і IC_{20} (де $y=20$ і s є значенням IC_{20}). Для побудови всіх кривих використовували програмне забезпечення GraphPad® Prism® (Graphpad® Software Inc.).

У таблиці IX, нижче, просумовані результати, отримані для вибраних тестованих сполук.

Таблиця IX

Сполука	Доза	Кратне розходження
37	10	7
176	3	137
176	10	82

Різниця в 100 або більше разів указує на низьку можливість подовження інтервалу QT. Тому можна бачити, що в порівнянні зі сполукою 37 результат для сполуки 176 показує набагато нижчу можливість подовження інтервалу QT.

Приклад 4.5 Стабільність у мікросомах

10 мМ основного розчину сполуки в ДМСО розлучили в 1000 разів у 182 мМ фосфатному буфері pH 7,4 у 96-ячковому планшеті з глибокими ямками (Greiner, номер у каталозі 780285) і попередньо інкубували при 37 °C.

40 мкл деіонізованої води додали в ямку поліпропіленової запам'ятовуючої електронно-променевої трубки, поміченої двовимірним кодуванням Data Matrix (Thermo Scientific) і попередньо інкубували при 37 °C.

Робочий основний розчин глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (G6PDH) одержали в 182 мМ фосфатному буфері pH 7,4 і помістили в лід перед використанням. Кофактор, що містить $MgCl_2$, глюкоза-6-фосфат і $NADP^+$ одержали в деіонізованій воді і помістили в лід перед використанням.

Одержали кінцевий робочий розчин, що містить мікросоми печінки (Xenotech) видів, що представляють інтерес, (людини, миші, щура, собаки), раніше описаний G6PDH і кофактори, і цю суміш інкубували не більше 20 хвилин при кімнатній температурі.

30 мкл попередньо нагрітої розведеної сполуки додали до 40 мкл попередньо нагрітої води в Matrix tubes, і додали 30 мкл суміші з мікросомою. Кінцеві концентрації в реакції являли собою 3 мкМ сполуки, 1 мг мікросом, 0,4 Од/мл G6PDH, 3,3 мМ $MgCl_2$, 3,3 мМ глюкозо-6-фосфат і 1,3 мМ $NADP^+$.

Для вимірювання відсотка схоронності сполуки в нульовий момент часу додали в ямку MeOH або ACN (1:1) до додавання суміші з мікросомою. Планшети запечатували Matrix Sepra seals™ (Matrix, номер у каталозі 4464) і струшували протягом декількох секунд, щоб гарантувати повне змішування всіх компонентів.

Зразки, у яких реакцію не зупиняли, інкубують при 37 °C, 300 об./хв і після 1 години інкубації реакцію зупиняють MeOH або ACN (1:1).

Після зупинки реакції зразки перемішали і помістили в лід на 30 хвилин для осадження білків. Потім планшети центрифугували 30 хвилин при 1200 об./хв при 4 °C і супернатант перенесли в 96 PP планшет з V-подібним дном ямок (Greiner, 651201) для аналізу на LCMS.

Планшет запечатували герметизуючою плівкою (MA96RD-04S, www.kinesis.co.uk), і зразки піддали вимірюванню при кімнатній температурі на LCMS (ZQ 1525 від Waters) в оптимальних умовах, використовуючи Quanoptimize, для визначення відповідної маси молекули.

Зразки аналізували на LCMS зі швидкістю потоку 1 мл/хв. Розчинником А був 15 мМ аміак, і розчинник В являв собою ацетонітрил, у залежності від використовуваного розчину для зупинки реакції. Зразки пропускали під спреєм з позитивних іонів на колонку XBridge C18 3,5 мкм (2,1×30 мм) знаходиться полягає в межах від 5 % В до 95 % В.

Площа піка вихідної сполуки в початковий момент часу, як вважали, складає 100 % схоронності. Відсоток схоронності через 1 годину інкубації розраховували від початкового моменту часу й обчислили як відсоток схоронності. Розчинність сполуки в кінцевій тестованій концентрації в буфері проконтролювали під мікроскопом і представили результати.

Дані по стабільності в мікросомах виразили як відсоток загальної кількості сполуки, що залишились після 60 хвилин.

ТАБЛИЦЯ X

Стабільність у мікротомах

№ сполуки	Людина (%)	Щур (%)
12	70	94
15	43	14
36	11,65	72,41
37	70,98	79,47
57	42,75	34,5
72	4,88	2,2
78	78,21	93,85
92	30,21	23,6
163	53,64	39,78
176	157,1	90,21
182	19,33	19,23
190	2,13	25,64
192	127,2	77,62
197	46,6	59,41
198	65,8	72,45

Приклад 4.6 Проникність Сасо2

Двосторонні аналізи Сасо-2 виконували так, як описано нижче. Клітини Сасо-2 одержали з європейської колекції клітинних культур (ECACC, cat 86010202) і використовували після 21-добової культивування клітин у 24-ямкових планшетах Transwell (Fisher TKT-545-020B).

2×10^5 клітини/ямка пересівали в середовище для чашок Петрі, що складаються з DMEM+GlutaMAXI+1 % NEAA+10 % FBS (FetalClone II) + 1 % Pen/Strep. Середовище змінювали кожні 2-3 доби.

Тестовані і контрольні сполуки (пропранолол і родамін123 або вінбластин, усі придбані в Sigma) одержали в збалансованому сольовому розчині Хенкса, що містить 25 мм HEPES (pH 7,4), і додали або в апікальну (125 мкл) або в базолатеральну (600 мкл) камери збірного планшета Transwell, у концентрації 10 мкм із кінцевою концентрацією ДМСО 0,25 %.

50 мкм Lucifer Yellow (Sigma) додали до донорського буфера в усі ямки, щоб оцінити цілісність клітинних шарів моніторингом проникнення Lucifer Yellow. Оскільки Lucifer Yellow (LY) не здатний вільно проникати через ліпофільні бар'єри, високий ступінь пересування LY указує на недостатню цілісність клітинного шару.

Після 1 години інкубації при 37 °C, піддаючи струшуванню в орбітальному шейкері при 150 об./хв, 70 мкл аліквот взяли і з апікальної (A) і з базальної (B) камер і додали в 96-ямковий планшет до 100 мкл розчину ацетонітрил:вода 50:50, що містить аналітичний внутрішній стандарт (0,5 мкм карбамазепін).

Lucifer Yellow виміряли з Spectramax Gemini XS (Ex 426 нм і Em 538 нм) у чистому 96-ямковому планшеті, що містить 150 мкл рідини з базолатеральної і апікальної сторін.

Концентрації сполуки в зразках виміряли високоефективною рідинною хроматографією/мас-спектроскопією (LC-MS/MS).

Значення ефективної магнітної проникності (P_{app}) обчислили зі співвідношення:

$$P_{app} = \frac{[сполука]_{акцептор\ кінцевий} \times V_{акцептор}}{([сполука]_{донор\ початковий} \times V_{донор}) / T_{inc} \times V_{донор} / \text{площа поверхні} \times 60 \times 10^{-6} \text{ см/с}}$$

V = об'єм камери

T_{inc} = час інкубації

Площа поверхні = 0,33 см².

Коефіцієнти виведення як показника активного виведення з апікальної поверхні клітини обчислили, використовуючи співвідношення $P_{app\ B} > A / P_{app\ A} > B$.

Використовували наступні критерії допустимості аналізу: пропранолол: P_{app} ($A > B$) значення ≥ 20 ($\times 10^{-6}$ см/с)

Родамін 123 або вінбластин: P_{app} ($A > B$) значення < 5 ($\times 10^{-6}$ см/с) з коефіцієнтом виведення ≥ 5 .

Проникність Lucifer yellow: ≤ 100 нм/с

Показник виведення в Caco2

№ сполуки	$P_{app} A > B (\times 10^{-6} \text{ см/с})$	Коефіцієнт виведення
12	23,3	0,82
15	25,8	0,91
36	36,55	0,89
37	23	0,85
72	14,93	1,31
78	2	1,5
163	13,4	0,85
176	10,6	0,8
192	12,5	2

Приклад 4.7 Фармакокінетичне дослідження на гризунах

4.7.1 Фармакокінетичне дослідження

- Сполуки складають у суміш PEG200/фізіологічний розчин або суміш PEG400/ДМСО/фізіологічний розчин для внутрішньовенного застосування й у 0,5 % метилцелюлозі або 10-30 % гідроксилпропіл- β -циклодекстрині pH 3 або pH 7,4 для орального застосування. Тестовані сполуки перорально дозовані у вигляді однократного харчування через зонд у стравохід з розрахунку 5-10 мг/кг і дозовані у вигляді внутрішньовенного болюса через хвостову вену по 1 мг/кг. Кожна група складається з 3 щурів. Зразки крові або збирали через яремну вену, використовуючи щурів з канюлями, або в ретроорбітальному синусі з літійгепарином як протизгортальним засобом в моменти часу наступного діапазону: від 0,05 до 8 годин (внутрішньовенний шлях введення) і від 0,25 до 6 або 24 годин (пероральний шлях введення). Зразки цільної крові центрифугували 10 хв при 5000 об./хв і отримані в результаті зразки плазми зберігали при -20 °C до завершення аналізу.

- 4.7.2 Визначення величини рівнів сполуки в плазмі

Концентрації плазми кожної тестованої сполуки визначили способом LC-MS/MS, у якому мас-спектрометр експлуатують у режимі позитивного електророзпилення.

4.7.3 Визначення фармакокінетичних параметрів

Фармакокінетичні параметри розраховували, використовуючи Winnonlin®, Pharsight®, United.

- Приклад 4.8 7-добове дослідження токсичності на щурах

7-добове оральне дослідження токсичності з тестованими сполуками проводили на самцях щурів Sprague-Dawley, для оцінки токсичної активності і кінетики токсичності сполук, у добових дозах 100, 300 і 500 мг/кг/день, харчування через зонд, зі сталим об'ємом дозування 5 мл/кг/днів.

- Тестовані сполуки складають у суміш у 30 % (об./об.) HP β CD в очищеній воді. Кожна група включала 5 основних самців щура, а також 3 додаткових тварин для кінетики токсичності. Четверта група одержувала 30 % (об./об.) HP β CD тільки у воді, з тією же частотою, об'ємом дозування і тим же самим шляхом введення, і група відігравала роль контрольної групи по носії.

- Мета дослідження полягала у визначенні найнижчої дози, що не викликає видимих небажаних явищ (рівень, що не викликає видимих небажаних явищ - NOAEL). Сполуки 37 і 176 тестували відповідно до цього протоколу.

Рівні NOAEL для сполук 37 і 176 оцінили в 500 мг/кг.

- Фахівцям у даній галузі варто розуміти, що попередні описи по характері є ілюстративними і роз'яснювальними, призначеними для ілюстрації винаходу і його переважних варіантів здійснення. За допомогою загальноприйнятого експериментування фахівець у даній галузі розпізнає відповідні модифікації і варіації, які можна зробити без відхилення від суті винаходу. Таким чином, винахід призначений для визначення не описом, викладеним вище, а наступними нижче пунктами формули винаходу і їхніх еквівалентів.

ПОСИЛАННЯ

- Choy EH, Panayi GS. (2001). N Engl J Med. 344: 907-16.
- Chubinskaya S and Kuettner KE (2003). Regulation of osteogenic proteins by chondrocytes. The international journal of biochemistry & cell biology 35(9)1323-1340.
- Clegg DO et al. (2006) N Engl J Med. 2006 354:795-808. Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis.
- Firestein GS. (2003). Nature. 423:356-61.
- Kachigian LM. (2006) Collagen antibody-induced arthritis, Nature Protocols 2512-2516:
- Lee DM, Weinblatt ME (2001). Lancet. 358: 903-11.
- Legendre F, Dudhia J, Pujol J-P, Bogdanowicz P. (2003) JAK/STAT but not ERK1/ERK2 pathway mediates interleukin (IL)-6/soluble IL-6R down-regulation of type II collagen, aggrecan core, and link protein transcription in articular chondrocytes. J Biol Chem. 278(5)2903-2912.
- Li WQ, Dehnade F, Zafarullah M. (2001) Oncostatin M-induced matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 genes expression in chondrocytes requires janus kinase/STAT signaling pathway. (2001) J Immunol 166:3491-3498.
- O'Dell JR. (2004) Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 350(25):2591-602.
- Osaki M, Tan L, Choy BK, Yoshida Y, Cheah KSE, Auron PE, Goldring MB. (2003) The TATA-containing core promoter of the type II collagen gene (COL2A1) is the target of interferon-gamma-mediated inhibition in human chondrocytes: requirement for STAT1alpha, JAK1 and JAK2. Biochem J 369:103-115.

- Oste L *et al.*, ECTC Montreal 2007: A high throughput method of measuring bone architectural disturbance in a murine CIA model by micro-CT morphometry
- Otero M, Lago R, Lago F, Gomez Reino JJ, Gualillo O. (2005) Signalling pathway involved in nitric oxide synthase type II activation in chondrocytes: synergistic effect of leptin with interleukin-1. *Arthritis Research & Therapy* 7:R581-R591.
- Rodig SJ, Meraz MA, White JM, Lampe PA, Riley JK, Arthur CD, King KL, Sheehan KCF, Yin L, Pennica D, Johnson EM, Schreiber RD. (1998) Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the jaks in cytokine-induced biologic responses *Cell* 93: 373-383.
- Sims NA *et al.*, (2004) Targeting osteoclasts with zoledronic acid prevents bone destruction in collagen-induced arthritis, *Arthritis Rheum.* 50 2338-2346:
- Smolen JS, Steiner G. (2003). *Nat Rev Drug Discov.* 2: 473-88.
- Wernig *et al.* (2008) Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera, *Cancer Cell* 13(4), 311-320
- Geron *et al.* (2008) Selective inhibition of JAK2-driven erythroid differentiation of polycythemia vera progenitors *Cancer Cell* 13 (4), 321-30
- Wieland HA, Michaelis M, Kirschbaum BJ, Rudolphi KA. (2005). *Nat Rev Drug Discov.* 4:331-44. Osteoarthritis - an untreatable disease?
- Wirtz *et al.* (2007) Mouse Models of Inflammatory Bowel Disease, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007, 1073-1083:
- Tam, L., McGlynn, L.M., Traynor, P., Mukherjee, R., Bartlett, J.M.S., Edwards, J. (2007) *British Journal of Cancer*, 97, 378-383
- Constantinescu *et al.*, 2007, *Trends in Biochemical Sciences* 33(3): 122-131
- Tetsuji Naka, Norihiro Nishimoto and Tadamitsu Kishimoto, *Arthritis Res* 2002, 4 (suppl 3):S233-S242
- O'Shea, J.J., Pesu, M., Borie, D.C., Changelian, P.S., *Nature Reviews*, 2004, 555-564
- Nials *et al.* (2008) Mouse Models of Allergic Asthma: Acute and Chronic Allergen Challenge, *Disease Models & Mechanisms*, 213-220.
- Ip *et al.* (2006) Interleukin (IL)-4 and IL-13 up-regulate monocyte chemoattractant protein-1 expression in human bronchial epithelial cells: involvement of p38 mitogen-activated protein kinase, extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Janus kinase-2 but not c-Jun NH2-terminal kinase 1/2 signalling pathways, *Clin. Exp. Immun.* 162-172.
- Pernis *et al.* (2002) JAK-STAT signaling in asthma *J. Clin. Invest.* 1279.
- Kudlacz *et al.* (2008) The JAK-3 inhibitor CP-690550 is a potent anti-inflammatory agent in a murine model of pulmonary eosinophilia, *Eur J Pharmacol* 154-161.

- Mullighan CG, Zhang J, Harvey RC, Collins-Underwood JR, Schulman BA, Phillips LA, Tasian SK, Loh ML, Su X, Liu W, Devidas M, Atlas SR, Chen I-M, Clifford RJ, Gerhard DS, Carroll WL, Reaman GH, Smith M, Downing JR, Hunger SP, Willmane CL; (2009) JAK mutations in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia, PNAS May 22. [Epub ahead of print]
- Argiles JM, Lopez-Soriano FJ. (1998) Catabolic proinflammatory cytokines. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 1:245-51.
- Bush KA, Farmer KM, Walker JS, Kirkham BW. (2002) Reduction of joint inflammation and bone erosion in rat adjuvant arthritis by treatment with interleukin-17 receptor IgG1 Fc fusion protein. *Arthritis Rheum.* 46: 802-5.
- Jou IM, Shiau AL, Chen SY, Wang CR, Shieh DB, Tsai CS, Wu CL. (2005) Thrombospondin 1 as an effective gene therapeutic strategy in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 52:339-44.
- Nishida K, Komiyama T, Miyazawa S, Shen ZN, Furumatsu T, Doi H, Yoshida A, Yamana J, Yamamura M, Ninomiya Y, Inoue H, Asahara H. (2004) Histone deacetylase inhibitor suppression of autoantibody-mediated arthritis in mice via regulation of p16INK4a and p21(WAF1/Cip1) expression. *Arthritis Rheum.* 10: 3365-76.
- Rall LC, Roubenoff R. (2004) Rheumatoid cachexia: metabolic abnormalities, mechanisms and interventions. *Rheumatology*; 10:1219-23.
- Salvemini D, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, De Sarro A, Caputi AP, Cuzzocrea S. (2001) Amelioration of joint disease in a rat model of collagen-induced arthritis by M40403, a superoxide dismutase mimetic. *Arthritis Rheum.* 44:2909-21.
- Shelton DL, Zeller J, Ho WH, Pons J, Rosenthal A. (2005) Nerve growth factor mediates hyperalgesia and cachexia in auto-immune arthritis. *Pain.* 116:8-16.
- Sims NA, Green JR, Glatt M, Schliet S, Martin TJ, Gillespie MT, Romas E. (2004) Targeting osteoclasts with zoledronic acid prevents bone destruction in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.*, 50: 2338-46.
- Walsmith J, Abad L, Kehayias J, Roubenoff R. (2004) Tumor necrosis factor- α production is associated with less body cell mass in women with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.*; 31:23-9.
- Khachigian, L. M. Collagen antibody-induced arthritis. (2006) *Nature Protocols* 1, 2512-6.
- Lin HS, Hu CY, Chan HY, Liew YY, Huang HP, Lepescheux L, Bastianelli E, Baron R, Rawadi G, Clément-Lacroix P. (2007) Anti-rheumatic activities of histone deacetylase (HDAC) inhibitors in vivo in collagen-induced arthritis in rodents. *Br J Pharmacol.* Apr;150 (7):829-31.

Усі публікації, включаючи як необмежувальні приклади патенти і патентні заявки, процитовані в цьому описі, включені в даний документ як посилання, як якщо б кожна окрема публікація була конкретно й індивідуально зазначена для включення за допомогою посилання в рамках винаходу як цілком викладена.

З попереднього опису, різні варіації і зміни в композиціях і способах по даному винаході будуть зрозумілі фахівцям у даній галузі. Усі подібні модифікації, що входять в обсяг прикладених пунктів формули винаходу, призначені для включення в обсяг даного винаходу.

Варто розуміти, що фактори, такі як різна здатність до проникнення в клітини в різних сполук, можуть сприяти розбіжностям в активності сполук у біохімічних *in vitro* дослідженнях і дослідженнях на рівні клітин.

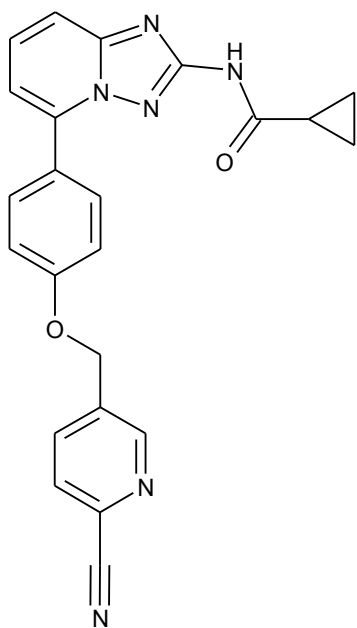
Щонайменше деякі хімічні назви сполук за винаходом, як зазначені і викладені в даній заявці, можуть бути отримані на автоматизованій основі за допомогою використання комерційно доступного програмного забезпечення по присвоюванню назв хімічним сполукам, і не були перевірені незалежно. Типові програми, що виконують цю функцію, включають Lexichem naming tool sold від Open Eye Software, Inc. і Autonom Software tool sold від MDL, Inc. У випадку, якщо зазначена хімічна назва і зображена структура відрізняються, то зображена структура буде визначальною.

Хімічні структури, представлені в даному документі, одержали, використовуючи або ChemDraw®, або ISIS® /DRAW. Будь-яка вільна валентність, представлена на атомі вуглецю, кисню або азоту в структурах у даному документі, указує на наявність атома водню. Якщо в структурі знаходиться хіральний центр, але не показано ніякої специфічної стереохімії для хірального центра, то структура включає обидва енантіомера, зв'язані з хіральною структурою.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

25

1. Сполука формули VIa:



, (VIa)

або її фармацевтично прийнятна сіль.

2. Фармацевтична композиція, що містить фармацевтично прийнятний носій і фармацевтично ефективну кількість сполуки за п. 1.

3. Застосування сполуки за п. 1 для одержання лікарського засобу.

4. Сполука за п. 1 або фармацевтична композиція за п. 2, призначені для лікування, запобігання або профілактики захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, наприклад остеоартрит; і/або станів, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальні захворювання кишечника, хворобливі стани, зумовлені ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювання, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну

стимуляцію хондроцитів), уроджені мальформації хрящової тканини, захворювання, асоційовані з підвищеною секрецією IL6, і відторгнення при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата).

5. Сполука за п. 1 або фармацевтична композиція за п. 2, призначені для лікування, запобігання або профілактики проліферативних захворювань.

6. Застосування сполуки за п. 1 для одержання лікарського засобу для лікування, запобігання або профілактики захворювань, що включають деградацію хрящової тканини, кісткової тканини і/або деградацію суглобів, наприклад остеоартрит; і/або станів, що включають запалення або імунні відповіді, такі як хвороба Крона, ревматоїдний артрит, псоріаз, захворювання, пов'язані з респіраторною алергією (наприклад, астма, риніт), юнацький ідіопатичний артрит, коліт, запальні захворювання кишечника, хворобливі стани, зумовлені ендотоксином (наприклад, ускладнення після шунтування або хронічні стани, зумовлені ендотоксином, що сприяє, наприклад, хронічній серцевій недостатності), захворювання, що включають порушення ремоделювання хрящової тканини (наприклад, захворювання, що включають анаболічну стимуляцію хондроцитів), уроджені мальформації хрящової тканини, захворювання, асоційовані з підвищеною секрецією IL6, і відторгнення при трансплантації (наприклад, відторгнення органного трансплантата).

7. Застосування сполуки за п. 1 для одержання лікарського засобу для лікування проліферативних захворювань.

20

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601