

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 029030

(13) B1

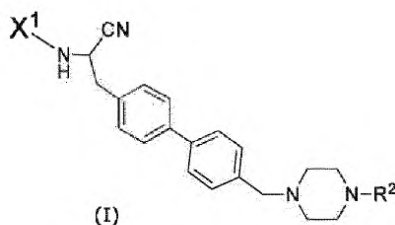
(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента	2018.01.31	(51) Int. Cl.	C07D 309/14 (2006.01) A61K 31/496 (2006.01) A61P 9/04 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01) A61P 11/06 (2006.01) A61P 17/06 (2006.01) A61P 19/06 (2006.01) A61P 33/06 (2006.01)
(21) Номер заявки	201690561		
(22) Дата подачи заявки	2014.09.08		

(54) ПЕПТИДЛНИТРИЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ ДИПЕПТИДИЛПЕПТИДАЗЫ I

(31) 13183519.1; 14151979.3	(56) WO-A1-2012119941 WO-A1-2010128324
(32) 2013.09.09; 2014.01.21	
(33) EP	
(43) 2016.07.29	
(86) PCT/EP2014/069088	
(87) WO 2015/032945 2015.03.12	
(71)(73) Заявитель и патентовладелец: ПРОЗЮМЕКС А/С (DK)	
(72) Изобретатель: Лауритсен Конни, Педерсен Джон (DK)	
(74) Представитель: Медведев В.Н. (RU)	

(57) Изобретение относится к соединениям формулы (I) и их применению в качестве селективных ингибиторов дипептидилпептидазы I, а также к фармацевтическим композициям, содержащим указанные соединения, и к способам лечения с привлечением указанных соединений.



B1

029030

029030

B1

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к пептидилнитрильным соединениям и их применению в качестве ингибиторов дипептидилпептидазы I, к содержащим их фармацевтическим композициям и способам применения этих средств для лечения и/или профилактики воспалительных заболеваний, в которых участвует дипептидилпептидаза I, особенно воспалительных заболеваний, опосредованных тучными клетками и нейтрофильными клетками, например хронической обструктивной болезни легких и других респираторных заболеваний.

Предпосылки изобретения

Дипептидилпептидаза I (DPPI; EC 3.4.14.1), известная также как катепсин С, представляет собой лизосомальную цистеиновую пептидазу, относящуюся к семейству папаина. Фермент конститутивно экспрессируется во многих тканях с высоким уровнем в легких, почках, печени и селезенке. Были клонированы и секвенированы кДНК, кодирующие DPPI крыс, человека и мышей, и было показано, что этот фермент является высоко консервативным. DPPI синтезируется в виде неактивного предшественника (зимоген) и активируется путем неавтокаталитического удаления пептида внутренней активации в N-концевом про-пептиде. DPPI является единственным членом семьи папаина, который функционирует как тетрамер, состоящий из четырех последовательных одинаковых субъединиц. Каждая состоит из N-концевого фрагмента (остаточный профрагмент), тяжелой цепи и легкой цепи. После активации DPPI катализирует удаление дипептидов из N-терминального конца полипептидных субстратов с широкой специфичностью. Оптимальный pH находится в области pH 5-7 с использованием человеческой DPPI. Последние данные показывают, что помимо того, что являясь важным ферментом в деградации лизосомальных белков, DPPI также функционирует как ключевой фермент в активации сериновых пептидаз из гранул в нейтрофилах (катепсина G, протеиназы 3, нейтрофильной сериновой протеазы 4 и эластазы), тучных клеток (химазы и триптазы) и цитотоксических Т лимфоцитов и природных киллерных клеток (гранзимы А и В). Тучные клетки были обнаружены во многих тканях, однако они присутствуют в больших количествах вдоль эпителиальных прослоек организма, таких как кожа, дыхательный путь и желудочно-кишечный тракт.

Тучные клетки локализуются также в периваскулярной ткани, окружающей мелкие кровеносные сосуды. У людей было идентифицировано два типа тучных клеток; Т-тип, который экспрессирует только триптазы, и МС-тип, который экспрессирует как триптазы, так и химазы. У людей тучные клетки Т-типа локализованы преимущественно в альвеолярной ткани и слизистой оболочке кишечника, тогда как клетки МС-типа преобладают в коже и конъюнктиве глаз. Тучные клетки могут высвобождать целый ряд сильнодействующих медиаторов воспаления, включая цитокины, лейкотриены, простагландины, гистамин и протеогликаны, но одними из наиболее распространенных продуктов активации тучных клеток являются сериновые пептидазы семейства химотрипсина; триптазы и химазы. Эти пептидазы располагаются в лизосомах тучных клеток в качестве полностью активных ферментов. Точный участок активации триптазы и химазы от зимогенных предшественников не известен, но аппарат Гольджи может играть определенную роль в этом отношении. DPPI, которая является особенно распространенной в тучных клетках, как кажется, является ключевым ферментом, ответственным за активацию химазы и триптазы. Кроме того, триптаза и химаза являются важными медиаторами аллергических заболеваний, таких как астма, воспалительное заболевание кишечника и псориаз. Имеются свидетельства, что после секреции из активированных тучных клеток, эти пептидазы активно участвуют в процессах воспаления, ремоделирования ткани, бронхоконстрикции и секреции слизи, что делает эти пептидазы привлекательными для терапевтического вмешательства.

Нейтрофилы вызывают значительные повреждения при ряде патологических состояний. При активировании нейтрофилы выделяют деструктивные гранулированные ферменты, включающие эластазы и катепсин G, и подвергаются оксидантной реакции с высвобождением реакционно активных промежуточных производных кислорода. Были проведены многочисленные исследования по каждому из этих активирующих агентов в отдельности. Эмфизема легких, ХОБЛ, кистозный фиброз, сепсис и ревматоидный артрит являются лишь некоторыми примерами патологических состояний, связанных с мощными ферментами эластазой и катепсином G.

Убедительные доказательства связи триптазы, химазы, эластазы, катепсина G и других аналогичных воспалительных пептидаз с воспалительными заболеваниями указывает на DPPI в качестве привлекательного целевого фермента для терапевтического вмешательства против вышеуказанных заболеваний и других аналогичных воспалительных заболеваний из-за его центральной роли в активации этих пептидаз (Adkison et al. 2002, J. Clin. Invest, 109, 363-271; Pham. et al. 2004, J. Immunol, 173, 7277-7281).

В патентах WO 2012130299 и WO 2012119941 фирмы PROZYMEX описываются нитрильные соединения и их применение в качестве ингибиторов дипептидилпептидазы. В патенте WO 2009074829 A1 фирмы Astrazeneca также описываются пептидил нитрилы и их применение в качестве ингибиторов дипептидилпептидазы. В патентах WO 2010128324 A1, WO 154677 A1 и WO 2010142985 A1 фирмы Astrazeneca описываются, кроме того, нитрильные соединения и их применение в качестве ингибиторов дипептидилпептидазы. В патенте WO 2013041497 A1 фирмы Boehringer Ingelheim International GmbH описываются нитрильные соединения в качестве ингибиторов дипептидилпептидазы. В работе Nathalie

Methot, Daniel Guay, Joel Rubin, Diane Ethier, Karen Ortega, Simon Wong, Denis Normandin, Christian Beaulieu, T. Jagadeeswar Reddy, Denis Riendeau, and M. David Percival: In Vivo Inhibition of Serine protease Processing Requires a High Fractional Inhibition of Cathepsin C, *Mol Pharmacol* 73: 1857-1865, 2008, описываются ингибиторы дипептид нитрил катепсина С. В работе Nathalie Methot, Joel Rubin, Daniel Guay, Christian Beaulieu, Diane Ethier T. Jagadeeswar Reddy, Denis Riendeau, and M. David Percival: Inhibition of the Activation of Multiple Serine proteases with a Cathepsin C Inhibitor Requires Sustained Exposure to Prevent Proenzyme Processing *J. Biol. Chem.*, Vol. 282, Issue 29, 20836-20846, July 20, 2007, описываются ингибиторы дипептид нитрил катепсина С. В работе Jon Bondebjerg, Henrik Fuglsang, Kirsten Rosendal Valeur, John Pedersen and Lars Naerum, Dipeptidyl nitriles as human dipeptidyl peptidase I inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 16 (2006), 3614-3617, описываются соединения, имеющие дипептидный нитрильный скелет, в качестве ингибиторов дипептидилпептидазы I человека.

Объект изобретения

Объектом изобретения являются новые соединения, являющиеся ингибиторами дипептидилпептидазы I, подходящие для лечения воспалительных заболеваний, злокачественных новообразований и инфекций. Кроме того, целью является, чтобы указанные соединения являлись эффективными в клеточных анализах ингибиторов DPP1 и имели хорошую метаболическую стабильность.

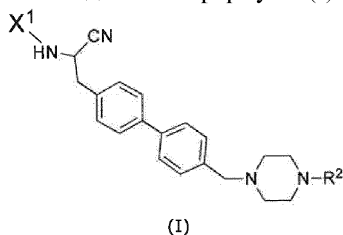
Фигуры

Фиг. 1. Результаты оценки цитотоксичности соединения PZ1025, полученные путем анализа в момент времени 24 ч (фиг. 1a) и в момент времени 48 ч (фиг. 1b).

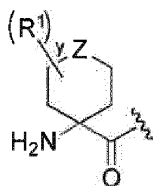
Фиг. 2. Результаты оценки цитотоксичности соединения PZ1024, полученные путем анализа в момент времени 24 ч (фиг. 2a) и в момент времени 48 ч (фиг. 2b).

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к соединению формулы (I)



где X^1 представляет собой



где y обозначает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8;

где Z представляет собой O (кислород);

когда y обозначает 1 или 2, тогда R^1 , независимо, представляет собой дейтерий; галоген; гидроксил; циано; оксо (=O); меркапто; или C_{1-3} -алкил; где C_{1-3} -алкил необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из галогена, гидроксила, циано и меркапто;

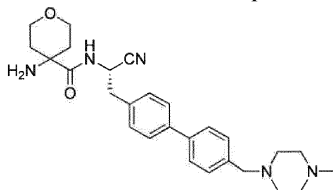
или, когда y обозначает 3, 4, 5, 6, 7 или 8, тогда R^1 представляет собой дейтерий;

где R^2 представляет собой $-C_{3-6}$ -циклоалкил, $-C_{1-3}$ -алкил- $-C_{3-6}$ -циклоалкил или $-C_{1-6}$ -алкил, где $-C_{1-6}$ -алкил необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из гидроксила, циано или амина; и его фармацевтически приемлемым солям, сольватам и гидратам.

R^2 может представлять собой $-C_{1-6}$ -алкил, где $-C_{1-6}$ -алкил необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из гидроксила, циано или амина. Предпочтительно R^2 представляет собой $-C_{1-6}$ -алкил, предпочтительно $-C_{1-3}$ -алкил, более предпочтительно метил-, этил- или пропил-.

Предпочтительно $y=0$ или 1, предпочтительно 0.

Следующее соединение представляется особенно интересным:

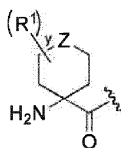


Термин "DPP1", как он используется в настоящем документе, предназначен для обозначения дипептидилпептидазы I (ЕС 3.4.14.1), известной также как катепсин С, катепсин J, дипептидиламинопептидаза I и дипептидилтрансфераза. DPP1 отщепляет дипептид Хаа-Хbb от N конца полипептидной цепи Хаа-

Xbb-Xcc-[Xxx]_n, исключая случай, когда Xaa представляет собой Arg или Lys, или когда Xbb или Xcc представляет собой Pro.

В формулах группа -CN представляет собой нитрильную группу (-C≡N).

Волнистая линия в изображенных заместителях, как, например,



используется для обозначения связи, которая соединяет с основной молекулой (формула I), определенной выше.

В контексте настоящего описания, если не указано иное, группа алкильного заместителя или алкильный фрагмент в группе заместителя могут быть линейными или разветвленными.

Термин "лечение" определяется как терапия и уход за пациентом с целью борьбы с заболеванием, состоянием или расстройством и включает в себя введение соединения по настоящему изобретению для предотвращения возникновения симптомов или осложнений, или облегчения симптомов или осложнений, или устранения заболевания, состояния или расстройства.

Термин "время полувыведения" (или "период полувыведения") относится ко времени, необходимому для преобразования половины количества вещества в другой химически отличающийся вид *in vitro* или *in vivo*.

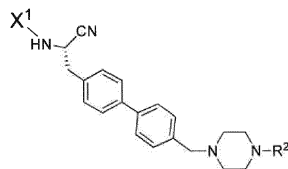
Фраза "фармацевтически приемлемый" используется в настоящем документе по отношению к таким соединениям, материалам, композициям и/или дозированным формам, которые являются в пределах объема здравого медицинского суждения подходящими для применения в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, и соразмерными с разумным отношением польза/риск.

Соединения, соответствующие формуле (I), имеют один или несколько асимметрических центров (также называемые хиральными центрами) и, следовательно, могут существовать в виде отдельных энантиомеров, диастереомеров или других стереоизомерных форм или в виде их смесей. Хиральные центры также могут присутствовать в заместителе, таком как алкильная группа. Когда стереохимия хирального центра, присутствующего в формуле (I) или в любой химической структуре, показанной в данном описании, не указана, структура охватывает любой стереоизомер и все их смеси. Таким образом, соединения, соответствующие формуле (I), содержащие один или несколько хиральных центров, могут быть использованы в виде рацемических смесей, энантиомерно обогащенных смесей или в виде энантиомерно чистых индивидуальных стереоизомеров.

Индивидуальные стереоизомеры соединения, соответствующего формуле (I), которые содержат один или несколько асимметрических центров, могут быть разделены методами, известными специалистам в данной области техники. Например, такие разделение может осуществляться (1) путем образования диастереоизомерных солей, комплексов или других производных; (2) путем селективной реакции со стереоизомер-специфичным реагентом, например, путем ферментативного окисления или восстановления; или (3) с помощью газожидкостной или жидкостной хроматографии в хиральной среде, например, на хиральной подложке, такой как диоксид кремния с присоединенным хиральным лигандом или в присутствии хирального растворителя. Специалисту будет понятно, что, если желаемый стереоизомер преобразуется в другую химическую сущность с помощью одного из методов разделения, описанных выше, потребуются дополнительная стадия для выделения желаемой формы. Альтернативно, конкретные стереоизомеры могут быть синтезированы путем асимметричного синтеза с использованием оптически активных реагентов, субстратов, катализаторов или растворителей, или путем преобразования одного энантиомера в другой путем асимметричного преобразования. Если присутствует циклоалкильная группа, некоторые группы заместителей могут приводить к аксиальной или экваториальной конфигурации. Если не указано иное, включенными являются обе формы.

Все таутомерные формы также включены в формулу (I), независимо от того, существуют ли такие таутомеры в равновесии или преимущественно в одном виде.

Предпочтительными являются соединения формулы (I), указанные выше, в их энантиомерно чистой форме формулы (II)



(II)

где X¹ и R² имеют значения, определенные выше.

Специалисту будет понятно, что могут быть получены фармацевтически приемлемые соли соединений, соответствующие формуле (I). Действительно, в некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемые соли соединений, соответствующих формуле (I), могут быть более предпочтительными, чем несолевая форма, поскольку такие соли придают большую стабильность или растворимость молекуле, тем самым облегчая технологию получения лекарственной формы. Соответственно изобретение также относится к фармацевтически приемлемым солям соединений, соответствующих формуле (I). Как он используется в настоящем документе, термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, которые сохраняют требуемую биологическую активность рассматриваемого соединения и демонстрируют минимальные нежелательные токсикологические эффекты. Эти фармацевтически приемлемые соли могут быть получены *in situ* в процессе конечного выделения и очистки соединения или путем отдельного взаимодействия очищенного соединения в виде свободной кислоты или в виде свободного основания с соответствующим основанием или кислотой соответственно.

Как используется в настоящем документе, термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к производным описанных соединений, где исходное соединение модифицировано путем получения его кислотой или основной соли. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот с основными группами, такими как амины; щелочные или органические соли с кислотными группами, такими как карбоновые кислоты; и тому подобное. Например, такие соли включают соли с аммиаком, L-аргинином, бетаином, бенетамином, бензатином, гидроксидом кальция, холином, деанолом, диэтаноломином (2,2'-иминобис(этанол)), диэтиламином, 2-(диэтиламино)этанолом, 2-аминоэтанолом, этилендиамином, N-этилглюкамином, гидрабамином, 1H-имидазолом, лизином, гидроксидом магния, 4-(2-гидроксиэтил)морфолином, пиперазином, гидроксидом калия, 1-(2-гидроксиэтил)пирролидином, гидроксидом натрия, триэтаноломином (2,2',2"-нитрилотрис(этанол)), трометамином, гидроксидом цинка, уксусной кислотой, 2,2-дихлоруксусной кислотой, адипиновой кислотой, альгиновой кислотой, аскорбиновой кислотой, L-аспарагиновой кислотой, бензолсульфоновой кислотой, бензойной кислотой, 2,5-дигидроксibenзойной кислотой, 4-ацетамидобензойной кислотой, (+)-камфорной кислотой, (+)-камфора-10-сульфокислотой, угольной кислотой, коричной кислотой, лимонной кислотой, цикламовой кислотой, декановой кислотой, додециловым эфиром серной кислоты, этан-1,2-дисульфокислотой, этансульфоновой кислотой, 2-гидроксиэтансульфоновой кислотой, этилендиаминотетрауксусной кислотой, муравьиной кислотой, фумаровой кислотой, галактаровой кислотой, гентизиновой кислотой, D-глюкогептоновой кислотой, D-глюконовой кислотой, D-глюкуроновой кислотой, глутаминовой кислотой, glutamic кислотой, глутаровой кислоты, 2-оксоглутаровой кислотой, глицерофосфорной кислотой, глицином, гликолевой кислотой, гексановой кислотой, гиппуровой кислотой, бромисто-водородной кислотой, хлористо-водородной кислотой, изобутановой кислотой, DL-молочной кислотой, лактобионовой кислотой, лауриновой кислотой, лизином, малеиновой кислотой, (-)-L-яблочной кислотой, малоновой кислотой, DL-миндальной кислотой, метансульфоновой кислотой, слизиной кислотой, нафталин-1,5-дисульфоновой кислотой, нафталин-2-сульфоновой кислотой, 1-гидрокси-2-нафтойной кислотой, никотиновой кислотой, азотной кислотой, октановой кислотой, олеиновой кислотой, оровой кислотой, щавелевой кислотой, пальмитиновой кислотой, палмовой кислотой (эмбоновой кислотой), фосфорной кислотой, пропионовой кислотой, (-)-L-пироглутаминовой кислотой, салициловой кислотой, 4-амино-салициловой кислотой, себациновой кислотой, стеариновой кислотой, янтарной кислотой, серной кислотой, дубильной кислотой, (+)-L-винной кислотой, тиоциановой кислотой, п-толуолсульфоновой кислотой и ундециленовой кислотой. Кроме того, фармацевтически приемлемые соли могут быть образованы с катионами металлов, таких как алюминий, кальций, литий, магний, калий, натрия, цинк и тому подобное (см. также *Pharmaceutical Salts*, Berge, S. M. Et al., *J. Pharm. Sci.*, (1977), 66, 1-19).

Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную группу, обычными химическими методами. Как правило, такие соли могут быть получены взаимодействием форм свободной кислоты или основания указанных соединений с достаточным количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом разбавителе, таком как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил или их смеси.

Соли других кислот, помимо упомянутых выше, которые, например, могут быть использованы для очистки или выделения соединений по настоящему изобретению (например, трифторацетатные соли) также составляют часть изобретения.

В твердом состоянии соединение по изобретению может существовать в кристаллической, полукристаллической и аморфной формах, а также их смесей. Специалисту будет понятно, что фармацевтически приемлемые сольваты соединения по изобретению могут образовываться, когда молекулы растворителя включаются в структуру твердого продукта в процессе кристаллизации. Сольваты может включать водные или неводные растворители или их смеси. Кроме того, содержание растворителя в таких сольватах может изменяться в ответ на окружающую среду и при хранении. Например, вода может вытеснить другой растворитель с течением времени в зависимости от относительной влажности и температуры. Сольваты, в которых растворителем, который включен в состав твердого продукта, является вода,

обычно называют "гидратами". Сольваты, в которые включены более одного растворителя, обычно называют "смешанными сольватами". Сольваты включают "стехиометрические сольваты", а также композиции, содержащие различные количества растворителя (называемые «нестехиометрическими сольватами»). Стехиометрические сольваты, в которых растворителем, который включен в структуру твердого состояния, является вода, обычно называют "стехиометрическими гидратами", а нестехиометрические сольваты, в которых растворителем, который включен в состав твердого состояния, является вода, обычно называют "нестехиометрическими гидратами". Изобретение включает в себя как стехиометрические, так и нестехиометрических сольваты.

Кроме того, кристаллические формы соединения по изобретению, в том числе их сольваты, могут содержать молекулы растворителя, которые не включены в структуру твердого продукта. Например, молекулы растворителя могут быть захвачены в кристаллах при выделении. Кроме того, молекулы растворителя могут быть удержаны на поверхности кристаллов. Изобретение включает в себя и такие формы.

Соединение по изобретению может быть введено любым подходящим способом введения, включая системное введение и местное введение. Системное введение включает пероральное введение, парентеральное введение, трансдермальное введение, ректальное введение и введение путем ингаляции. Парентеральное введение относится к путям введения, иным чем энтеральное, чрескожное или путем ингаляции, и, как правило, путем инъекции или инфузии. Парентеральное введение включает внутривенное, внутримышечное и подкожное введение или инфузию. Ингаляция относится к введению в легкие пациента либо вдыханием через рот, либо через носовые ходы. Местное введение включает нанесение на кожу, а также внутриглазное, глазное, интравагинальное и интраназальное введение.

Соединение по изобретению может быть введено один раз или в соответствии с режимом дозирования, где ряд доз вводят через различные интервалы времени в течение заданного периода времени. Например, дозы могут быть введены один, два, три или четыре раза в день. Дозы могут вводиться до тех пор, пока не будет достигнут желаемый терапевтический эффект, или вводиться неопределенное время, чтобы поддерживать нужный терапевтический эффект. Подходящие режимы дозирования для соединения по изобретению зависят от фармакокинетических свойств этого соединения, таких как абсорбция, распределение и периода полувыведения, которые могут быть определены специалистом в данной области. Кроме того, подходящие режимы дозирования, включая вводимое количество и продолжительность таких режимов введения для соединения по изобретению зависят от состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста и физического состояния пациента, которого лечат, медицинской истории болезни пациента, подлежащего лечению, характера сопутствующей терапии, конкретного выбранного способа введения, желаемого терапевтического эффекта и подобных факторов в рамках знаний и опыта специалиста в данной области. Специалисту в данной области будет также понятно, что подходящие режимы дозирования могут потребовать корректировки с учетом индивидуальной реакции пациента на режим дозирования или с течением времени, если отдельный пациент нуждается в таких изменениях. Типичные суточные дозы находятся в диапазоне от 1 до 1000 мг.

Соединение по изобретению может быть введено в виде пролекарства. Как он используется в настоящем документе, термин "пролекарство" соединения по изобретению означает функциональное производное соединения, которое при введении пациенту в конечном счете высвобождает соединение по изобретению *in vivo*. Введение соединения по изобретению в виде пролекарства может позволить специалисту в данной области осуществить одно или несколько из следующих: (a) изменить начало введения соединения *in vivo*; (b) изменить продолжительность действия соединения *in vivo*; (c) изменить транспортировку или распределение соединения *in vivo*; (d) изменить растворимость соединения *in vivo*; и (e) преодолеть или ослабить побочный эффект или другие трудности, возникающие с соединением. Типичные используемые функциональные производные для получения пролекарств включают модификации соединения, которые химически или ферментативно расщепляются *in vivo*. Такие модификации, которые включают получение фосфатов, амидов, сложных эфиров, сложных тиоэфиров, карбонатов и карбаматов, хорошо известны специалистам в данной области техники.

Как при поиске лекарственного средства, так и при разработке лекарственного средства, пролекарства стали установленным средством для улучшения физико-химических, биофармацевтических или фармакокинетических свойств фармакологически активных агентов, которые преодолевают барьеры для полезного использования лекарственного препарата.

Взаимодействие коротких пептидов или одиночных аминокислот в качестве носителей терапевтического агента может быть использовано как эффективный подход к пролекарству. В этом подходе аминокислота или ди- (или олиго)пептидный фрагмент связываются со свободной (первичной или вторичной) аминогруппой лекарственного средства посредством амидной связи, которая может быть специфически расщеплена эндогенной пептидазой, например, дипептидилпептидазой IV (DPPIV/CD26), дипептидилпептидазой I (DPPI/катепсин C), аминокпептидазой N (APN/CD13), пироглутамил-аминопептидазой, пролиминанопептидазой, аминокпептидазой P, эластазой, катепсином G, протеиназой 3, триптазой или химазой.

Аминокислота или ди- или олигопептидный фрагмент могут состоять из протеиногенных аминокислот (т.е. аминокислот, которые естественно встречаются в белках) или непротеиногенных аминокис-

лот (т.е. непротеиногенные аминокислоты, которые либо естественно встречаются, либо химически синтезированы).

В одном аспекте соединение, описанное в данном документе, связано через свободную (первичную или вторичную) аминогруппу с аминокислотой или ди- (или олиго)пептидным фрагментом. Эти пролекарства могут быть преобразованы в желаемое активное соединение путем катализируемой пептидазой реакции.

Соединения общей формулы I могут быть использованы сами по себе или в сочетании с другими активными веществами формулы I в соответствии с изобретением. Соединения общей формулы I, необязательно, также могут быть комбинированы с другими фармакологически активными веществами. К ним относятся агонисты В2-адренорецепторов (короткого и длительного действия), анти-холинергики (короткого и длительного действия), противовоспалительные стероиды (пероральные и местные кортикостероиды), кромогликат, метилксантин, диссоциированные глюкокортикостероиды, PDE3-ингибиторы, PDE4-ингибиторы, PDE7-ингибиторы, антагонисты LTD4, EGFR-ингибиторы, агонисты допамина, антагонисты PAF, производные липоксина A4, модуляторы FPRL1, антагонисты LTB4-рецептора (BLTI, BLT2), антагонисты гистаминовых рецепторов H1, антагонисты гистаминовых рецепторов H4, антагонисты двойных гистаминовых рецепторов H1/H3, ингибиторы PI3-киназы, ингибиторы нерезепторных тирозинкиназ, как, например, LYN, LCK, SYK, ZAP-70, FYN, BTK или ITK, ингибиторы MAP-киназ, как, например, p38, ERK1, ERK2, J K1, J K2, J K3 или SAP, ингибиторы сигнального пути NF-kB, как, например, ингибиторы IKK2 киназы, ингибиторы iNOS, ингибиторы MRP4 или ингибиторы лейкотриенового биосинтеза.

Соединения, описанные в данном документе, как правило, но не обязательно, перед введением пациенту включают в состав фармацевтической композиции. Соответственно в другом аспекте предложена фармацевтическая композиция, содержащая в качестве активного ингредиента соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль вместе с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, носителем или разбавителем.

Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут быть получены и упакованы в виде компактной формы, из которой безопасное и эффективное количество соединения, описанного в данном документе, может быть извлечено и затем дано пациенту, например, в виде порошков, сиропов и растворов для инъекций.

Альтернативно, фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут быть получены и упакованы в виде единичной лекарственной формы, где каждая физически дискретная единица содержит безопасное и эффективное количество соединения, описанного в данном документе. Когда они изготовлены в виде единичной лекарственной формы, фармацевтические композиции, описанные в данном документе, как правило, содержат от 1 до 1000 мг.

Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, обычно содержат одно соединение, описанное в данном документе. Однако в некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтические композиции изобретения необязательно могут, кроме того, содержать одно или несколько дополнительных фармацевтически активных соединений. В свою очередь, фармацевтические композиции по изобретению обычно содержат более одного фармацевтически приемлемого инертного наполнителя. Однако в некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтические композиции изобретения содержат один фармацевтически приемлемый инертный наполнитель.

Как он используется в настоящем документе, термин "фармацевтически приемлемый инертный наполнитель" означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или несущую лекарственное вещество среду, находящиеся в смеси в данной форме или консистенции для фармацевтической композиции. Каждый наполнитель должен быть совместим с другими ингредиентами фармацевтической композиции, когда они объединены, так чтобы избежать взаимодействий, которые могли бы существенно снизить эффективность соединения по изобретению при введении пациенту и уменьшить взаимодействия, которые сделали бы фармацевтические композиции фармацевтически неприемлемыми. Кроме того, каждый наполнитель конечно должен быть достаточно высокой степени чистоты, чтобы быть фармацевтически приемлемым. Соединение по изобретению и фармацевтически приемлемый наполнитель или наполнители обычно могут входить в состав лекарственной формы, пригодной для введения пациенту желаемым способом введения. Например, лекарственные формы включают вещества, приспособленные для (1) перорального введения, такие как таблетки, капсулы, капли, пилюли, пастилки, порошки, сиропы, эликсиры, суспензии, эмульсии, растворы, саше и каше; (2) парентерального введения, такие как стерильные растворы, суспензии и порошки для восстановления; (3) трансдермального введения, такие как трансдермальные пластыри; (4) ректального введения, такие как суппозитории; (5) ингаляции, такие как аэрозоли и растворы; и (6) местного введения, такие как кремы, мази, лосьоны, растворы, пасты, спреи, пены и гели.

Подходящие фармацевтически приемлемые наполнители будет меняться в зависимости от конкретной выбранной лекарственной формы. Кроме того, подходящие фармацевтически приемлемые наполнители могут быть выбраны для конкретной функции, которую они могут выполнять в композиции. Например, некоторые фармацевтически приемлемые наполнители могут быть выбраны на основе их спо-

способности облегчать производство однородных лекарственных форм. Некоторые фармацевтически приемлемые наполнители могут быть выбраны на основе их способности облегчать получение стабильных лекарственных форм. Некоторые фармацевтически приемлемые наполнители могут быть выбраны на основе их способности облегчать перенос или транспортировку соединения по изобретению при введении пациенту от одного органа или части тела к другому органу или части тела. Некоторые фармацевтически приемлемые наполнители могут быть выбраны на основе их способности облегчать удобства пользования пациентом.

Подходящие фармацевтически приемлемые наполнители включают следующие виды наполнителей: разбавители, заполнители, связующие вещества, разрыхлители, смазывающие вещества, вещества, способствующие скольжению, гранулирующие агенты, покрывающие агенты, смачивающие агенты, растворители, соразтворители, суспендирующие агенты, эмульгаторы, подсластители, вкусовые добавки, маскирующие запах агенты, красители, агенты против слеживания, увлажнители, хелатирующие агенты, пластификаторы, повышающие вязкость агенты, антиоксиданты, консерванты, стабилизаторы, поверхностноактивные вещества и буферные агенты. Специалисту будет понятно, что некоторые фармацевтически приемлемые наполнители могут выполнять более одной функции и могут выполнять альтернативные функции в зависимости от того, как много наполнителя присутствует в составе и от того, какие другие ингредиенты присутствуют в композиции.

Квалифицированные специалисты обладают знаниями, а специалисты в данной области техники способны подобрать подходящие фармацевтически приемлемые наполнители в соответствующих количествах для применения по изобретению. Кроме того, существует целый ряд литературных источников, которые доступны специалистам в данной области, в которых описываются фармацевтически приемлемые наполнители, и они могут быть использованы при выборе подходящих фармацевтически приемлемых наполнителей. Примеры включают Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited) и The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press).

Фармацевтические композиции по изобретению получают с использованием методик и способов, известных специалистам в данной области техники. Некоторые из способов обычно используемые в данной области, описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company). В одном аспекте изобретение относится к твердой пероральной лекарственной форме, такой как таблетка или капсула, содержащей безопасное и эффективное количество соединения по изобретению и разбавитель или наполнитель. Подходящие разбавители и наполнители включают лактозу, сахарозу, декстрозу, маннит, сорбит, крахмал (например, кукурузный крахмал, картофельный крахмал и предварительно желатинизированный крахмал), целлюлозу и ее производные (например, микрокристаллическую целлюлозу), сульфат кальция и двухосновный фосфат кальция. Пероральная твердая лекарственная форма может дополнительно содержать связующее вещество. Подходящие связующие вещества включают крахмал (например, кукурузный крахмал, картофельный крахмал и предварительно желатинизированный крахмал), желатин, камедь, альгинат натрия, альгиновую кислоту, трагакант, гуаровую камедь, повидон и целлюлозу и ее производные (например, микрокристаллическую целлюлозу). Пероральная твердая лекарственная форма может дополнительно содержать разрыхлитель. Подходящие разрыхлители включают кросповидон, натрия крахмал гликолят, кроскармеллозу, альгиновую кислоту и натрия карбоксиметил целлюлозу. Пероральная твердая лекарственная форма может дополнительно содержать смазывающее вещество. Подходящие смазывающие вещества включают стеариновую кислоту, стеарат магния, стеарат кальция и тальк. В другом аспекте изобретение относится к лекарственной форме, адаптированной для введения пациенту путем ингаляции. Например, соединение по изобретению может вдыхаться в легкие в виде сухого порошка, аэрозоля, суспензии или раствора.

Сухие порошковые композиции для доставки в легкие путем ингаляции обычно содержат соединение по изобретению в виде мелкодисперсного порошка вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями в виде мелкодисперсных порошков. Фармацевтически приемлемые наполнители, особенно подходящие для применения в сухих порошках, известны специалистам в данной области и включают лактозу, крахмал, маннит и моно-, ди- и полисахариды.

Сухой порошок может быть введен пациенту через резервуарный ингалятор сухого порошка (RDPI), имеющий резервуар, пригодный для хранения многократных (не отмеренных доз) лекарственного средства в виде сухого порошка. RDPI обычно включают в себя средство для дозирования каждой дозы лекарственного средства из резервуара в положение подачи. Например, средство для дозирования может содержать дозирующую чашку, которая выполнена с возможностью перемещения из первого положения, в котором чашка может быть заполнена лекарственным средством из резервуара, во второе положение, при котором отмеренная доза лекарственного средства становится доступной пациенту для ингаляции. Альтернативно, сухой порошок может быть представлен в виде капсул (например, желатиновых или пластиковых), картриджей или блистерных упаковок для применения в многодозовом ингаляторе сухого порошка (MDPI). MDPI являются ингаляторами, в которых лекарственное средство помещено в многодозовую упаковку, содержащую (или иным образом несущую) несколько определенных доз (или их частей) лекарственного средства. Когда сухой порошок представлен в виде блистерной упаковки, он

содержит несколько блистеров для локализации лекарственного средства в виде сухого порошка. Блистеры обычно расположены регулярным образом для облегчения выпуска из них лекарственного средства. Например, блистеры могут быть расположены в общем кругу, на блистерной упаковке в форме диска, или блистеры могут быть удлиненным по форме в виде, например, представляющим собой полосу или ленту.

Аэрозоли могут быть получены путем суспендирования или растворения соединения по изобретению в сжиженном пропелленте. Подходящие пропелленты включают галогенуглеводороды, углеводороды и другие сжиженные газы. Типичные пропелленты включают трифторхлорметан (пропеллент 11), дихлорфторметан (пропеллент 12), дихлортetraфторэтан (пропеллент 114), тетрафторэтан (HFA-134a), 1,1-дифторэтан (HFA-152a), дифторметан (HFA-32), пentaфторэтан (HFA-12), гептафторпропан (HFA-227a), перфторпропан, перфторбутан, перфторпентан, бутан, изобутан и пентан. Аэрозоли, содержащие соединение по изобретению, обычно вводятся пациенту с помощью дозирующего ингалятора (MDI). Такие устройства известны специалистам в данной области техники.

Аэрозоль может содержать дополнительные фармацевтически приемлемые наполнители, обычно используемые с MDI, такие как поверхностноактивные вещества, смазывающие вещества, соразрители и другое наполнители для улучшения физической стабильности препарата, для улучшения производительности клапана, для улучшения растворимости или для улучшения вкуса.

Суспензии и растворы, содержащие соединение по изобретению, также может быть введены пациенту через небулайзер. Растворитель или суспендирующий агент, используемые при распылении, могут быть любой фармацевтически приемлемой жидкостью, такой как вода, водный солевой раствор, спирты или гликоли, например, этанол, изопропиловый спирт, глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п. или их смеси. В солевых растворах используют соли, которые проявляют небольшую или не проявляют фармакологическую активность после введения. Для этой цели могут быть использованы как неорганические соли, такие как соли щелочных металлов или соли галогенида аммония, например, хлорид натрия, хлорид калия, так и органические соли, такие как соли калия, натрия и аммония органических кислот, например, аскорбиновой кислоты, лимонной кислоты, уксусной кислоты, винной кислоты и т.д.

К суспензии или раствору могут быть добавлены другие фармацевтически приемлемые наполнители. Соединение по изобретению может быть стабилизировано путем добавления неорганической кислоты, например, хлористоводородной кислоты, азотной кислоты, серной кислоты и/или фосфорной кислоты; органической кислоты, например, аскорбиновой кислоты, лимонной кислоты, уксусной кислоты и винной кислоты и т.д., комплексообразующего агента, такого как ЭДТА или лимонная кислота и ее соли; или антиоксиданта, такого как витамин Е или аскорбиновая кислота. Они могут быть использованы отдельно или вместе для стабилизации соединения по изобретению. Могут быть добавлены консерванты, такие как хлорид бензалкония или бензойная кислота и их соли. Для улучшения физической стабильности суспензий может быть добавлено, в частности, поверхностноактивное вещество. К нему относится лецитин, динатрий диоктилсульфосукцинат, олеиновая кислота и сложные эфиры сорбита.

Соединения, соответствующие формуле I, получая с использованием обычных органических методов синтеза. Подходящие пути синтеза показаны далее на общих схемах реакций. Исходные материалы и реагенты, указанные далее на общих схемах реакции, являются коммерчески доступными или могут быть получены из коммерчески доступных исходных материалов способами, известными специалистам в этой области техники.

Соединения, описанные в данном документе, могут быть преобразованы в их фармацевтически приемлемые соли, предпочтительно соли присоединения кислот, такие как гидрохлорид, гидробромид, трифторацетат, сульфат, фосфат, ацетат, fumarат, малеат, тартрат, лактат, цитрат, пируват, сукцинат, оксалат, метансульфонат или п-толуолсульфонат. Соединение формулы (1) и его фармацевтически приемлемые соли могут существовать в сольватированной, например, гидратированной, а также несольватированной формах, и настоящее изобретение охватывает все такие сольватированные формы. В следующем аспекте соединение, описанное в данном документе, представлено в виде его фармацевтически приемлемой соли.

В следующем аспекте соединения, описанные в данном документе, предназначены для применения в медицине, такого как для применения в качестве ингибитора дипептидилпептидазы I (DPP1). В одном аспекте они обладают активностью как фармацевтические препараты, в частности, в качестве ингибиторов активности дипептидилпептидазы I, и, таким образом, могут быть использованы при лечении следующих заболеваний: обструктивные заболевания дыхательных путей, в том числе: астма, включая бронхиальную, аллергическую, наследственную, приобретенную, индуцированную физическим напряжением, индуцированную лекарствами (включая аспириновую и НПВС-индуцированную) и индуцированную пылью астму, как перемежающуюся, так и хроническую, и всех степеней тяжести, и другие случаи гиперчувствительности дыхательных путей; хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ); острое повреждение легких; острый респираторный дистресс-синдром; бронхит, включая инфекционный и эозинофильный бронхит; эмфизема; бронхоэктаз; кистозный фиброз; дефицит альфа-1 антитрипсина; саркоидоз; легкое фермера и родственные заболевания; гиперчувствительный пневмонит; фиброз легких, включая криптогенный фиброзирующий альвеолит, идиопатические интерстициальные пневмонии, ос-

ложняющие фиброз противоопухолевую терапию и хроническую инфекцию, включая туберкулез и аспергиллез и другие грибковые инфекции; осложнения при трансплантации легкого; васкулярные и тромботические расстройства легочной сосудистой системы и легочную гипертензию; противокашлевую активность, включающую лечение хронического кашля, ассоциированного с воспалительными и секреторными состояниями дыхательных путей, и ятрогенный кашель; острый и хронический ринит, включая медикаментозный ринит и вазомоторный ринит; хронический и сезонный аллергический ринит, включая нервный ринит (сенную лихорадку); полипоз носа; острая вирусная инфекция, включая насморк, и инфекция вследствие респираторно-синцитиального вируса, гриппа, коронавируса (включая SARS) или аденовируса; псориаз, атопический дерматит, контактный дерматит или другие экзематозные дерматозы и реакции гиперчувствительности замедленного типа; фито- и фотодерматит; себорейный дерматит; герпетический дерматит, красный плоский лишай; склерозирующий и атрофирующий лишай; гангренозная пиодермия; саркоид кожи; дискоидная красная волчанка; пемфигус; пемфигоид; врожденный буллезный эпидермолиз; крапивница; ангионевротический отек; васкулиты; токсические эритемы; подкожные эозинофилии; гнездная алопеция; облысение по мужскому типу; синдром Свита; синдром Вебера-Кристиана; мультиформная эритема; целлюлит, как инфекционный, так и неинфекционный; панникулит; кожные лимфомы, немеланомный рак кожи и другие диспластические поражения; индуцированные лекарствами расстройства, включающие локальные лекарственные сыпи; блефарит; конъюнктивит, включая хронический и весенний аллергический конъюнктивит; ирит; передний и задний увеит; хориоидит; аутоиммунные, дегенеративные или воспалительные расстройства, воздействующие на сетчатку; офтальмит, включая симпатический офтальмит; саркоидоз; инфекции, включая вирусную, грибковую и бактериальную; сепсис; нефрит, включая интерстициальный и гломерулонефрит; нефротический синдром; цистит, включая острый и хронический (интерстициальный) цистит и язву Ханнера; острый и хронический уретрит, простатит, эпидидимит, оофорит и сальпингит; вульвовагинит; болезнь Пейрони; эректильная дисфункция (как у мужчин, так и у женщин); острое и хроническое отторжение аллотрансплантата после, например, трансплантации почки, сердца, печени, легкого, костного мозга, кожи или роговицы или после трансфузии крови; или хроническая болезнь «трансплантат против хозяина»; ревматоидный артрит; синдром раздраженного кишечника; воспалительные заболевания кишечника; подагра; псевдоподагра; болезнь Альцгеймера; системная красная волчанка; рассеянный склероз; тиреоидит Хашимото; болезнь Грейвса; болезнь Аддисона; сахарный диабет, включая сахарный диабет 1-го типа; идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура; эозинофильный фасцит; гипер-IgE синдром; антифосфолипидный синдром и синдром Сазари; злокачественные новообразования с участием нейтрофилов; лечение распространенных злокачественных новообразований, включая рак простаты, молочной железы, легких, яичников, поджелудочной железы, кишечника и толстой кишки, желудка, кожи и опухолей головного мозга, и злокачественные новообразования, влияющие на костный мозг (включая лейкозы) и лимфопролиферативную систему, такие как лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома; включая профилактику и лечение метастатического заболевания и опухолевых рецидивов, и паранеопластических синдромов; вирусные заболевания, такие как генитальные бородавки, общие бородавки, подошвенные бородавки, гепатит В, гепатит С, вирус простого герпеса, контактный моллюск, вирус оспы, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус папилломы человека (ВПЧ), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус ветряной оспы (ВВО), риновирус, аденовирус, коронавирус, грипп, парагрипп; бактериальные заболевания, такие как туберкулез и микобактерии авиум, лепра; другие инфекционные заболевания, такие как малярия, грибковые заболевания, хламидиоз, кандидоз, аспергиллез, криптококковый менингит, пневмоцистная пневмония Йировеца, криптоспоридиоз, гистоплазмоз, токсоплазмоз, трипаносомная инфекция и лейшманиоз; застойная сердечная недостаточность; атеросклероз; ишемическая болезнь сердца; инфаркт миокарда; реперфузионные повреждения; аневризма брюшной аорты (АБА); диабетическая кардиомиопатия (ДКМ); артериальная гипертензия; заболевания периферических артерий; аритмия сердца; инсульт и кардиомиопатия.

В следующем аспекте соединения, описанные в данном документе, предназначены для применения в качестве ингибитора дипептидилпептидазы I.

В следующем аспекте соединения или фармацевтические композиции, описанные в данном документе, предназначены для применения при лечении астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, застойной сердечной недостаточности, атеросклероза, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, воспалительных заболеваний кишечника, псориаза, ревматоидного артрита, рассеянного склероза, малярии, болезни Альцгеймера или сепсиса.

В следующем аспекте соединения или фармацевтические композиции, описанные в данном документе, предназначены для применения при лечении астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, застойной сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры,

псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, воспалительных заболеваний кишечника, псориаза, ревматоидного артрита, рассеянного склероза или сепсиса.

В еще одном аспекте соединения или фармацевтические композиции, описанные в данном документе, предназначены для применения при лечении астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, застойной сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, ревматоидного артрита или сепсиса.

Для указанного выше терапевтического использования вводимая доза будет, конечно, меняться в зависимости от используемого соединения, способа введения, требуемого лечения и указанного расстройств.

В следующем аспекте фармацевтическая композиция в виде единичной лекарственной формы содержит от примерно 1 мкг до примерно 1000 мг, то есть, например, от примерно 10 мкг до примерно 500 мг, от примерно 0,05 до примерно 100 мг или от примерно 0,1 до примерно 50 мг активного вещества.

В еще одном аспекте в данном документе описано соединение, которое через 24 ч после однократного подкожного введения животному в концентрации 10 мкмоль/кг имеет концентрацию в костном мозге 250 нМ или более, 500 нМ или более, 750 нМ или более или 1000 нМ или более.

В еще одном аспекте в данном документе описано соединение, которое через 12 ч после однократного подкожного введения животному в концентрации 10 мкмоль/кг имеет концентрацию в костном 1000 или более, например, 1500 нМ или более, 2000 нМ или более, 3000 нМ или более или 5000 нМ или более.

В следующем аспекте фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, предназначена для перорального, назального, чрескожного, пульмонального или парентерального введения.

В одном аспекте в данном документе предложен способ лечения обструктивного заболевания дыхательных путей у пациента, страдающего или имеющего риск такого заболевания, который заключается во введении пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли.

В одном аспекте предложен способ лечения заболеваний, где способ включает введение субъекту, при необходимости этого, эффективного количества соединения, описанного в данном документе, или композиции, описанной в данном документе.

В следующем аспекте эффективное количество соединения, описанное в данном документе, находится в диапазоне от примерно 1 мкг до примерно 1000 мг, то есть, например, от примерно 10 мкг до примерно 500 мг, от примерно 0,05 до примерно 100 мг или от примерно 0,1 до примерно 50 мг в сутки. В одном аспекте предложено применение соединения или фармацевтической композиции, описанных в данном документе, для получения лекарственного средства.

В одном аспекте предложено применение соединения, его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции, описанных в данном документе, для получения лекарственного средства для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, застойной сердечной недостаточности, атеросклероза, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, воспалительных заболеваний кишечника, псориаза, ревматоидного артрита, рассеянного склероза, малярии, болезни Альцгеймера или сепсиса.

В одном аспекте предложено применение соединения, его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции, описанных в данном документе, при производстве лекарственного средства для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, застойной сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, воспалительных заболеваний кишечника, псориаза, ревматоидного артрита, рассеянного склероза или сепсиса.

В одном аспекте предложено применение соединения, его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции, описанных в данном документе, при производстве лекарственного средства для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, застойной сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, ревматоидного артрита или сепсиса.

В одном аспекте предложен способ модулирования уровней DPP1 у субъекта, при необходимости этого, включающий введение указанному субъекту соединения или его фармацевтически приемлемой соли, описанных в данном документе, или композиции, описанной в данном документе, в количестве, эффективном для модулирования указанных уровней DPP1 у указанного субъекта.

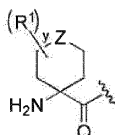
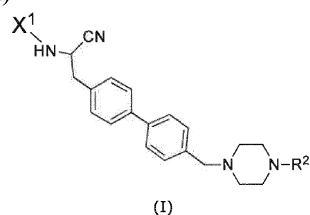
В одном аспекте указанная DPP1 ингибируется.

В одном аспекте предложена комбинация соединения или его фармацевтически приемлемой соли, описанных в данном документе, и одного или нескольких агентов, независимо выбранных из: нестероидного агониста глюкокортикоидных рецепторов; селективного агониста (32 адренорецепторов; ингибитора фосфодиэстеразы; ингибитора пептидазы; глюкокортикоида; антихолинергического агента; модулятора функции хемокинового рецептора и ингибитора функции киназы.

В другом аспекте предложен способ лечения медицинского состояния, выбранного из группы, выбранной из астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, застойной сердечной недостаточности, атеросклероза, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, воспалительных заболеваний кишечника, псориаза, ревматоидного артрита, рассеянного склероза, малярии, болезни Альцгеймера или сепсиса, где указанный способ включает введение фармацевтически эффективного количества соединения формулы (I) или композиции в соответствии с изобретением. Предпочтительно в данном способе медицинское состояние выбрано из группы, выбранной из астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, застойной сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, ревматоидного артрита или сепсиса.

Изобретение относится к следующим перечисленным аспектам.

Аспект 1. Соединение формулы (I)



где X^1 представляет собой

где y обозначает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8;

где Z представляет собой O (кислород);

когда y обозначает 1 или 2, тогда R^1 , независимо, представляет собой дейтерий; галоген; гидроксил; циано; оксо (=O); меркапто; или C_{1-3} -алкил; где C_{1-3} -алкил необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из галогена, гидроксила, циано и меркапто;

или, когда y обозначает 3, 4, 5, 6, 7 или 8, тогда R^1 представляет собой дейтерий;

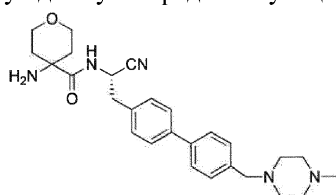
где R^2 представляет собой $-C_{3-6}$ -циклоалкил, $-C_{1-3}$ -алкил- $-C_{3-6}$ -циклоалкил или $-C_{1-6}$ -алкил, где $-C_{1-6}$ -алкил необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из гидроксила, циано или amino, а также его фармацевтически приемлемые соли, сольваты и гидраты.

Аспект 2. Соединение в соответствии с аспектом 1, где R^2 представляет собой $-C_{1-6}$ -алкил, где $-C_{1-6}$ -алкил необязательно замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из гидроксила, циано или amino.

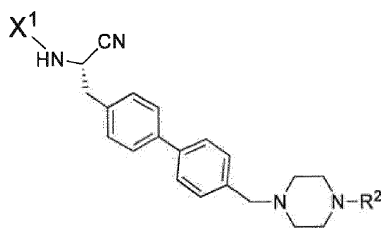
Аспект 3. Соединение по любому одному из предшествующих аспектов, где R^2 представляет собой $-C_{1-6}$ -алкил, предпочтительно $-C_{1-3}$ -алкил, более предпочтительно метил-, этил- или пропил-.

Аспект 4. Соединение по любому одному из предшествующих аспектов, где $y=0$ или 1, предпочтительно 0.

Аспект 5. Соединение по любому одному из предшествующих аспектов, представляющее собой



Аспект 6. Соединение по любому одному из предшествующих аспектов в энантиомерно чистой форме формулы (II)



(II)

где X¹ и R² имеют значения, определенные в любом одном из предшествующих аспектов.

Аспект 7. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) в соответствии с одним из аспектов 1-6 или его фармацевтически приемлемая соль вместе по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, носителем или разбавителем.

Аспект 8. Соединение в соответствии с одним из аспектов 1-6 или композиция в соответствии с аспектом 7 для применения в качестве лекарственного средства.

Аспект 9. Соединение в соответствии с одним из аспектов 1-6 или композиция в соответствии с аспектом 7 для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, застойной сердечной недостаточности, атеросклероза, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, воспалительных заболеваний кишечника, псориаза, ревматоидного артрита, рассеянного склероза, малярии, болезни Альцгеймера или сепсиса.

Аспект 10. Соединение в соответствии с одним из аспектов 1-6 или композиция в соответствии с аспектом 7 для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, застойной сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, ревматоидного артрита или сепсиса.

Аспект 12. Способ лечения медицинского состояния, выбранного из группы, выбранной из астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, застойной сердечной недостаточности, атеросклероза, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, воспалительных заболеваний кишечника, псориаза, ревматоидного артрита, рассеянного склероза, малярии, болезни Альцгеймера или сепсиса, где указанный способ включает введение фармацевтически эффективного количества соединения формулы (I) в соответствии с одним из аспектов 1-6 или композиция в соответствии с аспектом 7.

Аспект 12. Способ в соответствии с аспектом 11, где медицинское состояние выбрано из группы, выбранной из астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, застойной сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, ревматоидного артрита или сепсиса.

Аспект 13. Применение соединения формулы (I) в соответствии с одним из аспектов 1-6 или композиция в соответствии с аспектом 7 при производстве лекарственного средства для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, застойной сердечной недостаточности, атеросклероза, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, воспалительных заболеваний кишечника, псориаза, ревматоидного артрита, рассеянного склероза, малярии, болезни Альцгеймера или сепсиса.

Аспект 14. Применение в соответствии с аспектом 13, где лекарственное средство предназначено для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, застойной сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, реперфузионного повреждения, аневризмы брюшной аорты, диабетической кардиомиопатии, подагры, псевдоподагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, ревматоидного артрита или сепсиса.

Материалы и способы

Анализ на основе клеток ингибирования DPPI

Описанные в настоящем документе соединения являются ингибиторами DPPI, которые не напрямую ингибируют активность сериновых пептидаз, активируемых DPPI, таких как эластаза. С помощью анализа на основе клеток, описанного далее, могут быть определены биологическая активность соединений по изобретению или других ингибиторов DPPI.

Ферментативную активность нейтрофильной эластазы на клетках U937, выращенных в присутствии

ингибиторов DPPI, определяли способами, модифицированными, как описано в работе Méthot N.; Rubin J.; Guay D.; Beaulieu C.; Ethier D.; Reddy T.J.; Riendeau D. and Percival D. (2007) *J Biol Chem*, 282, 20836-20846. Клетки U937 культивировали в культуральной среде (RPMI 1640, дополненной 10% FBS, 10 mM HEPES, 1 mM пирувата натрия, по 100 ед./мл пенициллина и стрептомицина, каждого). Клетки высевали на 12-луночные планшеты при $0,4 \times 10^6$ клетки/мл в объемах по 1,5 мл на лунку в присутствии или нет возрастающих концентраций ингибитора DPPI. Были исследованы 12 точек при двукратном повторении в диапазоне от 0,1 нМ до 50 мкМ ингибитора. Через 24 ч клетки собирали, промывали PBS и лизировали в 20 mM Tris-HCl, pH 7,5, 100 mM NaCl, 0,2% Triton X-100. Дебрис удаляли с помощью центрифугирования и супернатанты сохраняли. Экстракты смешивали с аналитическим буфером (50 mM Tris, 0,1% Triton X-100, 0,5 M NaCl, pH 8,0), дополненным субстратом (MetOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-pNA; Bachem; Cat. No. L-1335) до конечной концентрации 0,9 mM.

Активность нейтрофильной эластазы определяли путем измерения ферментативного высвобождения хромогенного *p*-нитроанилина из субстрата MetOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-pNA, что приводит к увеличению оптической плотности при 405 нм. Анализ проводили на 96-луночных планшетах при конечном объеме 200 мкл при температуре 37°C, и измеряли абсорбционную способность 8 раз в течение 21-35 мин с использованием планшет-ридера. IC₅₀ определяли с использованием 4-параметрового логистического уравнения с нелинейной аппроксимацией приближения кривой.

Анализ ингибирования DPPI человека

Используя данный анализ, значение IC₅₀ для соединения по изобретению может быть определено с использованием Gly-Phe-паранитроанилида в качестве специфического субстрата DPPI.

Аналитический буфер: 20 mM лимонной кислоты (2,1 г лимонной кислоты), 150 mM NaCl (4,4 г NaCl) и 2 mM EDTA (370 мг EDTA) растворяли в 500 мл H₂O, и pH устанавливали равным 4,5 с помощью HCl.

Субстрат: Gly-Phe-паранитроанилид (Sigma Aldrich; Cat. № G0142) был использован в качестве субстрата для определения значения IC₅₀. Km был 2,2 mM. Субстрат растворяли в диметилформамиде с получением 0,2-0,5 M стокового раствора, который затем дополнительно разбавляли при перемешивании в аналитическом буфере до конечной концентрации 1 mM.

DPPI: DPPI человека (полученную от UNIZYME Laboratories A/S, DK-2970 Hørsholm, Denmark) хранили при температуре -20°C в буфере, содержащем 2,5 mM Na-фосфата, 150 mM NaCl, 2 mM цистамин, 50% глицерина, pH 7,0 при концентрации 1-2 мг/мл (5-10 мкМ). Этот стоковый раствор разводили 500-1000 кратно в аналитическом буфере до концентрации 10-20 нМ.

Условия анализа: Анализ проводили на 96-луночных планшетах. В лунку добавляли разведенный фермент (25 мкл), затем 25 мкл исследуемого вещества в различных концентрациях, и раствор перемешивали. Планшет инкубировали при температуре 37°C в течение 5 мин, затем добавляли 150 мкл 1 mM субстрата, предварительно нагретого до 37°C (соответствующий концентрации субстрата 750 мкМ в анализе). Абсорбционную способность измеряли при 405 нм при температуре 37°C каждые 90 с в течение 12 мин или каждые 20 с в течение 4 мин. Каждое измерение дублировали. IC₅₀ определяли с использованием 4-параметрового логистического уравнения с нелинейной аппроксимацией приближения кривой.

Исследование метаболической стабильности

Исследование метаболической стабильности осуществляли с помощью системы Absorption System, Exton, PA 19341, USA.

Исследуемое соединение (ингибитор DPPI) растворяли в 100% ДМСО при концентрации 10 mM. Реакционная смесь состояла из микросом печени мыши или человека (1,0 мг/мл), 1 mM NADPH, 100 mM фосфата калия, pH 7,4, 10 mM хлорида магния и исследуемого соединения при концентрации 5 мкМ.

Аликвоту реакционной смеси (без кофакторов) инкубировали на водяной бане-шейкере при температуре 37°C в течение 3 мин. Другую аликвоту реакционной смеси готовили в качестве негативного контроля. Исследуемое соединение добавляли как в реакционную смесь, так и в негативный контроль при конечной концентрации 5 мкМ.

Реакцию инициировали путем добавления NADPH к 1 mM (не в негативные контроли) и затем инкубировали на водяной бане-шейкере при температуре 37°C. Аликвоты (100 мкл) отбирали на 0, 10, 20, 30 и 60 мин или на 0, 15, 30 и 60 мин и объединяли с 900 мкл ледяной смеси 50/50 ацетонитрил/dH₂O для завершения реакции. Контроль (тестостерон) осуществляли одновременно с исследуемым соединением в отдельной реакции. Для определения отношения площади пика отклика (площадь пика, соответствующая исследуемому соединению или контролю, деленная на аналитический внутренний стандарт) использовали LC/MS/MS. Натуральный логарифм процентного остатка наносили на график в зависимости от времени. Для определения константы скорости использовали линейное приближение. Приближение отбрасывали, если процентный остаток исследуемого соединения был менее 10%. Чтобы сравнить их относительную метаболическую стабильность, определяли период полувыведения, связанный с исчезновением исследуемого и контрольного соединения.

Исследование ингибирования ферментов CYP2C9, CYP2D6 и CYP3A4

Исследование ингибирования ферментов CYP2C9, CYP2D6 и CYP3A4 осуществляли с помощью системы Absorption System, Exton, PA 19341, USA, в соответствии с процедурой, описанной далее.

Определяли значение IC_{50} соединения по примеру 1 патента WO 2012119941 (PZ1024) и соединения по настоящему изобретению (PZ1025) для ферментов CYP (CYP2C9, CYP2D6 и CYP3A4) в микросомах печени человека. Исследуемые соединения при восьми уровнях концентрации (0, 0,137, 0,412, 1,23, 3,70, 33,3, 11,1 и 100 мкМ) инкубировали с объединенными микросомами печени человека (0,25 мг белка/мл) при температуре 37°C в присутствии фосфатного буфера (100 мМ, pH 7,4), $MgCl_2$ (5 мМ), NADPH (1 мМ) и CYP-специфического маркерного субстрата при приблизительной K_m (6 мкМ диклофенак, 7 мкМ буфарол и 75 мкМ тестостерон для CYP2C9, CYP2D6 и CYP3A4 соответственно). После периода инкубации образцы обрабатывали добавлением осаждающего белок растворителя и центрифугировали. Активность ферментов CYP измеряли путем определения образования метаболитов маркера CYP с помощью LC-MS/MS, и оценивали IC_{50} (концентрация ингибитора, вызывающая 50%-ное ингибирование) с использованием программного обеспечения GraphPad Prism® путем корреляции экспериментальных данных (процент активности контроля, оставшийся для каждой концентрации исследуемого соединения) для сигмоидальной модели и нелинейного регрессионного анализа.

Параллельно была проверена активность ферментов CYP в микросомах печени человека путем определения ингибирования положительных ингибиторов на активность ферментов CYP (сульфафеназол, хинидин и кетоконазол для CYP2C9, CYP2D6 и CYP3A4 соответственно). Все ферменты CYP показали ожидаемое ингибирование положительными ингибиторами, что указывает на то, что микросомы печени человека, используемые в этом исследовании, были метаболически активными и отзывчивыми.

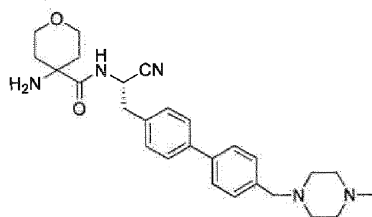
Исследование цитотоксичности

Исследование цитотоксичности проводили с помощью Cypotex Discovery Ltd, 15 Beech lane, Macclesfield, Cheshire, SK10 2DR, UK.

Были использованы два штамма культивированных человеческих лимфобластоидных клеток ТК6, GenM-T01 и GenM-C01. Серии разведений каждого исследуемого соединения помещали на 96-луночный черный микропланшет с оптически прозрачным основанием. Планшет анализировали на временных точках 24 и 48 ч с помощью микропланшет-ридера, что позволяло провести измерения поглощения света для клеток и растворов в лунках микропланшета.

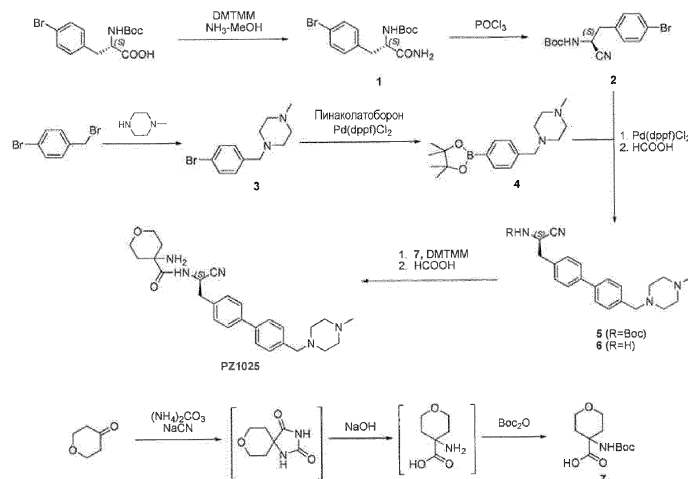
Цитотоксичность оценивали с использованием относительной пролиферации клеток, количественно используя способность оптического поглощения. Цитотоксические соединения являются такими, которые снижают относительную плотность клеток ниже порога значимости, установленного на 80% по сравнению с обработанным разбавителем контролем при одной или нескольких исследуемых концентрациях.

Пример 1. (S)-4-Амино-N-(1-циано-2-(4'-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)бифенил-4-ил)этил)тетрагидро-2H-пиран-4-карбоксамид (PZ1025)



PZ1025

Схема синтеза



Методика

(S)-трет-Бутил 1-амино-3-(4-бромфенил)-1-оксопропан-2-илкарбамат (1)

Раствор (S)-3-(4-бромфенил)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропановой кислоты (20,0 г, 58,3 моль) в DMC (400 мл) охлаждали на бане с ледяной водой и добавляли DMTMM (24,2 г, 87,5 моль). Смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 1 ч, затем добавляли 25% NH₃-H₂O (6 г, 87,5 моль). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 ч. Смесь экстрагировали этилацетатом три раза, и объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали с получением соединения 1 (19,0 г, выход 95%) в виде твердого вещества белого цвета.

(S)-трет-Бутил 2-(4-бромфенил)-1-цианоэтилкарбамат (2) Раствор соединения 1 (14,73 г, 43 ммоль) в безводном пиридине (150 мл) охлаждали на бане с ледяной водой и в течение 30 мин добавляли по каплям POCl₃ (8 мл, 77,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 2 ч и затем давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь обрабатывали ледяной водой и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали 1 М раствором HCl, насыщенным водным раствором NaHCO₃ и насыщенным соевым раствором соответственно. Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш хроматографии на силикагеле (петролейный эфир/EtOAc = от 50: 1 до 10: 1) с получением соединения 2 (9,67 г, выход 69,3%) в виде твердого вещества белого цвета.

1-(4-Бромбензил)-4-метилпиперазин (3)

1-Метилпиперазин (37,4 г, 0,374 моль) добавляли по каплям к смеси 1-бром-4-(бромметил)бензола (78,0 г, 0,312 моль) и K₂CO₃ (86,1 г, 0,624 моль) в ДМФ (400 мл), и реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре. Смесь выливали в воду (1500 мл) и затем три раза экстрагировали EtOAc. Объединенные экстракты промывали насыщенным соевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали с получением соединения 3 (50,0 г, выход 59,5%) в виде масла желтого цвета.

Метил-4-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензил)пиперазин (4)

К перемешиваемому раствору соединения 3 (35,0 г, 130 ммоль) в 1,4-диоксане (500 мл) при комнатной температуре добавляли ацетат калия (38,3 г, 390 ммоль) и пинаколатодиборон (33,0 г, 130 ммоль). Смесь откачивали и заполняли азотом (три раза). Добавляли Pd(dppf)Cl₂ (3,0 г, 1,3 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при температуре 110°C в атмосфере азота в течение 12 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, и твердый продукт отделяли фильтрацией. Фильтрат концентрировали, и остаток разбавляли этилацетатом и водой. Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH = от 50: 1 до 10: 1) с получением соединения 4 (37,0 г, выход 90%) в виде твердого вещества коричневого цвета.

(S)-трет-Бутил 1-циано-2-(4'-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)бифенил-4-ил)этилкарбамат (5)

К перемешиваемому раствору соединения 4 (5,0 г, 15,4 ммоль) и соединения 2 (4,4 г, 14,0 ммоль) в 1,4-диоксане (200 мл) при комнатной температуре добавляли карбонат натрия (3,7 г, 35 ммоль). Смесь откачивали и заполняли азотом (три раза). Добавляли Pd(dppf)Cl₂ (0,5 г, 0,22 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при температуре 90°C в атмосфере азота в течение 12 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, и твердый продукт отделяли фильтрацией. Фильтрат концентрировали, и остаток разбавляли этилацетатом и водой. Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH = от 50: 1 до 10: 1) с получением соединения 5 (3,4 г, выход 50,7%) в виде твердого вещества коричневого цвета.

(S)-2-Амино-3-(4'-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)бифенил-4-ил)пропаннитрил (6)

Соединение 5 (1,0 г, 2,3 ммоль) растворяли в 88% HCOOH (20 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Добавляли по каплям насыщенный водный раствор NaHCO₃, и полученную смесь экстрагировали DCM. Объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH = от 100: 1 до 20: 1) с получением соединения 6 (300 мг, выход 38%) в виде твердого вещества белого цвета.

4-(трет-Бутоксикарбониламино)тетрагидро-2H-пиран-4-карбоновая кислота (7)

К суспензии дигидро-2H-пиран-4(3H)-она (5,0 г, 50 ммоль) и (NH₄)₂CO₃ (24,5 г, 255 ммоль) в смеси этанол/вода (1:1, 100 мл) добавляли цианид натрия (2,5 г, 51 ммоль). Реакционную смесь нагревали при температуре 50°C в течение 12 ч и затем нагревали до 80°C для разложения избытка (NH₄)₂CO₃. Этанол удаляли и добавляли гидроксид натрия (8,16 г, 0,76 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение ночи и затем охлаждали до комнатной температуры. pH смеси доводили до pH 10 с помощью 2н раствора HCl и добавляли Вос₂O (11,1 г, 51 ммоль) и ацетонитрил (50 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и добавляли этилацетат. pH полученной смеси осторожно доводили до pH 3-4 с помощью 2н раствора HCl, и органический слой отделяли и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH = 100:1) с получением соединения 7 (3,0 г, выход 24% за три стадии) в виде твердого вещества белого цвета.

Вос-(S)-4-амино-N-(1-циано-2-(4'-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)бифенил-4-ил)этил)тетрагидро-2Н-пиран-4-карбоксамид (Вос-PZ1025)

К раствору соединения 6 (4,5 г, 13,51 ммоль) в DMC (90 мл) на бане с ледяной водой добавляли DMTMM (7,5 г, 27 ммоль). Смесь перемешивали при температуре 0°C в течение 0,5 ч и добавляли соединение 7 (4-(трет-бутоксикарбониламино)тетрагидро-2Н-пиран-4-карбоновая кислота; 4,0 г, 16,22 ммоль). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 ч. Смесь три раза экстрагировали EtOAc, и объединенные органические слои промывали насыщенным соевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH = 20: 1) с получением соединения Вос-PZ1025 (6,3 г, выход 83,1%) в виде твердого вещества светло-желтого цвета.

(S)-4-Амино-N-(1-циано-2-(4'-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)бифенил-4-ил)этил)тетрагидро-2Н-пиран-4-карбоксамид (PZ1025)

Раствор Вос-PZ1025 (8,5 г, 15,16 ммоль) в 88% HCOOH (150 мл) перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре. Смесь выливали в насыщенный водный раствор NaOH (200 мл), и полученную смесь дважды экстрагировали DCM. Органические слои объединяли, промывали насыщенным соевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток очищали с помощью флэш хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH = от 40: 1 до 20: 1) с получением соединения PZ1025 (3,9 г, 55,9% выход) в виде твердого вещества белого цвета. ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 8,25 (1, 1H, J=9,0 Гц), 7,61-7,53 (м, 4H), 7,42-7,33 (м, 4H), 5,14 (м, 1H), 3,95-3,85 (м, 2H), 3,67-3,62 (м, 2H), 3,60-3,57 (м, 2H), 3,16 (д, J=6,9 Гц, 2H), 2,56 (м, 8H), 2,35 (с, 3H), 2,32-2,18 (м, 2H), 1,33 (м, 1H), 1,21 (м, 1H); MS (ESI): m/z 446,4 [M+H]⁺.

Было обнаружено, что в анализе ингибирования DPPI на основе клеток PZ1025 обладает IC₅₀≈11 нМ и временем полувыведения в микросомах печени человека более 300 мин. Сочетание хорошей эффективности в анализе ингибирования DPPI на основе клеток и хорошей метаболической стабильности является особенно актуальным в отношении достижения фармакологического эффекта ингибитора DPPI в процессе терапии людей, как было показано фармакокинетическими исследованиями (см. ссылку), поскольку ингибирование *in vivo* эластазы и катепсина G требует высокой фракционной и устойчивой степени ингибирования DPPI, вероятно, такой высокой как 90% или более.

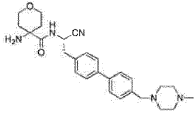
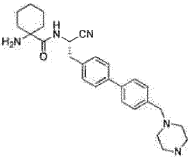
Ссылка. Methot N., Guay D., Rubin J., Ethier D., Ortega K., Wong S., Normandin D., Beaulieu C., Reddy T.J., Riendeau D., Percival M.D. *In vivo* inhibition of serine protease processing requires a high fractional inhibition of cathepsin C. *Mol Pharmacol.* 2008 Jun; 73 (6): 1857-65.

Сравнительные примеры

Сравнительный пример А. Сравнение с патентом WO 2012119941

В табл. 1 далее приведено сравнение PZ1025 (пример 1) и соединения по примеру 1 патента WO 2012119941. Различие между соединением по примеру 1 патента WO 2012119941 (PZ1024) и соединением по настоящему изобретению (PZ1025) состоит в наличии кислорода PZ1025 по сравнению с углеродом в PZ1024. Как показано в таблице, эффективность PZ1025 и PZ1024 (соединением по примеру 1 патента WO 2012119941) является почти одинаковой.

Таблица 1

Структура	IC ₅₀ нМ	Метаболи-	Метаболи-	Ингибиро- вание Сур IC ₅₀ нМ
		ческая стабиль- ность на микросомах человека	ческая стабиль- ность на микросомах мышь	
 <p>PZ1025</p>	34	t _{1/2} >300 мин	t _{1/2} ≈65 мин	Сур2С9: >100
				Сур2Д6: >100
				Сур3А4: >100
 <p>Соединение по примеру 1 патента WO2012119941 (PZ1024)</p>	37	t _{1/2} ≈55 мин	t _{1/2} ≈10 мин	Сур2С9: >100
				Сур2Д6: 18
				Сур3А4: >10

В табл. 1 показана также метаболическая стабильность PZ1025 и PZ1024 (соединение по примеру 1 патента WO 2012119941) на микросомах печени человека и мыши. Метаболическую стабильность определяли по измерению периода полувыведения ($t_{1/2}$). Период полувыведения PZ1024 микросомами печени человека составляет ≈ 55 мин, однако период полувыведения PZ1025 микросомами печени человека более чем в 5 раз выше (>300 мин). Период полувыведения PZ1024 микросомами печени мыши составляет ≈ 10 мин, однако период полувыведения PZ1025 микросомами печени мыши более чем в 6 раз выше (≈ 65 мин).

Более высокая метаболическая стабильность PZ1025 (соединение по настоящему изобретению) является очень полезной, так как улучшенная метаболическая стабильность приведет к увеличению биодоступности PZ1025 по сравнению с биодоступностью PZ1024. Это особенно актуально в отношении достижения фармакологического эффекта ингибитора DPPi как в исследованиях на животных, так и в процессе терапии у людей, поскольку фармакокинетические исследования показали (см. ссылку), что ингибирование *in vivo* эластазы и катепсина G требует высокой фракционной и устойчивой степени ингибирования DPPi, вероятно, такой высокой как 90% или более.

В табл. 1 показана также селективность PZ1025 и PZ1024 (соединения по примеру 1 патента WO 2012119941) по отношению к CYP2C9, CYP2D6 и CYP3A4, которые являются одними из наиболее важных метаболизирующих ферментов CYP. Как PZ1025, так и PZ1024 обладают достаточной избирательностью (>100 мкМ) по отношению к CYP2C9 и CYP3A4, но только PZ1025 обладает достаточной избирательностью (>100 мкМ) по отношению к CYP2D6.

Ссылка. Methot N., Guay D., Rubin J., Ethier D., Ortega K., Wong S., Normandin D., Beaulieu C., Reddy T.J., Riendeau D., Percival M.D. *In vivo* inhibition of serine protease processing requires a high fractional inhibition of cathepsin C. *Mol Pharmacol.* 2008 Jun; 73 (6): 1857-65.

Сравнительный пример В. Сравнение с WO 2012119941

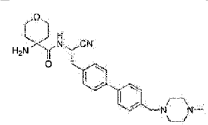
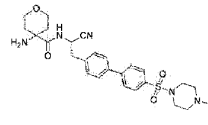
На фиг. 1 и 2 сравниваются PZ1025 (пример 1) и соединение по примеру 1 патента WO 2012119941 (PZ1024) в отношении цитотоксичности. На фиг. 1 показано соединение PZ1025, проанализированное в момент времени 24 ч (фиг. 1a) и в момент времени 48 ч (фиг. 1b). На фиг. 2 показаны результаты оценки цитотоксичности для соединения PZ1024, полученные при анализе в момент времени 24 ч (фиг. 2a) и в момент времени 48 ч (фиг. 2b). Горизонтальная ось в каждом конкретном случае выражена в мкМ.

Самая высокая концентрация (мкМ), которая не пересекает порог значимости, составляет 150 мкМ для PZ1025 и 15 мкМ для PZ1024. Таким образом, можно сделать вывод, что PZ1025 является по меньшей мере в 5 раз менее токсичным, чем PZ1024.

Сравнительный пример С. Сравнение с WO 2010128324

В таблице 2, приведенной далее, приведено сравнение PZ1025 (пример 1) и соединения по примеру 29 патента WO 2010128324. Соединение по примеру 29 патента WO 2010128324 (PZ1032) отличается от соединения по настоящему изобретению (PZ1025) сульфонильной группой вместо метиленовой, мостиковой группой между фенильным и пиперазинильным кольцами (смотри структуры в таблице 2, приведенной далее). Как показано в табл. 2, эффективность PZ1025 и PZ1032, определенная в анализе на основе клеток ингибирования DPPi, является по существу одинаковой.

Таблица 2

Структура	Анализ на основе клеток ингибирования DPPi IC ₅₀ нМ	Метаболическая стабильность - MS человека	Метаболическая стабильность - MS мыши
	≈ 11 нМ	$t_{1/2} > 300$ мин	$t_{1/2} \approx 65$ мин
PZ1025			
	≈ 11 нМ	$t_{1/2} \approx 50$ мин	$t_{1/2} \approx 35$ мин
Соединение по примеру 29 патента WO2010128324 (PZ1032)			

В табл. 2 показана также метаболическая стабильность PZ1025 и PZ1032 (соединение по примеру 29 патента WO 2010128324) на микросомах (MS) печени человека и мыши. Метаболическую стабиль-

ность определяли по измерению периода полувыведения ($t_{1/2}$). Период полувыведения PZ1032 микросомами печени человека составляет ≈ 50 мин, однако период полувыведения PZ1025 микросомами печени человека более чем в 5 раз выше (>300 мин).

Период полувыведения PZ1032 микросомами печени мыши составляет ≈ 35 мин, однако период полувыведения PZ1025 микросомами печени мыши более чем в 2 раз выше (≈ 65 мин).

Более высокая метаболическая стабильность PZ1025 (соединение по настоящему изобретению) является очень полезной, так как улучшенная метаболическая стабильность приведет к увеличению биодоступности PZ1025 по сравнению с биодоступностью PZ1032. Это особенно актуально в отношении достижения фармакологического эффекта ингибитора DPPI как в исследованиях на животных, так и в процессе терапии у людей, поскольку фармакокинетические исследования показали (см. ссылку), что ингибирование *in vivo* эластазы и катепсина G требует высокой фракционной и устойчивой степени ингибирования DPPI, вероятно, такой высокой как 90% или более.

Ссылка. Methot N., Guay D., Rubin J., Ethier D., Ortega K., Wong S., Normandin D., Beaulieu C., Reddy T.J., Riendeau D., Percival M.D. *In vivo* inhibition of serine protease processing requires a high fractional inhibition of cathepsin C. *Mol Pharmacol.* 2008 Jun; 73 (6): 1857-65.

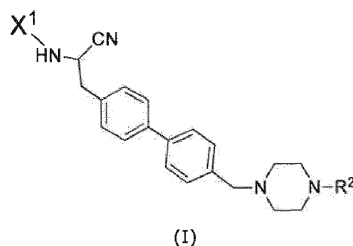
Сравнительный пример D. Структурное сравнение с WO 2012/119941

Соединения по настоящему изобретению, среди прочего, характеризуются тетрагидропиранильным кольцом, присоединенным к карбоксамидной группе. В WO 2012/119941 проиллюстрированы различные структуры, содержащие мостиковую или конденсированную-кислородсодержащую насыщенную кольцевую систему, смежную с карбоксамидной группой (см. четвертое соединение на странице 57 и пятое соединение на странице 58). Пути синтеза этих двух соединений не были доступны и, таким образом, никаких биологических испытаний не проводилось.

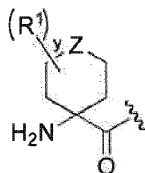
Тетрагидропиранильное кольцо представляет собой гибкую структуру, которая, как известно, адаптируется к различным трехмерным конформациям. В отличие от этого, каждое из двух конкретных соединений по патенту WO 2012/119941 представлено структурой, где мостиковое или конденсированное кольцо(а) препятствуют конформационной гибкости. Это означает, что такие мостиковые или конденсированные кислородсодержащие насыщенные кольцевые системы имеют существенно различные стереические свойства по сравнению с тетрагидропиранильными кольцами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



где X^1 представляет собой

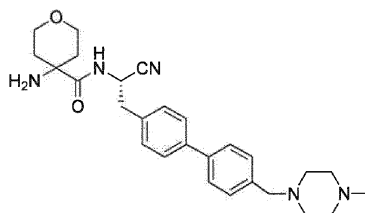


где y обозначает 0;

Z представляет собой O (кислород); и

где R^2 представляет собой $-C_{1-6}$ -алкил, необязательно замещенный одним заместителем, выбранным из гидроксила, циано или амина; а также их фармацевтически приемлемые соли.

2. Соединение по п.1, представляющее собой



3. Соединение по п.1, где R^2 представляет собой $-C_{1-6}$ -алкил.

4. Соединение по любому из пп.1 или 3, где R^2 представляет собой $-C_{1-3}$ -алкил.

5. Соединение по любому из пп.1, 3 или 4, где R^2 представляет собой метил-, этил- или пропил-.

6. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемую соль вместе по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, носителем или разбавителем.

7. Применение соединения по любому из пп.1-5 для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, подагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, псориаза или ревматоидного артрита.

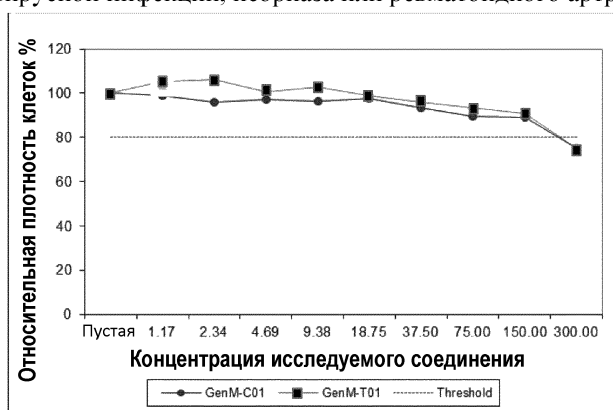
8. Фармацевтическая композиция по п.6 для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, подагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, псориаза или ревматоидного артрита.

9. Способ лечения медицинского состояния, выбранного из группы, состоящей из астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, подагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, псориаза и ревматоидного артрита, где указанный способ включает введение фармацевтически эффективного количества соединения формулы (I) по любому из пп.1-5.

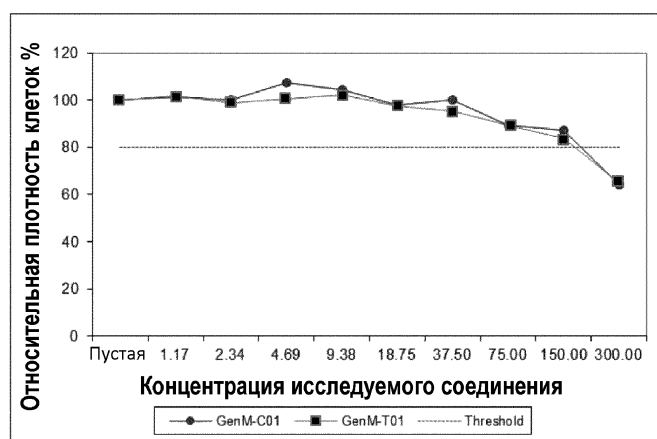
10. Способ лечения медицинского состояния, выбранного из группы, состоящей из астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, подагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, псориаза и ревматоидного артрита, где указанный способ включает введение фармацевтически эффективного количества композиции по п.6.

11. Применение соединения формулы (I) по любому из пп.1-5 для производства лекарственного средства для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, подагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, псориаза или ревматоидного артрита.

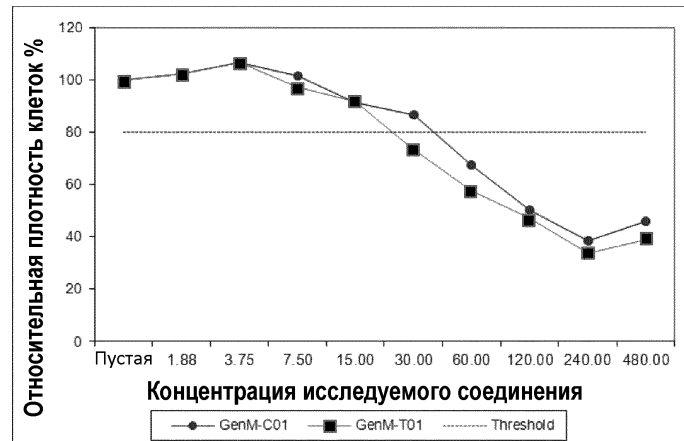
12. Применение композиции по п.6 для производства лекарственного средства для лечения астмы, хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктазии, кистозного фиброза, дефицита альфа-1 антитрипсина, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, подагры, респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, псориаза или ревматоидного артрита.



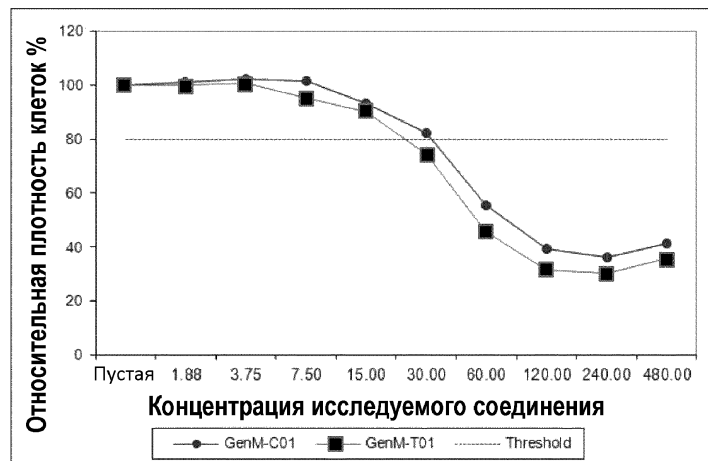
Фиг. 1А



Фиг. 1В



Фиг. 2А



Фиг. 2В

