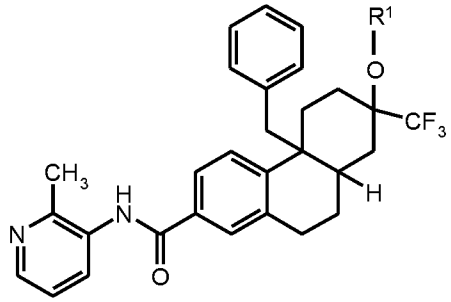
(19) C2 (11) 95332 (13) UA

(98) вул. Дмитрівська, 56б, офіс 1, м. Київ, 01054
(85) 2009-09-02
(74) Крилова Надія Іванівна, (UA)
(45) [2011-07-25]
(43) [2009-10-12]
(24) 2011-07-25
(22) 2008-01-28
(12) Патент України (на 20 р.)
(21) a200907730
(46) 2021-12-01

(86) 2008-01-28 PCT/IB2008/000249
(30) 60/887,981 2007-02-02 US
(54) ТРИЦИКЛІЧНІ СПОЛУКИ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ЯК МОДУЛЯТОРІВ ГЛЮКОКОРТИКОЇДНОГО РЕЦЕПТОРА ТРЕХЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ МОДУЛЯТОРОВ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА TRICYCLIC COMPOUNDS AND THEIR USE AS GLUCOCORTICOID RECEPTOR MODULATORS
(56) WO0066522 A 09.11.2000 2 EP1201655 A 02.05.2002 2 EP1201649 A 02.05.2002 2 WO2005047254 A 26.05.2005 2
(71) US ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ІНК. US ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ИНК. US PFIZER PRODUCTS INC.
(72) US Чен Генгмяо US Чен Генгмяо US Cheng, Hengmiao US Гу Kiao US Гу Киао US Hu, Xiao US Джером Кевін ДеВайн US Джером Кевин ДеВайн US Jerome, Kevin, DeWayne US Обуковіц Марк Герард US Обуковиц Марк Герард US Obukowicz, Mark, Gerard US Ольсон Ліза US Ольсон Лиза US Olson, Lisa US Рукер Паул Вінсент US Рукер Паул Винсент US Rucker, Paul Vincent US Веббер Рональд Кейт US Веббер Рональд Кейт US Webber, Ronald, Keith
(73) US ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ІНК. US ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ИНК. US PFIZER PRODUCTS INC.

Заявленное изобретение касается соединения формулы I:

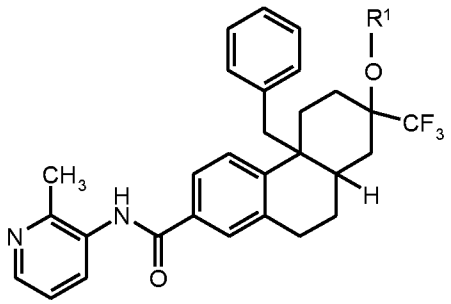


(I)

или ее соли, которые являются модуляторами глюкокортикоидного рецептора.

Соединения и соли изобретения являются полезными в лечении состояний, опосредованных активностью глюкокортикоидного рецептора.

Заявлений винахід стосується сполуки формули I:

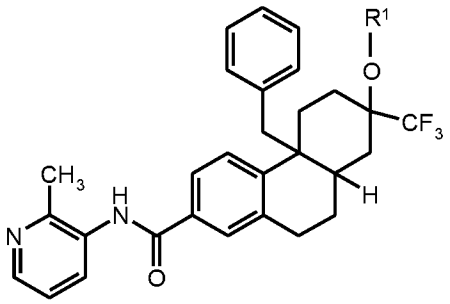


(I)

або її солі, що є модуляторами глюкокортикоїдного рецептора.

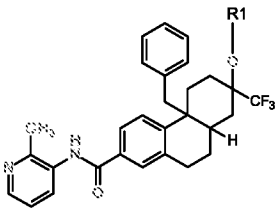
Сполуки та солі винаходу є корисними у лікуванні станів, опосередкованих активністю глюкокортикоїдного рецептора.

The present invention is directed to compounds of Formula I: (1) or salt thereof, which are modulators of the glucocorticoid receptor. The compounds and salts of the invention are useful in the treatment of conditions mediated by glucocorticoid receptor activity.



(I)

1.Сполука формули I:

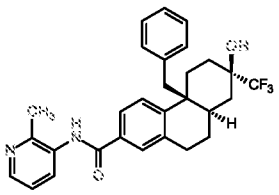


, (I)

де R^1- -H;

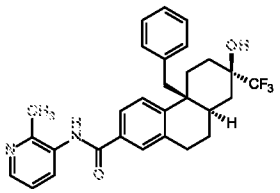
або її сіль.

2. Сполука за п. 1, якою є:



або її сіль.

3. Сполука за п. 1, якою є:



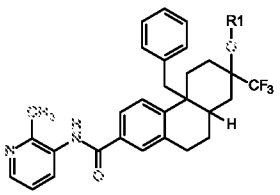
.

4. Гідрохлорид сполуки за п. 1.

5. Композиція, що містить сполуку за п. 1 або її сіль та носій.

6. Спосіб лікування стану або захворювання, за яким здійснюють контактування глюкокортикоїдного рецептора зі сполукою за п. 1 або її сіллю.

7. Спосіб лікування стану, опосередкованого активністю глюкокортикоїдного рецептора у суб'єкта , за яким вводять цьому суб'єкту сполуку формули I:



, (I)

де R^1- -H; або її сіль.

8. Спосіб за п. 7, де станом є стан, пов'язаний із запаленням.

9. Спосіб за п. 7, де станом є астма, дерматит, запальна хвороба кишечнику, хвороба Альцгеймера, глибока психотична депресія, невропатія, відторгнення трансплантата, розсіяний склероз, хронічний увеїт або хронічна обструктивна хвороба легенів.

10. Спосіб за п. 7, де станом є ревматоїдний артрит.

11. Спосіб за п. 7, де станом є дерматит.

12. Спосіб за п. 7, де станом є астма.

13. Спосіб за п. 7, де станом є хвороба Альцгеймера.

14. Спосіб за п. 7, де станом є запальна хвороба кишечнику.

15. Спосіб зменшення побічної дії, асоційованої з модуляцією глюкокортикоїдного рецептора, за яким вводять суб'єкту сполуку за п. 1.

Заявлений винахід стосується сполук, що є модуляторами глюкокортикоїдного рецептору. Заявлений винахід також стосується композицій та способів застосування сполук та композицій

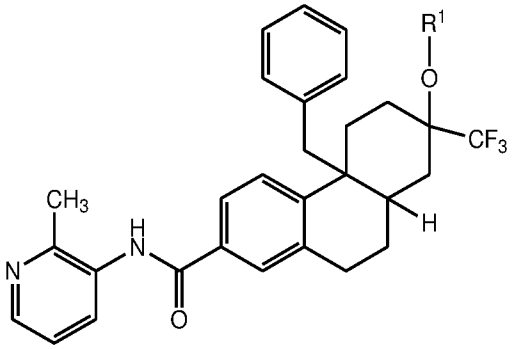
Модулятори глюкокортикоїдного рецептору є лігандами глюкокортикоїдного рецептору, що застосовують для лікування різних станів внаслідок їх потужної антизапальної, антипроліферативної та імуномодуляторної активності. J. Miner, et al., Expert Opin. Investig. Drugs (2005) 14(12):1527-1545.

Приклади модуляторів глюкокортикоїдного рецептору охоплюють дексаметазон, преднізон, преднізолон, RU-486, та описані у WO 2000/66522 та WO 2004/005229.

Лікування модуляторами глюкокортикоїдного рецептору є часто асоційованим з побічною дією, як-то втрата кісток та остеопороз.

Ототожнення модулятор глюкокортикоїдного рецептору, що є ефективною, потужною та має зменшену побічну дію, є медичною необхідністю.

В одному втіленні винахід стосується сполуки формули I:



(I)

де R^1 - -H або $-P(O)(OH)_2$; або її солі.

У ще одному втіленні винахід стосується композицій, що містять сполуку формули I та носій. У ще одному втіленні винахід стосується способу контактування глюкокортикоїдного рецептору зі сполукою формули I. Ще одне втілення стосується способів лікування стану у особи, опосередкованого активністю глюкокортикоїдного рецептору застосуванням до особи сполуки формули I.

Цей детальний опис втілень призначено тільки для ознайомлення спеціалістів з винаходами, принципами та практичними застосуваннями так, щоб спеціалісти могли адаптувати та застосовувати винаходи в їх численних формах, оскільки вони можуть бути найкраще придатними для потреб конкретного застосування. Ці винаходи, тому, не є обмеженими втіленнями у цьому описі та можуть бути модифікованими.

А. Визначення

Для наступних визначених термінів застосовувано ці визначення, якщо відмінні визначення не надані у формулі винаходу або будь-де у цьому описі.

Термін "носій" описує інгредієнт, інший, ніж сполука. Носії можуть бути фармацевтично прийнятним матеріалом або розчинником. Приклади охоплюють рідкі або тверді наповнювачі, розріджувачі, наповнювачі, розчинники або інкапсулювальні матеріали.

Вираз "контактування глюкокортикоїдного рецептору" означає in vivo, ex vivo, або in vitro контактування з глюкокортикоїдним рецептором та стосується застосування сполуки або солі заявленого винаходу до особи, що має глюкокортикоїдний рецептор, а також, наприклад, уведення сполуки або солі винаходу у зразок, що містить клітинний, неочищений або очищений препарат, що містить глюкокортикоїдний рецептор. Наприклад, контактування стосується взаємодії між сполукою та рецептором, як-то зв'язування.

Вираз "стан, пов'язаний із запаленням" стосується вибраного з групи: артрит, фіброміалгія, анкілозувальний спондиліт, псоріаз, системний червоний вовчак, подагра, недиференційована спондилоартропатія, спондилоартрит з початком в юнацтві, хвороба Крона, виразковий коліт, синдром подразненого кишечнику, запальна хвороба кишечнику та біль, асоційований з вищезгаданими станами. Конкретні приклади артриту охоплюють ревматоїдний артрит, остеоартрит, реактивний артрит, інфекційний артрит, псоріатичний артрит, поліартрит, юнацький артрит, юнацький ревматоїдний артрит, юнацький реактивний артрит, та юнацький псоріатичний артрит.

Термін "модуляція" або "модулятори" стосується антагоністу, агоністу, часткових антагоністів та часткових агоністів.

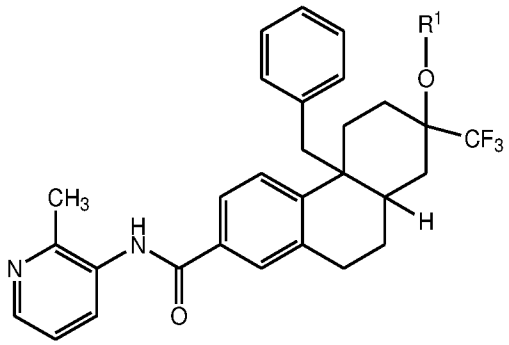
Термін "особа" стосується будь-якої тварин, у тому числі ссавців, як-то мишей, щурів, інших гризунів, кролів, собак, котів, свиней, великої рогатої худоби, овець, коней, приматів або людей.

Термін "лікування" стосується паліативного, відновлювального та превентивного ("профілактичного") лікування особи. Термін "паліативне лікування" стосується лікування, що полегшує або зменшує вплив або інтенсивність стану у особи без зцілення стану. Термін "превентивне лікування" (та відповідний термін "профілактичне лікування") стосується лікування, що попереджує появу стану у особи. Термін "відновлювальне лікування" ("цілюще") стосується лікування, що припиняє прогресування, зменшує патологічні вияви, або повністю усуває стан у особи. Лікування можна проводити терапевтично ефективною кількістю сполуки, солі або композиції, що викликає біологічну або медичну реакцію тканини, системи або особи, чого прагне дослідник, ветеринар або лікар.

В. Сполуки

Заявлений винахід стосується, зокрема, трициклічних сполук формули I. Ці сполуки є корисними як модулятори глюкокортикоїдного рецептору.

Заявлений винахід стосується сполуки формули I:



(I)

де R^1 – -H або $-P(O)(OH)_2$; або її солей.

Заявлений винахід стосується сполуки формули II:



(II)

де R^1 – -H або $-P(O)(OH)_2$; або її солей.

Заявлений винахід стосується сполук формули I або II де R^1 – -H, або їх солей.

Заявлений винахід стосується сполук формули I або II де R^1 – $-P(O)(OH)_2$, або їх солей.

Заявлений винахід стосується (4βS,7R,8αR)-4β-бензил-7-гідрокси-N-(2-метилпіридин-3-іл)-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксаміду або його солей; та (2R,4αS,10αR)-4α-бензил-7-((2-метилпіридин-3-іл)карбамоїл)-2-(трифлуорметил)-1,2,3,4,4α,9,10,10α-октагідрофенантрен-2-іл дигідрогенфосфату або його солей.

Солі сполук заявленого винаходу охоплюють їх кислотно-адитивні та основ солі (у тому числі дисолі) -. В одному втіленні заявлений винахід стосується гідрогенхлориду сполуки формули I. У ще одному втіленні заявлений винахід стосується солі кальцію сполуки формули I. У ще одному втіленні заявлений винахід стосується солі натрію сполуки формули I.

Придатні кислотно-адитивні солі утворюють з кислот, котрі утворюють нетоксичні солі. Приклади охоплюють ацетат, аспартат, бензоат, безилат, гідрогенкарбонат/карбонат, гідрогенсульфат/сульфат, борат, камзилат, цитрат, едизилат, езилат, форміат, фумарат, глюсептат, глюконат, глюкуронат, гексафлуорфосфат, гібензат, гідрогенхлорид/хлорид, гідрогенбромід/бромід, гідрогенйодид/йодид, ізетіонат, лактат, малат, малеат, малонат, мезилат, метилсульфат, нафтилат, 2-напзилат, нікотинат, нітрат, оротат, оксалат, пальмітат, памоат, фосфат/гідрогенфосфат/дигідрогенфосфат, сахарат, стеарат, сукцинат, тартрат, тозилат та трифлуорацетат.

Придатні солі основ утворюють з основами, котрі утворюють нетоксичні солі. Приклади охоплюють солі алюмінію, аргініну, бензатину, кальцію, холіну, діетиламіну, діоламіну, гліцину, лізину, магнію, меглуміну, оламіну, калію, натрію, трометаміну та цинку.

Для огляду придатних солей, дивись "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties,Selection, and Use" Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim,Germany, 2002).

Сіль можна легко отримати змішуванням разом розчинів сполуки заявленого винаходу та потрібної кислоти або основи. Сіль можна осаджувати з розчину та збирати фільтруванням або можна збирати випарюванням розчиннику. Ступінь іонізації солі може варіювати від повністю іонізованого до майже неіонізованого.

Сполуки заявленого винаходу можна застосовувати як проліки. Таким чином, деякі похідні, котрі можуть мати невелику фармакологічну активність або не мати її при застосуванні до організму, можуть перетворюватися у сполуки заявленого винаходу, що мають потрібну активність, наприклад, гідролітичним розщепленням. Так похідні визначені як "проліки". Подальшу інформацію стосовно застосування проліків можна знайти у "Pro-Drug as Novel Delivery Systems,Vol.14, ACS Symposium Series (T Higuchi and W Stella) and "Bioreversible Carriers in Drug Design", Pergamon Press,1987 (ed. E B Roche, American Pharmaceutical Association).

Проліки можна, наприклад, отримувати заміщенням прийнятних функціональних груп у сполуках заявленого винаходу деякими компонентами, відомими спеціалістам як "про-компоненти" як описано, наприклад, у "Design of Prodrugs" H Bundgaard (Elsevier,1985).

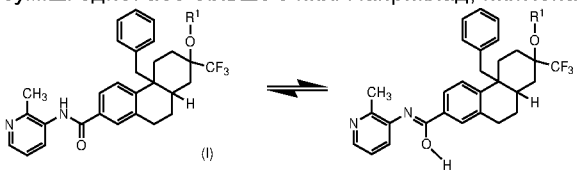
Деякі приклади таких проліків охоплюють ті:

(i), де сполука містить спиртову функціональну групу (-OH), її етер, наприклад, заміщення гідрогену (C_1-C_6)алканоїлоксиметилом; та

(ii), де сполука містить вторинну аміно-функціональну групу, її амід, наприклад, заміщення гідрогену (C_1-C_{10})алканоїлом.

Зрештою, деякі сполуки заявленого винаходу можуть самі діяти як проліки інших сполук заявленого винаходу. Наприклад, деякі сполуки формули I або II можна розглядати як проліки інших сполук формул I або II.

Усі ізомери, як-то стереоізомери, геометричні (цис/транс або Z/E) ізомери та таутомерні форми сполук або солей є у рамках заявленого винаходу, у тому числі сполуки або солі, що мають більше, ніж один тип ізомерії, та суміші одної або більше з них. Наприклад, нижченаведене зображує сполуку формули I та таутомер.



Також охопленими є кислотно-адитивні солі або солі основ де протиіон є оптично активним, наприклад, D-лактат або L-лізин, або рацемічні, наприклад, DL-тартрат або DL-аргінін.

Ізомери можна розділяти звичайними способами, добре відомими спеціалістам.

Заявлений винахід стосується мічених ізотопами сполук винаходу де один або більше атомів є заміщеними атомами, що мають те ж атомне число, але атомну масу або масове число відмінні від атомної маси або масового числа звичайних у природі.

Мічені ізотопами сполуки винаходу можна загалом отримати звичайними способами, відомими спеціалістам або способами, аналогічними описаним у нижченаведених прикладах та отриманнях, застосовуючи прийнятні мічені ізотопами реагенти замість немічених реагентів.

Для лікування станів, визначених нижче, можна застосовувати сполуки заявленого винаходу. Солі сполук заявленого винаходу можна застосувати також.

C. Композиції

Сполуки або солі заявленого винаходу можуть бути частиною композиції. Композиції можуть також містити одну або більше сполук або солей заявленого винаходу. Композиція може також мати енантіомерний надлишок одної або більше сполук заявленого винаходу. Інші фармакологічно активні речовини та носії можуть бути у композиції.

Одним втіленням є композиція, що містить сполуку формули I або її сіль. Ще одним втіленням є композиція, що містить сполуку формули I або її сіль та носій.

Наприклад, носієм може бути наповнювач. Вибір наповнювачу залежить від факторів, як-то конкретний режим застосування, дія наповнювачу на розчинність та стабільність, та природа форми дозування.

Композиція може бути твердою, рідкою або обома, та може бути сформованою зі сполукою як композиція одиничної дози, наприклад, таблетки, котра може містити від 0,05 % до 95 % за масою активних сполук. Сполуки або солі заявленого винаходу можна сполучати з придатними полімерами як носіями.

D. Способи

Заявлений винахід стосується способу контактування глюкокортикоїдного рецептору зі сполукою або сіллю заявленого винаходу.

Заявлений винахід також стосується способу лікування стану, опосередкованого активністю глюкокортикоїдного рецептору, у особи, що полягає у застосуванні до особи сполуки або солі заявленого винаходу.

Стан, опосередкований активністю глюкокортикоїдного рецептору стосується нижченаведеного:

a) ендокринні розлади, як-то первинна або вторинна адренокортикальна недостатність, уроджена надниркова гіперплазія, негнійний тиреоїдит, та гіперкальцемія, асоційована з раком;

b) ревматичні розлади, як-то псоріатичний артрит, ревматоїдний артрит, у тому числі юнацький ревматоїдний артрит, анкілозувальний спондиліт, гострий та підгострий бурсит, гострий неспецифічний теносиновіт, гострий подагричний артрит, пост-травмвтичний остеоартрит, синовіт від остеоартриту та епікондиліт;

c) колагенові хвороби, як-то системний червоний вовчак, та гострий ревматичний кардит;

d) дерматологічні стани, як-то пемфігус, герпетиформа булезного дерматиту, сувора ексудативна багатоформна еритема (синдром Стевенса-Джонсона), ексфоліативний дерматит, грибовидний мікоз, псоріаз та себорейний дерматит;

e) алергічні стани, як-то сезонні або цілорічні алергії, алергічний риніт, бронхіальна астма, контактний дерматит, атопічний дерматит, сироваточна хвороба, реакції гіперчутливості до ліків;

f) очні хвороби та стани, як-то алергічні корнеальні граничні виразки, очний герпес, запалення переднього сегменту, дифузний задній увеїт та хоріоїдит, хронічний увеїт, симпатична офтальмія, алергічний кон'юнктивіт, кератит, хоріоїретиніт, зоровий неврит, ірит та іридоцикліт;

g) респіраторні хвороби, як-то симптоматичий саркоїдоз, синдром Лефлера, бериліоз, блискучий або розсіяний туберкульоз легень, та аспіраційний пневмоніт;

h) гематологічні розлади, як-то геморагічна пурпура, вторинна тромбоцитопенія, набута (автоімунна) гемолітична анемія, еритробластопенія (RBC-анемія), та уроджена (еритроїдна) гіпопластична анемія;

i) неопластичні хвороби, як-то лейкемія та лімфома;

j) набряклі стани, що викликають діурез чи виділення протеїнурії при нефротичному синдромі, без уремії, ідіопатичного типу, або внаслідок червоного вовчаку;

k) шлунково-кишкові хвороби, як-то виразковий коліт, регіонарний ентерит, запальна хвороба кишечнику, хвороба Крона, гастрит, синдром подразненого кишечнику;

l) змішані стани, як-то туберкульозний менінгіт та трихінелез; та

m) неврологічні стани, як-то хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, хвороба Хантингтона, бічний аміотрофічний склероз, поранення спинного хребта, глибока психотична депресія та периферійна невропатія.

Стан, опосередкований активністю глюкокортикоїдного рецептору також стосується нижченаведеного:

відторгнення трансплантату (наприклад, нирок, печінки, серця, легень, підшлункової залози (наприклад, острівкових клітин), кісткового мозку, рогівки, тонкого кишечнику, алотрансплантатів шкіри, гомотрансплантатів

шкіри (як-то у лікуванні опіків), ксенотрансплантатів серцевих клапанів, сироваточна хвороба та хвороба трансплантат проти хазяїна, автоімунні хвороби, як-то ревматоїдний артрит, псоріатичний артрит, розсіяний склероз, діабет типу I та II, юнацький діабет, ожиріння, астма, запальна хвороба кишечнику (як-то хвороба Крона та виразковий коліт), піодерматоз, вовчак (системний червоний вовчак), бульбоспинальний параліч, псоріаз, дерматит, дерматоміозит; екзема, себорея, запалення легень, очний увеїт, гепатит, хвороба Граве, тиреоїдит Хашимото, автоімунний тиреоїдит, синдром Бекхета або Шегрена (сухі очі/рот), згубна або імуногематолітична анемія, атеросклероз, хвороба Адддисона (автоімунна хвороба надниркових залоз), ідіопатична надниркова недостатність, автоімунна полігландулярна хвороба (також, відома як автоімунний полігландулярний синдром), гломерулонефрит, склеродерма, обмежена склеродерма, плоский лишай, вітиліго (депігментація шкіри), гніздова алопеція, автоімунна алопеція, автоімунний гіпопітуїтаризм, синдром Джилліана-Барре та альвеоліт; опосередковані гіперчутливістю Т-клітин хвороби, у тому числі контактна гіперчутливість, гіперчутливість затриманого типу, контактний дерматит (у тому числі внаслідок отруйного плюща), кропивниця, алергії шкіри, респіраторні алергії (сінна лихоманка, алергічний риніт) та глютен-чутлива ентеропатія; запальні хвороби, як-то остеоартрит, гострий панкреатит, хронічний панкреатит, гострий респіраторний дистрес-синдром, синдром Сезарі та хвороби судин, котрі мають запальний та або проліферативний компонент, як-то рестеноз, стеноз та атеросклероз.

Стан, опосередкований активністю глюкокортикоїдного рецептору також стосується нижченаведеного:

a) астма будь-якого типу, етіології або патогенезу, зокрема астма, що є членом вибраним з групи: атопічна астма, неатопічна астма, алергічна астма, атопічна бронхіальна опосередкована IgE астма, бронхіальна астма, есенціальна астма, істинна астма, спадкова астма, викликана паторфізіологічними порушеннями, набута астма, викликана факторами довкілля, есенціальна астма з невідомої або невідкритої причини, неатопічна астма, астма при бронхіті, емфізематозна астма, викликана вправами астма, викликана алергенами астма, викликана холодним повітрям астма, професійна астма, інфекційна астма, викликана бактеріями, грибками, найпростішими або вірусами, неалергічна астма, початкова астма, синдром хрипкої дитини та бронхіоліт;

b) хронічний або гострий бронхостеноз, хронічний бронхіт, закупорка тонких дихальних шляхів та емфізема;

c) обструктивні або запальні хвороби дихальних шляхів будь-якого типу, етіології або патогенезу, зокрема, обструктивній або запальній хворобі дихальних шляхів, що є членом вибраним з групи: хронічна еозинофільна пневмонія, хронічна обструктивна хвороба легень (COPD), COPD, що супроводжується хронічним бронхітом, емфіземою легень або задишкою, асоційованою або не асоційованою з COPD, COPD, що характеризується необоротною, прогресуючою закупоркою дихальних шляхів, респіраторний дистрес-синдром дорослих (ARDS), загострення гіперреактивності дихальних шляхів внаслідок терапії іншими ліками та хвороба дихальних шляхів, що є асоційованою з гіпертензією легень;

d) бронхіт будь-якого типу, етіології або патогенезу, зокрема, бронхіт, що є членом вибраним з групи: гострий бронхіт, гострий гортанно-трахеальний бронхіт, арахідний бронхіт, катаральний бронхіт, крупозний бронхіт, сухий бронхіт, інфекційний астматичний бронхіт, продуктивний бронхіт, стрептококовий або стафілококовий бронхіт та пухирчатий бронхіт, гостре поранення легень; та

e) бронхоектаз будь-якого типу, етіології або патогенезу, зокрема, бронхоектаз, що є членом вибраним з групи: циліндричний бронхоектаз, осумкований бронхоектаз, веретеноподібний бронхоектаз, капілярний бронхоектаз, кистозний бронхоектаз, сухий бронхоектаз та фолікулярний бронхоектаз.

Ще одне втілення стосується застосування сполуки або солі заявленого винаходу для застосування у лікуванні обструктивних або запальних хвороб дихальних шляхів будь-якого типу, етіології або патогенезу, зокрема, обструктивних або запальних хвороб дихальних шляхів, що є вибраними з групи: хронічна еозинофільна пневмонія, хронічна обструктивна хвороба легень (COPD), COPD, що супроводжується хронічним бронхітом, емфіземою легень або задишкою, асоційованою або не асоційованою з COPD, COPD, що характеризується необоротною, прогресуючою закупоркою дихальних шляхів, респіраторний дистрес-синдром дорослих (ARDS), загострення гіперреактивності дихальних шляхів внаслідок терапії іншими ліками та хвороба дихальних шляхів, що є асоційованою з гіпертензією легень, або астма будь-якого типу, етіології або патогенезу, зокрема астма, що є членом вибраним з групи: атопічна астма, неатопічна астма, алергічна астма, атопічна бронхіальна опосередкована IgE астма, бронхіальна астма, есенціальна астма, істинна астма, спадкова астма, викликана паторфізіологічними порушеннями, набута астма, викликана факторами довкілля, есенціальна астма з невідомої або невідкритої причини, неатопічна астма, астма при бронхіті, емфізематозна астма, викликана вправами астма, викликана алергенами астма, викликана холодним повітрям астма, професійна астма, інфекційна астма, викликана бактеріями, грибками, найпростішими або вірусами, неалергічна астма, початкова астма, синдром хрипкої дитини та бронхіоліт.

Заявлений винахід стосується способу лікування стану, пов'язаного із запаленням у особи, що полягає у застосуванні до особи сполуки або солі заявленого винаходу.

Заявлений винахід стосується способу лікування станів, як-то астма, дерматит, запальна хвороба кишечнику, хвороба Альцгеймера, глибока психотична депресія, невропаті, відторгнення трансплантату, розсіяний склероз, хронічний увеїт, або хронічна обструктивна хвороба легень у особи, що полягає у застосуванні до особи сполуки або солі заявленого винаходу.

Заявлений винахід стосується способу лікування ревматоїдного артриту у особи, що полягає у застосуванні до особи сполуки або солі заявленого винаходу.

Ревматоїдний артрит вважають хронічною автоімунною та запальною хворобою із запаленням суглобів, котрі з часом набрякають, стають больовими, та починається руйнування хрящів, кісток та зв'язок суглобу. Результатом ревматоїдного артриту є деформування, нестабільність та нерухомість суглобу та рубцювання у суглобі. Суглоби руйнуються з високо змінюваною швидкістю. Багато факторів, у тому числі генетична схильність, можуть впливати на хворобу. Люди з ревматоїдним артритом можуть мати помірний перебіг, випадкові спалахи з довгими періодами ремісії без хвороби, або постійно прогресуючу хворобу, що може бути повільною або

швидкою. Ревматоїдний артрит може починатися раптово, з багатьма запаленими суглобами. Більш часто, він починається повільно, поступово вражаючи відмінні суглоби. Звичайно, запалення є симетричним, з суглобами, враженими з обох боків тіла. Звичайно, невеликі суглоби у пальцях, руках, ступнях, зап'ястках та ліктях стають запаленими першими, а потім коліна та стегна.

Біль, асоційований із ревматоїдним артритом є звичайно соматичним ноцицептивним болем суглобів. Набряклі зап'ястки можуть стискати нерв та призводити до нерухомості або поколювання внаслідок зап'ясткового тунельного синдрому. Кісти можуть розвиватися ззаду вражених колінок, можуть руйнуватися, викликаючи біль та набрякання у нижчих кінцівках.

Заявлений винахід стосується способу лікування дерматиту у особи, що полягає у застосуванні до особи сполуки або солі заявленого винаходу.

Заявлений винахід стосується способу лікування хронічної обструктивної хвороби легень у особи, що полягає у застосуванні до особи сполуки або солі заявленого винаходу.

Заявлений винахід стосується способу лікування астми у особи, що полягає у застосуванні до особи сполуки або солі заявленого винаходу.

Заявлений винахід стосується способу лікування хвороби Альцгеймера у особи, що полягає у застосуванні до особи сполуки або солі заявленого винаходу.

Заявлений винахід стосується способу зменшення побічної дії, асоційованої з модуляцією глюкокортикоїдного рецептору, що полягає у застосуванні сполуки формули I до особи.

Заявлений винахід стосується способу зменшення побічної дії, асоційованої з лікуванням преднізолоном, що полягає у застосуванні сполуки формули I до особи.

Заявлений винахід крім того стосується способів лікування вищезгаданих станів, хвороб та розладів у особи, або особи схильної до такого стану, застосуванням до особи одної або більше сполук або солей заявленого винаходу.

В одному втіленні вищезгаданим лікуванням є превентивне лікування.

У ще одному втіленні вищезгаданим лікуванням є паліативне лікування.

У ще одному втіленні вищезгаданим лікуванням є відновлювальне лікування.

E. Дозування та Застосування

Для вибору найбільш прийнятних форм дозування та шляху застосування для лікування запропонованих показань, сполуки або солі винаходу можна оцінювати стосовно їх біофармацевтичних властивостей, як-то розчинність та стабільність розчину (стосовно pH), та проникність.

Дози для сполук або солей винаходу є у межах від 0,1 мг до 100 мг для перорального застосування та від 2 мг або менше для застосування інгаляцією. Дозу можна застосовувати одиничною або поділеними дозами та вона може бути поза межами, наданими тут.

Дозування базується на середній особі людини, що має масу приблизно 60-70 кг. Дозування та режим дозування залежать від особи та різних станів, що можуть впливати на дозування (вік, стать, маса тіла, тощо). Лікар легко здатний визначити дози для особи, чия маса є поза цими межами, як-то діти та старики.

Пероральне Застосування

Сполуки винаходу та їх солі можна застосовувати перорально. Пероральне застосування може полягати у ковтанні, так, щоб сполук або сіль потрапила у шлунково-кишковий тракт, та/або букальному, лінгвальному або сублінгвальному застосуванні, котрим сполука або сіль потрапляє у потік крові безпосередньо з рота.

Композиції, придатні для перорального застосування охоплюють тверді, напівтверді та рідкі системи, як-то таблетки; м'які або тверді капсули, що містять багато частинок або наночастинок, рідини, або порошки; пастилки (у тому числі заповнені рідиною); жувальні гумки; гелі; швидко диспергувані форми дозування; плівки; спреї; та букальні/слізові липкі пластири. Крім того, сполук або солі винаходу можна застосовувати як висушені розпиленням дисперсії.

Рідкі композиції охоплюють суспензії, розчини, сиропи та еліксири. Так композиції можуть наповнювачам у м'яких або твердих капсулах (наприклад, з желатину або гідроксипропілметилцелюлози) та звичайно містять носій, наприклад, воду, етанол, поліетиленгліколь, пропіленгліколь, метилцелюлозу, або придатну олію, та один або більше емульгаторів та/або суспендувальних агентів. Рідкі композиції можна також отримати відтворенням твердого продукту, наприклад, з пакетику.

Сполуки винаходу та їх солі можна застосувати також у швидко розчинюваній, швидко дезінтегровуваній формі дозування, як-то описаній у Expert Opinion in Therapeutic Patents,11 (6), 981-986,Liang та Chen (2001).

Для форми дозування таблеток, залежно від дози, ліки можуть складати від 1 мас. % до 80 мас. % форми дозування, більш звичайно від 5 мас. % до 60 мас. % форми дозування. На додаток до ліків, таблетки загалом містять дезінтегратор. Приклади дезінтеграторів охоплюють натрію крохмаль-гліколят, карбоксиметилцелюлозу натрію, карбоксиметилцелюлозу кальцію, кроскармелозу натрію, кросповідон, полівінілпіролідон, метилцелюлозу, мікрокристалічну целюлозу, заміщену нижчим алкілом гідроксипропілцелюлозу, крохмаль, пептизований крохмаль та натрію альгінат. Загалом, дезінтегратор складатиме від 1 мас. % до 25 мас. %, переважно від 5 мас. % до 20 мас. % форми дозування.

Зв'язуючі загалом застосовують для надання властивостей до зчеплення композиції таблеток. Придатні зв'язуючі охоплюють мікрокристалічну целюлозу, желатин, цукор, поліетиленгліколь, природні та синтетичні смоли, полівінілпіролідон, пептизований крохмаль, гідроксипропілцелюлозу та гідроксипропілметилцелюлозу. Таблетки можуть також містити розріджувачі, як-то лактозу (моногідрат, висушений розпиленням моногідрат, безводну тощо), манітол, ксилітол, декстрозу, сахарозу, сорбітол, мікрокристалічну целюлозу, крохмаль та кальцію двоосновний фосфат дигідрат.

Таблетки можуть також містити поверхнево-активні агенти, як-то натрію лаурилсульфат та полісорбат 80, та гліданти, як-то силіцій діоксид та тальк. При наявності поверхнево-активні агенти можуть складати від 0,2 мас. % до 5 мас. % таблетки, а гліданти можуть складати від 0,2 мас. % до 1 мас. % таблетки.

Таблетки також загалом містять лубриканти, як-то магнію стеарат, кальцію стеарат, цинку стеарат, натрію стеарилфумарат, та суміші магнію стеарату з натрію лаурилсульфатом. Лубриканти загалом містять від 0,25 мас. % до 10 мас. %, переважно від 0,5 мас. % до 3 мас. % таблетки.

Інші можливі інгредієнти охоплюють антіокисиданти, барвники, ароматизатори, консерванти та агенти маскування смаку.

Таблетки містять до 80 % ліки, приблизно від 10 мас. % до 90 мас. % зв'язуючого, приблизно від 0 мас. % до 85 мас. % розріджувачу, приблизно від 2 мас. % до 10 мас. % дезінтегратор, та приблизно від 0,25 мас. % до 10 мас. % лубриканту.

Тверді композиції для перорального застосування можна формувати для негайного та/або модифікованого вивільнення. Композиції для модифікованого вивільнення охоплюють затримане, безперервне, імпульсне, регульоване, цілеспрямоване та програмоване вивільнення.

Придатні композиції винаходу для модифікованого вивільнення є описаними у патенті США 6,106,864. Деталі інших придатних способів вивільнення, як-то високо енергетичні дисперсії та осмотичні та покриті частинки можна знайти у Pharmaceutical Technology On-line, 25(2), 1-14, Verma et al (2001).

Межі доз для перорального застосування також охоплюють від 0,1 мг до 80 мг, 15 мг – 80 мг, 0,1 мг – 25 мг.

Парентеральне застосування

Сполуки або солі винаходу можна також застосовувати у потік крові безпосередньо, у м'язи, або у внутрішній орган. Приклад 2 можна застосовувати у потік крові. Придатні засоби для парентерального застосування охоплюють внутрішньовенні, інтрартеріальні, інтраперитонеальні, інтратекальні, інтравентрикулярні, інтрауретральні, інтрастернальні, інтракраніальні, внутрішньом'язові, інтрасиновіальні та підшкірні. Придатні пристрої для парентерального застосування охоплюють голку (у тому числі мікроголку) ін'єктори, безголкові ін'єктори та засоби вливання.

Парентеральні композиції є звичайно водними розчинами, котрі можуть містити наповнювачі, як-то солі, вуглеводи та буферувальні агенти (переважно для pH від 3 до 9), але, для деяких застосувань, їх можна краще формувати як стерильні неводні розчини або як висушені форми для застосування разом з придатним розчинником, як-то стерильною водою без пірогену.

Отримання парентеральних композицій у стерильних умовах, наприклад, ліофілізацією, можна легко досягти, застосовуючи стандартні фармацевтичні способи, добре відомі спеціалістам.

Розчинність сполук заявленого винаходу та їх солей, застосованих в отриманні парентеральних розчинів можна підвищити застосуванням прийнятних способів композиції, як-то уведення агентів посилення розчинності.

Композиції для парентерального застосування можна формувати для негайного та/або модифікованого вивільнення. Композиції для модифікованого вивільнення охоплюють затримане, безперервне, імпульсне, регульоване, цілеспрямоване та програмоване вивільнення. Таким чином сполуки винаходу можна формувати як суспензію або як твердий, напівтвердий продукт або тиксотропну рідину для застосування як імплантованого депо, що забезпечує модифіковане вивільнення активної сполуки. Приклади таких композицій охоплюють покриті ліками стенти та напівтверді продукти та суспензії, що містить завантажені ліками мікросфери з полі(dl-молочно-когліколевої)кислоти (PGLA).

Місцеве застосування

Сполуки або солі винаходу можна також застосовувати місцево, (інтра)дермально, або трансдермально до шкіри або слизової. Приклад 1 можна застосовувати до шкіри. Звичайні композиції для цього охоплюють гелі, гідрогелі, лосьйони, розчини, креми, мазі, порошки, пінки, плівки, шкірні пластири, імплантати, волокна, бандажі та мікроемульсії. Ліпосоми можна застосувати також. Звичайні носії охоплюють спирт, воду, мінеральну оливу, рідкий вазелін, білий вазелін, гліцерин, поліетиленгліколь та пропіленгліколь. Посилювачі проникливості можна уводити - дивись, наприклад, J Pharm Sci, 88 (10), 955-958,Finnin та Morgan (October1999).

Інші засоби місцевого застосування охоплюють електропорацію, іонофорез, фонофорез, сонофорез та мікроголкові або безголкові (наприклад, Powderject™, Bioject™, тощо) ін'єкції.

Композиції для місцевого застосування можна формувати для негайного та/або модифікованого вивільнення. Композиції для модифікованого вивільнення охоплюють затримане, безперервне, імпульсне, регульоване, цілеспрямоване та програмоване вивільнення.

Застосування інгаляцією/інтраназальне

Сполуки або солі винаходу можна також застосовувати інтраназально або інгаляцією, звичайно у форм сухого порошку (поодинці, як суміш, наприклад, з сухою лактозою, або як частинки змішаних компонентів, наприклад, змішаних з фосфоліпідами, як-то фосфатидилхолін) з інгалятору сухого порошку, як аерозольний спрей з контейнеру під тиском, насосу, розбризкувачу (переважно розбризкувачу, що застосовує електрогідродинаміку для отримання дрібного туману), або розпилювач, із або без застосування придатного пропеленту, як-то 1,1,1,2-тетрафлуоретан або 1,1,1,2,3,3,3-гептафлуорпропан, або як назальні краплі. Для інтраназального застосування, порошок може містити біоадгезивний агент, наприклад, хітозан або циклодекстрин.

Контейнер під тиском, насос, розбризкувач, або розпилювач містить розчин або суспензію сполуки винаходу, що містить, наприклад, етанол, водний етанол, або придатний альтернативний агент для диспергування, розчинення, або вивільнення розширюванням активного засобу, пропелент як розчинник, та необов'язково сурфактант, як-то сорбітан триолеат, олеїнова кислота або олігомолочна кислота.

До застосування у композиції сухого порошку або суспензії, ліки мікронізують до розміру, придатного для доставляння інгаляцією (звичайно менше, ніж 5 мікрон). Це можна досягти будь-яким прийнятним способом, як-то струминний млин, для утворення наночастинок, гомогенізацією високого тиску або сушкою розпиленням.

Капсули (наприклад, з желатину або гідроксипропілметилцелюлози), блістери та картриджі для застосування в інгаляторі або інсуфляторі можна формувати з вмістом порошкової суміші сполуки винаходу, придатної порошкової основи, як-то лактоза або крохмаль та модифікатору, як-то L-лейцин, манітол, або магнію стеарат.

Лактоза може бути безводною або у формі моногідрату. Інші придатні наповнювачі охоплюють дестран, глюкозу, мальтозу, сорбітол, ксилітол, фруктозу, сахарозу та трегалозу.

Придатна композиція розчину для застосування у розбризкувачі, застосовуючи електрогідродинаміку, може містити сполуку заявленого винаходу, пропіленгліколь, стерильну воду, етанол та натрію хлорид. Альтернативні розчинники, котрі можна також застосовувати замість пропіленгліколю, охоплюють гліцерин та поліетиленгліколь.

Композиції для застосування інгаляцією/інтраназально можна формувати для негайного та/або модифікованого вивільнення, застосовуючи, наприклад, PGLA. Композиції для модифікованого вивільнення охоплюють затримане, безперервне, імпульсне, регульоване, цілеспрямоване та програмоване вивільнення.

У випадку інгаляторів сухого порошку та аерозолів, одиниці дозування визначають за допомогою клапана, котрий видає виміряну кількість. Одиниці згідно з винаходом звичайно підганяють до застосування виміряної дози, котру можна застосовувати як одиничну дозу або, більш звичайно, як поділені дози протягом доби.

Межі доз для застосування інгаляцією – від 2 мг і менше або 1 мг і менше.

Комбінації

Сполуки або солі винаходу можна застосовувати у комбінації з одним або більше іншими терапевтичними агентами, як-то ліки. Сполуку заявленого винаходу або її сіль можна застосовувати одночасно або у відмінні часи як один або більше інших терапевтичних агентів.

Наприклад, "у комбінації" стосується: одночасного застосування комбінації сполуки або солі винаходу та терапевтичного агенту до особи, коли такі компоненти формують разом в одиничну форму дозування, котра вивільняє вказані компоненти по суті одночасно до вказаної особи; по суті одночасного застосування комбінації сполуки або солі винаходу та терапевтичного агенту до особи при необхідності лікування, коли такі компоненти формують в окремі форми дозування, котрі приймають по суті одночасно, після чого вказані компоненти вивільняються по суті одночасно до вказаної особи; послідовного застосування комбінації сполуки або солі винаходу та терапевтичного агенту до особи, коли так компоненти формують окремо від кожного іншого в окремі форми дозування, котрі приймають у послідовні часи зі значним інтервалом часу між кожним застосуванням, після чого вказані компоненти вивільняються у по суті відмінні часи до вказаної особи; та послідового застосування такої комбінації сполуки або солі винаходу та терапевтичного агенту до особи, коли такі компоненти формують разом в одиничну форму дозування, котра вивільняє вказані компоненти регульованим шляхом, після чого їх одночасно, послідовно, та/або перехресно застосовують у той же час та/або відмінні часи, де кожну частину можна застосовувати тим же або відмінним шляхом.

Наприклад, сполуки або солі заявленого винаходу можна також у комбінації, частково або повністю, на додаток до інших антизапальних засобів. Придатні антизапальні засоби охоплюють циклоспорин, золедронову кислоту, ефалізумаб, алефацепт, етодолак, лорноксикам, OM-89, вальдекоксиб, тоцилізумаб, абатацепт, мелоксикам, етанерцепт, намбуметон, римексолон, 153Sm-EDTMP, просорба, імідазол саліцилат, опрелвекін, гіалуронову кислоту, напроксен, піроксикам, діацереїн, люмерикоксиб, такролімус, ацеклофенак, актприт, теноксикам, розиглітазон, дефлазакорт, адалімумаб, лефлуномід, ризедронат натрію, мізопростол та диклофенак, SK-1306X, інфліксимаб, анакірна, целекоксиб, диклофенак, еторикоксиб та фелбінак, ревмакон, голімумаб, деносумаб, офатумумаб, антитіло 10rT1, пелубіпрофен, лікофелон, темзиролімус, екулізумаб, ігуратимод, та преднізон. Інші придатні антизапальні засоби охоплюють CP-481715, ABN-912, MLN-3897, HuMax-IL-15,RA-1, паклітаксел, Org-37663, Org39141, AED-9056, AMG-108, фонтолізумаб, пегсунерцепт, пралнакасан, апіоїмод, GW-274150, AT-001,681323 (GSK) K-832,R-1503, окрелізумаб, DE-096, Cpn10, THC+CBD (GW Pharma), 856553 (GSK), ReN-1869, імуноглобулін, mm-093, амелубант, SCIO-469, ABT-874, LenkoVAX, LY-2127399, TRU-015, KC-706, дипіридамол, амоксапінет та дипіридамол, SO-715, PG760564,VX-702, преднізолон та дипіридамол, PMX-53, белімумаб, принаберел, CF-101, tgAAV-TNFR:Fc, R-788, преднізолон та SSRI, дексаметазон, CP-690550 та PMI-001.

Спеціалісту також зрозуміло, що застосовуючи сполуки винаходу або їх солі у лікуванні конкретної хвороби, сполуки винаходу можна комбінувати з різними терапевтичними агентами, застосованими для цієї хвороби.

Наприклад, сполуки або солі винаходу можна комбінувати з агентами, що модулюють одну або більше з нижченаведених цілей: Циклооксигеназа 2 (простагландин-ендопероксид-синтаза 2); TNF-R (рецептор фактору некрозу пухлин типу 1); Циклооксигеназа (Cox 1 та 2; Неспецифічна); Мар-кіназа p38 (Неспецифічна); Рецептор Il1 (типу I та II, Неспецифічний); Арахідонат 5-ліпоксигеназа; Глюкокортикоїдний рецептор (GR); NF-kB; Фактор некрозу пухлин (TNF-альфа); Рецептор хемокіну CCR1; Рецептор лейкотриєну B4 (Неспецифічний); PDE4 (Фосфодіестераза 4; Неспецифічна); IL6 рецептор; Інтегрин (Неспецифічний); ADAM-17 (фермент перетворення TNF-альфа); ICE (Каспаза 1/інтерлейкін-1-бета-конвертаза); Ферменти синтезу простагландину (Неспецифічні); Рецептор речовини-P (SPR/NK-1 рецептор); Рецептор простаноїду (Неспецифічний); білок адгезії клітин судин 1 (VCAM 1); MMP-13 (колагеназа 3); Рецептор VEGF (Неспецифічний); Рецептор хемотактичного анафілотоксину C5A (C5AR); інгібіторний фактор міграції макрофагів (MIF); Пурин-нуклеозид-фосфорилаза (PNP); Бета 1 інтерферон; MMP-3 (стромелізин 1); Рецептор хемокіну CCR2; MMP-2 (желатиназа A); Рецептор фактору некрозу пухлин 5 (CD40); Рецептор хемокіну CCR5; Простагландин E-синтаза; Активований проліфератором пероксизом рецептор гамма (PPAR-Гамма); Рецептор хемокіну CXCR4; Катепсин S; Протоонкоген LCK тирозин кіназа; Рецептор хемокіну CXCR3; Рецептор PDGF;FKBP (12FK-506); надродина Ig CTLA-4; Кіназа Білку C (PKC, Неспецифічна); Інтегрин альфа-V/бета-5; Катепсин K; 26S Протеазом; Мінералокортикоїдний рецептор (MR); субодиниця IkB кіназа бета (IKK БЕТА); Рецептор фактору активування тромбоцитів (PAF-R); Фарнезил пірофосфат FPP синтетаза; Рецептор хемокіну CXCR1; рецептор фактору стимулювання колоній макрофагів I (CSF-1R); рецептор 1 IL18; рецептор Аденозину A3; фактор стимулювання колоній гранулоцитів-макрофагів-(GMCSF); SYK тирозин-кіназа; рецептор CRF (Неспецифічний); Альфа/Бета гетеродимер тубуліну; Тирозин Кіназа (Неспецифічна); Амілоїд бета; фактор стимулювання колоній макрофагів (MCSF); член надродини лігандів фактору некрозу пухлин 11 (активатор рецептору ліганду ядерного фактору каппа b); Фосфоліпаза (Неспецифічна); Рецептор естрогену (альфа/бета; Неспецифічний); MMP-9 (желатиназа B); Нітрогеноксид-

синтаза (Неспецифічна); Індукована Нітрогеноксид-Синтаза (Неспецифічна); p53 клітинний антиген пухлин; Інсуліноподібний фактор росту 1 (соматомедин С); комплекс нікотинового ацетилхолінового рецептору; опіоїдний рецептор Mu-типу (MOR-1); IL11; Рецептор Тирозин-Кінази ERBB/EGF (Неспецифічний); рецептор Гістаміну H2; Дипептидил пептидаза IV (DPP IV, CD26); Тороізомераза II; Рецептор хемокіну CCR7; Бактеріальна Дигідрофолат Редуктаза (Неспецифічна); Бета-тубулін; ДНК-полімераза (Людини, будь-який склад субодиниці); Рецептор хемокіну CCR4; Рецептор хемокіну CCR3; K+ (калію) Канал (Неспецифічний); Мітоген-активована білкова кіназа 14 (МАРК14 / P38-альфа); кальцію канали L-типу (Неспецифічні); Рецептор хемокіну CCR6; PDE3 ((Фосфодіестераза 3; Неспецифічна); Цистеїн-протеаза (Неспецифічна); Залежний від натрію норадреналін-транспортер (NAT); кіназа MAP2 (МЕК; Неспецифічна); Кіназа RAF (Неспецифічна); Гіпоксі-індукований рецептор фактору 1 альфа; NMDA; Рецептор естрогену бета (ER-бета); ДНК Людини; Рецептор холецистокініну типу B (CCKB); рецептор брадикініну B1 (BK1); пуриноцептор 7 P2X (P2 × 7); рецептор аденозину A2A; Канабіноїдний рецептор 2 (CB2); Сигма-опіоїдний рецептор; Канабіноїдний рецептор 1 (CB1); Рецептор хемокіну CXCR2; інактиватор комплементного фактору I (C3B/C4B); Білкова кіназа B (RAC-Кіназа) (Неспецифічна); Комплекс Гамма секретази; CRTH2 (GPR44); p53-асоційований ген (MDM2 убіквітин-білкова лігаза E3); рецептор VIP (Неспецифічний); рецептор IL1, тип I; IL6 (інтерферон, бета 2); MMP (Неспецифічна); Інсулін; MMP-2/3/9; Кальцитонін/кальцитонін-пов'язаний поліпептид, альфа; Ліпоксигеназа (Неспецифічна); фактор росту ендотеліальних судин (VEGF); Тромбін; Рецептор андрогену; Мар-кіназа (Неспецифічна); Статевий гормон-зв'язувальний глобулін; Хемокін CCL2 (MCP1/MCAF); Фосфоліпаза A2; Еритропоетин (EPO); Плазміноген; шлунковий протонний насос (H+ K+ АТФаза); Каспаза (Неспецифічна); рецептор FGF (Неспецифічний); Активований проліфератором пероксизом рецептор альфа (PPAR-альфа); рецептор MIP1a (Неспецифічний); білок зв'язування кальцію S100 (Неспецифічний); рецептор PGE (Неспецифічний); пептидил-аргінін-деіміназа, тип IV; комплекс PDGF (a/b); Бета-Лактамаза та PBPs (Біосинтез стінок клітин); Опіоїдний рецептор (Неспецифічний); фермент перетворення ангіотензину 1 (ACE1); активатор плазміногену типу урокінази (UPA); Фосфодіестераза (Неспецифічна PDE); Рецептор прогестерону (PR); рецептор 5HT (серотонін) (Неспецифічний); член надродини факторів некрозу пухлин (лігандів) 5 (лиганд CD40); Тимідилат-синтаза; Інтегрин взаємодії Альфа4 - Паксилін; Інтегрин альфа-4 (VLA-4 / CD49D); ERK1; глюкоза-фосфат-ізомераза (фактор автокринної моторики); Рецептор допаміну (Неспецифічний); Хемокін CXCL12 (SDF-1); Білок мікросомального переносу тригліцеридів; Інтегрин альфа-5/бета-1; Перетворювач сигналів та активатор транскрипції 3 (фактор гостро-фазової реакції); інгібітор активатору плазміногену -1 (PAI-1); Рецептор вітаміну D3 (VDR/1,25-дигідроксивітамін D3 рецептор); Комплекс ароматази (P450аром та NADPH-цитохром P450 редуктаза); Білкова тирозин-фосфатаза (Неспецифічна); 3-гідрокси-3-метилглутарил-кофермент A редуктаза (HMG-CoA); Інтегрин бета-1 (бета субодиниця рецептор фібронектину); Інтегрин бета-1/альфа-11; P селектин (GMP140/гранул мембранний білок-140); білок активування п'яти ліпоксигеназ (FLAP); H+/K+ АТФаза (Неспецифічна); Канал Na+ (натрію) (Неспецифічний); Тиреоїд-пероксидаза; керований потенціалом канал натрію альфа-1 мозку; Бета-2 адренергічний рецептор; BCL1 (Циклін D1); Рецептор тиреоїдного гормону (Неспецифічний); рецептор фактору росту ендотеліальних судин 2 (VEGFR-2/FLK1); Альфа-V/Бета-6 Інтегрин; Інтегрин альфа-V (субодиниця рецептору вітронектину альфа / CD51); SRC-Кіназа; плейотрофін (фактор росту зв'язування гепарину 8, фактор промотування фактору росту нейритів 1); остеопонтин (секретований фосфопротеїн 1); toll-подібний рецептор 4 (TLR4); Ванілоїдний рецептор (Неспецифічний); Кіназа Pi3 (Неспецифічна); Полі(ADP-рибоза)-полімераза (PARP); рецептор PPAR (Неспецифічний); Бета адренергічний рецептор (Неспецифічний); член підродини V тимчасових рецепторних потенційних катіонних каналів 1 (TRPV1); Тороізомераза I; рецептор гістаміну H1; кініноген; Кіназа IKK (Неспецифічна); ВІЛ-ТАТ-білок; Toll-подібний рецептор 2; родина розчинних носів 22 (транспортер органічних катіонів), член 4 (SLC22A4); рецептор RXR (Неспецифічний); Ренін (Ангіотензиногеназа); Рецептор гормону вивільнення гонадотропіну (GNRH-R); Білки зв'язування пеніциліну (Пептидази стінок клітин); Кальмодулін; Мітоген-активована білкова кіназа 1 (МАРК1 / ERK2); Кальцію канал (Неспецифічний); Агреканаза (неспецифічна); JNK Кіназа (Неспецифічна); транстиретин (TTR); рецептор CX3CR1; Фактор коагуляції III (тромбопластин, тканинний фактор); залежний від натрію транспортер серотоніну (5HTT); фактор стимулювання колоній 1 (макрофагів); Тканинна трансглутаміназа (трансглутаміназа 2/TGM2); рецептор, специфічний стосовно підвищеного глікозилування кінцевого продукту; Моноамін-оксидаза (A та B; Неспецифічна); Рецептор гістаміну (Неспецифічний); Залежний від натрію транспортер допаміну (DAT); Тромбопоетин (ліганд фактору росту та фактору розвитку мегакаріоцитів онкогену вірусу мієлопроліферативної лейкемії,); молекула активації передачі сигналів лімфоцитів; Нейтральна ендопептидаза (NEP / Неприлізин); рецептор ендотеліну-1 (ETA); Тирозиназа; Мітоген-активована білкова кіназа 8 (МАРК8/JNK1); IAP (інгібітор апоптозу) неспецифічний; Фосфоінозитид 3-кіназа; рецептор простагландину F2-альфа (Рецептор простаноїду FP); Гормон росту людини; Рецептор вазопресину (Неспецифічний); рецептор фактору росту мастоцитів/стовбурних клітин (C-KIT); CDK (Неспецифічний); D4/5HT1a (рецептор допаміну D4, рецептор серотоніну 1a); рецептор ангіопоетину 1 (TIE-2) (TEK); Рецептор естрогену альфа (ER-альфа); Епідермальний рецептор фактору росту; Кіназа фокальної адгезії (Неспецифічна); Периферійний бензодіазепіновий рецептор (PBS); Окситоциназа; Цитозольна фосфоліпаза A2; Ендопептидаза (Неспецифічна); рецептор FGFR1FGF 1; рецептор нейрокінінів NK1/NK2; комплекс проліл-4-гідроксилази; Інтегрин альфа-5 (субодиниця рецептору фібронектину альфа / VLA-5 / CD49E); Мускариновий рецептор ацетилхоліну (Неспецифічний); Тирозин-білкова кіназа JAK3 (JANUS KIHA3A 3); odc1 – орнітин-декарбоксилаза; рецептор 5HT3; Адреномедулін; гомолог фосфатидилінозитол-3-кінази; рецептор еритропоетину; фактор росту сполучної тканини; RAC-альфа серин/треонін-кіназа (Білкова кіназа B); Toll-подібний рецептор 9; Нейрональна нітрогеноксид-синтаза (NOS1); опіоїдний рецептор каппа-типу (KOR-1); серцевий комплекс Na+ каналу; рецептор білкової тирозин-кінази ERBB-2 (рецептор типу поверхні клітин тирозин-кінази HER2); Рецептор тромбіну (PAR-1); PDE4B (цАМФ-специфічний стосовно фосфодіестерази 4B / HSPDE4B); похідний від фактору росту тромбоцитів бета поліпептид; FKBP-рапаміцин-асоційований білок (FRAP, mTOR); тромбомодулін; ВІЛ Протеаза (ретропепсин); PDE4D (цАМФ-специфічний стосовно фосфодіестерази 4D /

HSPDE4D); Аденозин-кіназа; Гістон-Деацетилаза (Неспецифічна); рецептор простагландину E2, підтип EP4 (Рецептор простаноїду EP4); кіназа мітоген-активованої білкової кінази 3 (MAP2K3); MMP-12 (металоеластаза); рецептор OX40; Неспецифічна убіквітин-лігаза людини; Рецептор сульфонілсечовини (SUR1 (панкреатичний) та SUR2 (серцевий/гладеньких м'язів)); Фактор коагуляції X (фактор Стюарта); Мар-кіназою активована білкова кіназа 2 (MAPKAPK-2); постійний регіон важкого ланцюга IgE; рецептори допаміну D2+5HT2A; рецептор 5-гідрокситриптаміну 4 (5HT4); рецептор ангіотензину, Тип-1 II (AT1); Цитохром P4503A4; циклофілін T-клітин (циклофілін A); рецептор нейромедину K (рецептор NKR/NK-3); рецептор лейкотриєну B4; тирозин кіназа Брутонса (BTK); кіназа мітоген-активованої білкової кінази 6 (MAP2K6); ендоглін; M1/D2/5HT2; залежний від натрію рецептор транспортеру норадреналін + Допамін D4; кіназа мітоген-активованої білкової кінази 4 (MAP2K4); Білок теплового шоку Hsp90 A/B; гістидин-декарбоксилаза; родина розчинних носів 22 (транспортер органічних катіонів), член 5 (SLC22A5); CSK-тирозин-кіназа; проліл-ендопептидаза; Рецептор цистеїніл-лейкотриєну (CYSLT1); Ядерний рецептор NURR1 (білок передранньої реакції HE); Toll-подібний рецептор 3; активований протеїназою рецептор 2 (PAR-2); рецептор простацикліну (рецептор простаноїду IP); інгібітор серин- (або цистеїн) протеїнази, клад F (альфа-2 антиплазмін, фактор похідного від епітелію пігмент), член 1; рецептор аденілат циклази активування поліпептиду слизової тип 1 (PACAP-R-1); надродина фактору некрозу пухлин (ліганд), член 10; C-MAF (коротка форма); Ацетилхолінестераза (ACHE); Альфа1-адренергічний рецептор (Неспецифічний); Рецептор GABA A Bz-зв'язування; рецептор лізосфінголіпіду EDG-1; молекула-1 слизового адресину адгезії клітин (MAdCam); адренергічний рецептор альфа-1L; Рецептор фактору росту гепатоцитів (MET Протоонкоген-тирозин-кіназа); Мускариновий рецептор ацетилхоліну M3; MEK1; рецептор інсуліну; рецептор GABA (A + B; Неспецифічний); Фосфатидилінозитол-3-кінази каталітична субодиниця Гамма (PI3 кіназа Гамма); морфогенний білок кісток 2 (BMP2); рецептор тирозин-білкової-кінази SKY (TYRO3) (RSE); рецептор родини дискоїдних доменів, член 2 (DDR2); керований калієм канал мозку KV (Неспецифічний); Сфінгозин-кіназа (Неспецифічна); рецептор фактору росту нервів високої афінності (TRK-A); Карбонові ангідрази (усі); рецептор тромбопоетину; фактор росту ендотеліальних судин C; ангіотензиноген; касета АТФ-зв'язування, підродина B (MDR/TAP), член 1 (ABCB1) (Багатолікова резистентність P-глікопротеїн (MDR1); Мітоген-активована білкова кіназа 7 (MAP2K7); Мускариновий рецептор ацетилхоліну M1; Зворотна транскриптаза ВІЛ; PDE5A (cGMP-зв'язування, специфічний стосовно фосфодіестерази cGMP 5A / HSPDE5A); Альфа-адренергічний рецептор (Неспецифічний); Ліпопротеїн-асоційований інгібітор коагуляції; Карбоксипептидаза B2 (TAFI); Холінестераза (Неспецифічна); рецептор брадикініну B2 (BK2); Альдоза-редуктаза; Фактор коагуляції XI (Предок тромбопластину плазми); білкова Серин/треонін-кіназа P78; Метіонін-амінопептидаза 2; Розчинна гуанілат-циклаза (Неспецифічна); Рибосомальна білкова кіназа S6; Метаботропний рецептор глутамату 1; Нерецепторна тирозин-білкова кіназа TYK2; Метаботропний рецептор глутамату (Неспецифічний); рецептор фактору росту ендотеліальних судин 3 (VEGFR-3/FLT4); Мітоген-активована білкова кіназа 13 (MAPK13 / P38 дельта); білок активації фібробластів (сепраза); Рецептор фактору вивільнення кортикотропіну (1 (CRF1); Мітоген-активована білкова кіназа 11 (MAPK11 / P38 бета); Комплементний компонент 5; рецептор цитокіну FL (FLT3); рецептор AMPA (рецептори глутамату 1-4); рецептор фактору росту нервів; Ацил-CoA A: холестерин-ацилтрансфераза 1 (ACAT1); сполучений з G-білком рецептор BONZO (STRL33, CXCR6).; білки IKCa; рецептор TGF-бета, тип II (TGFR-2); білок ВІЛ-vif; рецептор 5-гідрокситриптаміну 2B (5HT2B); білок зв'язування жирних кислот (Неспецифічний); Toll-подібний рецептор 7 (TLR7); Грелін; рецептор антигену CD36 (колагену тип I, рецептор тромбоспондину); Мітоген-активована білкова кіназа 3 (MAP3K3 / MEKK3); FMLP-пов'язаний рецептор I (FMLP-RI); Сфінгозин-кіназа SPHK1; гістидил-тРНК-синтетаза; Мітоген-активована білкова кіназа 9 (MAPK9/JNK2); P2X рецептор (Неспецифічний); казеїн-кіназа I (Неспецифічна); Сульфотрансферази (неспецифічні); Ядерний рецептор ROR-альфа-1; катехол O-метилтрансфераза (COMT); Моноамін-оксидаза A (MAOA); Гамма-глутаміл гідролаза; Білкова кіназа C, альфа тип (PKC-альфа); Мітоген-активована білкова кіназа 12 (MAPK12 / ERK6 / P38 Гамма); Канал Кальцію Альфа2Дельта; комплекс тканинний Фактор/Фактор VIIa; фактор інгібітору нейтрофілу анкілостоми; канал калію IKr; рецептор гістаміну H4 (JAR3) (PFI-13); рецептор 5-гідрокситриптаміну 2A (5HT2A); Рецептор холецистокініну типу A (CCKA); 11-бета гідроксистероїд-дегідрогеназа 1; Гормон вивільнення гормону росту (;білок нікотинового рецептору ацетилхоліну альфа-7; рецептор 5HT2 (Неспецифічний); ізоформа обміннику Натрію/гідрогену 1 (NHE1); рецептор речовини-K (рецептор SKR/NK-2); рецептор 5-гідрокситриптаміну 1D (5HT1D); Рецептори 5HT1B/1D; сахараза-ізомальтаза; Бета-3 адренергічний рецептор; рецептор пов'язаного з геном кальцитоніну пептиду (GGRP) типу 1; Циклінзалежна кіназа 4 (CDK4); адренергічний рецептор Альфа-1A; рецептор тромбоцитів ADP P2Y12; Мітоген-активована білкова кіназа 5 (MAP3K5) (MEKK5); регулятор передачі сигналів G-білку 2; асоційована з рецептором інтерлейкіну-1 кіназа (IRAK); Неорганічна пірофосфатаза ();тирозин-кіназа ITK/TSK; RAR Гамма; AXL білкова тирозин-кіназа (рецептор UFO, GAS6); подібна рецептору активіну кіназа 1 (ALK-1); пов'язаний з карликовістю фактор транскрипції 2; АМФ-деаміназа (Неспецифічна); Рецептор хемокіну CCR8; Рецептор хемокіну CCR11; рецептор ноцицепції; рецептор інсуліноподібного фактору росту I; Рецептор P2Y (Неспецифічний); Білкова кіназа C типу тета (NPKC-тета); неспецифічна ДНК-метилтрансфераза; Кіназа Фосфорилази (Неспецифічна); Рецептор хемотактичного анафілотоксину C3A (C3AR); сфінгозин-кіназа 2 (SPHK2); неспецифічна казеїн-кіназа II; Фосфогліцерат-кіназа 1; бета 1,4-галактозилтрансфераза 2 UDP-Gal:beatGlcNAc (B4GALT2); MMP-17 (MT-MMP 4); казеїн-кіназа II, альфа ланцюгова (CK II); специфічна затримка розвитку 6 (GAS6); Мар-кіназою активована білкова кіназа 3 (MAPKAPK-3); активована мітогеном та стресом білкова кіназа-1 (MSK1); Простагландин D2-синтаза (21kD, мозку); Панкреатичний K+ канал (Неспецифічний); рецептор TGF-бета типу I (TGFR-1 / подібна рецептору активіну кіназа 5 / ALK-5); Циклінзалежна кіназа 2 (CDK2); ACAT (Ферменти ACAT 1 та 2; Неспецифічні); опіоїдний рецептор дельта-типу (DOR-1); рецептор 5-гідрокситриптаміну 6 (5HT6); рецептор 5-гідрокситриптаміну 1A (5HT1A); рецептор 5HT1 (Неспецифічний); рецептор гормону росту; PDE7 (Фосфодіестераза 7; Неспецифічна); рецептор IgE (R1 та R2; Неспецифічний); Циклінзалежна кіназа 1 (CDK1); комплекс фарнезил-білок-трансфераза; рецептор простагландину D2 (рецептор простаноїду DP); Комплементний компонент C1S; Гістон-деацетилаза 5; P2X пуриноцептор 4 (P2 × 4); рецептор

подібного лектину окисненого LDL (LOX-1); епоксид-гідролаза 2 (транс-стирен-оксид-гідролаза) (розчинна епоксид-гідролаза) (sEH); дигідродипіколінат-синтаза (dhdps) (DapA); Комплекс CaM Кіназа II; LXR альфа/бета (Неспецифічний LXR); друге похідне від активатору мітохондрій каспази; Інтегрин-зв'язана кіназа (ILK); кіназа фокальної адгезії 2 (FADK 2); рецептор аденозину A2B; WEE1-подібна білкова кіназа; фіксувальна кіназа (CHK2); Бактеріальний білок SecA; білок нікотинового рецептору ацетилхоліну бета-2; Мітоген-активована білкова кіназа 1 (MAP3K1 / MEKK1); Білкова кіназа C типу зета (NPKC-zeta); PDK1 (3-фосфоінозитид-залежна білкова кіназа-1); рецептор 5-гідрокситриптаміну 5A (5HT5A); Стероїдна 5-альфа-редуктаза; Мітоген-активована білкова кіназа 8 (MAP3K8 / COT); пуриноцептор білкової тирозин-фосфатази 1B; P2Y 1 (P2Y1); Альфа-1D адренергічний рецептор; казеїн-кіназа I епсилон (CKI-epsilon); рецептор 5-гідрокситриптаміну 7 (5HT7); Фактор коагуляції VII (Eptacog alfa); кіназа піруват дегідрогенази (PDHK; Неспецифічна); PDE7A (специфічна стосовно цАМФ фосфодіестераза 7A / HSPDE7A); рецептор глюкагон-подібного пептиду 1 (GLP-1R); полімеразна субодиниця РНК грипу p3 (pb2 ендонуклеаза); вірусна протеаза (Неспецифічна); Тороізомераза IV; рецептор паратиреоїдного гормону (рецептор PTH2); Білкова кіназа C бета-I (PKC-бета-1); гідроксилаза допамін бета; асоційована з галактозилтрансферазою білкова кіназа P58/GTA; Пресинаптичний білок SAP97; інгібітор синовіального апоптозу 1, синовіолін (SYVN1) (HRD1) (HRD-1); Сквален-епоксидаза (ERG1); Білкова кіназа C епсилон типу (NPKC-epsilon); Рецептор фактору вивільнення кортикотропіну (2 (CRF2); активований кальцієм канал калію перехідної провідності (IK1); Нуклеозид-дифосфат-кіназа A (NDKA) (NM23-H1); асоційована з рецептором інтерлейкіну-1 кіназа 4 (IRAK-4); кіназа-3 глікоген-синтази альфа (GSK-3 альфа); родина розчинних носів 22 (транспортер органічних катіонів), член 2 (SLC22A2); кіназа піруват-дегідрогенази 1 (PDK1); PAK-альфа-кіназа (PAK-1); білки 14-3-3 людини; Ізолейцил-тРНК-синтетаза; пренілцистеїн-карбоксилметилтрансфераза (PCCMT); CKLF1; та NAALADaza II.

Сполуки або солі винаходу можна крім того застосовувати у комбінації з одним або більше агентами, як-то SSRI, інгібітори матриксної металопротеїнази (MMP), інгібітори агреканази, інгібітори індукованого нітрогеноксиду (iNOS), інгібітори експресії або активності інсуліноподібного фактору росту (IGF), інгібітори експресії або активності фактору росту фібробластів (FGF), інгібітори експресії або активності CD44, інгібітори експресії або активності інтерлейкіну (IL), інгібітори експресії або активності фактору некрозу пухлин альфа (TNF-альфа), інгібітори експресії або активності індукованого пухлиною білку фактору некрозу 6 (TSG-6), інгібування експресії або активності бікуніну, інгібітори бета-секретази (BACE), інгібітори PACE-4, інгібування експресії або активності ядерного рецептору rev-ErbA альфа (NR1D1), інгібування експресії або активності ендотеліальної диференціації сполученого з G-білком сфінголіпідного рецептору 1 (EDG-1), інгібування експресії або активності активованого протеїназою рецептору (PAR), інгібування експресії або активності похідного з хряща чутливого до ретинової кислоти білку (CD-RAP), інгібітори білкової кінази C zeta (PKCz), інгібування експресії або активності резистину, інгібування дезінтегрину та металопротеїнази 8 (ADAM8), інгібування експресії або активності субкомпоненту (C1s) комплементного компоненту 1 s, інгібування експресії або активності рецептор-подібного форміл-пептиду 1 (FPRL1).

Додаткові приклади агентів, корисних у комбінації зі сполуками або солями винаходу, охоплюють інгібітори MMP -2,-3,-9, або -13; інгібітори агреканази-1 або -2; інгібітори експресії або активності IGF-1 або -2; інгібітори експресії або активності FGF-2,-18, або -9; та інгібітори експресії або активності IL-1,-4 або -6.

Наступні приклади агентів, корисних у комбінації зі сполуками або солями винаходу, охоплюють антитіла IGF-1 або -2; антагоністи FGF рецептору -2 або -3, антитіла CD44, антитіла IL-1,-4 або -6, антитіла TNF-альфа; антитіла TSG-6; антитіла бікуніну; антагоністи NR1D1; антагоністи EDG-1; антагоністи PAR, антитіла CD-RAP, антитіла резистину, антитіла C1s, та антитіла FPRL1.

Додаткові приклади сполук, що можна застосовувати зі сполуками або солями заявленого винаходу, охоплюють: селективні інгібітори циклооксигенази-2 (COX-2), як-то целекоксиб, рофекоксиб, парекоксиб, вальдекоксиб, деракоксиб, еторикоксиб, та ліміракоксиб; опіоїдні аналгетики, як-то морфін, гідроморфон, оксиморфон, фентаніл, кодеїн, дигідрокодеїн, оксикодон, гідрокодон, бупренорфін, трамадол, та налбуфін; нестероїдні антизапальні ліки (NSAID), як-то аспірин, диклофенак, дифлунізал, ібупрофен, фенопрофен, напроксен, непафенак, та ацетамінофен; інгібітори фосфодіестерази V (PDEV), як-то силденафіл; альфа-2-дельта-ліганди, як-то габапентин та прегабалін; та локальні анестетики, як-то бензокаїн, лідокаїн, ропівакаїн, ментол, камфор та метил-саліцилат.

Приклади інших типів сполук та класів сполук, що можна також застосовувати у комбінації зі сполуками або солями заявленого винаходу, охоплюють: аналгетики, барбітуратні заспокійливі; бензодіазепіни; антагоністи гістаміну H_1, що мають заспокійливу дію; заспокійливі; релаксанти скелетних м'язів; антагоністи рецептору N-метил-D-аспарагінової кислоти (NMDA); альфа-адренергіки; трициклічні антидепресанти; антиконвульсанти, як-то карбамазепін; антагоністи тахікінін (NK), зокрема, антагоністи NK-3, NK-2 або NK-1; мускаринові антагоністи; нейролептики; агоністи або антагоністи ванілоїдного рецептору; бета-адренергіки; кортикостероїди; агоністи або антагоністи рецептору серотоніну (5-HT), як-то антагоністи рецептору 5-$HT_{1B/1D}$,5-HT_{2A}, та 5-HT_3; холінергічні (нікотинові) аналгетики; канабіноїди; рецептор метаботропного глутамату підтипу 1 (mGluR1) антагоністи; інгібітори перепоглинання серотоніну, як-то сертралін; інгібітори перепоглинання норадреналіну (норепінефрин), як-то ребоксетин, зокрема, (S,S)-ребоксетин; двоїсті інгібітори перепоглинання серотоніну-норадреналіну, як-то дулоксетин; інгібітори індукованої нітроген-оксид-синтази (iNOS), як-то S-[2-[(1-іміноетил)аміно]етил]-L-гомоцистеїн, S-[2-[(1-іміноетил)-аміно]етил]-4,4-діоксо-L-цистеїн, S-[2-[(1-іміноетил)аміно]етил]-2-метил-L-цистеїн, (2S,5Z)-2-аміно-2-метил-7-[(1-іміноетил)аміно]-5-гептенова кислота, 2-[[(1R,3S)-3-аміно-4- гідрокси-1-(5-тіазоліл)-бутил]тіо]-5-хлор-3-піридинкарбонітрил; 2-[[(1R,3S)-3-аміно-4-гідрокси-1-(5-тіазоліл)бутил]тіо]-4-хлорбензонітрил, (2S,4R)-2-аміно-4-[[2-хлор-5-(трифлуорметил)феніл]тіо]-5-тіазолбутанол, 2-[[(1R,3S)-3-аміно-4-гідрокси-1-(5-тіазоліл) бутил]тіо]-6-(трифлуорметил)-3 піридинкарбонітрил, 2-[[(1R,3S)-3- аміно-4-гідрокси-1-(5-тіазоліл)бутил]тіо]-5-хлорбензонітрил, N-[4-[2-(3-хлорбензиламіно)етил]феніл]тіофен-2-карбоксамідин, та гуанідиноетилдисульфід; інгібітори ацетилхолінестерази; антагоністи простагландину E_2 підтип 4 (EP4), як-то N-

[({2-[4-(2-етил-4,6-диметил-1H-імідазо[4,5-c]піридин-1-іл)феніл]етил}аміно)-карбоніл]-4-метилбензенсульфонамід або 4-[(1S)-1-({[5-хлор-2-(3-флуорфенокси)піридин-3-іл]карбоніл}аміно)етил]бензойна кислота; антагоністи лейкотриєну B4, як-то 1-(3-біфеніл-4-ілметил-4-гідрокси-хроман-7-іл)-циклопентанкарбонова кислота; інгібітори 5-ліпоксигенази; та блокатори каналу натрію.

Комбінації зі сполуками або солями заявленого винаходу також охоплюють аналгетики, як-то ацетомінофен, напроксен натрію, бупрофен, трамадол, тразодон; циклобензаприн; аспірин, целекоксиб, вальдекоксиб, індометацин та інші NSAID; антидепресанти, як-то трициклічні антидепресанти та селективні інгібітори перепоглинання серотоніну, наприклад антидепресанти, як-то амітриптилін, іміпрамін, нортриптилін, доксепін, флуоксетин, сертралін, та пароксетин; релаксанти м'язів, як-то циклобензаприн; снодійні, як-то золпідем.

Комбінації зі сполуками або солями заявленого винаходу також охоплюють аналгетики, як-то ацетомінофен, напроксен натрію, ібупрофен, трамадол, аспірин, целекоксиб, вальдекоксиб, індометацин, та інші NSAID; що пом'якшують хворобу, антиревматичн ліки (DMARD), як-то сульфасалазин або метотрексат; кортикостероїди; та блокатори фактору некрозу пухлин (TNF), як-то етанерцепт та інфліксимаб.

Комбінації зі сполуками або солями заявленого винаходу, охоплюють місцеві кортикостероїди; аналоги вітаміну D, як-то кальципотриєн; антралін; місцеві ретиноїди (тобто, похідні вітаміну A), як-то ацитретин та тазаротен; клобетасол пропіонат; метотрексат; азатіоприн; циклоспорин; гідроксисечовина; та імуномодулювальні ліки, як-то алефацепт, ефалізумаб, та етанерцепт. Лікування фототерапією, у тому числі терапією псорален-ультафіолетом A (псорален UVA або PUVA), терапією обмежено-смуговим ультафіолетом B (UVB), та комбінаційною світло-терапією можна застосувати зі сполуками або солями заявленого винаходу, та вищезгаданими комбінаціями.

Комбінації зі сполуками або солями заявленого винаходу охоплюють NSAID, як-то ацетомінофен, напроксен натрію, ібупрофен, трамадол, аспірин, целекоксиб, вальдекоксиб, та індометацин; та кортикостероїди, як-то преднізон.

Комбінації зі сполуками або солями заявленого винаходу, охоплюють аналгетики, як-то ацетомінофен, напроксен натрію, ібупрофен, трамадол, аспірин, целекоксиб, вальдекоксиб, індометацин, та інші NSAID; антизапальні ліки; сульфасалазин, мезаламін, балкалазид, та олкалазин; кортикостероїди; преднізон; будезонід; імуносупресанти, як-то азатіоприн, меркаптопурин, TNF-блокатори, як-то інфліксимаб та адалімумаб, метотрексат, та циклоспорин; антибіотики, як-то метронідазол та ципрофлоксацин; анти-діарейні, як-то лоперамід; проносні; антихолінергічні ліки; антидепресанти, як-то трициклічні антидепресанти та селективні інгібітори перепоглинання серотоніну, наприклад антидепресанти, як-то амітриптилін, іміпрамін, нортриптилін, доксепін, флуоксетин, сертралін, та пароксетин; алосетрон; та тегасерод.

Сполуки або солі заявленого винаходу можна також застосовувати з довгодіючим бета-агоністом.

Придатні приклади інших терапевтичних агентів, котрі можуть також бути у комбінації зі сполуками або солями винаходу охоплюють інгібітори 5-іпоксигенази (5-LO) або антагоністи білку активування 5-ліпоксигенази (FLAP), антагоністи лейкотрієн (LTRAs), у тому числі антагоністи LTB_4,LTC_4,LTD_4, та LTE_4, антагоністи рецептору гістаміну, у тому числі антагоністи H1 та H3, агоністичні α_1- та α_2-адреноцепторні судинозвужувальні симпатоміметичні агенти для протизастійного застосування, M3 антагоністи мускаринового рецептору або антихолінергічн агенти, інгібітори PDE, наприклад, інгібітори PDE3, PDE4 та PDE5, теофілін, натрію кромоглікат, інгібітори COX, неселективні та селективні інгібітори COX-1 або COX-2 (NSAIDs), пероральні та інгаляційні глюкокортикостероїди, моноклональні антитіла, активні проти ендогенних запальних об'єктів, агоністи β2, у тому числі довгодіючі агоністи β2, інгібітори адгезії молекул, у тому числі антагоністи VLA-4, антагоністи рецептору Кінін-B_1 - та B_2 -, Імунодепресивні агенти, Інгібітори матриксної металопротеази (MMPs), антагоністи рецепторів тахікініну NK_1, NK_2 та NK_3, інгібітори еластази, агоністи рецептору аденозину A2a, інгібітори урокінази, сполуки, що діють на рецептори допаміну, наприклад, агоністи D2, модулятори провідного шляху NFκB, наприклад, інгібітори IKK, модулятори провідних шляхів передачі сигналів цитокіну, як-то syk-кіназа, або інгібітори кінази JAK, агенти, що можуть бути класифікованим як муколітики або засоби проти кашлю, та антибіотики.

Згідно з заявленим винаходом сполуки або солі винаходу можна комбінувати з нижченаведеним:

антагоністи H3, антагоністи мускаринового рецептору M3, інгібітори PDE4, глюкокортикостероїди, агоністи рецептору аденозину A2a, агоністи β2, модулятори провідних шляхів передачі сигналів, як-то syk-кіназа, або антагоністи лейкотриєн у(LTRAs), у тому числі антагоністи LTB_4, LTC_4, LTD_4 та LTE_4.

Згідно з заявленим винаходом, сполуки або солі винаходу можна також комбінувати з нижченаведеним: глюкокортикостероїди, як-то інгаляційні глюкокортикостероїди зі зменшеною системною побічною дією, у тому числі преднізон, преднізолон, флунізолід, триамцинолон ацетонід, беклометазон дипропіонат, будезонід, флутиказон пропіонат, циклезонід, та мометазон фуроат та мометазон фуроат моногідрат; антагоністи мускаринового рецептору M3 або антихолінергічн агенти, у тому числі зокрема, солі іпратропіуму, як-то іпратропіум бромід, солі тіотропіуму, як-то тіотропіум бромід, солі окситропіуму, як-то окситропіум бромід, перензепін, та телензепін, або агоністи β2, як-то довгодіючі агоністи β2, у тому числі салметерол, формотерол, QAB-149 та CHF-4226.

F. Застосування в отриманні композицій або медикаменту

В одному втіленні заявлений винахід стосується способів отримання композицій або медикаменту, що містять сполуки або солі заявленого винаходу для застосування у лікуванні стану, опосередкованого активністю глюкокортикоїдного рецептору.

У ще одному втіленні винахід стосується застосування одної або більше сполук або солей заявленого винаходу в отриманні композицій або медикаменту для запалення, стану, пов'язаного із запаленням, ревматоїдного артриту, дерматиту, хвороби Альцгеймера.

Заявлений винахід також стосується застосування одної або більше сполук або солей заявленого винаходу для отримання композицій або медикаменту для лікування одного або більше станів, деталізованих у розділі способи.

G. Схеми

Сполуки заявленого винаходу можна отримати, застосовуючи способи, ілюстровані у загальних схемах синтезу, деталізованих нижче. Реакції способів синтезу тут проводять у придатних розчинниках, котрі можуть бути легко вибраними спеціалістом, вказані придатні розчинники загалом є будь-яким розчинником, котрий є по суті нереактивним із вихідними матеріалами (реагентами), інтермедіатами, або продуктами при температурах, при, котрий проводять реакції. Реакцію можна проводити в одному розчиннику або суміш більше, ніж одного розчиннику. Залежно від конкретного етапу реакції можуть бути вибраними придатні розчинники для конкретного етапу реакції.

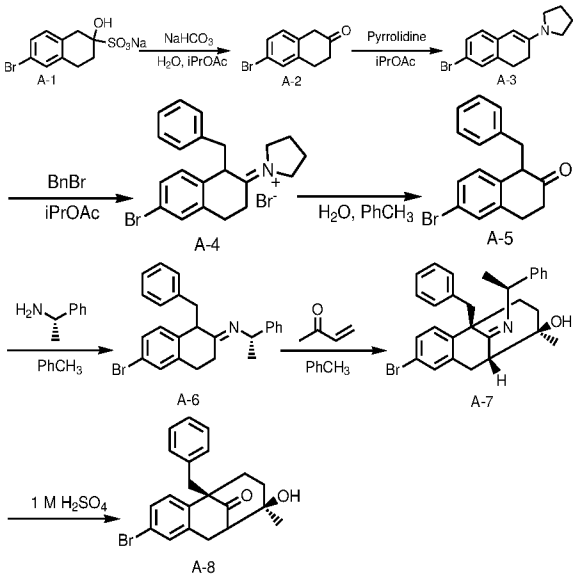
Отримання сполук винаходу може містити захист та зняття захисту з різних хімічних груп. Необхідність захисту та зняття захисту, та вибір прийнятних захисних груп може бути легко визначеною спеціалістом. Хімію захисних груп можна знайти, наприклад, у T.W. Greene та P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis,3rd. Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999), що уведено тут як посилання.

Реакції можна контролювати будь-яким придатним способом, відомим у рівні техніки. Наприклад, утворення продукту можна контролювати спектроскопічними засобами, як-то ядерною магнітною резонансною спектроскопією (наприклад, ^1H або ^{13}C) інфрачервоною спектроскопією, спектрофотометрією (наприклад, UV-видимою), або мас-спектрометрією або хроматографією, як-то високого тиску рідинна хроматографія (ВЕРХ) або тонко-шарова хроматографія.

Застосовані тут вихідні матеріали є комерційно доступними або їх можна отримати будь-якими способами синтезу.

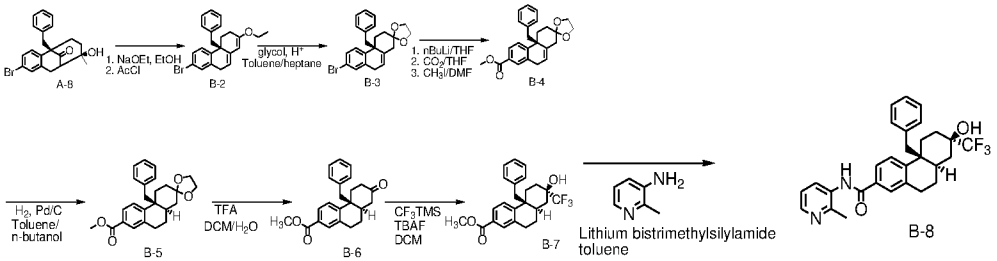
Загальні схеми синтезу є для ілюстрації та не є обмежувальними.

СХЕМА А



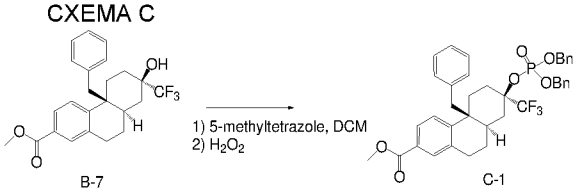
1(R)-Бензил-5-бром-9(S)-гідро-10(R)-гідрокси-10(R)-метил-трицикло[7,3,1,$0^{2,7}$]тридека-2,4,6-триєн-13-он формули А-8 отримували, застосовуючи протокол, описаний у схемі А, що є загалом розкритим у WO 00/66522. Ph зображує Феніл. Bn зображує Бензил. Сполуку А-1 можна придбати (наприклад, VOUS та Riverside; CAS Не. 4133-35-1). Сполуку А-2 можна отримати як описано у Org.Syn.1971,51,109-112.

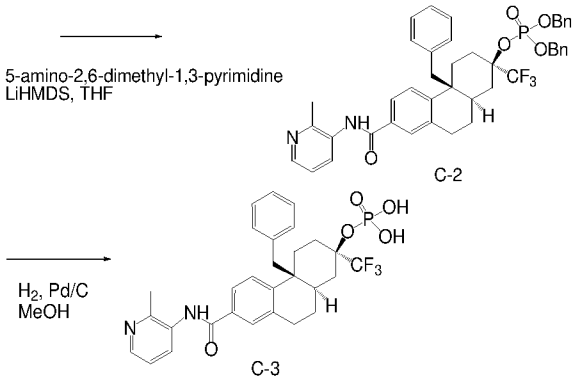
СХЕМА В



(4βS,7R,8αR)-4β-бензил-7-гідрокси-N-(2-метилпіридин-3-іл)-7-(трифлуорметил)-4b,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід отримували, як описано у схемі В.

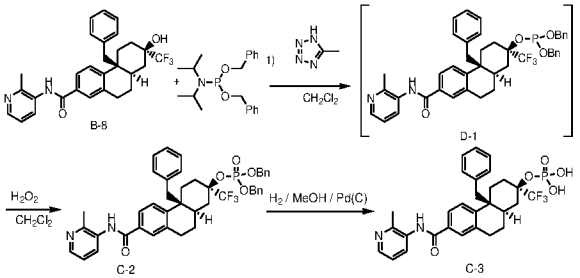
СХЕМА С





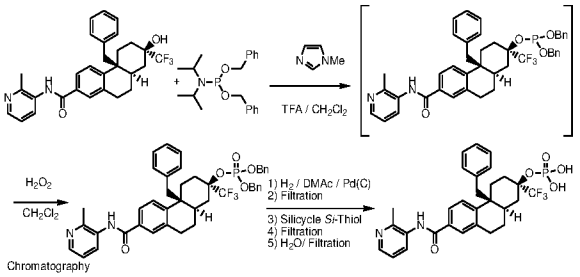
(2R,4aS,10aR)-4a-бензил-7-((2-метилпіридин-3-іл)карбамоїл)-2-(трифлуорметил)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагідрофенантрен-2-іл дигідроген фосфат C-3 отримували, як описано у схемі C. Bn зображує бензил.

СХЕМА D



(2R,4aS,10aR)-4a-бензил-7-((2-метилпіридин-3-іл)карбамоїл)-2-(трифлуорметил)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагідрофенантрен-2-іл дигідроген фосфат C-3 отримували, як описано у схемі D. Bn зображує бензил. Ph зображує феніл.

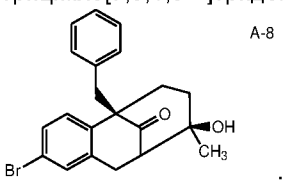
СХЕМА E



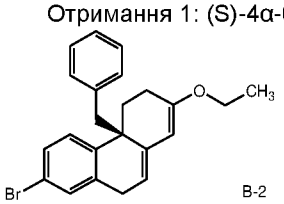
(2R,4aS,10aR)-4a-бензил-7-((2-метилпіридин-3-іл)карбамоїл)-2-(трифлуорметил)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-октагідрофенантрен-2-іл дигідроген фосфат C-3 отримували, як описано у схемі E. Bn зображує бензил. Ph зображує феніл.

H. ОТРИМАННЯ ТА ПРИКЛАДИ

Вихідним матеріалом A-8 є 1(R)-Бензил-5-бром-9(S)-гідро-10(R)-гідрокси-10(R)-метил-трицикло[7,3,1,$0^{2,7}$]тридека-2,4,6-триєн-13-он, відображений формулою:



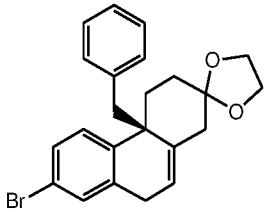
Отримання 1: (S)-4a-бензил-7-бром-2-етокси-3,4,4a,9-тетрагідрофенантрен



Вихідний матеріал A-8 (450 г; 1,17 моль) розчиняли в етанолі (4,5 л) при температурі довкілля. 21 % натрію етоксид в етанолі (44 мл; 0,12 моль) додавали та суміш гріли при кипінні під зворотним холодильником протягом 3 годин. Як тільки вихідний матеріал A-8 було витрачено, реакційну суміш охолоджували до -25 °C. Ацетилхлорид (250 мл; 3,51 моль) повільно додавали до суміші, підтримуючи температуру біля -25 °C. Після завершення додавання суміш гріли до 0 °C та тримали. доки не було витрачено інтермедіатний енон. Суміш суспендували. 21 % натрію етоксид в етанолі (1,31 л; 3,51 моль) додавали до суміші, підтримуючи температуру між -5 °C та 5 °C. Якщо суміш не була основною, додавали більше натрію етоксиду. Температуру суміші було підвищено до 25 °C та тоді її розріджували водою (5,9 л). Суміш фільтрували та твердий матеріал промивали водою (3 X). Заголовну

сполуку (440 г; 85 %) отримували як бежевий твердий матеріал. ^{1}H ЯМР (ДМСО) δ млн$^{-1}$:1,27 (t, 3H), 1,65 (dt, 1H), 2,06 (d, 1H), 2,21 (dd, 1H), 2,49 (m,1H), 2,65 (m, 2H), 2,89 (m, 2H), 3,85 (q, 2H), 5,45 (m, 2H), 6,44 (d, 2H), 6,98 (t, 2H), 7,06 (m, 2H), 7,25 (d, 1H), 7,33 (dd, 1H).

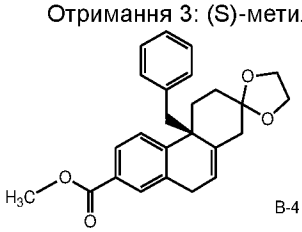
Отримання 2: (S)-4α-бензил-7-бром-2,2-(1,2-етилендіокси)-1,2,3,4,4α,9-гексагідрофенантрен



B-3

(S)-4α-бензил-7-бром-2-етокси-3,4,4α,9-тетрагідрофенантрен (1270 г; 3,2 моль; 85 %, котрий можна отримати як описано в отриманні 1) розчиняли у толуєні (6,45 л). Етиленгліколь (898 мл; 16,1 моль) та п-толуєнсульфонову кислоту (6,1 г; 0,03 моль) додавали та реакційну суміш гріли при кипінні під зворотним холодильником. Розчинник (1 л) відганяли з суміші та заміщували свіжим толуєном (1 л). Цю відгонку повторювали двічі більш. Ще додавали п-толуєнсульфонову кислоту (6,1 г), кожного разу додавали свіжий толуєн. Протягом реакції два інтермедіати (визначено за допомогою LC) утворювалися, оскільки субстрат перетворювався у продукт. Кінцем реакції була рівновага між двома інтермедіатами та продуктом. Суміш охолоджували до температури довкілля. Суміш промивали 0,5 M NaOH (2 л). Фази розділяли швидко та обидві були темними з невеликим шаром сміття. Суміш промивали водою (2 л). Фази розділялися дуже повільно. Суміш сушили азеотропною відгонкою. Метанол (4 л) додавали до суміші та розчинник (4 л) відганяли з суміші. Додавання метанолу та відгонку розчиннику повторювали ще двічі. Метанол додавали до суміші та осадження відбувалося через кілька хвилин. Ще додавали до суміші метанол (4 л) та тоді гріли при кипінні під зворотним холодильником. Через 30 хвилин суміш охолоджували до 0 °C. Суміш фільтрували та твердий матеріал промивали охолодженим метанолом (2 × 2 л). Твердий матеріал тушили у вакуумній шафі при 65 °C. Заголовну сполуку (882 г; 98 %) отримували як бежевий твердий матеріал. ^{1}H ЯМР (ДМСО) δ млн$^{-1}$:1,71 (m, 2H), 2,06 (m, 2H), 2,31 (dd, 1H), 2,39 (m, 1H), 2,68 (d, 1H), 2,77 (m, 1H), 2,86 (dd, 1H), 3,36 (d, 1H), 3,86 (m, 4H), 5,45 (m, 1H), 6,50 (m, 2H), 7,00 (m, 4H), 7,37 (dd, 1H), 7,44 (d, 1H).

Отримання 3: (S)-метил 4β-бензил-7,7-(1,2-етилендіокси)-4β,5,6,7,8,10-гексагідрофенантрен-2-карбоксилат



B-4

(S)-4α-бензил-7-бром-2,2-(1,2-етилендіокси)-1,2,3,4,4α,9-гексагідрофенантрен (719 г; 1,75 моль, що можна отримати, як описано в отриманні 2) розчиняли у тетрагідрофурані (7,19 л) та охолоджували до -70 °C. 1,6 M н-бутиллітій у гексані (2270 мл; 2,27 моль) додавали при такій швидкості, щоб температура була нижче -60 °C. Суміш тримали ще 15 хвилин після додавання. Карбон діоксид (108 г; 2,45 моль) додавали, підтримуючи температуру нижче -60 °C. Суміш тримали ще 15 хвилин після додавання. Суміш гріли до температури довкілля. Розчинник (7 л) відганяли з суміші при атмосферному тиску. ДМФ (7 л) додавали до суміші. Суміш охолоджували до температури довкілля. Метилйодид (152 мл; 2,45 моль) додавали та суміш тримали до завершення реакції (~1 годину). Суміш гріли до 70 °C та розчинник відганяли, поступово зменшуючи тиск до 70 мм Hg. Після завершення відгонки суміш охолоджували до кімнатної температури. Воду (6,5 л) повільно додавали до суміші для осадження продукту. Суміш фільтрували та твердий матеріал промивали водою (3 X). Твердий матеріал сушили на фільтрі. Сирий продукт (736 г; 74 %) отримували як бежевий твердий матеріал. Продукт очищали хроматографією. 463 г продукту збирали після хроматографії. Цей матеріал відділяли від н-гептану (6130 мл). 394 г заголовної сполуки збирали. Ще 70 г заголовної сполуки збирали з маточнику хроматографією. ^{1}H ЯМР (ДМСО) δ млн$^{-1}$:1,74 (m, 2H), 2,10 (m, 2H), 2,33 (dd, 1H), 2,45 (m, 1H), 2,72 (d, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,94 (dd, 1H), 3,40 (d, 1H), 3,87 (m, 7H), 5,49 (m, 1H), 6,47 (m, 2H), 6,93 (m, 2H), 7,01 (m, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,79 (dd, 1H).

Отримання 4: (4βS,8αR)-метил 4β-бензил-7,7-(1,2-етилендіокси)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат

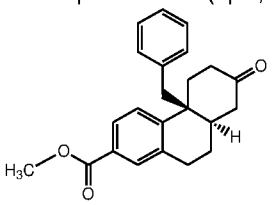


B-5

(S)-метил 4β-бензил-7,7-(1,2-етилендіокси)-4β,5,6,7,8,10-гексагідрофенантрен-2-карбоксилат (201 г; 0,515 моль, що можна отримати, як описано в отриманні 3), та 50 мл етиленгліколю розчиняли у толуєні (2,0 л) в автоклаві. До цього додавали 10 г 5 % Pd/C (сухий каталізатор). Автоклав тоді герметизували та продували азотом (три цикли), а потім воднем (три цикли). Реакція перебігала протягом 18 годин при тиску 80 фунт/кв.дюйм та температурі 50 °C. ВЕРХ-аналіз робили стосовно завершення та селективності (звичайно селективність: 95-5, транс – цис). Суспензію фільтрували через Celite® для видалення каталізатор та толуєновий розчин концентрували при 50 °C, у вакуумі, до приблизно 200 мл, ще додавали при 50 °C 1 л 1-бутанолу та розчин гріли до 60 °C. Після охолодження утворену тверду заголовну сполуку відділяли вакуумним фільтруванням (196 г;

97 %; транс – цис 95,75 до 4,24). ^{1}H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ млн$^{-1}$:7,79 (bs, 1H, Ar-H), 7,47 (d,J= 9 Гц, 1H, Ar-H), 7,13-7,05 (cm, 3H, Ar-H), 6,56-6,53 (cm, 2H, Ar-H), 6,43 (d, J= 9 Гц, 1H, Ar-H), 4,04-3,93 (cm, 4H, 2-CH_2), 3,89 (s, 3H, CH_3),3,08-3,03 (cm, 3H, CH_2, CH-H), 2,63 (d, J= 15 Гц, CH-H), 2,22-1,72 (cm, 8H, 4-CH_2), 1,57 (cm, 1H, CH-H).; ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$, δ): 167,7, 149,2, 137,7, 136,4,131,1,130,5,127,8,127,7,127,4,126,3,125,5,108,9,64,6,64,5,52,1,40,5,39,8,38,3,35,8,31,6,30,3,27,9,24,6.

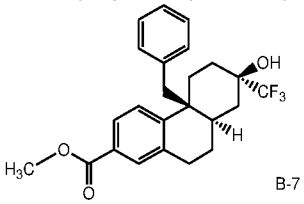
Отримання 5: (4βS,8αR)-метил 4β-бензил-7-оксо-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат



B-6

(4βS,8αR)-метил 4β-бензил-7,7-(1,2-етилендіокси)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат (150 г, 382 ммоль, що можна отримати, як описано в отриманні 4) розчиняли у дихлорметані (630 мл). Воду (270 мл) додавали при перемішуванні, а потім трифлуороцтову кислоту (73 мл. 1150 ммоль) через крапельну лійку протягом 30 хвилин, тримаючи внутрішню температуру нижче 30 °C. Після завершення додавання реакційну суміш гріли при 40 °C протягом 2 годин. Перевірка показала незавершену реакцію з приблизно 9 % вихідного матеріалу. Шари розділяли та додавали свіжу воду (270 мл) та трифлуороцтову кислоту (31 мл). Реакційну суміш гріли при 40 °C протягом 1 годин. Це продовжували, доки не було витрачено вихідний матеріал. Органічну фазу промивали 5 % натрію гідрогенкарбонатом (300 мл), водою (300 мл) та сушили $MgSO_4$ та концентрували до сухого стану, отримуючи126,4 г заголовної сполуки (95 % виходу). ^{1}H ЯМР (ДМСО) δ млн$^{-1}$: 7,70 (s, 1H), 7,37 (d,J=8,4 Гц, 1H), 7,11 (m,3H), 6,6 (d, J= 5,70 Гц, 2H), 6,45 (d,J=8,4 Гц, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,80 (m, 2H), 3,04-1,48 (m, 11H).

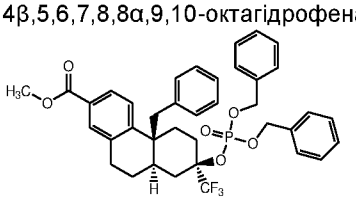
Отримання 6: (4βS,7R,8αR)-метил 4β-бензил-7-гідрокси-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат



B-7

(4βS,8αR)-метил 4β-бензил-7-оксо-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат (118 г, 0,339 моль, що можна отримати, як описано в отриманні 5) у дихлорметані охолоджували до -50 °C. Розчин мутнів. 1,0 М Тетрабутиламоній флуориду розчин у ТГФ (3,4 мл, 0,003 моль) додавали з несуттєвою зміною температури. Трифлуортриметилсилан (79 мл, 0,51 моль) додавали протягом 20 хвилин зі зміною кольору з ярко-оранжевого до світло-червоного. Реакційну суміш тримали при -50 °C протягом приблизно 2 годин та тоді гріли до 0 °C. Тетрабутиламоній флуорид (340 мл, 0,34 моль) додавали дуже повільно при 0 °C до реакційної суміші протягом 45 хвилин. Спостерігали екзодерм з виділенням газу. Реакційну суміш перемішували 10 хвилин та ВЕРХ-аналіз показав повне десилілування. Воду (1 л) додавали до реакційної суміші при енергійному перемішуванні та гріли до кімнатної температури. Органічний шар промивали водою (1 л). Органічний шар концентрували та хроматографували для отримання 72 г, 51 % заголовної сполуки, з додатковими 32 г забрудненого продукту. ^{1}H ЯМР (ДМСО) δ млн$^{-1}$: 7,70 (s, 1H), 7,37 (d, J=8,1 Гц, 1H), 7,09 (m, 3H), 6,5 (dd, J=1,2,6,6 Гц, 2H), 6,38 (d, J=8,4 Гц, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,80 (m, 2H), 3,09-1,21 (m, 13H).

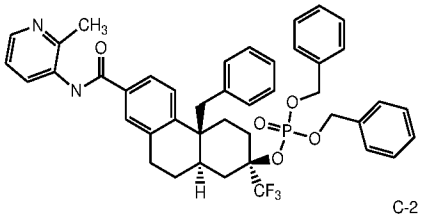
Отримання 7: (4βS,7R,8αR)-метил 4β-бензил-7-(біс(бензилокси)фосфорилокси)-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат



C-1

(4βS,7R,8αR)-метил 4β-бензил-7-гідрокси-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат (5,0 г; 11,9 ммоль), що можна отримати як в отриманні 6) та 5-метилтетразол (3,6 г; 43,0 ммоль) були змішаними разом у дихлорметані (50 мл) при температурі довкілля. Дибензилфосфорамідит (8,3 мл; 25,1 ммоль) додавали та суміш перемішували до завершення реакції (1 годину). Суміш охолоджували до 0 °C та додавали 30 % гідроген пероксид (10 мл). Реакційну суміш перемішували до завершення окиснення (30 хвилин). Водну фазу відділяли від органічної фази. Органічну фазу промивали 10 % натрію мета-бісульфітом (50 мл). Органічну фазу сушили безводним магнію сульфатом та концентрували. Сирий продукт очищали хроматографією на силікагелі із 15 % етилацетату у гексанах. Очищену заголовну сполуку (8,41 г; 94 % виходу) отримували як безбарвну оливу, що містила 6 % етилацетату за масою. ^{1}H ЯМР (ДМСО): δ 1,31 (t, 1H), 1,63-1,92 (m, 3H), 2,05-2,35 (m, 3H), 2,63 (d, 1H), 2,75-3,16 (m, 4H), 3,80 (s, 3H), 5,13 (m, 4H), 6,43 (d, 1H), 6,49 (m, 2H), 7,04-7,17 (m, 3H), 7,33-7,42 (m, 12H), 7,71 (d, 1H).

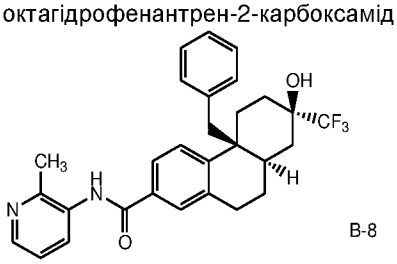
Отримання 8: дибензил (2R,4aS,10aR)-4α-бензил-7-((2-метилпіридин-3-іл)карбамоїл)-2-(трифлуорметил)-1,2,3,4,4α,9,10,10α-октагідрофенантрен-2-іл фосфат



C-2

(4βS,7R,8αR)-метил 4β-бензил-7-(біс(бензилокси)фосфорилокси)-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат (7,9 г; 11,6 ммоль, що можна отримати як в отриманні 7) та 3-аміно-2-піколін (1,3 г; 12,2 ммоль) були змішаними разом у тетрагідрофурані (80 мл) та охолодженими до 0 °C. 1 М розчин літій біс(триметилсиліл)аміду у тетрагідрофурані (24 мл; 24,4 ммоль) додавали, тримаючи температуру нижче 10 °C. Суміш перемішували протягом 30 хвилин. Воду (50 мл) додавали до реакційної суміші. Суміш екстрагували етилацетатом. Органічний екстракт промивали водою. Органічну фазу сушили безводним магнію сульфатом та концентрували. Сирий продукт очищали хроматографією на силікагелі із 70 % етилацетату у гексанах. Очищену заголовну сполуку (6,79 г; 68 % виходу) отримували як жовту смолу, що містила 6 % етилацетату за масою. ^{1}H ЯМР (ДМСО): δ 1,33 (t, 1H), 1,66-1,93 (m, 3H), 2,08-2,34 (m, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,68 (d, 1H), 2,76-3,19 (m, 4H), 5,14 (m, 4H), 6,47 (d, 1H), 6,56 (m, 2H), 7,07-7,19 (m, 3H), 7,20-7,53 (m, 12H), 7,71 (d, 1H), 7,76 (s, 1H), 8,32 (d, 1H), 9,93 (s, 1H).

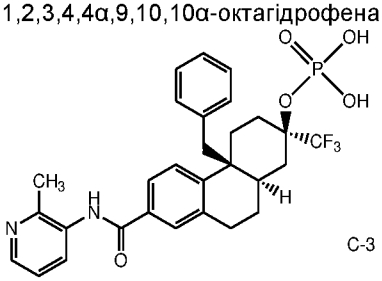
Приклад 1: (4βS,7R,8αR)-4β-бензил-7-гідрокси-N-(2-метилпіридин-3-іл)-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід



B-8

(4βS,7R,8αR)-метил 4β-бензил-7-гідрокси-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксилат (10 г; 23,9 ммоль, що можна отримати, як описано в отриманні 6), та 3-аміно-2-піколін (2,71 г; 25,1 ммоль) розчиняли у толуєні (200 мл). 1М літій біс(триметилсиліл)амід у тетрагідрофурані (74,1 мл; 74,1 ммоль) додавали при такій швидкості, щоб температура була нижче 35 °C. Був помірний екзотерм та твердий матеріал осаджувався при додаванні. Суміш тримали ще 30 хвилин після додавання. Воду (250 мл) додавали до суміші. Був помірний екзотерм та твердий матеріал розчинявся. Етилацетат (50 мл) додавали до суміші, щоб продукт не осаджувався. Перемішування припиняли для відокремлення фаз. Водну фазу видаляли. Органічну фазу промивали водою (250 мл). Розчинник (230 мл) відганяли при атмосферному тиску від органічної фази. Суміш охолоджували до температури довкілля. Суміш фільтрували та твердий матеріал промивали толуєном (2 рази), а потім гептаном (2 рази). Твердий матеріал сушили у вакуумній шафі при 70 °C. Заголовну сполуку прикладу (10 г) отримували як бежевий твердий матеріал. ^{1}H ЯМР (ДМСО) δ млн$^{-1}$: 1,32 (m, 1H), 1,82 (m, 4H), 2,10 (m, 4H), 2,41 (s, 3H), 2,68 (d, 1H), 3,08 (m, 3H), 6,00 (s, 1H), 6,43 (d, 1H), 6,59 (m, 2H), 7,12 (m, 3H), 7,25 (dd, 1H), 7,44 (dd, 1H), 7,71 (dd, 1H), 7,75 (d, 1H), 8,31 (dd, 1H), 9,91 (s,1H).

Приклад 2: (2R,4αS,10αR)-4α-бензил-7-((2-метилпіридин-3-іл)карбамоїл)-2-(трифлуорметил)-1,2,3,4,4α,9,10,10α-октагідрофенантрен-2-іл дигідрогенфосфат



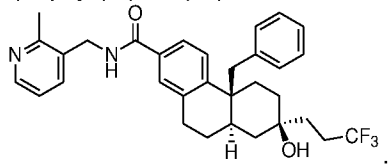
C-3

Дибензил (2R,4αS,10αR)-4α-бензил-7-((2-метилпіридин-3-іл)карбамоїл)-2-(трифлуорметил)-1,2,3,4,4α,9,10,10α-октагідрофенантрен-2-іл фосфат (6 г; 7,9 ммоль, що можна отримати, як описано в отриманні 8) розчиняли у метанолі (120 мл). 5 % паладію на вугіллі (63 % води) (1,3 г; 0,4 ммоль) додавали до суміші. Суміш обробляли воднем (50 фунт/кв.дюйм) при кімнатній температурі. Реакція зупинялася з 12 % залишком монобензил-інтермедіату. Суміш фільтрували через шар Celite®. Свіжий каталізатор (1,3 г) додавали до розчину та гідрували. Після завершення реакції суміш фільтрували через шар Celite®. Розчин концентрували до 60 мл відгонкою без застосування роторного випарника. При відгонці осадився білий твердий матеріал. Суміш охолоджували до температури довкілля. Суміш фільтрували та твердий матеріал промивали метанолом. Твердий матеріал сушили у вакуумній шафі при 70 °C. Сполуку прикладу (3,36 г; 75 % виходу) отримували як білий твердий матеріал, що мав РХ-чистоту 98 %. ^{1}H ЯМР (ДМСО): δ 1,33 (t, 1H), 1,69-1,98 (m, 3H), 2,07-2,29 (m, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,61-2,80 (m, 2H), 2,93-3,19 (m, 3H), 3,30 (d, 1H), 6,50 (d, 1H), 6,64 (m, 2H), 7,08-7,20 (m, 3H), 7,29 (dd, 1H), 7,48 (dd, 1H), 7,75 (dd, 2H), 8,33 (dd, 1H), 9,96 (s, 1H).

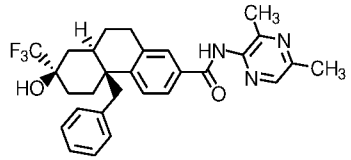
I. БІОЛОГІЧНІ ДАНІ

Для нижченаведеного опису, порівняльними сполуками є трициклічні сполуки (дивись, наприклад, WO 2000/66522). Сполуки прикладів та порівняльні отримували від Pfizer. Преднізолон застосували як клінічно доречну порівняльну сполуку (P-6004; Sigma-Aldrich, St. Louis).

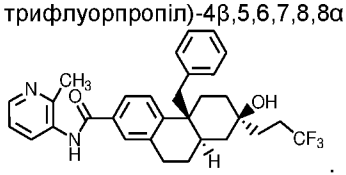
Порівняльною сполукою A є (4βS,7S,8αR)-4β-бензил-7-гідрокси-N-((2-метилпіридин-3-іл)метил)-7-(3,3,3-трифлуорпропіл)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



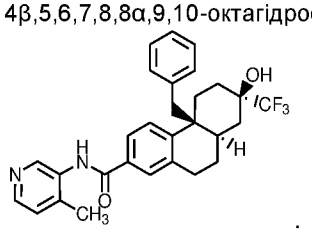
Порівняльною сполукою B є (4βS,7R,8αR)-4β-бензил-N-(3,5-диметилпіразин-2-іл)-7-гідрокси-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



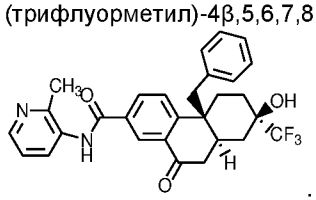
Порівняльною сполукою C є (4βS,7S,8αR)-4β-бензил-7-гідрокси-N-(2-метилпіридин-3-іл)-7-(3,3,3-трифлуорпропіл)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



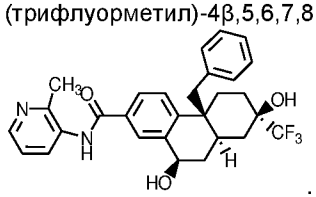
Порівняльною сполукою D є (4βS,7R,8αR)-4β-бензил-7-гідрокси-N-(4-метилпіридин-3-іл)-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



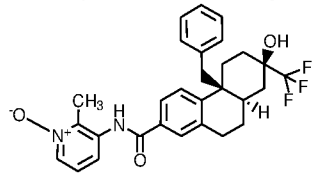
Порівняльною сполукою E є (4βS,7R,8αS)-4β-бензил-7-гідрокси-N-(2-метилпіридин-3-іл)-10-оксо-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



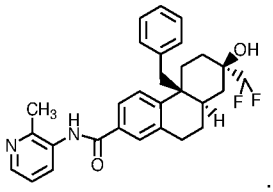
Порівняльною сполукою F є (4βS,7R,8αR,10R)-4β-бензил-7,10-дигідрокси-N-(2-метилпіридин-3-іл)-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



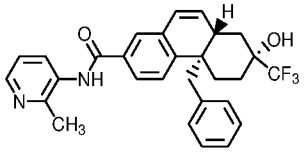
Порівняльною сполукою G є:



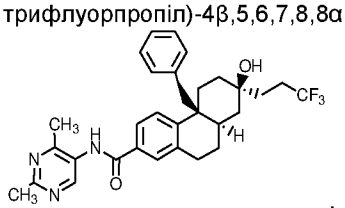
Порівняльною сполукою H є (4βS,7R,8αR)-4β-бензил-7-(дифлуорметил)-7-гідрокси-N-(2-метилпіридин-3-іл)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



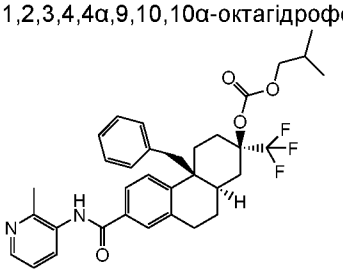
Порівняльною сполукою I є (4βS,7R,8αS)-4β-бензил-7-гідрокси-N-(2-метилпіридин-3-іл)-7-(трифлуорметил)-4β,5,6,7,8,8α-гексагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



Порівняльною сполукою J є (4βS,7S,8αR)-4β-бензил-N-(2,4-диметилпіримідин-5-іл)-7-гідрокси-7-(3,3,3-трифлуорпропіл)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-октагідрофенантрен-2-карбоксамід, що має нижченаведену структуру:



Порівняльною сполукою K є (2R,4αS,10αR)-4α-бензил-7-((2-метилпіридин-3-іл)карбамоїл)-2-(трифлуорметил)-1,2,3,4,4α,9,10,10α-октагідрофенантрен-2-іл ізобутил карбонат, що має нижченаведену структуру:



Перетворення прикладу 2 у приклад 1

Моношар клітин Caco-2 є in vitro тканинною моделлю культури епітелію кишечнику. Ці клітини походять з ободової кишки людини та стають поляризованими, повністю диференційованими ентероцитами протягом 2-3 тижнів. Як тільки стають диференційованими, ці клітини експресують різні біохімічні процеси, як-то активний витік транспортерів, у тому числі P-глікопротеїну (P-gp). З цією моделлю можливе визначення видимої проникності (P_{app}) сполуки крізь поляризований моношар клітин Caco-2.

Аналіз A→B проводять з моношарами клітин Caco-2 для визначення P_{app} сполуки з камери A до B. Ця P_{app} є репрезентативною стосовно транспорту сполук від просвітного (кишечник) до серозного (кров) крізь епітелій кишечнику, що можна бачити при поглинанні у кишечнику.

Приклад 2 незначно перетинає моношар клітин Caco-2 (A→B, P_{app} = 1,15e^{-6} см/с), тоді як застосування прикладу 2 до апікальної камери призводило до значного підвищення прикладу 1 в апікальній та базолатеральній камерах. Дані показують механізм дефосфорилування прикладу 2 до прикладу 1 зв'язаною з мембраною лужною фосфатазою, розташованою в епітелії кишечнику, а потім поглинання прикладу 1 крізь моношар клітин Caco-2 (A→B, P_{app} = 37,5e^{-6} см/с).

Пероральне дозування прикладу 2 (30 та 200 мг/кг) у ворітну вену щурів призводило до визначення прикладу 1, але не Приклад 2, зразках у плазми з ворітної вени протягом чотирьох годин. Ці результати показали виникнення у кишечнику першого перебігу гідролізу прикладу 2 до прикладу 1 та селективне поглинання кишечником прикладу 1.

Приклад 2 демонструє посилену розчинність та притаманне розчинювання, що призводить до посиленого профілю перорального поглинання у щурів внаслідок підвищеного спонукування (1,61 мкг•год./мл [проти 0,46 мкг•год./мл, для прикладу 1]) та C_{max} (0,59 мкг/мл [проти 0,13 мкг/мл, для прикладу 1]), а також зменшений час до C_{max} (0,8 год. [проти 1,5 год., для прикладу 1]) у собак. Біозасвоюваність прикладу 2 була посиленою порівняно з прикладом 1 у щурів (F=59 %, для прикладу 2;F=17 %, для прикладу 1).

IN VITRO ДАНІ

Назва	GRFP IK_{50} (нМ)	IL-6 IK_{50} (нМ)	IL-6 % Інгібування	TNFα IK_{50} (нМ)	TNFα % Інгібування
Приклад 1 Гідрохлорид	1,31	,400	76,9	92,1 (28,8)[a]	77,1 (62)[a]
Приклад 1 вільна основа		,360	86,1		
Приклад 2	79,0 (42)[a]	60 (17)[a]	60,2 (80)[a]		
Порівняльна сполука A	7,10	>36,4	59,9	>1000	35
Порівняльна сполука B	0,35	4	75,8		
Порівняльна сполука C	1,22	1,1	82,6		

Порівняльна сполука D	2,06	1,3	79,8		
Порівняльна сполука E	1,18	1,1	79,7		
Порівняльна сполука F	1,9	7	83,3		
Порівняльна сполука G	2,13	2,1	80,1		
Порівняльна сполука H	8,03	4,3	64,9		
Порівняльна сполука I	9,12	2,8	67,5		
Порівняльна сполука J	4,58	291	55		
Порівняльна сполука K	895				
Преднізолон	0,526	4,2 (4,6)[a]	102 (100)[a]	14,9 (15,6)[a]	100

[a] показує додаткові результати, що були знайдені.

GRFP: зв'язування глюкокортикоїдного рецептору

Аналіз зв'язування ліганду поляризації флуоресценції глюкокортикоїдного рецептору (GRFP) застосовують для оцінки безпосереднього зв'язування тест-сполук з глюкокортикоїдним білком повної довжини (GR). Реагенти для цього аналізу можна придбати від Invitrogen у тест-комплекті. Флуоресцентний мічений ліганд GR застосовують як флуоресцентну мітку та тест-сполуки конкурують із флуоресцентною міткою стосовно зв'язування GR. Зміна поляризації у присутності тест-сполуки є внаслідок зв'язування тест-сполуки з GR та її застосовують для визначення IK_{50} та відносної афінності зв'язування тест-сполуки з GR.

IK_{50} та % Інгібування IL-6

Епітеліальні клітини легень людини A549 (American Type Culture Collection,Rockville, MD) культивували у середовищі Кайна F-12K з пеніциліном-стрептоміцином (10 од/мл) та 10 % інактивованої нагріванням сироватки зародка теляти (усі від Invitrogen,Grand Island,NY). A549-клітини поміщали у планшет при густині 30000 клітини/лунку у 96-лунков планшети та інкубували протягом ночі при 37ºC та із 5 % CO_2. Клітини позбавляли живлення сироваткою заміщенням середовища росту середовищем Кайна F-12K без сироватки з пеніциліном-стрептоміцином (10 од/мл) та знов інкубували протягом ночі при 37ºC та із 5 % CO_2. На третю добу середовище було заміщено свіжим середовищем без сироватки та клітини інкубували зі сполукою або без неї (розчинник - ДМСО при 0,1 % максимальної концентрації) протягом приблизно 1 години та тоді стимулювали 1 нг/мл рекомбінантного IL-1β людини (R&D Systems, Minneapolis, MN) протягом 20 годин при 37ºC та із 5 % CO_2. Супернатанти клітин збирали для визначення рівнів IL-6, застосовуючи 96-лункові планшети MSD (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) за інструкціями виробника. Планшети зчитували MSD Sector Imager6000. Преднізолон (1 мкМ) застосували як максимальний інгібітор та визначали контроль 100 % інгібування. Розчинник застосували для визначення контролю 0 % інгібування. Процент інгібування для кожної концентрації сполуки відносно цих контролів розраховували, застосовуючи Excel (Microsoft,Redmond,WA). Значення IK_{50} створювали, застосовуючи програму GraFit 5,0 (Erithacus Software Ltd., Surrey, UK).

Інгібування TNFα IK_{50} та %

Передмоноцитні клітини U937 людини (American Type Culture Collection, Rockville, MD) культивували у RPMI 1640 з глутаміном (2 мМ), пеніциліном-стрептоміцином (10 од/мл) та 10 % інактивованої нагріванням сироватки зародка теляти (усі від Invitrogen, Grand Island, NY). Клітини були диференційованими до фенотипу моноцит/макрофаг пробол-12-міристат-13-ацетатом (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), 20 нг/мл, протягом ночі. Клітини тоді центрифугували, середовище відсмоктували, клітини ресуспендували у рівному об'ємі свіжого середовища RPMI 1640 з глутаміном та пеніциліном-стрептоміцином та сироваткою зародка теляти та інкубували протягом 48 годин при 37ºC та 5 % CO_2. Після збирання клітини зіскрібали, підраховували, та поміщали у планшет для стимулювання LPS, як описано нижче.

Клітини U937 диференціювали та поміщали при густині 200000 клітин/лунку у 96-лункові планшети. Клітини інкубували зі сполукою або без неї (розчинник – ДМСО при 1 % максимальної концентрації) протягом приблизно одної годин та тоді стимулювали 100 нг/мл ліпополісахариду (LPS), E. coli серотип 0111:B4 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) протягом чотирьох годин при 37ºC та із 5 % CO_2. Супернатанти клітин збирали для визначення рівнів TNFα, застосовуючи ELISA. Моноклональне антитіло миші анти-людини TNFα (клон 28401,111) та біотиніловане кози анти-людини TNFα (R&D Systems, Minneapolis, MN) застосували як захват та визначення антитіл, відповідно. Стрептавідин-пероксидазу хрону (HRP) (R&D Systems, Minneapolis, MN) та K-Блакитний Субстрат/Червоний Стоп (Neogen, Lexington, KY) застосували як систему визначення. Поглинання вимірювали при 650 нм. Концентрації TNFα інтерполювали зі стандартної кривої рекомбінантного білку TNFα людини (R&D Systems, Minneapolis, MN), застосовуючи чотирьох параметричну логістичну модель Magellan (Tecan,Durham,NC). Преднізолон (1 мкМ) застосували як максимальний інгібітор та визначав 100 % контроль інгібування. Розчинник застосували для визначення контролю 0 % інгібування. Процент інгібування для кожної концентрації сполуки, відносно цих контролів, розраховували, застосовуючи Excel (Microsoft,Redmond,WA). IK_{50} створювали, застосовуючи програму LabStats Fit Curve V4.R7.MO (Pfizer Sandwich Laboratories,UK та Tessella Support Services plc, Abingdon UK).

СУЦІЛЬНА КРОВ ЛЮДИНИ Ex vivo

Це дослідження порівнює інгібування IL-1β, IFNγ і IL-6, та продукування TNFα у ex vivo LPS-стимульованій суцільній крові людини лігандами глюкокортикоїдного рецептору (GR) порівняльною сполукою A, Прикладом 1 та преднізолоном.

Венозну кров від людини збирали як аліквоти 10 мл у туби, що містять натрію гепарин (BD Vacutainer від Becton Dickinson та Company, Franklin Lakes, NY). Кров додавали у стерильні полістиренові круглодонні 96-лункові планшети культур тканин (Corning Costar) при 100 мкл/лунку. Середовища (RPMI Середовище 1640 з L-глутаміном, Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA) додавали до крові у аліквотах 90 мкл до загального об'єму 190 мкл. Поза лунки заповнювали 200 мкл середовища. Кров поміщали у зволожений 37 °C інкубатор із 5 % CO_2 тоді як отримували сполуки (приблизно 60 хвилин).

Сполуки отримували з 10 мМ запасних розчинів у диметилсульфоксиді (ДМСО, Sigma-Aldrich). Запасну сполуку розріджували серійно 1/3 у ДМСО (тобто 5 мкл сполук + 10 мкл ДМСО), а потім розрідженням кожного серійного розрідження 1/167 у розчинник (2 % ДМСО, 30 % етанолу (AAPER Alcohol та Chemical Company), та 68 % буферований фосфатом фізіологічний розчин (буферований фосфатом фізіологічний розчин Дульбекко без кальцію хлориду без магнію хлориду, Invitrogen Corporation, Carlsbad CA). Сполуку або розчинник додавали до крові в аліквотах 10 мкл у потроєнні. Кінцева концентрація преднізолону та Прикладу 1 в аналізі була від 1000 нМ до 0,457 нМ. Концентрації порівняльної сполуки А були від 3000 нМ до 1,4 нМ. Кінцеві концентрації ДМСО та етанолу в аналізі були 0,1 % та 1,5 %. Зразки обережно розтирали у порошок двічі до суміші та поміщали в інкубатор. Запасний LPS (E. coli серотип 0111:B4,Sigma-Aldrich), в аліквотах 100 мкг/мл у RPMI при –20 °C, розріджували 1/50 у RPMI для створення робочого запасного розчину. Через 60 хвилин інкубації 10 мкл отриманого робочого запасу LPS додавали до крові до кінцевої концентрації 100 нг/мл, нехтуючи лунками для застосування як негативного контролю. Зразки знов обережно розтирали у порошок та планшети інкубували протягом ночі протягом 22 годин. Після інкубації кров центрифугували при 1500 x g протягом 5 хвилин та плазму видаляли для сублімації при –20 °C або аналізу вивільнення цитокіну.

Рівні IL-1β, IFNγ,IL-6, та TNFα вимірювали, застосовуючи комплекти аналізу Meso Scale (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD). Реагенти доводили до кімнатної температури. Планшети Meso Scale блокували 30 мкл розріджувачем для аналізу плазми/сироватки людини з обережним струшуванням протягом 60 хвилин при кімнатній температурі. Планшети промивали 3х промивним буфером (PBS, Invitrogen Corporation, із 0,05 % Tween-20, Sigma-Aldrich). Калібратори для стандартних кривих отримували в аналізі розріджувачу плазми/сироватки людини як 1/5 серійні розрідження для досягнення кінцевих концентрацій від 50000 пг/мл до 3,2 пг/мл. Зразки та калібратори додавали при 20 мкл/лунку, тоді інкубували при кімнатній температурі з обережним струшуванням протягом 90 хвилин. Планшети знов промивали 3 рази промивним буфером. Визначення антитіл розріджували у розріджувачі антитіла плазми/сироватки людини до 1 мкг/мл та повільно додавали до планшету при 20 мкл/лунку. Планшети інкубували протягом 60 хвилин та промивали знов. Зчитувальний буфер T (4x) розріджували 1:1 із водою до 2-кратної концентрації та 150 мкл повільно додавали до кожної лунки. Планшети аналізували на SECTOR Imager6000 (Meso Scale Discovery) для створення необроблених значень сигналу.

Значення зразків IL-1β, IFNγ і IL-6, та TNFα контролювали стосовно калібратору стандартних кривих. Індивідуальні значення порівнювали з позитивними та негативними контролями (оброблена розчинником кров з LPS та оброблена розчинником кров без LPS, відповідно) для отримання % інгібування. Потроєні значення усереднювали для кожного донору. Значення для двох донорів усереднювали (тільки один донор застосували для IL-1β) та наносили на графік, застосовуючи 4-параметричну підгонку кривих при застосуванні GraFit 5,0,11.

Середні значення інгібування преднізолону

Концентрація (нМ)	IFNγ (% інгібування)	TNFα (% інгібування)	IL-1β (% інгібування)	IL-6 (% інгібування)
1000	99,95181	93,85394	94,92022	62,08045
333,3333	99,7687	88,98186	92,93646	40,25956
111,1111	94,99872	62,38366	73,1561	11,68419
37,03704	63,51763	27,66996	37,74411	5,032463
12,34568	25,733	12,86882	33,55115	-0,41737
4,115226	5,164324	5,308603	20,98221	-0,23188
1,371742	10,85844	6,613491	15,1055	-0,94069
0,457247	4,925277	0,525846	9,64873	2,220454

Середні значення інгібування прикладу 1

Концентрація (нМ)	IFNγ (% інгібування)	TNFα (% інгібування)	IL-1β (% інгібування)	IL-6 (% інгібування)
1000	78,72981	38,06288	53,51043	8,053268
333,3333	73,47381	36,04024	57,75726	2,1505
111,1111	60,63503	27,35287	39,67173	0,943985
37,03704	51,01941	18,68644	38,24203	-0,82783
12,34568	26,70902	9,415215	21,54167	-0,36893
4,115226	-3,18296	-1,31222	11,20262	-1,06692
1,371742	19,77643	7,869405	22,38355	3,32595
0,457247	16,92723	8,956175	23,37486	-1,36819

Середні значення інгібування порівняльної сполуки А

Концентрація (нМ)	IFNγ (% інгібування)	TNFα (% інгібування)	IL-1β (% інгібування)	IL-6 (% інгібування)
3000	28,02163	-3,03631	16,37219	-1,97032
1000	16,52981	-5,43701	14,96801	-0,88954
333,3333	-6,31952	-4,61436	12,23526	-2,8341
111,1111	8,737671	-3,82374	8,59594	-3,49518
37,03704	-9,80677	-4,19291	17,27236	-3,52461
12,34568	0,016012	0,030908	22,84851	-1,12581

4,115226	-1,69672	-0,86051	22,01534	-4,3436
1,371742	18,09167	18,1316	31,97474	1,459164

ДАНІ IN VIVO

Назва	Терапевтична mCIA (ED_{50} доз)	Терапевтична mCIA (ED_{80} доз)	Пригнічення TNFα (ED_{50} доз)	Пригнічення TNFα (ED_{80} доз)	Пригнічення остеокальцину (ED_{50} доз)	Пригнічення остеокальцину (ED_{80} доз)
Приклад 1 вільна основа	0,4	1,5	0,46	1,82	2,91	>10
Порівняльна сполука A			60		37	
Порівняльна сполука B	2,9	>10	1,64	2,91	2,39	>10
Порівняльна сполука C	2,0	>10	0,27	1,33	1,01	2,84
Порівняльна сполука D			1,47	>20	1,18	3,06
Порівняльна сполука E	0,5	2,6	0,14	1,18	0,17	1,71
Порівняльна сполука F	>10	>10	2,11	5,67	1,19	>10
Порівняльна сполука G	0,6	3,0	2,90	3,33	1,12	7,27
Порівняльна сполука H			0,23	0,72	0,51	1,46
Порівняльна сполука I	17,0	>20	0,73	5,45	5,20	>20
Порівняльна сполука J	3,0	>20	0,09	0,79	0,73	3,58
Преднізолон	1,1	5,5	0,90	2,10	1,00	6,80

Приклад 1 є потужною сполукою у моделі хвороби.

Індукований колагеном артрит мишей (mCIA)

Індукований колагеном артрит мишей є звичайно застосованою хронічною доклінічною моделлю ревматоїдного артриту, у котрій набрякання суглобів та руйнування кісток відбувається після імунізації колагеном типу II. Зменшення випадків хвороби та її суворості раніше показане як прогнозувальне стосовно пом'якшення хвороби та ознак та симптомів зменшення, відповідно, у клініці.

У традиційній моделі mCIA, самців DBA/J мишей імунізували 50 мкг колагену курчат типу II (cCII) у повному ад'юванті Фрейнда та тоді знов імунізували через 21 добу 50 мкг cCII у неповному ад'юванті Фрейнда. Обробку сполуками тоді починали ранком та продовжували протягом 56 діб. Ефективність лікування вимірювали за інцидентністю хвороби (тобто, числом мишей, що показують будь-яку ознаку хвороби) та суворістю хвороби, що вимірювали двічі на тиждень.

У терапевтичній моделі mCIA, індукцію випадків хвороби та її суворості синхронізували стимулюванням LPS. Самців мишей DBA/J імунізували 100 мкг бичачого колагену типу II (bCII) на добу 0. Усі миші отримували інтраперитонеальну ін'єкцію 20 мкг LPS на добу 28 та хвороба розвивалася через добу 34. На добу 34, усі миші мали хворобу (інцидентність = 100 %) з середнім балом суворості 7. Дозування сполук починали у терапевтичному режимі на добу 34 та продовжували через добу 49. Відмінні обробки порівнювали виміром зменшення інцидентності (тобто, припинення запальних явищ хвороби) та зменшення суворості набрякання лап протягом часу.

Визначення балів суворості mCIA (максимальний бал 12/мишу)

Бал суворості	Визначення
1	Будь-яке почервоніння або набрякання пальців або лап
2	Перехресне або деформування набрякання лап
3	Анкілоз суглобів

Приклад 1 мав бали менше, ніж 2 для mCIA ($ЕД_{80}$) та менше, ніж 1 для mCIA ($ЕД_{50}$).

TNFα і та усунення остеокальцину (ОС)

Сполуки зважували та суспендували у розчиннику 0,5 % метилцелюлоза/0,025 % tween20 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Суспензії сполук гомогенізували, застосовуючи гомогенізатор тканин Polytron PT-3100 для створення дуже дрібної суспензії, а тоді обробляли ультразвуком протягом 10 хвилин, застосовуючи водяну баню з обробкою ультразвуком. Аліквоти кожної суспензії робили для добового дозування при 0,2 мл/дозу. Самиць Swiss Webster мишей, 10-12 тижні віком, 28-29 г, (Taconic, Germantown,NY) застосували згідно з директивами Institutional Animal Care and Use Committee та згідно з директивами NIH стосовно добробуту лабораторних

тварин. Мишей акліматизували у сприятливих умовах протягом трьох – семи діб до використання у дослідженні. Преднізолон та сполуки були застосовуваними за допомогою перорального зонда протягом загалом 28 діб. Кожна група лікування містила 5-10 мишей. Для установки режиму дозування для досліджень часу фармакодинаміки експеримент проводили для визначення пригнічення TNFα після одиничної дози $ЕД_{80}$. Сполуки, котрі пригнічували TNFα□, дозували раз на добу, тоді як сполуки, котрі не пригнічували TNFα >50 % до 24 годин дозували два рази на добу.

Маси тіла вимірювали на першу та останню добу кожного експерименту. Зразки крові отримували після трьох тижнів дозування для статичного фармакокінетичного (РК) аналізу. Для оцінювання дії сполук на індукований LPS TNFα, усі миші отримували інтраперитонеальну ін'єкцію LPS (Salmonella typhosa, L-7895;Sigma-Aldrich,St.Louis,) через 2,5 год. після останньої дози на добу 28. Мишей вбивали через 90 хвилин після застосування LPS. Зразки сироватки визначали на остеокальцин та TNFα, застосовуючи складні аналізи (Linco Research, Inc, St. Charles, MO; Luminex 100, Austin, TX). Зразки розріджували 1:20 та аналіз проводили за інструкціями виробника. Остеокальциновий стандарт придбавали окремо (Biomedical Technologies Inc., Stoughton, MA). Мишей не годували протягом 4 годин до збирання сироватки для TNFα та рівнів остеокальцину. Для кожного експерименту значення, що різко виділяються, були визначеними за допомогою розраховування числа стандартних відхилень від середнього значення групи. Якщо значення було більше, ніж 2,5 стандартних відхилень від середнього значення, його вилучали від решти розрахунків.

Процент інгібування тоді розраховували для кожної миші, застосовуючи середні значення для групи розчиннику та контрольної групи 10 мг/кг преднізолону. Значення проценту інгібування індивідуальної миші підганяли до чотирьох-параметричної логістичної моделі, застосовуючи середню для кожної групи дозу. Відколи усі чотири параметри були підрахованими та нижче плато не було фіксованим при 0 %. а вище плато не було фіксованим при 100 %, значення $ЕД_{50}$ та $ЕД_{80}$ розраховували застосуванням оберненої калібраційної формули для рівня реакції стосовно 50 % або 80 % інгібування або активації.

Значеннями $ЕД_{50}$ та $ЕД_{80}$ є дози (у мг/кг) потрібні для 50 % або 80 % дії, відповідно. Значенням $ЕД_{50}$ та $ЕД_{80}$ отримували для різних кінцевих моментів, застосовуючи чотирьох-параметричну логістичну підгонку. Для сполук, котрі були тестованими багато разів, значення $ЕД_{50}$ та $ЕД_{80}$ отримували, застосовуючи чотирьох-параметричні логістичні підгонки комбінованих даних з експериментів. Для сполук, котрі не досягали 80 % дії, значення $ЕД_{80}$ позначені як >10 мг/кг або >20 мг/кг, залежно від найвищої тестованої дози.

Модель індукованої домашніми кліщами астми

Мишей обробляли трьома дозами прикладу 1 (0,1,1 та 10 мг/кг, перорально, двічі на добу) або преднізолону (0,1,1 та 10 мг/кг, перорально, двічі на добу). Окремі групи тварин обробляли відповідними розчинниками, та жодного впливу притоку запальних клітин на індукований домашніми кліщами BAL приплив запальних клітин не було продемонстровано.

Приклад 1 зменшував інфільтрування клітин у рідину BAL залежно від дози. Оцінювання рідини типів клітин BAL, застосовуючи цитометрію потоку, показувало значні зменшення еозинофілів, нейтрофілів, лімфоцитів та Т-клітин. У порівнянні, преднізолон давав подібні зменшення інфільтрування клітин у рідині BAL при подібних дозах (дані не показані).

Приклад 1 (мг/кг)	Загальні клітини (% інгібування)	Еозинофіли (% інгібування)	Нейтрофіли (% інгібування)	Лімфоцити (% інгібування)	Т-клітини (% інгібування)
0,1	22	42	29	34	39
1	72	97	97	94	88
10	83	99	100	97	96

ІНДЕКС ДИСОЦІАЦІЇ

Індекс дисоціації (DI) було вибрано як вимір для визначення дисоціації сполук відносно преднізолону у термінах біомаркерів антизапальної ефективності та побічної дії. Індекси дисоціації розраховували, застосовуючи клінічно доречні біомаркери, що можна застосовувати у ранній клінічній розробці. Сироваточний остеокальцин та індуковані LPS TNFα сироватки вважають прогнозувальними стосовно утворення кісток та антизапальної ефективності, відповідно.

Індекс дисоціації базувався на нижченаведених принципах:

1) потрібний для дисоціації мінімум дози між біомаркерами запалення та побічної дії та було визначено формулою:

$$DI = \frac{\text{Кінцевий момент побічної дії}}{\text{Антизапальний кінцевий момент}}$$

Наприклад: $DI = \frac{\text{пригнічення остеокальцину (ОС) } ЕД_{80} \text{ (або EAUC}_{80})}{\text{Пригнічення TNFα (TNFα}ЕД_{80} \text{ (або EAUC}_{80})}$.

2) DI сполуки можна вважати відносно спостереженого з преднізолоном, клінічною порівняльною сполукою. Скоректований або нормалізований DI було визначено як DI сполуки, поділений на DI преднізолону.

Індекс дисоціації ($ЕД_{50}$ та $ЕД_{80}$)

НАЗВА	ОС/TNFα ($ЕД_{50}$)	ОС/TNFα□ ($ЕД_{80}$)
Приклад 1 вільна основа	6,33	>5,49
Порівняльна сполука A	0,62	
Порівняльна сполука B	1,46	>3,44
Порівняльна сполука C	3,74	2,14
Порівняльна сполука D	0,80	<0,15
Порівняльна сполука E	1,21	1,45

Порівняльна сполука F	0,56	>1,76
Порівняльна сполука G	0,39	2,18
Порівняльна сполука H	2,22	2,03
Порівняльна сполука I	7,12	>3,67
Порівняльна сполука J	8,11	4,53
Преднізолон	1,11	3,24

Приклад 1, Порівняльна сполука I, Порівняльна сполука J мала DI більше, ніж 5 для OC/TNFα ($ЕД_{50}$). Приклад 1 та Порівняльна сполука J мала DI більше, ніж 4 для OC/TNFα ($ЕД_{80}$).

Скоректований індекс дисоціації ($ЕД_{50}$ та $ЕД_{80}$) на основі преднізолону

Назва	OC/TNFα ($ЕД_{50}$)	OC/TNFαI ($ЕД_{80}$)
Приклад 1 вільна основа	5,70	>1,69
Порівняльна сполука A	0,56	
Порівняльна сполука B	1,32	>1,06
Порівняльна сполука C	3,37	0,66
Порівняльна сполука D	0,73	< 0,05
Порівняльна сполука E	1,09	0,45
Порівняльна сполука F	0,50	> 0,54
Порівняльна сполука G	0,35	0,67
Порівняльна сполука H	2,00	0,63
Порівняльна сполука I	6,41	> 1,13
Порівняльна сполука J	7,31	1,40

Приклад 1, Порівняльна сполука I, Порівняльна сполука J мала скоректований DI більше, ніж 5 для OC/TNFα ($ЕД_{50}$). Приклад 1 мав скоректований DI більше, ніж 1,50 для OC/TNFα ($ЕД_{80}$).

$EAUC_{50}$ та $EAUC_{80}$

Спонукування ліками, визначене як концентрації ліків у плазмі, інтегровані протягом часу (AUC), застосували для створення фармакодинамічних порівнянь між преднізолоном та Прикладом 1. Внаслідок коротких періодів напівперетворення преднізолону та Прикладу 1 у мишах значення AUC(0-4 год.) підраховували для більше, ніж 95 % значень AUC(0-24 год.). Внаслідок об'ємних обмежень відбору зразків крові у мишей, значення AUC(0-4 год.) застосували для створення фармакодинамічних порівнянь.

	Преднізолон (AUC 0-4 год.) (мкг*год./мл)		Приклад 1 (AUC 0-4 год.) (мкг*год./мл)	
	$EAUC_{50}$	$EAUC_{80}$	$EAUC_{50}$	$EAUC_{80}$
Сироваточний TNFα	0,81	0,95	0,22	0,33
Остеокальцин сироватки	0,56	1,60	1,30	4,20
Швидкість утворення кортикальних кісток (BFR)	0,09	0,60	0,27	1,55
Інцидентність хвороби (традиційна mCIA)	0,25	0,60	0,04	0,10
Суворість хвороби (терапевтична mCIA)	0,38	1,19	0,09	0,19
Індекс дисоціації				
OC/TNFα[a]	0,7	1,7	5,9	12,7
BFR/ TNFα[a]	0,1	0,6	1,2	4,7
BFR/інцидентність хвороби[b]	0,4	1,0	6,8	15,5
BFR/суворість хвороби[b]	0,2	0,5	3,0	8,2
Скоректований Індекс дисоціації				
OC/TNFα[a]			8,4	7,5
BFR/ TNFα[a]			12,0	7,8
BFR/інцидентність хвороби[b]			17,0	15,5
BFR/суворість хвороби[b]			15,0	16,4

[a] Дані порівнювали у мишах у тій же моделі.

[b] Дані порівнювали у мишах у відмінній моделі, застосовуючи спонукування плазми до нормалізації.

BFR, швидкість утворення кісток.

ДАНІ $EAUC_{50}$ ТА $EAUC_{80}$

Параметр	Приклад 1		Преднізолон	
28-добова повторювана модель доз	$EAUC_{50}$	$EAUC_{80}$	$EAUC_{50}$	$EAUC_{80}$
Сироваточний TNFα	0,22	0,33	0,82	0,95
Остеокальцин сироватки (OC)	1,31	4,15	0,56	1,64

Швидкість утворення кортикальних кісток (BFR)	0,35	1,76	0,10	0,66
Інцидентність хвороби (традиційна mCIA)	-	0,10	-	0,50
Суворість хвороби (терапевтична mCIA)	0,09	0,19	0,38	1,19
Інцидентність хвороби (терапевтична mCIA)	0,12	0,33	0,68	1,38
Скоректовані індекси дисоціації (DI)	$EAUC_{50}$	$EAUC_{80}$		
OC / TNFα	8,6	7,4		
BFR / TNFα	16,0	7,6		
BFR / інцидентність хвороби	14,5	10,6		
BFR / суворість хвороби	13,0	15,5		

Приклад 1 є дисоційованою сполукою. Приклад 1 мав DI та скоректований DI для $EAUC_{50}$ та $EAUC_{80}$ більше, ніж 7 для OC/TNFα, BFR/TNFα, BFR/інцидентності хвороби, та BFR/суворості хвороби.

Гістоморфометрія кортикальних кісток для визначення BFR

Протягом кожного дослідження миші отримували дві інтраперитонеальних (i.p.) ін'єкції (20 мг/кг, 100 мл/мишу) кальцеїну (C-0875; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) на доби 1 та 26 для вимірів гістоморфометрії кісток. Кальцеїн входить у мінерал кісток та дозволяє вимір швидкості утворення кісток. Кальцеїн розчиняли у 2 % натрію гідрогенкарбонаті. Протягом збору тканин ліву велику гомілкову кістку вирізали та очищали для вимірів кортикальної гістоморфометрії. Після видалення шкіри та м'язів велику гомілкову кістку поміщали у 70 % етанолу (4 °C) у темряві протягом мінімум 24 годин.

Подрібнені поперечні зрізи застосували для гістоморфометричного аналізу кортикальних кісток. Кістки секціонували, застосовуючи пилку (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL) з алмазним лезом. Кінець кожної великої гомілкової кістки видаляли проксимально до синостозу велика гомілкова кістка-мала гомілкова кістка та робили 75 мм перехресний зріз. Застосовуючи грубий скляний планшет та корок, зрізи подрібнювали до ~25 мм до просвіту та усі мітки були відрізнюваними під флуоресцентним мікроскопом. Зрізи дегідратували, застосовуючи нижченаведені розчини протягом мінімум двох хвилин кожний: 1) 70 % етанолу, 2) 95 % етанолу, 3) 100 % етанолу, 4) 50/50 етанол/ксилен, та 5) ксилен (двічі) (#534056; Sigma-Aldrich, St.Louis, MO). Зрізи монтували, застосовуючи середовище Eukitt Quick Mounting Medium (#03989, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), після котрого застосовували покровне скло. Застосовуючи програму Osteomeasure Bone Analysis Program (Osteometrics, Inc., Decatur Georgia), швидкість утворення кісток розраховували за відбитками 1^{ої} та 3^{ої} флуоресцентних міток та внутрішнього та зовнішнього периметру кісток. Швидкість утворення кісток розраховували за нижченаведеним рівнянням:

(внутрішня-мічена ширина/мічений інтервал) * (мічений периметр/периметр кістки).

Принаймні п'ять зразків вимірювали з кожної групи лікування у кожному дослідженні.