

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 016199

(13) В1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2012.03.30

(51) Int. Cl. *A61P 11/00* (2006.01)
A61K 31/425 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)
A61K 31/444 (2006.01)
A61P 11/08 (2006.01)
C07K 5/06 (2006.01)
A61K 31/401 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
200900920

(22) Дата подачи заявки
2007.11.21

(54) СОЕДИНЕНИЯ И КОМПОЗИЦИИ КАК ИНГИБИТОРЫ АКТИВИРУЮЩЕЙ КАНАЛ ПРОТЕАЗЫ

(31) 60/884,334; 60/891,474
(32) 2007.01.10; 2007.02.23

(56) WO-A-2006108643
US-A1-2004186060

(33) US

(43) 2010.02.26

(86) PCT/US2007/085366

(87) WO 2008/085608 2008.07.17

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АЙРМ ЛЛК (ВМ)

(72) Изобретатель:
**Талли Дэвид С., Чаттерджи Арнаб
К., Видаль Аньес, Бурсулая Бадри,
Спрагтон Глен (US)**

(74) Представитель:
**Веселицкая И.А., Пивницкая Н.Н.,
Кузенкова Н.В., Веселицкий М.Б.,
Каксис Р.А., Комарова О.М., Белоусов
Ю.В. (RU)**

(57) В изобретении приведены соединения и содержащие их фармацевтические композиции, которые применимы для модулирования активирующих канал протеаз, и способы применения таких соединений для лечения, улучшения протекания или предупреждения патологического состояния, связанного с активирующей канал протеазой, включая, но не ограничиваясь только ими, простазин, PRSS22, TMPRSS11 (например, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), матриптазу (MTSP-1), CAP2, CAP3, трипсин, катепсин А и нейтрофильную эластазу.

B1

016199

016199
B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Заявка на данное изобретение является родственной предварительной заявке U.S. № 60/891474, поданной 23 февраля 2007 г., и предварительной заявке US № 60/884334, поданной 10 января 2007 г., которые во всей своей полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки, по заявке на изобретение испрашивается приоритет по предварительной заявке

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение в целом относится к ингибиторам активирующей канал протеазы (CAP).

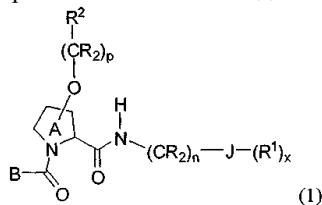
Уровень техники

Простазин является трипсиноподобной серинпротеазой, которая содержится в различных тканях млекопитающих. Он является закрепленной на мемbrane протеазой, которая экспрессируется на внеклеточной мембране клеток, но которая также может выделяться в жидкости организма, такой как сперма, моча и жидкость, находящаяся на поверхности дыхательных путей. Простазин (PRSS8) вместе с протеазами, такими как матриптаза, CAP2, CAP3, трипсин, PRSS22, TMPRSS11, катепсин А и нейтрофильная эластаза, могут стимулировать активность чувствительного к амилориду эпителиального натриевого канала (ENaC). Ингибиция этих ферментов может включать изменения переноса ионов в эпителии и тем самым влиять на равновесие переноса через эпителиальные мембранны. Например, полагают, что ингибиция CAP в почках стимулирует диурез, тогда как ингибиция CAP в дыхательных путях стимулирует выведение слизи и мокроты из легких. Поэтому ингибиция CAP в почках можно использовать терапевтически для лечения гипертензии. Ингибиция CAP в дыхательных путях предупреждает накопление выделений из органов дыхания, которые в противном случае могут привести к вторичным бактериальным инфекциям у пациента.

Описание изобретения

Настоящее изобретение относится к соединениям, фармацевтическим композициям и способам применения таких соединений для модулирования активирующих канал протеаз (CAP). Например, соединения и композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, можно использовать для модулирования простазина, PRSS22, TMPRSS11 (например, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), матриптазы (MTSP-1), CAP2, CAP3, трипсина, катепсина А и нейтрофильной эластазы.

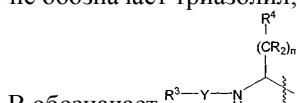
Одним объектом настоящего изобретения являются соединения формулы (1)



или их фармацевтически приемлемые соли,

в которой $O-(CR_2)_p-R^2$ обозначает заместитель в любом положении кольца A;

J обозначает 5-12-членное моноциклическое или конденсированное карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, содержащее N, O и/или S, арильное или гетероарильное кольцо при условии, что J не обозначает триазолил;



В обозначает R^3-Y-N- или $(CR_2)_k-R^5$;

Y обозначает связь, $-SO_2-$, $-NHCO-$ или $-O-(CO)-$;

R^1 обозначает галоген, $-(CR_2)_l-NR^6R^7$, $-(CR_2)_l-NRC(=NR)-NR^6R^7$, $-(CR_2)_l-C(=NR)-NR^6R^7$, $-C(O)-(CR_2)_l-NR^6R^7$, $-(CR_2)_l-NR-SO_2R^6$, $-(CR_2)_l-NR-C(O)-R^6$, $-(CR_2)_l-SO_2NR^6R^7$, или $-(CR_2)_l-OR^6$, или необязательно замещенные C_1-C_6 -алоксигруппу, C_1-C_6 -алкил, C_2-C_6 -алкенил или C_2-C_6 -алкинил или необязательно замещенное карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, арил или гетероарил;

R^3 обозначает C_1-C_6 -алкил, C_2-C_6 -алкенил, C_2-C_6 -алкинил или $-(CR_2)_l-R^5$;

альтернативно, $NH-Y-R^3$ вместе образуют NH_2 ;

R^2 , R^4 и R^5 независимо обозначают необязательно замещенное 5-12-членное карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, арил или гетероарил или

R^4 обозначает H , C_1-C_6 -алкил, C_2-C_6 -алкенил, C_2-C_6 -алкинил или $-CR=P_E$, где P обозначает C или N и кольцо E вместе с P образует необязательно замещенное 5-12-членное моноциклическое или конденсированное кольцо;

R^6 и R^7 независимо обозначают H , C_1-C_6 -алкил, C_2-C_6 -алкенил, C_2-C_6 -алкинил или $-(CR_2)_l-R^5$;

каждый R обозначает H или C_1-C_6 -алкил, C_2-C_6 -алкенил или C_2-C_6 -алкинил;

l равно 0-6;

k, m, n и p независимо равны 1-6;

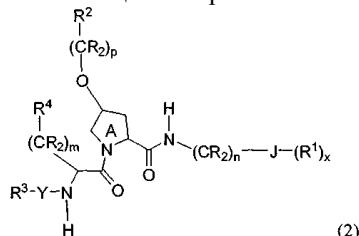
x равно 0-4;

при условии, что R^4 обозначает пиперидинил, если $NH-Y-R^3$ вместе образуют NH_2^2 ; и также при условии, что R^5 обозначает пиперидинил, если B обозначает $(CR_2)_kR^5$.

В приведенной выше формуле (1) J может обозначать тиофенил, тиазолил, фенил, пиридинил, индазолил, пиперидинил или пирролидинил.

В других примерах R^2 может обозначать фенил или циклогексил, каждый из которых необязательно может содержать в качестве заместителей галоген, $SO_2(C_1-C_6\text{-алкил})$ или необязательно замещенный $C_1-C_6\text{-алкил}$ или $C_1-C_6\text{-алкоксигруппу}$, такие как необязательно галогенированный $C_1-C_6\text{-алкил}$ или $C_1-C_6\text{-алкоксигруппа}$.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к соединениям формулы (2)



в которой R^2 и J независимо обозначают необязательно замещенный 6-членный арил;

R^3 обозначает $C_1-C_6\text{-алкил}$, $C_2-C_6\text{-алкенил}$, $C_2-C_6\text{-алкинил}$ или $-(CR_2)_lR^5$ или

$NH-Y-R^3$ вместе образуют NH_2^2 ;

каждый R в (CR_2) обозначает H или $C_1-C_6\text{-алкил}$ и

m , n и p независимо равны 1-2.

В приведенных выше формулах (1) и (2) Y может обозначать связь, SO_2 или $-O-(CO)-$.

В других примерах R^1 обозначает галоген, $C_1-C_6\text{-алкил}$, CF_3 , OCF_3 , фенил, $-(CR_2)_lNR^6R^7$, $-(CR_2)_lC(=NR)-NR^6R^7$, $-C(O)-(CR_2)_lNR^6R^7$, $-(CR_2)_lNR-SO_2R^6$, $-(CR_2)_lNR-C(O)-R^6$, $-(CR_2)_lSO_2NR^6R^7$ или $-(CR_2)_lOR^6$, где каждый l равен 0-1; и R , R^6 и R^7 независимо обозначают H или $C_1-C_6\text{-алкил}$.

В приведенных выше формулах (1) и (2) R^4 может обозначать необязательно замещенное 5-6-членное карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, арил, гетероарил или $-CR=\overset{P}{E}$, где P обозначает С или N и кольцо Е вместе с P образует необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое кольцо. Например, R^4 может обозначать необязательно замещенный пиперидинил, циклогексил, фенил, или .

В предпочтительных примерах R^3 в формуле (2) обозначает $C_1-C_6\text{-алкил}$ или необязательно замещенный бензил. В некоторых примерах Y обозначает SO_2 . В других примерах R^4 обозначает необязательно замещенный пиперидинил. В других примерах J и R^2 независимо обозначают необязательно замещенный фенил. Например, J может быть замещен с помощью 1-3 R^1 (т.е. когда x равно 1-3) и R^2 необязательно может быть замещен галогеном.

Другим объектом настоящего изобретения являются фармацевтические композиции, включающие соединение формулы (1) или (2) и фармацевтически приемлемый инертный наполнитель.

Настоящее изобретение также относится к способам модулирования активирующей канал протеазы, включающим введение в систему или млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения, описывающегося формулой (1) или (2), или его фармацевтически приемлемых солей или фармацевтических композиций и тем самым проведение модулирования указанной активирующей канал протеазы.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу ингибирования активирующей канал протеазы, включающему введение в систему клеток или ткани или млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения, описывающегося формулой (1) или (2) или его фармацевтически приемлемых солей или фармацевтических композиций; где указанной активирующей канал протеазой является простазин, PRSS22, TMPRSS11 (например, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), матриптаза (MTSP-1), CAP2, CAP3, трипсин, катепсин А или нейтрофильная эластаза, и тем самым ингибирование указанной активирующей канал протеазы. В предпочтительных примерах настоящее изобретение относится к способу ингибирования простазина.

Другим объектом настоящего изобретения является способ улучшения протекания или лечения патологического состояния, опосредуемого активирующей канал протеазой, включающий введение в систему клеток или ткани или млекопитающему эффективного количества соединения, описывающегося формулой (1) или (2), или его фармацевтически приемлемых солей или фармацевтических композиций и необязательно в комбинации со вторым терапевтическим средством; где указанной активирующей канал протеазой является простазин, PRSS22, TMPRSS11 (например, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), матриптаза (MTSP-1), CAP2, CAP3, трипсин, катепсин А или нейтрофильная эластаза, и тем самым лечение указанного патологического состояния.

Кроме того, настоящее изобретение относится к соединениям формулы (1) или (2), предназначенным для применения для лечения патологического состояния, опосредуемого активирующей канал протеазой. Настоящее изобретение также относится к применению соединения формулы (1) или (2) необязательно в комбинации со вторым терапевтическим средством для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения патологического состояния, опосредуемого активирующей канал протеазой.

В предпочтительных примерах соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно использовать для лечения патологического состояния, опосредуемого простазином. В одном варианте осуществления второе терапевтическое средство может представлять собой противовоспалительное, бронхолитическое, антигистаминное, противокашлевое средство, антибиотик или ДНКазу и его вводят до, одновременно или после соединения формулы (1) или (2). В некоторых примерах соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, вводят в эпителиальные клетки бронхов, предпочтительно в эпителиальные клетки бронхов человека.

Примеры патологических состояний, протекание которых можно улучшать или которые можно лечить с использованием соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются только ими, патологическое состояние, связанное с перемещением жидкости через переносящие ионы эпителия или с накоплением слизи и мокроты на тканях органов дыхания, или с их комбинацией. В некоторых примерах патологическим состоянием, которое можно опосредовать с использованием соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, является муковисцидоз, первичная цилиарная дискинезия, карцинома легких, хронический бронхит, хроническое обструктивное заболевание легких, астма или инфекция дыхательных путей.

Определения

"Алкил" означает фрагмент и структурный элемент других групп, например галогензамещенного алкила и алкоксигруппы, и он может обладать линейной или разветвленной цепью. Необязательно замещенный алкил, алкенил или алкинил при использовании в настоящем изобретении может быть необязательно галогенирован (например, CF_3) или содержащиеся в нем один или большее количество атомов углерода могут быть замещены или заменены гетероатомом, таким как NR, O или S (например, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, алкилтиолы, тиоалкоксигруппа, алкиламины и т.п.).

"Арил" означает моноциклическое или конденсированное бициклическое ароматическое кольцо, содержащее атомы углерода. Например, арил может представлять собой фенил или нафтил. "Арилен" означает двухвалентный радикал, образованный из арильной группы.

"Гетероарил" при использовании в настоящем изобретении является таким, как определенный выше арил, в котором один или большее количество элементов кольца представляет собой гетероатом. Примеры гетероарилов включают, но не ограничиваются только ими, пиридил, индолил, индазолил, хиноксантил, хинолинил, бензофуранил, бензопиранил, бензотиопиранил, бензо[1,3]диоксол, имидазолил, бензоимидазолил, пиримидинил, фуранил, оксазолил, изоксазолил, триазолил, тетразолил, пиразолил, тиенил и т.п.

"Карбоциклическое кольцо" при использовании в настоящем изобретении означает насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое, конденсированное бициклическое или мостиковое поликликлическое кольцо, содержащее атомы углерода, которые необязательно могут быть замещены, например, с помощью $=\text{O}$. Примеры карбоциклических колец включают, но не ограничиваются только ими, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклопропилен, циклогексанон и т.п.

"Гетероциклическое кольцо" при использовании в настоящем изобретении является таким, как определенное выше карбоциклическое кольцо, в котором один или большее количество кольцевых атомов углерода представляет собой гетероатом. Например, гетероциклическое кольцо может содержать N, O, S, $-\text{N}=$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})$, $-\text{S}(\text{O})_2-$ или $-\text{NR}-$, где R может обозначать водород, $\text{C}_1\text{-}\text{C}_4$ -алкил или защитную группу. Примеры гетероциклических колец включают, но не ограничиваются только ими, морфолиновую группу, пирролидинил, пирролидинил-2-он, пиперазинил, пиперидинил, пиперидинилон, 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]дец-8-ил и т.п.

Если не указано иное, то, когда заместитель указан как "необязательно замещенный," это означает, что заместитель представляет собой группу, которая может быть замещена одной или большим количеством групп, по отдельности и независимо выбранных из группы, включающей, например, необязательно галогенированный алкил, алкенил, алкинил, алкоксигруппу, алкиламиногруппу, алкилтиогруппу, алкинил, амидную группу, аминогруппу, включая моно- и дизамещенные аминогруппы, арил, арилоксигруппу, арилтиогруппу, карбонил, карбоциклил, цианогруппу, циклоалкил, галоген, гетероалкил, гетероалкенил, гетероалкинил, гетероарил, гетероциклик, гидроксигруппу, изоцианатную группу, изотиоцианатную группу, меркаптогруппу, нитрогруппу, O-карбамил, N-карбамил, O-тиокарбамил, N-тиокарбамил, C-амидную группу, N-амидную группу, S-сульфонамидную группу, N-сульфонамидную группу, C-карбоксигруппу, O-карбоксигруппу, пергалогеналкил, перформалкил, силил, сульфонил, тиокарбонил, тиоцианатную группу, тригалогенметансульфонил и их производные, содержащие защитные группы. Защитные группы, которые могут образовывать соединения, защищенные по указанным выше заместителям, известны специалистам в данной области техники и описаны в литературе, в таких публи-

кациях, как Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, NY, 1999, и Kocienski, Protective Groups, Thieme Verlag, New York, NY, 1994, которые во всей своей полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

Термины "совместное введение" или "комбинированное введение" и т.п. при использовании в настоящем изобретении означают введение выбранных терапевтических средств одному пациенту и включают режимы лечения, при которых выбранные терапевтические средства необязательно вводят одним и тем же путем или в одно и то же время.

Термин "фармацевтическая комбинация" при использовании в настоящем изобретении означает препарат, который получен смешиванием или объединением более одного активного ингредиента и включает и фиксированные, и нефиксированные комбинации активных ингредиентов. Термин "фиксированная комбинация" означает, что активные ингредиенты, например соединение формулы (1) и дополнительное средство, оба, вводят пациенту одновременно в виде одного препарата или дозированной формы.

Термин "нефиксированная комбинация" означает, что активные ингредиенты, например соединение формулы (1) дополнительное средство, оба, вводят пациенту в виде отдельных препаратов одновременно, по отдельности или последовательно без наложения специальных ограничений по времени, и при таком введении в организме пациента создаются терапевтически эффективные уровни активных ингредиентов. Последнее также относится к смешанному лечению, например с введением 3 или большего количества активных ингредиентов.

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, которое вызывает биологический или медицинский ответ в клетке, ткани, органе, системе, у животного или человека, который необходим исследователю, ветеринару, врачу или другому клиницисту.

Термин "введение" соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, следует понимать как доставку соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, включая пролекарство соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, индивидууму, нуждающемуся в лечении.

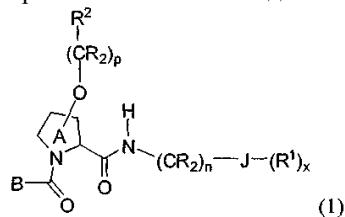
При использовании в настоящем изобретении термины "лечение", "лечить" означают способ облегчения протекания или ослабление болезни и/или сопровождающих ее симптомов.

"Простазин" также можно назвать как активирующая канал протеаза человека (hCAP); активирующая канал протеаза-1 и PRSS8, MERPOPS ID S01.159.

Способы осуществления настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к соединениям, фармацевтическим композициям и способам применения таких соединений для модулирования активирующих канал протеаз (CAP).

Одним объектом настоящего изобретения являются соединения формулы (1)



или их фармацевтически приемлемые соли,

в которой O-(CR₂)_p-R² обозначает заместитель в любом положении кольца А;

J обозначает 5-12-членное моноциклическое или конденсированное карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, содержащее N, O и/или S, арильное или гетероарильное кольцо, при условии, что J не обозначает триазолил;



В обозначает R³-Y-N(R)- or (CR₂)_k-R⁵;

Y обозначает связь, -SO₂- , -NHCO- или -O-(CO)-;

R¹ обозначает галоген, -(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-NRC(=NR)-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-C(=NR)-NR⁶R⁷, -C(O)-(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-NR-SO₂R⁶, -(CR₂)_l-NR-C(O)-R⁶, -(CR₂)_l-SO₂NR⁶R⁷, или -(CR₂)_l-OR⁶, или необязательно замещенные C₁-C₆-алоксигруппу, C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил или C₂-C₆-алкинил, или необязательно замещенное карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, арил или гетероарил;

R³ обозначает C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил, C₂-C₆-алкинил или -(CR₂)_l-R⁵;

альтернативно, NH-Y-R³ вместе образуют NH₂;

R², R⁴ и R⁵ независимо обозначают необязательно замещенное 5-12-членное карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, арил или гетероарил или

R⁴ обозначает H, C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил, C₂-C₆-алкинил или -CR=P^E, где P обозначает С или N и кольцо Е вместе с P образуют необязательно замещенное 5-12-членное моноциклическое или конденсированное кольцо;

R⁶ и R⁷ независимо обозначают H, C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил, C₂-C₆-алкинил или -(CR₂)_l-R⁵;

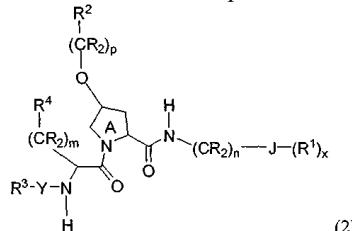
каждый R обозначает H или C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил или C₂-C₆-алкинил;
l равно 0-6;

k, m, n и p независимо равны 1-6;

x равно 0-4;

при условии, что R⁴ обозначает пиперидинил, если NH-Y-R³ вместе образуют NH₂; и также
при условии, что R⁵ обозначает пиперидинил, если В обозначает (CR₂)_k-R⁵.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к соединению формулы (2)



в которой R² и J независимо обозначают необязательно замещенный 6-членный арил;

R³ обозначает C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил, C₂-C₆-алкинил или -(CR₂)_l-R⁵ или

NH-Y-R³ вместе образуют NH₂;

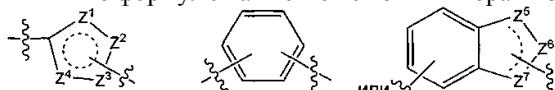
каждый R в (CR₂) обозначает H или C₁-C₆-алкил и

m, n и p независимо равны 1-2.

Альтернативно, k, m, n и p в приведенных выше формулах (1) и (2) могут независимо равняться 0-6.

В предпочтительных примерах k в формуле (1) равно 2-3 и J обозначает гетероарил, такой как тиофенил.
В других альтернативных вариантах осуществления Y в формулах (1) и (2) может обозначать -CO-.

В каждой из приведенных выше формул J также может быть выбран из группы, включающей



где один или большее количество Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ и Z⁷ обозначает гетероатом, выбранный из группы, включающей N, NR, O и S, где R обозначает H или C₁-C₆-алкил, и другие Z¹-Z⁷ обозначают CH.

В некоторых примерах по меньшей мере два из Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ и Z⁷ обозначают гетероатом, выбранный из группы, включающей N, NR, O и S, где R обозначает H или C₁-C₆-алкил, и другие Z¹-Z⁷ обозначают CH.

В приведенных выше формулах (1) и (2), в которых каждый необязательно замещенный фрагмент может содержать в качестве заместителей галоген, =O, аминогруппу, гуанидинил, амидиновую группу, необязательно замещенную C₁-C₆-алcoxигруппу; C₁-C₆-алкил, C₂-C₆-алкенил или C₂-C₆-алкинил, каждый из которых необязательно может быть галогенирован или необязательно может содержать атом углерода, который может быть замещен или заменен посредством N, O или S; CO₂R⁸, -O-(CR₂)_l-C(O)-R⁸; -(CR₂)_l-R⁸, -(CR₂)_l-C(O)-R⁸ или -(CR₂)_l-SO₂-R⁸; или их комбинации, где каждый R⁸ обозначает H, C₁-C₆-алкил или необязательно замещенное карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, арил или гетероарил.

Настоящее изобретение также относится ко всем подходящим изотопозамещенным вариантам соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, или их фармацевтически приемлемым солям. Изотопозамещенный вариант соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемой соли определяется как такой, в котором по меньшей мере один атом заменен на атом, обладающий таким же атомным номером, но атомной массой, отличающейся от атомной массы, обычно обнаруживаемой в природе. Примеры изотопов, которые можно включать в соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, и их фармацевтически приемлемые соли, включают, но не ограничиваются только ими, изотопы водорода, углерода, азота и кислорода, такие как ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁷O, ¹⁸O, ³⁵S, ¹⁸F и ³⁶Cl. Некоторые изотопозамещенные варианты соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, и их фармацевтически приемлемых солей, например, такие, в которые включены радиоактивные изотопы, такие как ³H или ¹⁴C, применимы в лекарственных средствах и/или для исследования распределения в соответствующих тканях. В предпочтительных примерах изотопы ³H и ¹⁴C можно использовать вследствие легкости их приготовления и обнаружения. В других примерах замещение изотопами, такими как ²H, может обеспечить некоторые терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например увеличением периода полувыведения *in vivo* или уменьшением необходимой дозы. Изотопозамещенные варианты соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, или их фармацевтически приемлемые соли обычно можно получить по стандартным методикам с использованием соответствующих изотопозамещенных вариантов подходящих реагентов.

Соединения и композиции, предлагаемые в настоящем изобретении, можно применять для модулирования активирующей канал протеазы. Примеры активирующих канал протеаз, которые можно модулировать с использованием соединений и композиций, предлагаемых в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются только ими, простазин, PRSS22, TMPRSS11 (например, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), матриптиазу (MTSP-1), CAP2, CAP3, трипсин, катепсин А и нейтрофильную эластазу. Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также могут ингибирировать активность протеаз, которые стимулируют активность ионных каналов, таких как эпителиальный натриевый канал, и их можно использовать для лечения связанных с САР заболеваний.

Фармакология и применение.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, модулируют активность активирующей канал протеазы, в частности трипсиноподобных серинпротеаз, таких как простазин, и как таковые они применимы для лечения заболеваний или нарушений, при которых простазин, например, способствует патологии и/или симптоматике заболевания.

Заболевания, опосредуемые ингибирированием активирующей канал протеазы, в частности трипсиноподобной серинпротеазой, такой как простазин, включают заболевания, связанные с регулированием объемов жидкостей, проходящих через эпителиальные мембранны. Например, объем жидкости, находящейся на поверхности дыхательных путей, является ключевым регулятором мукоцилиарного клиренса и поддержания легких в здоровом состоянии. Ингибирирование активирующей канал протеазы будет стимулировать накопление жидкости на слизистой стороне эпителия дыхательных путей и тем самым стимулировать удаление слизи и предупреждать накопление слизи и мокроты на тканях дыхательных путей (включая дыхательные пути легких). Такие заболевания включают заболевания органов дыхания, такие как муковисцидоз, первичная цилиарная дискинезия, хронический бронхит, хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), астма, инфекции дыхательных путей (острые и хронические; вирусные и бактериальные) и карцинома легких. Заболевания, опосредуемые ингибирированием активирующих канал протеаз, также включают заболевания, не представляющие собой заболевания органов дыхания, которые связаны с аномальным регулированием перемещения жидкости через эпителий, возможно, включая аномальные физиологические характеристики защитных жидкостей, находящихся на их поверхности, например ксеростомию (сухость слизистой оболочки рта) или сухой кератоконъюнктивит (сухость слизистой оболочки глаз). Кроме того, регулирование ENaC посредством САР в почках можно использовать для стимулирования диуреза и тем самым вызывать гипотензивный эффект.

Хроническое обструктивное заболевание легких включает хронический бронхит или связанную с ним одышку, а также осложнение гиперреактивности дыхательных путей вследствие лечения другими лекарственными средствами, в частности применения другой ингаляционной лекарственной терапии. Настоящее изобретение также относится к лечению бронхита любого типа или генеза, включая, например, острый, арахиновый, катаральный, крупозный, хронический или гнойный туберкулезный бронхит.

Астма включает наследственную астму (неаллергическую) и приобретенную (аллергическую) астму, слабую, средней тяжести, тяжелую астму, бронхиальную астму, астму напряжения, профессиональную астму и астму, вызванную бактериальной инфекцией. Астма также включает патологическое состояние, называющееся "бронхит младенцев", которое наблюдается у субъектов, например, в возрасте менее 4 или 5 лет, у которых наблюдается свистящее дыхание и которым поставлен или может быть поставлен диагноз "бронхит младенцев", установившаяся категория пациентов, вызывающих большую беспокойство медиков, которых в настоящее время часто называют страдающими от зарождающейся астмы или ранней стадии астмы.

Применимость ингибитора активирующей канал протеазы, такого как ингибитор простазина, для лечения заболевания, опосредуемого ингибирированием активирующей канал протеазы, можно исследовать путем определения ингибирующего воздействия ингибитора активирующей канал протеазы по методикам, описанным ниже, и по методикам, известным в данной области техники.

В соответствии с вышеизложенным настоящее изобретение также относится к способу предупреждения или лечения любого из заболеваний или нарушений, описанных выше, у субъекта, нуждающегося в таком лечении, и этот способ включает введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы (1) или (2) или его фармацевтически приемлемой соли. Для любого из указанных случаев применения необходимая доза меняется в зависимости от пути введения, конкретного подвергающегося лечению патологического состояния и необходимого эффекта (см. ниже "Введение и фармацевтические композиции").

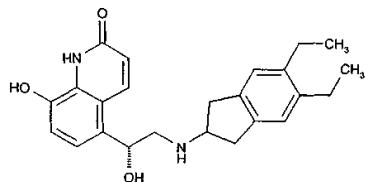
Введение и фармацевтические композиции.

Обычно соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, вводят в терапевтически эффективных количествах посредством любого из обычных и приемлемых путей, известных в данной области техники, по отдельности или в комбинации с одним или большим количеством терапевтических средств.

Ингибиторы активирующей канал протеазы, предлагаемые в настоящем изобретении, также применимы в качестве совместно применяющихся терапевтических средств, предназначенных для использования в комбинации с другим лекарственным веществом. Например, ингибитор активирующей канал протеазы можно использовать в комбинации с противовоспалительным, бронхолитическим, антигистаминным или противокашлевым средством, антибиотиком или ДНКазой. Ингибитор активирующей канал протеазы и другое терапевтическое средство могут находиться в одной или разных фармацевтических композициях. Ингибитор активирующей канал протеазы можно смешать с другим терапевтическим средством в фиксированной фармацевтической композиции или можно вводить отдельно, до, одновременно или после другого терапевтического средства. Комбинацию можно использовать, в частности, для лечения муковисцидоза или обструктивных или воспалительных заболеваний дыхательных путей, таких как указанные выше в настоящем изобретении, например, в качестве средств, усиливающих терапевтическую активность таких лекарственных средств, или в качестве средств, обеспечивающих снижение необходимой дозы или ослабление возможных побочных эффектов таких лекарственных средств.

Подходящие противовоспалительные лекарственные средства включают стероиды, в частности глюкокортикоиды, такие как будезонид, бекламетазон дипропионат, флутиказон пропионат, циклонизонид или мометазонфуроат, или стероиды, описанные в WO 02/88167, WO 02/12266, WO 02/100879, WO 02/00679 (в частности, примеры 3, 11, 14, 17, 19, 26, 34, 37, 39, 51, 60, 67, 72, 73, 90, 99 и 101), WO 03/35668, WO 03/48181, WO 03/62259, WO 03/64445, WO 03/72592, WO 04/39827 и WO 04/66920; нестериоидные агонисты глюкокортикоидного рецептора, такие как описанные в DE 10261874, WO 00/00531, WO 02/10143, WO 03/82280, WO 03/82787, WO 03/86294, WO 03/104195, WO 03/101932, WO 04/05229, WO 04/18429, WO 04/19935 и WO 04/26248; антагонисты LTB4, такие как монтелукаст и зафирлукаст; ингибиторы PDE4, такие как циломиласт (АРИФЛО® GlaxoSmithKline), РОФЛУМИЛАСТ® (Byk Gulden), V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), АРОФИЛЛИН® (Almirall Prodesfarma), PD189659/PD168787 (Parke-Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SelCID(TM) CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo), и описанные в WO 92/19594, WO 93/19749, WO 93/19750, WO 93/19751, WO 98/18796, WO 99/16766, WO 01/13953, WO 03/104204, WO 03/104205, WO 03/39544, WO 04/000814, WO 04/000839, WO 04/005258, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/018431, WO 04/018449, WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 и WO 04/037805; и антагонисты аденоzinового рецептора A_{2B}, такие как описанные в WO 02/42298, которые во всей своей полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

Подходящие бронхолитические лекарственные средства включают агонисты бета-2-адренорецептора, такие как албутерол (салбутамол), метапротеренол, тербуталин, салметерол фенотерол, прокатерол, формотерол, кармотерол, или их фармацевтически приемлемые соли; и соединения (в свободной форме или в форме соли или сольватата) формулы (1), описанные в WO 00/75114, соединение формулы



соединения формулы (1), описанные в WO 04/16601 (в свободной форме или в форме соли или сольватата), и соединения, описанные в EP 1440966, JP 05025045, WO 93/18007, WO 99/64035, US 2002/0055651, WO 01/42193, WO 01/83462, WO 02/66422, WO 02/70490, WO 02/76933, WO 03/24439, WO 03/42160, WO 03/42164, WO 03/72539, WO 03/91204, WO 03/99764, WO 04/16578, WO 04/22547, WO 04/32921, WO 04/33412, WO 04/37768, WO 04/37773, WO 04/37807, WO 04/39762, WO 04/39766, WO 04/45618, WO 04/46083 и WO 04/80964 или их фармацевтически приемлемые соли, которые во всей своей полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

Подходящие бронхолитические лекарственные средства также включают антихолинергические или антимускариновые средства, в частности ипатропийбромид, окситропийбромид, тиотропиевые соли и CHF 4226 (Chiesi), и гликопирролат, а также описанные в EP 424021, US 3714357, US 5171744, WO 01/04118, WO 02/00652, WO 02/51841, WO 02/53564, WO 03/00840, WO 03/33495, WO 03/53966, WO 03/87094, WO 04/018422 и WO 04/05285, которые во всей своей полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

Подходящие обладающие двойным действием противовоспалительные и бронхолитические лекарственные средства включают обладающие двойным действием агонисты бета-2-адренорецептора/антагонисты мускарина, такие как раскрытые в US 2004/0167167, WO 04/74246 и WO 04/74812.

Подходящие антигистаминные лекарственные средства включают цетиризингидрохлорид, ацетаминофен, клемастин фумарат, прометазин, лоратидин, деслоратидин, дифенгидрамин и фексофенадин-гидрохлорид, активастин, астемизол, азеластин, эбастин, эпинастин, мизоластин и тефенадин, а также раскрытые в JP 2004107299, WO 03/099807 и WO 04/026841, которые во всей своей полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

Подходящие антибиотики включают макролидные антибиотики, например тобрамицин (TOBI™).

Подходящие терапевтические средства типа ДНКазы включают дорназу-альфа (ПУЛЬМОЗИМ™), а высокоочищенный раствор рекомбинантной дезоксирибонуклеазы I человека I (рчДНКазы), которая селективно расщепляет ДНК. Дорназу-альфа используют для лечения муковисцидоз.

Другими полезными комбинациями ингибиторов активирующей канал протеазы с противовоспалительными лекарственными средствами являются комбинации с антагонистами хемокиновых рецепторов, например CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 и CCR-10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, в особенности с антагонистами CCR-5, такими как выпускающиеся фирмой Schering-Plough антагонисты SC-351125, SCH-55700 и SCH-D, выпускающиеся фирмой Takeda антагонисты, такие как N-[[4-[[[6,7-дигидро-2-(4-метилфенил)-5H-бензоциклогептен-8-ил]карбонил]амино]фенил]метил]тетрагидро-N,N-диметил-2H-пиран-4-аминийхлорид (ТАК-770), и антагонисты CCR-5, описанные в US 6166037, WO 00/66558, WO 00/66559, WO 04/018425 и WO 04/026873, которые во всей своей полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

Для лечения заболевания, опосредуемого ингибированием простазина, в контексте настоящего изобретения ингибитор активирующей канал протеазы, предлагаемый в настоящем изобретении, в свободной форме или в форме фармацевтически приемлемой соли, можно вводить в виде фармацевтических композиций любым обычным путем, в частности энтерально, например перорально, например в виде таблеток или капсул или в жидкой форме, парентерально, например в виде растворов или суспензий для инъекций, или назально, например в виде аэрозоля или другой распыляемой композиции с использованием подходящего устройства введения в нос, например назального распылительного устройства, такого как известные в данной области техники, или путем ингаляции, в особенности для использования с устройством типа небулайзер.

Ингибитор активирующей канал протеазы можно вводить в фармацевтической композиции вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем, такие композиции могут представлять собой сухие порошки, таблетки, капсулы и жидкости, а также растворы для инъекции, растворы для вливания или суспензии для ингаляции, которые можно приготовить с использованием других вспомогательных ингредиентов и методик, известных в данной области техники.

Дозировка ингибитора активирующей канал протеазы в свободной форме или в форме фармацевтически приемлемой соли может зависеть от различных факторов, таких как активность и длительность воздействия активного ингредиента, тяжесть подвергающегося лечению патологического состояния, путь введения, вид, пол, этническое происхождение, возраст и масса тела субъекта и/или конкретное патологическое состояние. Типичная суточная доза, например, для перорального введения теплокровному животному, в частности человеку, массой примерно 75 кг, по оценке составляет от примерно 0,7 до примерно 1400 мг, более предпочтительно от примерно 5 до примерно 200 мг.

Эту дозу можно вводить, например, в виде разовой дозы или нескольких разделенных доз, составляющих, например, от 5 до 200 мг.

Если композиция представляет собой аэрозольный препарат, то он может содержать в качестве пропеллента, например, гидрофторалкан (HFA), такой как HFA134a или HFA227 или их смесь, и может содержать один или большее количество сорасторителей, известных в данной области техники, таких как этанол (до 20 мас. %), и/или одно или большее количество поверхностно-активных веществ, таких как олеиновая кислота или сорбитантриолеат, и/или одно или большее количество наполнителей, таких как лактоза. Если композиция представляет собой сухой порошкообразный препарат, то она может содержать, например, ингибитор активирующей канал протеазы, обладающий частицами диаметром до 10 мкм, необязательно совместно с разбавителем или носителем, таким как лактоза, обладающим желательным распределением частиц по размерам, и соединение, которое способствует защите от ухудшения характеристик продукта вследствие влажности, например стеарат магния. Если композиция представляет собой препарат для распыления, то она может содержать, например, ингибитор активирующей канал протеазы, растворенный или суспендированный в разбавителе, содержащем воду, сорасторитель, такой как этанол или пропиленгликоль, и стабилизатор, которым может являться поверхностно-активное вещество.

В предпочтительных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формулы (1) или (2) в пригодной для вдыхания форме, например в виде аэрозоля или другой распыляемой композиции или в виде вдыхаемого измельченного вещества, например в микронизированной форме. Настоящее изобретение также относится к предназначенному для вдыхания лекарственному средству, включающему соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, в пригодной для вдыхания форме вместе с устройством для ингаляции; и устройство для ингаляции, содержащее соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, в пригодной для вдыхания форме.

Способы получения соединений, предлагаемых в настоящем изобретении.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно получить по методикам, приведенным в примерах.

В описанных реакциях реакционноспособные функциональные группы, если они необходимы в конечном продукте (например, гидроксигруппа, аминогруппа, иминогруппа, тиогруппа или карбоксигруппа), чтобы избежать их нежелательного участия в реакциях, могут быть защищены с помощью защитных групп, известных в данной области техники. В соответствии со стандартной практикой можно использовать обычные защитные группы, например, см. T.W. Greene and P.G.M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, также можно получить в виде фармацевтически приемлемой соли присоединения с кислотой по реакции соединения в форме свободного основания с фармацевтически приемлемой неорганической или органической кислотой. Альтернативно, фармацевтически приемлемую соль присоединения с основанием соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, можно получить по реакции соединения в форме свободной кислоты с фармацевтически приемлемым неорганическим или органическим основанием. Альтернативно, соли соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, можно получить с использованием солей исходных веществ или промежуточных продуктов.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, в форме свободной кислоты или свободного основания можно получить из соответствующей соли присоединения с основанием или соли присоединения с кислотой соответственно. Например, соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, в форме соли присоединения с кислотой можно превратить в соответствующее свободное основание путем обработки подходящим основанием (например, раствором гидроксида аммония, гидроксидом натрия и т.п.) Соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, в форме соли присоединения с основанием можно превратить в соответствующую свободную кислоту путем обработки подходящей кислотой (например, хлористо-водородной кислотой и т.п.).

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, в неокисленной форме можно получить из N-оксидов соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, путем обработки восстановительным реагентом (например, серой, диоксидом серы, трифенилфосфином, борогидридом лития, борогидридом натрия, трихлоридом, трибромидом фосфора и т.п.) в подходящем инертном органическом растворителе (например, ацетонитриле, этаноле, водном диоксане и т.п.) при температуре от 0 до 80°C.

Пролекарственные производные соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, можно получить по методикам, известным специалисту с общей подготовкой в данной области техники (дополнительные подробности см., например, в публикации Saulnier et al. (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, vol. 4, p. 1985). Например, подходящие пролекарства можно получить по реакции не являющегося производным соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, с подходящим карбамилирующим реагентом (например, 1,1-ацилоксиалкилкарбонохлоридом, паранитрофенилкарбонатом и т.п.).

Защищенные производные соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, можно получить по методикам, известным специалисту с общей подготовкой в данной области техники. Подробное описание методик, использующихся для образования защитных групп и их удаления, приведено в публикации T.W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3rd edition, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, обычно можно получить или сформировать способом, предлагаемым в настоящем изобретении, в виде сольватов (например, гидратов). Гидраты соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, обычно можно получить путем перекристаллизации из смеси водного/органического растворителей с использованием органических растворителей, таких как диоксан, тетрагидрофуран или метанол.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно получить в виде отдельных стереоизомеров по реакции рацемической смеси соединения с оптически активным разделяющим реагентом с образованием пары диастереоизомерных соединений, с разделением диастереоизомеров и извлечением оптически чистых энантиомеров. Хотя разделение энантиомеров можно проводить с использованием ковалентных диастереоизомерных производных соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, предпочтительными являются диссоциирующие комплексы (например, кристаллические диастереоизомерные соли). Диастереоизомеры обладают разными физическими характеристиками (например, температурами плавления, температурами кипения, растворимостями, реакционными способностями и т.п.) и их можно легко разделить с использованием этих различий. Диастереоизомеры можно разделить с по-

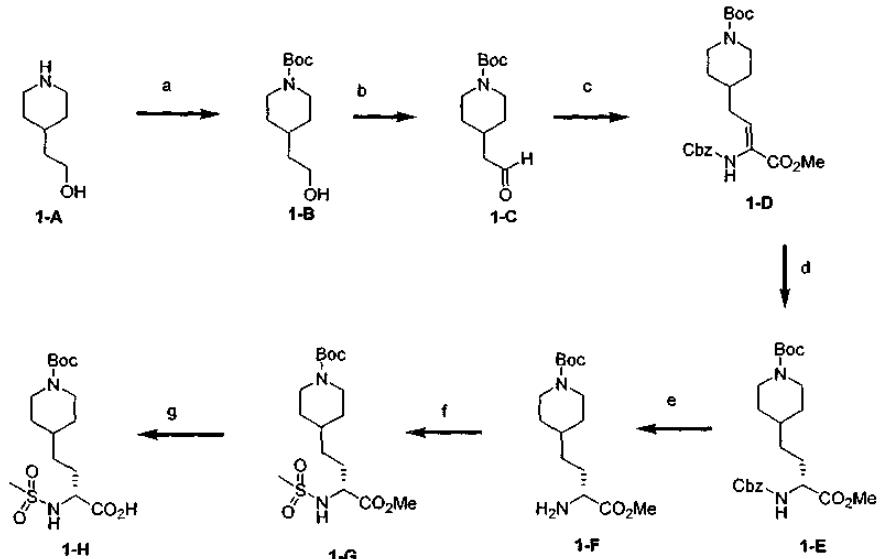
мощью хроматографии или по методикам разделения, основанных на различиях растворимостей. Затем оптически чистый энантиомер вместе с разделяющим реагентом извлекают по любой эффективной методике, которая не приводит к рацемизации. Более подробное описание методик, применимых для выделения стереоизомеров соединений из рацемической смеси, приведено в публикации Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981.

Можно заключить, что соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно получить так, как в качестве примеров описано в примерах, и соединения формул (1) и (2) можно получить способом, который включает:

- (а) необязательное превращение соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, в фармацевтически приемлемую соль;
- (б) необязательное превращение соли соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, в несолевую форму;
- (с) необязательное превращение неокисленной формы соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, в фармацевтически приемлемый N-оксид;
- (д) необязательное превращение N-оксида соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, в неокисленную форму;
- (е) необязательное выделение отдельного изомера соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, из смеси изомеров;
- (ф) необязательное превращение не являющегося производным соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, в фармацевтически приемлемое пролекарственное производное и
- (г) необязательное превращение пролекарственного производного соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, в его форму, не являющуюся производным.

Хотя получение исходных веществ специально не описано, эти соединения являются известными или их можно получить по методикам, аналогичным известным в данной области техники, или так, как описано в приведенных ниже примерах. Специалист в данной области техники должен понимать, что указанные выше превращения являются только примерами методик получения соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, и что также можно использовать другие хорошо известные методики. Настоящее изобретение дополнительно поясняется, но не ограничивается приведенными ниже промежуточными продуктами (эталонные соединения) и примерами, которые иллюстрируют получение соединений, предлагаемых в настоящем изобретении.

Эталонное соединение 1



1-B: 4-Пиперидинэтанол (1-А) (5 г, 39,7 ммоль) растворяют в ТГФ (тетрагидрофуран) (120 мл). Добавляют триэтиламин (5,6 мл, 40 ммоль) и раствор охлаждают до 0°C. Добавляют Boc_2O (9,59 г, 44 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение ночи. Растворитель удаляют в вакууме и неочищенный остаток растворяют в этилацетате (120 мл). Раствор промывают 0,1н. раствором HCl (3×100 мл) и рассолом (1×100 мл), сушат над MgSO_4 , фильтруют и растворитель выпаривают в вакууме и получают соединение 1-В в виде прозрачного масла.

1-C: К раствору спирта 1-В (2,39 г, 10,42 ммоль) в ДХМ (дихлорметан) добавляют трихлоризоциануровую кислоту (2,66 г, 11,46 ммоль) и раствор перемешивают и выдерживают при 0°C, затем добавляют каталитическое количество ТЕМОРО. После добавления смесь нагревают до комнатной температуры и перемешивают в течение 1 ч и затем фильтруют через целин®. Органическую фазу промывают насыщенным водным раствором Na_2CO_3 , затем 1н. раствором HCl и рассолом. Органический слой сушат (MgSO_4) и растворитель выпаривают и получают соединение 1-С.

¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 9,72 (1H, s), 4,07-4,01 (2H, m), 2,70-2,57 (2H, m), 2,35-2,31 (2H, m), 2,05-1,94 (1H, m), 1,64-1,46 (2H, m), 1,39 (9H, s), 1,30-1,02 (2H, m).

1-D: К раствору триметилового эфира Cbz-α-фосфоноглицина (2,8 г, 8,45 ммоль) в ТГФ при -78°C добавляют 1,1,3,3-тетраметилгуанидин (1,022 мл, 8,14 ммоль). Через 10 мин добавляют альдегид 1-C (1,76 г, 7,76 ммоль). Раствор помешают в баню со льдом и выдерживают при 0°C в течение 1 ч и затем раствору дают нагреться до комнатной температуры и перемешивают в течение еще 1 ч. Раствор разбавляют с помощью EtOAc, промывают 1 M раствором NaHSO₄, сушат (MgSO₄) и концентрируют в вакууме. Остаток очищают с помощью фланш-хроматографии на силикагеле, элюируя смесью этилацетата/гексан от 0 до 100%, и получают соединение 1-D в виде белого твердого вещества.

MC (масс-спектрометрия) m/z 333,2 (M+1).

¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 7,35-7,33 (5H, m), 6,63 (1H, t, J=8 Гц), 6,30 (1H, bs), 5,12 (2H, s), 4,10-4,04 (2H, m), 3,73 (3H, s), 2,67-2,62 (2H, m), 2,14 (2H, t, J=6,8 Гц), 1,63-1,46 (3H, m), 1,43 (9H, s), 1,14-1,06 (2H, m).

1-E: В реактор Парра в атмосфере азота помещают соединение 1-D (1 г, 2,31 ммоль) и MeOH (100 мл). Раствор 3 раза вакуумируют и продувают азотом, затем добавляют катализатор, (R,R)-этил-DuPHOS-Rh(COD)трифлат (30 мг, 0,04 ммоль). Смесь выдерживают в атмосфере водорода под давлением, равным 60 фунт-сила/дюйм², при комнатной температуре в течение 24 ч. Через 24 ч превращение в соединение 1-E завершается с ЭИ (энантиомерный избыток) >99%, растворитель удаляют в вакууме и неочищенный продукт очищают с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc).

1-F: Промежуточный продукт 1-E растворяют в MeOH. Раствор продувают азотом и добавляют Pd/уголь (5 вес.%, Degussa). Смесь помещают в атмосферу водорода под давлением, равным 50 фунт-сила/дюйм², при комнатной температуре и встряхивают в течение 24 ч. Смесь продувают азотом и фильтруют через целин®. Отфильтрованный осадок промывают с помощью MeOH и объединенные органические растворы концентрируют в вакууме. Добавляют гексаны и затем смесь выпаривают для азеотропной отгонки оставшегося метанола и получают соединение 1-F в виде масла, которое используют на следующей стадии без дополнительной очистки.

MC m/z 201,4 (M+1 - Boc).

¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 4,06-3,97 (2H, m), 3,63 (3H, s), 3,36-3,31 (1H, m), 2,63-2,50 (2H, m), 1,70-1,61 (1H, m), 1,61-1,43 (3H, m), 1,36 (3H, s), 1,55 (6H, s), 1,34-1,15 (3H, m), 1,02-1,97 (2H, m).

1-G: Неочищенное соединение 1-F (0,6 г, 1,99 ммоль) растворяют в ТГФ (10 мл) и к раствору добавляют 2,4,6-коллидин (315 мг, 2,38 ммоль) и метансульфонилхлорид (0,170 мл, 2,19 ммоль) и перемешивают в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляют с помощью EtOAc (50 мл) и раствор промывают 1 M раствором NaHSO₄ (2×25 мл), рассолом (25 мл) и сушат (MgSO₄). Растворитель удаляют в вакууме и неочищенный остаток очищают с помощью фланш-хроматографии, используя градиентный режим смеси гексанов и EtOAc, и получают соединение 1-G.

MC m/z 279,4 (M+1 - Boc).

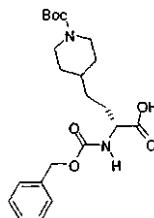
¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 5,60-5,42 (1H, m), 3,99-3,96 (3H, m), 3,68 (3H, s), 2,86 (3H, m), 2,60-2,54 (2H, m), 1,79-1,77 (1H, m), 1,60-1,45 (2H, m), 1,35 (9H, s), 1,35-1,26 (3H, m), 1,16-0,95 (2H, m).

1-H: Соединение 1-G (0,70 г, 1,84 ммоль) растворяют в диоксане (7 мл) и добавляют LiOH·H₂O (232 мг, 5,55 ммоль), растворенный в воде (4 мл). Реакционную смесь перемешивают в течение 1 ч. Растворитель выпаривают и остаток разбавляют с помощью EtOAc (25 мл) и промывают 1н. раствором NaHSO₄ (25 мл) и рассолом (25 мл) и сушат (MgSO₄). Растворитель удаляют в вакууме и неочищенный остаток очищают с помощью хроматографии на силикагеле (градиентный режим гексаны/EtOAc) и получают эталонное соединение 1 в виде белого твердого вещества.

MC m/z 265,4 (M+1 - Boc).

¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 8,97 (1H, широкий s), 5,44 (1H, d, J=8,8 Гц), 4,15-3,90 (3H, m), 2,94 (3H, s), 2,77-2,55 (2H, m), 1,88-1,87 (1H, m), 1,78-1,58 (3H), 1,42-1,37 (12H, m), 1,16-0,94 (2H, m).

Эталонное соединение 2

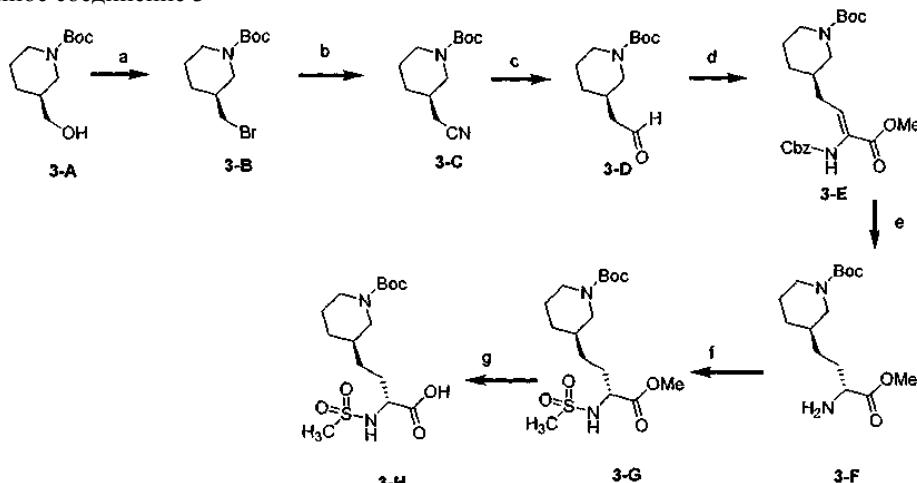


Промежуточный продукт 1-E омыляют с помощью LiOH·H₂O по той же методике, которая использована для получения соединения 1-H.

MC m/z 421,5 (M+1).

¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 9,75 (1H, широкий s), 7,26-7,41 (5H, m), 5,39 (1H, s), 5,10 (2H, s), 4,41-4,34 (1H, m), 4,46-4,03 (2H, m), 2,68-2,61 (2H, m), 1,94-1,82 (1H, m), 1,78-1,53 (3H, m), 1,44 (9H, s), 1,44-1,19 (3H, m), 1,09-1,03 (2H, m).

Эталонное соединение 3



3-B: Соединение 3-А (2 г, 9,28 ммоль) объединяют с CBr_4 (4,46 г, 13,47 ммоль) и трифенилфосфином (3,28 г, 12,54 ммоль) в ТГФ (0,2 М) и раствор перемешивают в течение ночи. Затем реакционную смесь фильтруют и растворитель выпаривают. При медленном добавлении неочищенной смеси к большому объему эфира осаждается значительная часть трифенилфосфиноксида. После фильтрования и концентрирования остаток очищают с помощью хроматографии (градиентный режим EtOAc :гексаны) и получают соединение 3-В.

^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ 4,05-3,99 (1Н, м), 3,83-3,78 (1Н, м), 3,27-3,24 (2Н, м), 2,84-2,77 (1Н, м), 2,66-2,59 (1Н, м), 1,91-1,74 (2Н, м), 1,67-1,56 (1Н, м), 1,42 (9Н, с), 1,32-1,20 (2Н, м).

3-C: Смесь соединения 3-В (1 г, 3,6 ммоль) и KCN (281 мг, 4,3 ммоль) в безводном ДМФ (20 мл) перемешивают при кипячении с обратным холодильником в течение ночи. Остаток растворяют в EtOAc (50 мл), последовательно промывают 1н. раствором NaHSO_4 (2×50 мл) и рассолом (2×50 мл) и сушат над MgSO_4 . Растворитель выпаривают и неочищенное вещество очищают с помощью хроматографии (градиентный режим EtOAc :гексаны) и получают соединение 3-С в виде масла.

^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ 3,83-3,78 (1Н, м), 3,78-3,69 (1Н, м), 2,87-2,73 (2Н, м), 2,28-2,15 (2Н, м), 1,84-1,72 (2Н, м), 1,61-1,52 (1Н, м), 1,42-1,15 (11Н, м).

3-D: К раствору соединения 3-С (750 мг, 3,34 ммоль) в ТГФ (20 мл) при -78°C добавляют ДИБАЛ (дизибутилалюминийгидрид) (1 М раствор в ТГФ, 5 мл). Этой смеси дают нагреться до комнатной температуры и ее перемешивают при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждают до 0°C и последовательно добавляют воду (0,2 мл), 15% водный раствор NaOH (0,2 мл) и воду (0,5 мл). После добавления MgSO_4 смесь энергично перемешивают и фильтруют. Выпаривание растворителей дает соединение 3-Д в виде бесцветного масла. Это соединение используют на следующей стадии без дополнительной очистки.

^1H -ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ 3,78-3,67 (1Н, м), 3,67-3,64 (1Н, м), 2,81-2,71 (1Н, м), 2,71-2,50 (1Н, м), 2,24-2,09 (2Н, м), 1,79-1,66 (2Н, м), 1,56-1,48 (1Н, м), 1,39-1,13 (11Н, м).

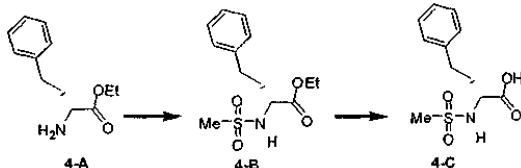
3-E: Это соединение получают из соединения 3-Д по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения эталонного соединения 1-Д.

3-F: Это соединение получают из соединения 3-Е по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения эталонного соединения 1-Е.

3-G: Это соединение получают из соединения 3-Е по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения эталонного соединения 1-Г.

3-H: Это соединение получают из соединения 3-G по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения эталонного соединения 1-Н.

Эталонное соединение 4

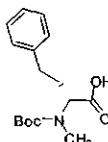


4-B: Гидрохлорид этилового эфира D-гомофенилалинина (5,00 г, 20,5 ммоль) и ДИЭА (8,7 мл, 51,25 ммоль) растворяют в ТГФ (100 мл) и перемешивают при комнатной температуре. По каплям добавляют мезилхлорид (1,67 мл, 21,52 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 6 ч. ТГФ выпаривают и неочищенный остаток растворяют в EtOAc (100 мл), промывают водой (100 мл), 1н. раствором HCl (2×100 мл) и рассолом (100 мл) и сушат (MgSO_4). Растворитель удаляют в вакууме и неочищенное вещество очищают с помощью флэш-хроматографии (гексаны: EtOAc) и

получают этиловый эфир.

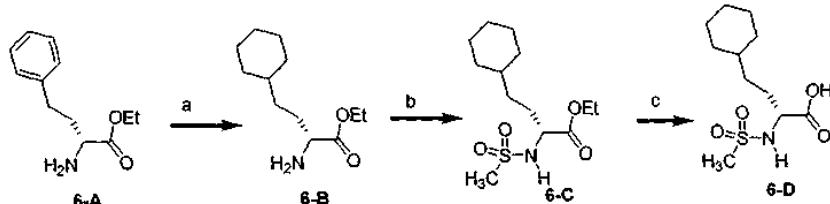
4-C: Этиловый эфир 4-B растворяют в диоксане (50 мл) и перемешивают при комнатной температуре. Добавляют LiOH·H₂O (1,00 мг, 24 ммоль), растворенный в воде (20 мл), и реакционную смесь перемешивают до исчезновения этилового эфира (по данным ТСХ (тонкослойная хроматография) и ЖХМС (жидкостная хроматография масс-спектрометрия)). Растворитель удаляют в вакууме и неочищенное вещество подвергают распределению между EtOAc (50 мл) и 1н. раствором HCl (50 мл). Водный слой экстрагируют с помощью EtOAc (2×50 мл) и объединенные органические фазы промывают 1 М раствором NaHSO₄ (2×50 мл) и рассолом (50 мл) и сушат над MgSO₄. Растворитель выпаривают и неочищенное вещество очищают с помощью флэш-хроматографии (градиентный режим EtOAc:гексаны) и получают эталонное соединение 4 в виде белого порошкообразного вещества.

Эталонное соединение 5



Вос-D-гомофениланилин (1,0 г, 3,58 ммоль) растворяют в ТГФ (10 мл) и к суспензии NaN (60% дисперсия в минеральном масле; 10,0 ммоль) в тетрагидрофуране (12 мл), в течение 20 мин по каплям добавляют воду (18 мкл, 0,72 ммоль), поддерживая внутреннюю температуру равной 20°C. Смесь перемешивают при той же температуре в течение 10 мин и в течение 20 мин добавляют диметилсульфат (1,05 мл, 6,44 ммоль), поддерживая температуру равной 20°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 2 ч, затем в течение 10 мин реакцию останавливают 30% раствором гидроксида аммония (6 мл), поддерживая внутреннюю температуру равной 20°C. Перемешивание продолжают в течение еще 1 ч (для обеспечения полного разложения диметилсульфата). Смесь разбавляют с помощью EtOAc (20 мл) и водой (20 мл). Органический слой отделяют, промывают водой (10 мл), сушат (MgSO₄) и выпаривают в вакууме и получают эталонное соединение 5 в виде белого твердого вещества.

Эталонное соединение 6

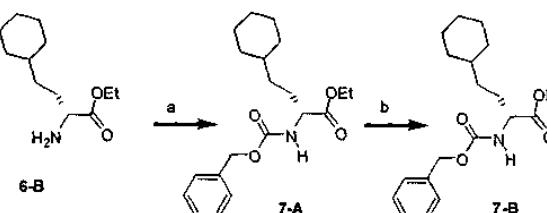


6-B: Гидрохлорид этилового эфира D-гомофениланилина (6-A) (25,0 г, 102,5 ммоль) растворяют в 10% водном растворе EtOH (500 мл). Добавляют каталитическое количество 5% Rh/C и реакционную смесь помещают в атмосферу H₂ (1000 фунт-сила/дюйм²), перемешивают и нагревают до 50°C. Через 18 ч реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, устройство подачи H₂ отсоединяют и давление в реакторе доводят до атмосферного. Катализатор фильтруют через целин® и растворитель удаляют в вакууме и получают гидрохлорид этилового эфира D-гомоциклогексиланилина в виде белого порошкообразного вещества.

6-C: Это соединение получают из соединения 6-B по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения эталонного соединения 4-B.

6-D: Это соединение получают из соединения 6-C по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения эталонного соединения 4-C.

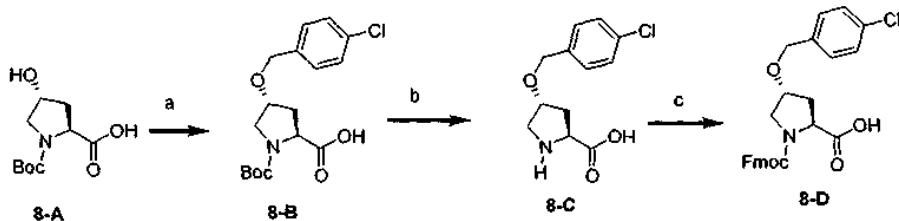
Эталонное соединение 7



7-A: В круглодонную колбу, содержащую ТГФ (60 мл) и воду (20 мл), добавляют гидрохлорид этилового эфира D-гомоциклогексиланилина (3,83 г, 18,0 ммоль) и N-(бензилоксикарбонилокси)сукцинимид (Cbz-OSu) (4,49 г, 18,0 ммоль). Смесь перемешивают при комнатной температуре и добавляют Et₃N (10,1 мл, 72,0 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение ночи. Прозрачный раствор разбавляют с помощью EtOAc (200 мл) и промывают 1н. раствором HCl (3×100 мл) и рассолом (1×100 мл) и сушат над MgSO₄. Растворитель выпаривают в вакууме и получают искомый продукт в виде белого твердого вещества, которое используют без дополнительной очистки.

7-В: Это соединение получают из соединения 7-А по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения эталонного соединения 4-С.

Эталонное соединение 8



8-В: Тонкоизмельченный KOH (19,4 г, 0,346 моль) растворяют в ДМСО (диметилсульфоксид) и перемешивают при комнатной температуре в течение 20 мин и затем охлаждают до 0°C. N-Вос-транс-4-Гидрокси-L-пролин (Вос-Нур-OH, 8-А) (10 г, 43,3 ммоль) растворяют в ДМСО (10 мл) и добавляют к смеси и реакционную смесь перемешивают при 0°C в течение еще 10 мин. Затем добавляют 4-хлорбензилхлорид (33 г, 0,204 моль) и реакционную смесь перемешивают при 0°C в течение еще 15 мин. После этого баню со льдом удаляют и реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры и перемешивают в течение 4 ч. Реакционную смесь выливают в воду (300 мл) и реакционный сосуд промывают еще одной аликовой воды (300 мл).

Объединенный водный слой экстрагируют эфиром (2×300 мл) и эфирный экстракт отбрасывают. Водный слой подкисляют до pH 2,3 с помощью 87% H₃PO₄ и затем экстрагируют эфиром (3×300 мл). Объединенные эфирные экстракты промывают водой (2×400 мл) и рассолом (2×400 мл) и затем сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме. Остаток очищают с помощью хроматографии на силикагеле, элюируя смесью EtOAc/гексаны (градиентный режим от 0 до 100%), и получают соединение 8-В в виде прозрачного масла.

MC m/z 256,1 (M+1 - Boc).

¹Н-ЯМР (ДМСО-D₆, 400 МГц) δ 7,39-7,31 (4H, m), 4,52-4,40 (2H, m), 4,16-4,10 (2H, m), 3,48-3,41 (2H, m), 2,40-2,30 (1H, m), 2,03-1,94 (1H, m), 1,39-1,34 (9H, m).

8-С: К соединению 8-В добавляют раствор ТФК (трифтормукусная кислота) в дихлорметане (50/50) и смесь перемешивают до полного удаления группы Вос. Затем реакционную смесь концентрируют в вакууме и неочищенный остаток используют на следующей стадии без дополнительной очистки.

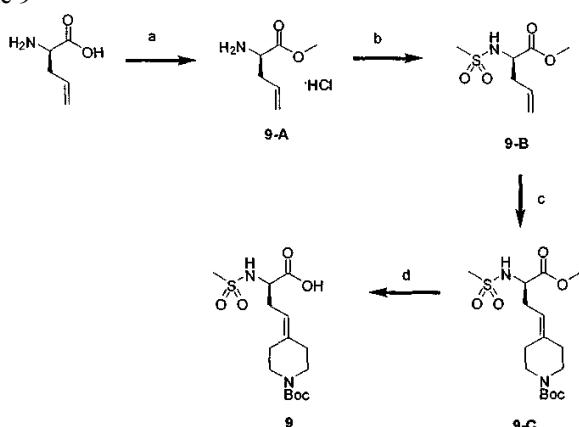
MC m/z 256,1 (M+1).

¹Н-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 8,32 (1H, широкий s), 7,16-6,93 (4H, m), 4,41-4,12 (4H, m), 4,10-3,75 (2H, m), 3,70-3,53 (1H, m), 3,51-3,30 (1H, m), 2,38-2,24 (1H, m), 2,06-1,88 (1H, m).

8-Д: Промежуточный продукт 8-С растворяют в 200 мл раствора смеси 1,4-диоксан/H₂O (1:1). Добавляют NaHCO₃ (17,9 г, 0,213 моль), затем Fmoc-Cl (12 г, 46,3 ммоль). Смесь перемешивают в течение ночи. Затем раствор подкисляют 1н. раствором HCl и осадок отфильтровывают и сушат (MgSO₄) и получают соединение 8-Д в виде белого твердого вещества.

¹Н-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 8,11 (1H, широкий s), 7,77-7,66 (2H, m), 7,58-7,52 (2H, m), 7,42-7,21 (8H, m), 4,54-4,26 (4H, m), 4,24 (1H, t, J=7,2 Гц), 4,23-4,10 (1H, m), 3,69-3,61 (2H, m), 2,50-2,38 (1H, m), 2,24-2,12 (1H, m).

Эталонное соединение 9



Для осуществления приведенной выше схемы реакций используют следующие реагенты:

(a) SOCl₂ (3,0 экв.), MeOH, 0°C, 100%;

(b) мезилхлорид (1,2 экв.), Et₃N (3,0 экв.), каталитическое количество ДМАП, ТГФ, 23°C, 79%;

(c) катализатор реакции обмена Hoveyda-Grubbs (8 мол.-%), N-Бос-4-метиленпиперидин (3,0 экв.), ДХМ, 40°C, 51%;

(d) LiOH, диоксаны, H₂O, 23°C, 100%.

9-А: D-Аллилглицин (5,03 г, 43,73 ммоль, 1,0 экв.) сусpendingируют в метаноле (70 мл) в бане с водой и льдом. В течение 10 мин по каплям добавляют тионилхлорид (9,6 мл, 131,19 ммоль, 3,0 экв.). Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры и степень завершения реакции оценивают с помощью ЖХ/МС. Растворитель выпаривают и полученное белое твердое вещество, соединение 9-А, непосредственно используют на следующей стадии.

9-В: Гидрохлорид метилового эфира D-аллилглицина (9-А, 7,20 г, 43,73 ммоль), Et₃N (18 мл, 131,19 ммоль, 3,0 экв.) и ДМАП (4-диметиламинопиридин) (10 мг, катализическое количество) растворяют в ТГФ (110 мл) и перемешивают при комнатной температуре. По каплям добавляют мезилхлорид (4,0 мл, 52,48 ммоль, 1,2 экв.) и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 6 ч. ТГФ выпаривают и неочищенный остаток растворяют в EtOAc (100 мл) и промывают водой (100 мл), 1н. раствором HCl (2×100 мл) и рассолом (100 мл) и сушат (MgSO₄). Растворитель удаляют в вакууме и неочищенное вещество очищают с помощью флэш-хроматографии (гексаны:EtOAc) и получают соединение 9-В в виде желтого масла.

9-С: К соединению 9-В (2,15 г, 10,37 ммоль, 1,0 экв.) с помощью шприца добавляют безводный дихлорметан (10 мл, 0,1 М) и в атмосфере азота катализатор реакции метатезиса Hoveyda-Grubbs 2-го поколения, [(1,3-бис-(2,4,6-триметилфенил)-2-имиазолидинилиден)дихлор(о-изопропоксифенилметилен)-рутений(II)дихлорид (510 мг, 0,815 ммоль, 8 мол.%)]. С помощью шприца добавляют N-Вoc-4-метилеметипиридин (6 мл, 31,11 ммоль, 3,0 экв.) и к реакционному сосуду присоединяют обратный ходильник и смесь нагревают при 40°C в течение 12 ч. После окончания реакции по данным ЖХ/МС реакционную смесь непосредственно очищают с помощью системы автоматической очистки на силикагеле (0-100% этилацетат в гексанах) и получают соединение 9-С в виде темно-зеленого масла.

MC m/z 277,2 (M-Boc+1).

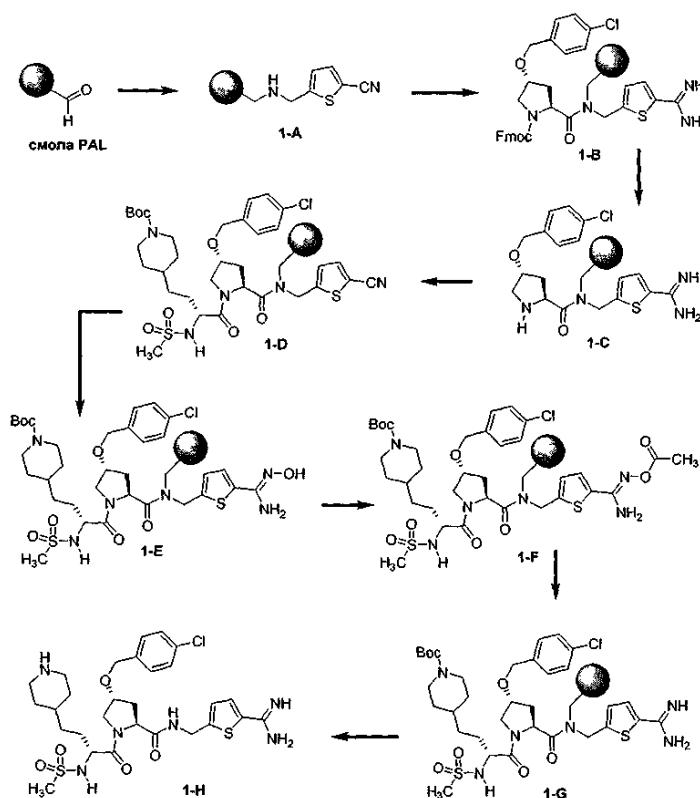
Эталонное соединение 9: Омыление соединения 9-С проводят по методике, описанной выше для получения эталонного соединения 4.

Эталонное соединение 10



Эталонное соединение 10 получают по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения эталонного соединения 8.

Пример 1



1-А: Загрузка смолы PAL: 5-Циано-2-метиламинотиофен (3 экв.) добавляют к раствору смолы (1 мэкв./г) в ДМФ (диметилформамид) в присутствии AcOH (8 экв.). Смесь встряхивают в течение 1 ч,

затем добавляют $\text{NaH}(\text{AcO})_3$ (3 экв.) и смеси дают реагировать в течение ночи. Затем смолу промывают с помощью ДМФ ($\times 2$), ДХМ ($\times 2$), MeOH ($\times 2$) и ДХМ ($\times 2$).

1-В: Аминокислоту 8-Д с защитной группой Fmoc (3 экв.) добавляют к 200 мг смолы 1-А в ДМФ в присутствии HOBr (1-гидроксибензотриазол) (3,5 экв.) и ДИК (дизопропилкарбодиимид) (3,5 экв.). Смесь встряхивают в течение 3 ч. Смолу промывают с помощью ДМФ ($\times 2$), ДХМ ($\times 2$), MeOH ($\times 2$) и ДХМ ($\times 2$).

1-С: Смолу встряхивают в течение 30 мин в 20% растворе пиперидина в ДМФ и промывают с помощью ДМФ ($\times 2$) и ДХМ ($\times 2$).

1-Д: Аминокислоту вводят в реакцию сочетания со смолой 1-С по методике, аналогичной методике 1-В.

1-Е: Раствор гидроксиламингидрохлорида (40 экв.) и ДИЭА (дизопропилэтиламин) (40 экв.) в ДМФ добавляют к смоле 1-Д и смесь встряхивают в течение ночи. Смолу промывают с помощью ДМФ ($\times 2$), ДХМ ($\times 2$), MeOH ($\times 2$) и ДХМ ($\times 2$).

1-Ф: К раствору смолы 1-Е в ДХМ добавляют уксусный ангидрид (10 экв.). Смесь встряхивают в течение 2 ч и затем промывают с помощью ДХМ ($\times 2$), ДМФ ($\times 2$) и ДХМ ($\times 2$).

1-Г: Смолу 1-Ф промывают безводным ТГФ ($\times 2$). Затем в атмосфере азота добавляют раствор SmI_2 (0,1 М в ТГФ). Смесь встряхивают в течение 2 ч и смолу промывают с помощью ДМФ ($\times 2$), MeOH ($\times 2$) ДМФ ($\times 2$) и ДХМ ($\times 2$).

1-Н: Конечное соединение 1-Н получают путем отщепления от смолы в присутствии раствора ТФК/ДХМ/ H_2O (45:45:10). Фильтрат концентрируют в вакууме, растворяют в ацетонитриле и очищают с помощью ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) с обращенной фазой (градиентный режим $\text{H}_2\text{O}-\text{ACN}$). После лиофилизации получают соль соединения 1-Н с ТФК в виде белого порошкообразного вещества.

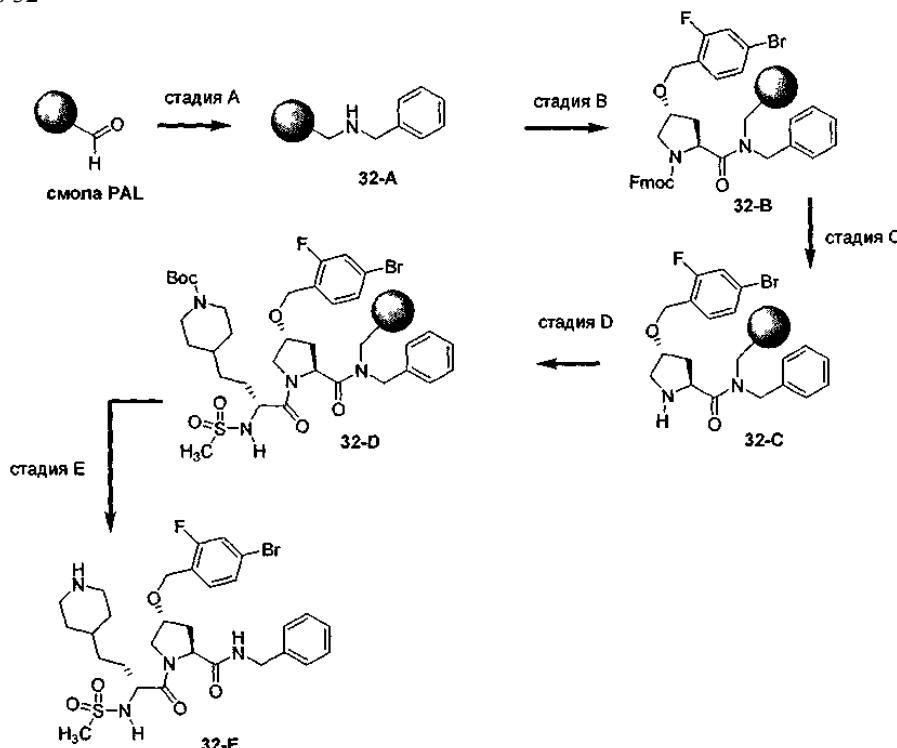
MC m/z 639,5 (M+1).

^1H -ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 9,30 (1H, s), 7,89 (1H, s), 7,72 (1H, d, $J=4$ Гц), 7,36-7,26 (4H, m), 7,09 (1H, d, $J=4$ Гц), 6,06 (1H, d, $J=8$ Гц), 4,60-4,41 (5H, m), 4,33-4,21 (1H, m), 4,11-4,05 (1H, m), 3,82-3,65 (2H, m), 3,29-3,27 (2H, m), 2,86 (3H, s), 2,86-2,76 (2H, m), 2,46-2,36 (1H, m), 2,15-2,07 (1H, m), 1,75-1,68 (2H, m), 1,63-1,46 (2H, m), 1,46-1,31 (2H, m), 1,31-1,27 (3H, m).

Примеры 2-31.

Соединения примеров 2-31 синтезируют по методикам, аналогичным тем, которые описаны для синтеза соединения примера 1.

Пример 32



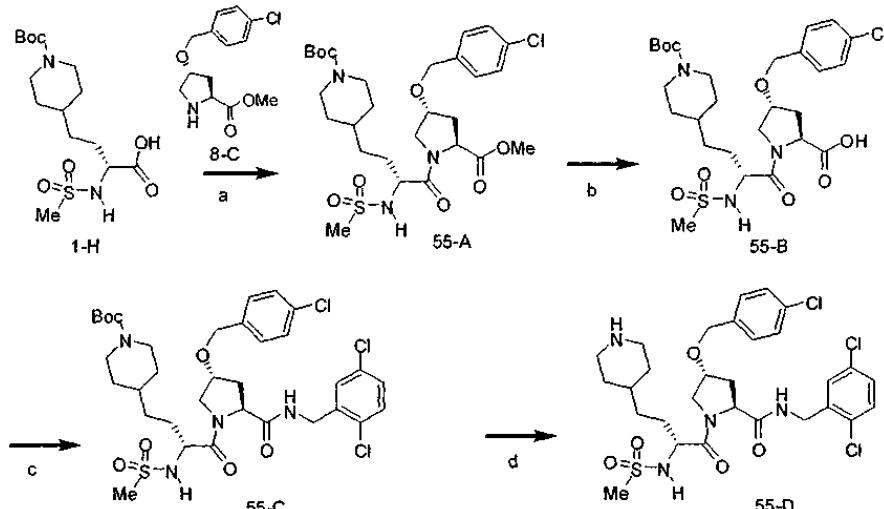
Реагент 32-А получают из бензиламина и смолы Pal по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения соединения примера 1-А. Промежуточный продукт 32-В получают из иммобилизированного соединения 32-А по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения соединения примера 1-В. Промежуточные продукты 32-С и 32-Д получают из связанных с подложкой соединений 32-В и 32-С соответственно по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения со-

единений примеров 1-С и 1-Д соответственно. Конечное соединение 32-Е получают путем отщепления соединения 32-Д от смолы по методикам, аналогичным тем, которые описаны для получения соединения примера 1-Н.

Примеры 33-54.

Соединения примеров 33-54 синтезируют по методикам, аналогичным тем, которые описаны для синтеза соединения примера 32.

Пример 55



55-А: К раствору гидрохлорида метилового эфира 8-С (1,6 г, 5,2 ммоль), РуВОР (бензотриазол-1-илокси-трис-(пирролидино)fosfonийгексафторфосфат) (3,79 г, 7,28 ммоль) и ДИЭА (2,7 мл, 15,6 ммоль) в ДХМ (50 мл) добавляют соединение 1-Н (1,9 г, 5,2 ммоль). Смесь перемешивают в течение ночи, затем промывают 1 М раствором NaHSO₄ (2×50 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (2×50 мл) и рассолом (1×50 мл). Органическую фазу сушат над MgSO₄ и концентрируют в вакууме. Остаток очищают с помощью флэш-хроматографии (гексаны:EtOAc) и получают соединение 55-А в виде белого твердого вещества.

MC m/z 616,2 (M+1).

55-В: Метиловый эфир 55-А (2,2 г, 3,72 ммоль) растворяют в диоксане (20 мл) и перемешивают при комнатной температуре. Добавляют LiOH·H₂O (467 мг, 11,12 ммоль), растворенный в воде (50 мл), и реакционную смесь перемешивают до исчезновения метилового эфира (по данным ТСХ и ЖХМС). Раствор подкисляют с помощью добавления 1 М раствора NaHSO₄ и экстрагируют с помощью EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические фазы промывают рассолом (50 мл) и сушат над MgSO₄. Растворитель выпаривают и получают соединение 55-В в виде белого порошкообразного вещества.

MC m/z 602,2 (M+1).

¹Н-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 7,33 (2H, d, J=8,4 Гц), 7,22 (2H, d, J=8,4 Гц), 5,87 (1H, d, J=9,6 Гц), 4,43-4,57 (4H, m), 4,29-4,32 (1H, m), 3,95-4,17 (4H, m), 3,87-3,93 (1H, m), 3,60-3,64 (1H, m), 2,89 (3H, s), 2,58-2,64 (2H, m), 2,45-2,51 (1H, m), 2,15-2,51 (1H, m), 1,48-1,70 (3H, m), 1,44 (9H, s), 1,22-1,35 (2H, m), 0,95-1,10 (2H, m).

55-С: К раствору соединения 55-В (60 мг, 0,1 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляют НАТУ (2-(7-аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуронийгексафторфосфат) (55 мг, 0,14 ммоль), ДИЭА (0,035 мл, 0,2 ммоль) и 2,5-дихлорбензиламин (23 мг, 0,13 ммоль). Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение ночи, затем последовательно промывают 1 М раствором NaHSO₄ (10 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл) и рассолом (10 мл). Раствор сушат над MgSO₄, фильтруют, выпаривают и непосредственно используют на следующей стадии.

MC m/z 659,2 (M+1 - Boc).

55-Д: К раствору соединения 55-С в ДХМ медленно добавляют 50% раствор ТФК в ДХМ. Смесь перемешивают в течение 30 мин, затем растворители выпаривают и остаток растворяют в ацетонитриле и очищают с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой. После лиофилизации растворителей получают соль соединения 55-Д с ТФК в виде белого порошкообразного вещества.

MC m/z 659,2 (M+1).

¹Н-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 9,30 (1H, bs), 8,56 (1H, bs), 7,31 (1H, d, J=2 Гц), 7,07-7,27 (6H, m), 5,88 (1H, d, J=8,4 Гц), 4,26-4,57 (6H, m), 3,93-4,02 (1H, m), 3,77-3,86 (1H, m), 3,47-3,86 (1H, m), 3,21-3,34 (5H, m), 2,74 (3H, s), 2,49-2,88 (4H, m), 2,17-2,36 (2H, m), 1,18-1,73 (9H, m).

Примеры 56-70.

Соединения примеров 56-70 синтезируют по методикам, аналогичным тем, которые описаны для синтеза соединения примера 55.

В таблице приведены соединения формулы (1), описанные в примерах 1-70.

	Структура	Физические характеристики MC (m/z), элементный анализ и ^1H ЯМР 400 МГц (ДМСО-d ₆)
1		MC m/z 639,5 (M + 1); ^1H ЯМР (CD ₃ CN, 400 МГц) δ 9,30 (1H, s), 7,89 (1H, s), 7,72 (1H, d, J = 4 Гц), 7,36-7,26 (4H, m), 7,09 (1H, d, J = 4 Гц), 6,06 (1H, d, J = 8 Гц), 4,60-4,41 (5H, m), 4,33-4,21 (1H, m), 4,11-4,05 (1H, m), 3,82-3,65 (2H, m), 3,29-3,27 (2H, m), 2,86 (3H, s), 2,86-2,76 (2H, m), 2,46-2,36 (1H, m), 2,15-2,07 (1H, m), 1,75-1,68 (2H, m), 1,63-1,46 (2H, m), 1,46-1,31 (2H, m), 1,31-1,27 (3H, m).
2		MC m/z 701,2 (M + 1); Анализ: Рассчитано для C ₃₄ H ₄₁ BrF ₁₀ N ₆ O ₁₁ S ₂ (3 ТФК): С, 39,13; Н, 3,96; N, 8,21; Найдено: С, 39,24; Н, 4,25; N, 8,21; ^1H ЯМР (CD ₃ CN, 400 МГц) δ 9,99 (1H, s), 7,95-7,74 (2H, m), 7,74 (1H, d, J = 4 Гц), 7,42-7,32 (3H, m), 7,11 (1H, d, J = 4 Гц), 6,13 (1H, d, J = 8,4 Гц), 4,59-4,35 (5H, m), 4,15-4,08 (1H, m), 4,15-4,02 (1H, m), 3,84-3,68 (2H, m), 3,31-3,28 (2H, m), 2,87-2,79 (5H, m), 2,45-2,38 (1H, m), 2,18-2,10 (1H, m), 1,76-1,69 (2H, m), 1,69-1,49 (2H, m), 1,49-1,39 (2H, m), 1,39-1,29 (3H, m).
3		MC m/z 352 [(M + 1)/2]

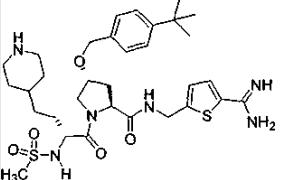
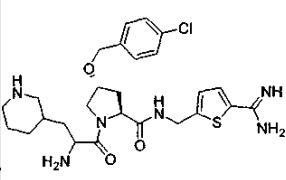
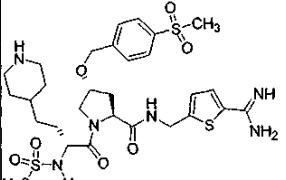
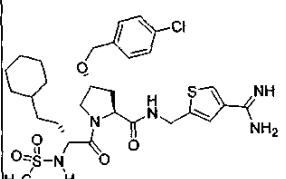
4		<p>MC m/z 683,1 (M + 1); Анализ: Рассчитано для C₃₄H₄₁BrF₉N₆O₁₁S₂ (3 ТФК): C, 39,81; H, 4,13; N, 8,19; Найдено: C, 40,48; H, 4,34; N, 8,46; ¹H ЯМР (CD₃CN, 400 МГц) δ 9,81 (1H, s), 7,92-7,77 (2H, m), 7,71 (1H, d, J = 4 Гц), 7,49 (2H, d, J = 8,4 Гц), 7,23 (2H, d, J = 8 Гц), 7,08 (1H, d, J = 4 Гц), 6,16-6,02 (1H, m), 4,55-4,43 (5H, m), 4,28 (1H, s), 4,12-4,05 (1H, m), 3,80-3,69 (2H, m), 3,27-3,24 (2H, m), 2,84-2,70 (5H, m), 2,42-2,33 (1H, m), 2,11-2,03 (1H, m), 1,76-1,62 (2H, m), 1,62-1,46 (2H, m), 1,46-1,39 (2H, m), 1,38-1,18 (3H, m).</p>
5		<p>MC m/z 673,2 (M + 1); ¹H ЯМР (CD₃CN, 400 МГц) δ 10,07 (1H, s), 7,72 (1H, d, J = 4 Гц), 7,63-7,55 (2H, m), 7,52 (1H, d, J = 2 Гц), 7,46 (2H, d, J = 8 Гц), 7,37 (1H, dd, J = 8 Гц, 2 Гц), 7,14 (1H, d, J = 4 Гц), 5,88 (1H, d, J = 9,2 Гц), 4,68-4,50 (4H, m), 4,46 (1H, t, J = 7,6 Гц), 4,38 (1H, s), 4,18-4,05 (1H, m), 3,86-3,73 (2H, m), 3,31-3,28 (2H, m), 2,85-2,76 (5H, m), 2,50-2,43 (1H, m), 2,22-2,12 (1H, m), 1,81-1,66 (2H, m), 1,65-1,48 (2H, m), 1,48-1,39 (2H, m), 1,39-1,23 (3H, m).</p>
6		<p>MC m/z 657,2 (M + 1)</p>

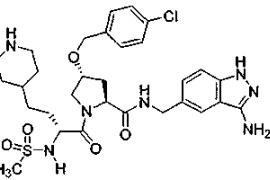
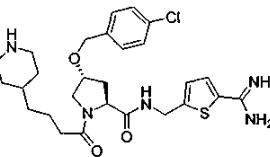
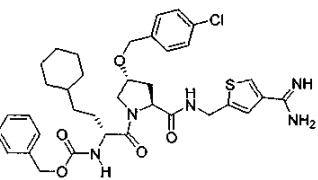
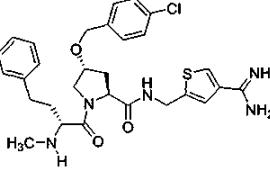
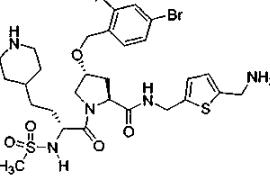
7		MC m/z 619,3 (M + 1); ^1H ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 10,01 (1H, s), 7,73 (1H, d, J = 4 Гц), 7,69-7,55 (2H, m), 7,17-7,24 (4H, m), 7,12 (1H, d, J = 4 Гц), 5,97 (1H, d, J = 9,2 Гц), 4,56-4,40 (5H, m), 4,30 (1H, s), 4,14-4,09 (1H, m), 3,82-3,70 (2H, m), 3,30-3,24 (2H, m), 2,85-2,77 (5H, m), 2,43-2,34 (1H, m), 2,34 (3H, s), 2,17-2,08 (1H, m), 1,79-1,71 (2H, m), 1,68-1,50 (2H, m), 1,50-1,39 (2H, m), 1,35-1,26 (3H, m).
8		MC m/z 672,7 (M + 1)
9		MC m/z 640,2 (M + 1)
10		MC m/z 673,1 (M + 1); Анализ: Рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{Cl}_2\text{F}_9\text{N}_6\text{O}_{12}\text{S}2$ (3 ТФК, 1 H_2O): C, 39,50; H, 4,19; N, 8,13; Найдено: C, 39,54; H, 4,30; N, 7,89; ^1H ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 10,02 (1H, s), 7,70 (1H, d, J = 4 Гц), 7,51 (2H, d, J = 8 Гц), 7,23 (1H, dd, J = 8 Гц, 2 Гц), 7,12 (1H, d, J = 4 Гц), 5,86-5,78 (1H, m), 4,59-4,39 (5H, m), 4,34-4,29 (1H, m), 4,13-4,02 (1H, m), 3,84-3,65 (2H, m), 3,34-3,23 (2H, m), 2,88-2,76 (5H, m), 2,45-2,36 (1H, m), 2,7-2,07 (1H, m), 1,81-1,67 (2H, m), 1,67-1,46 (2H, m), 1,46-1,36 (2H, m), 1,36-1,24 (3H, m).

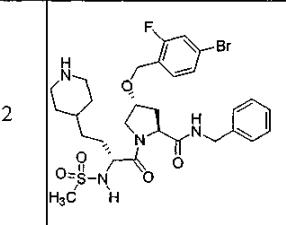
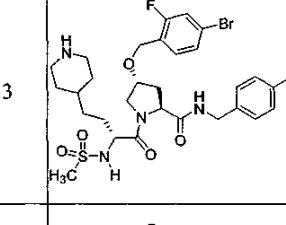
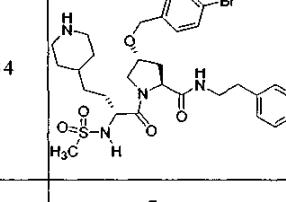
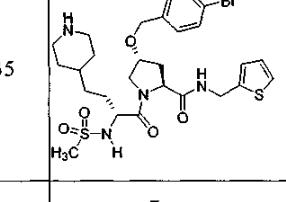
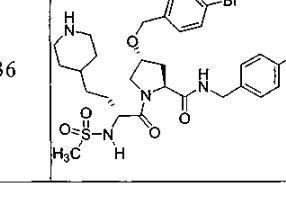
11		MC m/z 695,3 (M + 1); ^1H ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 9,82 (1H, s), 7,69 (1H, d, J = 4 Гц), 7,53-7,45 (2H, m), 7,43-7,49 (9H, m), 7,10 (1H, d, J = 4 Гц), 6,22-6,14 (1H, m); 5,06-4,87 (2H, m), 4,60-4,44 (5H, m), 4,32-4,18 (2H, m), 3,88-3,72 (2H, m), 3,35-3,24 (2H, m), 2,92-2,77 (2H, m), 2,45-2,34 (1H, m), 2,24-2,11 (1H, m), 1,86-1,51 (4H, m), 1,50-1,21 (5H, m).
12		MC m/z 689,2 (M + 1); ^1H ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 10,05 (1H, s), 7,86-7,81 (3H, m), 7,43 (1H, d, J = 4 Гц), 7,43 (2H, d, J = 8 Гц), 7,29 (2H, d, J = 8 Гц), 7,11 (1H, d, J = 4 Гц), 6,13 (1H, d, J = 9,2 Гц), 4,61-4,43 (5H, m), 4,33 (1H, s), 4,19-4,11 (1H, m), 3,86-3,70 (2H, m), 3,29-3,27 (2H, m), 2,85 (3H, s), 2,89-2,80 (2H, m), 2,45-2,36 (1H, m), 2,19-2,09 (1H, m), 1,81-1,64 (2H, m), 1,64-1,50 (2H, m), 1,50-1,43 (2H, m), 1,43-1,30 (3H).
13		MC m/z 641,2 (M + 1); ^1H ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 9,79 (1H, s), 7,80 (1H, s), 7,73 (1H, d, J = 4 Гц), 7,67-7,52 (2H, m), 7,51-7,38 (1H, m), 7,12 (1H, d, J = 4 Гц), 7,02-6,93 (2H, m), 6,03 (1H, d, J = 9,2 Гц), 4,62-4,48 (4H, m), 4,43 (1H, t, J = 7,6 Гц), 4,34 (1H, s), 4,15-4,09 (1H, m), 3,86-3,82 (2H, m), 3,32-3,29 (2H, m), 2,86-2,80 (5H, m), 2,44-2,34 (1H, m), 2,19-2,10 (1H, m), 1,83-1,70 (2H, m), 1,70-1,50 (2H, m), 1,50-1,34 (2H, m), 1,34-1,25 (3H, m).
14		MC m/z 703,1 (M + 1)

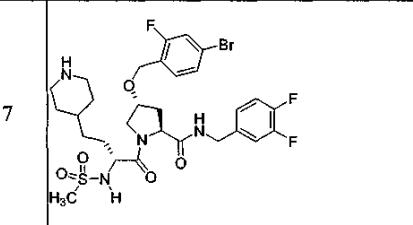
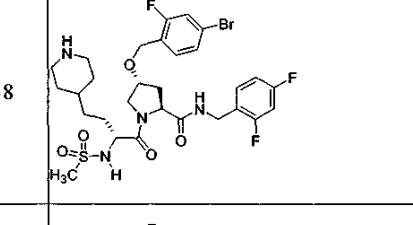
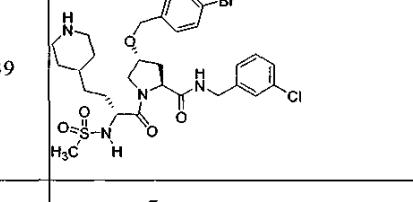
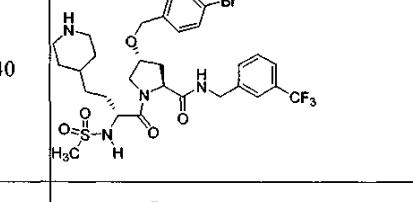
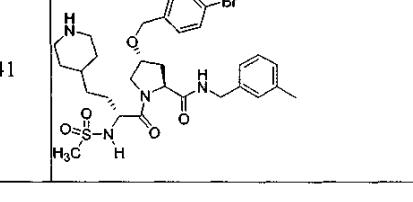
15		MC m/z 639,2 (M + 1); ^1H ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 9,48 (1H, s), 8,15 (1H, s), 7,84 (1H, s), 7,62-7,59 (1H, m), 7,46-7,25 (6H, m), 6,05 (1H, d, J = 8,8 Гц), 4,74-4,09 (5H, m), 4,32 (1H, m), 4,14-4,09 (1H, m), 3,87-3,70 (2H, m), 3,32-3,24 (2H, m), 2,91-2,78 (5H, m), 2,49-2,36 (1H, m), 2,16-2,08 (1H, m), 1,83-1,68 (2H, m), 1,67-1,51 (2H, m), 1,49-1,41 (2H, m), 1,38-1,29 (3H, m).
16		MC m/z 695,3 (M + 1); ^1H ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 9,47 (1H, s), 8,12 (1H, s), 7,83 (1H, s), 7,70-7,67 (1H, m), 7,47 (1H, s), 7,40-7,25 (9H, m), 6,40 (1H, d, J = 6,8 Гц), 5,03-4,76 (2H, m), 4,60-4,39 (5H, m), 4,32-4,18 (2H, m), 3,35-3,24 (2H, m), 2,91-2,75 (2H, m), 2,48-2,38 (1H, m), 2,17-2,05 (1H, m), 1,81-1,52 (4H, m), 1,52-1,97 (5H, m).
17		MC m/z 640,2 (M + 1); Анализ: Рассчитано для $\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{ClF}_9\text{N}_7\text{O}_{11}\text{S}_2$ (3 ТФК): C, 40,35; H, 4,21; N, 9,98; Найдено: C, 40,39; H, 4,10; N, 10,00; ^1H ЯМР (CD_3CN , 400 МГц) δ 9,80 (1H, s), 8,43 (1H, s), 8,17-7,80 (2H, m), 7,72-7,61 (1H, m), 7,40-7,12 (4H, m), 5,87 (1H, d, J = 9,2 Гц), 4,64-4,43 (5H, m), 4,34-4,25 (1H, m), 4,14-4,05 (1H, m), 3,86-3,70 (2H, m), 3,37-3,23 (2H, m), 2,90-2,77 (5H, m), 2,49-2,38 (1H, m), 2,18-2,05 (1H, m), 1,81-1,67 (2H, m), 1,66-1,49 (2H, m), 1,49-1,37 (2H, m), 1,35-1,19 (3H, m).
18		MC m/z 682,4 (M + 1)

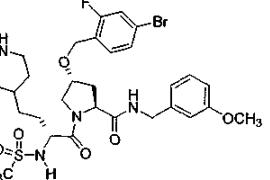
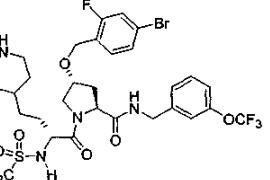
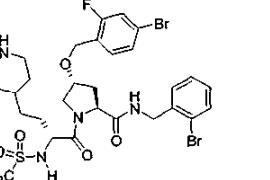
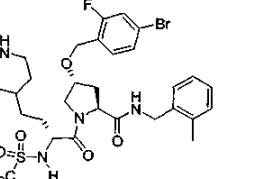
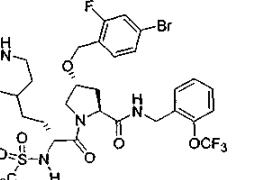
19		MC m/z 637,2 (M + 1)
20		MC m/z 664,2 (M + 1); ¹ H ЯМР (CD ₃ CN, 400 МГц) δ 7,55-7,26 (8H, m), 6,03-5,91 (1H, m), 4,58-4,40 (3H, m), 4,39-4,23 (3H, m), 4,09-4,04 (3H, m), 3,84-3,70 (2H, m), 3,34-3,27 (2H, m), 2,86-2,79 (5H, m), 2,46-2,38 (1H, m), 2,14-2,06 (1H, m), 1,83-1,67 (2H, m), 1,67-1,48 (2H, m), 10,48-1,42 (2H, m), 1,42-1,25 (3H, m).
21		MC m/z (M + 1)
22		MC m/z 611,3 (M + 1); Анализ: Рассчитано для C ₃₂ H ₅₂ F ₆ N ₆ O ₁₁ S ₂ (2 ТФК, 2 H ₂ O): C, 43,93; H, 5,99; N, 9,61; Найдено: C, 43,80; H, 5,60; N, 9,17; ¹ H ЯМР (CD ₃ CN, 400 МГц) δ 9,34(1H, s), 7,87-7,81 (2H, m), 7,72 (1H, d, J = 3,6 Гц), 7,60-7,34 (2H, m), 7,10 (1H, s, J = 3,2 Гц), 6,07-5,98 (1H, m), 4,56-4,47 (2H, m), 4,37 (1H, t, J = 7,6 Гц), 4,12-4,02 (2H, m), 3,79-3,61 (2H, m), 3,35-3,32 (2H, m), 3,27-3,18 (2H, m), 2,91-2,82 (5H, m), 2,36-2,26 (1H, m), 2,09-1,98 (1H, m), 1,84-1,81 (2H, m), 1,75-1,64 (6H, m), 1,58-1,10 (10H, m), 0,95-0,83 (2H, m).

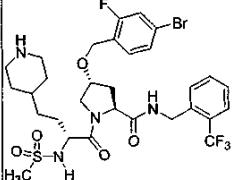
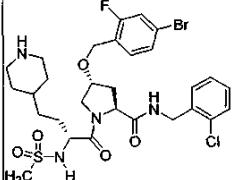
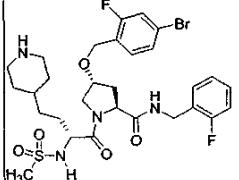
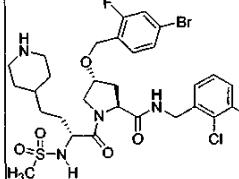
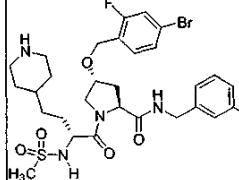
23		MC m/z 661,3 (M + 1)
24		MC m/z (M + 1)
25		MC m/z 683,2 (M + 1); ¹ H ЯМР (CD ₃ CN, 400 МГц) δ 10,19(1H, s), 7,93 (2H, d, J = 8,4 Гц), 7,73 (1H, d, J = 4 Гц), 7,58 (2H, d, J = 8,4 Гц), 7,52-7,40 (2H, m), 7,15 (1H, d, J = 4 Гц), 5,81-5,73 (1H, m), 4,74-4,61 (2H, m), 4,57 (2H, d, J = 5,2 Гц), 4,46 (1H, t, J = 7,6 Гц), 4,39-4,34 (1H, m), 4,15-4,06 (1H, m), 3,86-3,26 (2H, m), 3,35-3,26 (2H, m), 3,09 (3H, s), 2,89-2,77 (5H, m), 2,49-2,39 (1H, m), 2,22-2,11 (1H, m), 1,82-1,70 (2H, m), 1,77-1,50 (2H, m), 1,50 (2H, m), 1,38-1,21 (3H, m).
26		MC m/z 638,2 (M + 1)

27		MC m/z (M + 1)
28		MC m/z (M + 1)
29		MC m/z (M + 1)
30		MC m/z 568,2 (M + 1)
31		MC m/z 688,5 (M + 1)

32		MC m/z 653,2 (M + 1)
33		MC m/z 687,3 (M + 1)
34		MC m/z 668,3 (M + 1)
35		MC m/z 659,3 (M + 1)
36		MC m/z 671,2 (M + 1)

37		MC m/z 689,2 (M + 1)
38		MC m/z 689,2 (M + 1)
39		MC m/z 687,2 (M + 1)
40		MC m/z 721,3 (M + 1)
41		MC m/z 667,3 (M + 1)

42		MC m/z 683,3 (M + 1)
43		MC m/z 737,3 (M + 1)
44		MC m/z 731,2 (M + 1)
45		MC m/z 667,3 (M + 1)
46		MC m/z 737,3 (M + 1)

47		MC m/z 721,3 (M + 1)
48		MC m/z 687,3 (M + 1)
49		MC m/z 671,3 (M + 1)
50		MC m/z 721,2 (M + 1)
51		MC m/z 731,2 (M + 1)

52		MC m/z 705,3 (M + 1)
53		MC m/z 701,3 (M + 1)
54		MC m/z 701,3 (M + 1)
55		MC m/z 659,2 (M + 1), ¹ H ЯМР (CDCl ₃ , 400 МГц) δ 9,30 (1H, bs), 8,56 (1H, bs), 7,31 (1H, d, J = 2 Гц), 7,07-7,27 (6H, m), 5,88 (1H, d, J = 8,4 Гц), 4,26-4,57 (6H, m), 3,93-4,02 (1H, m), 3,77-3,86 (1H, m), 3,47-3,86 (1H, m), 3,21-3,34 (5H, m), 2,74 (3H, s), 2,49-2,88 (4H, m), 2,17-2,36 (2H, m), 1,18-1,73 (9H, m).
56		MC m/z 625,2 (M + 1)

57		MC m/z 620,2 (M + 1)
58		MC m/z 620,2 (M + 1)
59		MC m/z 639,2 (M + 1)
60		MC m/z 598,2 (M + 1)
61		MC m/z 612,2 (M + 1)

62		MC m/z 654,3 (M + 1)
63		MC m/z 643,2 (M + 1)
64		MC m/z 687,2 (M + 1)
65		MC m/z 669,2 (M + 1)
66		MC m/z 668,3 (M + 1)

67		MC m/z 732,3 (M + 1)
68		MC m/z 696,3 (M + 1)
69		MC m/z 704,2 (M + 1)
70		MC m/z 655,3 (M + 1)

Анализы.

Применимость ингибитора активирующей канал протеазы, такого как ингибитор простазина, для лечения заболевания, опосредуемого ингибированием активирующей канал протеазы, можно исследовать путем определения ингибирующего воздействия ингибитора активирующей канал протеазы на: (1) нативную, выделенную, очищенную или рекомбинантную активирующую канал протеазу с помощью подходящего биохимического анализа по методике, описанной в публикации Shipway et al., Biochemical and Biophysical Research Communications. 2004; 324(2):953-63; и/или (2) перенос ионов через ионные каналы в подходящих изолированных клетках или в слитом эпителии по методикам, описанным в публикациях Bridges et al., American Journal of Physiology Lung Cell Molecular Physiology. 2001; 281(1):L16-23 и Donaldson et al.; Journal of Biological Chemistry. 2002; 277(10):8338-45.

Биохимические исследования.

Рекомбинантный простазин человека и матриптазу и простазин морских свинок получают по методикам, описанным в публикации Shipway et al., Biochem. and Biophys. Res. Commun. 2004; 324(2):953-63. Рекомбинантные ферменты инкубируют в электролитном буфере, содержащем исследуемые соединения или растворитель в подходящем многолучочном планшете для исследований, таком как 96- или 384-лучочный планшет. Через определенный промежуток времени после смешивания фермента с соединением или растворителем к исследуемой смеси добавляют подходящий флуоресцентный пептидный субстрат. После расщепления субстрата активным ферментом усиливается флуоресценция (определенного с помощью подходящего устройства считывания планшетов, регистрирующего флуоресценцию), и можно определить скорость преобразования субстрата (т.е. активность фермента) и тем самым ингибирующее воздействие любого исследуемого соединения. Эффективность исследуемых соединений выражают в виде концентрации, которая приводит к уменьшению активности фермента (K_i) на 50%.

Обычно соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать значениями K_i , равными от 0,1 нМ до 5 мкМ. В некоторых примерах соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать значениями K_i , равными от 0,1 до 500 нМ; от 0,1 до 50 нМ; от 0,1 до 5 нМ или от 0,1 до 0,5 нМ. В предпочтительных примерах соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать значениями K_i , равными от 0,1 до 0,5 нМ; от 0,5 до 5 нМ; от 5 до 50 нМ; от 50 до 500 нМ или от 500 нМ до 5 мкМ. В других примерах соединения могут обладать значениями K_i , равными менее 0,1 нМ или более 5 мкМ.

Перенос ионов через эпителий.

Эпителиальные клетки бронхов человека выращивают по методикам, описанным в публикации Danahay et al., Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2002; 282(2):L226-36. После протекания дифференциации до необходимой степени (через 14-21 день после образования границы раздела апикальная сторона-воздух) эпителиальные клетки в течение 90 мин обрабатывают растворителем, аптротинином (200 мкг/мл) или исследуемым соединением. Затем эпителий помещают в камеры, как это описано в публикации Danahay et al., см. выше, поддерживая концентрацию растворителя, аптротинина или исследуемого соединения на апикальной стороне эпителия. Затем измеряют ток короткого замыкания (ТКЗ) путем подключения к эпителию клемм, присоединенных к потенциальному 0 мВ. Затем путем нанесения амилорида (10 мкМ) на апикальную поверхность эпителия измеряют чувствительный к амилориду ТКЗ. Активность исследуемого соединения выражают в виде концентрации, которая приводит к уменьшению на 50% полного чувствительного к аптротинину компонента ТКЗ, чувствительного к амилориду.

Обычно соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать значениями IC₅₀, равными от 1 нМ до 10 мкМ. В некоторых примерах соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать значениями IC₅₀, равными от 1 нМ до 1 мкМ или более предпочтительно от 1 до 100 нМ. В других примерах соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать значениями IC₅₀, равными от 100 нМ до 1 мкМ или от 1 до 10 мкМ. В других примерах соединения могут обладать значениями IC₅₀, равными менее 1 нМ или более 10 мкМ.

Падение потенциала на трахее (in vivo).

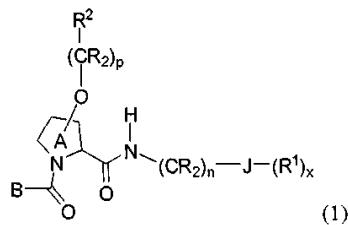
Морских свинок анестезируют с помощью ингаляционного анестезирующего средства кратковременного действия, такого как галотан и N₂O. Во время кратковременной анестезии в трахею рогоглоточным путем вводят иглу для искусственного питания. Через находящуюся в трахее иглу в дыхательные пути вводят небольшой объем (50-200 мкл) растворителя или исследуемого соединения в подходящем разбавителе на водной основе. Животным дают восстановиться и остальные действия проводят амбулаторно.

Альтернативно, исследуемые соединения можно вводить животным в виде аэрозоля или сухого порошка. Через определенное время после введения животных хирургически анестезируют с использованием подходящего анестезирующего средства, такого как кетамин и ксилазин. Затем вскрывают трахею и в ее просвет вводят пластмассовый агаровый мостиковый электрод. Кроме того, в слоях мышц шеи животного вводят электрод сравнения. Затем падение потенциала на трахее измеряют с помощью подходящего вольтметра с высоким входным сопротивлением, как это описано в публикации Takahashi et al., Toxicol Appl Pharmacol. 1995; 131(1):31-6. Активность исследуемого соединения выражают в виде дозы, приводящей к уменьшению на 50% чувствительного компонента падения потенциала на трахее.

Следует понимать, что примеры и варианты осуществления, описанные в настоящем изобретении, приведены только для иллюстрации и что с их учетом специалисты в данной области техники могут предложить различные модификации и изменения и они должны быть включены в сущность и объем настоящего изобретения и объем прилагаемой формулы изобретения. Все публикации, патенты и заявки на патенты, цитированные в настоящем изобретении, включены в него в качестве ссылки для всех объектов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (1)



или его фармацевтически приемлемые соли,

в которой O-(CR₂)_p-R² обозначает заместитель в любом положении кольца A;

J обозначает

где один или более из Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ и Z⁷ обозначает гетероатом, выбранный из N, NR, O или S, а другие атомы Z¹-Z⁷ обозначают CH при условии, что J не обозначает триазолил;



В обозначает $R^3-Y-NH-(CR_2)_m-$ или $(CR_2)_k-R^5$;

Y обозначает связь, -SO₂-, -NHCO- или -O-(CO)-;

R^1 обозначает галоген, C_1-C_6 -алкил, CF_3 , OCF_3 , фенил, $-(CR_2)_l-NR^6R^7$, $-(CR_2)_l-C(=NR)-NR^6R^7$, $-C(O)-(CR_2)_l-NR^6R^7$, $-(CR_2)_l-NR-SO_2R^6$, $-(CR_2)_l-NR-C(O)-R^6$, $-(CR_2)_l-SO_2NR^6R^7$ или $-(CR_2)_l-OR^6$;

R^2 обозначает фенил или циклогексил, каждый из которых является незамещенным или замещенным заместителем, выбранным из галогена, $SO_2(C_{1-6}$ алкила), незамещенного C_{1-6} алкила, галогенированного C_{1-6} алкила, незамещенного C_{1-6} алкоксила или галогенированного C_{1-6} алкоксила;

R^3 обозначает C_1-C_6 -алкил, C_2-C_6 -алкенил, C_2-C_6 -алкинил или $-(CR_2)_l-R^5$;

альтернативно, $NH-Y-R^3$ вместе образуют NH_2 ;

R^4 обозначает пиперидинил, циклогексил, фенил, $-\overset{\underset{\text{N}}{\parallel}}{\text{CH}}=\text{C}_6\text{H}_4$ или $-\overset{\underset{\text{N}}{\parallel}}{\text{CH}}=\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}$,

R^5 обозначает арил или R^5 обозначает пиперидинил, если В обозначает $(CR_2)_k-R^5$;

R , R^6 и R^7 независимо обозначают Н или C_1-C_6 -алкил;

k равно 2-3;

l равно 0-1;

p равно 1;

m и n независимо равны 1-2;

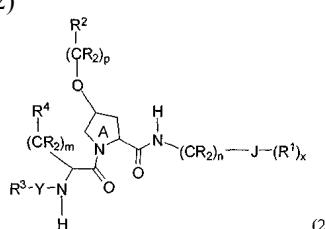
x равно 0-3;

при условии, что R^4 обозначает пиперидинил, если $NH-Y-R^3$ вместе образуют NH_2 .

2. Соединение по п.1, в котором J обозначает тиофенил, тиазолил, фенил, пиридинил, индазолил или пиперидинил.

3. Соединение по п.1, в котором Y обозначает связь, $-SO_2-$ или $-O-(CO)-$.

4. Соединение по п.1 формулы (2)



в которой R^2 обозначает незамещенный фенил, фенил, замещенный галогеном, $SO_2(C_{1-6}$ алкилом), незамещенным галогенированным C_{1-6} алкилом, замещенным галогенированным C_{1-6} алкилом или C_{1-6} алкоксилем;

J обозначает фенил;

R^3 обозначает C_1-C_6 -алкил, C_2-C_6 -алкенил, C_2-C_6 -алкинил или $-(CR_2)_l-R^5$ или $NH-Y-R^3$ вместе образуют NH_2 ;

каждый R в (CR_2) обозначает Н или C_1-C_6 -алкил;

m и n независимо равны 1-2;

p равно 1;

значения R^1 , R^4 , R^5 , R, Y и x определены в п.1;

или его фармацевтически приемлемые соли.

5. Соединение по п.4, в котором x равно 1-2.

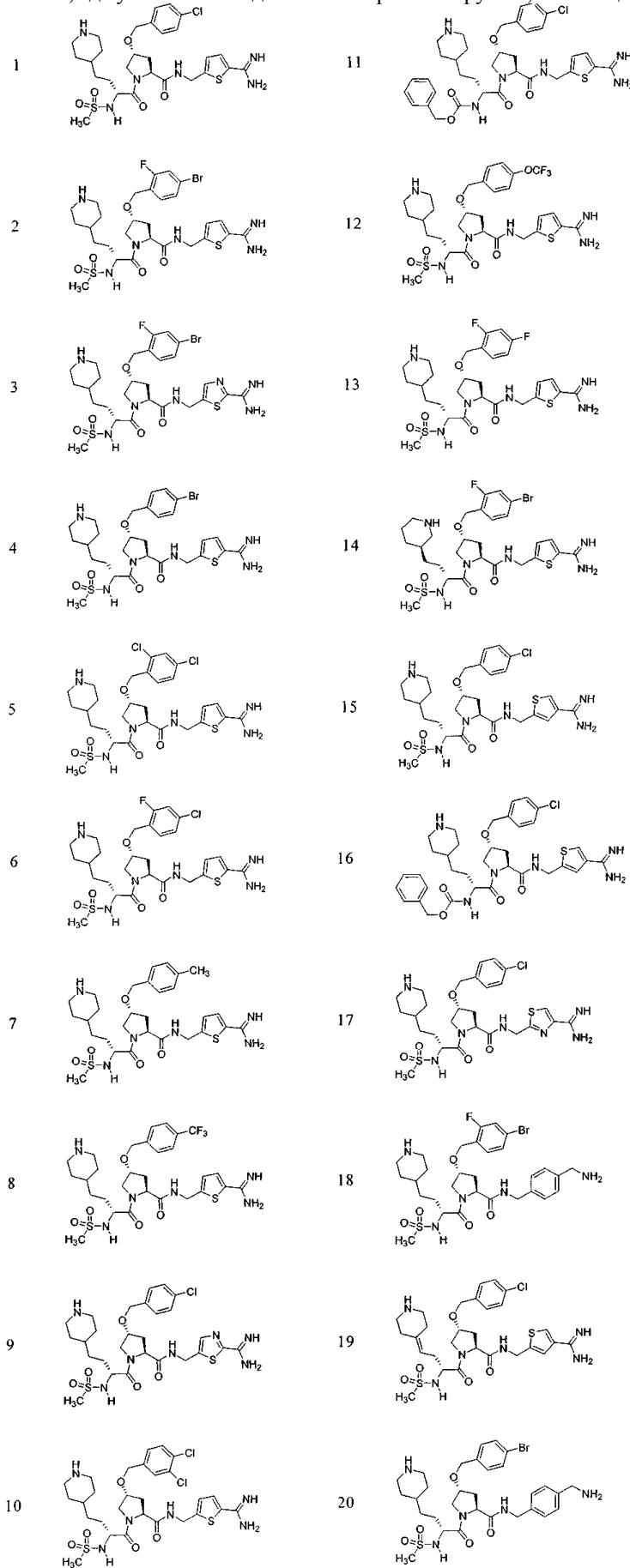
6. Соединение по п.4, в котором Y обозначает SO_2 .

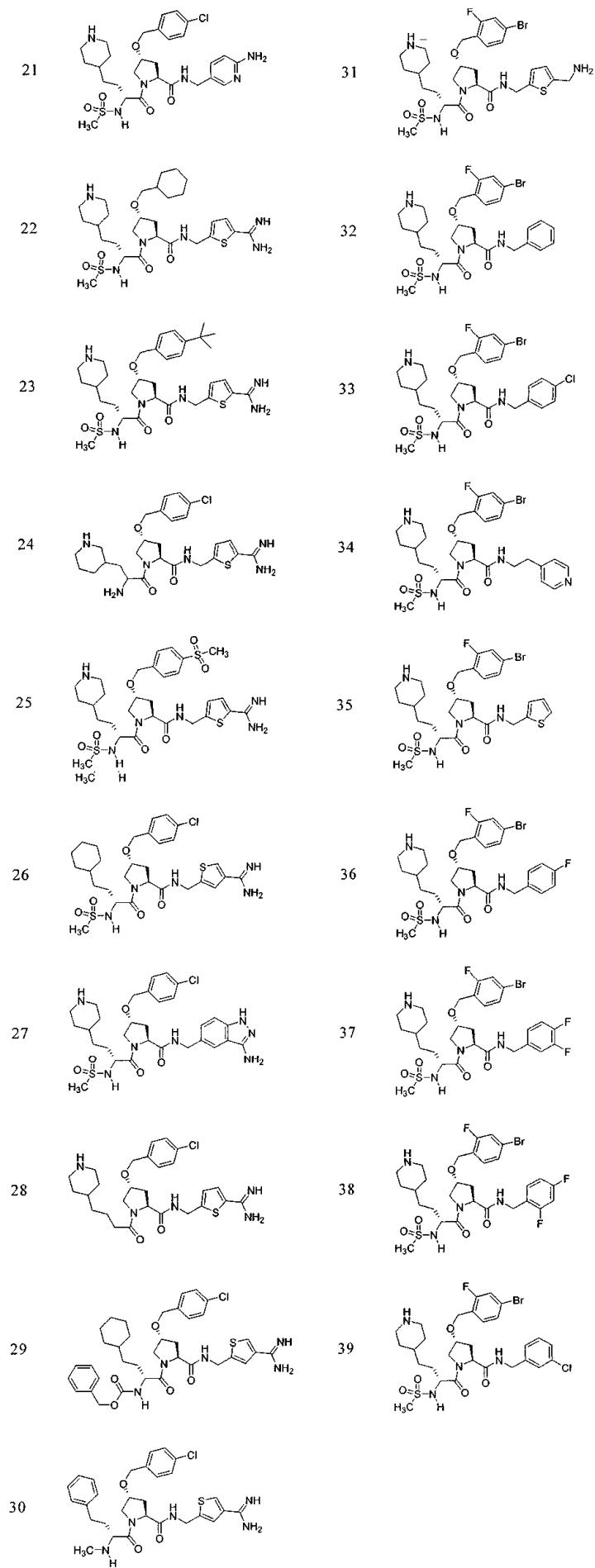
7. Соединение по п.4, в котором R^2 обозначает фенил или фенил, замещенный галогеном.

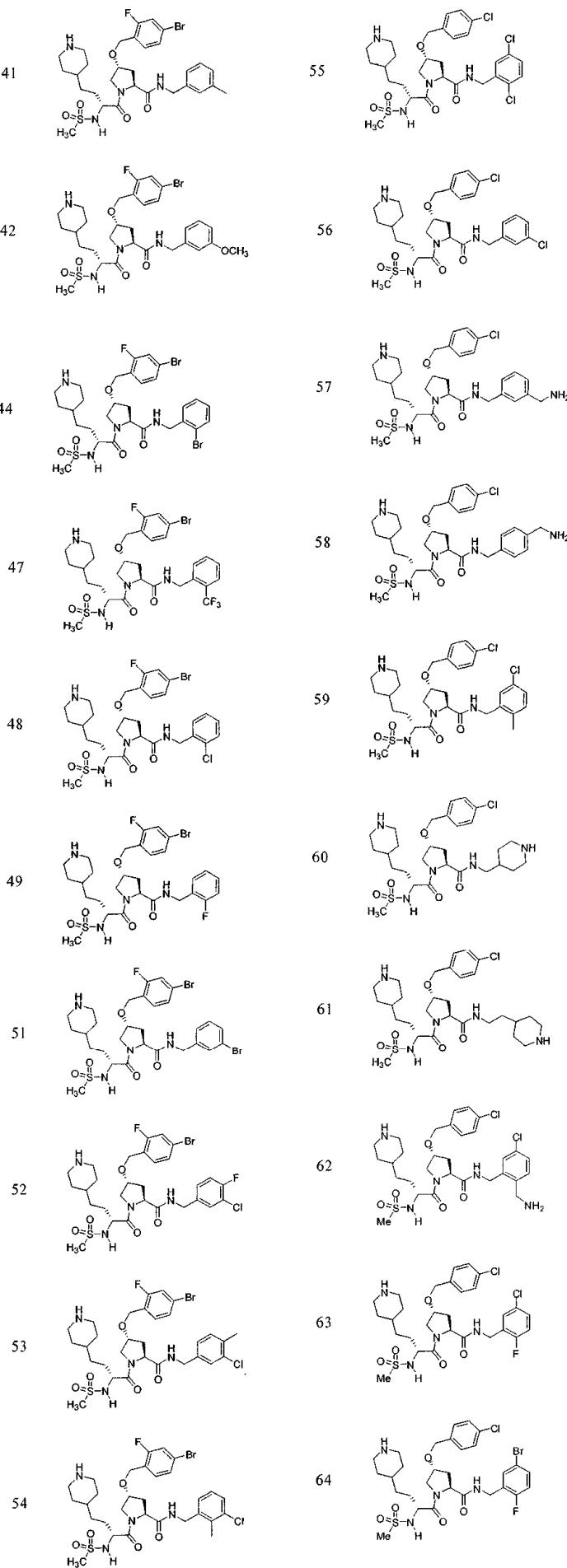
8. Соединение по п.4, в котором R^3 обозначает C_1-C_6 -алкил или бензил.

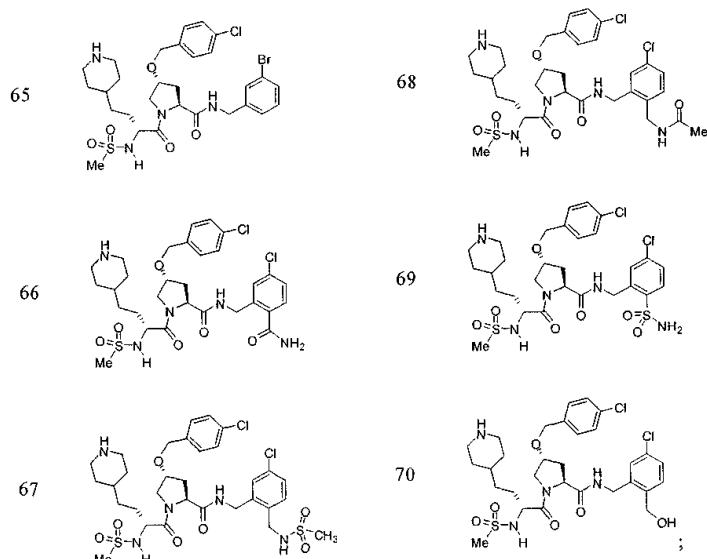
9. Соединение по п.4, в котором R^4 обозначает пиперидинил.

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



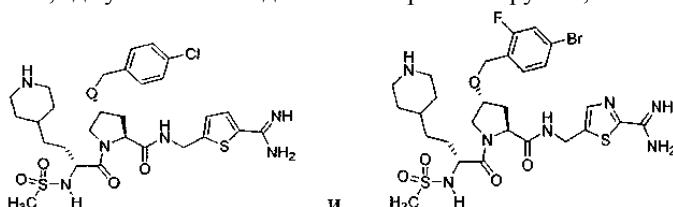






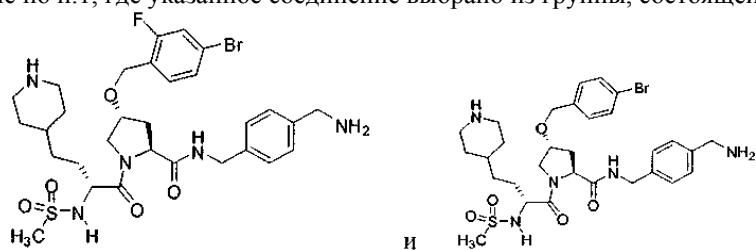
или его фармацевтически приемлемые соли.

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



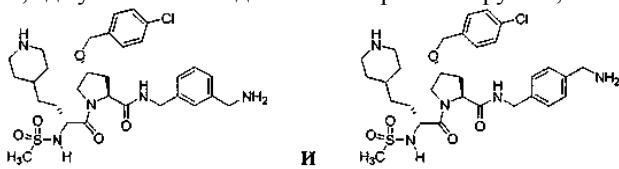
или его фармацевтически приемлемые соли.

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



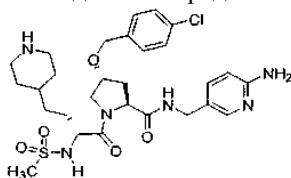
или его фармацевтически приемлемые соли.

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



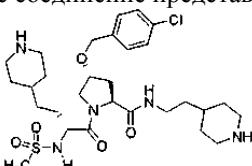
или его фармацевтически приемлемые соли.

14. Соединение по п.1, где указанное соединение представляет собой



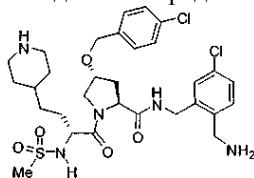
или его фармацевтически приемлемые соли.

15. Соединение по п.1, где указанное соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемые соли.

16. Соединение по п.1, где указанное соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемые соли.

17. Фармацевтическая композиция, включающая соединение по любому из пп.1-16 в терапевтически эффективном количестве.

18. Соединение по любому из пп.1-16 или его фармацевтически приемлемые соли и второе терапевтическое средство, выбранное из противовоспалительного, бронхолитического, антигистаминного, противокашлевого средства, антибиотика и ДНКазы.

19. Применение соединений по любому из пп.1-16 для ингибирования активирующей канал протеазы в клетках или системе тканей или у млекопитающего, в котором указанная активирующая канал протеаза представляет собой простазин, матриптазу (MTSP-1) или трипсин.

20. Применение соединений по любому из пп.1-16 для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения патологического состояния, опосредуемого активирующей канал протеазой в системе клеток или тканей или у млекопитающего, и необязательно в комбинации со вторым терапевтическим средством, в котором указанная активирующая канал протеаза представляет собой простазин, матриптазу (MTSP-1) или трипсин.

21. Применение соединений по п.20, в котором указанное патологическое состояние связано с перемещением жидкости через переносящие ионы эпителии или с накоплением слизи и мокроты на тканях органов дыхания либо с их комбинацией.

22. Применение соединений по п.20, в котором указанным патологическим состоянием является муковисцидоз, первичная цилиарная дискинезия, карцинома легких, хронический бронхит, хроническое обструктивное заболевание легких, астма или инфекция дыхательных путей.

23. Применение соединений по п.20, в котором указанное второе терапевтическое средство представляет собой противовоспалительное, бронхолитическое, антигистаминное, противокашлевое средство, антибиотик или ДНКазу и вводится до, одновременно или после соединения по любому из пп.1-16.

24. Применение соединений по п.19 или 20, где указанная активирующая канал протеаза представляет собой простазин.

25. Применение соединений по п.19 или 20, где указанная система клеток или тканей включает эпителиальные клетки бронхов.

