



(51) МПК
C07D 409/12 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011130381/04, 21.12.2009

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 21.12.2009

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
 23.12.2008 US 61/203,548;
 29.04.2009 US 61/214,863

(43) Дата публикации заявки: 27.01.2013 Бюл. № 3

(45) Опубликовано: 10.09.2014 Бюл. № 25

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: CHIAPPORI A.A. et al, *Clinical Cancer Research*, vol. 13, no. 7, 2007, p.p. 2091-2099. MANT T.G.K. et al, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 63, no.5, 2006, p.p. 512-526; . RU 2207849 C2, 10.07.2003; . US 20080221195 A1, 11.09.2008. RU 2193027 C2, 20.11.2002. RU 2006125441 A, 27.01.2008

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 25.07.2011

(86) Заявка РСТ:
 US 2009/069005 (21.12.2009)

(87) Публикация заявки РСТ:
 WO 2010/075287 (01.07.2010)

Адрес для переписки:

123242, Москва, Кудринская пл., 1, а/я 35,
 "Михайлюк, Сороколат и партнеры-патентные поверенные"

(72) Автор(ы):

СУХОЛЕЙКИ Ирвинг (US)

(73) Патентообладатель(и):

АКВИЛУС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК (US)

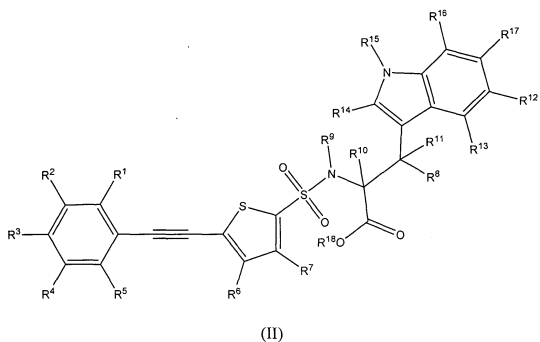
RU 2 528 333 C2

RU 2 528 333 C2

(54) СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛИ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к соединению формулы (II)



где: каждый из $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ и R^{17} независимо выбран из группы, состоящей из дейтерия или водорода; и R^3 независимо выбран из группы, состоящей из CD_3 и CH_3 , причем когда R^3

представляет собой CH_3 , по меньшей мере одна из групп $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ и R^{17} представляет собой дейтерий; и R^{18} представляет собой водород. Изобретение также относится к лекарственному средству для лечения состояния, вызывающего боль, на основе указанного соединения. Технический результат: получены новые соединения, ингибирующие ММР (фермент металлопротеиназ), которые проявляют повышенную активность, метаболическую стабильность и/или сниженную токсичность относительно известных в данный момент ингибиторов ММР для лечения боли и других заболеваний, таких как рак. 5 н. и 11 з.п. ф-лы, 2 ил., 14 табл., 136 пр.

R U 2 5 2 8 3 3 3 C 2

R U 2 5 2 8 3 3 3 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07D 409/12 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2011130381/04, 21.12.2009

(24) Effective date for property rights:
21.12.2009

Priority:

(30) Convention priority:
23.12.2008 US 61/203,548;
29.04.2009 US 61/214,863

(43) Application published: 27.01.2013 Bull. № 3

(45) Date of publication: 10.09.2014 Bull. № 25

(85) Commencement of national phase: 25.07.2011

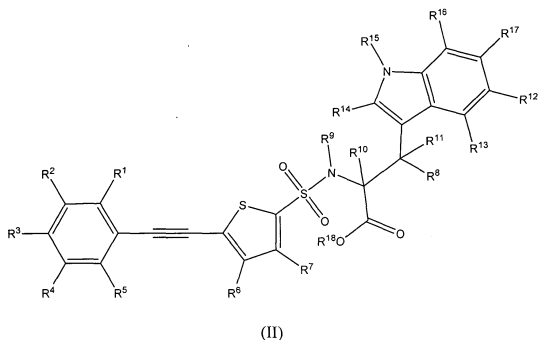
(86) PCT application:
US 2009/069005 (21.12.2009)(87) PCT publication:
WO 2010/075287 (01.07.2010)

Mail address:

123242, Moskva, Kudrinskaja pl., 1, a/ja 35,
"Mikhajljuk, Sorokolat i partnery-patentnye
poverennye"(72) Inventor(s):
SUCHOLEIKI Irving (US)(73) Proprietor(s):
AQUILUS PHARMACEUTICALS, INC (US)(54) **COMPOUNDS AND METHODS OF TREATING PAIN AND OTHER DISEASES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to a compound of
formula

wherein: each of $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ and R^{17} is independently

specified in a group consisting of deuterium or hydrogen; and R^3 is independently specified in a group consisting of CD_3 and CH_3 ; provided R^3 represents CH_3 , at least one of the groups $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ and R^{17} represents deuterium; and R^{18} represents hydrogen. The invention also refers to a drug on the basis of the above compound for treating a condition causing pain.

EFFECT: there are prepared new compounds inhibiting MMPs (metalloproteinases) which show the high activity, metabolic stability and/or lower toxicity in relation to the currently known MMP inhibitors for treating pain and other diseases, such as cancer.

16 cl, 2 dwg, 14 tbl, 136 ex

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится, в общем, к соединениям, ингибирующим металлопротеазу, и более конкретно к соединениям, ингибирующим этинил-ММР.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

5 Воспаление определяют как комплексный биологический ответ сосудистой ткани на вредный побудитель, такой как патогены, пораженные клетки или раздражители. Это является защитной попыткой организма удалить вредные возбудители, а также стимулировать процесс заживления ткани. Воспаление может быть острым (ранняя фаза ответа) или хроническим (наблюдается длительное время). Острое воспаление
10 вовлекает в патологический процесс полиморфонуклеарные нейтрофильные лейкоциты, тогда как хроническое воспаление вовлекает в патологический процесс моноциты, макрофаги, лимфоциты и плазматические клетки (совместно, мононуклеарные лейкоциты). Одним воздействием острого и хронического воспаления является восприятие боли, которая может быть или невропатической, или ноцицептивной.
15 Некоторые общие недомогания, связанные с невропатической болью, представляют собой боль в пояснице, невралгию/фибромиалгию, диабетическую невропатическую боль и боль, связанную с рассеянным склерозом. Общими недомоганиями, которые связаны с ноцицептивной болью, являются артритическая боль, в особенности, остеоартрит и ревматоидный артрит, послеоперационная боль, боль, связанная с раком, и боль,
20 связанная с ВИЧ.

Матриксные металлопротеиназы (ММР) являются семейством структурно родственных цинксодержащих ферментов, которые, как сообщали, служат посредником расщепления соединительной ткани при нормальных физиологических процессах, таких как эмбриональное развитие, восстановление и реконструкция ткани. Сверхэкспрессия
25 ММР или дисбаланс между ММР предполагались как факторы воспалительных, злокачественных процессов и процессов дегенеративных заболеваний, которые характеризовались как расщепление внеклеточного матрикса или соединительной ткани. ММР, следовательно, являются целями для терапевтических ингибиторов при нескольких воспалительных, злокачественных и дегенеративных заболеваниях, таких
30 как ревматоидный артрит, остеоартрит, остеопороз, периодонтит, рассеянный склероз, гингивит, роговичное эпидермальное и желудочное образование язвы, атеросклероз, неоинтимная пролиферация (которая приводит к рестенозу и ишемической сердечной недостаточности) и метастазы опухоли. ММР-2 (72 кДа желатиназы/желатиназы А) ухудшает внеклеточные матриксные компоненты основной мембраны. Их субстраты
35 включают коллаген типов IV и V, фибронектин, эластин и денатурированные интерстициальные коллагены. Показали, что расщепление матрикса, присущее этой протеиназе, играет важную роль в развитии таких заболеваний, как атеросклероз, воспаление, удар, и рост опухоли, и метастазы. Однако не было большого количества литературы, показывающей применение ингибиторов ММР и, в частности ингибиторов
40 ММР-2, для лечения боли. Например, Yamamoto и коллеги (Neuroscience Letters, 347(2), (2003), 77-80) показали, что впрыскивание ММР-2 подоболочечно при формалиновом тесте на крысах (модель воспалительной боли) понижает тревожное поведение фазы I, но не поведение фазы II, и что этот анальгетический аффект противодействовал ингибитору ММР, содержащему гидроксамовую кислоту, с широким спектром действия
45 ONO-4817 (значения K_i 0,45, 0,73, 1,1, 1,1, 2,1, 42 и 2500 нмоль для ММР-12, ММР-2, ММР-8, ММР-13, ММР-9, ММР-3 и ММР-7 соответственно). Когда ингибитор ММР ONO-4817 давали отдельно, он не оказал влияния на формалиновый тест на крысах.

Недавно Ji и коллеги (Nature Medicine 14 (13), (2008), 331-336) обнаружили, что

определенные матриксные металлопротеиназы (ММП) повышающе регулировались во время ранних этапов повреждения посредством животной модели лигатуры спинального нерва. Конкретнее, они обнаружили, что ММП-9 повышающе регулировался в первичных чувствительных нейронах поврежденного спинномозгового чувствительного нервного узла (DRG) на ранней фазе L5 лигатуры спинального нерва (SNL) модели невропатической боли (первый день, и затем снижаясь после 3^{го} дня) и что ММП-2 имела замедленную реакцию в модели (повышенная регуляция началась с 7 дня и все еще присутствовала на 21 день). Они также обнаружили, что ММП-2 индуцирует невропатическую боль расщеплением IL-1 β и активацией астроцитарной киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ERK). Они также обнаружили, что эндогенные ингибиторы матриксной металлопротеиназы (TIMP-1 и TIMP-2) также подавляли невропатическую боль в модели. Kobayashi и коллеги (*Molecular and Cellular Neuroscience*, 39, (2008), 619-627) также недавно продемонстрировали, что ММП разрушают периферический миелиновый базисный белок (МБР) и обнаружили, что ингибитор ММП, содержащий гидроксамовую кислоту, с широким спектром действия (GM6001) ослабляет механическую ноцицепцию.

Матриксную металлопротеиназу протестировали клинически на несколько показателей. Наиболее преимущественно на артрит и рак. Ингибиторы, которые вошли в клинические испытания как онкологический признак, включают приномастат (AG3340; Agouron/Pfizer), BAY 12-9566 (Bayer Corp.), батимистат (BB-94; British Biotech, Ltd.), BMS-275291 (панее D2163; Celltech/Bristol-Myers Squibb), маримастат (BB 2516; British Biotech, Ltd./Schering-Plough) и MMI270(B) (панее CGS-27023A; Novartis). Многие из ингибиторов ММП, содержащих гидроксамовую кислоту, проявляют очень обширные токсичности у людей. Например, маримастат, который содержит часть гидроксамата, проявлял зависящие от времени и зависящие от дозы мышечно-скелетные токсичности (артралгия, миалгия, тендинит) у людей. Другие токсичности для маримастата включают асцит, диссеминирующую карциному, ознобы, холангиты, головокружение, одышку, отек, усталость, лихорадку, расстройства желудочно-кишечного тракта (анорексия, тошнота, рвота, диарея, запор), кровотечение в желудочно-кишечном тракте, цефалгию, изжогу, печеночную токсичность, гиперкальцемию, гипергликемию, сыпь и затрудненное дыхание. Неизвестно, приписываются ли токсичности, проявляемые многими ингибиторами ММП, части гидроксамовой кислоты, однако понятно, что имеющийся ингибитор ММП, который не содержит группу гидроксамовой кислоты, может понижать много потенциальных метаболических предрасположений. Одним из нескольких соединений, не содержащих гидроксамовую кислоту, которые исследовались исключительно у людей для лечения рака, является кислота на основе триптофана S-3304 ((R)-3-(1H-индол-3-ил)-2-(5-p-толилэтинил-тиофен-2-сульфониламино)-пропионовая кислота), и при котором у животных или людей не наблюдалось никаких признаков мышечно-скелетных токсичностей. Однако обнаружили, что S-3304 дает такие побочные результаты у людей, как цефалгия, сонливость, рвота, тошнота и желудочно-кишечная боль (van Marie, S. et al. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther* 2005; 43: 282-293). При дальнейшем анализе этого соединения в человеческой крови обнаружили образование нескольких гидроксированных метаболитов (Chiappori, A.A. et al. *Clin. Cancer Res.* 2007, 13(7), 2091-2099). Два из основных метаболитов вовлекали в патологический процесс гидроксирование вокруг индольного кольца части триптофана. Другой метаболит вовлекал в патологический процесс гидроксирование толуолметильной части молекулы. Понятно, что снижение скорости таких метаболически индуцированных гидроксирований может снижать метаболические склонности S3304 и/или усиливать

всю биологическую доступность соединения и, возможно, приводит к улучшению воздействия на целевую ткань.

Kushner и коллеги (Kushner, D.J.; Baker, A.; Dunstall, T.G. *Can J. Physiol Pharmacol*, 77 (2), (1999) p.79-88) представили примеры, как включение дейтерия в лекарственное средство может часто понижать уровень метаболически индуцированных трансформаций, особенно тех, которые опосредованы цитохромом P450. Это сниженная скорость метаболизма, вызванного цитохром P450, может иногда переноситься непосредственно на усиленную биологическую активность. Причина этого в том факте, что атомное замещение водорода дейтерием в лекарственном средстве изменяет силу связи углерод-дейтерий лекарственного средства, сохраняя его 3D поверхность сильно подобной недейтерированной версии. Замещение дейтерия на водород может дать начало изотопному эффекту, который может изменять фармакокинетику лекарственного средства. В реакции, в которой расщепление связи C-H является определяющим фактором скорости, такая же реакция с аналогом C-D будет снижена. Например, Schneider и коллеги (Schneider, F.; et al., *BiRDS Pharma GmbH, Arzneimittel Forschung* (2006), 56(4), p.295-300) показали, что замена нескольких атомов водорода вокруг одного из ароматических колец ингибитора COX-2 рефекоксиба (4-(4-метилсульфонилфенил)-3-фенил-5Н-фуран-2-он) с дейтерием (в положениях 2', 3', 4', 5' и 6') усиливали пероральную биологическую доступность лекарственного средства без затрагивания его селективности к COX-2. Если применить эту стратегию к кислоте на основе триптофана S-3304, можно снизить ее чувствительность к гидроксилированию цитохрома P-450 и в конечном итоге усилить ее общую биологическую активность и, возможно, концентрацию соединения его целевой ткани.

Другое возможное действие включения дейтерия в лекарственное средство происходит на его полиморфные (т.е. различные кристаллические формы) свойства. Например, Hirota и Urushibara (*Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 32(7), (1959), 703-706) показали, что замена одного водорода винила на дейтерий в аллокоричной кислоте может изменять и точку плавления, и интенсивность дифракционной рентгенограммы молекулы. Lin и Guillory (*Journal of Pharmaceutical Science*, Vol.59(7), (2006), 972-979) показали, что сульфаниламид-d4 проявлял меньшие теплоты превращения и теплоты плавления для его различных кристаллических состояний по сравнению с его соответствующими недейтерированными формами. В заключение Crawford и коллеги (Crawford, S. et al., *Angewandte Chemie International Edition*, 48(4), (2009), 755-757) недавно показали, что кристаллическая форма полностью дейтерированного пиридина перенимает уникальную конфигурацию, которая может быть получена только при высоком давлении с недейтерированным источником. Их работа четко показала, что замена водорода на дейтерий изменяет силу взаимодействия между различными атомами в соседних молекулах, вызывая изменение в кристаллической группировке на такую, которая более энергетически благоприятна. Это изменение в кристаллической группировке или полиморфе может позволить улучшить свойства растворения и усилить биологическую доступность.

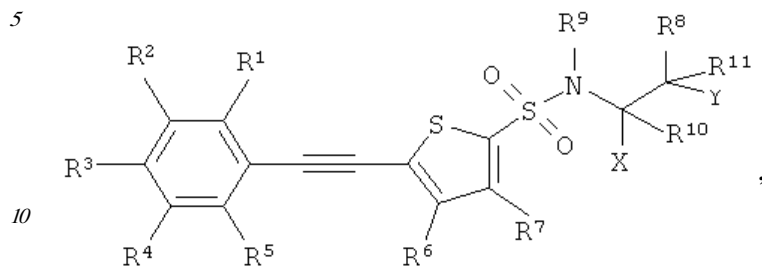
Раскрыли ряд соединений, ингибирующих MMP, содержащих функциональную группу фенилэтинил-тиофен и не имеющих функциональность гидроксамовой кислоты. Дополнительно, данное изобретение касается данного соединения и способа лечения боли у пациента.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ДАННОГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относят к новому классу фармацевтических средств, содержащих алкин. В частности, данное изобретение обеспечивает новый класс соединений,

ингибирующих ММР, содержащих фенилэтинил-тиофеновую группу, проявляющую сильную активность ингибирования ММР.

Данное изобретение обеспечивает новый класс соединений, ингибирующих алкин, которые представлены общей Формулой (I)



(I)

где все переменные в предыдущих формулах (I) определены здесь ниже.

15 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R¹⁰ и R¹¹ независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, гало, алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, бициклоалкил, гетеробициклоалкил, спироалкил, спирогетероалкил, арил, гетероарил, слитый с циклоалкилом арил, слитый с гетероциклоалкилом арил, слитый с циклоалкилом гетероарил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарил, циклоалкилалкил, гетероциклоалкилалкил, - бициклоалкилалкил, гетеробициклоалкилалкил, спироалкилалкил, спирогетероалкилалкил, арилалкил, гетероарилалкил, слитый с циклоалкилом арилалкил, слитый с гетероциклоалкилом арилалкил, слитый с циклоалкилом гетероарилалкил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил, гидроксид, алкокси, алкеил, алкинил, NO₂, NR⁹R⁹, NR⁹NR⁹R⁹, NR⁹N-CR⁹R⁹, NR⁹SO₂R⁹, CN, C(O)OR⁹ и фторалкил; где алкил, циклоалкил, алкокси, алкенил, алкинил и фторалкил факультативно замещены один или более раз, и слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил факультативно замещен один или более раз;

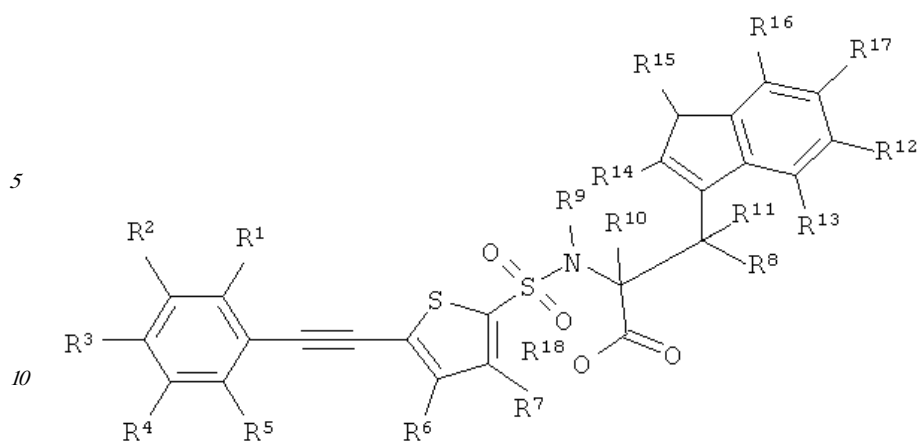
X независимо выбран из группы, включающей COOH, PO₃H, COOD и PO₃D;

30 Y независимо выбран из группы, включающей водород, алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, бициклоалкил, гетеробицикло, гетеробициклоалкил, спироалкил, спирогетероалкил, арил, гетероарил, слитый с циклоалкилом арил, слитый с гетероциклоалкилом арил, слитый с циклоалкилом гетероарил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарил, циклоалкилалкил, гетероциклоалкилалкил, бициклоалкилалкил, гетеробициклоалкилалкил, спироалкилалкил, спирогетероалкилалкил, арилалкил, гетероарилалкил, слитый с циклоалкилом арилалкил, слитый с гетероциклоалкилом арилалкил, слитый с циклоалкилом гетероарилалкил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил, фторалкил, фторбицикло и фторгетеробицикло; и

40 R⁹ независимо выбран из группы, включающей водород, дейтерий, алкил, циклоалкил, гетероарил, арилалкил и фторалкил; или

его N-оксиды, фармацевтически приемлемые соли, пролекарства, составы, полиморфы, таутомеры, рацемические смеси или стереоизомеры.

45 Дополнительно, данное изобретение обеспечивает новый класс соединений, ингибирующих алкин, которые представлены общей формулой (II)



(II)

где

каждый R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ и R¹⁷ независимо выбран из группы, включающей дейтерий, водород, алкил и дейтероалкил; и

R¹⁸ независимо выбран из группы, включающей водород, дейтерий, алкил, дейтероалкил, натрий, калий; или

их N-оксиды, фармацевтически приемлемые соли, пролекарства, составы, полиморфы, таутомеры, рацемические смеси или стереоизомеры.

Соединения, ингибирующие ММР, данного изобретения можно также применять в лечении других опосредованных металлопротеазой заболеваний, таких как ревматоидный артрит, остеоартрит, абдоминальная аневризма аорты, рак, воспаление, атеросклероз, рассеянный склероз, хроническая обструктивная пульмональная болезнь, глазные заболевания, неврологические заболевания, психиатрические заболевания, тромбоз, бактериальная инфекция, болезнь Паркинсона, усталость, тремор, диабетическая ретинопатия, сосудистые заболевания сетчатки, старение, слабоумие, кардиомиопатия, повреждение почечных канальцев, диабет, психоз, дискинезия, пигментные нарушения, глухота, воспалительные и фиброзные синдромы, желудочно-кишечный синдром, аллергии, болезнь Альцгеймера, образование артериальных бляшек, периодонтальная, вирусная инфекция, удар, сердечно-сосудистое заболевание, реперфузионное повреждение, травмы, воздействие химических веществ или окислительное повреждение тканей, заживление ран, геморрой, улучшение внешнего вида кожи и боль.

В частности, соединения, ингибирующие ММР, данного изобретения можно применять в лечении боли у пациента, указанный способ включает этап введения пациенту количества данного соединения, эффективного для лечения боли, в комбинации с носителем, если пациент страдает от усиленной или чрезмерной чувствительности к боли, такой как гипералгезия, каузалгия и аллодиния; острой боли; механически вызванной боли; боли из-за ожога; атипичной лицевой боли; невропатической боли; боли в пояснице; комплексных регионарных болевых синдромов I и II; артрической боли; боли при спортивной травме; боли, связанной с вирусной инфекцией, постгерпетической невралгии; фантомной боли; боли при родах; раковой боли; боли после химиотерапии; боли после удара; послеоперационной боли; физиологической боли; воспалительной боли; острых воспалительных состояний/висцеральной боли, например, ангины, синдрома раздраженной толстой кишки (IBS) и воспалительного кишечного заболевания; невропатической боли; невралгии; болезненной

неврологической нейропатии; травматического нервного повреждения; повреждения спинного мозга; и переносимости наркотических средств или отказа от наркотических средств.

5 Данное изобретение также обеспечивает соединения, ингибирующие ММР и/или другую металлопротеазу, которые применимы как активные ингредиенты в фармацевтических композициях для лечения или профилактики заболеваний, опосредованных металлопротеазой, особенно ММР. Данное изобретение также предполагает применение таких соединений в фармацевтических композициях для перорального или парентерального введения, содержащих одно или более соединений, ингибирующих ММР, раскрытых здесь.

10 Данное изобретение дополнительно обеспечивает способы ингибирования ММР-2 и/или других металлопротеаз введением составов, включая, но не ограничиваясь, пероральные, ректальные, местные, внутривенные, парентеральные (включая, но не ограничиваясь, внутримышечные, внутривенные), глазные (офтальмические), 15 трансдермальные, ингаляционные (включая, но не ограничиваясь, пульмональный, аэрозольная ингаляция), назальные, подъязычные, подбололочные, подкожные или межсуставные составы, содержащие гетеробициклические соединения, ингибирующие металлопротеазу, стандартными способами, известными в медицинской практике при лечении заболеваний или симптомов, возникающих или связанных с металлопротеазой, 20 особенно ММР-2, и включая профилактическое и терапевтическое лечение. Хотя самый подходящий путь в любом указанном случае будет зависеть от природы и тяжести состояний, которые необходимо вылечить, и от природы активного ингредиента. Соединения данного изобретения удобно представлены в стандартной лекарственной форме и приготовлены любыми способами, хорошо известными в данном уровне 25 техники фармации.

Соединения, ингибирующие ММР, данного изобретения можно применять в комбинации с противоревматическим лекарственным средством, модифицирующим заболевание, нестероидным противовоспалительным лекарственным средством, селективным ингибитором СОХ-2, ингибитором СОХ-1, иммунодепрессивным 30 средством, стероидом, модификатором биологического ответа или другими противовоспалительными средствами.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фигура 1 является графиком подбололочечного (i.t.) (SNL) эксперимента с мышью. Исследование с монопитью фон Фрея для механической аллодинии. Стрелки указывают 35 время инъекции. Результаты описаны в порогах чувствительности отдергивания лапы (г). VL = Постоперативный исходный уровень.

Фигура 2 является графиком интраперитонеального (i.p.) (SNL) - эксперимента с мышью. Исследование с монопитью фон Фрея для механической аллодинии. Стрелки указывают время инъекции. Результаты описаны в порогах чувствительности 40 отдергивания лапы (г). VL = Постоперативная исходный уровень.

ДЕТАЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Выражение "D", как используется в данном документе, одно или в составе химической структуры или группы, означает дейтерий.

Выражение "дейтеро", как используется в данном документе, одно или в составе 45 группы, означает факультативно замещенные атомы дейтерия.

Выражения "алкил" или "алк", как используется в данном документе, одно или в составе другой группы, означает факультативно замещенные, с прямой или разветвленной цепью, насыщенные углеводородные группы, предпочтительно имеющие

1-10 углеродов в нормальной цепи, наиболее предпочтительно низшие алкильные группы. Такие иллюстративные незамещенные группы включают метил, этил, пропил, изопропил, n-бутил, t-бутил, изобутил, пентил, гексил, изогексил, гептил, 4,4-

5 Иллюстративные заместители могут включать, но не ограничиваясь, одну или более из следующих групп: гало, алкокси, алкилтио, алкенил, алкинил, арил (например, для образования бензильной группы), циклоалкил, циклоалкенил, гидроксид или защищенный гидроксид, карбоксил (-COOH), алкилоксикарбонил, алкилкарбонил, алкилкарбонил, карбамоил (NH₂-CO-), замещенный карбамоил ((R¹⁰)(R¹¹)N-CO-, где R¹⁰ или R¹¹

10 определены ниже, за исключением того, что, по меньшей мере, один из R¹⁰ или R¹¹ не является водородом), амина, гетероцикло, моно-, или диалкиламина, или тиол (-SH)

Выражение "гетероалкил", и которое можно применять взаимозаменяемо с выражением "алкил", означает факультативно замещенные, с прямой или разветвленной 15 цепью, насыщенные углеводородные группы, предпочтительно имеющие 1-10 углеродов в нормальной цепи, наиболее предпочтительно низшие алкильные группы. Такие иллюстративные незамещенные группы включают метил, этил, пропил, изопропил, n-бутил, t-бутил, изобутил, пентил, гексил, изогексил, гептил, 4,4-диметилпентил, октил, 2,2,4-триметилпентил, нонил, децил, ундецил, додецил и подобные. Иллюстративные 20 заместители могут включать, но не ограничиваясь, одну или более из следующих групп: гало, алкокси, алкилтио, алкенил, алкинил, арил (например, для образования бензильной группы), циклоалкил, циклоалкенил, гидроксид или защищенный гидроксид, карбоксил (-COOH), алкилоксикарбонил, алкилкарбонил, алкилкарбонил, карбамоил (NH₂-CO-).

25 Выражения "низший алк" или "низший алкил", как используется в данном документе, означает такие факультативно замещенные группы, как описано выше для алкила, имеющего от 1 до 4 углеродных атомов в нормальной цепи.

Выражение "алкокси" означает алкильную группу, как описано выше, связанную через кислородную связь (-O-).

30 Выражение "алкенил", как используется в данном документе, одно или в составе другой группы, означает факультативно замещенные, с прямой или разветвленной цепью, насыщенные углеводородные группы, содержащие, по меньшей мере, одну двойную связь углерод с углеродом в цепи и предпочтительно имеющие от 2 до 10 углеродов в нормальной цепи. Такие иллюстративные незамещенные группы включают 35 этенил, пропенил, изобутенил, бутенил, пентенил, гексенил, гептенил, октенил, ноненил, деценил и подобные. Иллюстративные заместители могут включать, но не ограничиваясь, одну или более из следующих групп: гало, алкокси, алкилтио, алкил, алкинил, арил, циклоалкил, циклоалкенил, гидроксид или защищенный гидроксид, карбоксил (-COOH), алкилоксикарбонил, алкилкарбонил, алкилкарбонил, карбамоил (NH₂-CO-), замещенный карбамоил. 40

Выражение "алкинил", как используется в данном документе, одно или в составе другой группы, означает факультативно замещенные, с прямой или разветвленной цепью, насыщенные углеводородные группы, содержащие, по меньшей мере, одну тройную связь углерод с углеродом в цепи и предпочтительно имеющие от 2 до 10 углеродов в нормальной цепи. Такие иллюстративные незамещенные группы включают, 45 но не ограничиваясь, этинил, пропирил, бутирил, пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил, децинил и подобные. Иллюстративные заместители могут включать, но не ограничиваясь, одну или более из следующих групп: гало, алкокси, алкилтио, алкил,

алкенил, арил, циклоалкил, циклоалкенил, гидроксильный или защищенный гидроксильный, карбоксильный (-COOH), алкилоксикарбонильный, алкилкарбонильный, алкилкарбонильный, карбамоил (NH₂-CO-), замещенный карбамоил.

Выражение "циклоалкил", как используется в данном документе, одно или в составе другой группы, означает факультативно замещенные, насыщенные циклические углеводородные кольцевые системы, включая соединенные мостиковой связью кольцевые системы, желательные содержащие от 1 до 3 колец и от 3 до 9 углеродов на кольцо. Такие иллюстративные незамещенные группы включают, но не ограничиваясь, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, циклодецил, циклододецил и адамантил. Иллюстративные заместители включают, но не ограничиваясь, одну или более алкильных групп, как описано выше, или одну или более групп, описанных выше, как алкильные заместители.

Выражения "ар" или "арил", как используется в данном документе, одно или в составе другой группы означают факультативно замещенные, гомоциклические ароматические группы, предпочтительно содержащие 1 или 2 кольца, и от 6 до 12 кольцевых углеродов. Такие иллюстративные незамещенные группы включают, но не ограничиваясь, фенил, бифенил и нафтил. Иллюстративные заместители включают, но не ограничиваясь, одну или более нитрогрупп, алкильных групп, как описано выше, или групп, описанных выше, как алкильные заместители.

Выражение "гетероцикл" или "гетероциклическая система" означает гетероциклическую, гетероциклическую или гетероарильную группу, как описано в данном документе, которая содержит углеродные атомы и от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S, и включая любую бициклическую или трициклическую группу, в которой любое из вышеописанных гетероциклических колец слито с одной или более гетероциклической, арильной или циклоалкильной группами. Гетероатомы азота и серы могут быть факультативно окисленными. Гетероциклическое кольцо может присоединяться к группе на своей боковой цепи при любом гетероатоме или атоме углерода, что приводит к устойчивой структуре. Гетероциклические кольца, описанные в данном документе, могут быть замещенными на атом углерода или азота.

Примеры гетероциклов включают, но не ограничиваясь 1H-индазол, 2-пирролидонил, 2H,6H-1,5,2-дигидроиндазол, 2H-пирролил, 3H-индолил, 4-пиперидонил, 4aH-карбазол, 4H-хинолизинил, 6H-1,2,5-триазаинил, акридинил, азоксинил, бензимидазол, бензофуранил, бензотиазофуранил, бензотиазофенил, бензоксазолинил, бензоксазолил, бензотиазолил, бензотриазолил, бензотетразолил, бензизоксазолил, бензотиазолил, бензимидазолонил, карбазолил, 4aH-карбазолил, b-карболинил, хроманил, хроменил, циннолинил, декагидрохинолинил, 2H,6H-1,5,2-дигидроиндазол, дигидрофтор[2,3-b]тетрагидрофуран, фуранил, фуразанил, имидазолидинил, имидазолинил, имидазолил, 1H-индазолил, индоленил, индолинил, индолизинил, индолил, изатионил, изобензофуранил, изохроманил, изоиндазолил, изоиндолинил, изоиндолил, изохинолинил, изотазолил, изоксазолил, морфолинил, нафтиридинил, октагидроизохинолинил, оксадиазолил, 1,2,3-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил, 1,2,5-оксадиазолил, 1,3,4-оксадиазолил, оксазолидинил, оксазолил, оксазолидинилперимидинил, оксиндолил, фенаптридинил, фенантролинил, фенарсазинил, феназинил, фенотиазинил, феноксатиинил, феноксазинил, фталазинил, пиперазинил, пиперидинил, птеридинил, пиперидонил, 4-пиперидонил, птеридинил, пуринил, пиранил, пиразинил, пиразолидинил, пиразолинил, пиразолил, пиридазинил, пиридооксазол, пиридоимидазол, пиридоимидазол, пиридинил, пиридил, пиримидинил, пирролидинил, пирролинил, пирролил, хинозолинил, хинолинил, 4H-хинозинил, хиноксалинил,

хинуклидинил, карболинил, тетрагидрофуранил, тетрагидроизохинолинил, тетрагидрохинолинил, тетразолил, 6Н-1,2,5-тиадиазинил, 1,2,3-тиадиазолил, 1,2,4-тиадиазолил, 1,2,5-тиадиазолил, 1,3,4-тиадиазинил, тиантренил, тиазолил, тиенил, тиенотиазолил, тиенооксазолил, тиеноимидазолил, тиофенил, триазилил, 1,2,3-триазолил, 1,2,4-триазолил, 1,2,5-триазолил, 1,3,4-триазолил, ксантенил.

"Гетероцикленил" означает неароматическую моноциклическую или многоциклическую углеводородную кольцевую систему от приблизительно 3 до приблизительно 10 атомов, желательнее от приблизительно 4 до приблизительно 8 атомов, в которой один или более углеродных атомов в кольцевой системе является/являются гетеро элементом (элементами), отличным от углерода, например атомами азота, кислорода или серы, и которая содержит, по меньшей мере, одну двойную связь углерод-углерод или двойную связь углерод-азот. Кольцевые размеры колец кольцевой системы могут включать от 5 до 6 атомов кольца. Обозначение аза, окса или тиа как префикс перед гетероцикленилом означают, что, по меньшей мере, атом азота, кислорода или серы присутствует, соответственно, как кольцевой атом. Гетероцикленил может быть факультативно замещен одним или более заместителями, как определено здесь. Атом азота или серы гетероцикленила может также быть факультативно окислен до соответствующего N-оксида, S-оксида или S,S-диоксида. "Гетероцикленил", как используется в данном документе, включен в качестве примера и не ограничен описанным в Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A.Benjamin, New York, 1968), особенно главами 1, 3, 4, 6, 7 и 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 до настоящего времени), в частности тома 13, 14, 16, 19 и 28; и "J. Am. Chem. Soc.", 82:5566 (1960), содержание которых включено здесь ссылкой. Иллюстративные моноциклические азагетероцикленильные группы включают, но не ограничиваясь, 1,2,3,4-тетрагидропиридин, 1,2-дигидропиридил, 1,4-дигидропиридил, 1,2,3,6-тетрагидропиридин, 1,4,5,6-тетрагидропиримидин, 2-пирролинил, 3-пирролинил, 2-имидазолинил, 2-пиразолинил и подобные.

Иллюстративные оксагетероцикленильные группы включают, но не ограничиваясь, 3,4-дигидро-2Н-пиран, дигидрофуранил и фтордигидрофуранил. Иллюстративной многоциклической оксагетероцикленильной группой является 7-оксабицикло[2.2.1]гептенил.

"Гетероциклил" или "гетероциклоалкил" означает неароматическую насыщенную моноциклическую или многоциклическую кольцевую систему от приблизительно 3 до приблизительно 10 атомов углерода, желательнее от 4 до 8 атомов углерода, в которой один или более атомов углерода в кольцевой системе является/являются гетеро элементом (элементами), отличным от углерода, например азотом, кислородом или серой. Кольцевые размеры колец кольцевой системы могут включать от 5 до 6 кольцевых атомов. Обозначение аза, окса или тиа как префикс перед гетероциклилом означают, что, по меньшей мере, атом азота, кислорода или серы присутствует, соответственно, как кольцевой атом. Гетероциклил может быть факультативно замещен одним или более заместителями, которые могут быть одинаковыми или различными и являются такими как определено здесь. Атом азота или серы гетероциклила может также быть факультативно окислен до соответствующего N-оксида, S-оксида или S,S-диоксида.

"Гетероциклил", как используется в данном документе, включен в качестве примера и не ограничен описанным в Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A.Benjamin, New York, 1968), особенно главами 1,3, 4, 6, 7 и 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 до

настоящего времени), в частности тома 13, 14, 16, 19 и 28; и "J. Am. Chem. Soc", 82:5566 (1960). Иллюстративные моноциклические гетероциклические кольца включают, но не ограничиваясь, пиперидил, пирролидинил, пиперазинил, морфолинил, тиоморфолинил, тиазолидинил, 1,3-диоксоланил, 1,4-диоксанил, тетрагидрофуранил, тетрагидротиофенил, тетрагидротиопиранил и подобные.

"Гетероарил" означает ароматическую моноциклическую или многоциклическую кольцевую систему от приблизительно 5 до приблизительно 10 атомов, в которой один или более атомов в кольцевой системе является/являются гетеро элементом (элементами), отличными от углерода, например азотом, кислородом или серой. Кольцевые размеры колец кольцевой системы включают от 5 до 6 кольцевых атомов. "Гетероарил" может также быть замещенным одним или более заместителями, которые могут быть одинаковыми или различными, и такими как определено здесь. Обозначение аза, окса или тиа как префикс перед гетероциклическим означают, что, по меньшей мере, атом азота, кислорода или серы присутствует, соответственно, как кольцевой атом. Атом азота гетероарила может быть факультативно окислен до соответствующего N-оксида.

Гетероарил, как используется в данном документе, включается в качестве примера и не ограничен описанным в Paquette, Leo A.; "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A.Benjamin, New York, 1968), особенно главами 1, 3, 4, 6, 7 и 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 до настоящего времени), в частности тома 13, 14, 16, 19 и 28; и "J. Am. Chem. Soc.", 82:5566 (1960). Иллюстративные гетероарильные и замещенные гетероарильные группы включают, но не ограничиваясь, пиразинил, тиенил, изотиазолил, оксазолил, пиразолил, фуразанил, пирролил, 1,2,4-тиадиазолил, пиридазинил, хиноксалинил, фталазинил, имидазо[1,2-а]пиридин, имидазо[2,1-б]тиазолил, бензофуразанил, азаиндолил, бензимидазолил, бензотиенил, тиенопиридил, тиенопиримидил, пирролопиридил, имидазопиридил, бензоазаиндол, 1,2,3-триазинил, 1,2,4-триазинил, 1,3,5-триазинил, бензтиазолил, диоксолил, фуранил, имидазолил, индолил, индолизинил, изоксазолил, изохинолинил, изотиазолил, оксадиазолил, оксазинил, оксиранил, пиперазинил, пиперидинил, пиранил, пиразинил, пиридазинил, пиразолил, пиридил, пиримидил, пирролил, пирролидинил, хиназолинил, хинолинил, тетразинил, тетразолил, 1,3,4-тиадиазолил, 1,2,3-тиадиазолил, 1,2,4-тиадиазолил, 1,2,5-тиадиазолил, тиатриазолил, тиазинил, тиазолил, тиенил, 5-тиоксо-1,2,4-диазолил, тиоморфолино, тиофенил, тиопиранил, триазолил и триазолонил.

Выражение "амино" означает радикал $-NH_2$, где один или оба атома водорода могут быть замещены факультативно замещенной углеводородной группой. Иллюстративные аминогруппы включают, но не ограничиваясь, n-бутиламино, трет-бутиламино, метилпропиламино и этилдиметиламино.

Выражение "циклоалкилалкил" означает циклоалкил-алкильную группу, где циклоалкил, как описано выше, связан посредством алкила, как определено выше. Циклоалкилалкильные группы могут содержать низшие алкильные части. Иллюстративные циклоалкилалкильные группы включают, но не ограничиваясь, циклопропилметил, циклопентилметил, циклогексилметил, циклопропилэтил, циклопентилэтил, циклогексилпропил, циклопропилпропил, циклопентилпропил, и циклогексилпропил.

Выражение "арилалкил" означает арильную группу, как описано выше, связанную посредством алкила, как определено выше.

Выражение "гетероарилалкил" означает гетероарильную группу, как описано выше, связанную посредством алкила, как определено выше.

Выражение "гетероциклилалкил" или "гетероциклоалкилалкил" означает гетероциклильную группу, как описано выше, связанную посредством алкила, как определено выше.

5 Выражения "галоген", "гало" или "гал", как используется в данном документе, одни или в составе другой группы, означает хлор, бром, фтор и йод.

Выражение "галоалкил" означает гало группу, как описано выше, связанную посредством алкила, как определено выше. Фторалкил является иллюстративной группой.

10 Выражение "аминоалкил" означает аминогруппу, как определено выше, связанную посредством алкила, как определено выше.

Фраза "бициклическая слитая кольцевая система, где, по меньшей мере, одно кольцо частично насыщено" означает 8-13-членную слитую бициклическую кольцевую группу, в которой, по меньшей мере, одно из колец не ароматическое. Кольцевая группа имеет атомы углерода и факультативно 1-4 гетероатома, независимо выбранных из N, O и S.
15 Иллюстративные примеры включают, но не ограничиваясь, ииданил, тетрагидронафтил, тетрагидрохинолил и бензоциклогептил.

Фраза "трициклическая слитая кольцевая система, где, по меньшей мере, одно кольцо частично насыщено" означает 9-18-членную слитую трициклическую кольцевую группу, в которой, по меньшей мере, одно из колец не ароматическое. Кольцевая группа имеет атомы углерода и факультативно 1-7 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S.
20 Иллюстративные примеры включают, но не ограничиваясь, фтор, 10,11-дигидро-5H-дibenzo[a,d]циклогептен и 2,2a,7,7a-тетрагидро-1H-циклобута[a]инден.

Выражение "изотопное обогащение" относится к способу, при котором изменили относительный избыток изотопа данного элемента, таким образом, образуя форму
25 элемента, которая была обогащена одним конкретным изотопом, и истощена в своих других изотопных формах.

Выражение "фармацевтически приемлемые соли" относится к производным раскрытых соединений, где исходное соединение модифицируют созданием его кислотных или основных солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей
30 включают, но не ограничиваясь, соли минеральной или органической кислоты основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и подобные. Фармацевтически приемлемые соли включают стандартные нетоксичные соли или четвертичные аммониевые соли исходного соединения, образованного, например, из нетоксичных неорганических или органических
35 кислот. Например, такие стандартные нетоксичные соли включают производные неорганических кислот, таких как, но не ограничиваясь, хлористоводородная, бромистоводородная, серная, сульфаминовая, фосфорная, азотная и подобные; и соли, полученные из органических кислот, таких как, но не ограничиваясь, уксусная, пропионовая, янтарная, гликолевая, стеариновая, молочная, яблочная, виннокаменная,
40 лимонная, аскорбиновая, памовая, малеиновая, гидроксималеиновая, фенилуксусная, глутаминовая, бензойная, салициловая, сульфаниловая, 2-ацетоксибензойная, фумаровая, толуолсульфоновая, метансульфоновая, этилсульфоновая, оксалиновая, изетионовая и подобные. Фармацевтически приемлемые соли включают дейтерированные соли органической кислоты основных остатков, таких как амины; щелочные или органические
45 соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и подобные.

Фармацевтически приемлемые соли данного изобретения можно синтезировать из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную часть, обычными химическими способами. Обычно, такие соли можно получить реакцией свободных

кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе, или в смеси двух. Органические растворители включают, но не ограничиваясь, неводную среду, такую как эфиры, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Списки 5 подходящих солей обеспечены в Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990, p.1445, раскрытие которого включено здесь ссылкой.

Фраза "фармацевтически приемлемый" означает те соединения, материалы, композиции и/или лекарственные формы, которые, в пределах объема результатов 10 тщательной медицинской оценки, подходящие для применения при контакте с тканями людей и животных без избыточной токсичности, раздражения, аллергического ответа, или другой проблемы или усложнения, соответствующего соотношению умеренной пользы/риска.

Выражение "N-оксид" означает соединения, которые можно получить известным способом реакцией соединения данного изобретения, включающего атом азота (такой 15 как в пиридилъной группе), с пероксидом водорода или перкислотой, такой как 3-хлорперокси-бензойная кислота, в инертном растворителе, таком как дихлорметан, при температуре приблизительно 10-80°C, желательно приблизительно 0°C.

Выражение "полиморф" означает форму химического соединения в конкретной кристаллической группировке. Определенные полиморфы могут проявлять усиленную 20 термодинамическую стабильность и могут быть более подходящими, чем другие полиморфные формы для включения в фармацевтические составы. Соединения с водородами, замещенными дейтерием, могут формировать полиморфы, которые могут усиливать их свойства растворимости и/или биологической доступности.

Соединения данного изобретения могут содержать один или более хиральных центров 25 и/или двойные связи и, следовательно, существовать как стереоизомеры, такие как изомеры с двойной связью (т.е. геометрические изомеры), энантиомеры или диастереомеры. По данному изобретению химические структуры, изображенные здесь, и, следовательно, соединения данного изобретения, охватывают все соответствующие энантиомеры и стереоизомеры, а именно как в стехиометрически чистой форме 30 (например, геометрически чистой, энантиомерно чистой или диастереомерно чистой), так и энантиомерные, и стереоизомерные смеси.

Выражение "рацемическая смесь" означает смесь, которая состоит из приблизительно 50% 50% одного энантиомера и приблизительно 50% соответствующего энантиомера относительно всех хиральных центров в молекуле. Таким образом, данное изобретение 35 охватывает все энантиомерно-чистые, энантиомерно-обогащенные и рацемические смеси соединений формул (I) и (II).

Энантиомерные и стереоизомерные смеси соединений данного изобретения могут быть растворены в своих составных энантиомерах или стереоизомерах хорошо 40 известными способами. Примеры включают, но не ограничиваясь, образование хиральных солей и применение хиральной или высокоэффективной жидкостной хроматографии "HPLC", и образование и кристаллизацию хиральных солей. См., например, Jacques, J., et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S.H., et al., Tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel, E.L., Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); Wilen, S.H., Tables of Resolving Agents and 45 Optical Resolutions p.268 (E.L.Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, Ind., 1972); Stereochemistry of Organic Compounds, Ernest L. Eliel, Samuel H. Wilen and Lewis N. Manda (1994 John Wiley & Sons, Inc.), и Stereoselective Synthesis A Practical Approach, Mihaly Nogradi (1995 VCH Publishers, Inc., NY, N.Y.). Энантиомеры и стереоизомеры можно

также получить из стереомерно- или энантиомерно-чистых промежуточных соединений, реагентов и катализаторов хорошо известными ассиметричными синтетическими способами.

"Замещенный" предназначен, чтобы указывать, что один или более водородов на атоме, указанном в экспрессии, применяя "замещенный", замещен выбранным из 5 указанной группы (групп), обеспечивая то, что нормальная валентность указанного атома не превышена и что замещение приводит к устойчивому соединению. Когда заместителем является кето (т.е. =O) группа, тогда 2 водорода на атоме замещены.

Пока части соединения по данному изобретению определены как незамещенные, 10 части соединения могут быть замещенными. Вдобавок к любому заместителю, определенному выше, части соединений данного изобретения могут быть факультативно замещенными одной или более группами, независимо выбранными из:

C₁-C₄алкила;

C₂-C₄алкенила;

15 C₂-C₄алкинила;

CF₃;

гало;

ОН;

20 O-(C₁-C₄алкила);

OCH₂F;

OCHF₂;

OCF₃;

25 OC(O)-(C₁-C₄алкила);

OC(O)-(C₁-C₄алкила);

OC(O)NH-(C₁-C₄алкила);

OC(O)N(C₁-C₄алкила)₂;

30 OC(S)NH-(C₁-C₄алкила);

OC(S)N(C₁-C₄алкила)₂;

SH;

S-(C₁-C₄алкила);

35 S(O)-(C₁-C₄алкила);

S(O)₂-(C₁-C₄алкила);

SC(O)-(C₁-C₄алкила);

SC(O)O-(C₁-C₄алкила);

NH₂;

40 N(H)-(C₁-C₄алкила);

N(C₁-C₄алкила)₂;

N(H)C(O)-(C₁-C₄алкила);

N(CH₃)C(O)-(C₁-C₄алкила);

45 N(H)C(O)-CF₃;

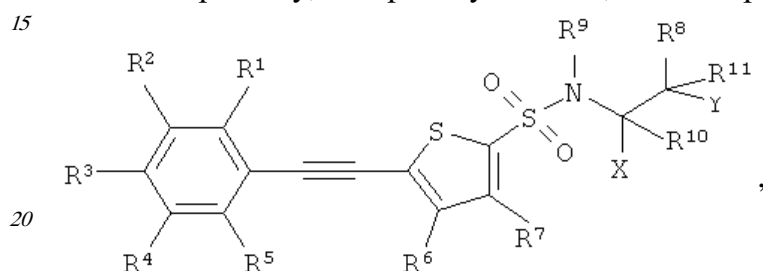
N(CH₃)C(O)-CF₃;

N(H)C(S)-(C₁-C₄алкила);

$N(CH_3)C(S)-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(H)S(O)_2-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(H)C(O)NH_2;$
5 $N(H)C(O)NH-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(CH_3)C(O)NH-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(H)C(O)N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
 $N(CH_3)C(O)N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
10 $N(H)S(O)_2NH_2;$
 $N(H)S(O)_2NH-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(CH_3)S(O)_2NH-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(H)S(O)_2N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
15 $N(CH_3)S(O)_2N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
 $N(H)C(O)O-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(CH_3)C(O)O-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(H)S(O)_2O-(C_1-C_4\text{алкила});$
20 $N(CH_3)S(O)_2O-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(CH_3)C(S)NH-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $N(CH_3)C(S)N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
 $N(CH_3)C(S)O-C_1-C_4\text{алкила};$
25 $N(H)C(S)NH_2;$
 $NO_2;$
 $CO_2H;$
 $CO_2-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $C(O)N(H)OH;$
30 $C(O)N(CH_3)OH;$
 $C(O)N(CH_3)OH;$
 $C(O)N(CH_3)O-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $C(O)N(H)-(C_1-C_4\text{алкила});$
35 $C(O)N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
 $C(S)N(H)-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $C(S)N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
 $C(NH)N(H)-(C_1-C_4\text{алкила});$
40 $C(NH)N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
 $C(NCH_3)N(H)-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $C(NCH_3)N(C_1-C_4\text{алкила})_2;$
 $C(O)-(C_1-C_4\text{алкила});$
45 $C(NH)-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $C(NCH_3)-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $C(NOH)-(C_1-C_4\text{алкила});$
 $C(NOCH_3)-(C_1-C_4\text{алкила});$

CN;
 CHO;
 CH₂OH;
 CH₂O-(C₁-C₄алкила);
 5 CH₂NH₂;
 CH₂N(H)-(C₁-C₄алкила);
 CH₂N(C₁-C₄алкила)₂;
 арила;
 10 гетероарила;
 циклоалкила; и
 гетероциклила.

В одном варианте осуществления данного изобретения соединения, ингибирующие металлопротеазу, содержащую алкин, можно представить общей Формулой (I)



(I)

где все переменные в предыдущих формулах (I) определены здесь ниже.

25 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R¹⁰ и R¹¹ независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, гало, алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, бициклоалкил, гетеробициклоалкил, спироалкил, спирогетероалкил, арил, гетероарил, слитый с циклоалкилом арил, слитый с гетероциклоалкилом арил, слитый с циклоалкилом гетероарил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарил, циклоалкилалкил,

30 гетероциклоалкилалкил, бициклоалкилалкил, гетеробициклоалкилалкил, спироалкилалкил, спирогетероалкилалкил, арилалкил, гетероарилалкил, слитый с циклоалкилом арилалкил, слитый с гетероциклоалкилом арилалкил, слитый с циклоалкилом гетероарилалкил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил,

35 гидроксид, алкокси, алкенил, алкинил, NO₂, NR⁹R⁹, NR⁹NR⁹R⁹, NR⁹N=CR⁹R⁹, NR⁹SO₂R⁹, CN, C(O)OR⁹ и фторалкил; где алкил, циклоалкил, алкокси, алкенил, алкинил и фторалкил факультативно замещены один или более раз, и слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил факультативно замещен один или более раз;

X независимо выбран из группы, включающей COOH, PO₃H, COOD и PO₃D;

40 Y независимо выбран из группы, включающей водород, алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, бициклоалкил, гетеробицикло, гетеробициклоалкил, спироалкил, спирогетероалкил, арил, гетероарил, слитый с циклоалкилом арил, слитый с гетероциклоалкилом арил, слитый с циклоалкилом гетероарил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарил, циклоалкилалкил, гетероциклоалкилалкил,

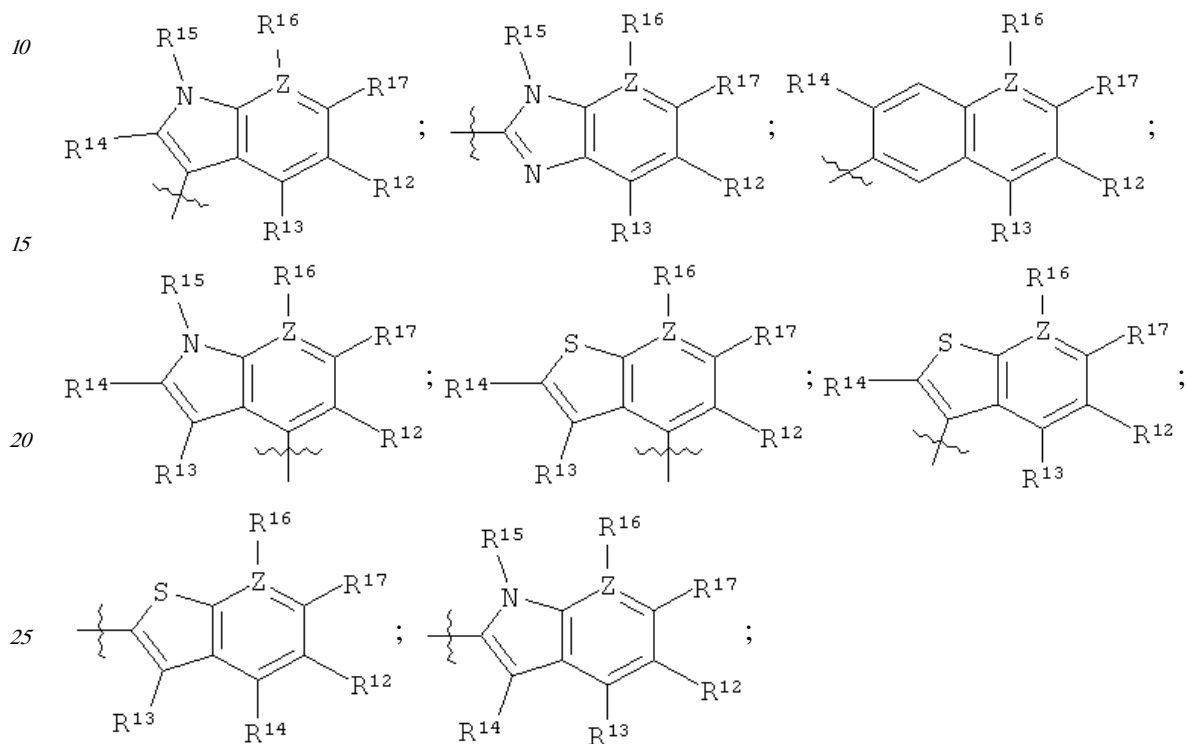
45 бициклоалкилалкил, гетеробициклоалкилалкил, спироалкилалкил, спирогетероалкилалкил, арилалкил, гетероарилалкил, слитый с циклоалкилом арилалкил, слитый с гетероциклоалкилом арилалкил, слитый с циклоалкилом гетероарилалкил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил, фторалкил,

фторбицикло и фторгетеробицикло; и

R^9 независимо выбран из группы, включающей водород, дейтерий, алкил, циклоалкил, гетероарил, арилалкил и фторалкил; или

их N-оксиды, фармацевтически приемлемые соли, пролекарства, составы, полиморфы, таутомеры, рацемические смеси или стереоизомеры.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения Y может включать гетероарильную кольцевую систему. В соответствии с такими вариантами осуществления, Y может быть



где

каждый из R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} и R^{17} независимо выбран из группы, включающей водород, дейтерий, гало, алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, бициклоалкил, гетеробициклоалкил, спироалкил, спирогетероалкил, арил, гетероарил, слитый с циклоалкилом арил, слитый с гетероциклоалкилом арил, слитый с циклоалкилом гетероарил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарил, циклоалкилалкил, гетероциклоалкилалкил, бициклоалкилалкил, гетеробициклоалкилалкил, спироалкилалкил, спирогетероалкилалкил, арилалкил, гетероарилалкил, слитый с циклоалкилом арилалкил, слитый с гетероциклоалкилом арилалкил, слитый с циклоалкилом гетероарилалкил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил, гидроксид, алкокси, алкенил, алкинил, NO_2 , NR^9R^9 , $NR^9NR^9R^9$, $NR^9N=CR^9R^9$, $NR^9SO_2R^9$, CN, $C(O)OR^9$ и фторалкил; где алкил, циклоалкил, алкокси, алкенил, алкинил и фторалкил факультативно замещены один или более раз, и слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил факультативно замещен один или более раз;

R^9 независимо выбран из группы, включающей водород, дейтерий, алкил, циклоалкил, гетероарил, арилалкил и фторалкил;

R^{15} независимо выбран из группы, включающей водород, дейтерий, метил, алкил, трифторметил, тридейтерийметил и фторалкил; и

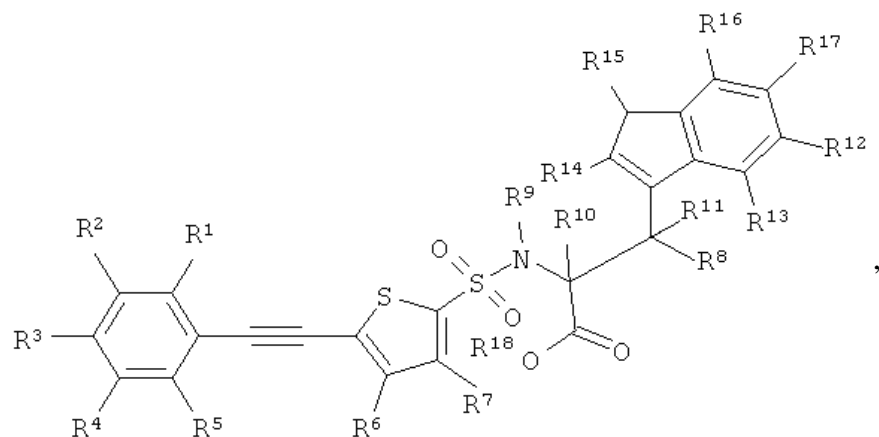
Z представляет собой независимо C или N;

(1) где Z представляет собой C, R независимо выбран из группы, включающей водород, дейтерий, гало, алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, бициклоалкил, гетеробициклоалкил, спироалкил, спирогетероалкил, арил, гетероарил, слитый с циклоалкилом арил, слитый с гетероциклоалкилом арил, слитый с циклоалкилом гетероарил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарил, циклоалкилалкил, гетероциклоалкилалкил, бициклоалкилалкил, гетеробициклоалкилалкил, спироалкилалкил, спирогетероалкилалкил, арилалкил, гетероарилалкил, слитый с циклоалкилом арилалкил, слитый с гетероциклоалкилом арилалкил, слитый с циклоалкилом гетероарилалкил, слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил, алкенил, алкинил, NO₂, NR⁹R⁹, NR⁹NR⁹R⁹, NR⁹N=CR⁹R⁹, NR⁹SO₂R⁹, CN, C(O)OR⁹ и фторалкил, где алкил, циклоалкил, алкокси, алкенил, алкинил и фторалкил факультативно замещены один или более раз, и слитый с гетероциклоалкилом гетероарилалкил факультативно замещен один или более раз; или

(2) где Z представляет собой N, R¹⁶ не является атомом или связью.

их N-оксидами, фармацевтически приемлемыми солями, пролекарствами, составами, полиморфами, таутомерами, рацемическими смесями или стереоизомерами.

В другом варианте осуществления данного изобретения соединения, ингибирующие металлопротеазу, содержащую алкин, можно представить общей формулой (II)



(II)

где

каждый из R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ и R¹⁷ независимо выбран из группы, включающей дейтерий, водород, алкил и дейтероалкил;

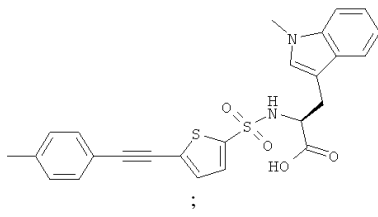
R¹⁸ независимо выбран из группы, включающей водород, дейтерий, алкил, дейтероалкил, натрий и калий; или

их N-оксидами, фармацевтически приемлемыми солями, пролекарствами, составами, полиморфами, таутомерами, рацемическими смесями или стереоизомерами.

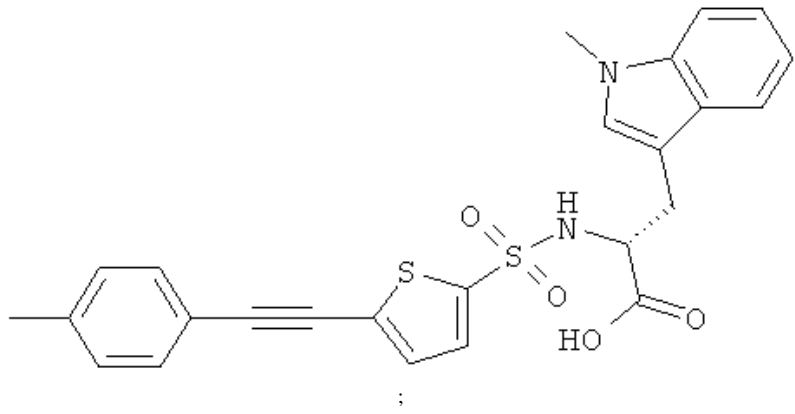
Предполагалось, что соединения данного изобретения, представленные формулами, описанными выше, включают все диастереомеры и энантиомеры, а также рацемические смеси. Рацемические смеси можно разделить повторным растворением хиральной соли или хиральной колоночной HPLC хроматографией.

Конкретней, соединения Формул (I) и (II) можно выбрать из, но не ограничиваясь, следующего:

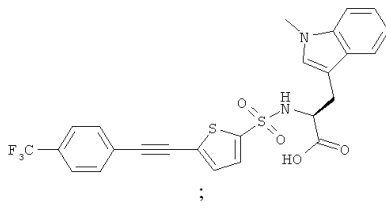
5



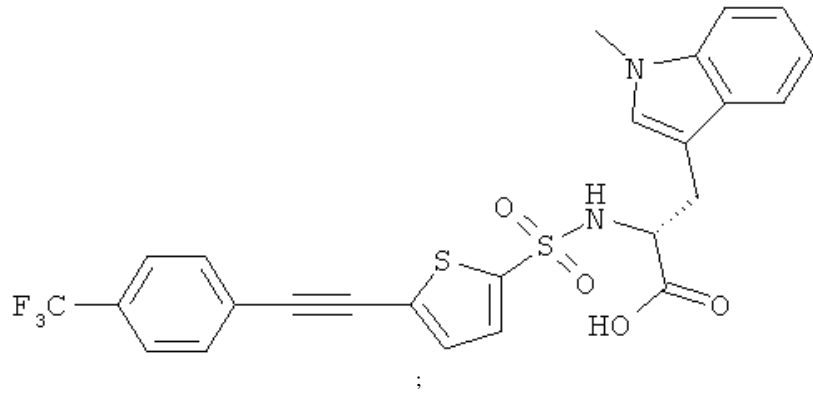
10



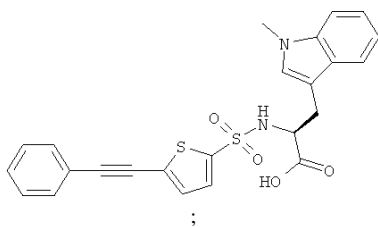
15



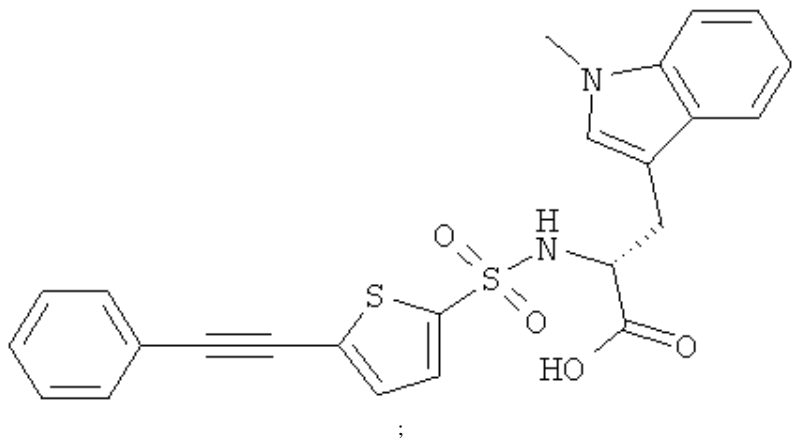
20



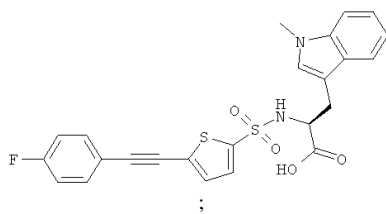
25



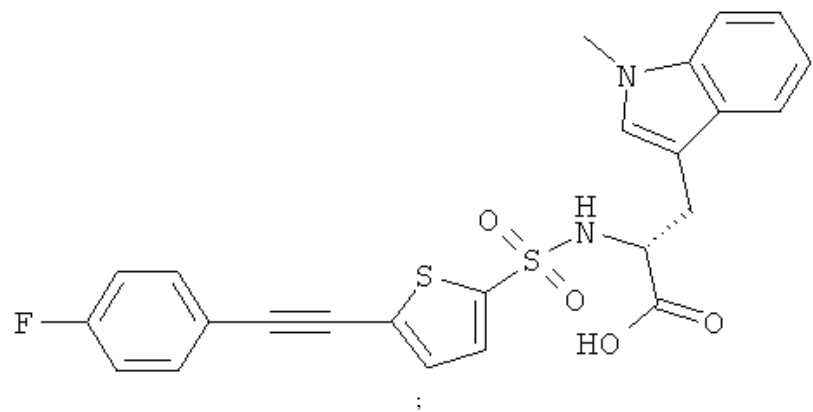
30



35

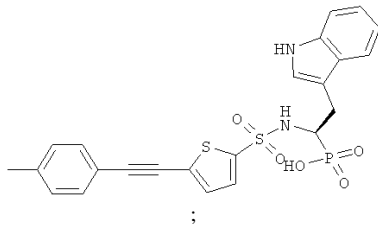


40

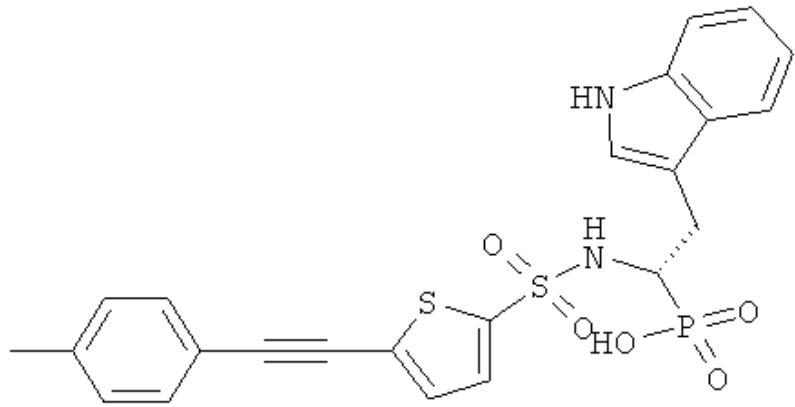


45

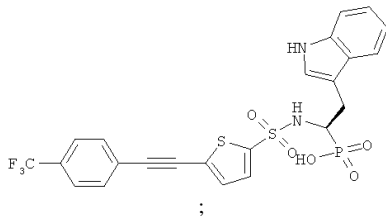
5



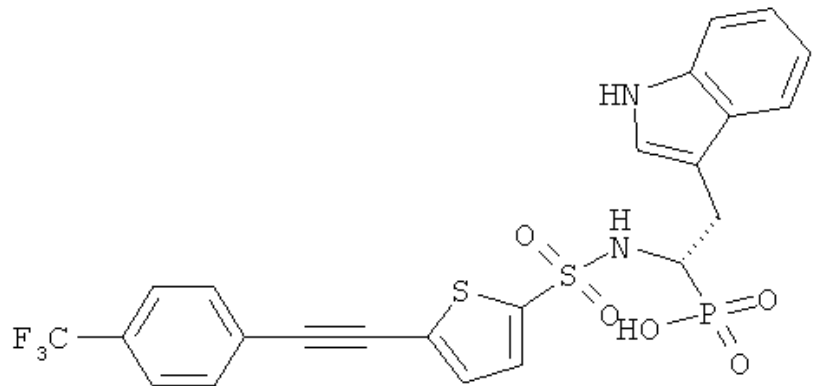
10



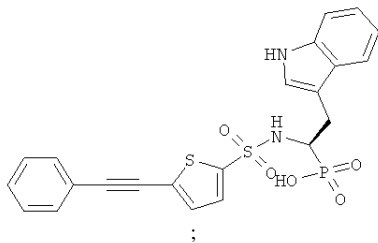
15



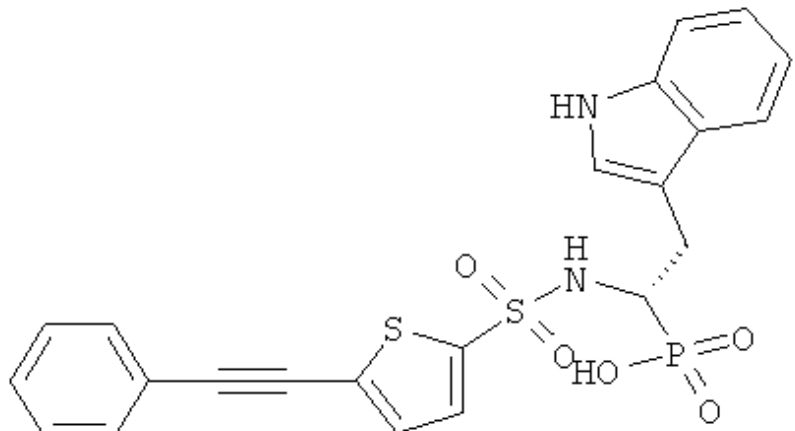
20



25

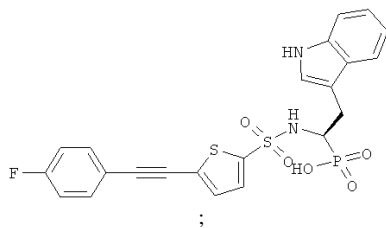


30

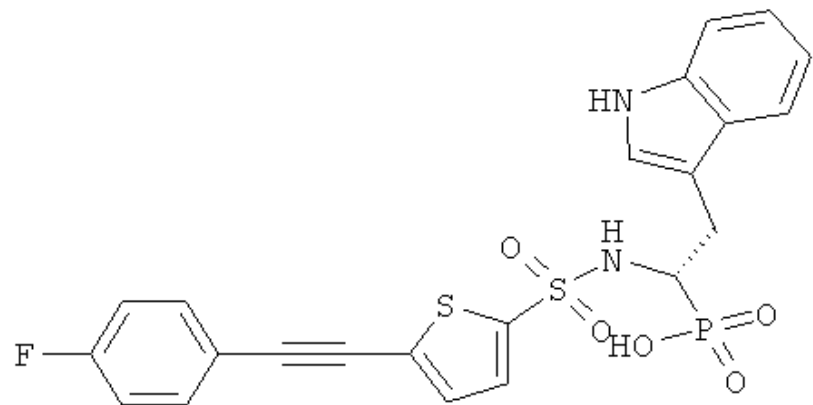


35

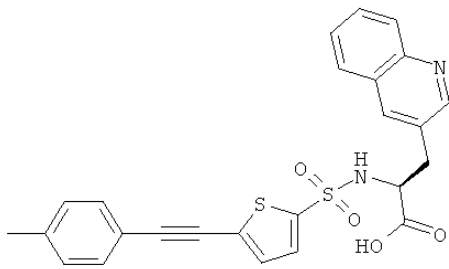
40



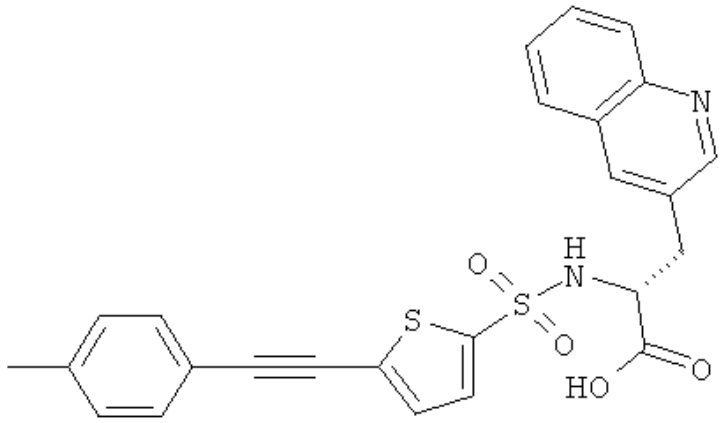
45



5

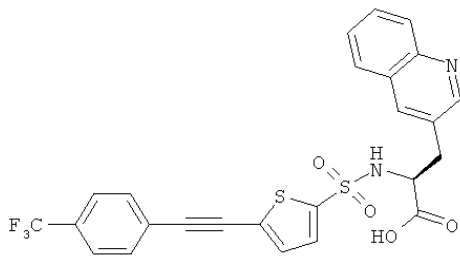


10

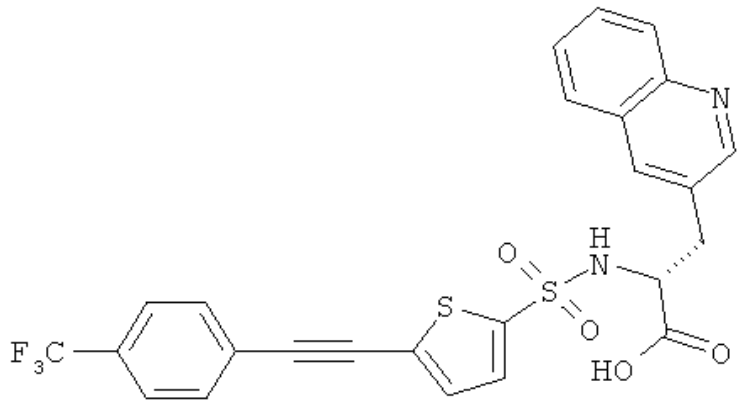


;

15

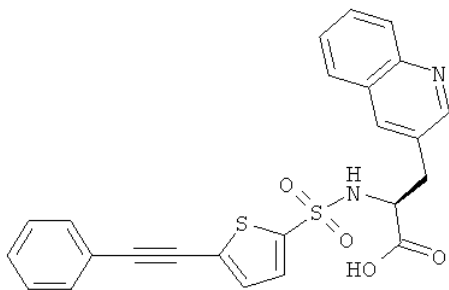


20

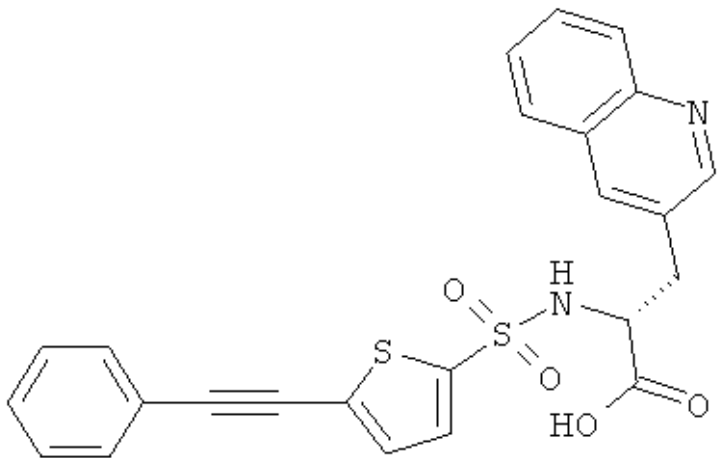


;

25



30



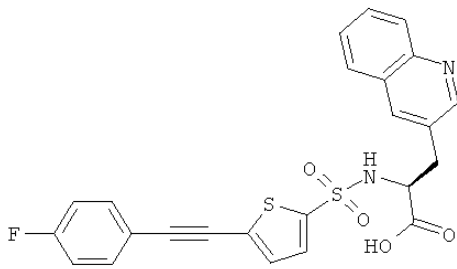
35

;

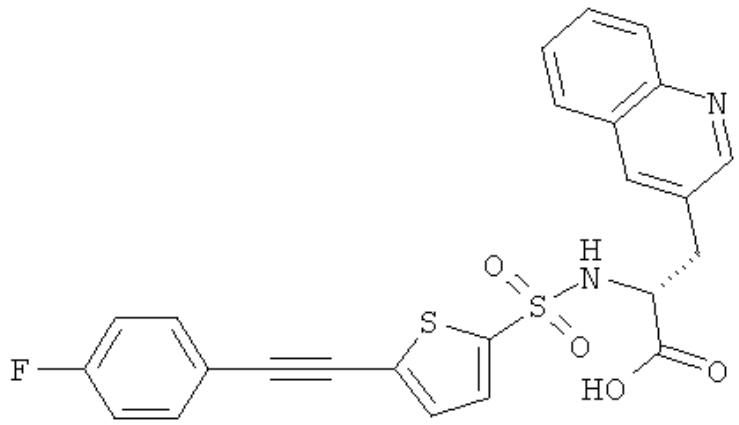
40

45

5

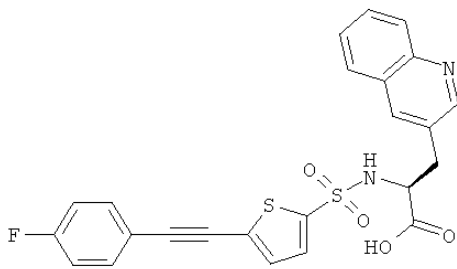


10

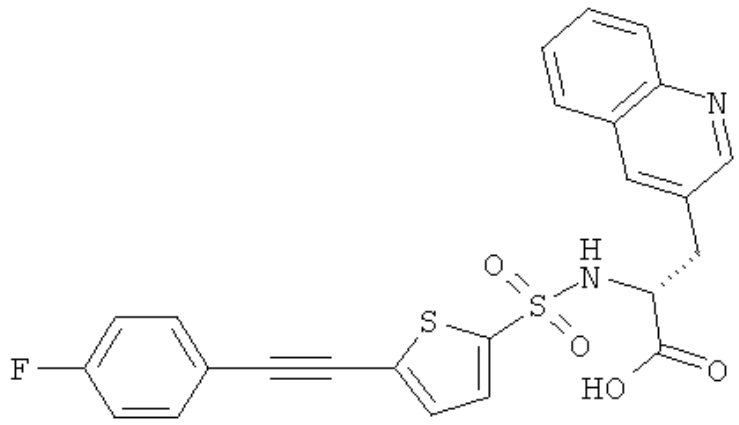


;

15



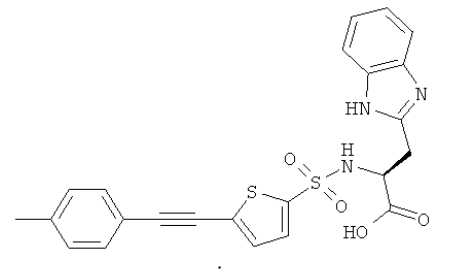
20



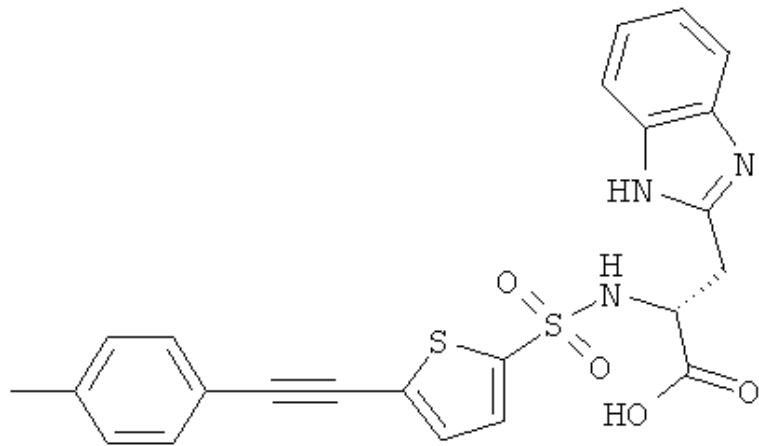
;

25

30



35

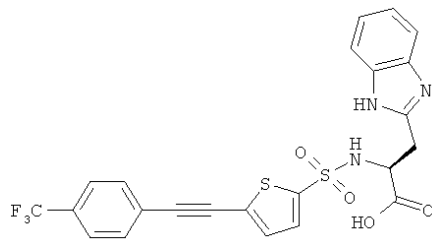


;

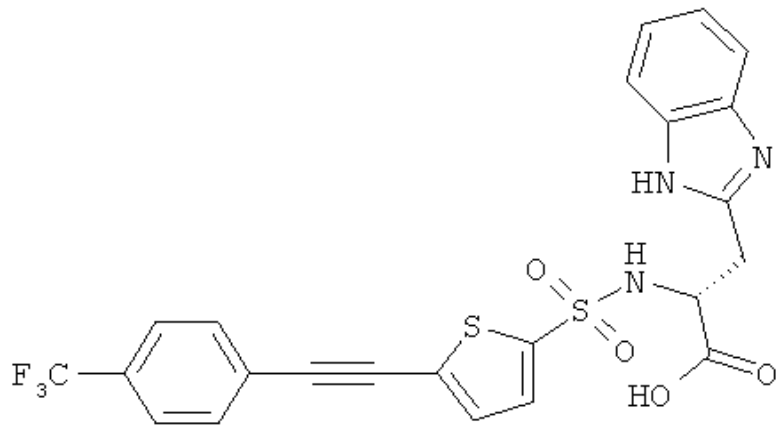
40

45

5

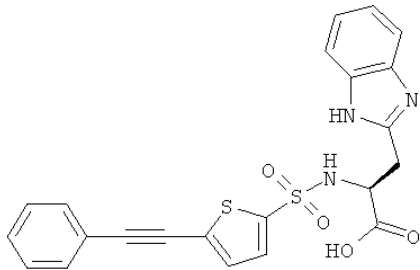


10

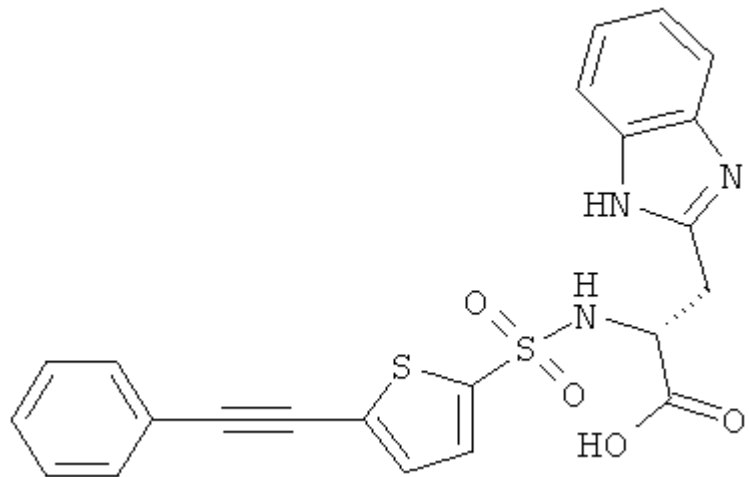


;

15



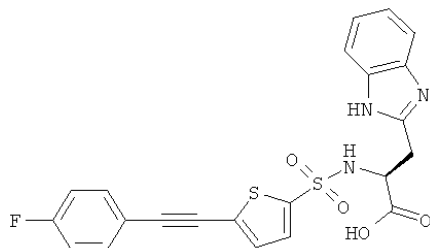
20



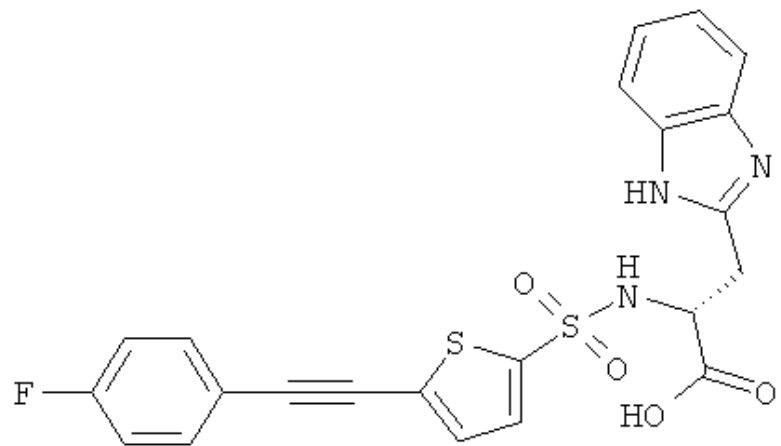
;

25

30



35

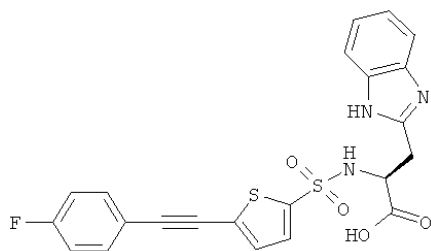


;

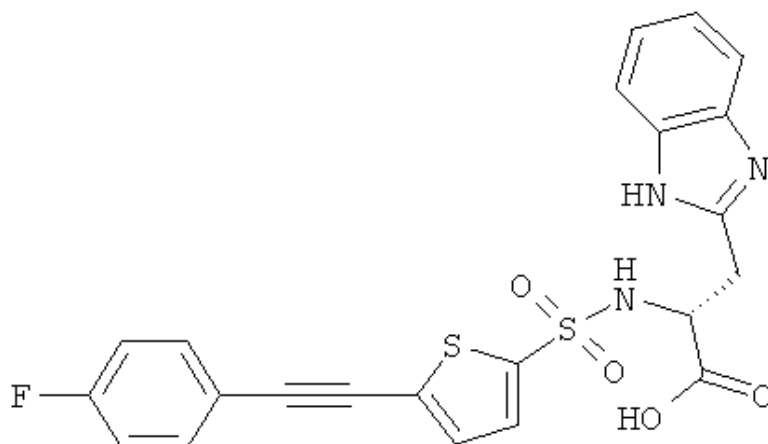
40

45

5

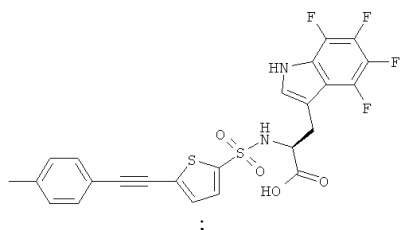


10

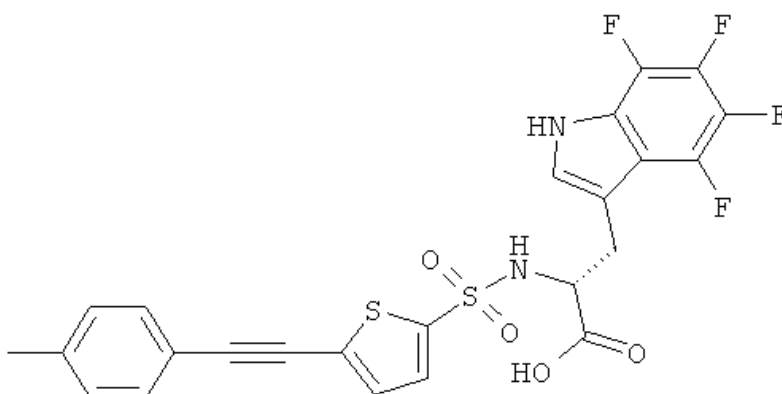


;

15

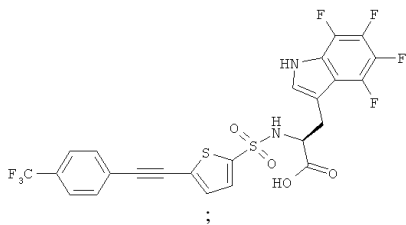


20

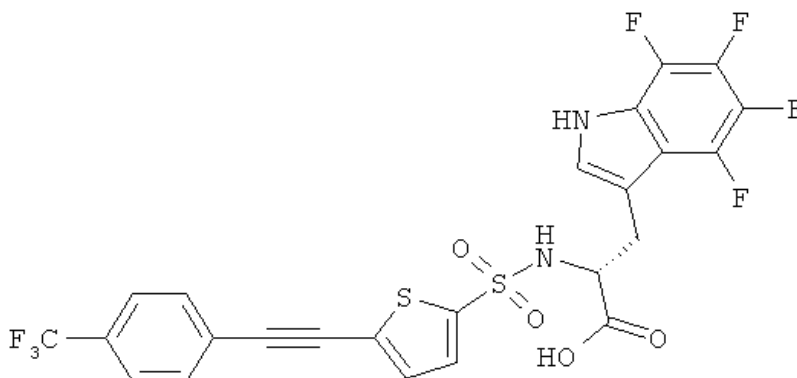


;

25

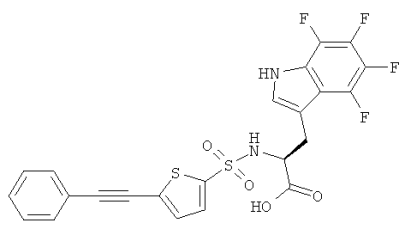


30

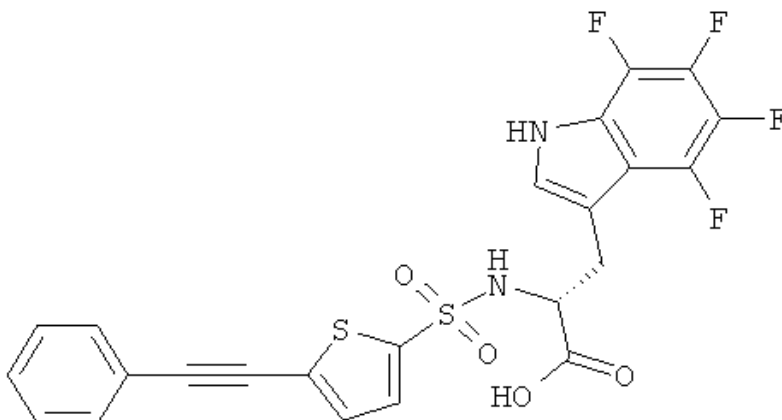


;

35



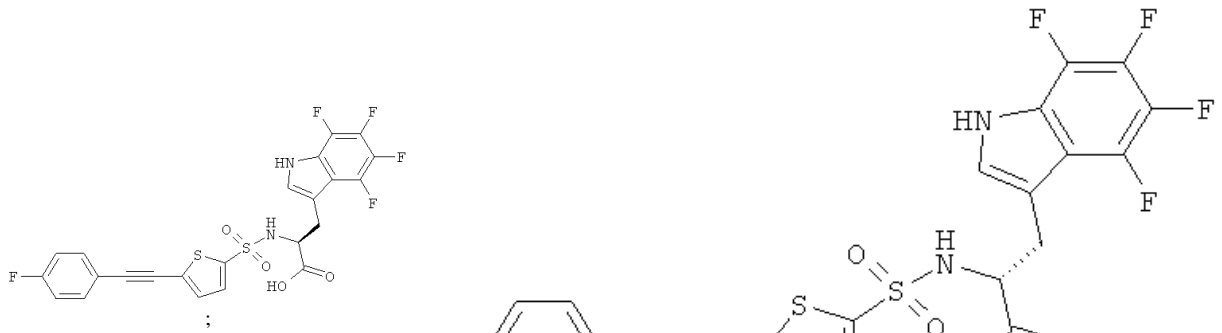
40



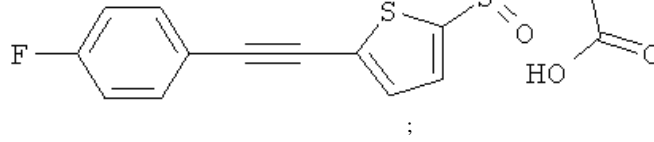
;

45

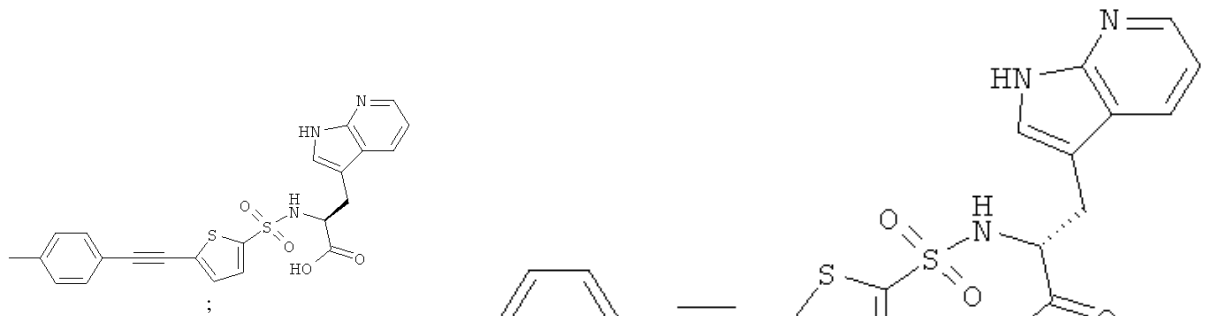
5



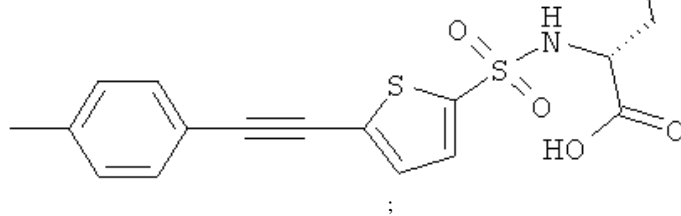
10



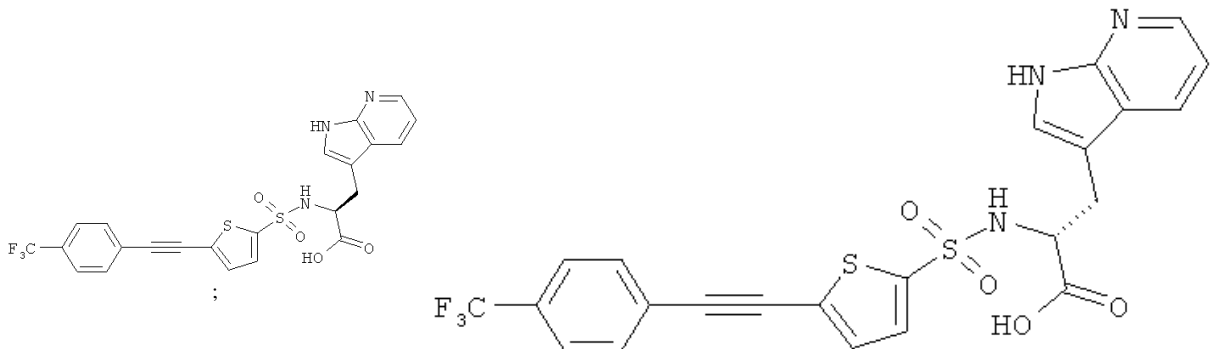
15



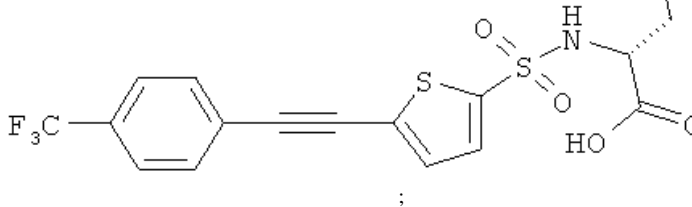
20



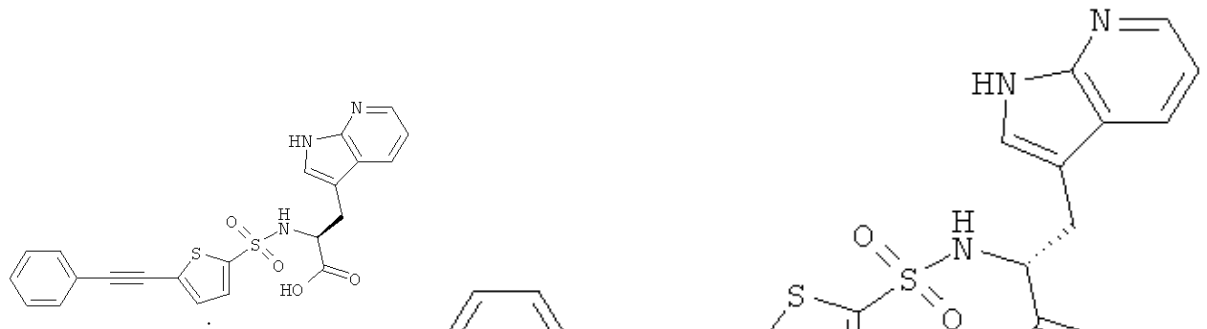
25



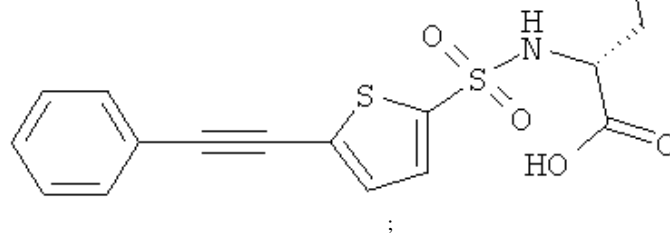
30



35

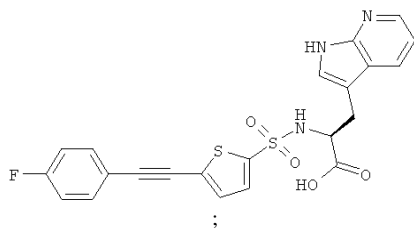


40

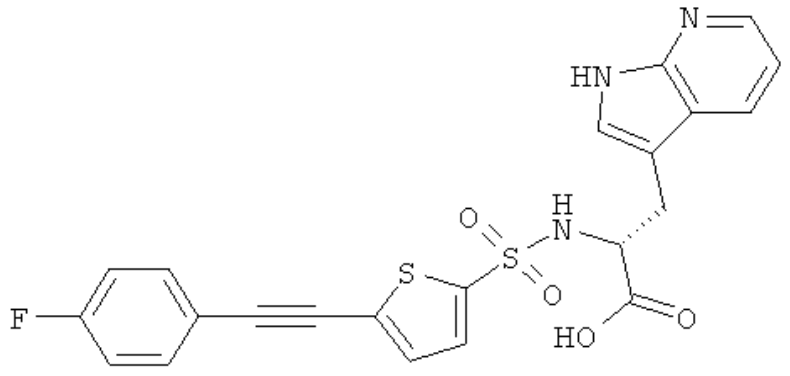


45

5



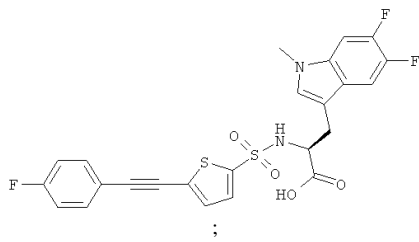
;



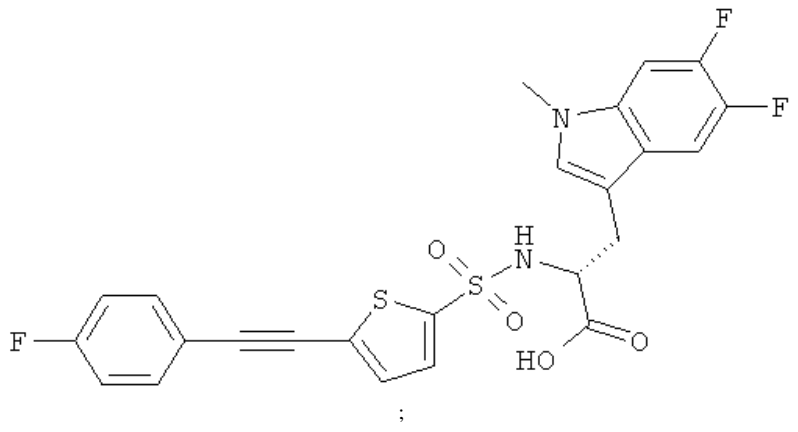
;

10

15



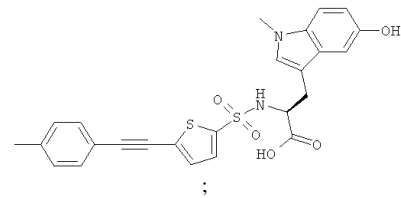
;



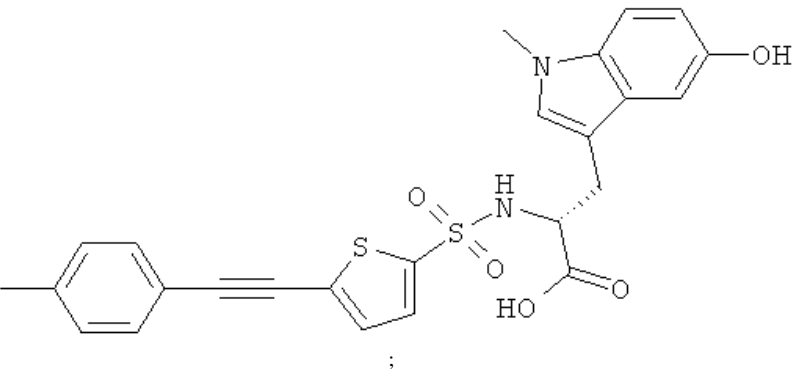
;

20

25



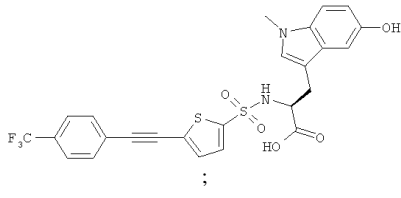
;



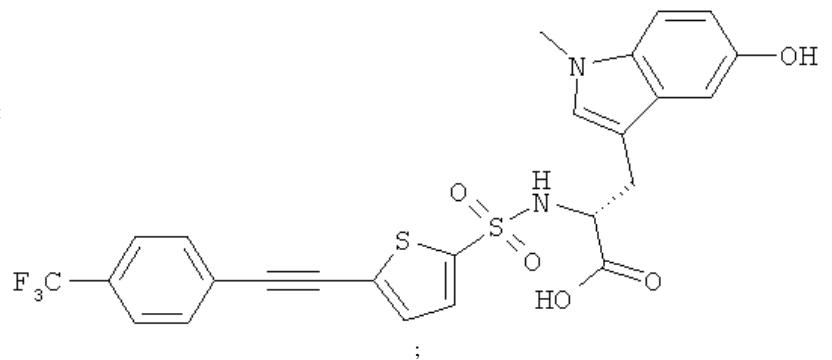
;

30

35



;

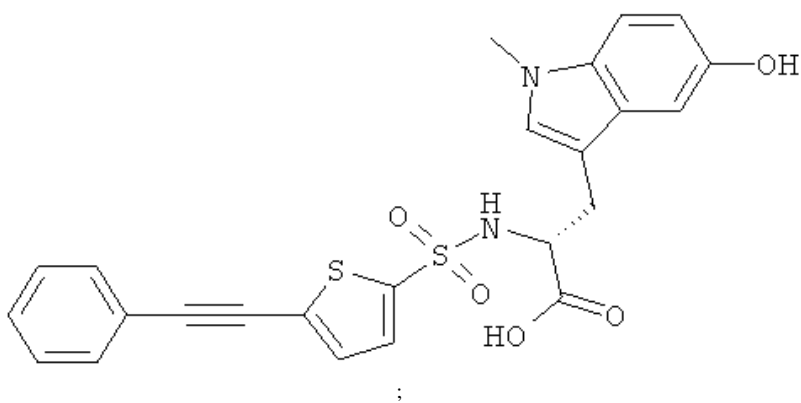
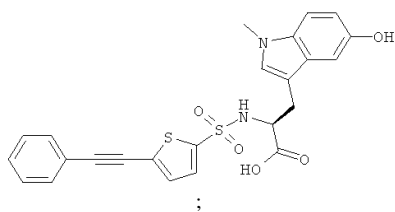


;

40

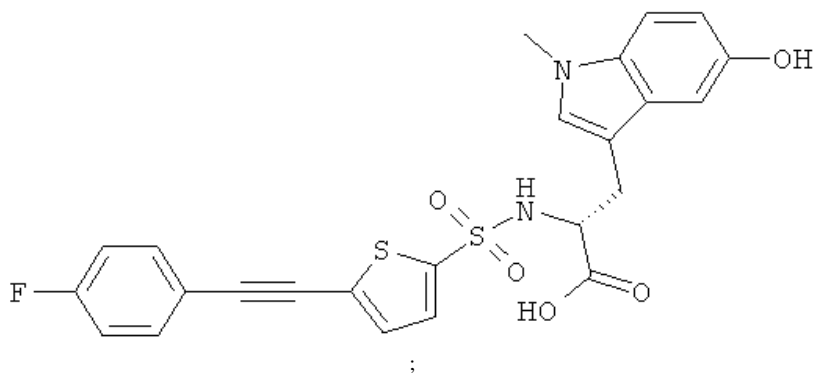
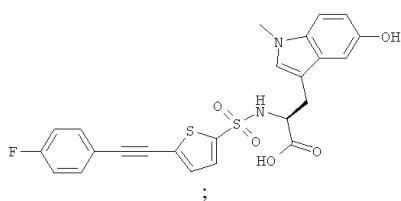
45

5



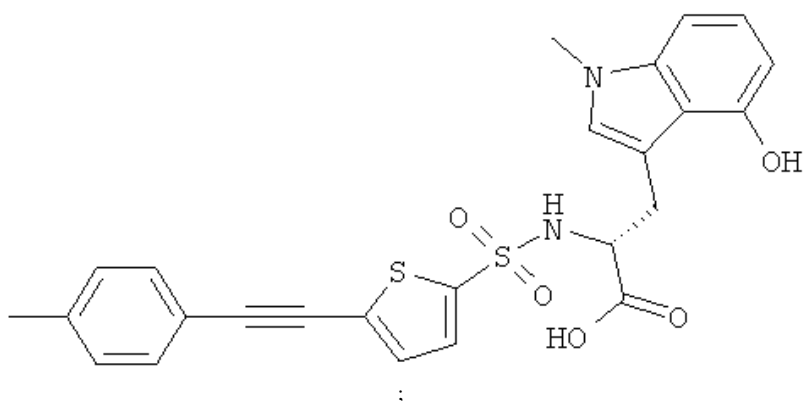
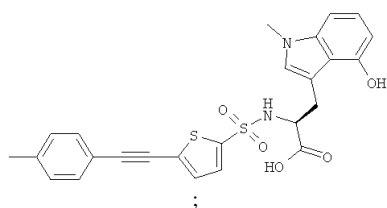
10

15



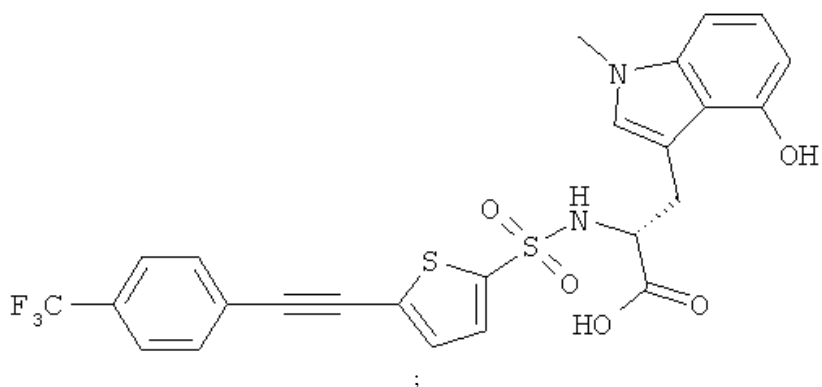
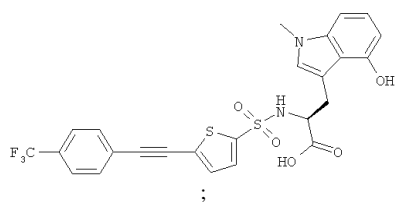
20

25



30

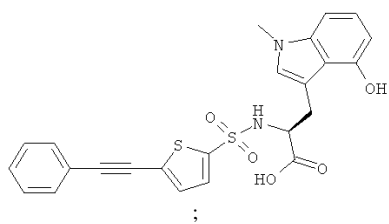
35



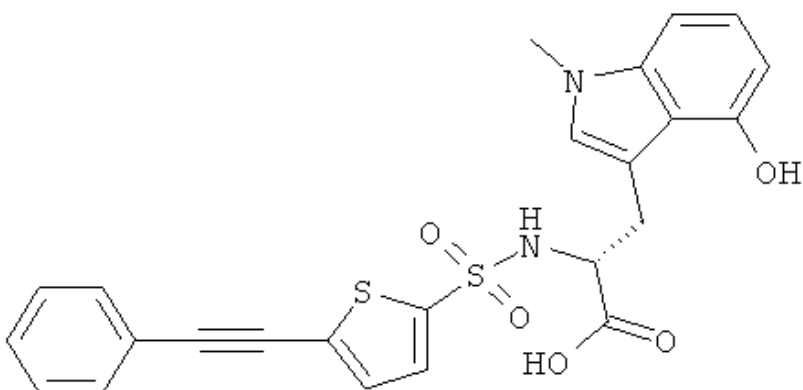
40

45

5



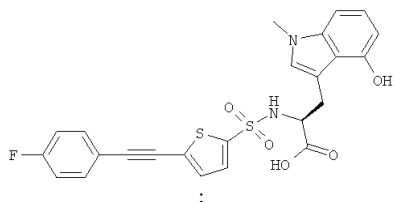
;



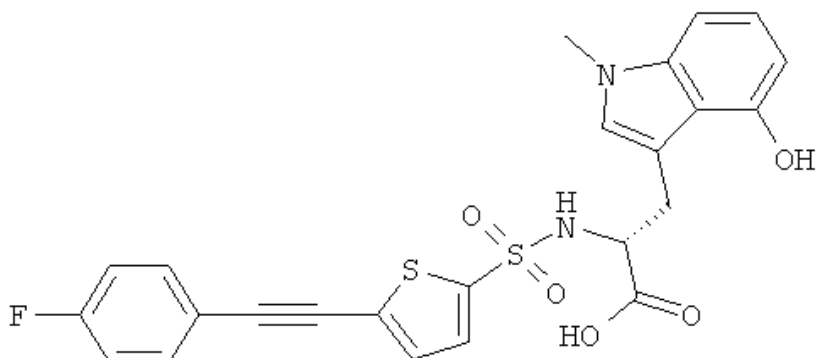
;

10

15



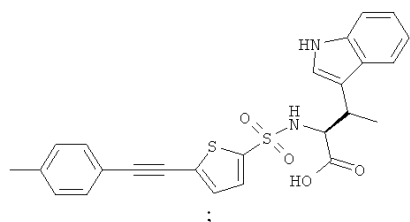
;



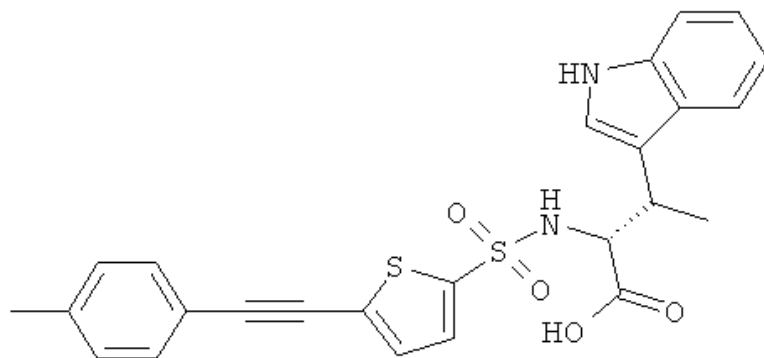
;

20

25



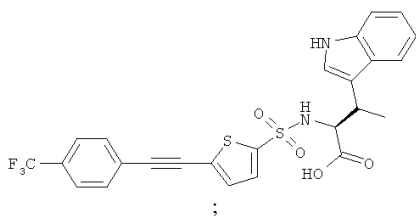
;



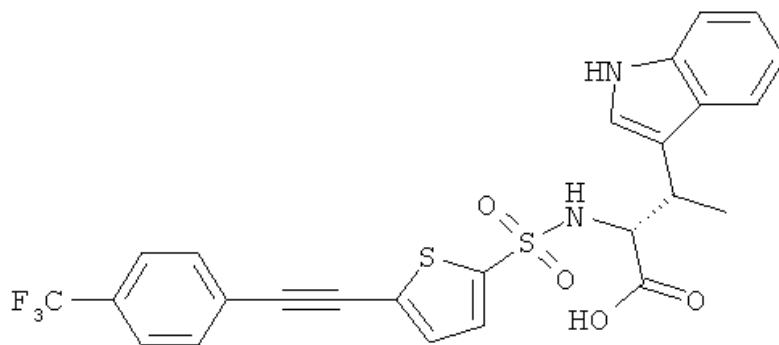
;

30

35



;

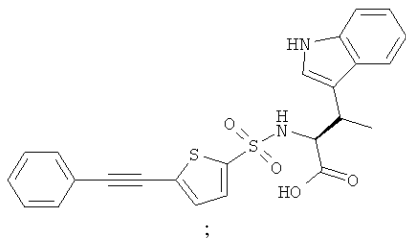


;

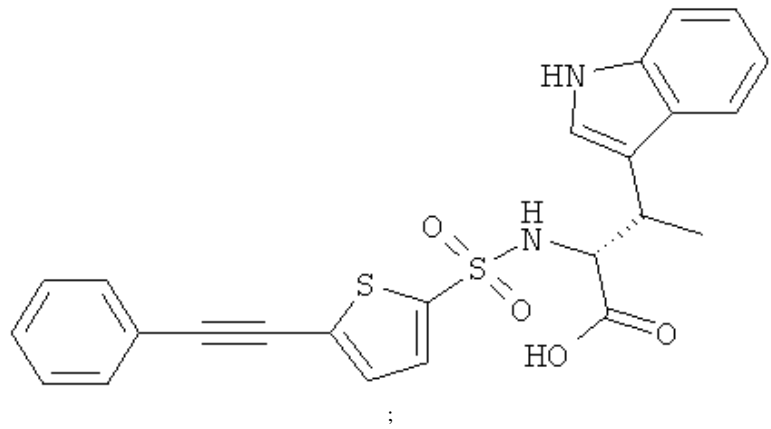
40

45

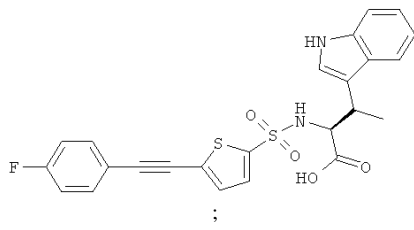
5



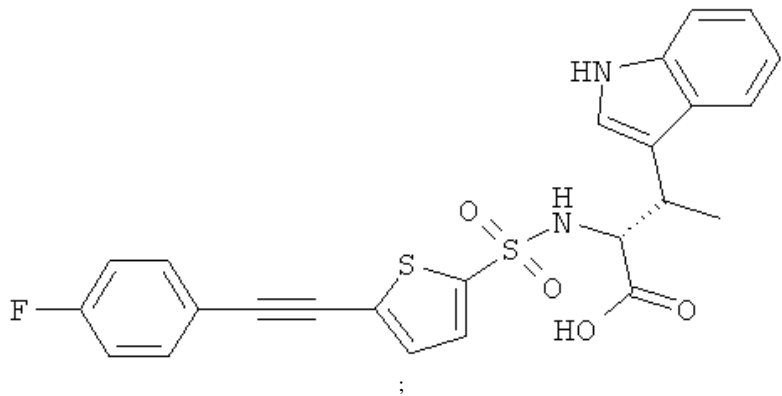
10



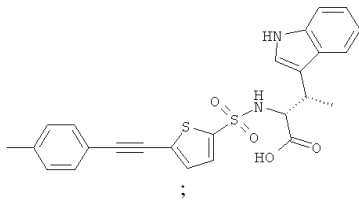
15



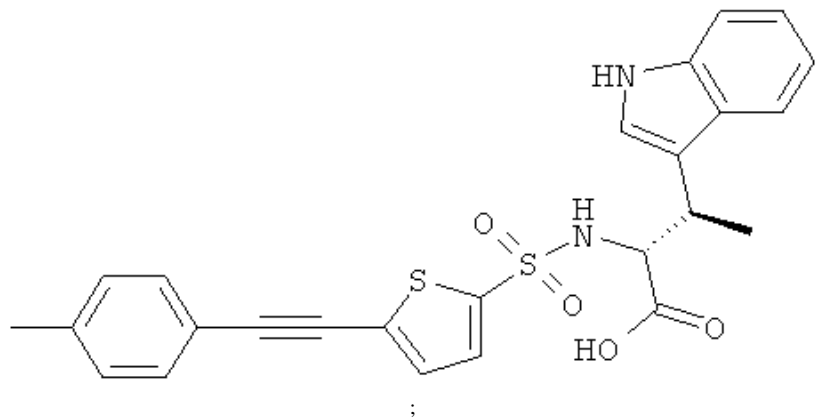
20



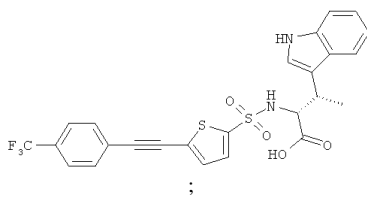
25



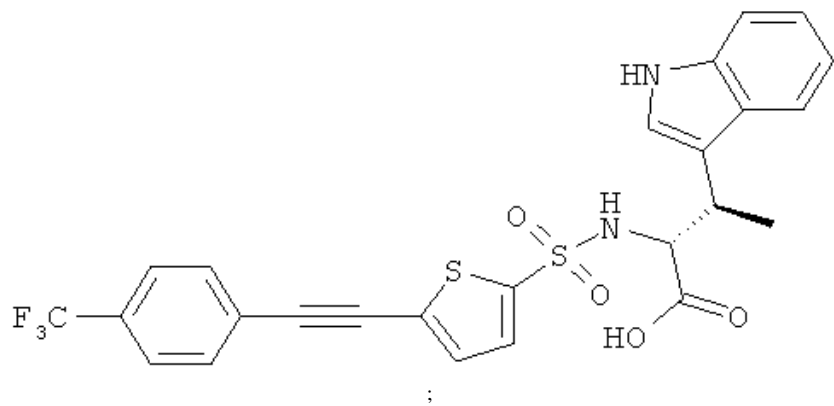
30



35

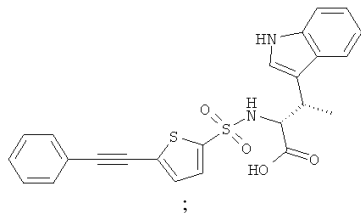


40

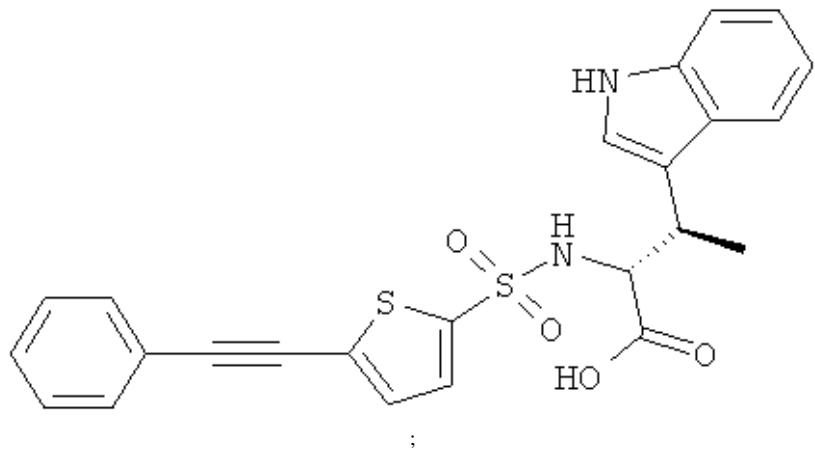


45

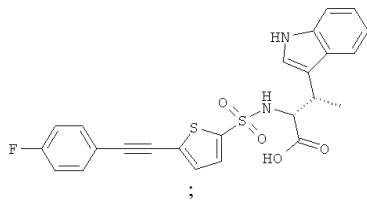
5



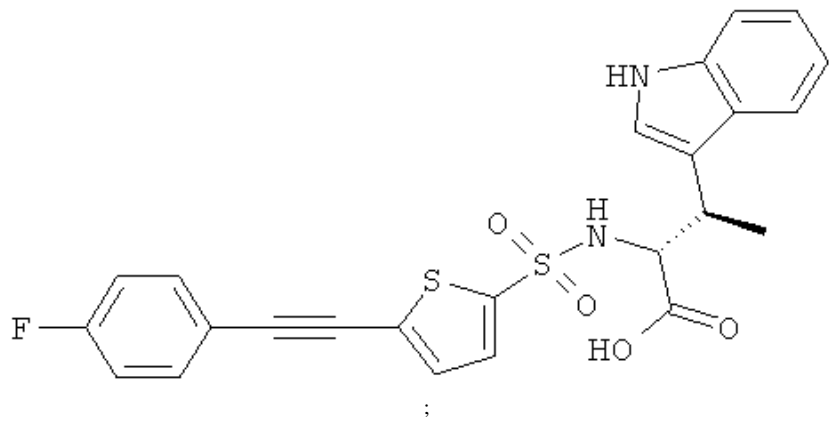
10



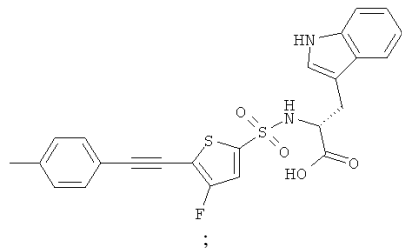
15



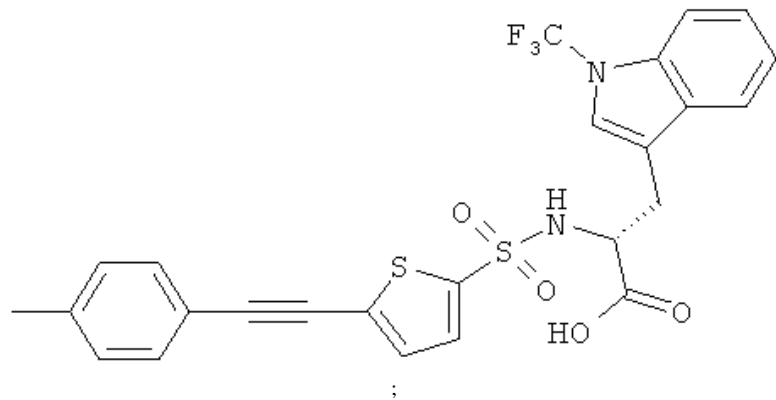
20



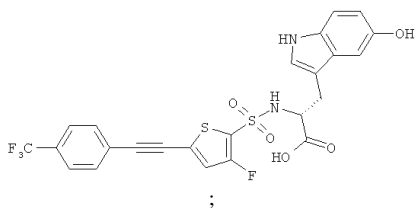
25



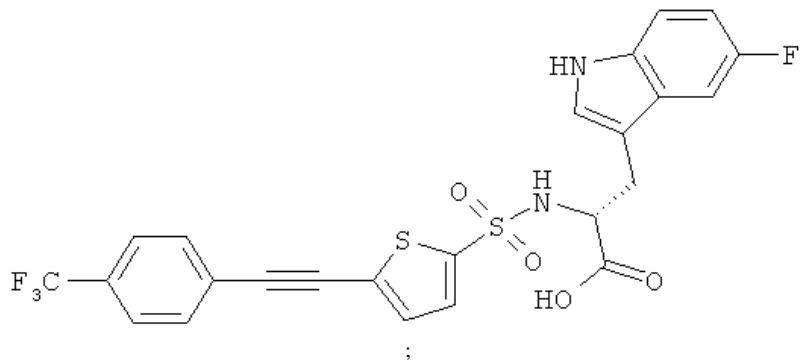
30



35

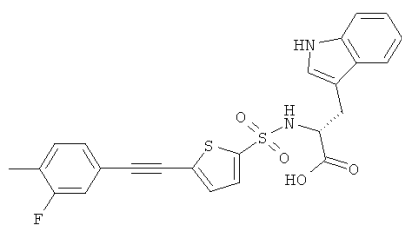


40

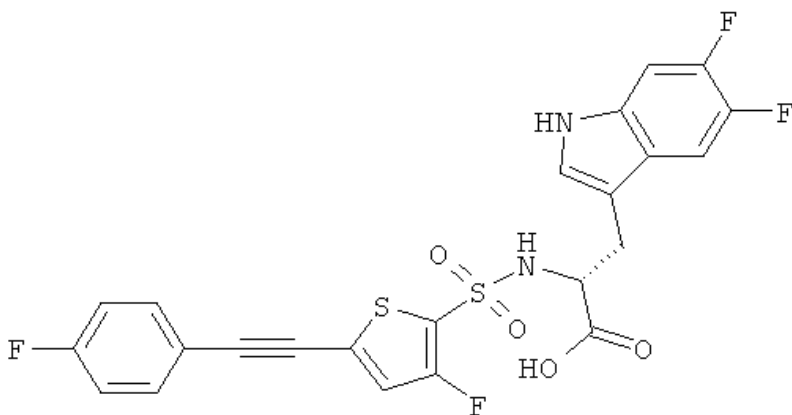


45

5



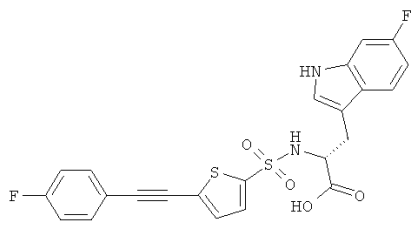
;



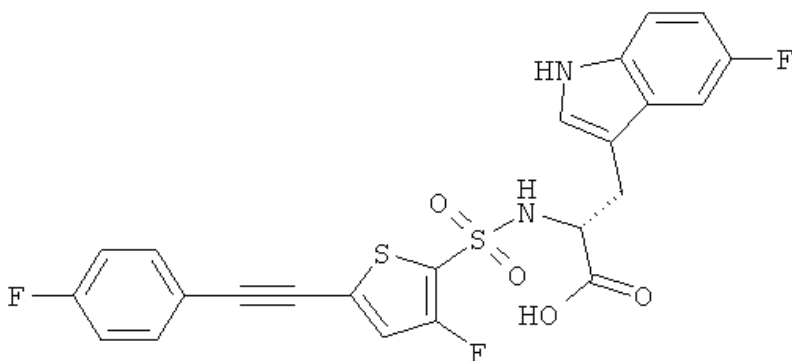
;

10

15



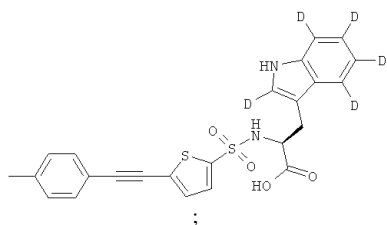
;



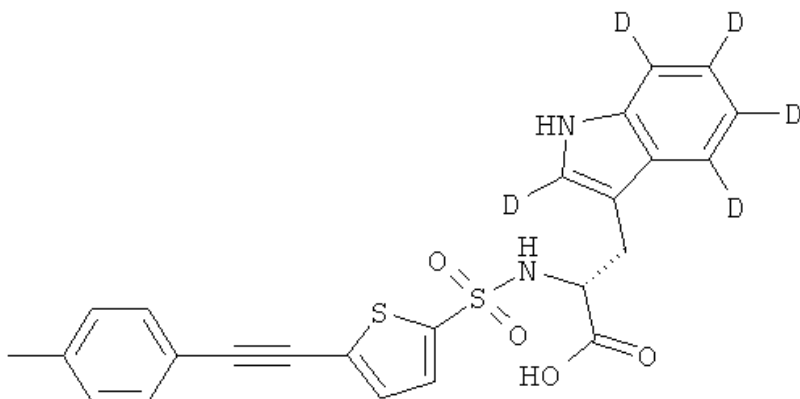
;

20

25



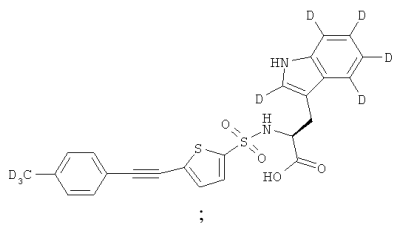
;



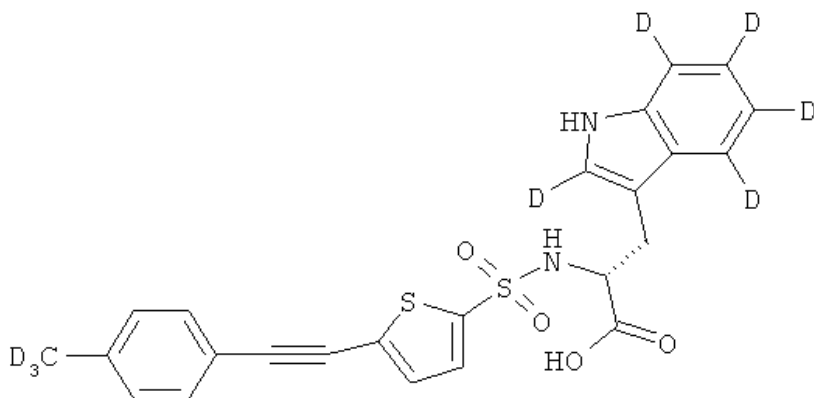
;

30

35



;

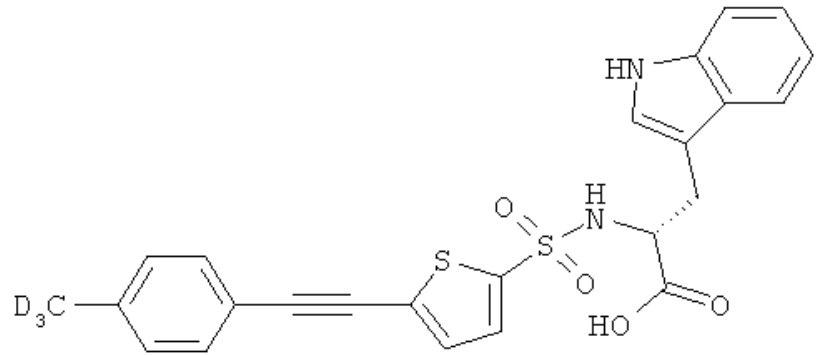
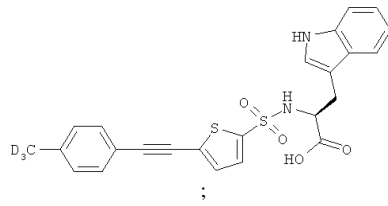


;

40

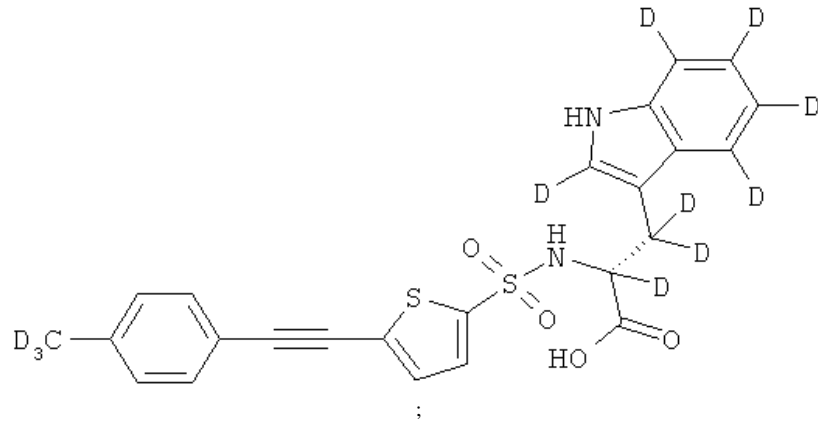
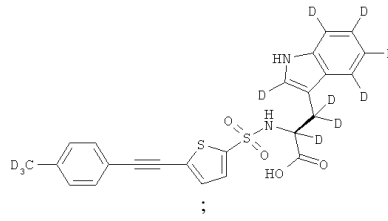
45

5



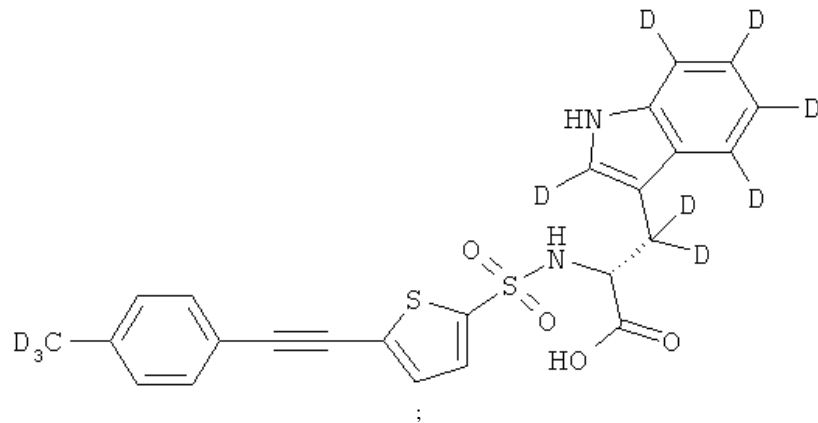
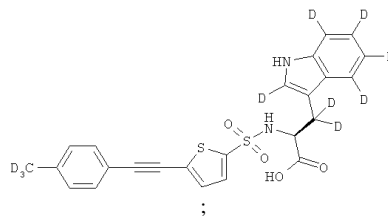
10

15



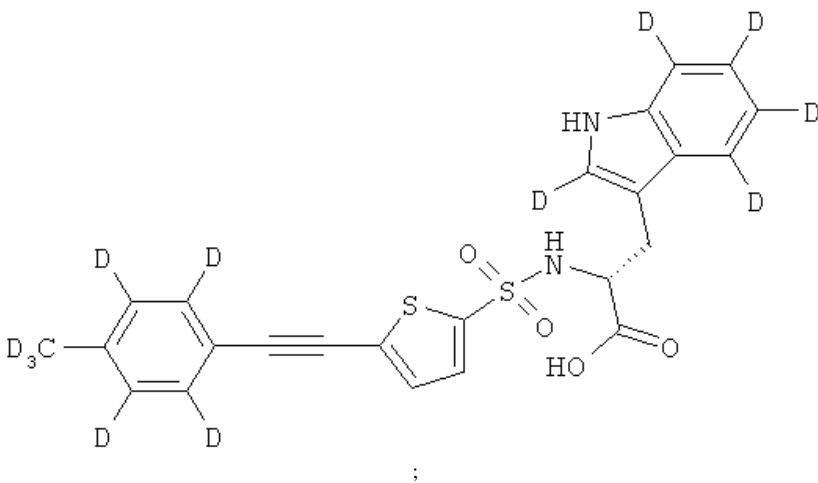
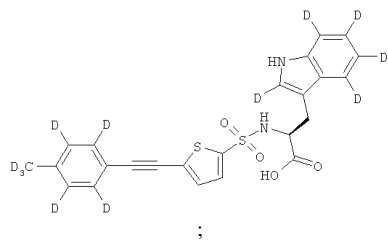
20

25



30

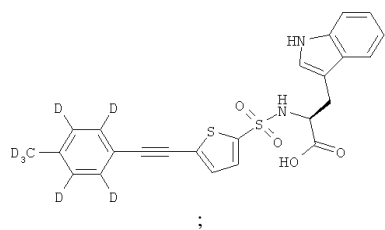
35



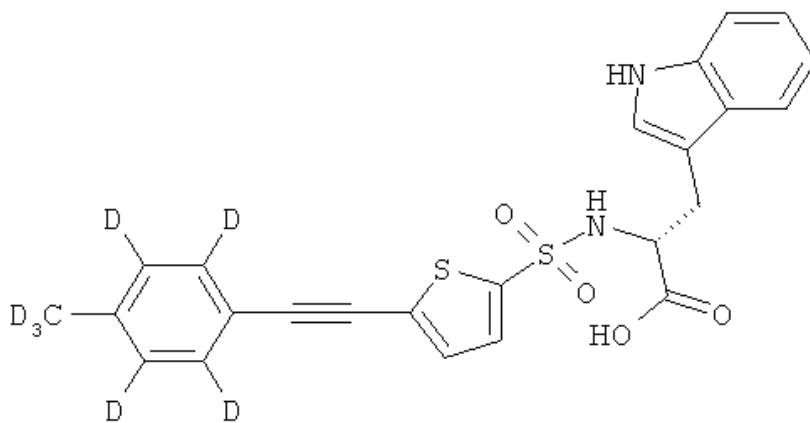
40

45

5



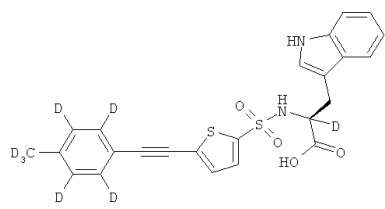
;



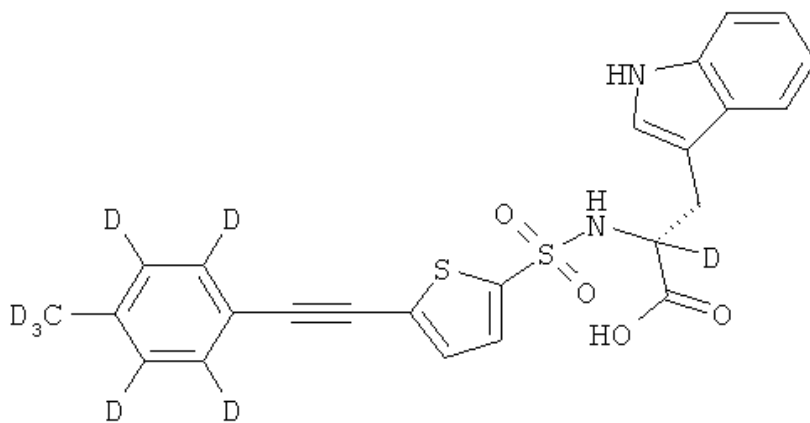
;

10

15



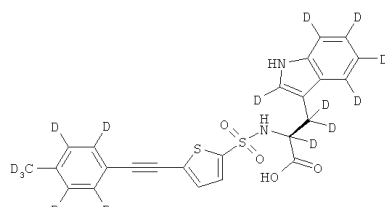
;



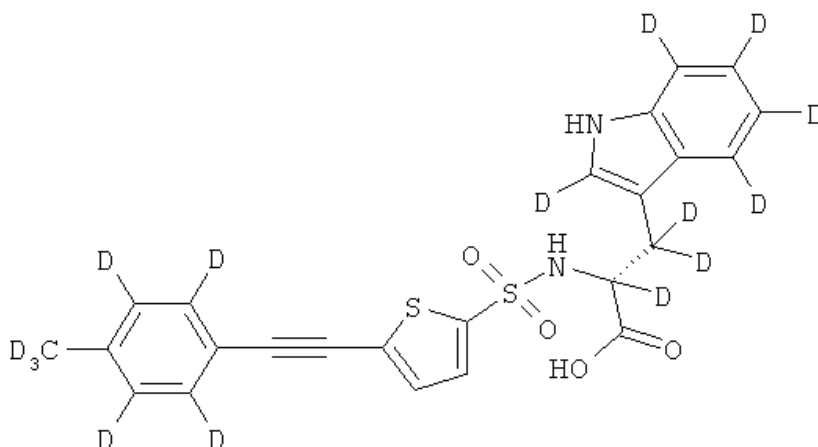
;

25

30



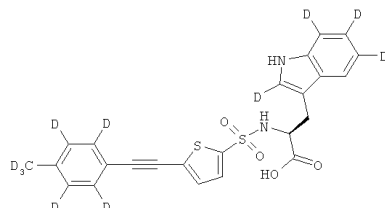
;



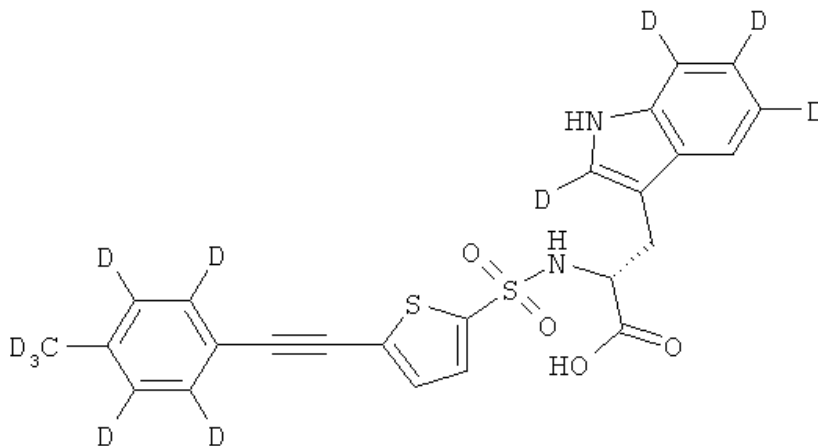
;

35

40

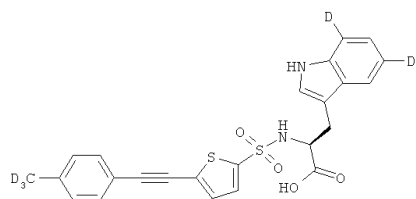


;

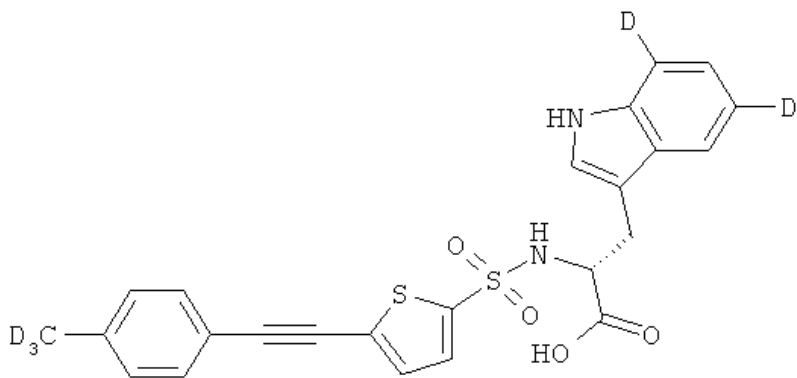


45

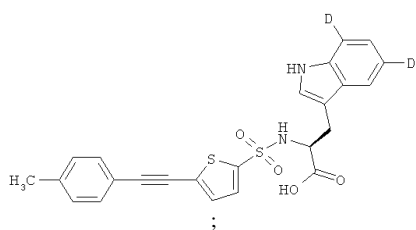
5



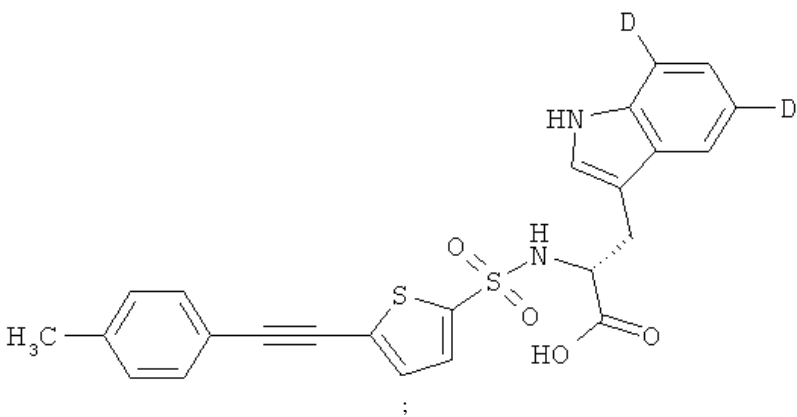
10



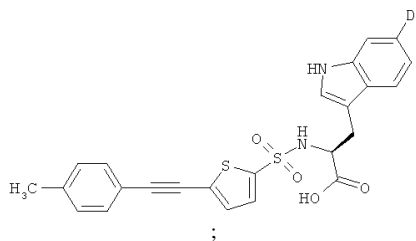
15



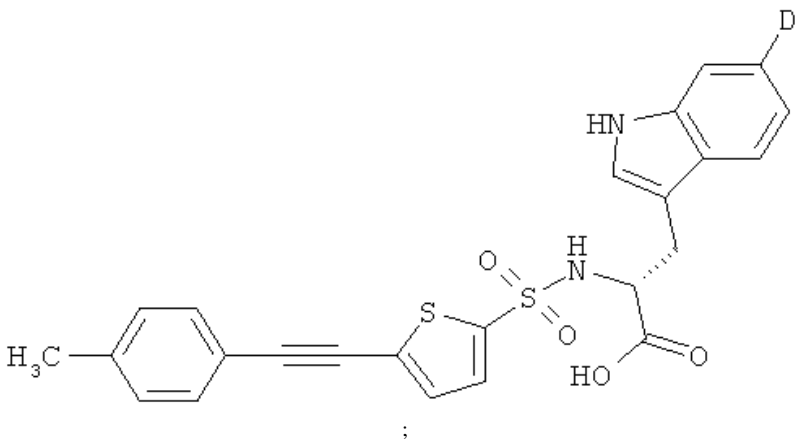
20



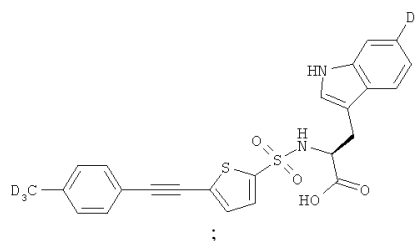
25



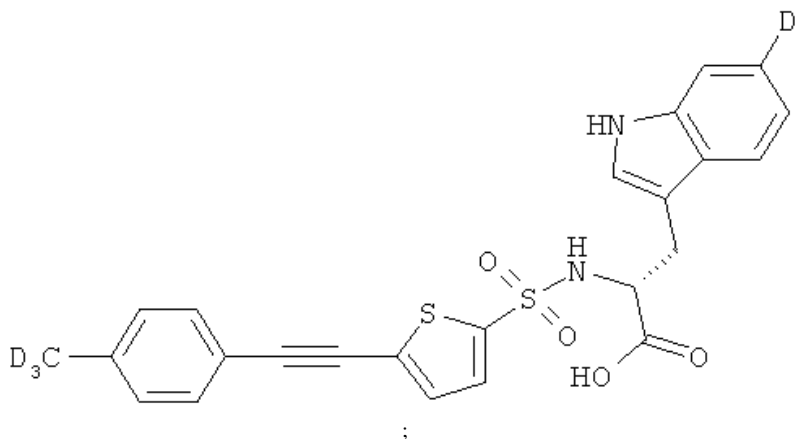
30



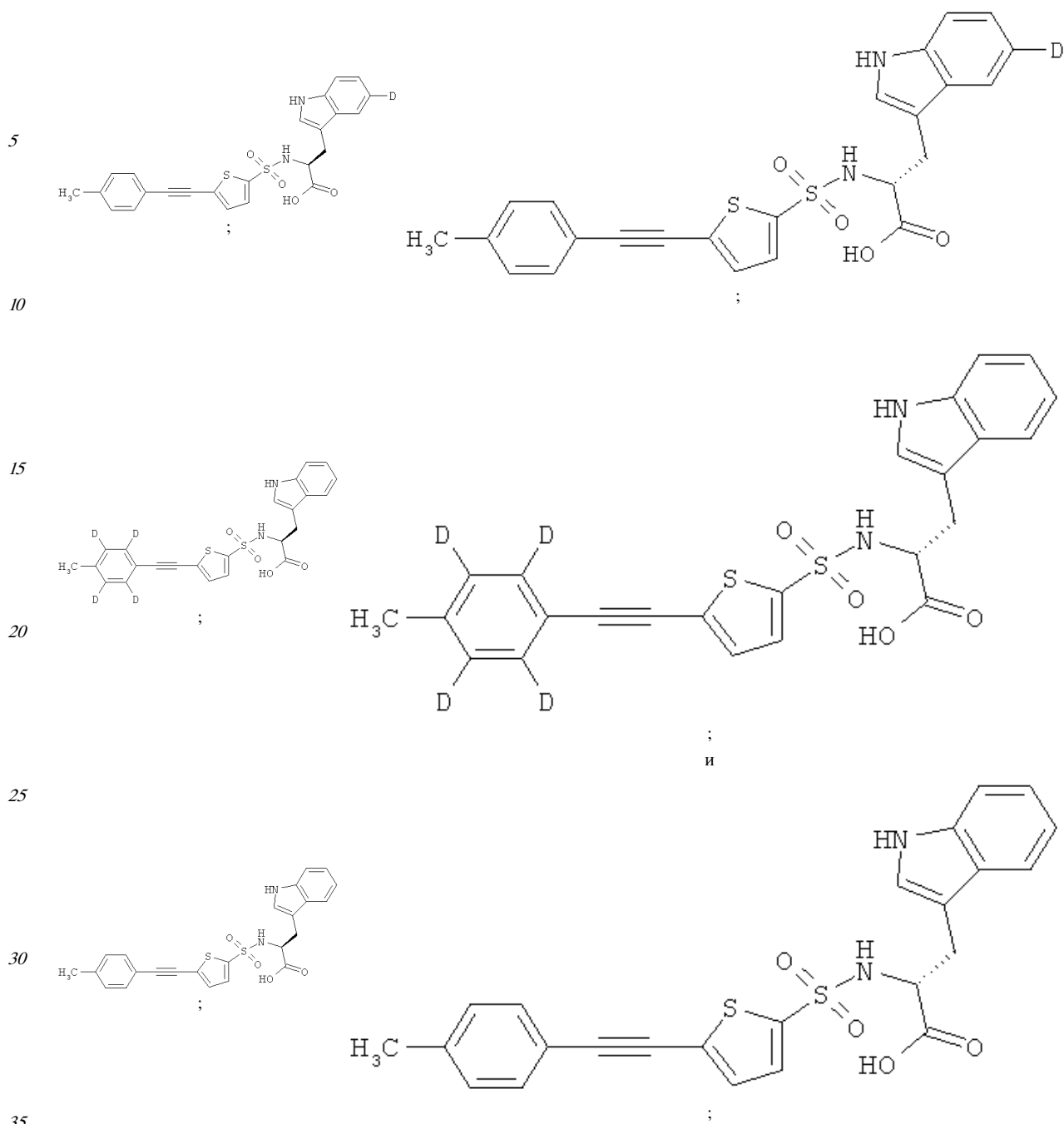
35



40



45



Данное изобретение также направлено на фармацевтические композиции, включая любые соединения, ингибирующие ММР, данного изобретения, описанные выше. В соответствии с этим некоторые варианты осуществления данного изобретения обеспечивают фармацевтическую композицию, которая может включать эффективное количество соединения, ингибирующего ММР, данного изобретения и фармацевтически приемлемый носитель.

Данное изобретение также направлено на способы ингибирования ММР-2 и/или ММР-9 и способы лечения заболеваний или симптомов, опосредованных ММР-2 и/или ММР-9 ферментом. Такие способы включают введение соединения, ингибирующего ММР-2 и/или ММР-9, данного изобретения, такое как соединение Формулы (I) или Формулы (II), как определено выше, или его N-оксид, фармацевтически приемлемую соль или стереоизомер. Примеры заболеваний или симптомов, связанных с ММР-2 и/или ММР-9 ферментом, включают, но не ограничиваясь, увеличенную чувствительность

к боли, такую как гипералгезия, каузалгия и аллодиния; острую боль; боль от ожога; механически вызванную боль; атипичную лицевую боль; невропатическую боль; боль в пояснице; комплексные регионарные болевые синдромы I и II; артритическую боль в суставах; боль при спортивной травме; боль, связанную с вирусной инфекцией, и
5 посттерпетическую невралгию; фантомную боль; боль при родах; раковую боль; боль после химиотерапии; боль после удара;

послеоперационную боль; физиологическую боль; воспалительную боль; острые воспалительные состояния/висцеральную боль, ангину, синдром раздраженной толстой кишки (IBS) и воспалительное кишечное заболевание; невропатическую боль; невралгию;
10 болезненную неврологическую нейропатию; травматическое нервное повреждение; повреждение спинного мозга; и переносимость наркотических средств или отказа от наркотических средств.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения соединения, ингибирующие ММР-2 и/или ММР-9, определенные выше, применяют при изготовлении
15 лекарственного препарата для лечения заболевания, опосредованного ММР-2 и/или ММР-9.

В некоторых вариантах осуществления соединения, ингибирующие ММР-2, определенные выше, могут применять в комбинации с лекарственным средством, средством или лекарством, таким как, но без ограничения: (a) противоревматическое
20 лекарственное средство, видоизменяющее заболевание; (b) нестероидное противовоспалительное лекарственное средство; (c) селективный ингибитор COX-2; (d) ингибитор COX-1; (e) иммунодепрессивное средство; (f) стероид; (g) модификатор биологического ответа; или (h) другие противовоспалительные средства или лекарства, применимые для лечения заболеваний, опосредованных хемокином.

25 Примеры противоревматических лекарственных средств, модифицирующих заболевание, включают, но не ограничиваясь, метотрексат, азатиоптринлуфлуномид, пеницилламин, соли золота, микофенолят, мофетил и циклофосфамид.

Примеры нестероидных противовоспалительных лекарственных средств включают, но не ограничиваясь, пироксикам, кетопрофен, напроксен, индометацин и ибупрофен.

30 Примеры селективных ингибиторов COX-2 включают, но не ограничиваясь, рофекоксиб, целекоксиб и вальдекоксиб.

Пример ингибитора COX-1 включает, но не ограничивается, пироксикам.

Примеры иммунодепрессивных средств включают, но не ограничиваясь, метотрексат, циклоспорин, лефлуниמיד, такролимус, рапамицин и сульфазалин.

35 Примеры стероидов включают, но не ограничиваясь, р-метазон, преднизон, кортизон, преднизолон и дексаметазон.

Примеры модификаторов биологического ответа включают, но не ограничиваясь, анти-TNF антитела, TNF- α антагонистов, IL-1 антагонистов, анти-CD40, анти-CD28, IL-10 и анти-адгезионные молекулы.

40 Примеры противовоспалительных средств или лекарств включают, но не ограничиваясь, ингибиторы p38 киназы, ингибиторы PDE4, ингибиторы TACE, антагонистов хемокинового рецептора, талидомид, лейкотриеновые ингибиторы и другие низкомолекулярные ингибиторы противовоспалительного образования цитокина.

В соответствии с другим вариантом осуществления данного изобретения
45 фармацевтическая композиция может включать эффективное количество соединения данного изобретения, фармацевтически приемлемый носитель и лекарственное средство, средство или лекарство, выбранное из: (a) противоревматического лекарственного средства, модифицирующего заболевание; (b) нестероидного противовоспалительного

лекарственного средства; (с) селективного ингибитора СОХ-2; (d) ингибитора СОХ-1; (е) иммунодепрессивного средства; (f) стероида; (g) модификатора биологического ответа; или (h) других противовоспалительных средств или лекарств, применимых для лечения заболеваний, опосредованных хемокином.

5 Активность ингибирования ММР соединений, ингибирующих ММР, данного изобретения можно измерять с применением любого подходящего анализа, известного в данном уровне техники. Стандартный *in vitro* анализ для активности ингибирования ММР-2 описан в Примере 130 и для ММР-9 описан в Примере 131. Дополнительно, стандартное *in vitro* испытание для измерения ММР-1, ММР-7, ММР-3, ММР-12 и
10 ММР-13 описано в Примерах 132-136. Стандартное *irt vitro* испытание для измерения микросомальной стойкости человека и мыши представлено в Примере 105. Свойства, ингибирующие боль *in vivo*, соединения, ингибирующего ММР, данного изобретения можно измерять, применяя любую подходящую животную модель, известную в данном уровне техники. Стандартное *in vivo* исследование для измерения ингибирования
15 нервопатической боли описано в Примерах 110 и 111, и исследование для измерения воспалительной боли описано в Примере 120.

Соединения, ингибирующие ММР, данного изобретения могут иметь активность ингибирования (IC₅₀ ММР-2 и/или ММР-9) в диапазоне от приблизительно 1 нмоль до приблизительно 20 мкмоль, и типично от приблизительно 1 нмоль до приблизительно
20 2 мкмоль. Синтез соединений, ингибирующих ММР, данного изобретения и их биологический анализ описаны в следующих примерах, которые не предназначены быть ограничивающими каким-либо образом.

ПРИМЕРЫ И СПОСОБЫ

Реактивы получили из коммерческих источников и применяли без дополнительной
25 очистки, если не указано иное. Все реакции выполняли с применением стеклянной посуды, которую всю ночь сушили в печи (100°C). Все растворители являются чистыми для анализа. Все реакции проводили в атмосфере азота, если не указано иное. Органические реакционные смеси концентрировали, применяя роторный испаритель Buchi. Протонный ЯМР спектр записывали на спектрометре ядерно-магнитного
30 резонанса Varian при 300 МГц.

Колонку SAX получили от Luknova Inc (Manfield, MA). Процедура очистки: колонку SAX кондиционировали добавлением дихлорметана:MeOH (1:1).

Элюант растворили в дихлорметане и загрузили в колонку SAX. Колонку промыли дихлорметаном:MeOH (1:1) (3×50 мл) для удаления не кислотных примесей. Соединение
35 элюировали пропусканием 2N уксусной кислоты в метаноле. Растворитель выпарили и целевое соединение дополнительно очистили жидкостной хроматографией высокого давления с обратной фазой (HPLC).

Жидкостная хроматография вместе с масс-спектрометрией (LC-MS): Применяли следующие оборудование и описания для анализа различных соединений.

40 Жидкостная хроматография:
Оборудование: ShimadzuLC-10ADVP
Колонка: Agilent Zobax 3.5QDSB-C18
Внутренний диаметр колонки (ID): 4,6 мм
Длина колонки: 50 мм
45 Градиент: 5%-100% ацетонитрила и воды, оба содержат 0,1% муравьиной кислоты
Время обработки: 5 минут
Скорость потока: 1,5 мл/минута
Высокое давление: 4000 psi (фунтов на квадратный дюйм)

Низкое давление: 0 psi
 Установленная температура: 0°C
 Предельная температура: 25°C
 LC-масс-спектр: Waters Micromass Quatro Ultima LC/MS
 (тройной квадрупольный масс-спектрометр), CTC Analytics PAL автоматический пробоотборник

5

Препаративная жидкостная хроматография высокого давления (Prep. HPLC): условия препаративной очистки с обратной фазой следующие:

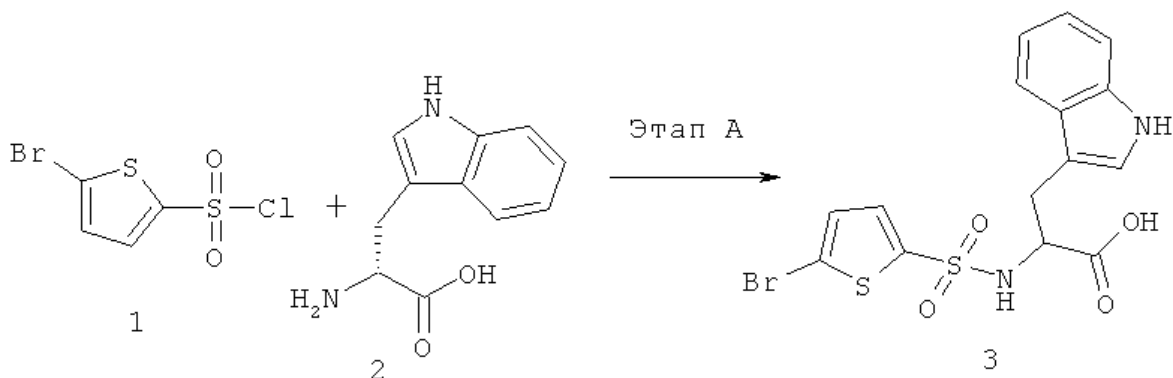
Оборудование: Система Waters UPLC

10 Колонка: Колонка Waters Sunfire C 18
 Внутренний диаметр колонки (ID): 19 мм
 Длина колонки: 100 мм
 Инъекция: 1 мл/DMSO (диметилсульфоксид)
 Градиент: 30%-70% метанола и воды, оба содержащие 0,1% TFA.
 15 Время обработки: 4 минуты
 Скорость потока: 40 мл/минута

Пример 1

20

25



Этап А

30

35

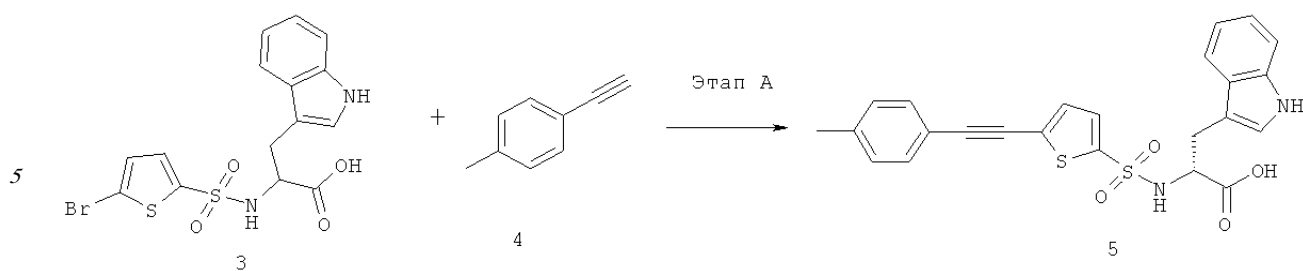
40

К суспензии (R)-2-амино-3-(1H-индол-3-ил)-пропионовой кислоты 2 (0,23 г, 1,12 ммоль) (Alfa-Aesar, A-18426) в ацетоне (3 мл) добавили 2М карбонат натрия (1 мл) для перемешивания при комнатной температуре в течение 30 минут. К этой смеси добавили бромсульфонил хлорид 1 (0,13 г, 0,5 ммоль) (Alfa-Aesar, A-14677) при 0°C для перемешивания в течение 15 минут. Реакционную смесь перемешивали дополнительно 1 час при комнатной температуре. После вливания в воду (20 мл) раствор промыли эфиром (x3). Водный слой подкислили 1М HCl с последующей экстракцией этилацетатом (x3). Объединенные органические экстракты промыли рассолом и высушили (Na₂SO₄) для обеспечения неочищенного продукта (R)-2-(5-бром-тиофен-2-сульфониламино)-3-(1H-индол-3-ил)-пропионовой кислоты (3) (0,16 г, 74%). LC-MS (ES+) 429,431; (ES-) 427,429.

Порцию неочищенного продукта (R)-2-(5-бром-тиофен-2-сульфониламино)-3-(1H-индол-3-ил)-пропионовой кислоты (3) перенесли на следующий этап без дополнительной очистки.

Пример 2

45



Этап А

10 В круглодонную колбу добавили сырую (К.)-2-(5-бром-тиофен-2-сульфониламино)-3-(1H-индол-3-ил)-пропионовую кислоту (3) (60 мг, 0,14 ммоль), p-толил ацетилен 4 (480 мг, 0,41 ммоль), PdCl₂P(Ph₃)₂ (10 мг, 0,015 ммоль), йодид меди (I) (2 мг, 0,01 ммоль) и триэтиламин (0,025 г, 0,25 ммоль) и затем растворили в сухом DMF (DMF) (2 мл) в атмосфере азота. Реакционную смесь затем нагревали при 50°C в атмосфере азота в течение 2 часов. Реакционную смесь затем охладили до комнатной температуры, и

15 разбавили этилацетатом, и промыли раствором, содержащим NaCl/NaHCO₃/(NH₄)₂CO₃/вода (1:1:1) (x3), водой, и затем высушили над сульфатом натрия (Na₂SO₄). Сырой продукт очистили, применяя колонку SAX, для обеспечения получения желаемой (R)-3-(1H-индол-3-ил)-2-(5-p-толилэтинил-тиофен-2-сульфониламино)-пропионовой

20 кислоты 5 (0,036 г, 55%).

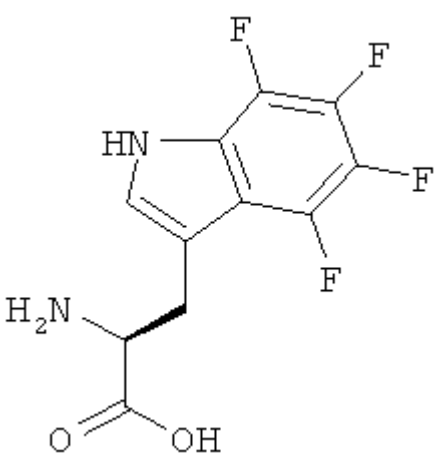
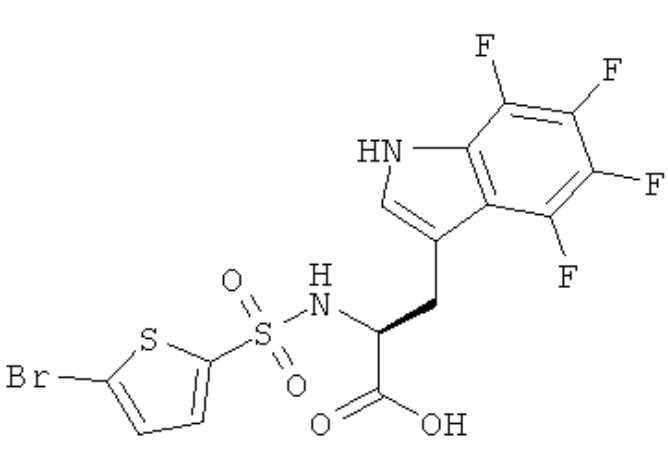
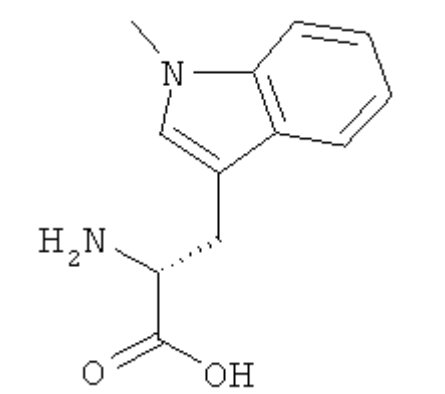
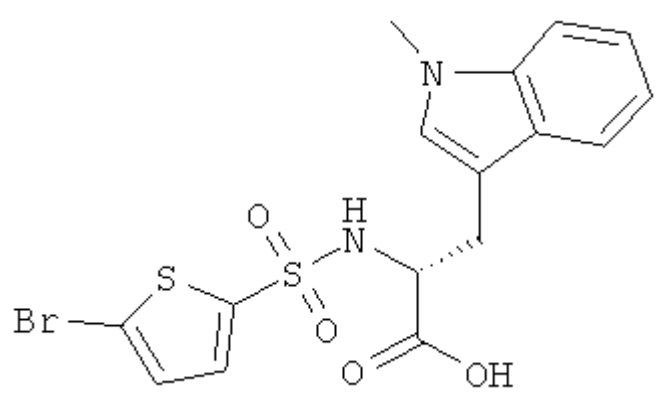
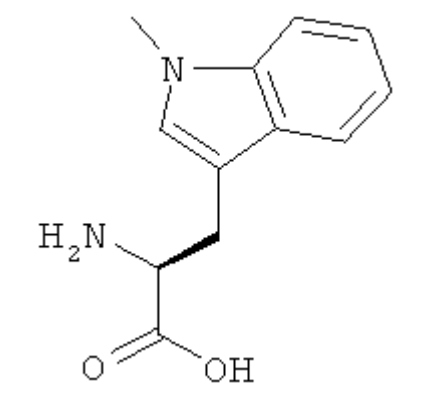
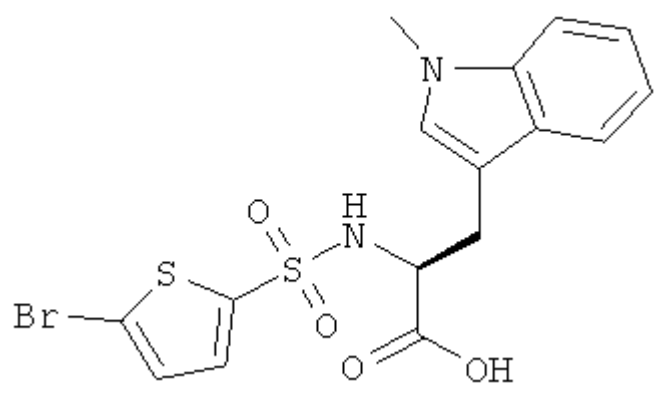
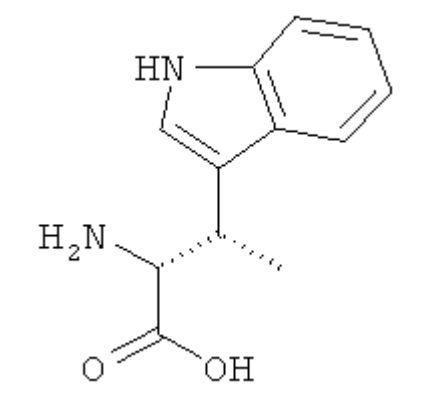
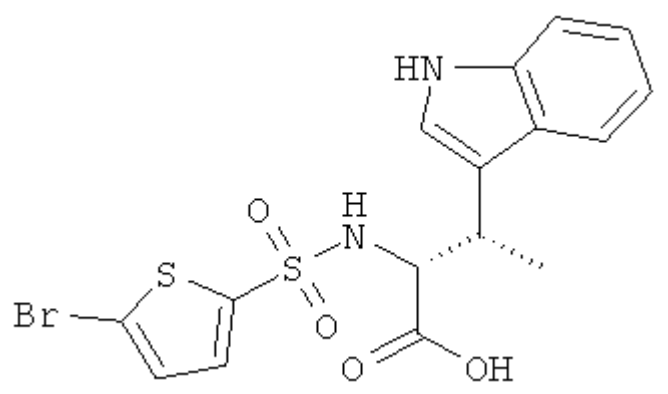
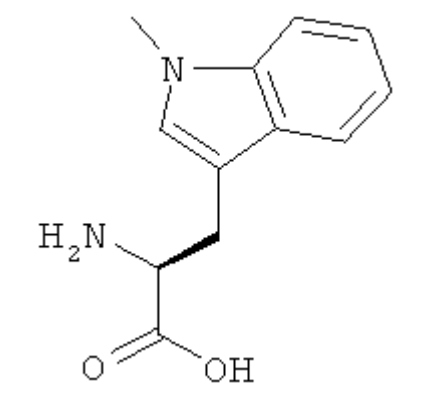
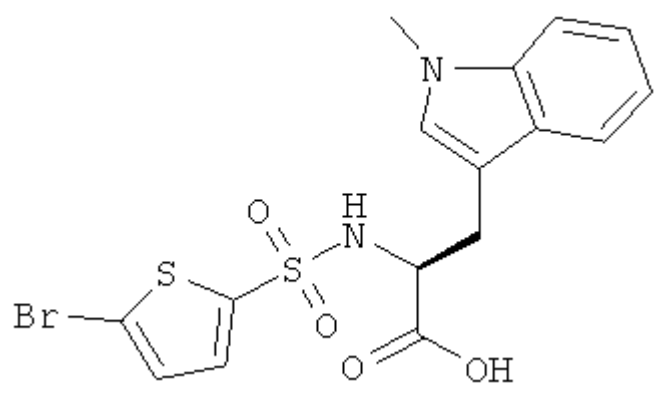
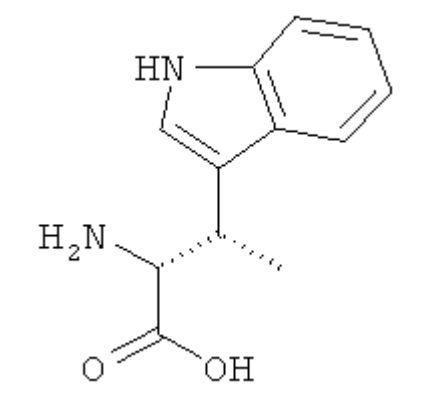
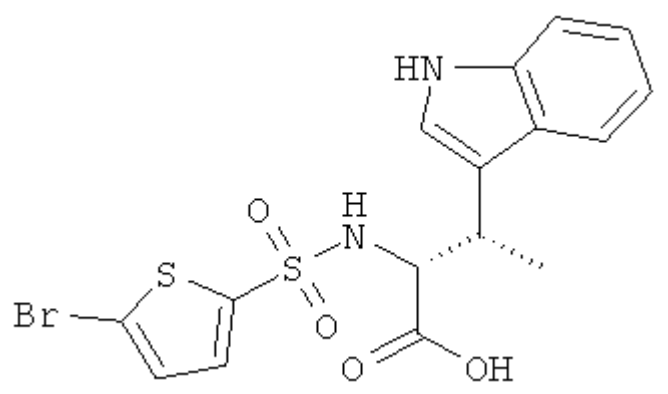
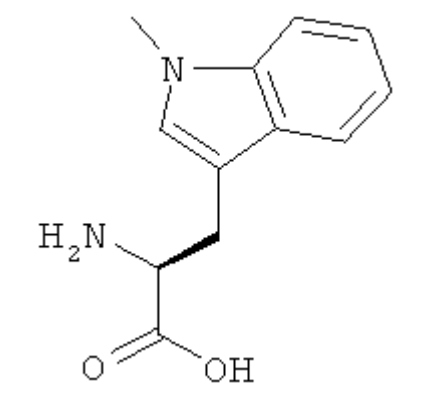
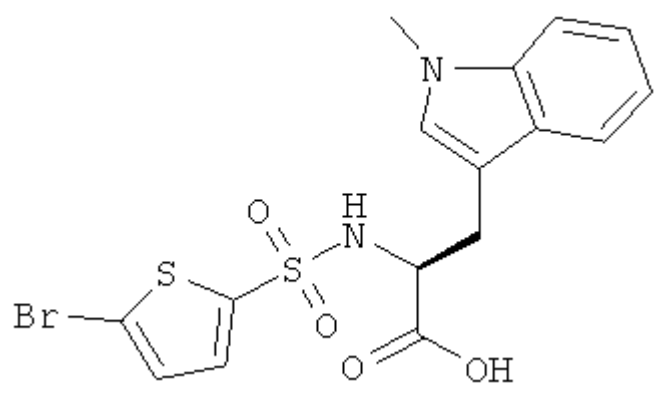
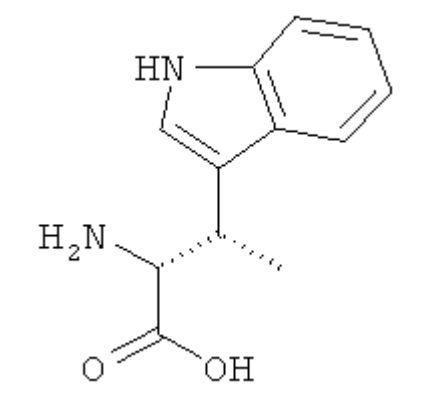
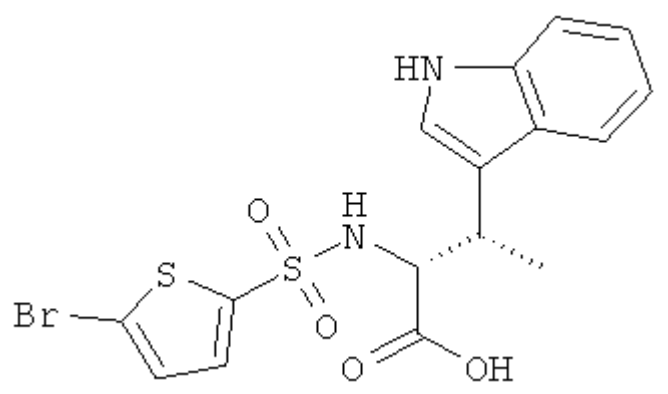
Пример 2. Реакцию А повторили в том же объеме, как и указано выше, и затем объединили с предыдущей партией. Объединенные продукты затем дополнительно очистили, применяя препаративную с обратной фазой HPLC для получения (R)-3-(1H-индол-3-ил)-2-(5-p-толилэтинил-тиофен-2-сульфониламино)-пропионовой кислоты 5,

25 имеющей чистоту >95% HPLC. LC-MS (ES+) 465; (ES-) 463; ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 2,35 (s, 3H), 2,86-2,94 (m, 1H), 3,08-3,16 (m, 1H), 3,96-4,40 (m, 1H), 6,93-7,50 (m, 11H), 8,67 (d, 1H, J=5,7 Гц), 10,83 (s, 1H).

Пример 3-15

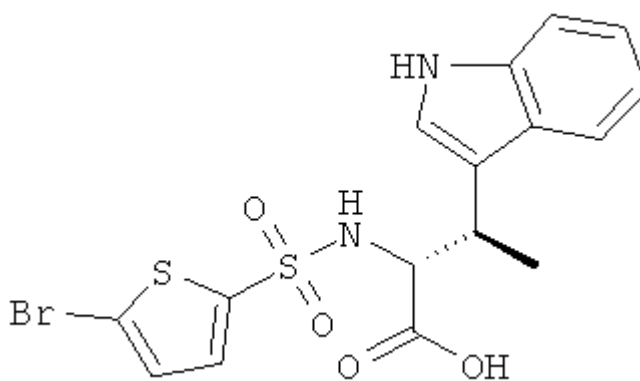
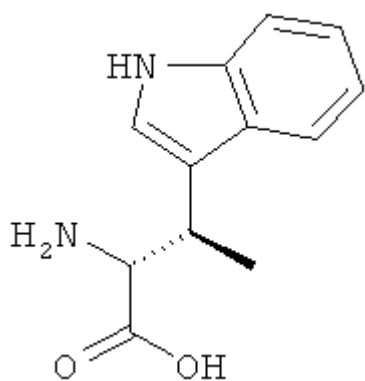
30 Если следовать подобной процедуре, как описано в Примере 1, кроме применения коммерчески доступных (т.е. RSP аминокислоты, Chembridge, Sigma Aldrich, и пр.) аминокислот, указанных в Таблице 1 ниже, можно приготовить следующие соединения.

ТАБЛИЦА 1		
№ прим.	Аминокислота	Продукт сульфониламида
35 40 45		

<p>5 4 10</p>											
<p>15 5 20</p>											
<p>25 30 35 40 45</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="204 1032 284 1120">№ прим.</th> <th data-bbox="284 1032 753 1120">Аминокислота</th> <th data-bbox="753 1032 1441 1120">Продукт сульфоамида</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="204 1120 284 1534"> <p>6</p> </td> <td data-bbox="284 1120 753 1534">  </td> <td data-bbox="753 1120 1441 1534">  </td> </tr> <tr> <td data-bbox="204 1534 284 1939"> <p>7</p> </td> <td data-bbox="284 1534 753 1939">  </td> <td data-bbox="753 1534 1441 1939">  </td> </tr> </tbody> </table>	№ прим.	Аминокислота	Продукт сульфоамида	<p>6</p>			<p>7</p>			
№ прим.	Аминокислота	Продукт сульфоамида									
<p>6</p>											
<p>7</p>											

5

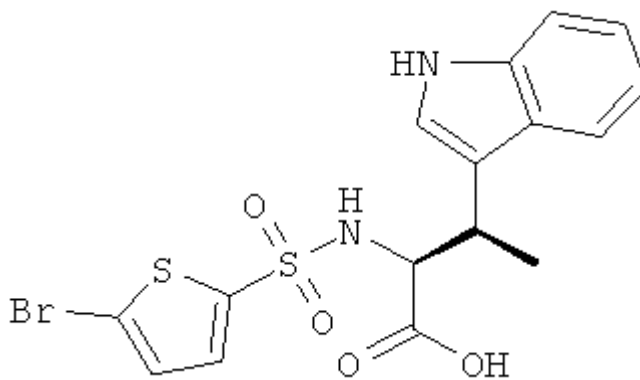
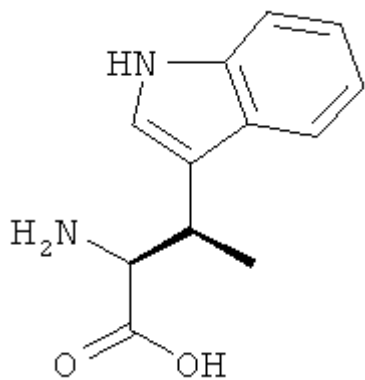
8



10

15

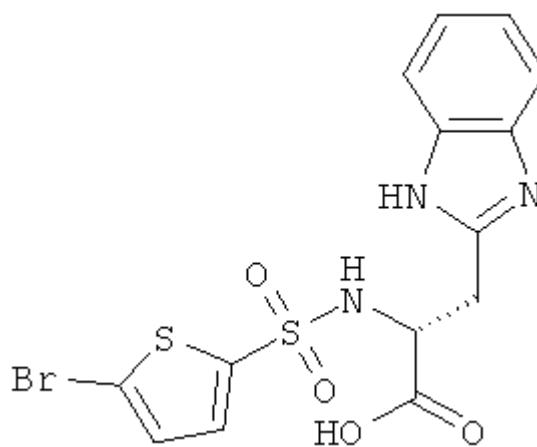
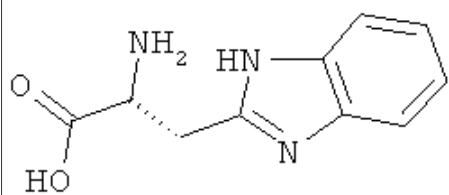
9



20

25

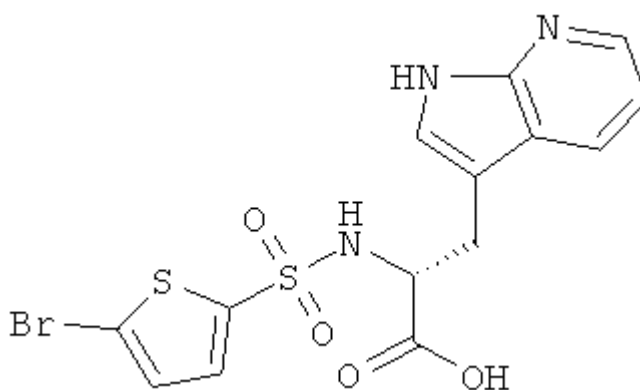
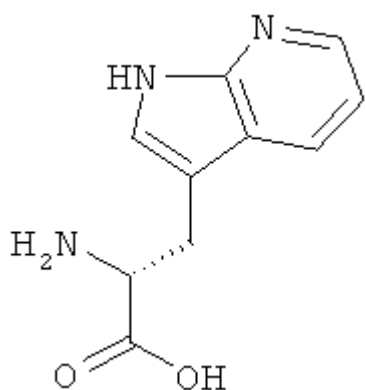
10



30

35

11



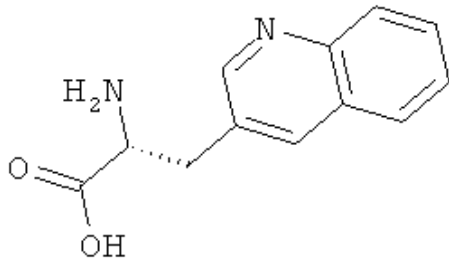
40

45

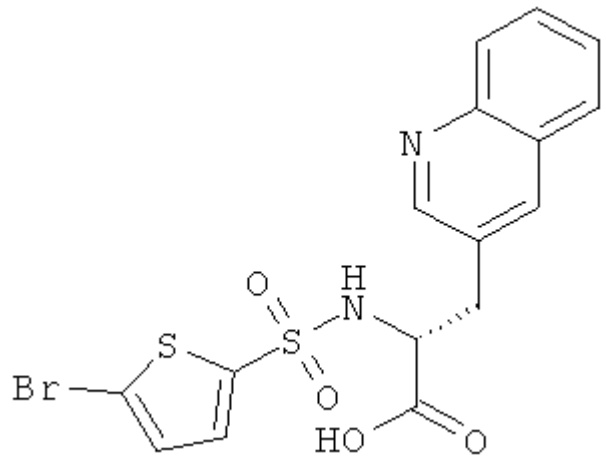
№ прим.	Аминокислота	Продукт сульфонида
---------	--------------	--------------------

5

12

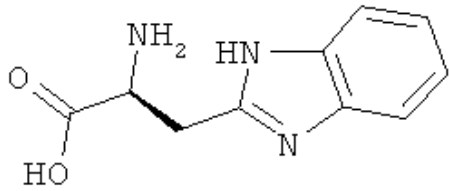


10

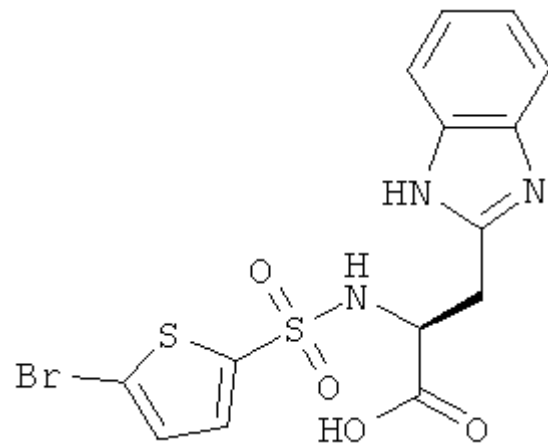


15

13

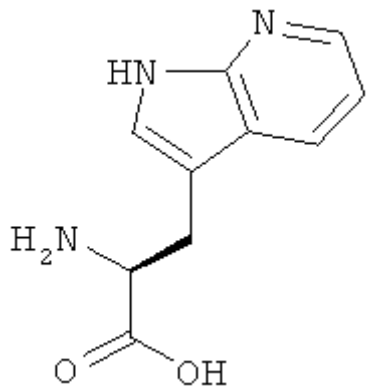


20

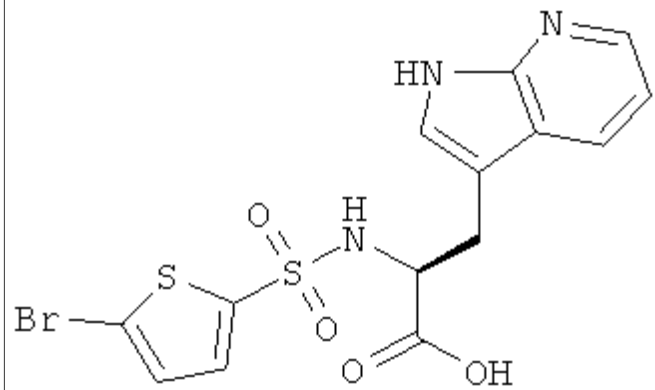


25

14



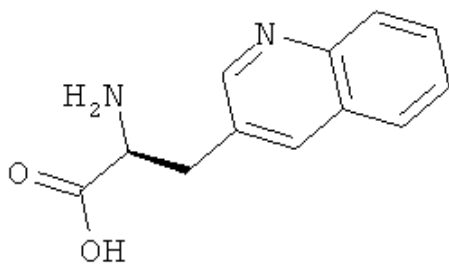
30



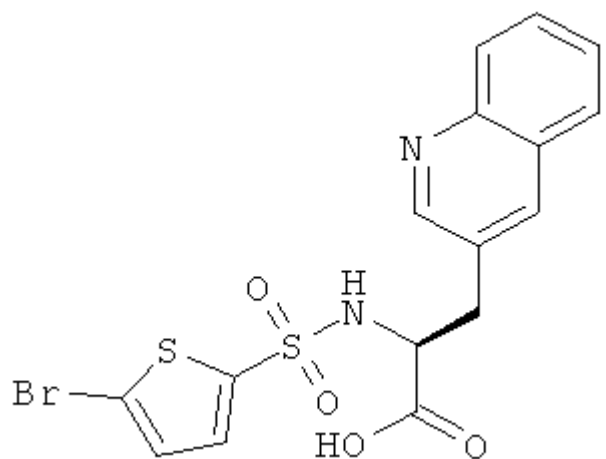
35

40

15



45

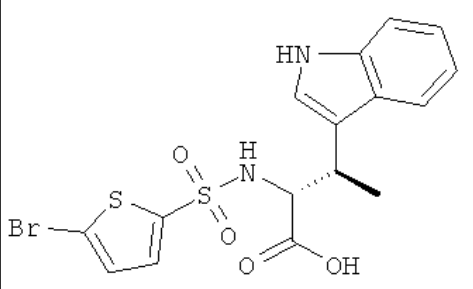
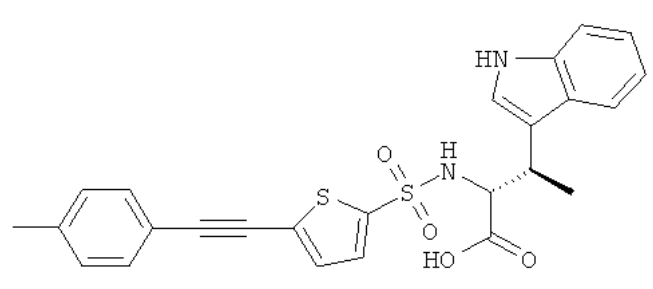
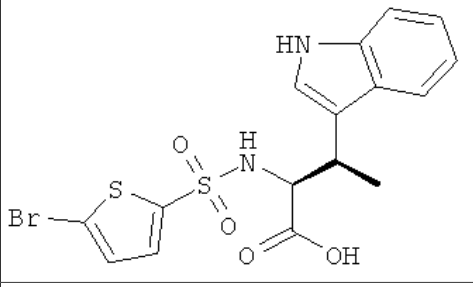
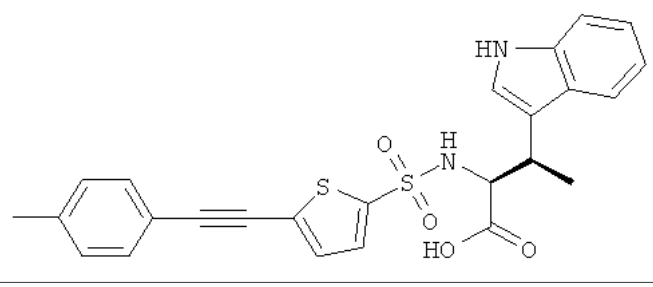
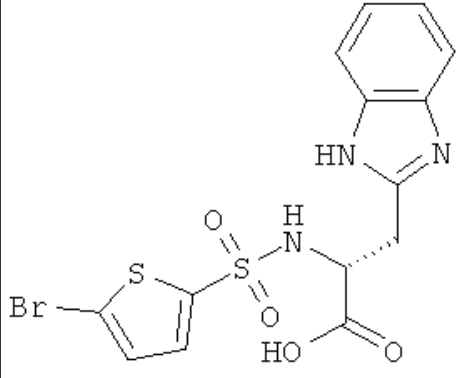
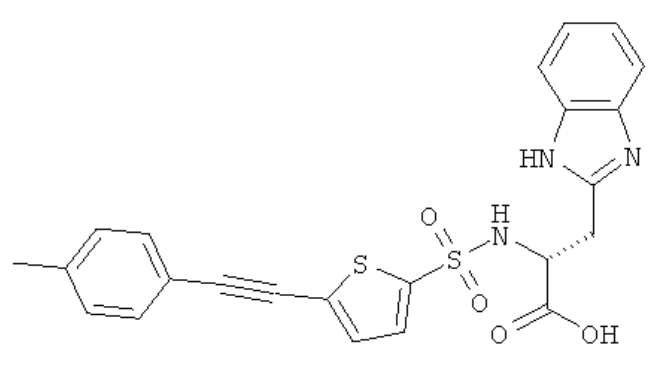
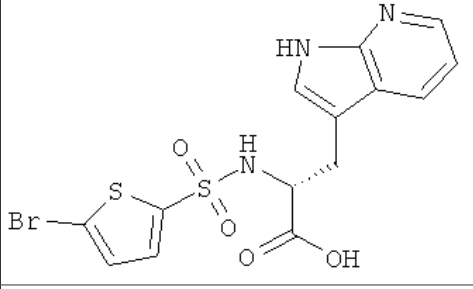
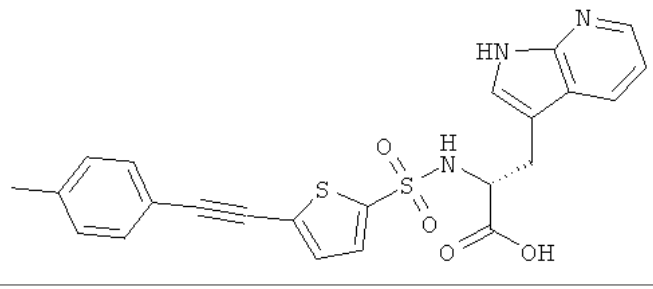
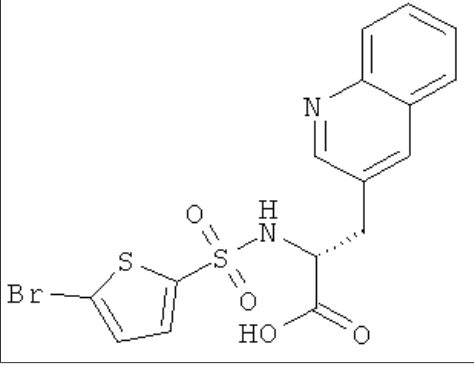
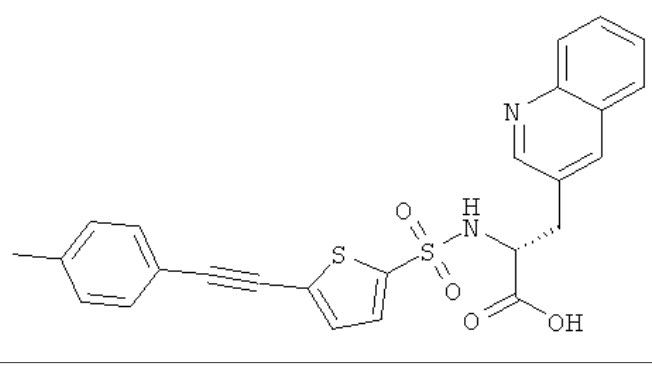


Пример 16-28

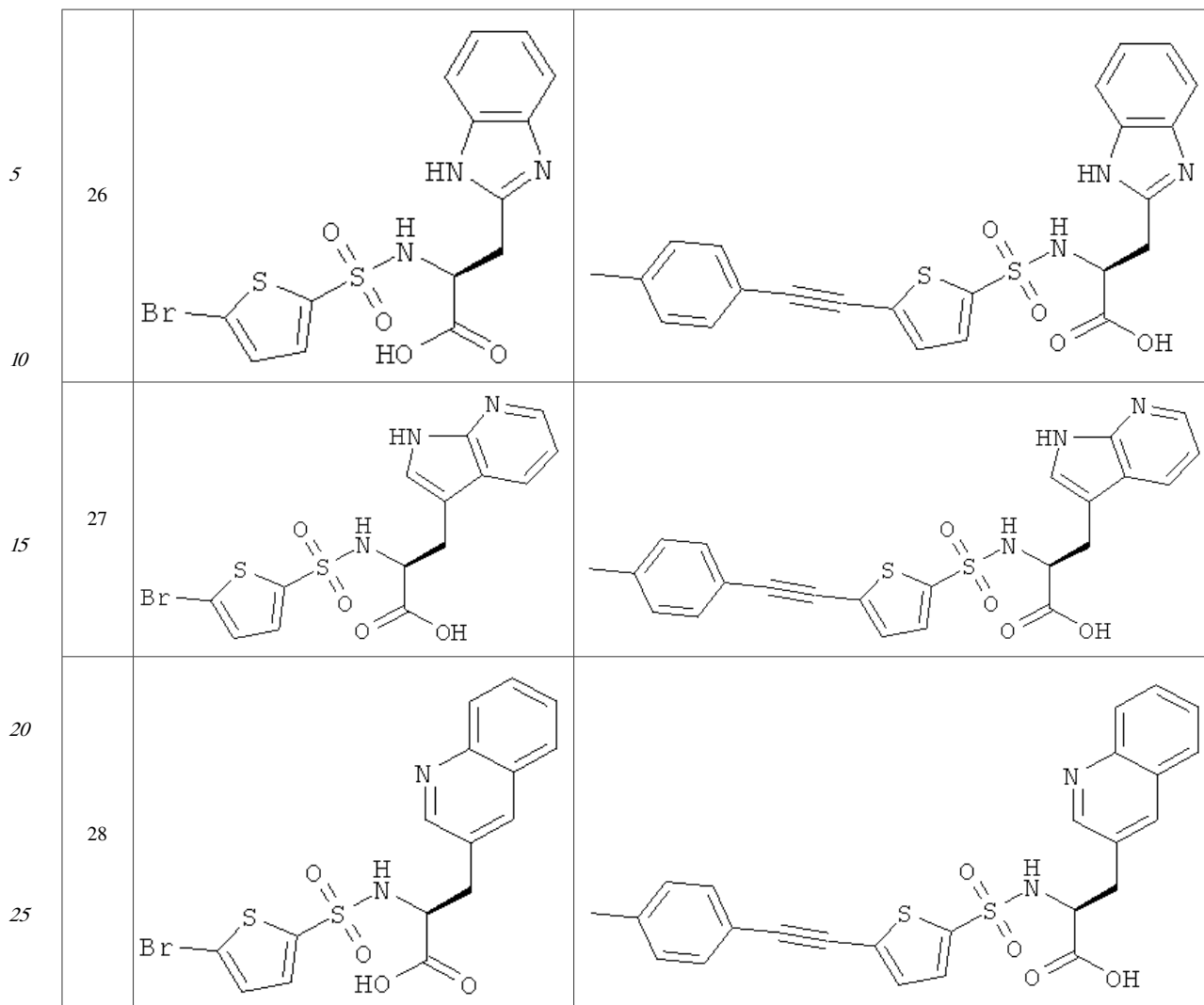
Если следовать подобной процедуре, как описано в Примере 2, кроме применения коммерчески доступных р-толилацетилена (Sigma Aldrich) и сульфонамидов (Пример 3-15, Таблица 1), указанных в Таблице 2 ниже, можно приготовить следующие соединения.

ТАБЛИЦА 2

№ прим.	Сульфонамид	Объединенный продукт фенилэтинила и тиофена
10 15		
20		
25 30		
35		
40 45		
№ прим.	Сульфонамид	Объединенный продукт фенилэтинила и тиофена

5	21		
10	22		
15	23		
20	24		
25	25		

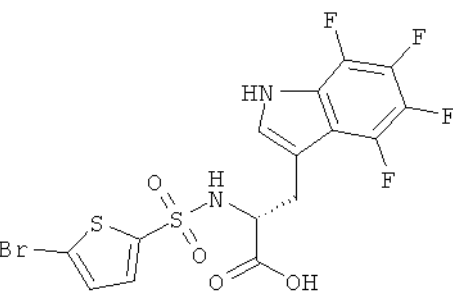
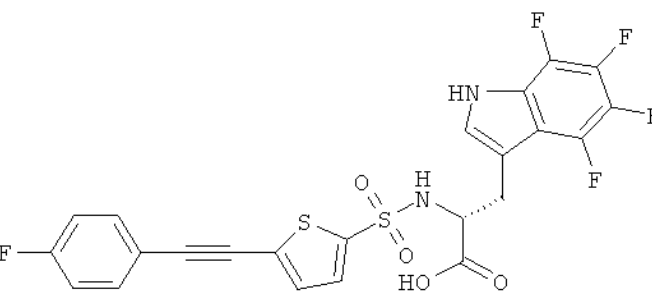
45	№ прим.	Сульфонамид	Объединенный продукт фенилэтипила и тиофена
----	---------	-------------	---

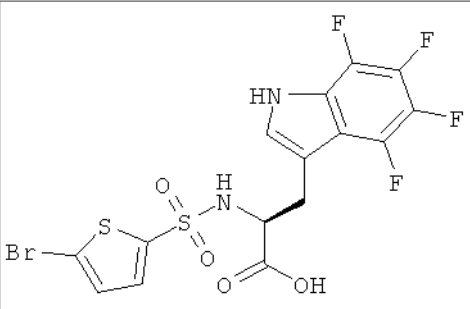
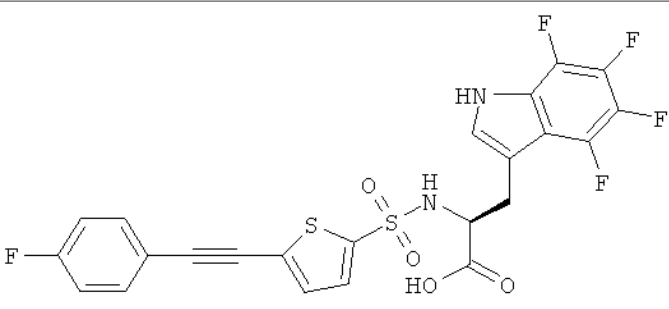
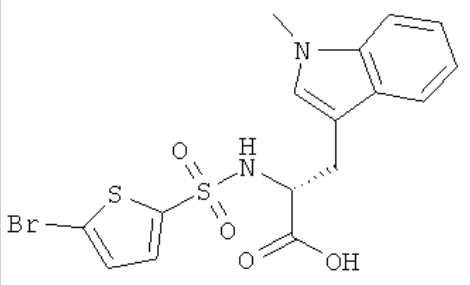
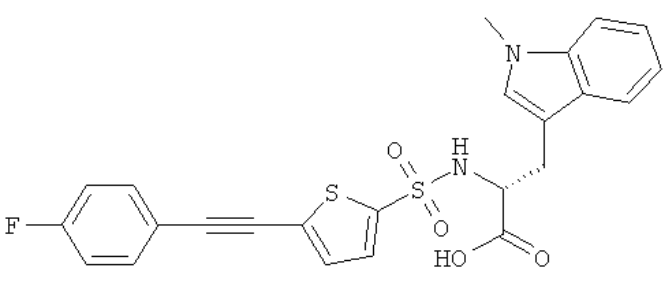
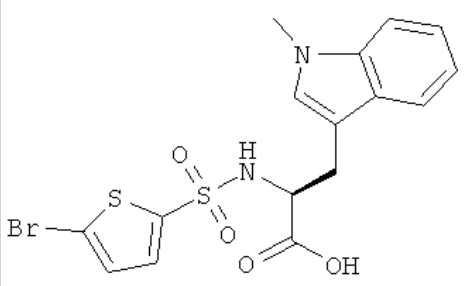
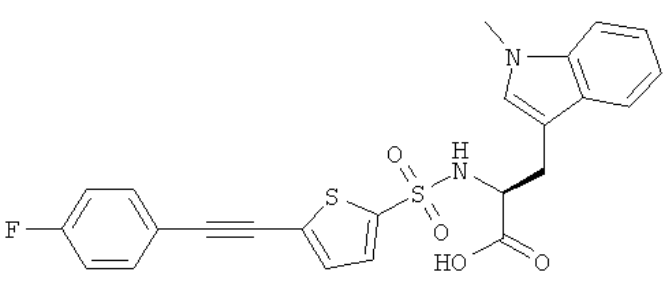
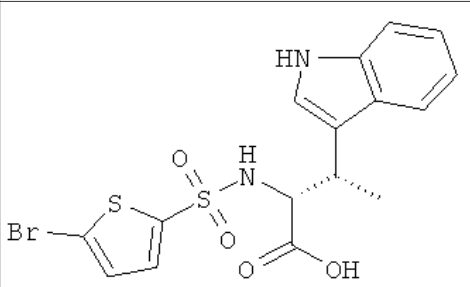
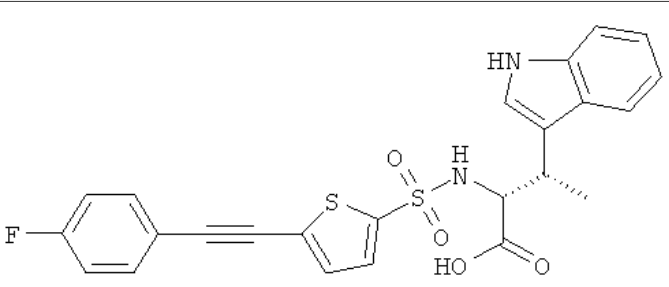
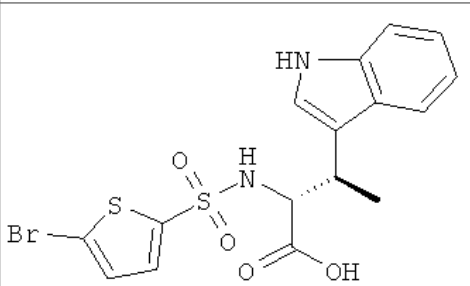
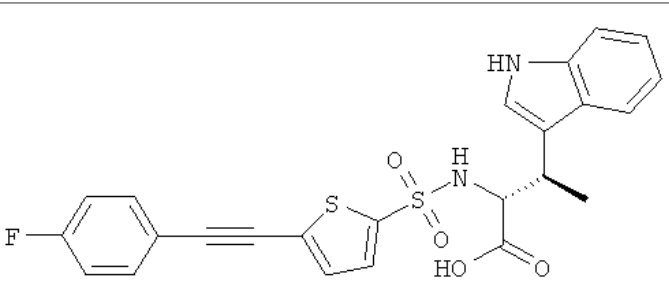
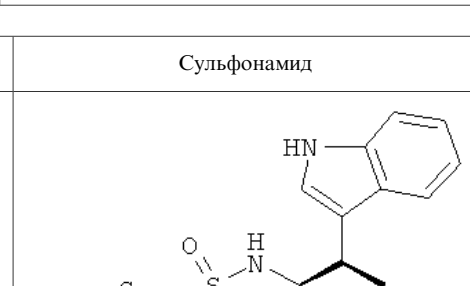
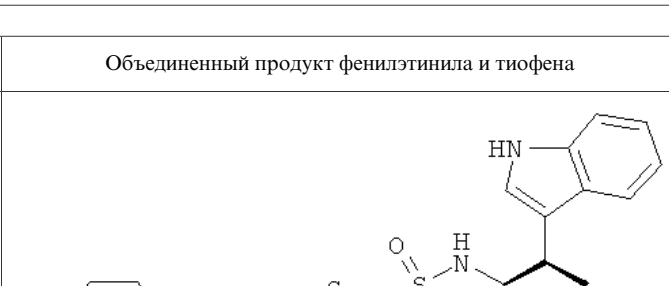




Пример 29-41

Если следовать подобной процедуре, как описано в Примере 2, кроме применения коммерчески доступных р-фторфенилацетилена (Sigma Aldrich, кат. №404330) и синтезированных сульфоамидов (Пример 3-15, Таблица 1), указанных в Таблице 3 ниже, можно приготовить следующие соединения.

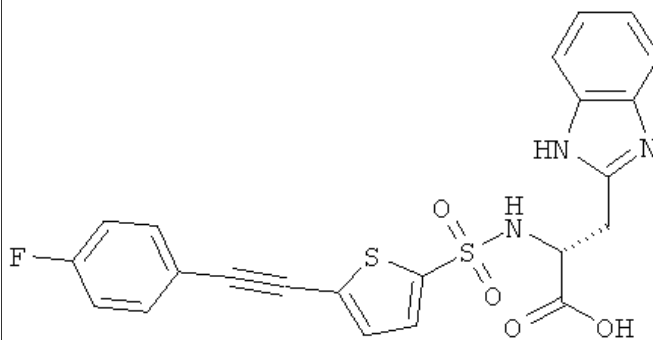
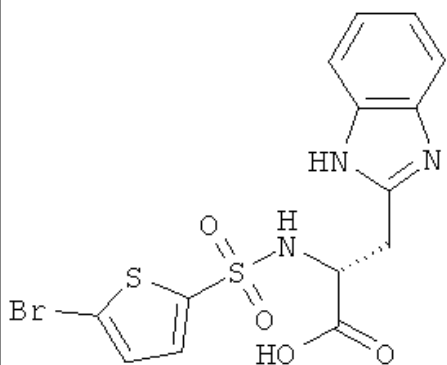
ТАБЛИЦА 3

№ прим.	Сульфоамид	Объединенный продукт фенилэтинила и тиофена
35		
40	29	
45		

5	30		
10	31		
15	32		
20	33		
25	34		
30	35		
35	№ прим.	Сульфонамид	Объединенный продукт фенилэтинила и тиофена
40	35		
45			

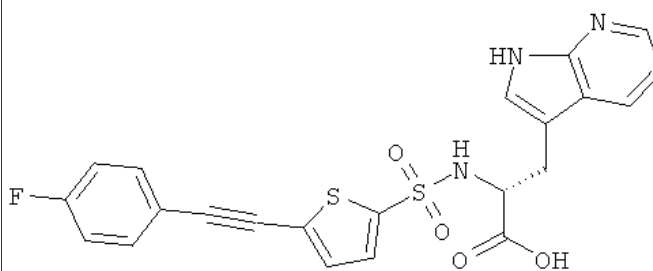
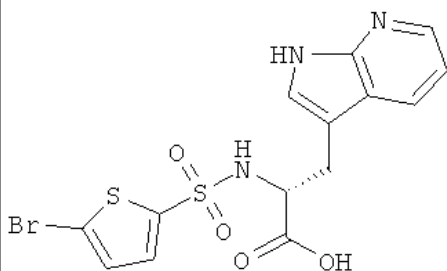
5

36



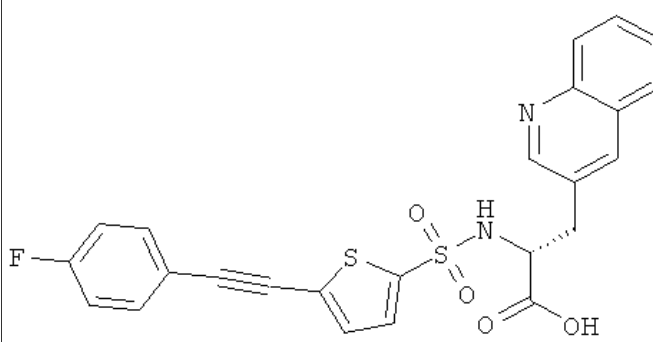
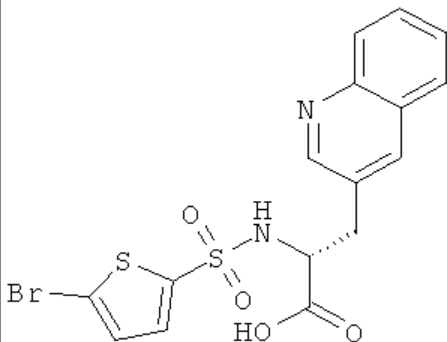
10

37



15

38

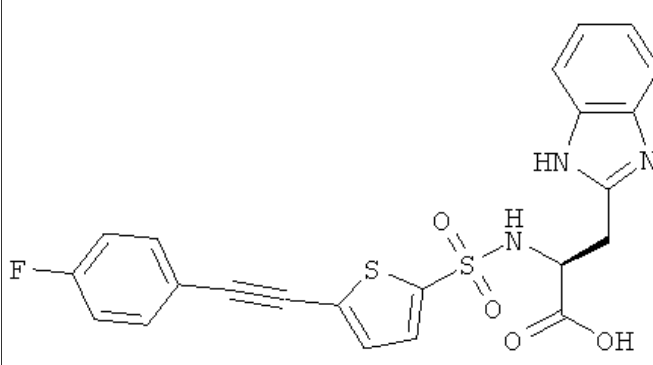
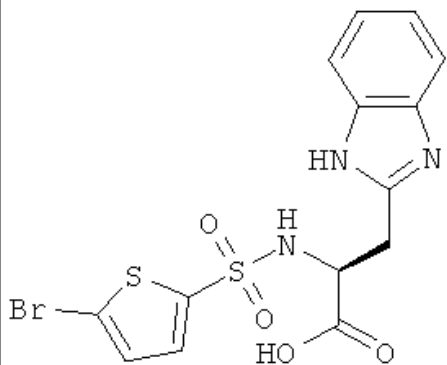


20

25

30

39



35

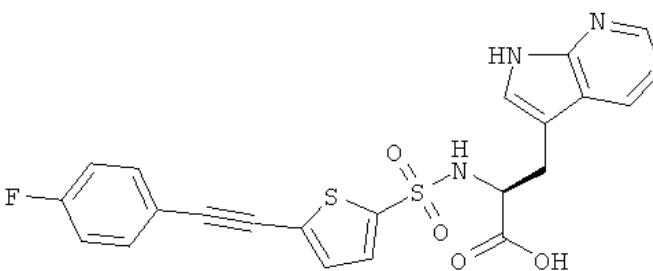
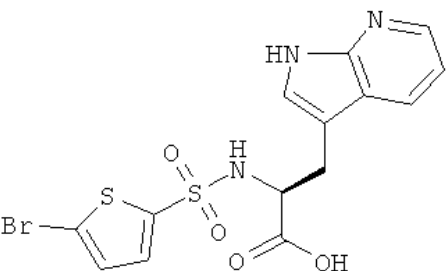
№ прим.

Сульфонамид

Объединенный продукт фенилэтинила и тиофена

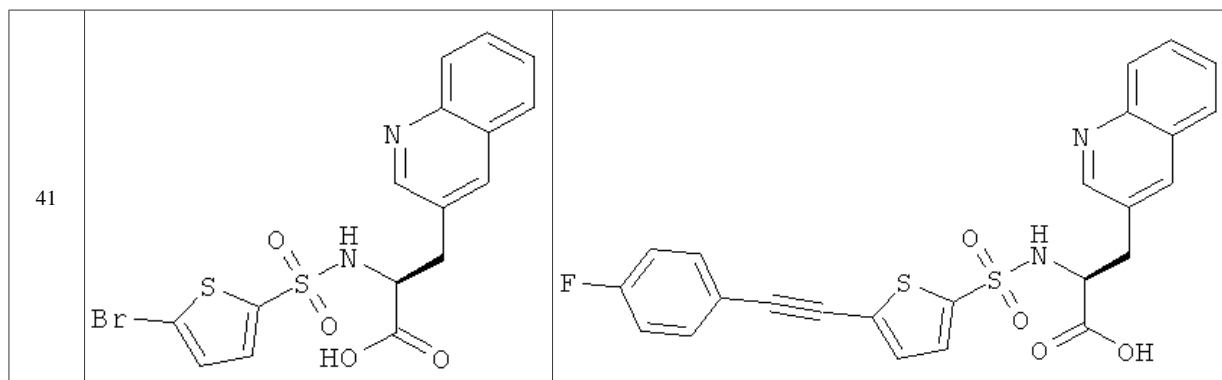
40

40



45

5



10

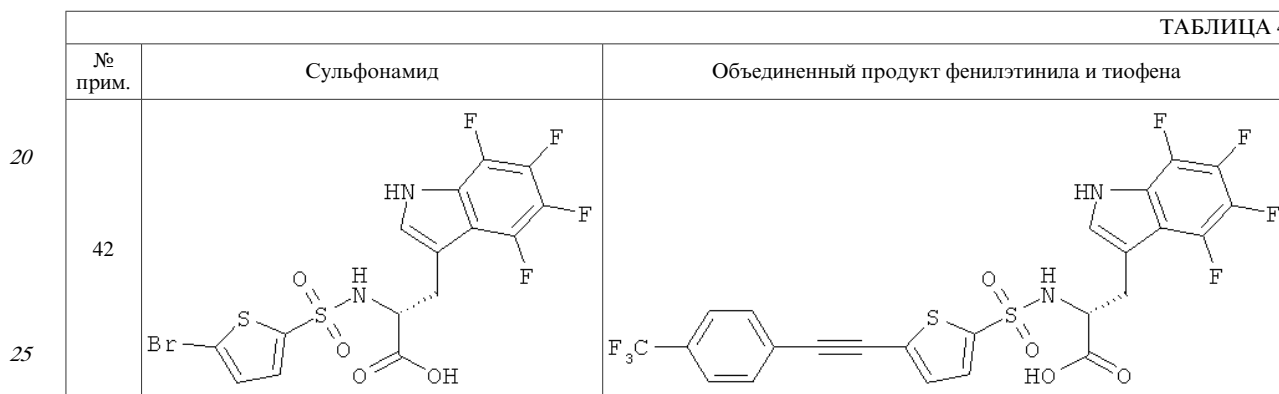
Пример 42-54

Если следовать подобной процедуре, как описано в Примере 2, кроме применения коммерчески доступных р-трифторметилфенилацетилена (Sigma Aldrich, кат. №556432) и синтезированных сульфонамидов (Пример 3-15, Таблица 1), указанных в Таблице 4

15

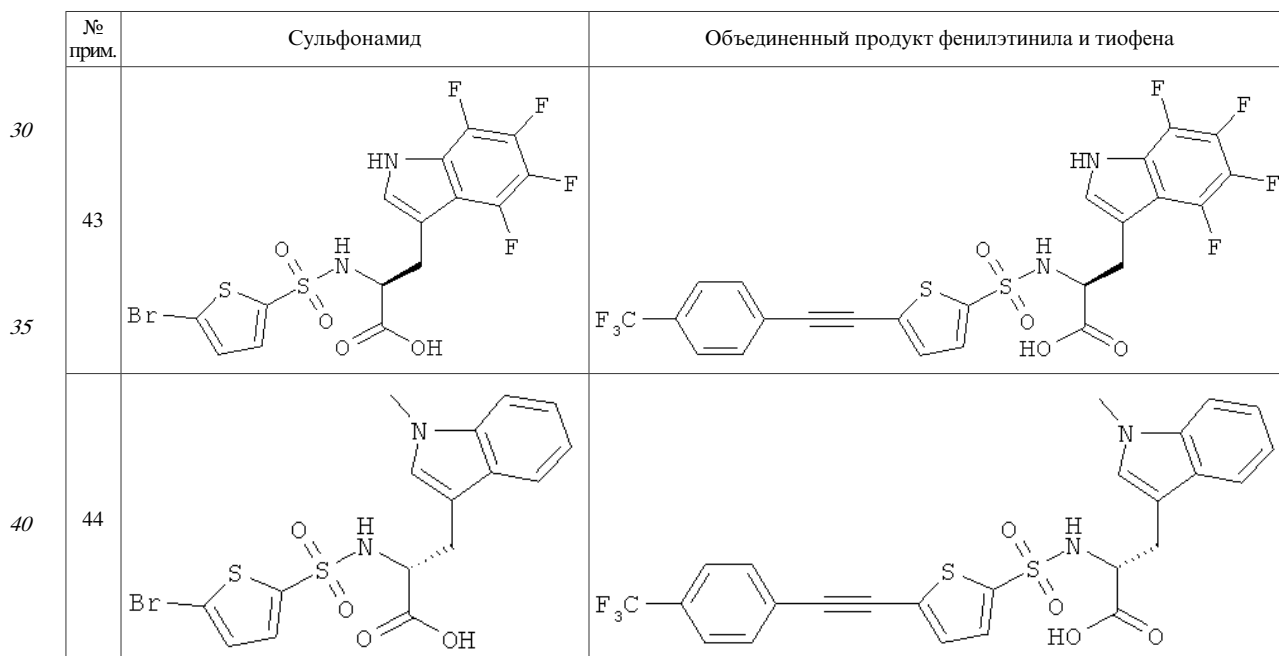
ниже, можно приготовить следующие соединения.

ТАБЛИЦА 4



20

25



30

35

40

45

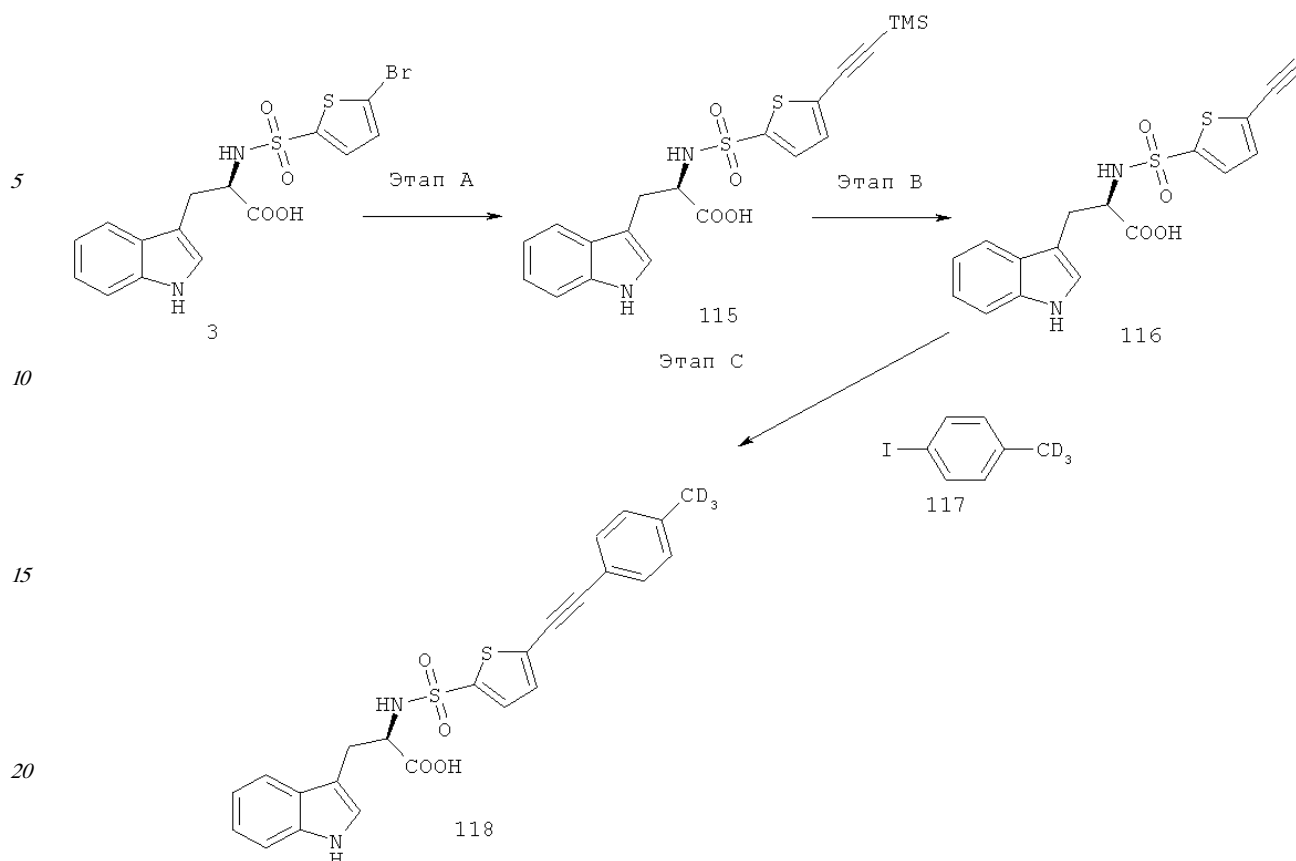
5	45		
10	46		
15	47		
20	48		
25	48		
30	48		

№ прим.	Сульфонамид	Объединенный продукт фенилэтина и тиофена
35	49	
40	49	

5	50		
10	51		
20	52		
30	53		

№ прим.	Сульфонамид	Объединенный продукт фенилэтинила и тиофена
40		
45		

Пример 55



Этап А

В круглодонную колбу добавили сырой продукт соединения (R)-2-(5-бром-тиофен-2-сульфоамино)-3-(1H-индол-3-ил)-пропионовой кислоты (3) (0,25 г, 0,584 ммоль) (синтезировали, как в Примере 1, Этап А), коммерчески доступный этинилтриметилсилан (0,17 г, 1,73 ммоль), $\text{PdCl}_2\text{P}(\text{PPh}_3)_2$ (0,041 г, 0,061 ммоль), йодид меди (I) (0,006 г, 0,0315 ммоль) и триэтиламин (0,177 г, 1,75 ммоль), растворенный в DMF (3 мл) в атмосфере азота, и смесь нагревали при 50°C два часа. Реакционную смесь затем разбавили этилацетатом и промыли раствором, состоящим из $\text{NaCl}/\text{NaHCO}_3/(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3/\text{вода}$ (1:1:1:1) (x3), водой, рассолом, и высушили (Na_2SO_4) для получения желаемой сырой (R)-3-(1H-индол-3-ил)-2-(5-триметилсиланилэтинил-тиофен-2-сульфоамино)-пропионовой кислоты 115 (185 мг, 71%). LC-MS (ES+) 447; (ES-) 445.

Этап В

К раствору сырой (R)-3-(1H-индол-3-ил)-2-(5-триметилсиланилэтинил-тиофен-2-сульфоамино)-пропионовой кислоты 115 (0,126 г, 0,282 ммоль) в смеси дихлорметан/метанол (1:1, 10 мл) добавили K_2CO_3 (0,047 г, 0,34 ммоль) и позволили перемешиваться 60 минут. Реакционную смесь затем отфильтровали и ретентат промыли смесью дихлорметана-метанола. Комбинированный фильтрат концентрировали при сниженном давлении и затем очистили, применяя колонку SAX, для получения (R)-2-(5-этинил-тиофен-2-сульфоамино)-3-(1H-индол-3-ил)-пропионовой кислоты 116 (52 мг, 49%). LC-MS (ES+) 375; (ES-) 373.

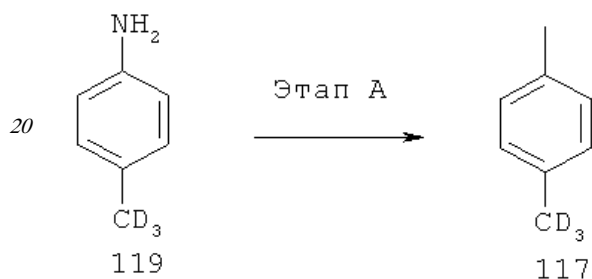
Этап С

В круглодонную колбу добавили (R)-2-(5-этинил-тиофен-2-сульфоамино)-3-(1H-индол-3-ил)-пропионовую кислоту 116 (0,052 г, 0,139 ммоль), йодтолуол-(D3, 98%) 117 (0,061 г, 0,28 ммоль) (полученный из коммерчески доступного 4-аминотолуола (D3,

98%) реакцией Зандмейера, описанной в Примере 56), $\text{PdCl}_2\text{P}[(\text{PPh}_3)]^2$ (0,01 г, 0,015 ммоль), йодид меди (I) (0,002 г, 0,0105 ммоль) и триэтиламин (0,025 г, 0,247 ммоль) и растворили в сухом DMF (3 мл) в атмосфере азота, и смесь нагревали при 50°C в течение 2 часов. Реакционную смесь охладили, разбавили этилацетатом и промыли раствором, содержащим $\text{NaVI}/\text{NaHCO}_3/(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3/\text{вода}$ (1:1:1:1) (x3), водой, рассолом, и затем высушили над сульфатом натрия (Na_2SO_4). Смесь отфильтровали и фильтрат выпарили при сниженном давлении для получения неочищенного 118, которое очистили колоночной хроматографией SAX для получения очищенного 118 (0,025 г, 38%). Продукт дополнительно очистили препаративной с обратной фазой HPLC для получения желаемого продукта 118 (R)-3-(1H-индол-3-ил)-2-[5-(4-тридецилметил-фенилэтинил)-тиофен-2-сульфониламино]-пропионовой кислоты-(D3, 98%) с чистотой >95% посредством HPLC. LC-MS (ES+) 468; (ES-) 466.

^1H ЯМР (300 МГц, MeOH-d4) δ 3,17-3,25 (m), 4,32-4,35 (m), 5,60-5,66 (m), 7,05-7,68 (m), 10,4 (brs).

Пример 56: Синтез исходного материала 4-йодтолуина (D3, 98%)

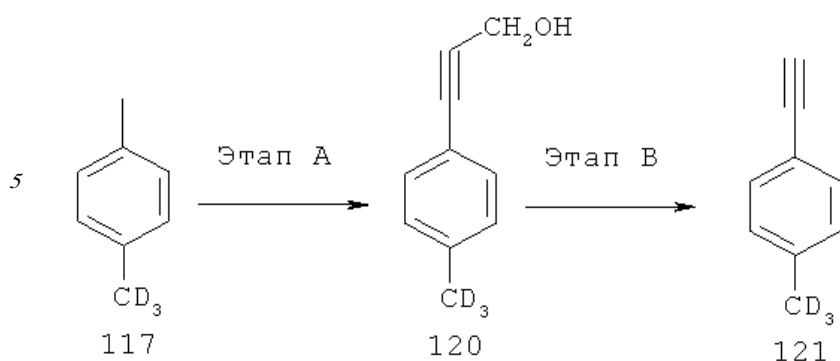


Этап А

После классического способа Griess (Practical Organic Chemistry, Richard Clay & Sons, page 144, Preparation #60, (1900)), при котором 0,2 грамма (1,8 ммоль) толуидина (D3, 98%), коммерчески доступного от C/D/N Isotopes (Quebec, Canada), (119) объединили с 0,4 мл 03804 (коммерчески полученного от Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA), и полученную смесь охлаждали, пока температура перемешиваемой смеси не достигнет 0°C, и затем медленно добавили 160 мг (2,32 ммоль) нитрита натрия тремя порциями за 10 минут, убеждаясь, что температура не поднимается выше 10°C. После добавления нитрита натрия потом добавили раствор, содержащий 48 мг (2,9 ммоль) KI в 1 мл D₂O (полученный коммерчески от Cambridge Isotope Laboratories), и реакционной смеси позволили нагреться до комнатной температуры, и перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь затем разбавили D₂O (10 мл) и экстрагировали с эфиром (x2). Эфирный слой затем отмыли 10% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ в D₂O (x2) и высушили над безводным сульфатом натрия. Неочищенный продукт (117) затем очистили колоночной хроматографией, применяя гексан как элюент для получения желаемого чистого продукта 4-йодтолуола (D3, 98%) (117) (0,16 г, 40%). ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl₃): 8, 6,93 (d, 2H, J=7,8 Гц), 7,56 (d, 2H, J=7,8 Гц).

Когда D2S04 заменили DC1 (полученным коммерчески от Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA), получили только 20% выхода 117.

Пример 57: Синтез 1-этинил-4-метил-бензола (D3, 98%)(Способ 1)



10 **Этап А**

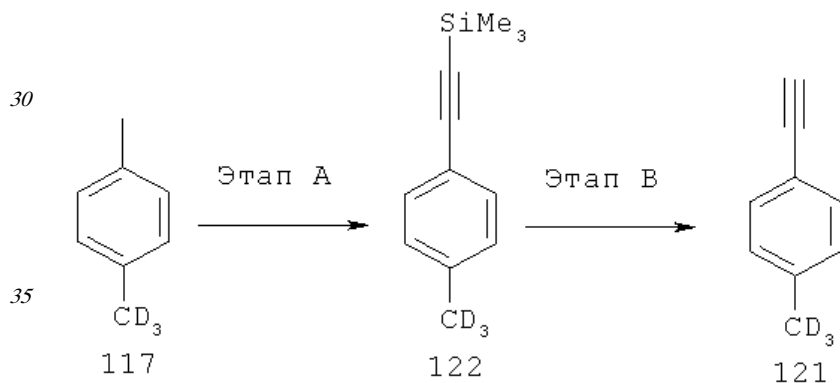
Если следовать способу Godt (Godt, A.; J. Org. Chem. 62(21), 7471-7472 и дополнительный раздел), тогда если к охлажденной (0°C) и перемешанной смеси, содержащей 4-йодтолуол(D3) (117) (полученном из Примера 56), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (2,2

15 ммоль), CuI (3,5 ммоль) в тетрагидрофуране (150 мл) и пиперидине (70 мл), добавлять коммерчески доступный проп-2-ин-1-ол (252 ммоль) в течение 30 минут в азоте, можно получить неочищенный ацетиленовый связанный продукт (120). Неочищенный продукт (120) можно затем очистить колоночной хроматографией (эфир-гексан) для получения чистого 3-р-толил-проп-2-ин-1-ола (D3) (120).

20 **Этап В**

Если продолжать следовать способу Godt и добавить 535 ммоль порошкообразного КОН и 1,0 моль MnO₂ к перемешанному раствору, содержащему 3-р-толил-проп-2-ин-1-ол (D3) (120) (109 ммоль) в диэтиловом эфире (500 мл), через 5 часов можно получить неочищенный 1-этинил-4-метил-бензол (D3) (121), который можно очистить дистилляцией при сниженном давлении для получения чистого продукта 1-этинил-4-метил-бензола (D3) (121).

Пример 58: Альтернативный синтез 1-этинил-4-метил-бензола (D3, 98%) (Способ 2)



40 **Этап А**

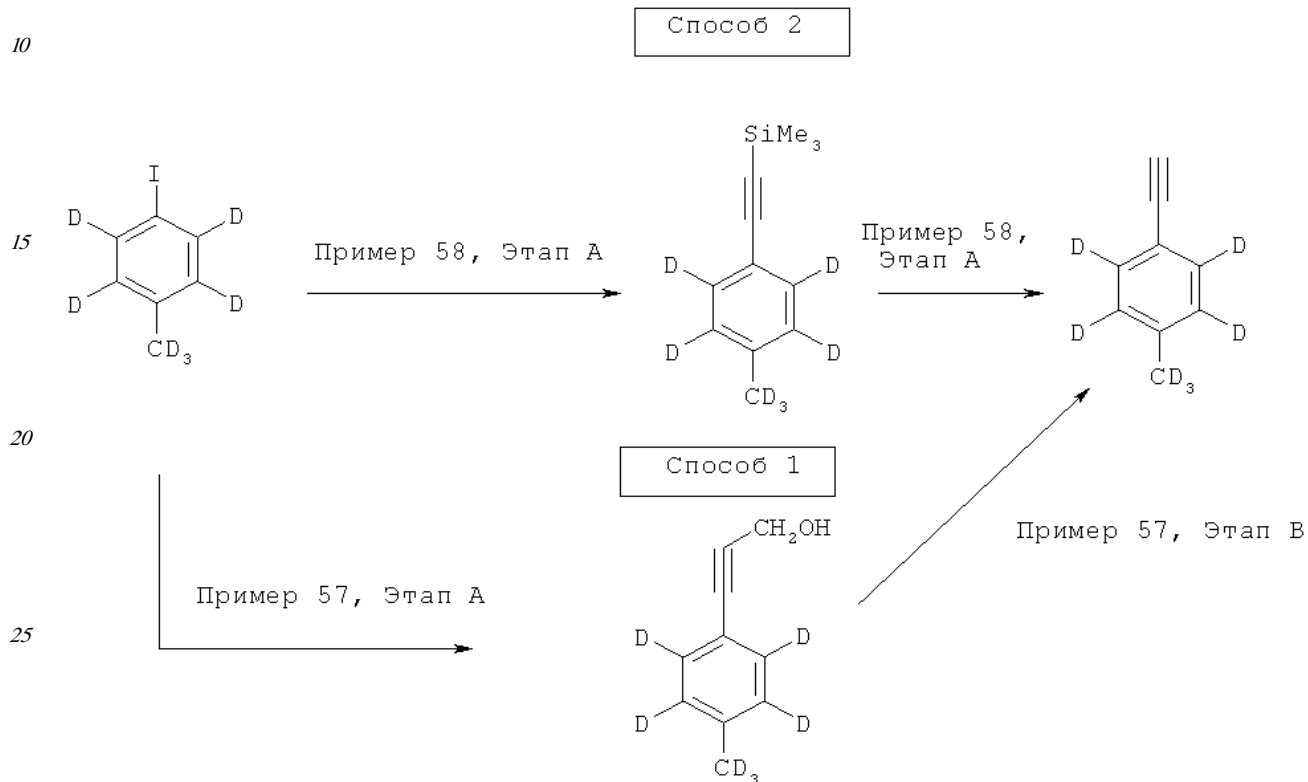
Если следовать способу Zhang и коллег (Zhang, W.; et al. Org. Synth. 84, 177-191, (2007)), тогда можно взять 38 ммоль продукта йодтолуола (D3) (117) (полученного в эксперименте 56) и добавить его в круглодонную колбу, содержащую CuI (0,77 ммоль), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (1,9 ммоль), и поместить в вакуум, затем в азот. К твердому веществу можно тогда добавить тетрагидрофуран (90 мл) и пиперидин (55 мл), и к полученной в результате смеси можно добавить за две порции в течение 5 минут коммерчески доступный 1-триметилсиллилацетилен (380 ммоль), и позволить смеси перемешиваться в азоте в течение 24 часов, которая после фильтрования через фриттовую стеклянную воронку средней пористости и концентрирования полученного раствора даст неочищенный объединенный ацетиленовый продукт (122), который можно затем

очистить через колоночную хроматографию для получения чистого объединенного ацетиленового продукта (122).

Этап В

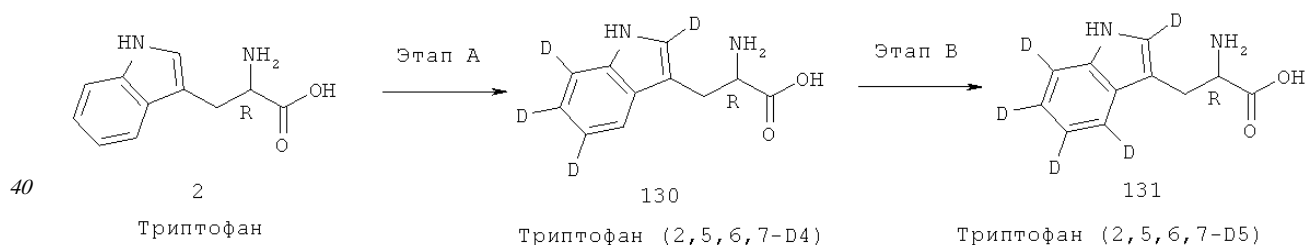
Соединение 122 этапа А выше можно затем обработать NaOD/D₂O и Этанолом (D) (все полученные из Cambridge Isotope laboratories) для получения ацетиленового продукта со снятой защитой (117), который можно затем очистить колоночной хроматографией для получения продукта 1-этинил-4-метил-бензол (D3, 98%) (117).

Пример 59: Синтез 1-этинил-4-метил-бензола (D7, 98%)



30 Для получения 1-этинил-4-метил-бензола (D7, 98%) 126 можно начать с коммерчески доступного 4-йодтолуола (D7, 98%) (C/D/N/ Isotopes, Inc. Quebec Canada, кат. №D-6325), следуя Способу 1, как представлено в Примере 57, или можно следовать Способу 2, как представлено в Примере 58, для получения после колоночной очистки 1-этинил-4-метил-бензола (D7, 98%) (126).

35 **Пример 60: Способ 1. Синтез (R)-триптофана (2,3,5,6,7-D5)**



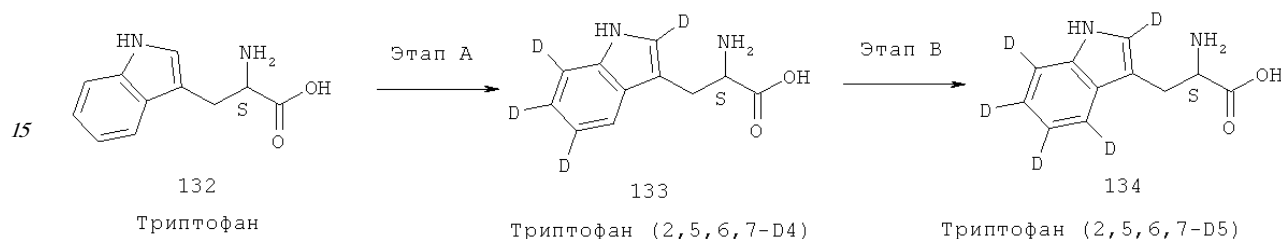
Для получения триптофана с полностью дейтерированным индольным кольцом 131 можно следовать способу Wishart и коллег (Wishart, D.S.; et al. Biochemica et Biophysica Acta., 1164, 34-46, (1993), начиная с 0,5 грамм восстановленного катализатора Адамса (Pt⁰, изготовленный согласно Wishart et al.) в 250 мл круглодонной колбе, содержащей 2,0 грамма триптофана (с альфа-углеродом, имеющим (R) хиральность и полученным от Alfa-Aesar или Sigma Aldrich). К смеси можно затем добавить 30 мл 99,9% D₂O, и

затем 1,2 мл 40% раствора NaOD (оба получены от Cambridge Isotope Laboratories), и смесь кипятили с обратным холодильником в азоте и в темноте в течение 24 часов для получения неочищенного частично дейтерированного триптофана (2,5,6,7-D4) (130), который можно выделить и очистить на этом этапе добавлением HCl и обработать.

5 Если требуется, чтобы индол был полностью дейтерированным, можно взять неочищенный продукт триптофана (2,5,6,7-D4) (130) и добавить другие 100 мл D₂O с 2,0 мл 40% NaOD, и снова нагревать с обратным холодильником дополнительно 24 часа для выделения полученного в результате продукта триптофана (2,4,5,6,7-D5) (131), который можно затем очистить рекристаллизацией из воды или спирта после

10 подкисления HCl.

Пример 61: Способ 1, синтез (S)-триптофана (2,3,5,6,7-05')



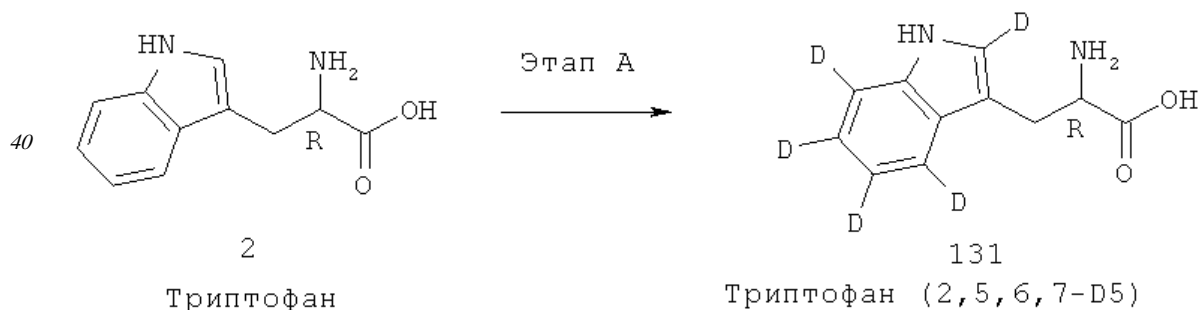
Для получения триптофана с полностью дейтерированным индольным кольцом, имеющего S-хиральную конфигурацию, можно следовать способу, как изложено в эксперименте 60, Способ 1 (Wishart, D.S.; et al. Biochemica et Biophysica Acta., 1164, 34-46, (1993)), начиная с 0,5 грамм восстановленного катализатора Adams (Pt⁰,

20 изготовленный согласно Wishart et al.) в 250 мл круглодонной колбе, содержащей 2,0 грамма триптофана (с альфа-углеродом, имеющим (S) хиральность и полученным от Sigma Aldrich или Alfa-Aesar) (132). К смеси можно затем добавить 30 мл 99,9% D₂O, и затем 1,2 мл 40% раствора NaOD (оба получены от Cambridge Isotope Laboratories), и смесь кипятили с обратным холодильником в азоте и в темноте в течение 24 часов для получения неочищенного частично дейтерированного триптофана (2,5,6,7-D4) (133), который можно выделить и очистить на этом этапе добавлением HCl и обработать.

25 Если требуется, чтобы индол был полностью дейтерированным, можно взять неочищенный продукт триптофана (2,5,6,7-D4) (133) и добавить другие 100 мл D₂O с 2,0 мл 40% NaOD, и снова нагревать с обратным холодильником дополнительно 24 часа для выделения полученного в результате продукта триптофана (2,4,5,6,7-D5) (134), который можно затем очистить рекристаллизацией из воды или спирта после

35 подкисления HCl.

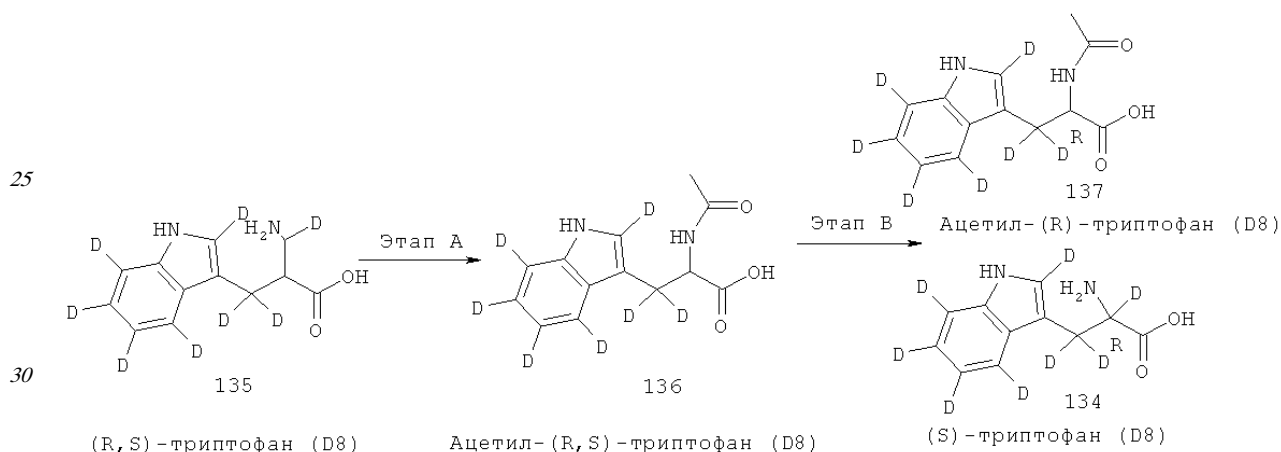
Пример 62: Способ 2, синтез (R)-триптофана (2,3,5,6,7-P5)



45 Другим путем получения триптофана с полностью дейтерированным индольным кольцом является кислотная каталитическая дейтерообменная реакция, применяя никелевый катализатор Ренея. Перед применением никелевого катализатора Ренея нужно сначала удалить атомы водорода, это можно сделать следованием способу

Pathak и коллег (Pathak, et al. *Tetrahedron Letters*, 43(18), 4227-4234, (1987)). 100 мл (объем отстаивающейся жидкости) коммерчески полученного никелевого катализатора Ренея (Sigma-Aldrich) можно промыть (20×30 мл) D₂O (99,9%) (Cambridge Isotope Laboratories), удостоверившись, что катализатору позволили простоять в воде, по меньшей мере, 30 минут перед каждым промыванием. Также можно включать промывание безводным диоксаном вначале для усиления удаления начальной H₂O. Способ Badenock- Jones (Badenoch-Jones, J.; et al. *Journal of Labeled Compounds and Radiopharmaceuticals-Vol.XX*, No. 12, 1325-1330, (1983)) затем можно применять для выполнения фактического обмена атомов водорода индола. Можно взять 0,5 грамм (R)-триптофана (Sigma-Aldrich, Milwaukee, Wisconsin или от Alfa-Aesar) и растворить его в 500 мл D₂O (полученном от Cambridge Isotope laboratories, Andover, MA) и 100 мл DCI (полученном от Cambridge Isotope Laboratories) и 50 мл (объем отстаивающейся жидкости) никелевого катализатора Ренея, и смесь нагревать при 100°C с перемешиванием в течение 10 дней. D₂O можно затем удалить при сниженном давлении и процедуру повторить снова для гарантии максимального включения дейтерия. Продукт можно затем очистить ионообменной колоночной хроматографией или HPLC с обратной фазой для получения очищенного (R)-триптофана (D5) (131). Эту процедуру можно также завершить с (S)-триптофаном (132) для получения итогового соединения (S)-триптофана (D5) (134).

Пример 63: Синтез (R) и (S)-триптофана (D8)



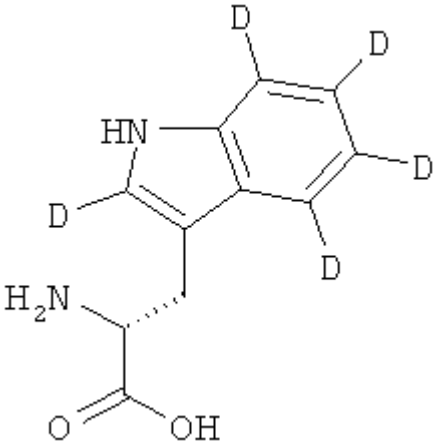
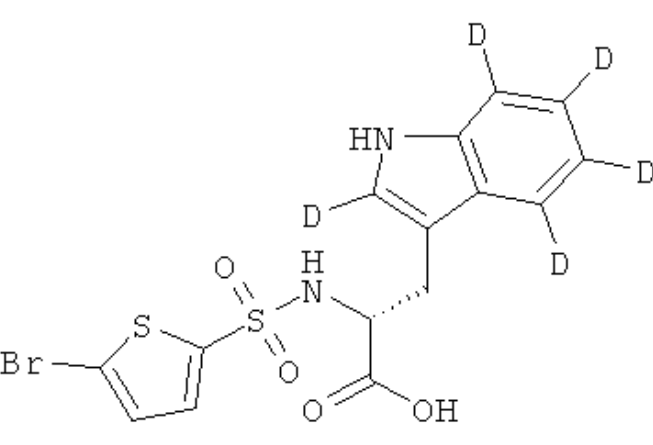
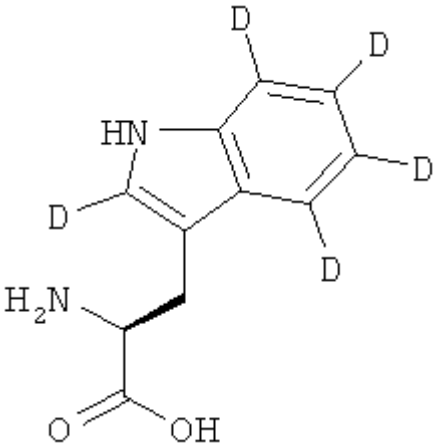
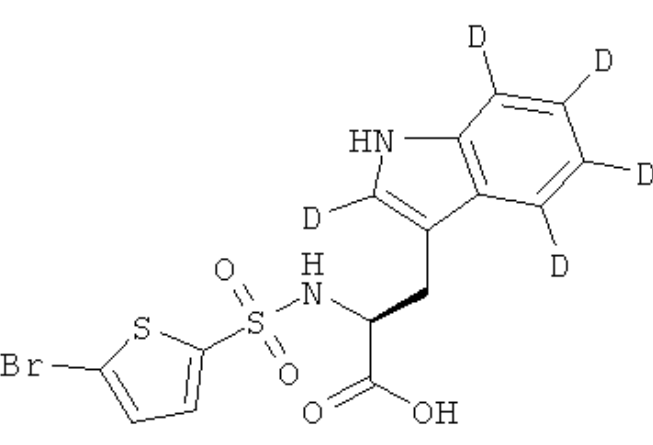
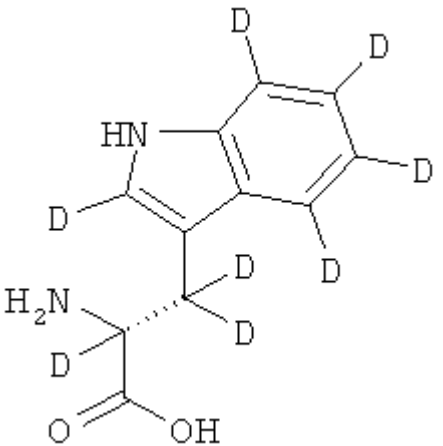
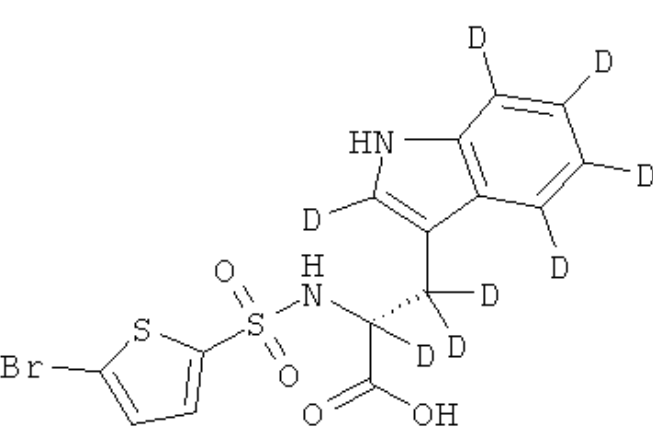
Если интересоваться синтезом полностью дейтерированного триптофана (D8), можно закупить коммерчески доступный рацемический (R,S) дейтерированный триптофан (D8) (от C/D/N, Quebec, Canada, cat # D-1648) (135). Затем следует разделить два энантиомера. Затем можно следовать способу Wommarius и коллег (Wommarius, A.S.; et al. *Tetrahedron Asymmetry*, 8(19), 3197-3200, (1997)), когда можно взять один грамм дейтерированной рацемической смеси (135) и поместить в 100 мл круглодонную колбу, содержащую 25 мл диметилформаида, и затем можно добавить 1,2 эквивалента уксусного ангидрида и 1,5 эквивалента пиридина, перемешивать смесь всю ночь. После удаления летучих компонентов реакционной смеси при сниженном давлении можно будет очистить полученную в результате ацелированную смесь триптофана (D8) колоночной хроматографией. Затем можно взять ацелированную триптофановую рацемическую смесь (136) и ферментативно гидролизировать ацелированный (S)-триптофан, селективно применяя ацилазу *Aspergillus oryzae* (закупленную у Amano Enzymes, Inc. и применяя их готовые протоколы) при концентрации 30 г/л и применяя раствор 0,3 М ацелированной рацемической смеси (136) при pH 7, температуре 37°C для получения деацелированного (S)-триптофана (D8) (134). Ацелированный (R)-

триптофан (D8) (137) можно затем или гидролизировать химически, или ферментативно (т.е. через липазу) для получения в результате свободного амина.

Пример 70-77

После подобной процедуры, как описано в Примере 1, кроме применения дейтерированных триптофанов из Примеров 60-63 (и/или коммерчески доступные производные триптофана, полученные из Cambridge Isotope Laboratories, C/D/N и Sigma-Aldrich), указанных в Таблице 5 ниже, и бромсульфонил хлорида 1, можно приготовить следующие соединения.

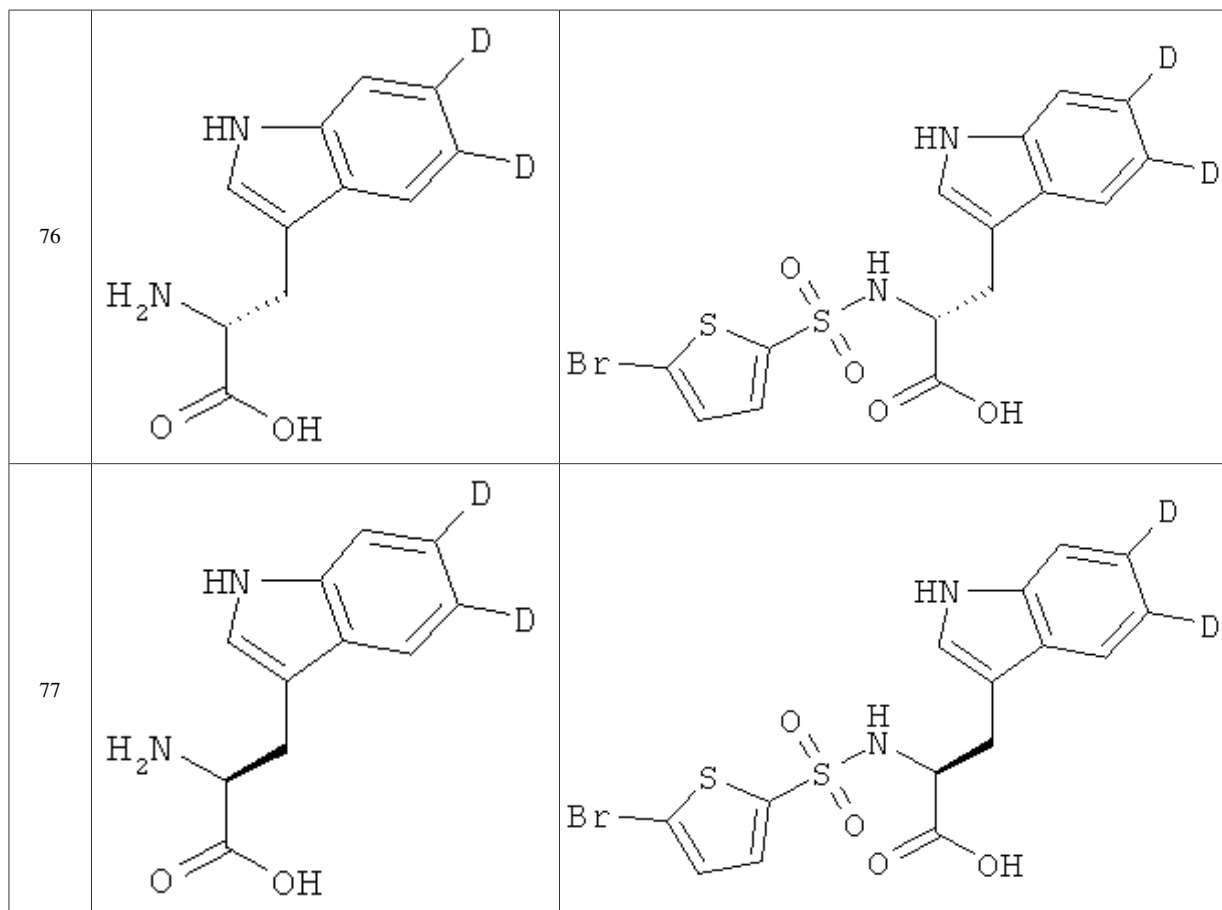
ТАБЛИЦА 5

№ прим.	Аминокислота	Продукт сульфонида
70		
71		
72		

№ прим.	Аминокислота	Продукт сульфонида
5 73 10		
15 74 20 25		
30 75 35		

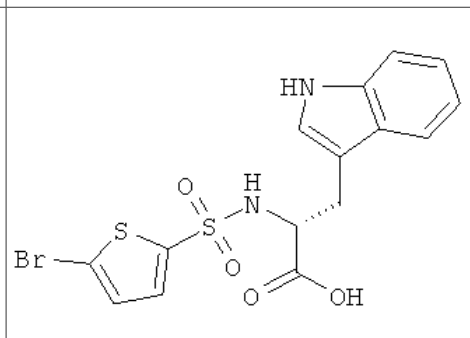
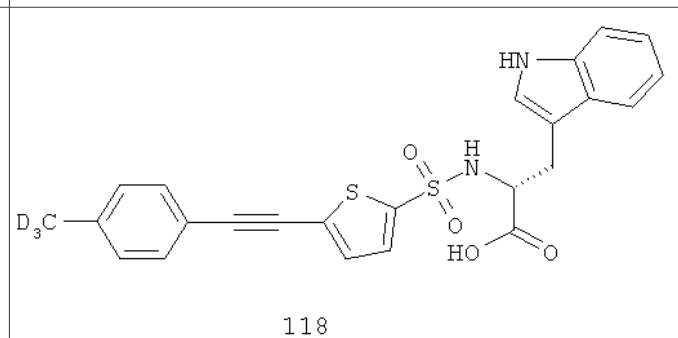
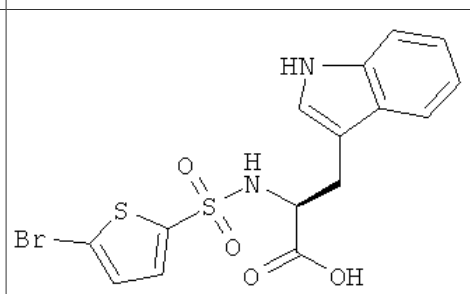
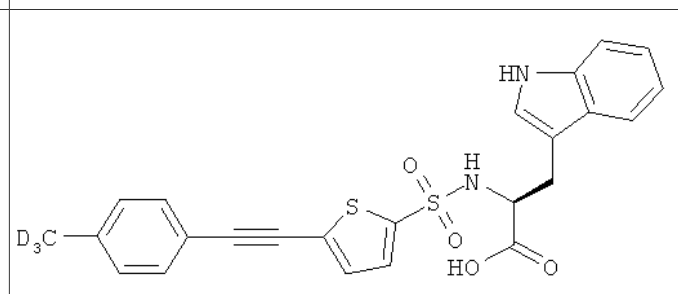
40

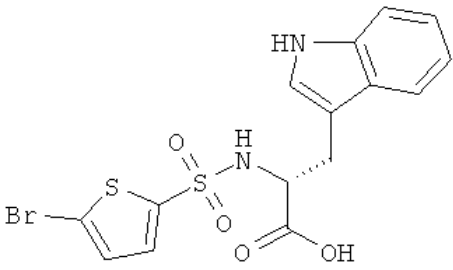
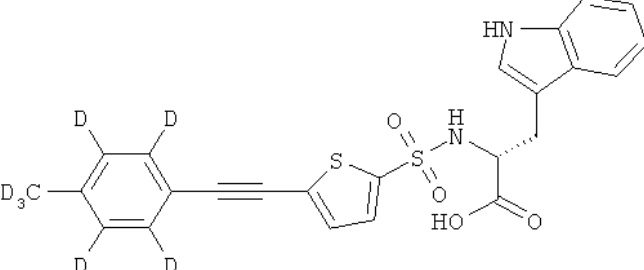
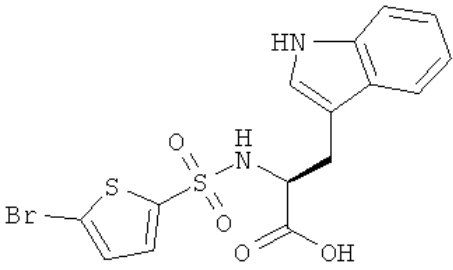
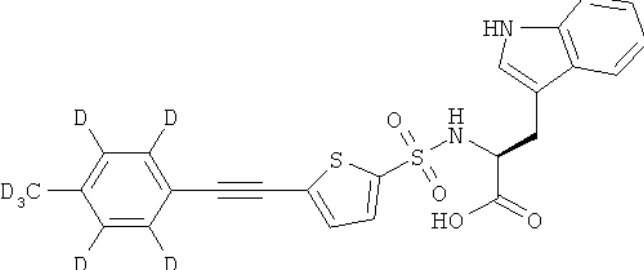
45

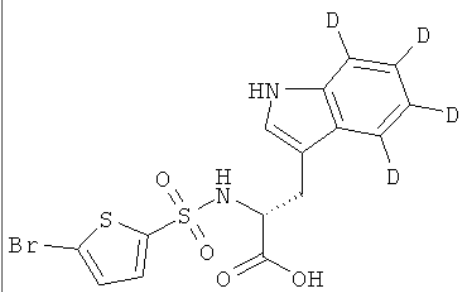
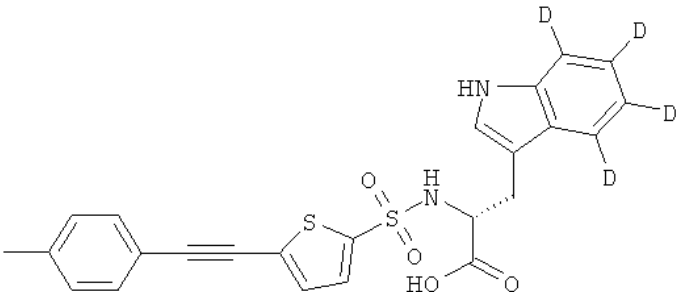
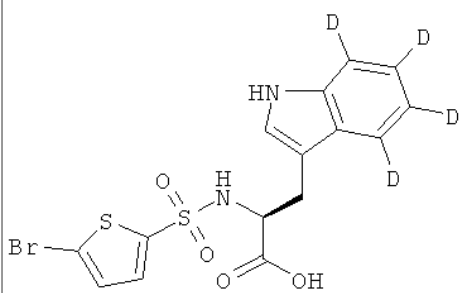
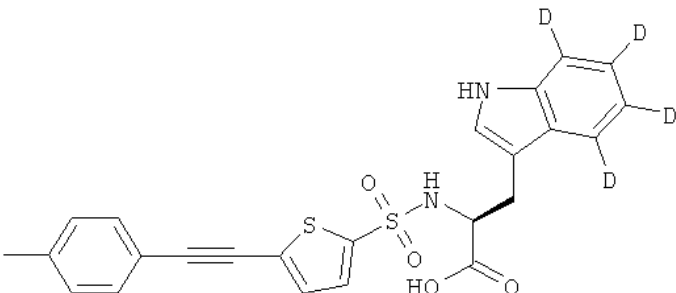
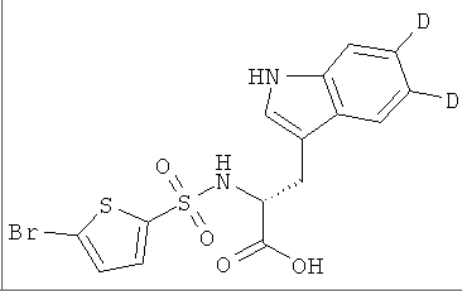
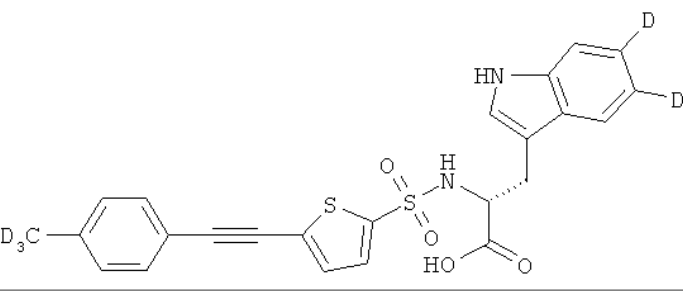
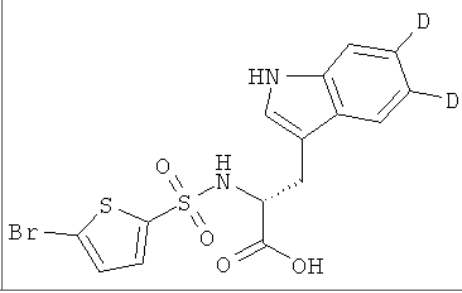
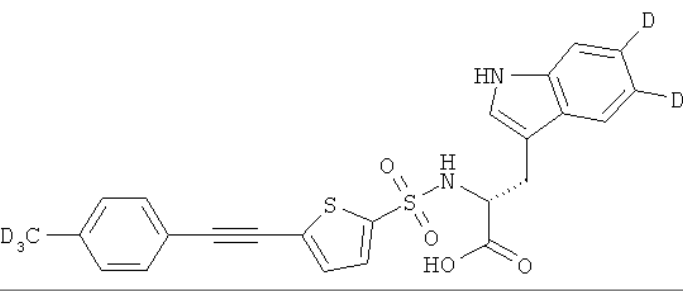


Пример 78-91

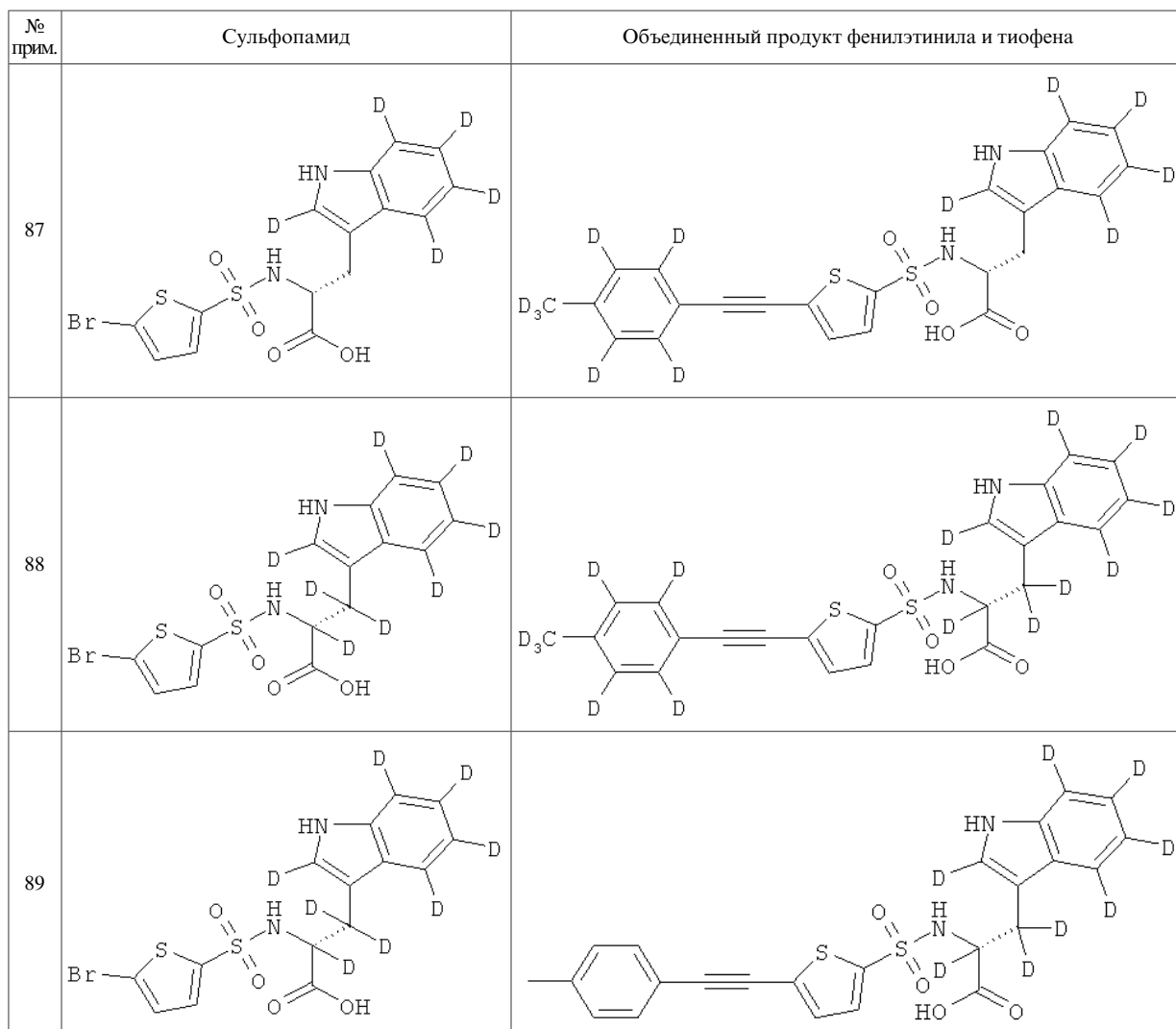
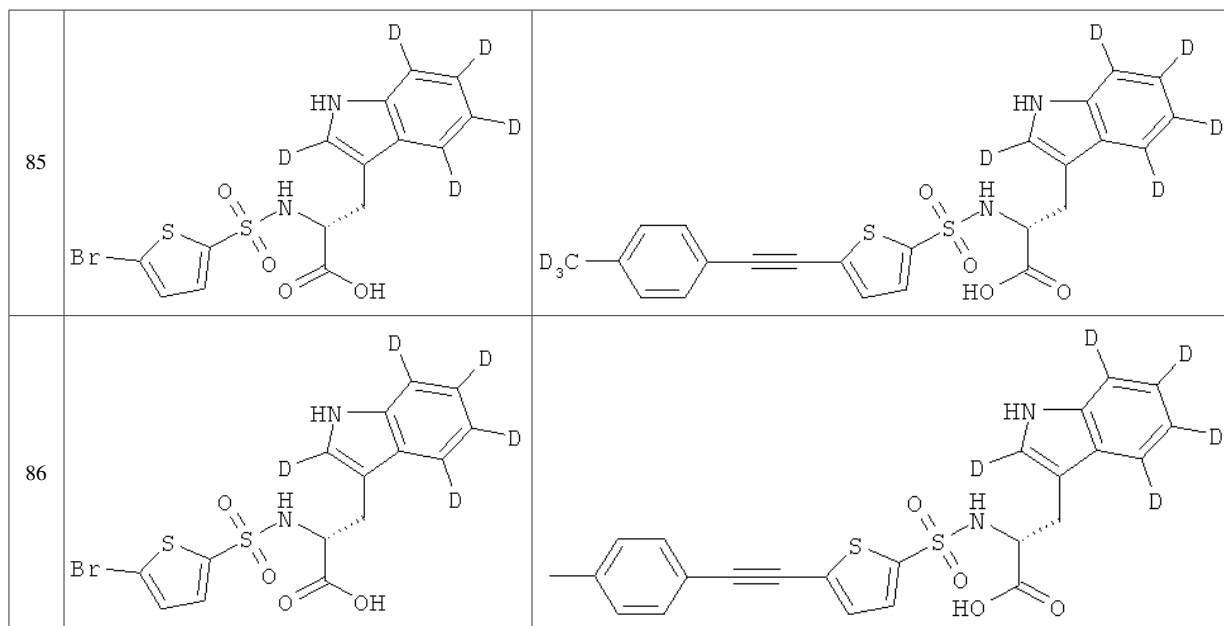
После подобной процедуры, как описано в Примере 2, кроме применения ранее приготовленных р-толилацетиленов (Пример 57-59) и синтезированных сульфонамидов (Пример 1 и Примеры 70-77, Таблица 1), указанных в Таблице 6 ниже, можно приготовить следующие соединения. (Пример 78 является альтернативным путем для синтеза соединения 118, которое синтезировали путем в Примере 55).

ТАБЛИЦА 6		
№ прим.	Сульфонамид	Объединенный продукт фенилэтинила и тиофена
35 40		 <p style="text-align: center;">118</p>
45		

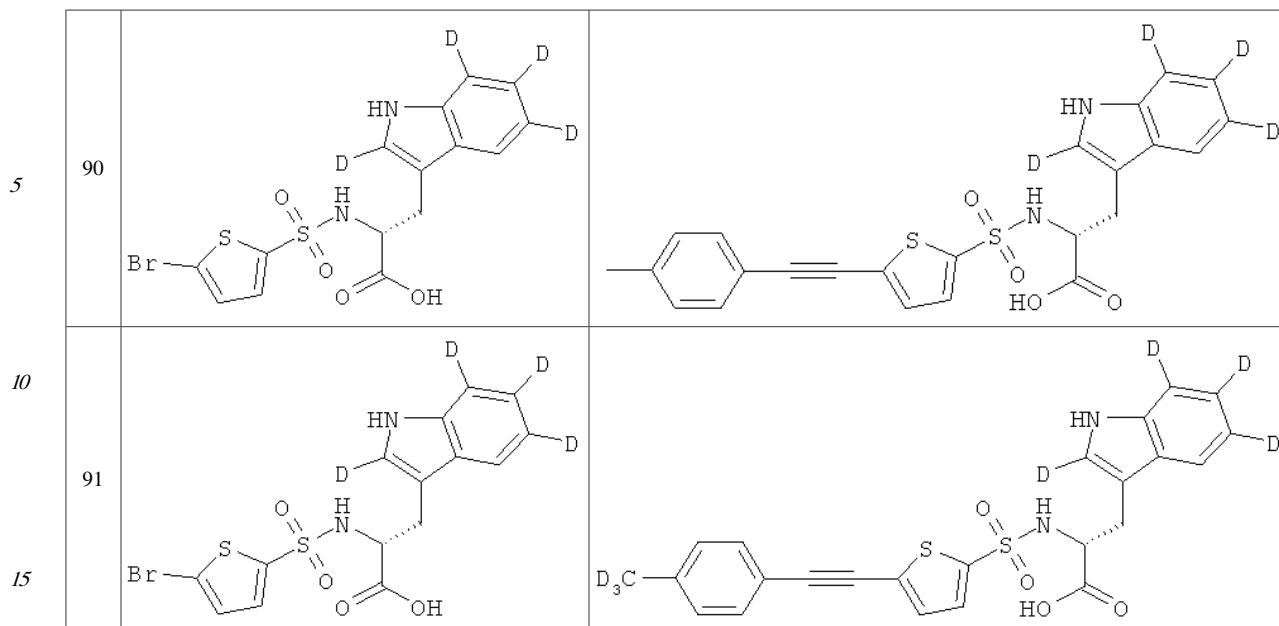
5	80		
10	81		

№ прим.	Сульфонамид	Объединенный продукт фенилэтина и тиофена	
20	82		
25	83		
30	84		
35	84		

45



45



Пример 105

In-vitro анализ для определения микросомальной стабильности выбранных соединений в микросомах человека и мыши.

Микросомальную стабильность человека и мыши определяли для выбранных соединений по способу Houston (Houston, JB; Biochem. Pharmacol. 47, (1994), 1469).

В in-vitro анализе использовали концентрацию соединения 1 мкмоль и отдельные микросомы человека и мыши (0,3 мг/мл, BD bioscience). Для обеспечения должной доставки энергии для микросомального распада соединения систему, регенерирующую энергию, включающую 100 ммоль фосфата калия, 2 ммоль NADPH, 3 ммоль MgCl₂, pH 7,4 и микросомальный белок, добавили в каждый образец и полученную в результате суспензию затем инкубировали в двух экземплярах в течение 60 минут при 37°C в ротационном шейкере. Контроль проводили для каждого исследуемого средства в двух параллелях, исключая NADPH, для определения NADPH-независимого распада. При T=0 и T=60 минут аликвоту удаляли из каждой экспериментальной и контрольной реакции и затем смешивали с равным объемом ледяного стоп-раствора (состоящего из 0,3% уксусной кислоты в ацетонитриле, содержащего галоперидол и диклофенак как внутренние стандарты). Остановленные реакции затем инкубировали, по меньшей мере, 10 минут при -20°C и затем добавляли дополнительный объем воды. Образцы затем центрифугировали для удаления осажденного белка и супернатанты затем анализировали при помощи LC-MS/MS для определения процентного соотношения оставшегося соединения. Применяемой LC-MS/MS системой был масс-спектрометр Agilent 6410, объединенный с Agilent 1200 HPLC и CTC PAL охлажденным автоматическим пробоотборником, все контролировалось при помощи программного обеспечения MassHunter (Agilent), или масс-спектрометр ABI2000, объединенный с Agilent 1100 HPLC и CTC PAL охлажденным автоматическим пробоотборником, все контролировалось при помощи программного обеспечения Analyst (ABI). После разделения на C 18 HPLC колонке с обратной фазой (Agilent, Waters, или эквивалент), применяя градиентную систему ацетонитрил-вода, пики анализировали масс-спектрометрией (MS), применяя ESI ионизацию в MRM режиме.

Таблица 7 и 8 ниже показывает микросомальную стабильность выбранных соединений и в микросомах человека и мыши.

Таблица 7				
In-vitro микросомальная стабильность выбранных соединений у человека				
№соединения	Концентрация соединения (микромоли)	Тестовые образцы	Среднее значение остающегося исходника с NADPH (%) ¹	Среднее значение остающегося исходника без NADPH (%) ¹
5	1	Человек	86	89
118	1	Человек	88	97

¹при T=60 мин

Таблица 8				
In-vitro микросомальная стабильность выбранных соединений у мыши				
№ соединения	Концентрация соединения (микромоли)	Тестовые образцы	% среднее значение остающегося исходника с NADPH (%) ¹	% среднее значение остающегося исходника без NADPH (%) ¹
5	1	Мышь	83	88
118	1	Мышь	85	91

¹при T=60 мин

Измерение ингибирования невропатической боли -(SND-животная модель мыши: Предпосылки и описание животной модели

Для измерения воздействий, ингибирующих невропатическую боль, ингибиторов ММР данного изобретения лигатуру спинального нерва (SNL) мышинной модели проводили на выбранном количестве соединений. Эта модель, которая началась с работы Bennet и коллег (Bennet, G.J. et al. Pain, 33, (1988), 87-107) и была оптимизирована Kim и Chung (Kim, S.H.; Chung, J.M. Pain, 50, (1992), 355-363), влечет за собой, во-первых, при усилении удаление одной третьей поперечного отростка и затем идентификацию, а затем отделение свободного L5 спинального нерва от прилегающего L4 спинального нерва у мыши. Спинальный нерв L5 затем сильно перевязали, применяя шелковую нить 6,0. Нервное повреждение приводит к гипералгезии, которая проявляется усиленными ответами на механические, тепловые и/или охлаждающие возбудители. В данном случае, механическая гипералгезия исследовалась при помощи мононитей фон Фрея, в которых нити с различной толщиной и изгибающей силой индивидуально применяются на подошвенную поверхность ступни мыши. Пороговая сила, необходимая для отдергивания лапы, снижается резко после хирургии нерва. Мощные ингибиторы боли будут полностью изменять это воздействие, приводя к большей силе, которую необходимо применить, чтобы вызвать отдергивание грызуном лапы.

Пример 110: Подоболочечное (i.t.) введение ингибиторов ММР в (SND-мышинной модели боли

После измерений отдергивания лапы дооперационного исходного уровня (День-2) самца мыши FVB подвергли SNL повреждению (День-1). На следующий день (День 0) после SNL хирургии животных исследовали измерения отдергивания лапы послеоперационного исходного уровня для механической аллодинии; и тогда животных случайно определили в одну из 3 групп обработки (см. Таблицу 9). За курс изучения порог чувствительности отдергивания лапы этих животных измеряли в ответ на механическую стимуляцию с применением исследования мононитью фон Фрея.

Для избегания общего действия ингибиторов ММР, ингибиторы ММР данного изобретения были доставлены в пространство мозговой цереброспинальной жидкости (CSF) вокруг люмбосакрального спинного мозга путем подоболочечного (i.t.) введения с целью поражения ММР в DRG, спинном мозге и спинном CSF. Подоболочечное введение ингибитора ММР может затем поражать не только клетки спинного мозга, а также клетки DRG. Каждое Подоболочечное (i.t.) введение проводили согласно технике Hylden и Wilcox (Hylden JL, Wilcox GL. Eur. J Pharmacol., 67, (1980), 313-6), 5,2 мг каждого

из ингибиторов ММР сначала растворяли в 140 микролитрах DMSO и затем помещали в 1260 микролитров 0,5% гидроксипропилцеллюлозы (НРС) в воде для получения тонкодисперсной суспензии, состоящей из соединения в 10%DMSO-0,5% гидроксипропилцеллюлозе. 10 микролитров смеси ввели в подбололочное пространство самца мыши FVB (каждый весом 22-25 грамм и получен от Jackson Laboratories, Bar Harbor, Me) поясничной пункцией в объеме 10 мкл/мышь, применяя микрошприц Гамильтона с размером иглы 30, вставленной между поясничными позвонками 5 и 6. Кратко, каждое животное накрепко удерживали за тазовый пояс в одной руке, при этом иголку вставляли в ткань с правой стороны L5 или L6 остистого отростка. Иголку подвинули вперед и просунули в углубление между остистым отростком и поперечным отростком и мягко двигали вперед в межпозвоночное пространство при угле ~10°. Поскольку иголку вставили (-0,5 см) в позвоночный столб, наблюдали подергивание хвостом и затем ввели раствор. В таблице 9 подытожили различные группы обработки и частоту введения.;

Таблица 9

Группы i.t. обработки животного и исследуемые соединения

Обработка	№мыши	Доза	Путь введения и частота
Носитель	8	Группа 1, 10 мкл/мышь	i.t, ежедневные инъекции от 1-6 дней, начальный день 1
Соединение №5	4	Группа 2, 10 мкл/мышь	i.t, ежедневные инъекции от 1-6 дней, начальный день 1
Соединение №118	5	Группа 3, 10 мкл/мышь	i.t, ежедневные инъекции от 1-6 дней, начальный день 1

- Носитель = 10% DMSO, 0,5% гидроксипропилцеллюлоза в воде

Испытание тактильной аллодинии. Механическую аллодинию измеряли с применением калиброванных нитей фон Фрея (монопнити Semmes-Weinstein; Stocking, Wood Dale, IL, U.S.A.). Подошвенную поверхность левой поврежденной лапы каждого животного исследовали, как описано Chaplan et al. (Journal of Neuroscience Methods, 53, (1994), 55-63). Пятидесятипроцентный пороговый ответ чувствительности отдергивания лапы определяли последовательным повышением или понижением силы возбудителя "реверсивным способом" по Dixon (Annual Review Pharmacology Toxicology, 20, (1980), 441-462). Для мышей применяли восемь нитей фон Фрея, с приблизительно равными логарифмически возрастающими изгибающими силами (номер фон Фрея: 1,65, 2,36, 2,44, 2,83, 3,22, 3,61, 3,84, 4,08 и 4,17; эквивалентно 0,005, 0,02, 0,03, 0,07, 0,17, 0,41, 0,69, 1,20 и 1,48g силе, соответственно).

Перед испытанием каждое животное помещали в подвешенную чистую пластиковую камеру с дном из проволочной сетки и акклиматизировали в течение 15 минут. Тестирование начали с 0,07 г (маркировка вручную 2,83) приложенных перпендикулярно на подошвенную поверхность пораженной задней лапы; каждую нить прикладывали при достаточном давлении, чтобы вызвать эффект изгиба. Отсутствие ответа поднятия/отдергивания лапы через 6 секунд побуждало применение следующей более тяжелой нити. Отдергивание лапы, указывая на положительный ответ, побуждало применять более слабую нить. После начального положительного ответа (т.е. отдергивание лапы) исследование продолжали в течение четырех дополнительных измерений, и применяли для расчета порога чувствительности ответа. Четыре последовательных положительных ответа получили показатель 0,001 г, и пять последовательных отрицательных ответов (т.е. без отдергивания лапы) получили показатель 1,5 г.

Анализ испытания тактильной аллодинии. Рассчитали 50% порог чувствительности отдергивания лапы (PWT; Luo and Calcutt, J. Pharmacology Experimental Therapeutics, 303 (3), (2002), 1199-1205; Chaplan et al. Journal of Neuroscience Methods, 53, (1994), 55-63) с

применением формулы:

$$10(Xf+k\delta)/10000,$$

где Xf является последней применяемой нитью фон Фрея (логарифмические единицы), k является значением, которое анализирует набор выходных ответов (взятых из таблицы, опубликованной Chaplan et al., 1994), и δ является средним значением между возбудителями (логарифмические единицы).

Контроль отклонения. Для предупреждения отклонения результатов изучения, технический персонал не был осведомлен об истории обработки каждого животного, когда оценивал поведенческие ответы животных.

Результаты исследования поведения, которые представлены в Таблице 10, четко показывают почти полное изменение аллодинии соединением №118 по сравнению с носителем и соединением №5. Это более легко можно увидеть на Фигуре 1, на которой показан график дней введения/испытание фон Фрея (время) против порога чувствительности отдергивания лапы (г) для каждой из группы обработки.

Таблица 10
(i.t.)-SNL- Результаты поведенческого исследования мыши для носителя, соединения №5 и №118 (единицы в граммах).

Группа 1: Носитель	День (-2) Передоперационный исходный уровень ¹	День 0 Послеоперационный исходный уровень ²	День 1 ³	День 5	День 7
Среднее	1,130	0,068	0,110	0,026	0,071
стандартное отклонение	0,418	0,112	0,102	0,025	0,056
Группа 2: Соединение №5	День (-2) Передоперационный исходный уровень ¹	День 0 Послеоперационный исходный уровень ²	День 1 ³	День 5	День 7
Среднее	1,265	0,050	0,098	0,079	0,190
стандартное отклонение	0,271	0,048	0,100	0,055	0,230

Группа 3: Соединение №118	День (-2) Передоперационный исходный уровень ¹	День 0 Послеоперационный исходный уровень ²	День 1 ³	День 5	День 7
Среднее	1,268	0,077	0,321	0,320	1,024
стандартное отклонение	0,327	0,072	0,660	0,297	0,521

¹Испытание перед SNL повреждением (передоперационный исходный уровень)
Испытание через 2 дня после SNL повреждения (исходный уровень послеоперационного повреждения) Испытание, проводимое через 2 часа после первой i.t. инъекции.

Пример 111: Интраперитонеальное (i.p.) введение ингибиторов MMP в (SND-мышиную модель боли

Для лучшего определения биологической доступности соединений MMP данного изобретения, когда соединение вводят с наружной стороны области спинного мозга, модель SNL мыши повторили с соединениями №5 и №118 путем интраперитонеального введения. Кроме способа введения, количества мышей/группу и количества введений и количества соединения на инъекцию, остаток изучения завершили таким же образом (что касается хирургии и испытания и анализа тактильной аллодинии) как и эксперимент 110. 3,2 мг каждого из ингибиторов MMP №5 и №118 растворили в 320 микролитрах DMSO. К раствору затем добавили 32 микролитра Tween 80, а затем 2850 микролитров фосфатного буферного солевого раствора (PBS). Это дало финальную концентрацию 10% DMSO, 1% Tween и 1 мг/мл соединения. 0,1 мл этого раствора затем вводили мышам/день (пять последовательных дней) для получения приблизительной дозы 3,3 мг/кг. Группы обработки изложены в Таблице 11. Результаты поведенческих испытаний можно увидеть в Таблице 12. Понятно, что соединение №118 показывает полное

изменение механической аллодинии на 5 день. На фигуре 2 показан график дней введения/испытание фон Фрей (время) против порога чувствительности отдергивания лапы (г) для каждой из группы WO 2010/075287 обработки. Интересно указать на относительно длительный аффект, вызванный соединением №118, даже через 48 часов (день 6) от последней инъекции (день 4).

Животные группы IP обработки			
Обработка	№ мыши	Доза	Путь введения и частота
Носитель	3	Группа 1, 100 мкл/мышь	IP ежедневные инъекции на день 1-5
Соединение №5	3	Группа 2, 100 мкл/мышь	IP ежедневные инъекции на день 1-5, начальный день 1
Соединение №118	3	Группа 3, 100 мкл/мышь	IP ежедневные инъекции на день 1-5, начальный день 1
- Носитель=10% DMSO, 1% Tween 80, в PBS.			

Группа 1; Носитель	День 0 Послеоперационный исходный уровень	День 1	День 2	День 5	День 6	День 7
Среднее	0,112	0,167	0,137	0,130	0,065	0,056
стандартное отклонение	0,078	0,098	0,142	0,056	0,048	0,019
Группа 2; Соединение №5	День 0 Послеоперационный исходный уровень	День 1	День 2	День 5	День 6	День 7
Среднее	0,046	0,078	0,117	0,238	0,099	0,128
стандартное отклонение	0,065	0,046	0,127	0,246	0,113	0,098
Группа 3; Соединение №118	День 0 Послеоперационный исходный уровень	День 1	День 2	День 5	День 6	День 7
Среднее	0,096	0,170	0,350	1,470	0,867	0,250
стандартное отклонение	0,059	0,192	0,226	0,052	0,553	0,118

Пример 120

Измерение ингибирования воспалительной боли - воспаления, вызванного каррагинаном (CARR), у крыс

Если измеряли ингибирующие воздействия воспалительной боли ингибиторов MMP данного изобретения, можно применять модель каррагинана для измерения нервнопатической боли, как представлено в LaBuda, C.J., и Fuchs, P.N. Neuroscience Letters, 304, (2001), 137-140.

Модель острой формы: Подкожная инъекция в заднюю лапу крысы: Острое воспалительное состояние производится подкожной инъекцией 3% лямбда каррагинана (0,12 мл) в подошвенную поверхность одной задней лапы при легкой анестезии изофлураном. Обычно, существует дополнительная контрольная группа, которая получает эквивалентный объем солевого раствора. Затем животные будут получать ингибиторы MMP данного изобретения через 3½ часа после инъекции CARR. Количественную оценку болевого поведения затем можно выполнить через животную модель отдергивания лапы, применяя те же процедуры, как изложено в эксперименте 110 и 111.

Модель хронической формы: Внутрисуставная инъекция. Более длительное состояние воспаления воспроизводится выполнением внутрисуставной инъекции CARR (0,1 мл, 3%) в сустав большеберцовой кости при анестезии изофлураном. Этот путь введения вызывает воспалительное состояние, которое может продлиться до 7 дней после

инъекции, и является установленной моделью артритической воспалительной боли. Количественную оценку болевого поведения затем можно выполнить, применяя те же процедуры, как изложено в экспериментах 110 и 111.

Пример 130. Анализ для определения ингибирования MMP-2

5 Активность ингибитора MMP-2 проводили способом Knight (Knight, C.G. et. al, FEBS LETT. 296 (3), (1992), 263-266), применяя аналитический буфер, включающий 50 ммоль Tris-HCl, pH 7,6, 200 ммоль Nad, 5 ммоль CaCl₂ и 1 мкмоль ZnSO₄. Концентрацию ингибитора MMP данного изобретения исследовали (1 микромоляр) в двух параллелях. Каталитический домен MMP-2 (человеческий рекомбинантный) фермента (10 наномоль) 10 добавили к раствору соединения. Смесь фермента и соединения в аналитическом буфере затем тщательно смешали и инкубировали в течение 60 минут при 37°C. После 10 завершения инкубации анализ снова начали добавлением 10 мкмоль флуоресцентного субстрата Mca-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH₂ (Kd ~8 микромоляр). Флуоресцентный продукт, McaPLG, затем измеряли при возбуждении 355 нм и эмиссии 405 нм при помощи 15 автоматического планшетного мультиридера при 37°C. Положительный контроль запустили отдельно, применяя широкий спектр ингибитора MMP GM6001 как контрольное соединение (MMP-2 IC₅₀=0,5 наномоль). В таблице 13 подытожили результаты изучения ингибирования.

20 Таблица 13

Процент ингибирования MMP-2				
№ соединения	Концентрация соединения	Субстрат	Концентрация субстрата	Средний процент ингибирования
5	1 микромоляр	Mca-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH ₂	10 микромоляр	97%
118	1 микромоляр	Mca-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH ₂	10 микромоляр	96%

25 Пример 131. Анализ для определения ингибирования MMP-9

Активность ингибитора MMP-9 выполняли способом Bickett, D.M.; (Bickett, D.M., et al Analytical Biochemistry 212, (1993), 58-64), применяя аналитический буфер, включающий 50 ммоль Tris-HCl, pH 7,6, 200 ммоль NaCl, 5 ммоль CaCl₂ и 1 мкмоль ZnSO₄.

30 Концентрацию ингибитора MMP данного изобретения исследовали (1 микромоляр) в двух параллелях. Каталитический домен MMP-9 (человеческий рекомбинантный) фермента (10 наномоль) добавили к раствору соединения. Смесь фермента и соединения в аналитическом буфере затем тщательно смешали и инкубировали в течение 60 минут при 37°C. После завершения инкубации анализ снова начали добавлением 10 мкмоль 35 флуоресцентного субстрата DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(N-Me-Abz)-NH₂ [Cha=β-циклогексилаланил; Abz=2-аминобензоил (антранилоил)] (Kd ~ 7 микромоляр). Флуоресцентный продукт, DnpPChaG, затем измеряли при возбуждении 365 нм и эмиссии 450 нм при помощи автоматического планшетного мультиридера при 37°C. Положительный контроль запустили отдельно, применяя широкий спектр ингибитора 40 MMP GM6001 как контрольное соединение (MMP-9 IC₅₀=0,2 наномоль). В таблице 14 подытожили результаты изучения ингибирования.

45 Таблица 14

Процент ингибирования MMP-9				
№ Соединения	Концентрация соединения	Субстрат	Концентрация субстрата	Средний процент ингибирования
5	1 микромоляр	DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(N-Me-Abz)-NH ₂	10 микромоляр	82%
118	1 микромоляр	DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(N-Me-Abz)-	10 микромоляр	78%

		NH ₂	
--	--	-----------------	--

Пример 132. Анализ для определения ингибирования MMP-1

При заинтересованности в измерении активности ингибитора MMP-1 ингибиторов MMP данного изобретения можно применять способ Knight (Knight, C.G. et. al., FEBS LETT. 296 (3), (1992), 263-266), в котором применяли аналитический буфер, содержащий 50 ммоль Tris-HCl, pH 7,6, 200 ммоль NaCl, 5 ммоль CaCl₂ и 1 мкмоль ZnSO₄. Единичную концентрацию можно исследовать (т.е. 1 микромоляр) в двух параллелях. Каталитический домен фермента MMP-1 (человеческий рекомбинантный) можно затем добавить в раствор соединения. Смесь фермента и соединения в аналитическом буфере затем тщательно смешивают и инкубируют в течение 60 минут при 37°C. После завершения инкубации анализ снова начали добавлением 10 мкмоль флуоресцентного субстрата DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(N-Me-Abz)-NH₂ [Cha=β-циклогексилаланил; Abz=2-аминобензоил (антранилоил)] (10 мкмоль). Флуоресцентный продукт, DnpPChaG, можно затем измерять при длине волны при возбуждении 365 нм и длине волны при эмиссии 450 нм при помощи автоматического планшетного мультиридера при 37°C. Положительный контроль можно также запустить отдельно, применяя широкий спектр ингибитора MMP Тур-гидроксамовой кислоты как контрольного соединения.

Пример 133. Анализ для определения ингибирования MMP-7

При заинтересованности в измерении активности ингибитора MMP-7 ингибиторов MMP данного изобретения можно применять способ Knight (Knight, C.G. et. al., FEBS LETT. 296 (3), (1992), 263-266), в котором применяли аналитический буфер, содержащий 50 ммоль Tris-HCl, pH 7,6, 200 ммоль NaCl, 5 ммоль CaCl₂ и 1 мкмоль ZnSO₄. Единичную концентрацию можно исследовать (т.е. 1 микромоляр) в двух параллелях. Каталитический домен фермента MMP-7 (человеческий рекомбинантный) можно затем добавить в раствор соединения. Смесь фермента и соединения в аналитическом буфере затем тщательно смешивают и инкубируют в течение 60 минут при 37°C. После завершения инкубации анализ снова начали добавлением 10 мкмоль флуоресцентного субстрата Mca-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH₂. Флуоресцентный продукт, McaPLG, можно затем измерять при длине волны при возбуждении 355 нм и длине волны при эмиссии 405 нм при помощи автоматического планшетного мультиридера при 37°C. Положительный контроль можно также запустить отдельно, применяя широкий спектр MMP ингибитора Тур-гидроксамовой кислоты как контрольного соединения.

Пример 134. Анализ для определения ингибирования MMP-3

При заинтересованности в измерении активности ингибитора MMP-3 ингибиторов MMP данного изобретения можно применять способ Knight (Knight, C.G. et. al., FEBS LETT. 296 (3), (1992), 263-266), в котором применяли аналитический буфер, содержащий 50 ммоль Tris-HCl, pH 7,6, 200 ммоль NaCl, 5 ммоль CaCl₂ и 1 мкмоль ZnSO₄. Единичную концентрацию можно исследовать (т.е. 1 микромоляр) в двух параллелях. Каталитический домен фермента MMP-3 (человеческий рекомбинантный) можно затем добавить в раствор соединения. Смесь фермента и соединения в аналитическом буфере затем тщательно смешивают и инкубируют в течение 60 минут при 37°C. После завершения инкубации анализ снова начали добавлением 10 мкмоль флуоресцентного субстрата McaRPKVENvalWRK(Dnp)NH₂. Флуоресцентный продукт, McaRPK, можно затем измерять при длине волны при возбуждении 355 нм и длине волны при эмиссии 405 нм при помощи автоматического планшетного мультиридера при 37°C. Положительный контроль можно также запустить отдельно, применяя широкий спектр ингибитора

ММР Туг-гидроксамовой кислоты как контрольного соединения.

Пример 135. Анализ для определения ингибирования ММР-12

Активность ингибитора ММР-12 выполняли, во-первых, разделением расщепленных и нерасщепленных субстратов загрузкой через сдвиг электрофоретической подвижности, и затем измерением флуоресценции разделенных продуктов и сравнением их с контрольными реакциями для определения ингибирования ферментативной активности. Затем можно запустить анализ ММР-12, применяя аналитический буфер, включающий 100 ммоль HEPES, pH 7,5, 0,01% Brij-35, 1,5 ммоль NaCl и 2 ммоль CaCl₂. Единичную ингибиторную концентрацию можно исследовать (т.е. 1 микромоль) в двух параллелях. Реакцию можно начать сначала добавлением субстрата и затем инкубированием реакционной смеси в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем реакцию можно завершить добавлением стоп-буфера, состоящего из 100 ммоль HEPES (pH 7,5), 30 ммоль EDTA, 0,015% Brij-35 и 5% DMSO. Положительный контроль можно также запустить отдельно, применяя широкий спектр ингибитора ММР GM6001 как контрольного соединения.

Пример 136. Анализ для определения ингибирования ММР-13

При заинтересованности в измерении активности ингибитора ММР-13 ингибиторов ММР данного изобретения можно применять способ Knight (Knight, C.G. et. al., FEBS LETT. 296 (3), (1992), 263-266), в котором применяли аналитический буфер, содержащий 50 ммоль Tris-HCl, pH 7,6, 200 ммоль NaCl, 5 ммоль CaCl₂ и 1 мкмоль ZnSO₄. Единичную концентрацию можно исследовать (т.е. 1 микромоль) двойным выполнением. Каталитический домен фермента ММР-13 (человеческий рекомбинантный) можно затем добавить в раствор соединения. Смесь фермента и соединения в аналитическом буфере затем тщательно смешивают и инкубируют в течение 60 минут при 37°C. После завершения инкубации анализ затем начнут добавлением 10 мкмоль флуоресцентного субстрата Mca-P-L-G-L-Dpa-A-R-NH₂. Флуоресцентный продукт, McaPLG, можно затем измерять при длине волны при возбуждении 355 нм и длине волны при эмиссии 405 нм при помощи автоматического планшетного мультиридера при 37°C. Положительный контроль можно также запустить отдельно, применяя широкий спектр ингибитора ММР Туг-гидроксамовой кислоты как контрольного соединения.

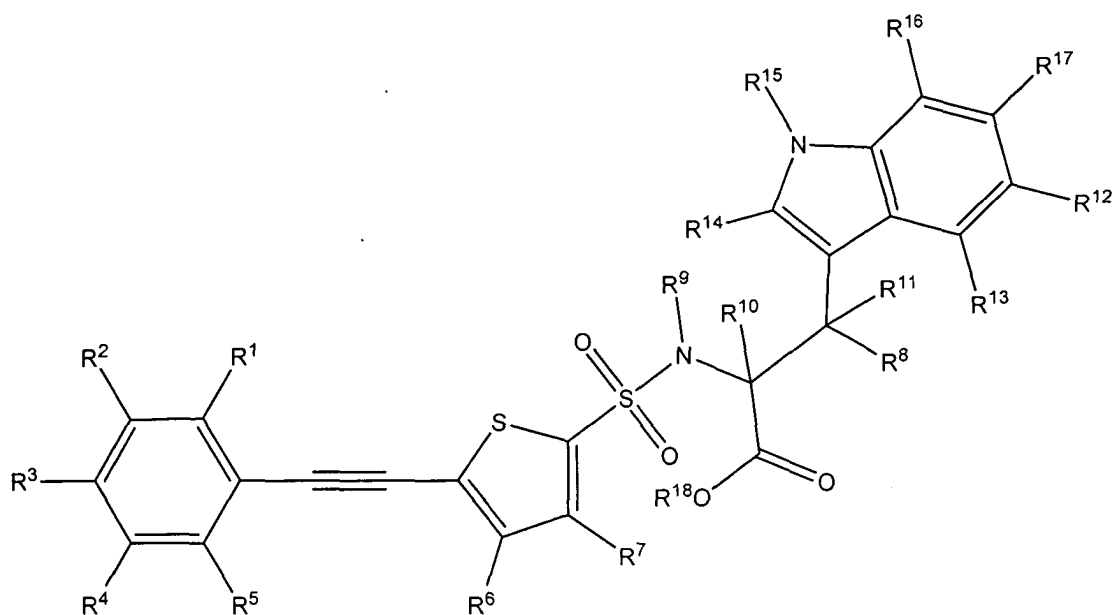
Формула изобретения

1. Соединение, имеющее формулу (II)

5

10

15



(II)

20

где:

каждый из R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ и R¹⁷ независимо выбран из группы, состоящей из дейтерия или водорода; и

R³ независимо выбран из группы, состоящей из CD₃ и CH₃, причем когда R³

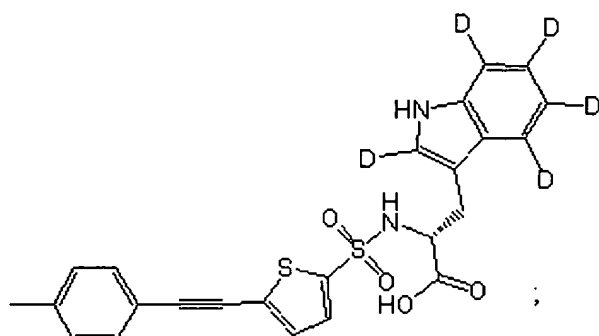
25 представляет собой CH₃, по меньшей мере одна из групп R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ и R¹⁷ представляет собой дейтерий; и

R¹⁸ представляет собой водород,
или его стереоизомеры.

30

2. Соединение по п.1, где указанное соединение выбрано из группы, состоящей из:

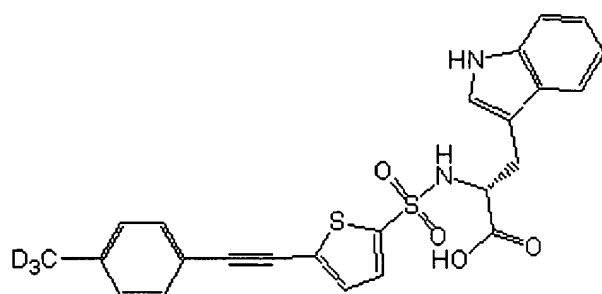
35



40

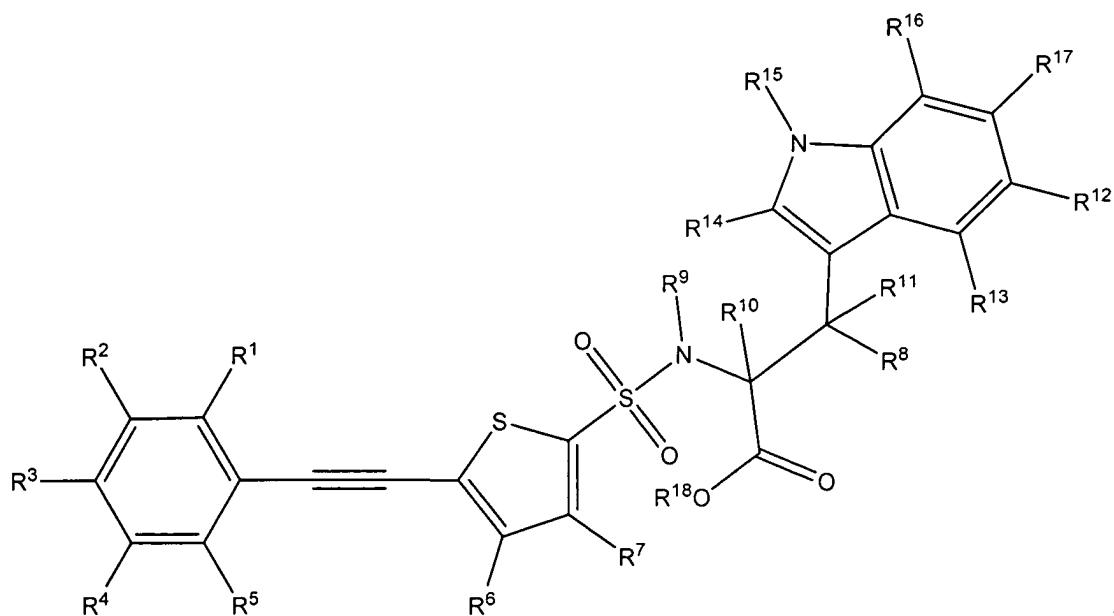
82

45



118

3. Способ ингибирования фермента металлопротеиназа, включающий этап, на котором вводят субъекту, нуждающемуся в этом, соединение, выбранное из группы, состоящей из соединения формулы (II)



(II)

где:

каждый из $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ и R^{17} независимо выбран из группы, состоящей из дейтерия или водорода; и

R^3 независимо выбран из группы, состоящей из CD_3 и CH_3 , причем когда R^3 представляет собой CH_3 , по меньшей мере одна из групп $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ и R^{17} представляет собой дейтерий; и

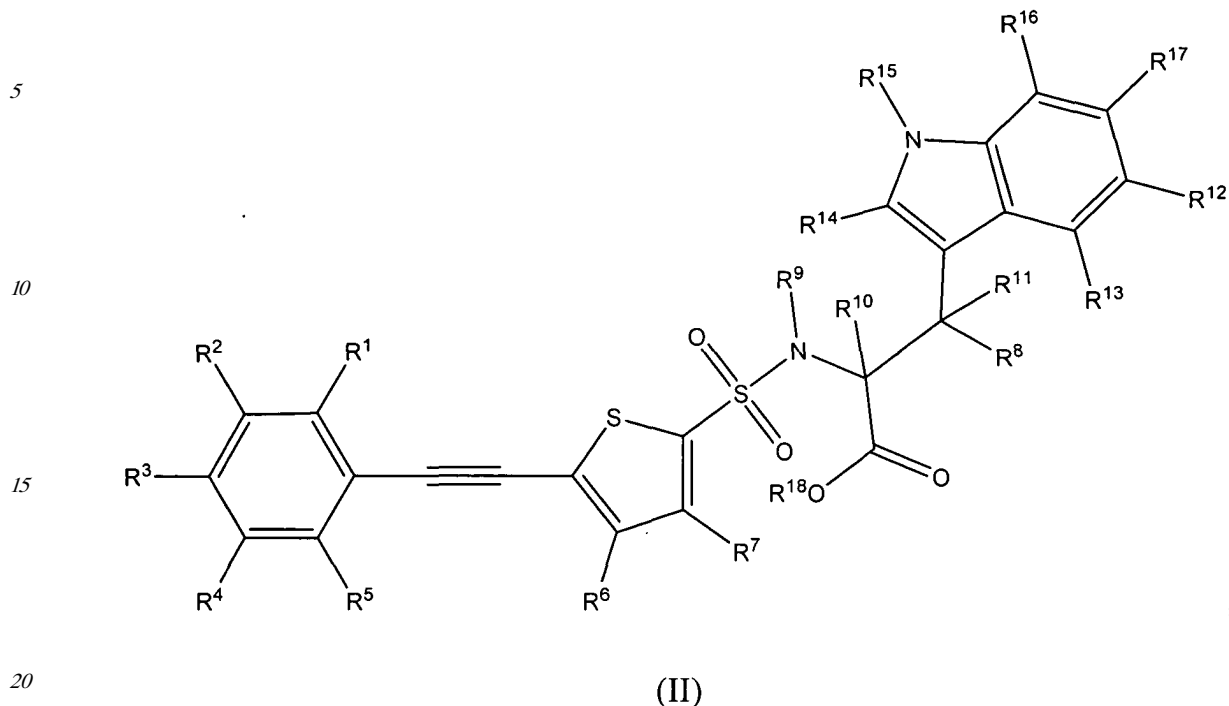
R^{18} представляет собой водород, или его стереоизомеры.

4. Способ по п.3, где указанный фермент металлопротеаза выбирают один или более раз из группы, включающей MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-12 и MMP-13.

5. Способ по п.3, где указанным ферментом металлопротеаза является MMP-2, MMP-9 или оба.

6. Способ лечения состояния, вызывающего боль, включающий этап, на котором

вводят субъекту, нуждающемуся в таком лечении, эффективное количество соединения Формулы (II)



где

каждый из $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ и R^{17} независимо выбран из группы, состоящей из дейтерия или водорода, и

R^3 независимо выбран из группы, состоящей из CD_3 и CH_3 , и

R^{18} представляет собой водород, или его стереоизомеров.

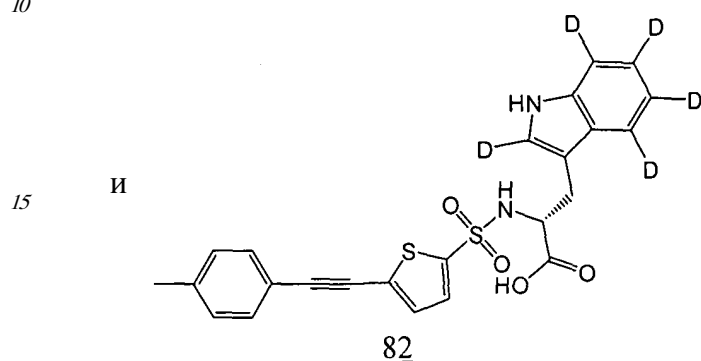
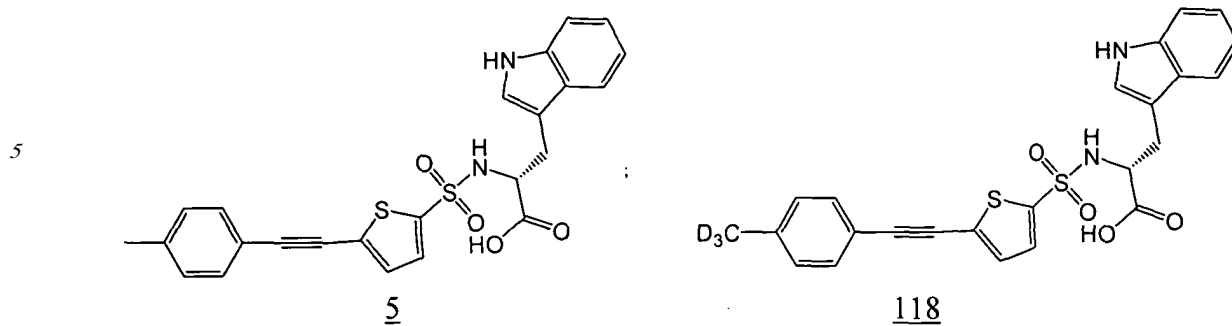
7. Способ по п.6, где состояние выбирают из группы, включающей усиленную или чрезмерную чувствительность к боли; боль из-за ожога; атипичную лицевую боль; невропатическую боль; артрическую боль; боль при спортивной травме; боль, связанную с вирусной инфекцией; фантомную боль; воспалительную боль; острые воспалительные состояния; невропатическую боль; невралгию; болезненную диабетическую невропатию; остеоартритную боль; и переносимость наркотических средств или отказа от наркотических средств.

8. Способ по п.7, где указанная усиленная или чрезмерная чувствительность к боли выбрана из группы, включающей гипералгезию, каузалгию и аллодинию.

9. Способ по п.7, где указанная боль, связанная с вирусной инфекцией, выбрана из группы, включающей постгерпетическую невралгию.

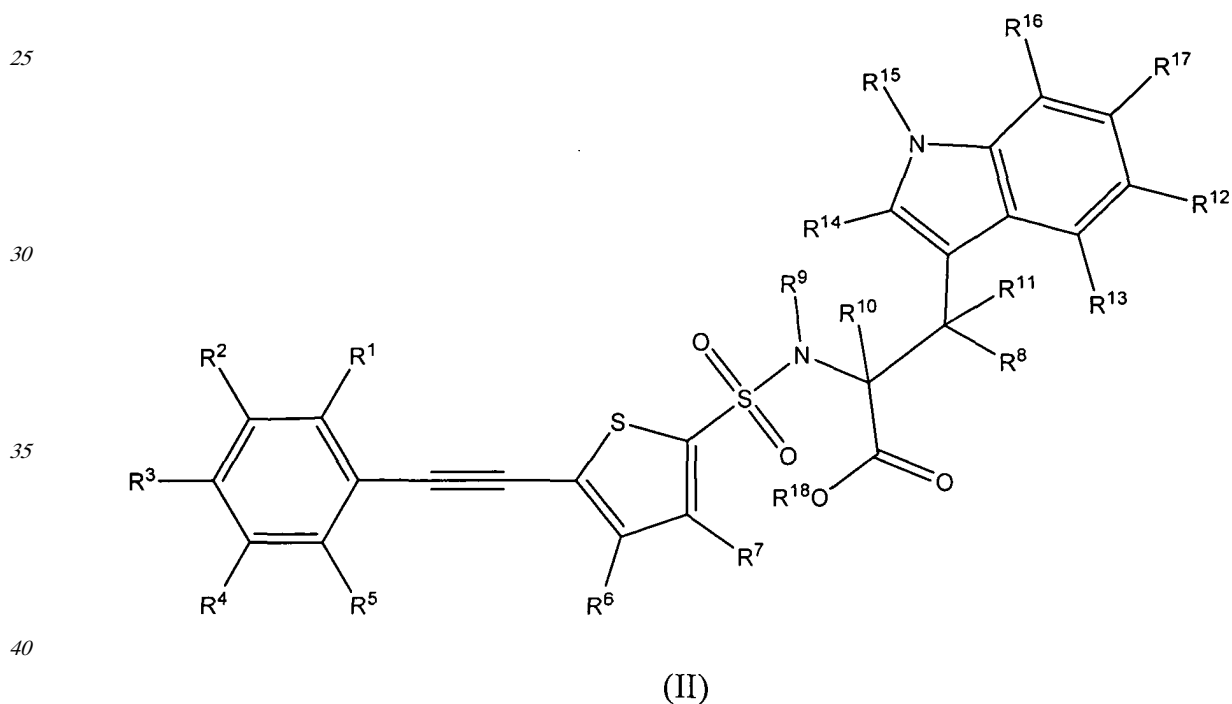
10. Способ по п.7, где указанная атипичная лицевая боль выбрана из группы, состоящей из тригеминальной невралгии и орофациальной боли.

11. Способ по п.6, где соединение Формулы (II) выбирают из группы, состоящей из:



или их фармацевтически приемлемой соли.

12. Способ лечения заболевания, вызывающего боль, включающий этап, на котором вводят субъекту, нуждающемуся в таком лечении, эффективное количество соединения Формулы (II)



где:

каждый из $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ и R^{17} независимо

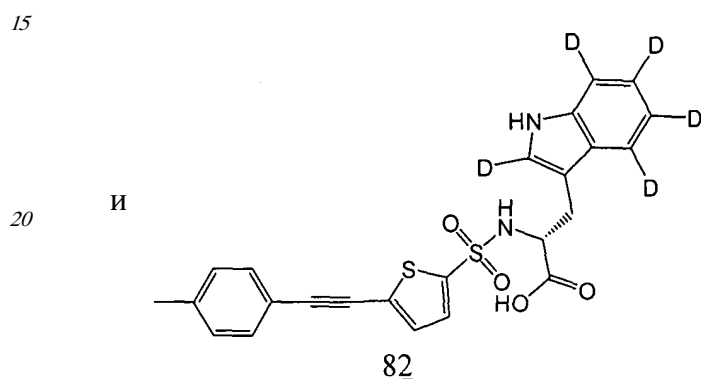
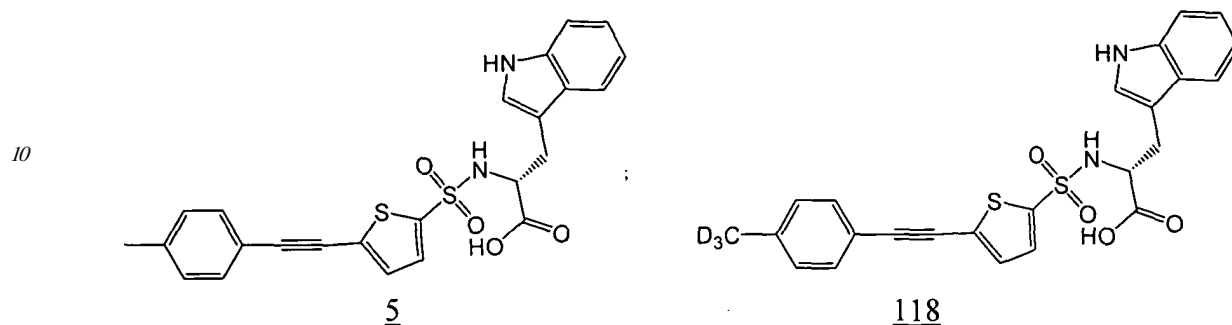
выбран из группы, состоящей из дейтерия или водорода; и

R^3 независимо выбран из группы, состоящей из CD_3 и CH_3 , и

R^{18} представляет собой водород, или его стереоизомеров.

13. Способ по п.12, где заболевание выбрано из группы, включающей ревматоидный артрит, остеоартрит, диабетическую нейропатию, периодонтальную болезнь, вирусную инфекцию и опоясывающий лишай.

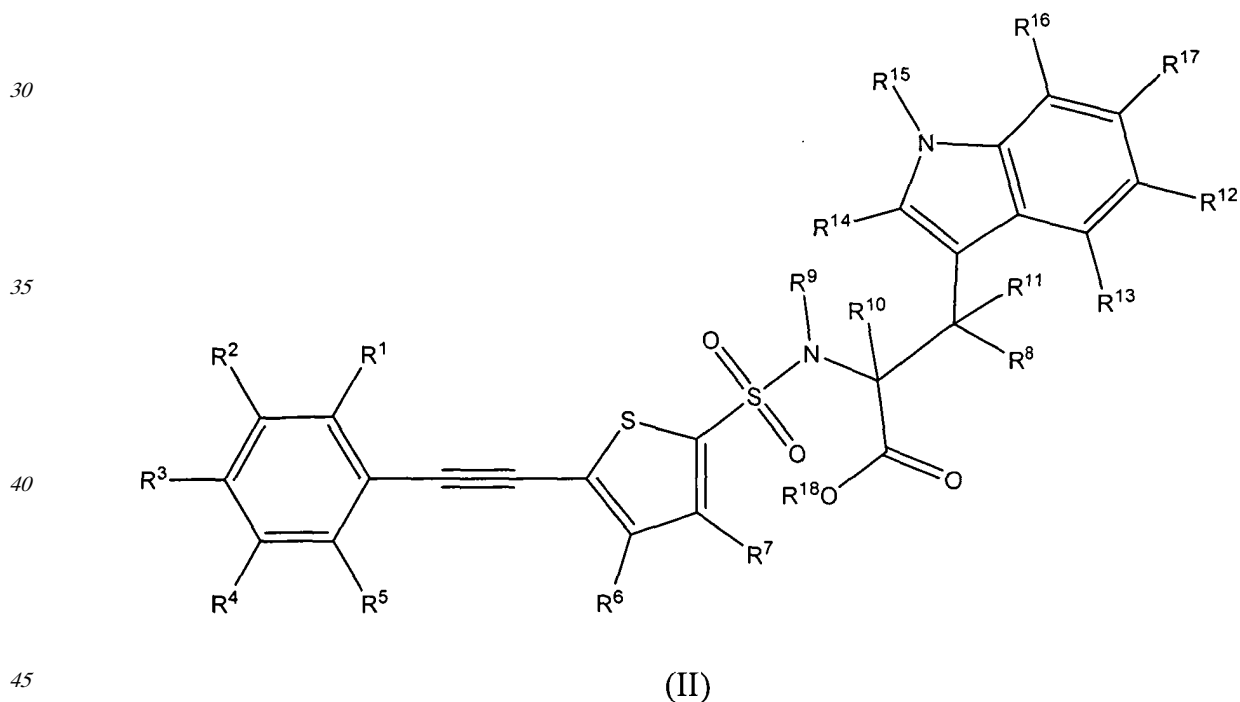
14. Способ по п.12, где соединение Формулы (II) выбирают из группы, состоящей из:



25 или их фармацевтически приемлемой соли.

15. Лекарственное средство для лечения состояния, вызывающего боль, содержащее:

А) эффективное количество соединения Формулы (II)



где:

каждый из $R^1, R^2, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ и R^{17} независимо

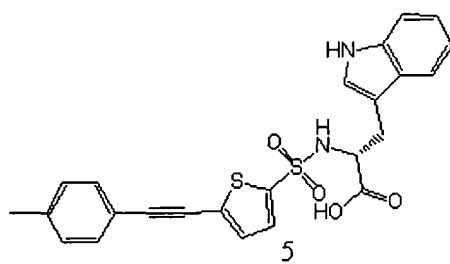
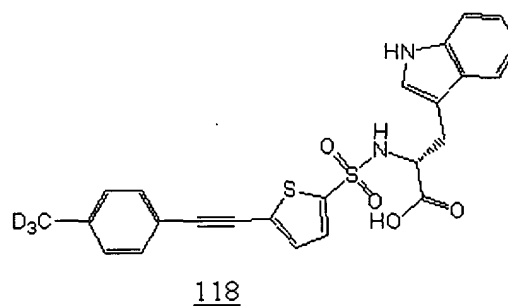
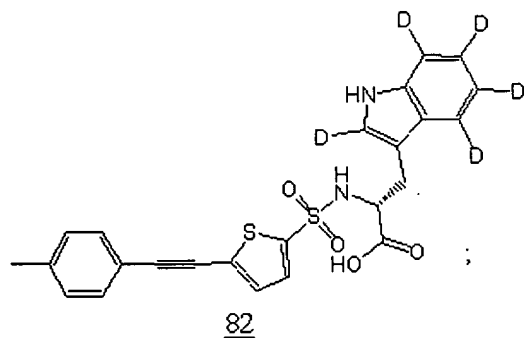
выбран из группы, состоящей из дейтерия или водорода и;

R^3 независимо выбран из группы, состоящей из CD_3 и CH_3 , и

R^{18} представляет собой водород,
или его стереоизомеров; и

В) фармацевтически приемлемый носитель.

16. Лекарственное средство по п.15, содержащее, по меньшей мере, одно соединение, выбранное из группы, состоящей из:



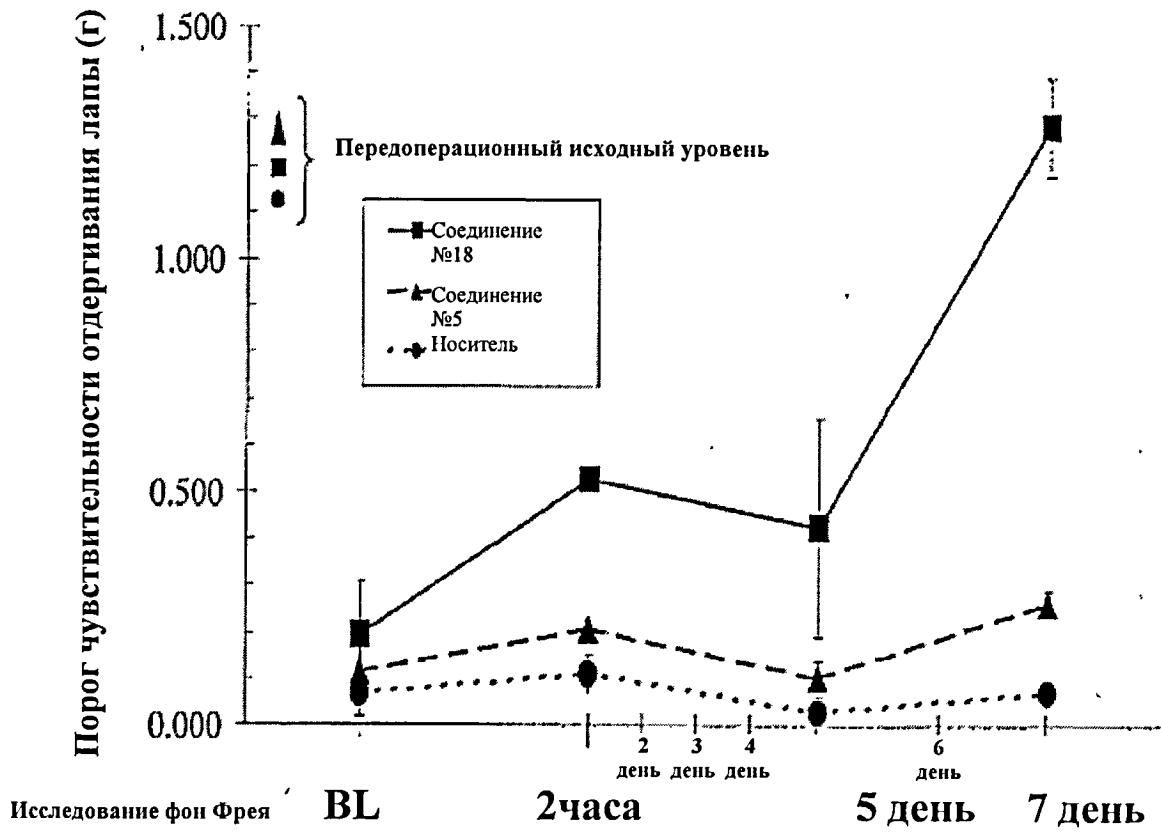
или его стереоизомеров.

30

35

40

45

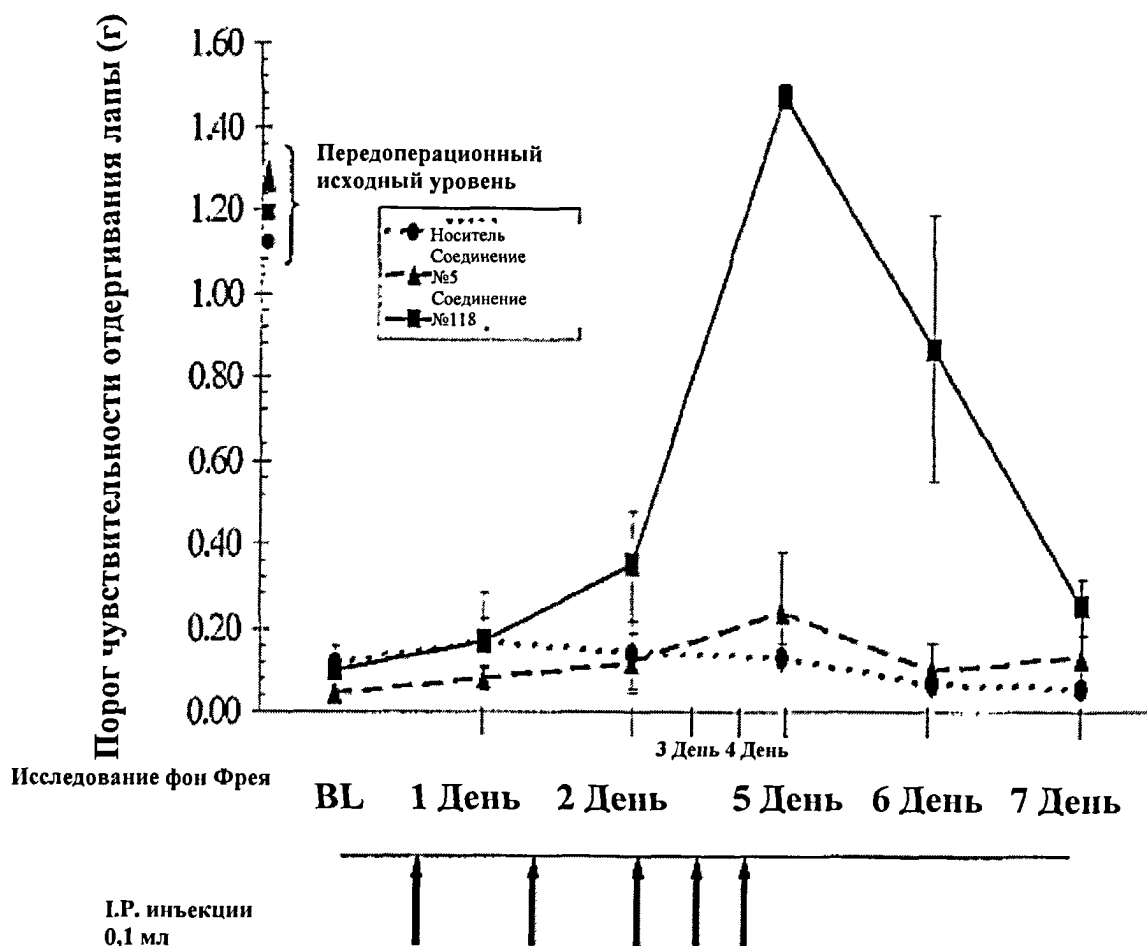


И.Т. инъекции
10 микролитров



(И.Т.)-SNL- Результаты исследования мыши по сравнению с носителем, соединением №5 и соединением № 118

Фиг. 1



(I.P.)-SNL- Результаты исследования мыши по сравнению с носителем, соединением №5 и соединением №118

Фиг.2