

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201692139 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2017.02.28

(22) Дата подачи заявки
2014.04.24

(51) Int. Cl. C07D 401/04 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
C07D 409/04 (2006.01)
C07D 417/04 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРАЗИНА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ
ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛ 3-КИНАЗЫ

(86) PCT/IB2014/060991

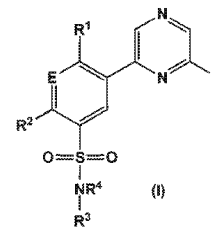
(87) WO 2015/162461 2015.10.29

(71) Заявитель:
НОВАРТИС АГ (CH)

(72) Изобретатель:
Беллини Бенджамин Ричард,
Брюс Ян, Калшо Эндрю Джеймс,
Холлингворт Грегори, Ниф Джеймс,
Спендифф Мэттью, Уотсон Саймон
Джеймс (GB)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к соединению формулы (I)



которое ингибирует активность гамма-изоформы PI 3-киназы, что эффективно для лечения заболевания, опосредованного активацией гамма-изоформы PI 3-киназы.

201692139 A1

201692139 A1

ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРАЗИНА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛ 3-КИНАЗЫ

Область техники, к которому относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новым производным пиразина, которые являются селективными ингибиторами гамма-изоформы PI 3-киназы, к способам их получения, фармацевтическим композициям и лекарственным средствам, содержащим их, и к их применению в отношении заболеваний и расстройств, опосредованных активацией гамма-изоформы PI 3-киназы, в частности астмы.

Уровень техники

Фосфатидилинозитол 3-киназа (PI 3-киназа) из семейства ферментов, которые катализируют фосфорилирование 3'-ОН инозитольного кольца, играет центральную роль в регуляции широкого спектра клеточных процессов, включая метаболизм, выживание, подвижность и клеточную активацию (Vanhaesebroeck, B. et al., Annu. Rev. Biochem. 2001, 70, 535). Эти липидные киназы делятся на 3 основных класса, I, II и III, в соответствии с их структурой и субстратной специфичностью *in vitro* (Wymann, M. et al.; Biochem. Biophys. Acta, 1998, 1436, 127). Наиболее широко известный класс I этого семейства дополнительно подразделяется на подклассы IA и IB. Класс IA PI 3-киназы состоит из регулирующего/адаптерного белка размером 85 кДа и трех каталитических субъединиц 110 кДа (p110 α , p110 β и p110 δ), которые активируются в системе тирозинкиназы, в то время как класс IB состоит из одной изоформы p110 γ (гамма-изоформа PI 3-киназы), которая активируется рецепторами, связанными с G-белком. Три члена класса II PI 3-киназы (C2 α , C2 β и C2 γ) и один из членов класса III PI 3-киназы (Vps34) менее изучены. Кроме того, существует также четыре PI 4-киназы и несколько PI 3-киназ, родственных протеинкиназам (называются PIKK или класс IV), включая ДНК-ПК, mTOR, ATM и ATR, каждая из которых имеет такой же каталитический домен (Abraham R.T. et al.; DNA repair 2004, 3(8-9), 883).

Была показана ключевая роль гамма-изоформы PI 3-киназы в таких процессах, как активация лейкоцитов, хемотаксис лейкоцитов и дегрануляция тучных клеток, что, таким образом, вызывает интерес к этой мишени для лечения аутоиммунных и воспалительных заболеваний (Ghigo et al., *Bioessays*, 2010, 32, p185-196; Reif et al., *J. Immunol.*, 2004, 173, p2236-2240; Laffargue et al., *Immunity*, 2002, 16, p441-451; Rommel et al., *Nature Rev. Immunology*, 2007, 7, p191; Cushing et al *J. Med. Chem.*, 2012, 55, p8559; Bergamini et al, *Nature Chem. Biol.*, 2012, 8, p576). В частности, многочисленные публикации предполагают вероятный эффект ингибиторов гамма-изоформы PI3 киназы для лечения астмы (например, Thomas et al, *Immunology*, 2008, 126, p413; Jiang et al, *J. Pharm. Exp. Ther.*, 2012, 342, p305; Takeda et al, *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2010, 152 (suppl 1), p90-95). Также сообщалось о связи ингибирования гамма-изоформы PI 3-киназы и возможной терапевтической эффективности при многих других показаниях, например, при терапии рака (Beagle and Fruman, *Cancer Cell*, 2011, 19, p693; Schmid et al, *Cancer Cell*, 2011, 19, p715; Xie et al, *Biochem. Pharm.*, 2013, 85, p1454; Subramaniam et al, *Cancer Cell*, 2012, 21, p459), диабета (Kobayashi et al, *Proc.Nat. Acad.Sci*, 2011, 108, p5753; Azzi et al, *Diabetes*, 2012, 61, p1509), сердечно-сосудистого заболевания (Fougerat et al, *Clin. Sci.*, 2009, 116, p791; Fougerat et al, *Circulation*, 2008, 117, p1310; Chang et al, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2007, 104, p8077; Fougerat et al, *Ушир. J. Pharm.*, 2012, 166, p1643), ожирения (Becattini et al, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2011, 108, pE854), болезни Альцгеймера (Passos et al, *Brain, Behaviour and Immunity*, 2010, 24, 493) и панкреатита (Lupia et al, *Am. J. Path*, 2004, 165, p2003). Недавний обзор изоформ PI 3-киназы в качестве мишеней приведен в Blajeska et al, *Current Drug Targets*, 2011, 12, p1056-1081.

В WO2009/115517 (Novartis) описываются производные аминокипиразина и пиридина в качестве ингибиторов PI 3-киназы.

В WO2009/013348 (Novartis) описываются производные аминокипримидина в качестве ингибиторов PI 3-киназы.

В WO2003/093297 (Exelixis) описываются модуляторы

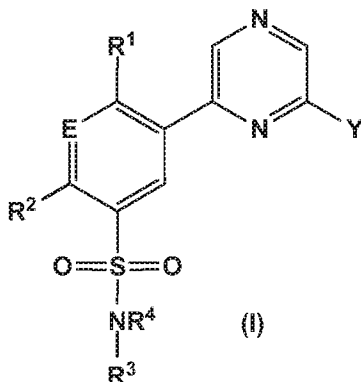
протеинкиназы и способы применения таких модуляторов.

В Leahy et al., *J. Med. Chem.*, 2012, 55 (11), pp.5467-5482, описываются ингибиторы гамма-изоформы PI 3-киназы.

Следовательно, существует потребность в мощных селективных ингибиторах гамма-изоформы PI 3-киназы.

Описание вариантов осуществления

В одном из вариантов осуществления 1 изобретения предложено соединение формулы (I)



где

E выбран из N и CR^E;

R¹, R² и R^E независимо выбраны из H, галогена, C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ галогеналкокси и C₃₋₆ циклоалкила;

R³ выбран из

(i) C₁₋₄ алкила, который не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ алкила, оксо-, -NR^{3a}R^{3b} и C₃₋₆ циклоалкила, и где C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ алкокси и C₁₋₄ галогеналкила;

(ii) C₁₋₄ алкокси, который не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ алкокси, оксо-, -NR^{3a}R^{3b} и C₃₋₆ циклоалкила, и где C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ алкокси и C₁₋₄

галогеналкила;

(iii) $-C_{3-6}$ циклоалкила или $-O-C_{3-6}$ циклоалкила, где C_{3-6} циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C_{1-4} гидроксипропила, галогена, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3} \text{ алкил})-NR^{3a}R^{3b}$;

(iv) $-(C_{0-3} \text{ алкил})-C_{3-6}$ циклоалкила или $-(O-C_{0-3} \text{ алкил})-C_{3-6}$ циклоалкила, которые спиро-конденсированы со вторым C_{3-6} циклоалкилом или C_{3-6} гетероциклом с помощью одного атома углерода, где C_{3-6} циклоалкил или C_{3-6} гетероцикл не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C_{1-4} гидроксипропила, галогена, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3} \text{ алкил})-NR^{3a}R^{3b}$;

(v) $-(C_{0-3} \text{ алкил})-C_{3-6}$ гетероцикла или $-(O-C_{0-3} \text{ алкил})-C_{3-6}$ гетероцикла, где C_{3-6} гетероцикл содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C_{3-6} гетероцикл не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, гидроксигруппы, C_{1-4} гидроксипропила, галогена, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3} \text{ алкил})-NR^{3a}R^{3b}$;

(vi) $-(C_{0-3} \text{ алкил})-C_{3-6}$ гетероцикла или $-(O-C_{0-3} \text{ алкил})-C_{3-6}$ гетероцикла, где C_{3-6} гетероцикл содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C_{3-6} гетероцикл спиро-конденсирован со вторым C_{3-6} гетероциклом или C_{3-6} циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где C_{3-6} гетероцикл или C_{3-6} циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, гидроксигруппы, C_{1-4} гидроксипропила, галогена, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3} \text{ алкил})-NR^{3a}R^{3b}$;

R^{3a} и R^{3b} независимо выбраны из H, C_{1-4} алкила и C_{1-4} галогеналкила;

R^4 выбран из H и C_{1-4} алкила; или

R^3 и R^4 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют C_{3-6} гетероцикл, где C_{3-6} гетероцикл необязательно спиро-конденсирован со вторым C_{3-6} гетероциклом или C_{3-6} циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где C_{3-6} гетероцикл и C_{3-6} циклоалкил не замещены или замещены 1-3

заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, гидроксид, C_{1-4} гидроксидалкила, галогена, C_{1-4} алкокси и C_{1-4} галогеналкила;

Y представляет собой 5-6-членный гетероарил, где гетероарил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} галогеналкила, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкокси, C_{1-4} гидроксидалкила, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкокси, галогена, $-(C_{0-3}$ алкил)- $NR^{3a}R^{3b}$, $-(C_{0-3}$ алкил)- C_{3-6} циклоалкила и $-(C_{0-3}$ алкил)- C_{3-6} гетероциклила;

или его фармацевтически приемлемая соль.

Определения

"Галоген", как используется в настоящем документе, может быть фтором, хлором, бромом или йодом.

" C_{1-4} алкил", как используется в настоящем документе, обозначает прямой или разветвленный алкил с 1-4 атомами углерода. Если указано другое число атомов углерода, например C_6 или C_3 , то определение должно быть соответствующим образом изменено, например " C_{1-4} алкил" будет означать метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил.

" C_{1-4} алкокси", как используется в настоящем документе, относится к группе $-O-C_{1-4}$ алкил, где C_{1-4} алкил такой, как определено в настоящем документе. Примеры таких групп включают метокси, этокси, пропокси, бутокси, пентокси или гексокси, и тому подобное. Что касается алкила, если конкретная структура не указана, то термины пропокси, бутокси и тому подобное включают формы линейной и разветвленной цепи, имеющие соответствующее число атомов углерода, например, пропокси включает n-пропокси и изопропокси.

" C_{1-4} галогеналкокси", как используется в настоящем документе, относится к группе $-O-C_{1-4}$ алкила, где C_{1-4} алкил такой, как определено в настоящем документе, и замещенный одной или более группами галогена, например $-O-CF_3$.

" C_{1-4} галогеналкил", как используется в настоящем документе, означает прямую цепь или разветвленный алкил, имеющий 1-4 атомов углерода по меньшей мере с одним атомом водорода, замещенным галогеном. Если указано отличное число

атомов углерода, например, C_6 или C_3 , то такое определение должно быть соответствующим образом изменено, например, " C_1 - C_4 -галогеналкил" будет представлять собой метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил, который имеет по меньшей мере один водород, замещенный галогеном, например, галоген представляет собой фтор: CF_3CF_2- , $(CF_3)_2CH-$, CH_3-CF_2- , CF_3CF_2- , CF_3 , CF_2H- , $CF_3CF_2CHCF_3$ или $CF_3CF_2CF_2CF_2-$.

" C_3 - 8 циклоалкил", как используется в настоящем описании, относится к насыщенному моноциклическому углеводородному кольцу из 3-8 атомов углерода. Примеры таких групп включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. Если указано различное число атомов углерода, то определение должно быть соответствующим образом изменено.

Термин "гидрокси" или "гидроксил" относится к $-OH$.

" C_1 - 4 гидроксиалкил", как используется в настоящем документе, означает прямую цепь или разветвленный алкил, имеющий 1-4 атомов углерода по меньшей мере с одним атомом водорода, замещенным гидроксигруппой. Если указано отличное число атомов углерода, например, C_6 или C_3 , то определение должно быть соответствующим образом изменено, например " C_1 - C_4 гидроксиалкил" будет означать метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил, который имеет по меньшей мере один водород, замещенный гидроксигруппой.

" C_3 - 6 циклоциклическое кольцо" относится к 3-6-членной насыщенной или частично ненасыщенной алифатической кольцевой системе, которая содержит от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из кислорода и азота. Подходящие примеры таких кольцевых систем включают пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, морфолинил, тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, пирролинил или оксазолинил.

"5-6-членный гетероарил" относится к 5-6-членной ароматической кольцевой системе, которая содержит 1-3 гетероатомов, выбранных из кислорода, азота или серы. Примеры 5-членных гетероарильных колец в данном случае включают фуранил, пирролил, оксазолил, тиазолил, имидазолил,

оксадиазолил, тиадиазолил, триазолил, тиазолил, изоксазолил, тиофенил или пиразолил. Примеры 6-членных гетероарильных колец включают пиридинил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил или триазинил.

"Оксо" относится к =O.

Термин, относящийся к единственному числу, и аналогичные термины, используемые в контексте настоящего изобретения (особенно в контексте формулы изобретения), должен толковаться как охватывающий и единственное, и множественное число, если в настоящем документе не указано иное, или это явно не противоречит контексту.

Термин "лечение", как используется в настоящем изобретении, относится как к симптоматическому, так и профилактическому лечению, в частности к симптоматическому.

В настоящем документе описаны различные варианты осуществления настоящего изобретения. Следует принимать во внимание, что признаки, указанные в каждом варианте осуществления, могут быть объединены с другими указанными признаками, чтобы обеспечить дополнительные варианты осуществления.

В одном из вариантов осуществления 2 изобретения предложено соединение формулы (I), где

E выбран из N и CR^E;

R¹, R² и R^E независимо выбраны из H, галогена, C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ галогеналкокси и C₃₋₆ циклоалкила;

R³ выбран из

(i) C₁₋₄ алкила, который замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксипропила, галогена, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ алкила, оксо-, NR^{3a}R^{3b} и C₃₋₆ циклоалкила, и где C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксипропила, галогена, C₁₋₄ алкокси и C₁₋₄ галогеналкила;

(ii) C₁₋₄ алкокси, который замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксипропила, галогена, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ алкокси, оксо-, -

$\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$ и C_{3-6} циклоалкил, и где C_{3-6} циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} алкокси и C_{1-4} галогеналкила;

(iii) $-\text{C}_{3-6}$ циклоалкила или $-\text{O}-\text{C}_{3-6}$ циклоалкила, где C_{3-6} циклоалкил замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкила и $-(\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

(iv) $-(\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{C}_{3-6}$ циклоалкила или $-(\text{O}-\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{C}_{3-6}$ циклоалкила, спиро-конденсированных со вторым C_{3-6} циклоалкилом или C_{3-6} гетероциклилом с помощью одного атома углерода, где второй C_{3-6} циклоалкил или C_{3-6} гетероциклил замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкила и $-(\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

(v) $-(\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{C}_{3-6}$ гетероциклила или $-(\text{O}-\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{C}_{3-6}$ гетероциклила, где C_{3-6} гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C_{3-6} гетероциклил замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} галогеналкила и $-(\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

(vi) $-(\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{C}_{3-6}$ гетероциклила или $-(\text{O}-\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{C}_{3-6}$ гетероциклила, где C_{3-6} гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C_{3-6} гетероциклил конденсирован со вторым C_{3-6} гетероциклилом или C_{3-6} циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где указанный второй C_{3-6} гетероциклил или C_{3-6} циклоалкил замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} галогеналкила и $-(\text{C}_{0-3}$ алкил) $-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$;

R^{3a} и R^{3b} независимо выбраны из H, C_{1-4} алкила и C_{1-4} галогеналкила;

R^4 выбран из H и C_{1-4} алкила; или

R^3 и R^4 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют C_{3-6} гетероциклил, где C_{3-6} гетероциклил необязательно спиро-конденсирован со вторым C_{3-6} гетероциклилом или C_{3-6} циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где C_{3-6}

гетероциклил и C_{3-6} циклоалкил не замещены или замещены 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, гидроксигруппы, C_{1-4} гидроксигруппы, галогена, C_{1-4} алкокси и C_{1-4} галогеналкила;

Y представляет собой 5-6-членный гетероарил, где гетероарил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} галогеналкила, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} гидроксигруппы, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкокси, галогена, $-(C_{0-3}$ алкил)- $NR^{3a}R^{3b}$, $-(C_{0-3}$ алкил)- C_{3-6} циклоалкила и $-(C_{0-3}$ алкил)- C_{3-6} гетероциклила;

или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном из вариантов осуществления 3 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 1 или 2, где E представляет собой CR^E , и R^E представляет собой H. В одном из вариантов осуществления 4 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-3, где R^1 выбран из C_{1-4} алкила и H.

В одном из вариантов осуществления 5 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 4, где R^1 выбран из метила и H, в частности метила.

В одном из вариантов осуществления 6 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-5, где R^2 выбран из H, C_{1-4} алкила и галогена.

В одном из вариантов осуществления 7 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 6, где R^2 выбран из H, фтора, хлора и метила, в частности H и фтора, особенно H.

В одном из вариантов осуществления 8 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-7, где R^3 выбран из

(i) C_{1-4} алкила, замещенного 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C_{1-4} алкила, галогена, оксо и $NR^{3a}R^{3b}$;

(ii) C_{1-4} алкокси, замещенного 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, галогена и C_{1-4} алкила;

(iii) - (C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила, где C₃₋₆ циклоалкил замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C₁₋₄ гидроксиалкила и галогена;

(iv) - (C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила, спиро-конденсированного со вторым C₃₋₆ циклоалкилом с помощью одного атома углерода, где второй C₃₋₆ циклоалкил замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид и галогена; и

(v) - (C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ гетероциклила, где C₃₋₆ гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C₃₋₆ гетероциклил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C₁₋₄ алкила и C₁₋₄ гидроксиалкила;

(vi) - (C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ гетероциклила, где C₃₋₆ гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C₃₋₆ гетероциклил спиро-конденсирован со вторым C₃₋₆ гетероциклилом или C₃₋₆ циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где C₃₋₆ гетероциклил или C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C₁₋₄ алкила, гидроксид и C₁₋₄ гидроксиалкила;

R^{3a} и R^{3b} независимо выбраны из H и C₁₋₄ алкила;

R⁴ выбран из H и C₁₋₄ алкила; или

R³ и R⁴ вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют C₃₋₆ гетероциклил, где C₃₋₆ гетероциклил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C₁₋₄ гидроксиалкила и C₁₋₄ алкила.

В одном из вариантов осуществления 9 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-7, где R³ представляет собой C₁₋₄ алкила, который не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C₁₋₄ гидроксиалкила, галогена, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ алкила, оксо, -NR^{3a}R^{3b} и C₃₋₆ циклоалкила, и где C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C₁₋₄ гидроксиалкила, галогена, C₁₋₄ алкокси и C₁₋₄ галогеналкила.

В одном из вариантов осуществления 10 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом

осуществления 9, где R^3 выбран из пропила, бутила и пентила, замещенного 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} алкила, галогена, $-NR^{3a}R^{3b}$ и оксо.

В одном из вариантов осуществления 11 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 9, где R^3 выбран из

- 3-гидроксипропил-;
- 3-гидрокси-2,2-диметилпропил-;
- 3-гидрокси-3-метилбутил-;
- 2-гидрокси-2-метилпропил-;
- 4,4,4-трифтор-3-гидроксибутил-;
- 2,2-дифторэтил-;
- 3,3-диметил-2-оксобутил; и
- 3,3,3-трифтор-2-гидрокси-2-метилпропил-.

В одном из вариантов осуществления 12 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 11, где R^3 выбран из

- 3-гидроксипропил-;
- 3-гидрокси-2,2-диметилпропил-;
- 2-гидрокси-2-метилпропила; и
- 3-гидрокси-3-метилбутил-.

В одном из вариантов осуществления 13 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-7, где R^3 представляет собой C_{1-4} алкокси, который не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} галогеналкила, C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, оксо, $-NR^{3a}R^{3b}$ и C_{3-6} циклоалкила, и где C_{3-6} циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} алкокси и C_{1-4} галогеналкила;

В одном из вариантов осуществления 14 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 13, где R^3 выбран из пропокси, бутокси и пентокси, замещенного 1-3 заместителями, выбранными из гидроксид, C_{1-4} алкила и галогена.

В одном из вариантов осуществления 15 изобретения

предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 14, где R^3 представляет собой 2-гидрокси-2-метилпропокси-.

В одном из вариантов осуществления 16 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-7, где R^3 представляет собой $-C_{3-6}$ циклоалкил или $-O-C_{3-6}$ циклоалкил, где C_{3-6} циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3}$ алкил) $-NR^{3a}R^{3b}$.

В одном из вариантов осуществления 17 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 16, где R^3 выбран из $-(C_{0-3}$ алкил)циклогексила, $-(C_{0-3}$ алкил)циклобутила и $-(C_{0-3}$ алкил)циклопропила, и где циклогексил, циклобутил и циклопропил замещены 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-4} гидроксиалкила и галогена.

В одном из вариантов осуществления 18 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 17, где R^3 выбран из

- 4-гидроксициклогексил-;
- 3-гидроксициклобутил-метил-;
- 1-гидроксициклобутил-метил-;
- 1-(гидроксиметил)циклопропила; и
- 1-гидроксициклопропил-метил-.

В одном из вариантов осуществления 19 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 17, где R^3 выбран из

- 4-гидроксициклогексил- и
- 3-гидроксициклобутилметил-.

В одном из вариантов осуществления 20 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-7, где R^3 представляет собой $-(C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ циклоалкил или $-(O-C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ циклоалкил, спироконденсированные со вторым C_{3-6} циклоалкилом или C_{3-6} гетероциклилом с помощью одного атома углерода, где C_{3-6}

циклоалкил или C_{3-6} гетероциклил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3}$ алкил) $-NR^{3a}R^{3b}$.

В одном из вариантов осуществления 21 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 20, где R^3 выбран из спиро[3.3]гептан-2-ила, спиро[3.4]октан-6-ила, спиро[4.4]нонан-2-ила и спиро[3.4]ундекан-3-ила, который замещен 1-3 заместителями, выбранными из гидроксид и галогена.

В одном из вариантов осуществления 22 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 21, где R^3 представляет собой 6-гидроксиспиро[3.3]гептан-2-ил.

В одном из вариантов осуществления 23 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-7, где R^3 представляет собой $-(C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ гетероциклил, где C_{3-6} гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C_{3-6} гетероциклил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} алкила и C_{1-4} гидроксиалкила;

или $-(C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ гетероциклила или $-(O-C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ гетероциклила, где C_{3-6} гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C_{3-6} гетероциклил спиро-конденсирован со вторым C_{3-6} гетероциклилом или C_{3-6} циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где C_{3-6} гетероциклил или C_{3-6} циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, гидроксид, C_{1-4} гидроксиалкила, галогена, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3}$ алкил) $-NR^{3a}R^{3b}$.

В одном из вариантов осуществления 24 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 23, где R^3 выбран из $-(C_{0-3}$ алкил) $-$ тетрагидрофуранила, $-(C_{0-3}$ алкил) $-$ оксетанила, $-(C_{0-3}$ алкил) $-$ пирролидинила и $-(C_{0-3}$ алкил) $-$ тетрагидропиранила, каждый из

которых не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C_{1-4} алкила и C_{1-4} гидроксипропила.

В одном из вариантов осуществления 25 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 24, где R^3 выбран из

- (1-этилпирролидин-2-ил) метила,
- (тетрагидро-2H-пиран-4-ил),
- (3-гидроксиоксетан-3-ил) метила,
- (3-метилоксетан-3-ил) метила,
- (4-гидрокси-тетрагидропиран) метила,
- (3-гидроксиметил-оксетан-3-ил) метила и
- (тетрагидрофуран-3-ил) метила.

В одном из вариантов осуществления 26 изобретения предложено соединение соли в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-25, где R^4 представляет собой H или метил.

В одном из вариантов осуществления 27 изобретения предложено соединение соли в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-7, где R^3 и R^4 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют C_{3-6} гетероцикл, где гетероцикл не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, гидроксигруппы, C_{1-4} гидроксипропила, галогена, C_{1-4} алкокси и C_{1-4} галогеналкила.

В одном из вариантов осуществления 28 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 27, где R^3 и R^4 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют пиперазинил, пиперидинил или азетидинил, которые не замещены или замещены 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C_{1-4} гидроксипропила и C_{1-4} алкила.

В одном из вариантов осуществления 29 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 28, где R^3 и R^4 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют

- 3-(трифторметил)пиперазин-1-ил,
- 3,3-дифторпиперидин-1-ил или
- 1-(гидроксиметил)азетидин-3-ил.

В одном из вариантов осуществления 30 изобретения предложено соединение соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-29, где Y выбран из

- тиазолила,
- пиразолила,
- пиридила,
- тиазолила,
- имидазолила,
- оксадиазолила,
- пиримидинила,
- изоксазолила,
- оксазолила и
- тиенила;

каждый из которых не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} галогеналкила, C_{1-4} алкокси C_{1-4} алкила, C_{1-4} гидроксиалкила, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкокси, галогена, $-NR^{3a}R^{3b}$, $-(C_{0-3}$ алкил)- C_{3-6} циклоалкила и $-(C_{0-3}$ алкил)- C_{3-6} гетероциклила.

В одном из вариантов осуществления 31 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 30, где Y выбран из

- тиазол-5-ила,
- пиразол-4-ила,
- пиразол-5-ила,
- пиразол-1-ила,
- пирид-4-ила,
- пирид-3-ила,
- 1,2,4-тиазол-1-ила,
- 1,2,3-тиазол-4-ила,
- имидазол-1-ила,
- 1,2,4-оксадиазол-5-ила,
- 1,3,4-оксадиазол-2-ила,
- оксазол-5-ила,
- изоксазол-5-ила,
- пиримидин-5-ила,
- тиен-3-ила,

каждый из которых не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} галогеналкила, C_{1-4} алкокси C_{1-4} алкила, C_{1-4} гидроксиалкила, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкокси и $-(C_{0-3}$ алкил)- C_{3-6} циклоалкила.

В одном из вариантов осуществления 32 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 31, где Y выбран из

- тиазол-5-ила,
- пиразол-4-ила,
- пиразол-5-ила,
- пиразол-1-ила,
- пирид-4-ила,
- пирид-3-ила,
- 1,2,4-тиазол-1-ила,
- 1,2,3-тиазол-4-ила,
- имидазол-1-ила,
- 1,2,4-оксадиазол-5-ила,
- оксазол-5-ила,
- изоксазол-5-ила,
- пиримидин-5-ила,
- тиен-3-ила,

каждый из которых не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из метила, этила, пропила, изопропила, циклопропила, CF_3 , CF_3CH_2- , гидроксиэтила, метоксиэтила и метокси.

В одном из вариантов осуществления 33 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 30, где Y выбран из

- 5-морфолин-4-илметил-тиен-3-ила,
- 3-циклопропил-[1,2,4]тиазол-1-ила,
- 2-циклопропил-тиазол-5-ила,
- 2,5-диметил-2Н-[1,2,3]тиазол-4-ила,
- 2-метилтиазол-5-ила,
- 1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ила,
- 1,2,4-тиазол-1-ила,
- 3-изопропил-1,2,4-оксадиазол-5-ила,

- 3-метил-[1,2,4]оксадиазол-5-ила,
- 1-метил-1Н-пиразол-4-ила,
- 1Н-пиразол-1-ила,
- 3-этил-1,2,4-оксадиазол-5-ила,
- 2-метил-2Н-1,2,3-тиазол-4-ила,
- (2,2,2-трифтор-этил)-1Н-пиразол-4-ил
- 1Н-пиразол-4-ила,
- 3-метилизоксазол-5-ила,
- 2-метилпиридин-4-ил) пиразин-2-ила,
- 1Н-1,2,4-тиазол-1-ила,
- 3-пропил-1,2,4-оксадиазол-5-ила,
- 2-метил-оксазол-5-ила,
- пиримидин-5-ила,
- 3-метил-1Н-1,2,4-тиазол-1-ила,
- 5-метил-1,3,4-оксадиазол-2-ила,
- 1-метил-1Н-пиразол-5-ила,
- пирид-3-ила,
- пирид-4-ила,
- 2-метил-пирид-4-ила,
- 3-метил-1,2,4-оксадиазол-5-ила,
- 2-метилтиазол-4-ила,
- 4-метил-1Н-имидазол-1-ила,
- 1-этил-1Н-пиразол-4-ила,
- 3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ила,
- 3-циклопропил-1,2,4-оксадиазол-5-ила,
- 3-метилизоксазол-5-ила,
- 1-изопропил-1Н-пиразол-4-ила,
- 1Н-1,2,4-тиазол-1-ила,
- 1-пропил-1Н-пиразол-4-ила,
- 4-метоксипиридин-3-ила,
- пиразол-3-ила,
- 3-метилизоксазол-5-ила и
- 1-(2-метоксиэтил)-1Н-пиразол-4-ила.

В одном из вариантов осуществления 34 изобретения предложено соединение соль в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-29, где Y выбран из

- тиазолила,
- оксадиазолила,
- изооксалололила,
- пиразолила,
- пиридила и
- тиазолила,

каждый из которых не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ галогеналкокси, -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила и -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ гетероциклила.

В одном из вариантов осуществления 35 изобретения предложено соединение или соль в соответствии с вариантом осуществления 34, где Y выбран из

- тиазол-5-ила,
- изоксазол-5-ила,
- оксадиазол-5-ила,
- пиразол-4-ила,
- пиразол-5-ила,
- пиразол-1-ила,
- пирид-4-ила,
- пирид-3-ила,
- 1,2,4-тиазол-1-ила,
- 1,2,3-тиазол-4-ила,

каждый из которых не замещен или замещен 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из метила, этила, пропила и изопропила.

В одном из вариантов осуществления 36 изобретения предложено соединение в соответствии с вариантом осуществления 1, выбранное из

N-(3-гидрокси-пропил)-4-метил-3-[6-(2-метилтиазол-5-ил)-пиразин-2-ил]бензолсульфонамида;

3-[6-(1,3-диметил-1H-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)-4-метилбензолсульфонамида;

3-[6-(1,3-диметил-1H-пиразол-4-ил)-пиразин-2-ил]-N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метилбензолсульфонамида;

3-[6-(1,3-диметил-1H-пиразол-4-ил)-пиразин-2-ил]-4-метил-

N- (3-метилоксетан-3-илметил) бензолсульфонамида;

транс-N- (4-гидроксициклогексил) -4-метил-3- (6- (2-метилтиазол-5-ил) пиразин-2-ил) бензолсульфонамида;

3- [6- (1, 3-диметил-1Н-пиразол-4-ил) пиразин-2-ил] -N- (6-гидроксиспиро [3.3] гепт-2-ил) -4-метилбензолсульфонамида;

цис 3- [6- (1, 3-диметил-1Н-пиразол-4-ил) пиразин-2-ил] -N- (3-гидроксициклобутилметил) -4-метилбензолсульфонамида;

3- [6- (1, 3-диметил-1Н-пиразол-4-ил) пиразин-2-ил] -N- (3-гидрокси-2, 2-диметилпропил) -4-метилбензолсульфонамида;

N- (3-гидрокси-3-метилбутил) -4-метил-3- { 6- [1- (2-морфолин-4-илэтил) -1Н-пиразол-4-ил] пиразин-2-ил } бензолсульфонамида;

N- (3-гидрокси-3-метилбутил) -4-метил-3- { 6- [3-метил-1- (2-морфолин-4-илэтил) -1Н-пиразол-4-ил] пиразин-2-ил } - бензолсульфонамида;

транс N- (4-гидроксициклогексил) -4-метил-3- (6-пиридин-3-ил-пиразин-2-ил) бензолсульфонамида;

транс N- (4-гидроксициклогексил) -4-метил-3- [6- (5-морфолин-4-илметилтиофен-3-ил) пиразин-2-ил] бензолсульфонамида;

цис 3- [6- (2, 5-диметил-2Н-пиразол-3-ил) пиразин-2-ил] -N- (3-гидроксициклобутилметил) -4-метилбензолсульфонамида;

или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте осуществления 37 настоящего изобретения предлагается соединение или соль по любому из вариантов осуществления 1-36, или его фармацевтически приемлемая соли для применения в медицине.

В одном варианте осуществления 38 настоящего изобретения предлагается соединение или соль по любому из вариантов осуществления 1-36 для применения в лечении расстройства или заболевания, опосредованного активацией гамма-изоформы PI 3-киназы (P110-γ).

В одном варианте осуществления 39 настоящего изобретения предлагается соединение или соль по любому из вариантов осуществления 1-36 для применения в лечении воспалительных, обструктивных или аллергических состояний.

В одном варианте осуществления 409 настоящего изобретения

предлагается соединение или соль по любому из вариантов осуществления 1-36 для применения в лечении заболеваний дыхательных путей, аллергии, ревматоидного артрита, остеоартрита, ревматических заболеваний, псориаза, язвенного колита, болезни Крона, септического шока, пролиферативных заболеваний, таких как рак, атеросклероз, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, диабета, инсульта, ожирения и рестеноза.

В одном варианте осуществления 41 настоящего изобретения предлагается соединение или соль по любому из вариантов осуществления 1-36 для применения в лечении заболеваний дыхательных путей, в частности астмы, COPD, COAD, COLD, хронического бронхита, одышки или эмфиземы, в частности астмы.

В одном варианте осуществления 42 настоящего изобретения предлагается применение соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 или его фармацевтически приемлемой соли, для получения лекарственного средства для лечения расстройства или заболевания, опосредованного активацией гамма-изоформы PI 3-киназы (P110- γ).

В одном варианте осуществления 43 настоящего изобретения предлагается применение соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 для или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для лечения заболеваний дыхательных путей, аллергии, ревматоидного артрита, остеоартрита, ревматических заболеваний, псориаза, язвенного колита, болезни Крона, септического шока, пролиферативных заболеваний, таких как рак, атеросклероз, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, диабета, инсульта, ожирения и рестеноза.

В одном варианте осуществления 44 настоящего изобретения предлагается применение соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 или его фармацевтически приемлемой соли для получения средства для лечения заболеваний дыхательных путей, в частности астмы, COPD, COAD, COLD, хронического бронхита, одышки или эмфиземы, в частности астмы.

В одном варианте осуществления 45 настоящего изобретения предлагается применение соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения расстройства или заболевания, опосредованного активация гамма-изоформы PI 3-киназы (P110- γ).

В одном варианте осуществления 46 настоящего изобретения предлагается применение соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 для или его фармацевтически приемлемой соли для лечения заболеваний дыхательных путей, аллергии, ревматоидного артрита, остеоартрита, ревматических заболеваний, псориаза, язвенного колита, болезни Крона, септического шока, пролиферативных заболеваний, таких как рак, атеросклероз, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, диабета, инсульта, ожирения и рестеноза.

В одном варианте осуществления 47 настоящего изобретения предлагается применение соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения заболеваний дыхательных путей, в частности астмы, COPD, COAD, COLD, хронического бронхита, одышки или эмфиземы, в частности астмы.

В одном варианте осуществления 48 настоящего изобретения предложен способ лечения расстройства или заболевания, опосредованного активацией гамма-изоформы PI 3-киназы (P110- γ), включающий введение индивиду, при необходимости, терапевтически эффективного количества соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 или его фармацевтически приемлемой соли.

В одном варианте осуществления 48 настоящего изобретения предлагается способ лечения заболеваний дыхательных путей, аллергии, ревматоидного артрита, остеоартрита, ревматических заболеваний, псориаза, язвенного колита, болезни Крона, септического шока, пролиферативных заболеваний, таких как рак, атеросклероз, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, диабета, инсульта, ожирения и рестеноза, включающий

введение индивиду, при необходимости, терапевтически

эффективного количества соединения по любому из вариантов осуществления 1-36, или его фармацевтически приемлемой соли.

В одном варианте осуществления 50 настоящего изобретения предложен способ лечения респираторных заболеваний, в частности астмы, COPD, COAD, COLD, хронического бронхита, одышки или эмфиземы легких, в частности, астмы, включающий введение индивиду, при необходимости, терапевтически эффективного количества соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 или его фармацевтически приемлемой соли.

В одном варианте осуществления 51 настоящего изобретения предлагается фармацевтическая композиция, содержащая:

терапевтически эффективное количество соединения по любому из вариантов осуществления 1-36 или его фармацевтически приемлемой соли, и один или более фармацевтически приемлемых носителей.

В одном варианте осуществления 52 настоящего изобретения предлагается фармацевтическая комбинация, содержащая:

терапевтически эффективное количество соединения по любому из вариантов осуществления 1-36, или его фармацевтически приемлемой соли, и второе активное средство.

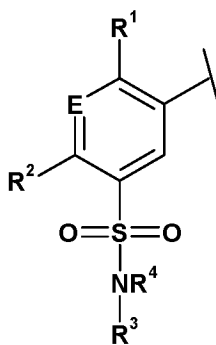
В одном варианте осуществления 53 настоящего изобретения предлагается фармацевтическая комбинация в соответствии с вариантом осуществления 52, где второе активное средство выбрано из противовоспалительное, бронхолитического или антигистаминного лекарственного вещества.

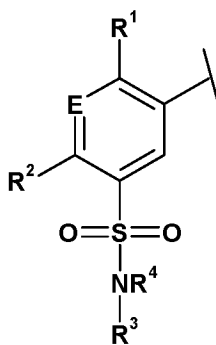
В другом варианте осуществления индивидуальные соединения по настоящему изобретению являются соединениями, перечисленными в разделе "Примеры" ниже.

Термин "соединения по настоящему изобретению" или "соединение по настоящему изобретению" относится к соединению, как определено в любом из вариантов осуществления 1-36.

Соединения, как это определено в вариантах 1-36, могут быть синтезированы в соответствии с общими способами синтеза ниже, конкретные примеры которых описаны более подробно в разделе "Примеры".

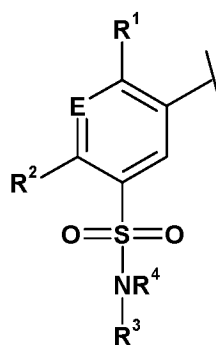
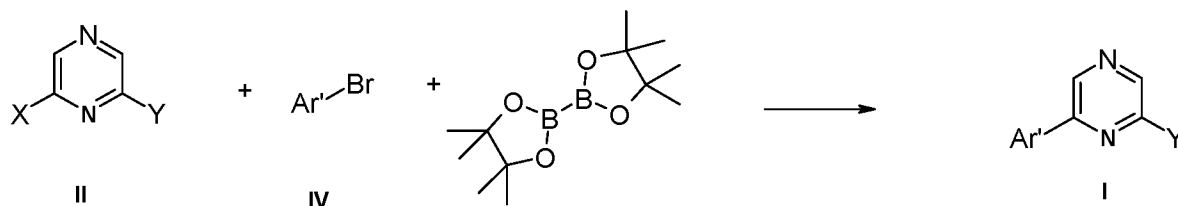
Схема 1



где Ar' относится к , и Y, R¹, R², R³, R⁴ и E определены в варианте осуществления 1, и X представляет собой галоген, такой как I, Br или Cl.

Реакцию между соединениями V и VI проводят, используя подходящий палладиевый катализатор, такой как Pd(dppf)Cl₂, в подходящем растворителе, таком как DME или MeCN. В реакции обычно используют основание, такое как карбонат натрия или KOAc, и она может быть проведена при повышенных температурах, таких температура кипения с обратным холодильником.

Схема 3



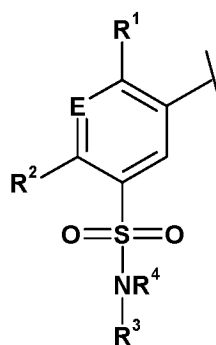
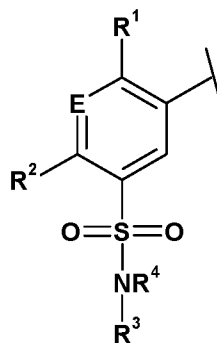
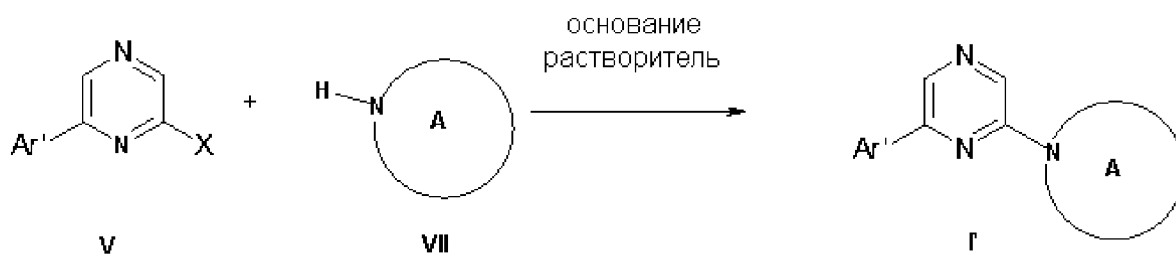
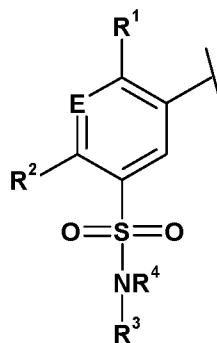
где Ar' относится к , и Y, R¹, R², R³, R⁴ и E определены в варианте осуществления 1, и X представляет собой галоген, такой как I, Br или Cl. Эту реакцию проводят в две стадии, за одnoreакторным боронилированием следует реакция Сузуки, используя обычные условия для обеих стадий, например, катализатор Pd.

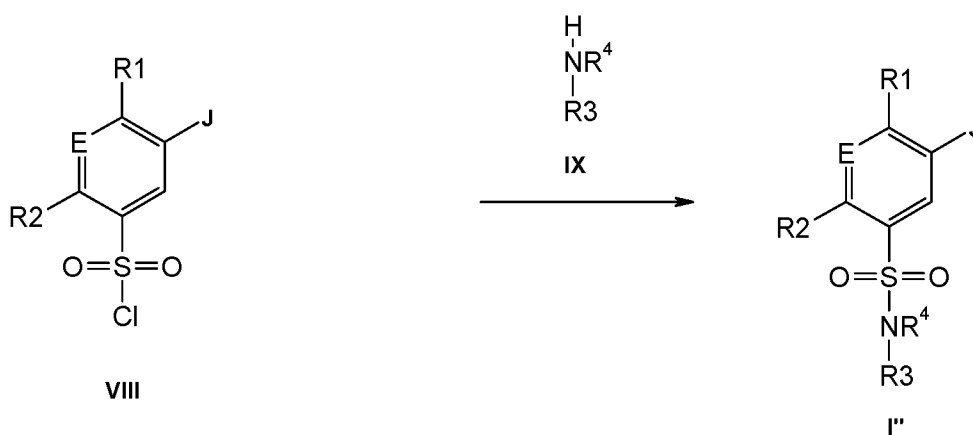
Схема 4



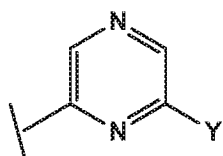
где Ar' относится к , и R¹, R², R³, R⁴ и E определены в варианте осуществления 1, X представляет собой галоген такой как I, Br или Cl, и A представляет собой 5-6-членный гетероарил, как определено в настоящем документе.

Реакцию проводят в присутствии подходящего основания, такого как амин, или гидроксида щелочного металла или карбоната, например, NaN или CsCO₃, в подходящем растворителе, таком как диметил ацетамид (DMA), обычно при повышенной температуре, до 150°C, необязательно в присутствии CuI и N,N-диметилглицина.

Схема 5



где Y, R¹, R², R³, R⁴ и E определены в варианте осуществления 1, и J представляет собой бром или



Соединение формулы I'' может быть получено путем реакции VIII с амином IX в присутствии подходящего основания, такого как пиридин, триэтиламин или диизопропилэтиламин, в подходящем растворителе, таком как DCM, THF, пиридин или диметилацетамид, при подходящей температуре, такой как от 0°C до комнатной температуры.

Соединения формулы II являются коммерчески доступными или могут быть получены в соответствии с известными способами. Соединения формулы III являются коммерчески доступными или могут быть получены из соединений формулы IV, используя стандартные условия, хорошо известные специалистам в данной области (см., экспериментальную часть 'Вороновые эфиры'). Соединения формулы V могут быть получены путем реакции соединения формулы III с соединением формулы VIII в обычных условиях реакции Сузуки (см., Схема 6) или могут быть получены путем взаимодействия соединения формулы III с соединением формулы IX в обычных условиях реакции Сузуки, а затем путем галогенирования (см., Схема 7)

Схема 6

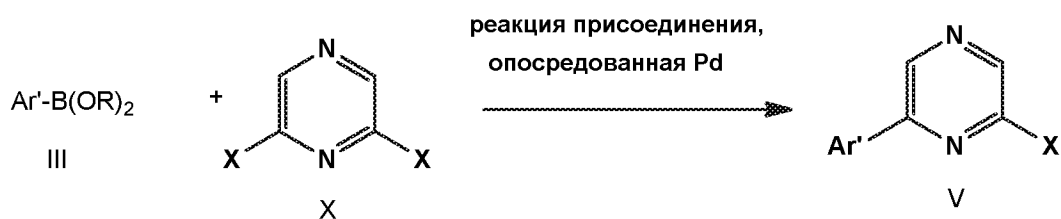
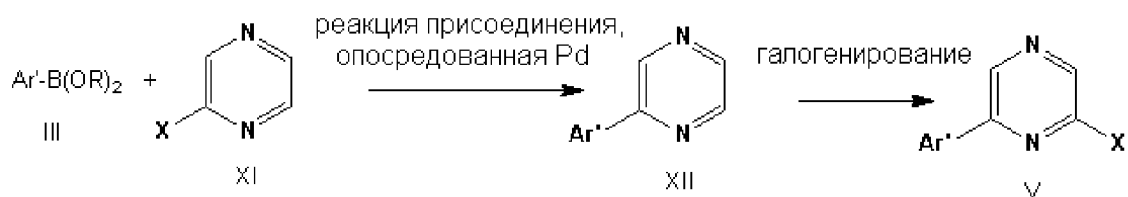
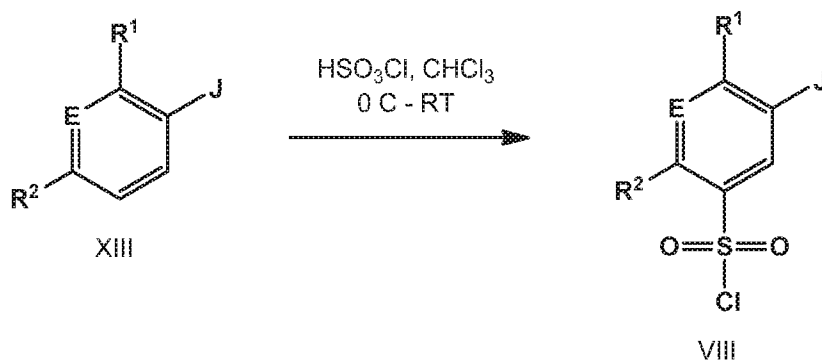


Схема 7



Соединения формулы VI являются коммерчески доступными или могут быть получены в соответствии с известными способами. Соединения формулы VIII являются коммерчески доступными или могут быть получены в соответствии со следующей Схемой 8.

Схема 8



Кроме того, изобретение включает любой вариант настоящих способов, когда промежуточный продукт, получаемый на любой стадии, используют в качестве исходного вещества и проводят остальные стадии, или когда исходные вещества образуются *in situ* в условиях реакции, или когда компоненты реакции используют в виде солей или оптически чистого вещества.

Соединения по настоящему изобретению и промежуточные вещества могут быть также преобразованы друг в друга в соответствии со способами, известными специалистам в данной области.

В рамках настоящего текста только легко удаляемая группа, которая не является частью конкретного желаемого конечного продукта соединений по настоящему изобретению, обозначается как "защитная группа", если из контекста не следует иного. Защита функциональных групп такими защитными группами, сами защитные группы и реакции их отщепления описаны, например, в стандартных справочных работах, таких как J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973; T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", третье издание, Wiley, New York 1999; "The Peptides", том 3 (под редакцией: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981; "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl,

4-ое издание, том 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974; H.-D. Jakubke and H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides, Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982; и Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Характерной чертой защитных групп является тот факт, что они могут быть легко удалены (т.е. без возникновения нежелательных побочных реакций), например, путем сольволиза, восстановления, фотолиза или, альтернативно, в физиологических условиях (например, ферментативным расщеплением).

Соли соединений по настоящему изобретению, имеющих по меньшей мере одну солеобразующую группу, могут быть получены способом, известным специалистам в данной области. Например, соли соединений по настоящему изобретению, имеющих кислотные группы, могут быть образованы, например, путем обработки соединений соединениями металлов, например, соли щелочных металлов соответствующих органических карбоновых кислот, например, натриевая соль 2-этилгексановой кислоты, органическими соединениями щелочных металлов или щелочноземельных металлов, например, соответствующие гидроксиды, карбонаты или гидрокарбонаты, такие как гидроксид натрия или калия, карбонат или гидрокарбонат, соответствующими соединениями кальция или аммиаком или подходящим органическим амином, используя стехиометрические количества или небольшой избыток солеобразующего агента. Кислотно-аддитивные соли соединений по настоящему изобретению получают обычным способом, например, путем обработки соединений кислотой или подходящим анионообменным реагентом. Внутренние соли соединений по настоящему изобретению, содержащих кислотные и основные солеобразующие группы, например, свободная карбоксигруппа и свободная аминогруппа, могут быть образованы, например, путем нейтрализации солей, таких как кислотно-аддитивные соли, до изоэлектрической точки, например, слабыми основаниями или обработкой ионообменными реагентами.

Соли могут быть превращены в свободные соединения в соответствии со способами, известными специалистам в данной области. Соли металлов и аммониевые соли могут быть преобразованы, например, обработкой подходящими кислотами и кислотнo-аддитивными солями, например, обработкой подходящим щелочным агентом.

Смеси изомеров, которые могут быть получены по настоящему изобретению, могут быть разделены способами, известными специалистам в данной области, на отдельные изомеры; диастереоизомеры могут быть разделены, например, путем распределения между многофазной смесью растворителей, перекристаллизацией и/или хроматографическим разделением, например, на силикагеле, или, например, жидкостной хроматографией через колонку с обращенной фазой, а рацематы могут быть разделены, например, путем образования солей с оптически чистыми солеобразующими реагентами и путем разделения смеси диастереоизомеров, полученной таким образом, например, с помощью фракционной кристаллизации или хроматографией на колонке с оптически активными веществами.

Промежуточные и конечные продукты могут быть обработаны и/или очищены в соответствии со стандартными способами, например, используя хроматографические способы, способы распределения, (пере)кристаллизации и тому подобное.

Следующее относится вообще ко всем процессам, указанным в настоящем документе ранее и далее.

Все вышеуказанные стадии способа могут быть выполнены в условиях реакции, которые известны специалистам в данной области, в том числе в условиях, которые конкретно указаны, в частности, в отсутствие или, обычно, в присутствии растворителей или разбавителей, в том числе, например, растворители или разбавители, которые являются инертными по отношению к используемым реагентам и растворяют их, в отсутствие или в присутствии катализаторов, агентов конденсации или нейтрализующих агентов, например, ионообменных агентов, таких как катионообменные агенты, например в форме H^+ , в зависимости от природы реакции и/или реагентов при пониженной,

нормальной или повышенной температуре, например, в температурном интервале от примерно -100°C до примерно 190°C , в том числе, например, от примерно -80°C до примерно 150°C , например, при температуре от -80 до -60°C , при комнатной температуре, при температуре от -20 до 40°C или при температуре кипения с обратным холодильником, в атмосферном давлении или в закрытом сосуде, при необходимости под давлением и/или в инертной атмосфере, например, в атмосфере аргона или азота.

На всех стадиях реакций, смеси изомеров, которые образуются, могут быть разделены на индивидуальные изомеры, например, диастереоизомеры или энантиомеры, или на любые смеси изомеров, например, рацематы или смеси диастереомеров, например, по аналогии со способами, описанными в разделе "Дополнительные стадии способа".

Растворители, из которых могут быть выбраны эти растворителей, которые подходят для любой конкретной реакции, включают растворители, которые конкретно указаны или, например, воду, сложные эфиры, такие как низшие алкилы-низшие алканоаты, например этил ацетат, простые эфиры, такие как алифатические эфиры, например диэтиловый эфир, или циклические эфиры, например тетрагидрофуран или диоксан, жидкие ароматические углеводороды, такие как бензол или толуол, спирты, такие как метанол, этанол или 1- или 2-пропанол, нитрилы, такие как ацетонитрил, галогенированные углеводороды, такие как метиленхлорид или хлороформом, кислые амиды, такие как диметилформаид или диметилацетаид, основания, такие, как гетероциклические азотистые основания, например, пиридин или *N*-метилпирролидин-2-он, ангидриды карбоновых кислот, такие как ангидриды низших алкановых кислот, например уксусный ангидрид, циклические, линейные или разветвленные углеводороды, такие как циклогексан, гексан или изопентан, метилциклогексан, или смеси этих растворителей, например, водные растворы, если иное не указано в описании способов. Такие смеси растворителей также могут быть использованы при обработке, например, при хроматографии или разделении.

Соединения по настоящему изобретению, включая их соли, также могут быть получены в форме гидратов, или их кристаллов, например, включать растворитель, используемый для кристаллизации. Могут присутствовать различные кристаллические формы.

Изобретение также относится к таким формам способа, когда соединение, получаемое в качестве промежуточного продукта на любой стадии способа, используют в качестве исходного материала, и осуществляют остальные стадии способа, или когда исходное вещество образуется в условиях реакции или используется в виде производного, например, в защищенной форме или в форме соли, или соединение, получаемое способом по настоящему изобретению, получают в условиях способа и затем обрабатывают *in situ*.

Все исходные вещества, строительные блоки, реагенты, кислоты, основания, дегидратирующие агенты, растворители и катализаторы, используемые для синтеза соединений по настоящему изобретению, являются либо коммерчески доступными, либо могут быть получены способами органического синтеза, известными специалистам в данной области (Houben-Weyl 4-ое издание 1952, *Methods of Organic Synthesis*, Thieme, том 21).

Термин "оптический изомер" или "стереоизомер" относится к любой из различных стереоизомерных конфигураций, которые могут существовать для заданного соединения по настоящему изобретению, и включает геометрические изомеры. Понятно, что заместитель может быть присоединен в хиральном центре атома углерода. Термин "хиральный" относится к молекулам, которые обладают свойством несовпадения при наложении на их зеркальное отражение, в то время как термин "ахиральный" относится к молекулам, которые совпадают с их зеркальным отражением. Таким образом, настоящее изобретение включает энантиомеры, диастереомеры или рацематы соединения. "Энантиомеры" представляют собой пару стереоизомеров, которые не являются зеркальными отражениями друг друга. Смесь 1:1 пары энантиомеров представляет собой "рацемическую" смесь. Термин используется для обозначения рацемической смеси, где это необходимо.

"Диастереоизомеры" представляют собой стереоизомеры, которые содержат по крайней мере два асимметричных атома, но которые не являются зеркальным отражением друг друга. Абсолютная стереохимия задается в соответствии с R-S системой Кана-Ингольда-Прелога. Если соединение представляет собой чистый энантиомер, то стереохимия каждого хирального атома углерода может быть определена как R или S. Разделенные соединения, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут быть обозначены как (+) или (-), в зависимости от направления (право- или лево-вращающие), в котором они вращают плоскополяризованный свет при длине волны D линии натрия. Некоторые соединения, описанные в настоящем документе, содержат один или несколько асимметричных центров или осей и могут, таким образом, приводить к энантиомерам, диастереомерам и другим стереоизомерным формам, которые в терминах абсолютной стереохимии могут быть определены как (R)- или (S)-.

В зависимости от выбора исходных веществ и методик, соединения могут быть в виде одного из возможных изомеров или в виде их смесей, например, в виде чистых оптических изомеров или в виде смесей изомеров, таких как рацематы и диастереоизомерные смеси, в зависимости от количества асимметрических атомов углерода. Настоящее изобретение включает все такие возможные стереоизомеры, в том числе рацемические смеси, диастереомерные смеси и оптически чистые формы. Оптически активные (R)- и (S)-изомеры могут быть получены с использованием хиральных синтонов или хиральных реагентов или разделены с использованием традиционных методик. Если соединение содержит двойную связь, то заместитель может иметь E или Z конфигурацию. Если соединение содержит дизамещенный циклоалкил, то заместитель циклоалкил может иметь цис- или транс-конфигурацию. Также подразумевается, что включены все таутомерные формы.

Любые полученные смеси изомеров могут быть разделены на основе физико-химических различий составляющих, на чистые или по существу чистые геометрические или оптические изомеры, диастереоизомеры, рацематы, например, с помощью хроматографии и/или фракционной кристаллизации.

Любой полученный рецемат конечных продуктов или промежуточных соединений может быть разделен на оптические антиподы известными способами, например, путем разделения их диастереомерных солей, полученных с оптически активной кислотой или основанием, и высвобождая оптически активное кислотой или основным соединением. В частности, основная группа, таким образом, может быть использована для разделения соединений по настоящему изобретению на их оптические антиподы, например, путем фракционной кристаллизации соли, образованной с оптически активной кислотой, например, винная кислота, дибензоилвинная кислота, диацетилвинная кислота, ди-*O, O'*-*p*-толуолвинная кислота, миндальная кислота, яблочная кислота или камфора-10-сульфоновая кислота. Рацемические продукты также могут быть разделены с помощью хиральной хроматографии, например, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), используя хиральный адсорбент.

Кроме того, соединения по настоящему изобретению, включая их соли, также могут быть получены в форме гидратов, или включают другие растворители, используемые для их кристаллизации. Соединения по настоящему изобретению могут по своей природе или умышленно образовывать сольваты с фармацевтически приемлемыми растворителями (включая воду); таким образом, предполагается, что настоящее изобретение включает как сольватированные, так и несольватированные формы. Термин «сольват» относится к молекулярному комплексу соединения по настоящему изобретению (включая его фармацевтически приемлемые соли) с одной или более молекулами растворителя. Такие молекулы растворителя представляют собой молекулы, которые обычно используются в фармацевтической области, которые, как известно, не являются вредными для реципиента, например, вода, этанол и тому подобное. Термин "гидрат" относится к комплексу, в котором молекулой растворителя является вода.

Соединения по настоящему изобретению, включая их соли, гидраты и сольваты, могут по своей природе или намеренно образовывать полиморфы.

Как используется в настоящем документе, термины "соль" или "соли" относятся к кислотно-аддитивной соли или соли присоединения основания соединения по настоящему изобретению. Термин "соли" включает, в частности, "фармацевтически приемлемые соли". Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства соединений по настоящему изобретению, и которые, как правило, не являются биологически или иным образом нежелательными. Во многих случаях соединения по настоящему изобретению способны образовывать соли кислот и/или оснований ввиду наличия аминогрупп и/или карбоксильных групп или подобных им групп.

Фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли могут быть образованы с неорганическими кислотами и органическими кислотами, например, соли ацетат, аспартат, бензоат, безилат, бромид/гидробромид, бикарбонат/карбонат, бисульфат/сульфат, камфорсульфонат, хлорид/гидрохлорид, хлортеофиллинат, цитрат, этандисульфонат, фумарат, глюцептат, глюконат, глюкуронат, гиппурат, гидройодид/йодид, изетинат, лактат, лактобионат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, манделат, мезилат, метилсульфат, нафтоат, напсилат, никотинат, нитрат, октадеканоат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, фосфат/гидрофосфат, дигидрофосфат, полигалактуронат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфосалицилат, тартрат, тозилат и трифторацетат.

Неорганические кислоты, из которых могут быть получены соли, включают, например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту и тому подобное.

Органические кислоты, из которых могут быть получены соли, включают, например, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, гликолевую кислоту, щавелевую кислоту, малеиновую кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, фумаровую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, бензойную кислоту, миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, толуолсульфоновую кислоту, сульфосалициловую кислоту и тому

подобное. Фармацевтически приемлемые соли добавления оснований могут быть образованы с неорганическими и органическими основаниями.

Неорганические основания, из которых могут быть получены соли, включают, например, соли аммония и металлов из колонок I–XII периодической таблицы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соли получают с натрием, калием, аммонием, кальцием, магнием, железом, серебром, цинком и медью; особенно подходящие соли включают соли аммония, калия, натрия, кальция и магния.

Органические основания, из которых могут быть получены соли, включают, например, первичные, вторичные и третичные амины, замещенные амины, включая природные замещенные амины, циклические амины, основные ионообменные смолы и тому подобное. Некоторые органические амины включают изопропиламин, бензатин, холинат, диэтаноламин, диэтиламин, лизин, меглумин, пиперазин и трометамин.

Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную группу, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены путем взаимодействия формы свободной кислоты этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания (например, гидроксид, карбонат, бикарбонат Na, Ca, Mg или K, или тому подобное) или путем взаимодействия формы свободных оснований этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующей кислоты. Такие реакции обычно проводят в воде или в органическом растворителе, или в смеси этих двух растворителей. Как правило, желательно использовать неводную среду, такую как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, если это возможно на практике. Перечень дополнительных подходящих солей можно найти, например, в "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20-ое издание, Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); и в "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" Stahl and

Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Любая формула, приведенная в настоящем документе, в также включает немеченные формы, а также меченные изотопами формы соединений по настоящему изобретению. Меченные изотопами соединения имеют структуры, изображенные с помощью формул, приведенных в настоящем документе, за исключением того, что один или несколько атомов заменены атомом, имеющим выбранное массовое число или массовый номер. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{51}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I , соответственно. Изобретение включает различные меченные изотопами соединения по настоящему изобретению, например, соединения, в которых присутствуют радиоактивные изотопы, такие как ^3H и ^{14}C , или соединения, в которых присутствуют нерадиоактивные изотопы, такие как 2 и ^{13}C . Такие меченные изотопами соединения могут быть использованы в метаболических исследованиях (^{14}C), исследованиях кинетических реакций (в случае, например, ^2H или ^3H), в способах визуализации или детекции, таких как позитронно-эмиссионная томография (PET) или однофотонная эмиссионная компьютерная томография (SPECT), включая анализы распределения лекарства или субстрата в тканях, или при радиоактивном лечении больных. В частности, ^{18}F -меченное соединение по настоящему изобретению, может быть особенно желательным для исследований PET или SPECT. Меченные изотопами соединения по настоящему изобретению, как правило, могут быть получены обычными способами, известными специалистам в данной области, или способами, аналогичными способам, которые описаны в сопроводительных разделах "Примеры" и "Лекарственные средства", используя соответствующие меченные изотопами реагенты вместо немеченых реагентов, использовавшихся ранее.

Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, в частности дейтерием (то есть, ^2H или D) может обеспечить определенные терапевтические преимущества, являющиеся результатом большей метаболической стабильности, например, повышенный период полураспада *in vivo* или пониженная доза или

улучшенный терапевтический индекс. Понятно, что дейтерий в этом контексте рассматривается как заместитель соединения по настоящему изобретению. Концентрация такого тяжелого изотопа, в частности, дейтерия, может быть определена с помощью изотопного коэффициента обогащения. Термин "изотопный коэффициент обогащения", используемый в настоящем документе, означает отношение между изотопным составом и природным содержанием конкретного изотопа. Если заместитель в соединении по настоящему изобретению обозначает дейтерий, то такое соединение имеет изотопный коэффициент обогащения для каждого указанного атома дейтерия по меньшей мере 3500 (52,5% включения дейтерия в каждый указанный атом дейтерия), по меньшей мере 4000 (60% включения дейтерия), по меньшей мере 4500 (67,5% включения дейтерия), по меньшей мере 5000 (75% включения дейтерия), по меньшей мере 5500 (82,5% включения дейтерия), по меньшей мере 6000 (90% включения дейтерия), по меньшей мере 6333,3 (95% включения дейтерия), по крайней мере 6466,7 (97% включения дейтерия), по меньшей мере 6600 (99% включения дейтерия) или по крайней мере 6633,3 (99,5% включения дейтерия).

Фармацевтически приемлемые сольваты по изобретению включают сольваты, в которых растворитель кристаллизации может быть замещен изотопами, например, D_2O , d_6 -ацетон, d_6 -ДМСО.

Соединения по настоящему изобретению, которые содержат группы, способные действовать в качестве доноров и/или акцепторов для водородных связей, могут быть способны образовывать сокристаллы с подходящими формирующими сокристаллы агентами. Эти сокристаллы могут быть получены из соединений по настоящему изобретению известными методиками образования сокристаллов. Такие методики включают измельчение, нагревание, со-сублимацию, со-плавление или взаимодействие в растворе соединений по настоящему изобретению с агентами, формирующими сокристаллы, в условиях кристаллизации и выделения сокристаллов, образованных таким образом. Подходящие агенты, образующие сокристаллы, включают агенты, которые описаны в WO2004/078163. Следовательно, изобретение также относится к сокристаллам, содержащим соединение по настоящему изобретению.

Соединения по настоящему изобретению селективно ингибируют гамма-изоформу PI 3-киназы, как показано в исследованиях *in vitro* и *in vivo*, приведенных в настоящем документе.

Таким образом, соединения по настоящему изобретению могут использоваться для лечения состояний, которые опосредованы активацией гамма-изоформы PI 3-киназы, в частности, воспалительных или аллергических состояний.

Соединения по настоящему изобретению могут быть использованы для лечения воспалительных или обструктивных заболеваний дыхательных путей, в результате чего, например, уменьшается повреждение ткани, воспаления дыхательных путей, гиперреактивности бронхов, ремоделирования или прогрессирования заболевания. Воспалительные или обструктивные заболевания дыхательных путей, в отношении которых может быть применено настоящее изобретение, включают астму любого типа или генеза, включая истинную (не аллергическую) астму и приобретенную (аллергическую) астму, астму легкой тяжести, астму умеренной тяжести, тяжелую астму, бронхиальную астму, астму, вызванную физической нагрузкой, профессиональную астму и астму, вызванную бактериальной инфекцией. Также следует понимать, что лечение астмы охватывает лечение индивидов, например, младше 4 или 5 лет, у которых отмечаются хрипы и у которых диагностирован или может диагностироваться как "стридор новорожденных", категория пациентов, которой уделяется особое внимание, и которые в настоящее время часто идентифицируются как больные с начинающейся астмой или астмой на ранней фазе. (Для удобства это особое астматическое состояние называется "стридор новорожденных".)

Профилактическая эффективность при лечении астмы подтверждается снижением частоты или тяжести симптоматических приступов, например, острой астматической атаки или приступов бронхостеноза, улучшением функции легких или улучшенной гиперреактивностью дыхательных путей. Она также может быть подтверждена снижением потребности в другой симптоматической терапии, то есть терапии для или предназначенной для того, чтобы уменьшить или прекратить симптоматический приступ, когда

он происходит, например, противовоспалительной (например, кортикостероидной) или бронхолитической. Профилактический эффект при лечении астмы может, в частности, проявляться у индивидов, склонных к "утреннему погружению". "Утреннее погружение" является известным астматическим синдромом, общим для значительного процента астматиков, и характеризуется приступом астмы, например, приблизительно между 4 до 6 часов утра, то есть в то время, когда, как правило, прошло достаточно времени от ранее проведенного симптоматического противоастматического лечения.

Другие воспалительные или обструктивные заболевания и состояния дыхательных путей, в отношении которых применяется настоящее изобретение, включают острое повреждение легких (ALI), острый респираторный дистресс-синдром взрослых (ARDS), хроническое обструктивное заболевание легких или дыхательных путей (COPD, COAD или GOLD), включая хронический бронхит или одышку, связанную с ними, эмфизему, а также обострение гиперреактивности дыхательных путей вследствие другой лекарственной терапии, в частности, других ингаляционных лекарственных средств. Изобретение также может использоваться для лечения бронхита любого типа или генеза, включая, например, острый бронхит, бронхит со сбоем метаболизма арахидоновой кислоты, катаральный, фибринозный, хронический бронхит или бронхит при туберкулезе. Другие воспалительные или обструктивные заболевания дыхательных путей, в отношении которых применимо настоящее изобретение, включают пневмокониоз (воспалительное, обычно профессиональное заболевание легких, часто сопровождаемое обструкцией дыхательных путей, будь то хронический или острый, и возникший вследствие неоднократного вдыхания пыли) любого типа или генеза, включая, например, алюминоз, антракозом, асбестоз, халикоз, птилоз, сидероз, силикоз, табакоз и биссиноз.

Учитывая их противовоспалительную активность, в частности, в отношении ингибирования активации эозинофилов, соединения по настоящему изобретению также могут быть эффективны для лечения заболеваний, связанных с эозинофилами, например, с

эозинофилией, в частности, заболеваний дыхательных путей, связанных с эозинофилами (например, включающих патологическую эозинофильную инфильтрацию легочных тканей), включая гиперэозинофилию, которая влияет на дыхательные пути и/или легкие, а также, например, заболеваний дыхательных путей, связанных с эозинофилией, которая следует или сопутствуют синдрому Леффлера, эозинофильной пневмонии, паразитарных (в частности многоклеточные) инвазий (включая тропическую эозинофилию), бронхолегочного аспергиллеза, узелкового полиартериита (включая синдром Черджа-Стросса), эозинофильной гранулемы и расстройств, связанных с эозинофилами, влияющих на дыхательные пути, вызванные реакцией на лекарство.

Соединения по настоящему изобретению также могут быть эффективны для лечения воспалительных или аллергических состояний кожи, например, псориаз, контактный дерматит, атопический дерматит, очаговая алопеция, многоморфная эритема, герпетиформный дерматит, склеродермия, витилиго, аллергический ангиит, крапивница, буллезный пемфигоид, системная красная волчанка, пемфигус, приобретенный буллезный эпидермолиз и другие воспалительные или аллергические состояния кожи.

Соединения по настоящему изобретению также могут быть использованы для лечения других заболеваний или состояний, в частности заболеваний или состояний, имеющих воспалительный компонент, например, для лечения глазных болезней и нарушений, таких как конъюнктивит, сухой кератоконъюнктивит и весенний конъюнктивит, заболеваний, поражающих нос, включая аллергический ринит, а также воспалительных заболеваний, в которых участвуют аутоиммунные реакции или которое имеют аутоиммунный компонент или этиологию, включая аутоиммунные гематологические нарушения (например, гемолитическая анемия, апластическая анемия, анемия эритроцитов и идиопатическая тромбоцитопения), системной красной волчанки, полихондрита, склеродермии, гранулематоза Вегенера, дерматомиозита, хронического активного гепатита, миастении гравис, синдрома Стивенса-Джонсона, идиопатического спру, аутоиммунного воспалительного заболевания кишечника (например,

неспецифический язвенный колит и болезнь Крона), эндокринной офтальмопатии, болезни Грейвса, саркоидоза, альвеолита, хронического аллергического пневмонита, рассеянного склероза, первичного билиарного цирроза печени, увеита (передний и задний), сухого кератоконъюнктивита и весеннего кератоконъюнктивита, интерстициального фиброза легких, псориазического артрита и гломерулонефрита (с и без нефротического синдрома, например включая идиопатический нефротический синдром или нефропатию минимальных изменений).

Другие заболевания или состояния, которые можно лечить соединениями по настоящему изобретению, включают тромбоз, гипертензию, сердечную ишемию и панкреатит, (Nature review Nov 2006 Vol 5), лечение анемии, включая гемолитическую анемию, апластическую анемию и эритроцитарную анемию (WO2006/040318), септический шок, ревматоидный артрит, остеоартрит, пролиферативные заболевания, такие как рак, атеросклероз, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, инсульт, ожирение, рестеноз, диабет, например, сахарный диабет I типа (юношеский диабет) и сахарный диабет II типа, желудочно-кишечные заболевания, ишемические/реперфузионные повреждения, ретинопатию, такую как диабетическая ретинопатия или гипербарическая индуцированная кислородом ретинопатия, и состояния, характеризующиеся повышенным внутриглазным давлением или секрецией внутриглазной жидкости, такие как глаукома.

Средства по настоящему изобретению могут быть эффективны для лечения или профилактики сердечной недостаточности, такой как (острая и хроническая) застойная сердечная недостаточность, дисфункция левого желудочка, включая нарушения сократительной способности сердечной мышцы, гипертрофическую кардиомиопатию, диабетическую сердечную миопатию и другие виды негативного влияния сердечной дисфункции и ремоделирования.

Другие заболевания или состояние, лечение которых может осуществляться с помощью соединений по настоящему изобретению включают септический шок, ревматоидный артрит, остеоартрит, пролиферативные заболевания, такие как рак, атеросклероз, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, инсульт,

ожирение, рестеноз, диабет, например сахарный диабет типа I (ювенильный диабет) и сахарный диабет типа II, желудочно-кишечные заболевания, травмы при ишемии/реперфузии, ретинопатию, такую как диабетическая ретинопатия или гипербарическую индуцированную кислородом ретинопатию, и состояния, характеризующиеся повышенным внутриглазным давлением или секреции глазной жидкости, такие как глаукома.

Соединения по настоящему изобретению также могут быть эффективны для лечения висцеральных расстройств, воспалительного заболевания кишечника, воспалительного нарушения кишечника, цистита, например, интерстициального цистита и недержания мочи, включая гиперактивный детрузор мочевого пузыря и гиперчувствительность мочевого пузыря.

Эффективность средства по изобретению в отношении ингибирования воспалительных состояний, например, при воспалительных заболеваниях дыхательных путей, может быть продемонстрирована на животных моделях, например, на модели воспаления дыхательных путей или других воспалительных состояний у мыши или крысы, например, как описано в Szarka et al, *J. Immunol. Methods* (1997) 202:49-57; Renzi et al, *Am. Rev. Respir. Dis.* (1993) 148:932-939; Tsuyuki et al., *J. Clin. Invest.* (1995) 96:2924-2931; и Cernadas et al (1999) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 20:1-8.

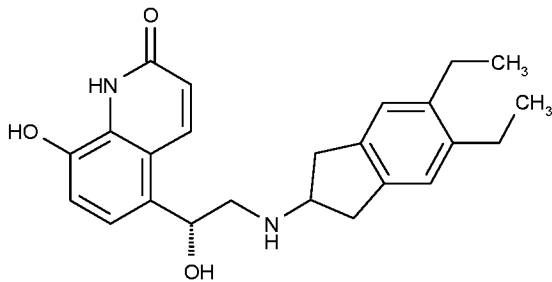
Соединения по настоящему изобретению также могут быть использованы в качестве со-терапевтических средств для применения в комбинации с другими лекарственными веществами, такими как противовоспалительные, бронхолитические средства или антигистаминные лекарственные вещества, в частности, при лечении обструктивных или воспалительных заболеваний дыхательных путей, таких как указано выше, например, в качестве усилителей терапевтической активности таких лекарственных средств или в качестве средств уменьшения требуемой дозировки или возможных побочных эффектов таких препаратов. Средство по изобретению может быть смешано с другим лекарственным веществом в фиксированной фармацевтической композиции или его можно вводить отдельно, перед, одновременно или после введения

другого лекарственного вещества. Таким образом, изобретение включает комбинацию средства по изобретению, как описано выше, с противовоспалительным, бронхолитическим или антигистаминным лекарственным средством, причем указанное средство по изобретению и указанное лекарственное вещество находятся в одной или иной фармацевтической композиции.

Эффективные комбинации ингибиторов PI 3-киназы с противовоспалительными лекарственными средствами являются комбинации с антагонистами рецепторов хемокинов, например, CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 и CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, в частности, антагонисты CCR-5, такие как антагонисты SC-351125, SCH-55700 и SCH-D Schering-Plough; антагонисты Takeda, 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-амин хлорид (ТАК-770); и антагонисты CCR-5, раскрытые в патенте США 6166037 (в частности, пп.18 и 19), WO 00/66558 (в частности, п.8), WO 00/66559 (в частности, п.9), WO 04/018425 и WO 04/026873.

Подходящие противовоспалительные лекарственные средства включают стероидные, в частности, глюкокортикостероидные, такие как будесонид, бекламетазон дипропионат, флутиказон пропионат, циклезонид или мометазон фуруат, или стероиды, описанные в WO 02/88167, WO 02/12266, WO 02/100879, WO 02/00679 (в частности, те из примеров 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; агонисты нестероидных глюкокортикоидных рецепторов, такие как агонисты, которые описаны в документе 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 LTD4, такие как монтелукаст и зафирлукаст; ингибиторы PDE4, такие как циломиласт (Ariflo®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 препараты, 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 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 и WO 04/037805; антагонисты рецептора аденозина A2B, такие как антагонисты, описанные в WO 02/42298; и агонисты бета-2 адренорецепторов, такие как альбутерол (сальбутамол), метапротеренол, тербуталин, салметерол фенотерол, прокатерол и, особенно, формотерол, кармотерол и их фармацевтически приемлемые соли, и соединения (в свободной форме или в виде соли или в форме сольвата) формулы (I) из публикации WO 0075114, причем документ включен в настоящее описание в качестве ссылки, предпочтительно соединения из раздела "Примеры", особенно соединение формулы:



соответствующее индакатеролу и их фармацевтически приемлемые соли, а также соединения (в свободной форме или в виде соли или в форме сольвата) формулы (I) WO 04/16601, а также соединения EP 1440966, JP 05025045, WO 93/18007, WO 99/64035, USP 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, WO 04/80964, WO 04/108765 и WO

04/108676.

Подходящие бронхорасширяющие лекарственные средства включают антихолинергические или антимускариновые средства, в частности, ипратропия бромид, окситропия бромид, соли тиотропия и CHF 4226 (Chiesi) и гликопирролат, а также лекарственные средства, описанные в EP 424021, USP 3714357, USP 5,171,744, 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.

Подходящие двойные противовоспалительные и бронхолитические лекарственные средства включают двойное лекарственное средство агониста бета-2 адренорецептора/антагониста мускаринового рецептора, например, описанные в патенте US 2004/0167167, WO 04/74246 и WO 04/74812.

Подходящие антигистаминные лекарственные вещества включают цетиризина гидрохлорид, ацетаминофен, клемастина фумарат, прометазин, лоратидин, дезлоратидин, дифенгидрамин и фексофенадина гидрохлорид, активастин, астемизол, азеластин, эбастин, эпинастин, мизоластин и тефенадин, а также лекарственные средства, которые описаны в JP 2004107299, WO 03/099807 и WO 04/026841.

Ингибиторы PI 3-киназы, например, соединения по настоящему изобретению, могут быть объединены с блокаторами рецептора ангиотензина, например, валсартан (блокатор рецептора ангиотензина) и достигать большего терапевтического эффекта, чем при введении только валсартана. Комбинированный режим также неожиданно снижает скорость прогрессирования органов-мишеней: сердца, почек и мозга. Комбинация вызывает улучшенные гипотензивные эффекты (злокачественная, эссенциальная, рено-васкулярная, диабетическая, изолированная систолическая гипертензия или гипертензия другого вторичного типа) и уменьшение пульсового давления. Комбинация также эффективна при лечении наджелудочковых и желудочковых аритмий, фибрилляции предсердий, трепетания предсердий или негативного ремоделирования сосудов. Также может быть показано, что комбинация является эффективной для лечения и профилактики

инфаркта миокарда и его осложнений, а также эффективна для лечения атеросклероза, стенокардии (стабильной или нестабильной), почечной недостаточности (диабетической и недиабетической), болезни периферических сосудов, когнитивной дисфункции и инсульта. Кроме того, улучшение функции эндотелия с помощью комбинированной терапии дает преимущество при таких заболеваниях, при которых нарушена нормальная функция эндотелия, таких как сердечная недостаточность, стенокардия и диабет. Кроме того, комбинация может использоваться для лечения или профилактики первичной и вторичной легочной гипертензии, в условиях почечной недостаточности, таких как диабетическая нефропатия, гломерулонефрит, склеродермия, гломерулосклероза, протеинурия при первичном почечном заболевании, а также при почечной сосудистой гипертензии, диабетической ретинопатии, при контроле других сосудистых расстройств, таких как мигрень, заболевания периферических сосудов, болезнь Рейно, полостная гиперплазия, когнитивная дисфункции (например, болезнь Альцгеймера), глаукома и инсульт.

Соединения по настоящему изобретению также могут использоваться для лечения заболеваний или нарушений, опосредованных лимфоцитами, например, при трансплантации, например, острое или хроническое отторжение клеток, тканей или органов алло- или ксенотрансплантатов или отсроченная функция трансплантата, реакция трансплантат против хозяина, аутоиммунные заболевания, например, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, тиреоидит Хашимото, рассеянный склероз, миастения гравис, диабет I или II типа и связанные с ним заболевания, васкулит, пернициозная анемия, синдром Шегрена, увеит, офтальмопатия Грейвса, очаговая алопеция и тому подобное, воспалительные заболевания, необязательно в основе которых лежат aberrантные реакции, например, воспалительные заболевания кишечника, болезнь Крона или неспецифический язвенный колит, эндогенная бронхиальная астма, воспалительное повреждение легких, воспалительное повреждение печени, воспалительные гломерулярного повреждения, атеросклероз, остеоартрит и другие экзематозные дерматиты, себорейный

дерматит, кожные проявления иммунологических нарушений, воспалительное заболевание глаз, миокардит или гепатит, ишемия кишечника, травматический шок, рак, например, рак молочной железы, Т-клеточная лимфома или Т-клеточный лейкоз, инфекционные заболевания, например, токсический шок (например, суперантиген-индуцированный), септический шок, респираторный дистресс синдром у взрослых или вирусные инфекции, например, СПИД, вирусный гепатит, хроническая бактериальная инфекция, или старческое слабоумие. Примеры клеточных трансплантатов, трансплантатов тканей или твердых органов включают, например, панкреатические островки, стволовые клетки, костный мозг, ткань роговицы, нервную ткань, сердце, легкое, комбинированное сердце-легкие, почки, печень, кишечник, поджелудочную железу, трахею или пищевод.

Соединения по настоящему изобретению могут быть введены в сочетании, например, в качестве адъюванта, с другими лекарственными средствами, например, иммунодепрессантами или иммуномодулирующими средствами или другими противовоспалительными средствами, например, для лечения или профилактики острого или хронического отторжения алло- или ксенотрансплантата или воспалительных или аутоиммунных заболеваний. Например, соединения формулы I могут использоваться в сочетании с ингибиторами кальциневрина, например, циклоспорин А или FK 506; ингибитором mTOR, например, рапамицин, 40-0-(2-гидроксиэтил)рапамицин, CCI779, АВТ578, AP23573, биолимус-7 или биолимус-9; аскомицин, обладающий иммуносупрессивными свойствами, например, АВТ-281 или ASM981; кортикостероиды; циклофосфамид; азатиопрен; метотрексат; лефлюномид; мизорибин; микофеноловая кислота или соли; микофенолата мофетил; 15-дезоксиспергуалин или иммуносупрессивный гомолог, аналог или его производное; ингибитор PKC, например, как раскрыто в WO 02/38561 или WO 03/82859, например, соединение Примера 56 или 70; ингибитора киназы JAK3, например N-бензил-3,4-дигидроксибензилиденцианоацетамид α -циано-(3,4-дигидрокси)-]N-

бензилциннамамид (Tyrophostin AG 490), продигиозин 25-С (PNU156804), [4-(4'-гидроксифенил)-амино-6,7-диметоксихиназолин] (WHI-P131), [4-(3'-бром-4'-гидроксилфенил)-амино-6,7-диметоксихиназолин] (WHI-P154), [4-(3',5'-дибром-4'-гидроксилфенил)амино-6,7-диметоксихиназолин] WHI-P97, KRX-211, 3-{(3R,4R)-4-метил-3-[метил-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)амино]пиперидин-1-ил}-3-оксопропионитрил, в свободной форме или в виде фармацевтически приемлемой соли, например, моноцитрат (также называется CP-690550) или соединение, как раскрыто в WO 04/052359 или WO 05/066156; агонист или модулятор рецептора S1P, например FTY720, необязательно фосфорилированный, или его аналог, например, 2-амино-2-[4-(3-бензилоксифенилтио)-2-хлорфенил]этил-1,3-пропандиол, необязательно фосфорилированный, или 1-{4-[1-(4-циклогексил-3-трифторметилбензилоксиимино)этил]-2-этилбензил}-азетидин-3-карбоновая кислота или его фармацевтически приемлемые соли; иммуносупрессивные моноклональные антитела, например, моноклональные антитела к рецепторам лейкоцитов, например, MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD52, CD58, CD80, CD86 или их лиганды; другие иммуномодулирующие соединения, например, рекомбинантная связывающая молекула, имеющая по меньшей мере часть внеклеточного домена CTLA4, или ее мутант, присоединенная к последовательности, не являющейся последовательностью белка CTLA4, например, CTLA4Ig (например, обозначен как ATCC 68629) или ее мутант, например, LEA29Y; ингибиторы молекул адгезии, например, антагонисты LFA-1, антагонисты ICAM-1 или -3, антагонисты VCAM-4 или антагонисты VLA-4.

Соединения по настоящему изобретению могут также быть эффективны при лечении висцеральных расстройств, воспалительного заболевания кишечника, цистита, например, интерстициального цистита, и недержания мочи, включая гиперрефлексию детрузора мочевого пузыря и повышенную чувствительность мочевого пузыря.

Соединения по настоящему изобретению также могут быть использованы при лечении анемии, в соответствии с

WO2006/040318.

Соединения по настоящему изобретению могут быть введены любым подходящим способом, например, перорально, например, в форме таблетки или капсулы; парентерально, например, внутривенно; путем ингаляции, например, при лечении воспалительных или обструктивного заболевания дыхательных путей; интраназально, например, при лечении аллергического ринита; нанесены местно на кожу, например, при лечении атопического дерматита; или ректально, например, при лечении воспалительного заболевания кишечника.

Таким образом, в еще одном аспекте соединение по настоящему изобретению предложено для применения в терапии. В еще одном варианте осуществления терапия из выбрана заболевания или расстройства, которое опосредовано активацией гамма-изоформы PI 3-киназы. В еще одном варианте осуществления терапия выбрана из болезни, лечение которой может осуществляться путем ингибирования гамма-изоформы PI 3-киназы. В другом варианте осуществления терапия выбрана из заболевания, лечение которого можно осуществлять путем селективного ингибирования гамма-изоформы PI 3-киназы по сравнению с дельта-изоформой PI 3-киназы.

Термин "терапевтически эффективное количество" соединения по настоящему изобретению относится к количеству соединения по настоящему изобретению, которое вызывает биологический или медицинский ответ индивида, например, уменьшение или ингибирование активности фермента или белка, или ослабление симптомов, облегчение тяжести, замедление или задержку прогрессирование заболевания, или предотвращение болезни и тому подобное. В одном из неограничивающих вариантов осуществления термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству соединения по настоящему изобретению, которое при введении индивиду эффективно для (1) по меньшей мере частичного облегчения, ингибирования, предупреждения и/или облегчения состояния, или расстройства или заболевания (i), опосредованного активацией PI 3-киназы, в частности, гамма-изоформы, или (ii), связанного с активностью гамма-изоформы PI

3-киназы или (iii) характеризующегося активностью (нормальной или патологической) гамма-изоформы PI 3-киназы; или (2) снижения или ингибирования активности гамма-изоформы PI 3-киназы. В еще одном неограничивающем варианте осуществления изобретения термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству соединения по настоящему изобретению, которое при введении в клетку или ткань, или неклеточный биологический материал или среду, эффективно для по крайней мере частичного снижения или ингибирования активности гамма-изоформы PI 3-киназы.

Как они используются в настоящем документе, термин "индивид" относится к животному. Как правило, животное представляет собой млекопитающего. Индивид также относится к, например, к приматам (например, человек: мужчина или женщина), коровам, овцам, козам, лошадям, собакам, кошкам, кроликам, крысам, мышам, рыбам, птицам и тому подобное. В некоторых вариантах осуществления индивидом является примат. В других вариантах осуществления индивидом является человек.

Как используется в настоящему документе термин "ингибирование", "ингибировать" или "ингибирующий" относится к снижению или супрессии заданного состояния, симптома или расстройства или болезни, или к существенному снижению фоновой активности биологической активности или процесса.

Как используется в настоящем документе, термин "лечить", "подвергать лечению" или "лечение" какого-либо заболевания или расстройства относится в одном из случаев к ослаблению заболевания или расстройства (т.е., замедлению или прекращению или снижению развития болезни или по меньшей мере одного из его клинических симптомов). В другом случае "лечить", "подвергать лечению" или "лечение" относится к облегчению или улучшению по меньшей мере одного физического параметра, включая параметры, которые не могут быть различимы самим индивидом. В еще одном варианте осуществления изобретения "лечить", "подвергать лечению" или "лечение" относится к модуляции заболевания или расстройства, либо физически (например, стабилизацией заметного симптома), либо физиологически (например, стабилизацией

физического параметра), либо и тем, и другим. В еще одном варианте осуществления изобретения, "лечить", "подвергать лечению" или "лечение" относится к профилактике или задержке начала или развития или прогрессирования заболевания или нарушения.

Как он используется в настоящем документе, "при необходимости" лечения индивида означает, что такое лечение принесет такому индивиду принесет пользу с биологической, с медицинской точки зрения или улучшит качество жизни.

Все описанные в настоящем документе способы могут быть осуществлены в любом подходящем порядке, если не указано иного или это явно не противоречит контексту. Использование любых и всех примеров или иллюстративной формы (например, "такой как") в настоящем документе предназначено только для лучшего раскрытия изобретения и не накладывает ограничений на объем настоящего изобретения, кроме того, что заявлено в формуле изобретения.

Соединения по настоящему изобретению могут быть эффективны в качестве фармацевтических средств и, таким образом, как правило, сформулированы в виде фармацевтической композиции.

Следовательно, в другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

Используемый в настоящем документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" включает любой и каждый растворитель, дисперсионную среду, покрытия, поверхностно-активные вещества, антиоксиданты, консерванты (например, антибактериальные средства, противогрибковые средства), изотонические агенты, замедляющие абсорбцию агенты, соли, консерванты, стабилизаторы лекарственных средств, связующие вещества, наполнители, разрыхлители, смазывающие вещества, подсластители, вкусовые добавки, красители и тому подобное, и их комбинации, как должно быть известно специалистам в данной области (смотри, например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-ое издание Mack Printing Company, 1990, pp.1289-1329). За исключением случаев,

когда любой обычный носитель несовместим с активным ингредиентом, рассматривается его применение в терапевтических или фармацевтических композициях.

Фармацевтическая композиция может быть получена для конкретных путей введения, таких как пероральное введение, парентеральное введение, ректальное введение и тому подобное. Кроме того, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть получены в твердой форме (включая, но ими не ограничиваясь, капсулы, таблетки, пилюли, гранулы, порошки или суппозитории) или в жидкой форме (в том числе, но ими не ограничиваясь, растворы, суспензии или эмульсии). Фармацевтические композиции могут быть подвергнуты обычным фармацевтическим операциям, таким как стерилизация, и/или могут содержать обычные инертные разбавители, смазывающие агенты или буферные агенты, а также адъюванты, такие как консерванты, стабилизаторы, смачивающие агенты, эмульгаторы и буферы, и тому подобное.

Как правило, фармацевтические композиции представляют собой таблетки или желатиновые капсулы, содержащие активный ингредиент вместе с

a) разбавителями, например, лактоза, декстроза, сахароза, маннит, сорбит, целлюлоза и/или глицин;

b) смазывающие вещества, например, диоксид кремния, тальк, стеариновая кислота, ее магниевая или кальциевая соль и/или полиэтиленгликоль; для таблеток также

c) связующие вещества, например, алюмосиликат магния, крахмальная паста, желатин, трагакант, метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза натрия и/или поливинилпирролидон; если необходимо

d) разрыхлители, например, крахмалы, агар, альгиновая кислота или ее натриевая соль, или шипучие смеси; и/или

e) абсорбенты, красители, ароматизаторы и подсластители.

Таблетки могут быть покрыты либо пленкой, либо энтеросолюбильной оболочкой в соответствии со способами, известными в данной области.

Подходящие композиции для перорального введения включают

эффективное количество соединения по настоящему изобретению в виде таблеток, лепешек, водных или масляных суспензий, дисперсных порошков или гранул, эмульсий, твердых или мягких капсул, сиропов или эликсиров. Композиции, предназначенные для перорального применения, получают в соответствии с любым способом, известным в данной области для производства фармацевтических композиций, и такие композиции могут содержать один или несколько средств, выбранных из группы, состоящей из подсластителей, отдушек, красителей и консервантов, для того, чтобы получить фармацевтически изящные и приятные на вкус препараты. Таблетки могут содержать активный ингредиент в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми эксципиентами, которые подходят для изготовления таблеток. Такие эксципиенты представляют собой, например, инертные разбавители, такие как карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция или фосфат натрия; гранулирующие и дезинтегрирующие агенты, например, кукурузный крахмал или альгиновая кислота; связующие агенты, например, крахмал, желатин или гуммиарабик; и смазывающие агенты, например, стеарат магния, стеариновая кислота или тальк. Таблетки могут быть без покрытия или покрыты известными способами для замедления дезинтеграцию и абсорбции в желудочно-кишечном тракте и тем самым для обеспечения пролонгированного действие в течение более длительного периода. Например, может быть использовано вещество для задержки высвобождения, такое как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат. Композиции для перорального применения могут быть представлены в виде твердых желатиновых капсул, где активный ингредиент смешан с инертным твердым разбавителем, например, карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином, или в виде мягких желатиновых капсул, где активный ингредиент смешан с водой или маслом, средой, например, арахисовым маслом, жидким парафином или оливковым маслом.

Некоторые композиции для инъекций представляют собой водные изотонические растворы или суспензии, а суппозитории преимущественно получают из жирных эмульсий или суспензий. Указанные композиции могут быть стерилизованы и/или содержать

адъюванты, такие как консерванты, стабилизаторы, смачивающие или эмульгирующие агенты, способствующие растворению, соли для регулирования осмотического давления и/или буферные вещества. Кроме того, они также могут содержать другие терапевтически ценные вещества. Указанные композиции получают в соответствии с обычными способами смешивания, гранулирования или покрытия, соответственно, и содержат около 0,1-75% или содержат около 1-50% активного ингредиента.

Подходящие композиции для чрезкожного применения включают эффективное количество соединения по настоящему изобретению с подходящим носителем. Носители, подходящие для чрезкожной доставки, включают абсорбируемые фармакологически приемлемые растворители, способствующие проникновению через кожу хозяина. Например, чрезкожные устройства имеют форму бандажа, содержащего опорный элемент, резервуар, содержащий соединение необязательно в смеси с носителями, при необходимости, контролирующим скорость барьером для доставки соединения в кожу хозяина с контролируемой и предварительно определенной скоростью в течение продолжительного периода времени, и средства для крепления устройства к коже.

Подходящие композиции для местного нанесения, например, на кожу или глаз, включают водные растворы, суспензии, мази, кремы, гели или распыляемые составы, например, для доставки с помощью аэрозоля или тому подобное. Такие системы местной доставки, в частности, подходят для кожного применения, например, для лечения рака кожи, например, для профилактического применения в солнцезащитных кремах, лосьонах, спреях и тому подобное. Таким образом, они особенно подходят для местного использования, в том числе в косметических составах, хорошо известных в данной области. Такие составы могут содержать солюбилизаторы, стабилизаторы, повышение тонизирующие вещества, буферы и консерванты.

Как используется в настоящем документе местное применение может также относиться к ингаляции или к интраназальному применению. Они могут быть легко доставлены в форме сухого порошка (либо самостоятельно, либо в виде смеси, например,

сухой смеси с лактозой, или смеси с частицами компонента, например, с фосфолипидами) из ингалятора для сухого порошка или аэрозольного спрея и подаваться из контейнера под избыточным давлением, насоса, спрея, пульверизатора или небулайзера, с использованием или без использования подходящего пропеллента.

Если ингаляционная форма активного ингредиента является аэрозольной композицией, то ингаляционное устройство может представлять собой аэрозольный флакон, снабженный клапаном, приспособленным для доставки отмеренной дозы, например, от 10 до 100 $\mu\text{л}$, например, от 25 до 50 $\mu\text{л}$, композиции, т.е. устройство, известное как дозирующий ингалятор. Такие подходящие аэрозольные флаконы и процедуры по содержанию в них аэрозольных композиций под давлением, хорошо известны специалистам в области ингаляционной терапии. Например, аэрозольная композиция может быть введена из банки с покрытием, например, как описано в EP-A-0642992. Если ингаляционная форма активного ингредиента является распыляемой водной, органической или водной/органической дисперсией, то ингаляционное устройство может быть известным небулайзером, например, обычным пневматическим небулайзером, таким как небулайзер с воздушной форсункой, или ультразвуковым распылителем, который может содержать, например, от 1 до 50 мл, обычно от 1 до 10 мл, дисперсии; или ручным небулайзером, который иногда называют ингалятором для мягкого аэрозоля или мягкого спрея, например, устройство с электронным управлением, такое как AERx (Aradigm, США) или Aerodose (Aerogen), или механическое устройство, такое как небулайзер RESPIMAT (Boehringer Ingelheim), который позволяет распылять значительно меньшие объемы, например, от 10 до 100 $\mu\text{л}$, по сравнению с обычными небулайзерами. Если ингаляционная форма активного ингредиента является формой мелко измельченных частиц, то устройство для ингаляции может представлять собой, например, устройство для ингаляции сухого порошка, адаптированной для доставки сухого порошка из капсулы или блистера, содержащего сухой порошок, содержащий единицу дозы (А) и/или (В), или устройство для ингаляции

мультидозированного сухого порошка (MDPI), предназначенное для доставки, например, 3-25 мг сухого порошка, содержащего единицу дозы (А) и/или (В) за одно срабатывание. Композиция сухого порошка предпочтительно содержит разбавитель или носитель, такой как лактоза, и соединение, которое помогает защитить от ухудшения эксплуатационных характеристик продукта из-за влаги, например, стеарат магния. Такие подходящие устройства для ингаляции сухого порошка включают устройства, описанные в патенте США 3991761 (включая устройства AEROLIZER™), WO 05/113042, WO 97/20589 (в том числе устройство CERTINALER™), WO 97/30743 (в том числе устройство Twisthaler™) и WO 05/37353 (в том числе устройство GYROHALER™).

Следовательно, изобретение также включает (А) агент по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль или его сольват в ингалируемой форме; (В) ингалируемое лекарственное средство, содержащее соединение по настоящему изобретению в ингалируемой форме вместе с фармацевтически приемлемым носителем в ингалируемой форме; (С) фармацевтический продукт, содержащий такое соединение в ингалируемой форме в сочетании с ингаляционным устройством; и (D) ингаляционное устройство, содержащее такое соединение в ингалируемой форме.

Дозы соединений по настоящему изобретению, используемые в практике настоящего изобретения, будет, конечно, изменяться в зависимости, например, от конкретного состояния, на которое направлено лечение, желаемого эффекта и способа введения. В целом, подходящие суточные дозы для введения путем ингаляции составляют порядка 0,0001 до 30 мг/кг, как правило, от 0,01 до 10 мг на пациента, в то время как для перорального введения, подходящие суточные дозы составляют порядка от 0,01 до 100 мг/кг.

Настоящее изобретение также относится к безводным фармацевтическим композициям и лекарственным формам, содержащим соединения по настоящему изобретению в качестве активных ингредиентов, поскольку вода может способствовать деградации некоторых соединений.

Безводные фармацевтические композиции и лекарственные формы по настоящему изобретению могут быть получены с использованием безводных ингредиентов или ингредиентов с низким содержанием влаги и в условиях с низкой влажностью. Безводная фармацевтическая композиция может быть получена и храниться таким образом, чтобы сохранялась его безводная природа. Соответственно, безводные композиции упаковывают с использованием материалов, которые известны как препятствующие воздействию воды, так, чтобы их можно было включить в соответствующие формулярные наборы. Примеры подходящей упаковки включают, но не ограничиваются ими, герметизированную фольгу, пластики, порционные контейнеры (например, флаконы), блистерные упаковки и контурные упаковки.

Кроме того, изобретение относится к фармацевтическим композициям и лекарственным формам, которые включают один или несколько агентов, которые снижают скорость, с которой соединение по настоящему изобретению в качестве активного ингредиента будет разлагаться. Такие агенты, которые называются в настоящем документе "стабилизаторы", включают, но ими не ограничиваются, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, рН-буферы или солевые буферов и тому подобное.

Соединение по настоящему изобретению можно вводить либо одновременно, или до или после введения одного или нескольких других терапевтических средств. Соединение по настоящему изобретению можно вводить самостоятельно, с помощью того же или другого способа введения, или в той же фармацевтической композиции, что и другие средства.

В еще одном аспекте предлагается фармацевтическая комбинация, содержащая соединение по настоящему изобретению и по меньшей мере одно другое терапевтическое средство, например, для одновременного, раздельного или последовательного применения в терапии. В одном из вариантов осуществления терапия представляет собой лечение заболевания или расстройства, опосредованного активацией PI 3-киназы, в частности гамма-изоформы. Продукты, предоставляемые в виде фармацевтической комбинации, включают композицию, содержащую

соединение по настоящему изобретению и другое терапевтическое средство(а) вместе в той же фармацевтической композиции, или соединения по настоящему изобретению и другое терапевтическое средство(а) в отдельной форме, *например*, в форме набора.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтической комбинации, содержащей соединение по настоящему изобретению и другое терапевтическое средство(а). Необязательно, фармацевтическая композиция может содержать фармацевтически приемлемый эксципиент, как описано выше.

В одном из вариантов осуществления предложен набор, содержащий два или более отдельных фармацевтических композиций, по меньшей мере одно из которых содержит соединение по настоящему изобретению. В одном из вариантов осуществления набор содержит средство для отдельного хранения указанных композиций, такое как контейнер, разделенный флакон или разделенный пакет из фольги. Примером такого набора является блистерная упаковка, которая обычно используется для упаковки таблеток, капсул и тому подобное.

Этот набор может быть использован для введения различных лекарственных форм, например, пероральной и парентеральной, для введения отдельных композиций с различными интервалами дозирования, или для титрования отдельных композиций относительно друг друга. Для соблюдения назначения набор по изобретению обычно включает инструкции по применению.

Фармацевтическая композиция или комбинация по настоящему изобретению может находиться в единичной дозе приблизительно 1-1000 мг активного ингредиента(ов) для индивида приблизительно 50-70 кг, или приблизительно 1-500 мг или приблизительно 1-250 мг или приблизительно 1-150 мг или приблизительно 0,5-100 мг, или около 1-50 мг активных ингредиентов. Терапевтически эффективная доза соединения по настоящему изобретению, фармацевтическая композиция или их комбинации, зависит от вида индивида, массы тела, возраста и конкретного состояния, расстройства или заболевания, или их тяжести, в отношении которых направлено лечение. Врач, клиницист или ветеринар обычной квалификации может легко определить эффективное

количество каждого из активных ингредиентов, необходимых для профилактики, лечения или ингибирования прогресса заболевания или расстройства.

Цитированные выше свойства доз могут быть продемонстрированы в *in vitro* и в *in vivo* тестах, используя преимущественно млекопитающих, например, мышей, крыс, собак, обезьян или выделенные органы, ткани и их препараты. Соединения по настоящему изобретению могут использоваться *in vitro* в форме растворов, например, водных растворов, а *in vivo* либо энтерально, либо парентерально, либо внутривенно, например, в виде суспензии или в водном растворе. Дозировка *in vitro* может находиться в диапазоне приблизительно 10^{-3} моль до 10^{-9} моль. Терапевтически эффективное количество *in vivo* может изменяться в зависимости от способа введения, приблизительно 0,1-500 мг/кг или приблизительно 1-100 мг/кг.

Антагонисты PI 3-киназы, такие как соединения по настоящему изобретению, также эффективны в качестве со-терапевтических средств для применения в комбинации со вторым активным средством, таким как, например, органический нитрат и NO-доноры, такие как натрий нитропруссид, нитроглицерин, изосорбида мононитрат, изосорбида динитрат, мольсидомин или SIN-1, и ингаляционные NO; с соединениями, которые ингибируют деградацию циклического гуанозинмонофосфата (цGMP) и/или циклического аденозинмонофосфата (цAMP), такими как ингибиторы фосфодиэстеразы (PDE) 1, 2, 3, 4 и/или 5, особенно ингибиторами PDE 5, такими как силденафил, варденафил и тадалафил; с NO-независимыми, но гем-зависимыми стимуляторами гуанилатциклазы, такими как, в частности, соединения, описанные в WO 00/06568, WO 00/06569, WO 02/42301 и WO 03/095451; с NO- и гем-независимыми активаторами гуанилатциклазы, такими как, в частности, соединения, описанные в WO 01/19355, WO 01/19776, WO 01/19778, WO 01/19780, WO 02/070462 и WO 02/070510; с соединениями, которые ингибируют эластазу нейтрофилов человека, такими как сивелестат или DX-890 (Reltran); с соединениями, ингибирующими каскад сигнальной трансдукции, такими как ингибиторы тирозинкиназы и/или серин/треонинкиназы, в частности,

иматиниб, гефитиниб, эрлотиниб и сунитиниб; с соединениями, влияющими на энергетический метаболизм сердца, например и предпочтительно, этомоксир, дихлорацетат, ранолазин или триметазидин; с антитромботическими средствами, например и предпочтительно, выбранными из группы, включающей ингибиторы агрегации тромбоцитов, антикоагулянтами или профибринолитическими веществами; с активными веществами для снижения кровяного давления, например и предпочтительно, выбранными из группы, включающей антагонисты кальция, антагонисты ангиотензина II, ингибиторов ACE, антагонистов эндотелина, ингибиторов ренина, ингибиторов альдостеронсинтазы, блокаторов альфа рецептора, блокаторов бета рецептора, антагонистов рецепторов минералкортикоидов, ингибиторов Rho-киназы и диуретиков; и/или с активными веществами, которые изменяют липидный метаболизм, например и предпочтительно, выбранными из группы, включающей агонисты тиреоидного рецептора, ингибиторов холестеролсинтазы, например и предпочтительно, ингибиторы HMG-CoA-редуктазы или ингибиторы скваленсинтазы, ингибиторов ACAT, ингибиторов CETP, ингибиторов MTP, агонистов PPAR-альфа, PPAR-гамма и/или PPAR-дельта, ингибиторов абсорбции холестерина, ингибиторов липазы, полимерных адсорбентов желчных кислот, ингибиторов реабсорбции желчных кислот и антагонистов липопротеина (A), в частности, для лечения РАН или заболевания или и заболеваний, таких, как указано выше, например, в качестве усилителей терапевтической активности такие лекарственных средств или в качестве средств, снижающих требуемую дозу или возможные побочные эффекты таких лекарственных средств.

В конкретном варианте осуществления предлагается фармацевтическая комбинация, содержащая соединения по настоящему изобретению и второе средство, где второе средство представляет собой ингибитор PDE 5 или ингибитор нейтральной эндопептидазы.

Соединения по настоящему изобретению могут быть смешаны со вторым средством в фиксированной фармацевтической композиции или их можно вводить отдельно, перед, одновременно или после

введения другого лекарственного вещества.

В частности, изобретение включает в еще одном аспекте комбинацию ингибитора PI 3-киназы, такого как соединение по настоящему изобретению, с осмотическими агентами (гипертоническим раствором, декстраном, маннитом, ксилитом), блокатором ENaC, противовоспалительным, бронхорасширяющим, антигистаминным, противокашлевым веществом, антибиотиком и/или ДНКазой, где антагонист TRH1 и дополнительное лекарственное вещество могут быть в одной и той же фармацевтической композиции.

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

Подходящие ДНКазы включают дорназа альфа (Pulmozyme™), высоко-очищенный раствор рекомбинантной человеческой дезоксирибонуклеазы I (rhDNase), которая селективно расщепляет ДНК. Дорназа альфа используется для лечения муковисцидоза.

Соответственно, настоящее изобретение включает в качестве еще одного аспекта комбинацию ингибитора PI 3-киназы, такого как соединения по настоящему изобретению, со вторыми агентами, которые являются агонистами рецептора IP, в частности, соединения, раскрытые в W02012/007539.

Соответственно, настоящее изобретение включает в качестве еще одного аспекта комбинацию ингибиторов PI 3-киназы, таких как соединения по настоящему изобретению со вторыми средствами, которые представляют собой ингибиторы нескольких киназ, такие как иматиниб мезилат, Гливек. Иматиниб действует как специфический ингибитор ряда ферментов тирозинкиназы. Он занимает активный сайт TK, что приводит к снижению активности. Ферменты TK в организме включают рецептор инсулина. Иматиниб специфичен для домена TK в протоонкогене Абельсона, с-наборе и PDGF-R (рецептор фактора роста тромбоцитов).

В конкретном варианте осуществления предлагается фармацевтическая комбинация, содержащая соединение по настоящему изобретению и второе активное средство, выбранное из ингибиторов фосфодиэстеразы V, ингибиторов нейтральной

эндопептидазы 1, ингибиторов ALK-5, ингибиторов Rho-киназы, ингибиторов TRH1, ингибиторов нескольких киназ, антагонистов эндотелина, диуретиков, блокатора рецептора альдостерона и блокатора рецептора эндотелина.

В другом варианте осуществления предлагается фармацевтическая комбинация, содержащая соединение по настоящему изобретению и второе активное средство, выбранное из ингибиторов фосфодиэстеразы V, ингибиторов нейтральной эндопептидазы 1, ингибиторов ALK-5, ингибиторов Rho-киназы, ингибиторов TRH1, ингибиторов нескольких киназ.

Соединения по любому из вариантов осуществления 1-35, в которых оба R³ и R⁴ представляют собой H, как было обнаружено, являются метаболиты соединений по настоящему изобретению.

Экспериментальная часть

Соединения по настоящему изобретению проиллюстрированы следующими примерами соединений.

Из вышеуказанного следует принять во внимание, что, хотя конкретные варианты осуществления настоящего изобретения были описаны в настоящем изобретении в целях иллюстрации, могут быть сделаны различные модификации без отклонения от сущности и объема настоящего изобретения. Соответственно, изобретение не ограничено ничем, кроме как прилагаемой формулой изобретения.

Общие условия:

Масс-спектры были выполнены на системах ЖХМС, используя ионизацию электрораспылением. Они представляют собой либо масс-спектрометр Agilent 1100 HPLC/Micromass Platform или комбинацию Waters ACQUITY UPLC и масс-спектрометра SQD. [M+H]⁺ относится к моно-изотопной молекулярной массе.

ЯМР-спектры были выполнены на Bruker Avance 400 МГц или на ЯМР-спектрометрах 500 МГц, используя ICON-ЯМР. Спектры измеряли при 298К со ссылкой на пик растворителя.

Как понятно специалисту в данной области при выполнении 1H ЯМР в дейтерированном ДМСО для соединения в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-36, когда R¹=метил, сигнал указанного метилового протона часто затемняется пиком

растворителя ДМСО при δ около 2,5 ppm.

Следующие примеры предназначены для иллюстрации изобретения и не должны быть истолкованы как ограничивающие его. Температура дана в градусах Цельсия. Если не указано того, то все упаривания проводят при пониженном давлении, предпочтительно между примерно 15 мм рт.ст. и 30 мм рт.ст. (= 20–133 мбар). Структура конечных продуктов, промежуточных и исходных веществ, подтверждена стандартными аналитическими способами, например, микроанализом и спектральными характеристиками, например, МС, ИК, ЯМР. Используемые сокращения являются обычными в данной области. Если не определено, то термины имеют общепринятые значения.

Сокращения:

АсОН	уксусная кислота
водн.	водный
ушир.	уширенный
BuOH	бутанол
конц.	концентрированный
д	дублет
DCM	дихлорметан
DCC	N, N'-дициклогексилкарбодиимид
DCE	1, 2-дихлорэтан
DEAD	диоксетан азодикарбоксилат
DIPEA	диизопропилоксетанами́н
DMA	диметилацетамид
DME	1, 2-диметоксиэтан
DMF	N, N-диметилформа́мид
ДМСО	диметилсульфоксид
Et ₂ O	диэтиловый эфир
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол
ч	часы
HATU	O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N, N, N, N-тетраметилурония гексафторфосфат
HOBT · H ₂ O	1-гидроксibenзотриазол гидрат

ВЭЖХ	высокоэффективная хроматография	жидкостная
КОАс	ацетат калия	
КОtBu	трет-бутоксид калия	
ЖХМС	жидкостная хроматография и масс- спектрометрия	
MeOH	метанол	
MeCN	ацетонитрил	
МС	масс-спектрометрия	
м	мультиплет	
мин	минуты	
мл	миллилитр (ы)	
м/г	отношение массы к заряду	
NBS	N-бромсукцинимид	
ЯМР	ядерно-магнитный резонанс	
$\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$	аддукт дихлорметан бис (дифенилфосфино) ферроцен] дихлорпалладия (II)	[1,1-
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$	дихлорид бис (трифенилфосфин) палладия (II)	
ppm	частей на миллион	
PS	на полимерной подложке	
Rt	время удерживания	
комн. темп.	комнатная температура	
с	синглет	
насыщ.	насыщенный	
SCX-2	сильная катионообменная (например, колонка Isolute® SCX-2 от Biotage)	
т	триплет	
TBME	метил-трет-бутиловый эфир	
TEA	триэтиламин	
TFA	трифторуксусная кислота	
THF	тетрагидрофуран	
ТСХ	тонкослойная хроматография	

Ссылаясь на примеры, которые следуют далее соединения

предпочтительных вариантов осуществления изобретения были синтезированы с использованием способов, описанных в настоящем документе, или других способов, которые известны в данной области.

Различные исходные материалы, промежуточные продукты и соединения предпочтительных вариантов осуществления изобретения могут быть выделены и очищены, если это целесообразно, с использованием обычных способов, таких как осаждение, фильтрация, кристаллизация, выпаривание, дистилляция и хроматография. Если не указано иного, то все исходные вещества получали из коммерческих источников и использовали без дополнительной очистки. Соли могут быть получены из соединений с помощью известных солеобразующих процедур.

Следует понимать, что органические соединения, в соответствии с предпочтительными вариантами осуществления, могут проявлять явление таутомерии. В качестве химических структур в настоящем описании может быть представлена только одна из возможных таутомерных форм, следует понимать, что предпочтительные варианты осуществления включают любую таутомерную форму изображенной структуры.

Если используют нагревание в микроволновой печи, то используют микроволновую печь Biotage Initiator Sixty в специальных реакционных пробирках при показанной температуре и в течение указанного времени.

Если не указано иного, то условия для аналитической ЖХМС представляют собой следующее:

Способ А

Колонка:	Cynergi 2.5uMMax-RP100A (20x4,0)мм.
Подвижная фаза:	А: Вода+0,1% муравьиная кислота В: Ацетонитрил
Градиент	0,0-0,5 мин 20% В, 2,5-4,5 мин 95% В, 5,0 мин 20% В

Способ 2minLC_v003

Колонка Waters ВЕН C18 50×2,1 мм, 1,7 мкм
Температура колонки 50°C
Элюенты А: H₂O, В: ацетонитрил, оба содержат
0,1% ТФА
Скорость потока 0,8 мл/мин
Градиент 0,20 мин 5% В; 5%-95% В в течение
1,30 мин, 0,25 мин 95% В

Способ 2minLowpH

Колонка: Waters Acquity CSH 1,7 мкм,
2,1 ×50 мм
Температура: 50°C
Подвижная фаза: А: Вода+0,1% муравьиная кислота В:
Ацетонитрил+0,1% муравьиная кислота
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Градиент: 0,0 мин 5% В, 0,2-1,3 мин 5-98% В,
1,3-1,55 мин 98% В, 1,55-1,6 мин
98-5% В

Способ 2minLowpHv01

Колонка: Waters Acquity CSH 1,7 мкм,
2,1×50 мм
Температура: 50°C
Подвижная фаза: А: Вода+0,1% муравьиная кислота В:
Ацетонитрил+0,1% муравьиная кислота
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Градиент: 0,0 мин 5% В, 0,2-1,55 мин 5-98% В,
1,55-1,75 мин 98% В, 1,75-1,8 мин
98-5% В

Способ 2minLowpHv02

Колонка: Acquity CSH C18 50×2,1 мм
 Температура: 50°C
 Элюенты А: Вода В: Ацетонитрил оба+0,1% ТФА
 Скорость потока: 1,0 мл/мин
 Градиент: 0,0 мин 5% В, 0,2-1,55 мин 5-98% В,
 1,55-1,75 мин 98% В, 1,75-1,8 мин
 98-5% В

Способ 10minLowpH

Колонка: Waters Acquity CSH 1,7 мкм,
 2,1×100 мм
 Температура: 50°C
 Подвижная фаза: А: Вода+0,1% муравьиная кислота В:
 Ацетонитрил+0,1% муравьиная кислота
 Скорость потока: 0,7 мл/мин
 Градиент: 0,0 мин 2% В, 0,5-8,0 мин 2-98% В,
 8,0-9,0 мин 98% В, 9,0-9,1 мин 98-
 2% В

Способ 10minHighpH

Колонка: Waters Acquity CSH 1,7 мкм, 2,1×100
 мм
 Температура: 50°C
 Подвижная фаза: А: Вода+0,1% аммиак В:
 Ацетонитрил+0,1% Аммиак
 Скорость потока: 0,7 мл/мин
 Градиент: 0,0 мин 2% В, 0,5-8,0 мин 2-98% В,
 8,0-9,0 мин 98% В, 9,0-9,1 мин 98-
 2% В

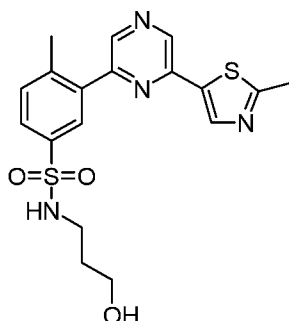
Если не указано иного, то аналитическая препаративная ВЭЖХ с обращенной фазой была следующей:

Способ 10-35% Градиент с низким pH

Колонка: Waters Sunfire C18, 150×30 мм, 5 мик
 Подвижная фаза: А=0,1% ТФА в воде, В=0,1% ТФА в MeCN
 Градиент: 0,0-0,5 мин 10% В 30 мл/мин, 0,5-1,0 мин 10% В 30-50 мл/мин, 1,0-7,25 мин 10-35% В, 7,25-7,3 мин 35-98% В, 7,3-8,3 мин 98% В, 8,3-8,5 мин 98-100% В 50 мл/мин

Пример 1

N-(3-Гидроксипропил)-4-метил-3-[6-(2-метилтиазол-5-ил)-пиразин-2-ил]бензолсульфонамид



В 2-5 мл-овый сосуд для микроволновой печи добавляли 2-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)тиазол (116 мг, 0,517 ммоль), 2-бром-6-хлорпиразин (100 мг, 0,517 ммоль), Na₂CO₃ (0,775 мл, 1,551 ммоль, 2M) и PdCl₂(dppf). Аддукт CH₂Cl₂ (21 мг, 0,026 ммоль) в DME (3 мл) с получением оранжевой суспензии. Реакционную смесь нагревали микроволновой biotage initiator при 120°C в течение 60 мин. В реакционную смесь добавляли N-(3-гидроксипропил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамид (Промежуточное соединение B1) (184 мг, 0,517 ммоль) и аддукт PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂ (21 мг, 0,026 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 120°C в микроволновой печи в течение 60 мин. Реакционную смесь экстрагировали в этилацетате, промывали водой, насыщенным солевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали, и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт загружали на силикагель и очищали колоночной флэш-хроматографией, используя Teledyne ISCO combiflash Rf,

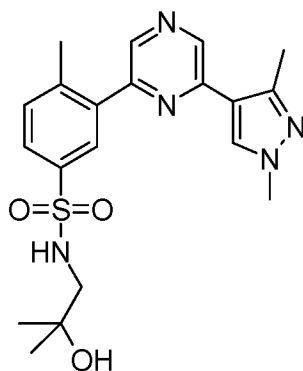
элюируя ТВМЕ:MeOH (0-20%) в течение 15 мин на 12 г силикагелевом картридже. Требуемые фракции объединяли, и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением коричневого масла, который сушили при пониженном давлении при 40°C в течение 2 часов. Продукт выделяли в виде коричневого твердого продукта.

ЖХМС: Rt 0,86 мин; MS m/z 405,2 [M+H]⁺; Способ LowpH_v002.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ (ppm) 9,30 (1H, с), 8,78 (1H, с), 8,57 (1H, с), 7,91 (1H, д), 7,82-7,79 (1H, дд), 7,63-7,61 (1H, д), 7,57-7,54 (1H, м), 4,42-4,40 (1H, м), 3,40-3,35 (2H, м), 2,85-2,80 (2H, м), 2,72 (3H, с), 2,49 (3H, с), 1,57-1,51 (2H, м).

Пример 2

3-[6-(1,3-Диметил-1H-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)-4-метилбензолсульфонамид



В 0,5-2 мл-овый сосуд для микроволновой печи добавляли N-(2-гидрокси-2-метилпропил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамид (Промежуточное соединение В2) (150 мг, 0,406 ммоль), 2-хлор-6-(1,3-диметил-1H-пиразол-4-ил)пиразин (Промежуточное соединение С1) (85 мг, 0,406 ммоль) аддукт PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (16,59 мг, 0,020 ммоль), 2М водн. Na₂CO₃ (0,609 мл, 1,219 ммоль) в DME (1,3 мл). Реакционную смесь нагревали при 120 С в течение 45 мин в микроволновой biotage initiator (время устанавливали 30 с на перемешивание, высокая абсорбция). Реакционную смесь объединяли с водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (10 мл). Органические экстракты затем промывали насыщенным солевым раствором (15 мл), а затем сушили

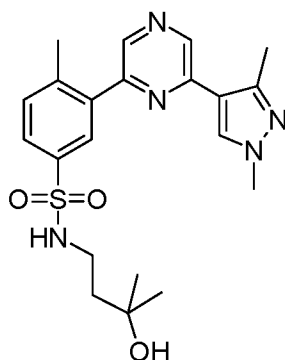
над сульфатом магния и концентрировали в вакууме. Реакционную смесь очищали колоночной флэш-хроматографией, используя Teledyne ISCO combiflash Rf, элюируя гексан/EtOAc (0-100%) в течение 15 мин на 12 г силикагелевом картридже. Требуемые фракции объединяли и концентрировали в вакууме, а затем сушили в вакуумной печи при 40°C в течение 3 часов с получением продукта.

ЖХМС: Rt 0,94 мин; MS m/z 416,4 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

¹H ЯМР (400 МГц, d6-DMCO) δ (ppm) 8,90 (1H, c), 8,63 (1H, c), 8,41 (1H, c), 7,94 (1H, д), 7,79 (1H, дд), 7,59 (1H, д), 7,51 (1H, ушир), 4,42 (1H, ушир), 3,84 (3H, c), 2,63 (2H, ушир), 2,49 (3H, c), 2,46 (3H, c), 1,05 (6H, c).

Пример 3

3-[6-(1,3-Диметил-1H-пиразол-4-ил)-пиразин-2-ил]-N-(3-гидрокси-3-метил-бутил)-4-метил-бензолсульфонамид



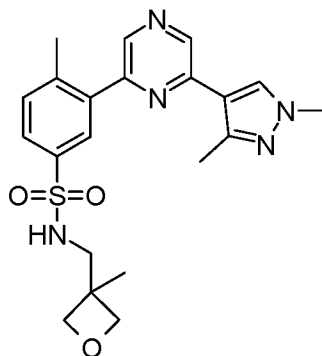
Соединение, указанное в заголовке, получали из N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамида (Промежуточное соединение В3) и 2-хлор-6-(1,3-диметил-1H-пиразол-4-ил)пиразина (Промежуточное соединение С1) в условиях, аналогичных условиям Примера 2.

ЖХМС: Rt 0,96 мин; MS m/z 430,4 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

¹H ЯМР (400 МГц, d6-DMCO) δ 8,91 (1H, c), 8,63 (1H, c), 8,41 (1H, c), 7,92 (1H, д), 7,80 (1H, дд), 7,62 (1H, д), 7,47 (1H, т), 4,28 (1H, c), 3,84 (3H, c), 2,85 (2H, м), 2,47 (3H, c), 1,51 (2H, м), 1,02 (6H, c) одна метильная группа была закрыта пиком растворителя ДМСО.

Пример 4

Транс 3-[6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-4-метил-N-(3-метил-оксетан-3-илметил)бензолсульфонамид



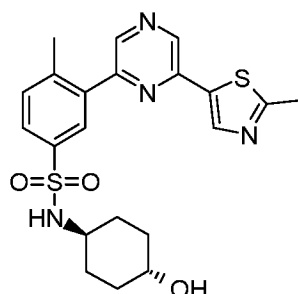
Соединение, указанное в заголовке, получали из 4-метил-N-(3-метилоксетан-3-илметил)-3-(4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамида (Промежуточное соединение В4) и 2-хлор-6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразина (Промежуточное соединение С1) в условиях, аналогичных условиям Примера 2.

ЖХМС: Rt 0,96 мин; MS m/z 428,2 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃), δ 8,79 (1H, с), 8,55 (1H, с), 8,04 (1H, с), 7,95 (1H, с), 7,88 (1H, дд), 7,53 (1H, д), 4,73 (1H, ушир т), 4,39 (4H, м), 3,95 (3H, с), 3,21 (2H, д), 2,61 (3H, с), 2,55 (3H, с), 1,29 (3H, с).

Пример 5

Транс N-(4-гидроксициклогексил)-4-метил-3-(6-(2-метилтиазол-5-ил)пиразин-2-ил)бензолсульфонамид



В раствор **транс** 3-(6-хлорпиразин-2-ил)-N-(4-гидроксициклогексил)-4-метилбензолсульфонамида (Промежуточное соединение D2) (150 мг, 0,393 ммоль) добавляли 2-метил-5-

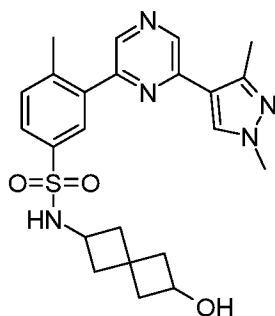
(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)тиазол (97 мг, 0,432 ммоль), бис(трифенилфосфин)палладий (II) хлорид (13,79 мг, 0,020 ммоль) и Na₂CO₃ (водн. 2,0M) (589 мкл, 1,178 ммоль). Реакционную смесь нагревали в микроволновой печи при 150°C в течение 30 мин. Реакционную смесь добавляли к насыщ. водному раствору Na₂CO₃ (50 мл), и продукт экстрагировали в EtOAc (2×50 мл). Органические фазы промывали насыщенным солевым раствором, сушили над MgSO₄ и концентрировали в вакууме. Сырой продукт очищали хроматографией ISCO combiflash, элюируя модифицированным градиентом 0-10% (DCM-2M NH₃ в MeOH) на 12 г силикагелевой колонке, наполняя DCM. Полученное бесцветное масло обрабатывали ультразвуком в TBME (5ml), и царапали лопаточной до образования мелкого белого осадка, и затем смесь оставляли отстаиваться. Полученный твердый продукт собирали фильтрацией, промывали небольшим количеством TBME и сушили.

ЖХМС: Rt 0,89 мин; MS m/z 445,3 [M+H]⁺; Способ 2minLowpH

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,29 (1H, с), 8,77 (1H, с), 7,56 (1H, с), 7,95 (1H, с), 7,83 (1H, д), 7,66 (1H, ушир с), 7,60 (1H, д), 4,55 (1H, д), 3,36-3,26 (1H, м), 3,01-2,90 (1H, м), 2,72 (3H, с), 2,49 (3H, с), 1,77-1,60 (4H, м), 1,27-1,03 (4H, м).

Пример 6

3-[6-(1,3-Диметил-1H-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-N-(6-гидроксиспиро[3,3]гепт-2-ил)-4-метилбензолсульфонамид



Перемешиваемую смесь 3-бром-N-(6-гидроксиспиро[3,3]гептан-2-ил)-4-метилбензолсульфонамида (Промежуточное соединение А6) (200 мг, 0,555 ммоль), KOAc (82 мг, 0,833 ммоль), аддукт PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (22,67 мг, 0,028 ммоль) и бис(пинокалато)диборона (155 мг, 0,611 ммоль) в DME (2776 мкл)

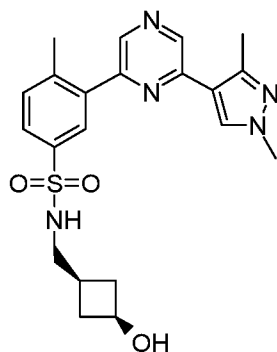
в атмосфере N_2 нагревали при $90^\circ C$ в течение 18 ч. Добавляли 2-хлор-6-(1,3-диметил-1H-пиразол-4-ил)пиразин (Промежуточное соединение C1) (116 мг, 0,555 ммоль), 2M водный Na_2CO_3 (833 мкл, 1,665 ммоль) и аддукт $PdCl_2(dppf) \cdot CH_2Cl_2$ (22,67 мг, 0,028 ммоль), и реакционную смесь нагревали в микроволновой печи в течение 45 мин при $120^\circ C$. Реакционную смесь добавляли в воду (80 мл), и продукт экстрагировали в EtOAc (2×70 мл). Органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором, сушили над $MgSO_4$ и добавляли триметил тиол с полимерной подложной для очистки Pd. Эту смесь время от времени перемешивали с круговоротом в течение 1 часа. Твердые продукты удаляли путем фильтрации, промывали EtOAc и концентрировали в вакууме. Сырой продукт очищали хроматографией ISCO combiflash, элюируя 0-10% градиентом (2M NH_3 в MeOH) в DCM на колонке с 12 г силикагеля, наполненной DCM. С получением продукта в виде твердого продукта.

ЖХМС: Rt 0,93 мин; MS m/z 455,5 $[M+H]^+$; Способ 2minLowpHv01

1H ЯМР (400 МГц, d_6 -DMSO) δ 8,91 (1H, c), 8,62 (1H, c), 8,42 (1H, c), 7,88 (2H, m), 7,77 (1H, d), 7,58 (1H, d), 4,83 (1H, d), 3,84 (4H, m), 3,52 (1H, m), 2,47 (3H, c), 2,21 (1H, m), 2,02 (2H, m), 1,90 (1H, m), 1,71 (4H, m) одна метильная группа была закрыта пиком растворителя DMSO.

Пример 7

Цис 3-[6-(1,3-диметил-1H-пиразол-4-ил)-пиразин-2-ил]-N-(3-гидроксициклобутилметил)-4-метилбензолсульфонамид



Соединение, указанное в заголовке, получали из цис 3-бром-N-(3-гидроксициклобутилметил)-4-метилбензолсульфонамида

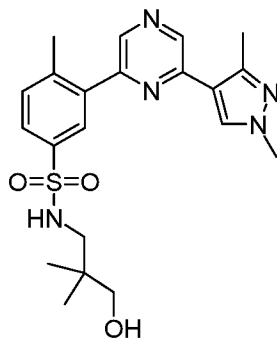
(промежуточное соединение А7) и 2-хлор-6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразина (Промежуточное соединение С1) в условиях, аналогичных условиям Примера 6.

ЖХМС: Rt 1,01 мин m/z 430,3 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

¹H ЯМР (400 МГц, d6-ДМСО) δ 8,91 (1H, c), 8,63 (1H, c), 8,42 (1H, c), 7,91 (1H, д), 7,78 (1H, дд), 7,59 (2H, м), 4,90 (1H, д), 3,84 (3H, c), (3,84 (1H, м (по-видимому под пиком 3H)), 2,76 (2H, т), 2,47 (3H, c), 2,17 (2H, м), 1,75 (1H, м), 1,41 (2H, м), одна метильная группа была закрыта пиком растворителя ДМСО.

Пример 8

3-[6-(1,3-Диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-N-(3-гидрокси-2,2-диметилпропил)-4-метилбензолсульфонамид



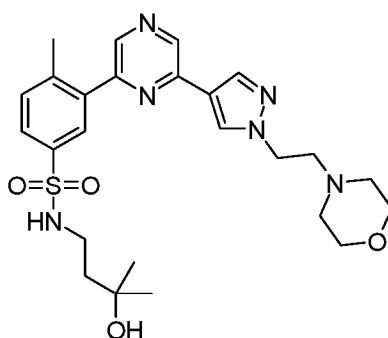
Соединение, указанное в заголовке, получали из 3-бром-N-(3-гидрокси-2,2-диметилпропил)-4-метилбензолсульфонамида (промежуточное соединение А8) и 2-хлор-6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразина (Промежуточное соединение С1) в условиях, аналогичных условиям Примера 6.

ЖХМС: Rt 0,99 мин m/z 430,4 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

¹H ЯМР (400 МГц, d6-ДМСО), δ 8,91 (1H, c), 8,63 (1H, c), 8,42 (1H, c), 7,93 (1H, д), 7,80 (1H, дд), 7,60 (1H, д), 7,41 (1H, т), 4,45 (1H, т), 3,84 (3H, c), 3,10 (2H, д), 2,59 (2H, д), 2,47 (3H, c), 0,77 (6H, c)

Пример 9

N-(3-Гидрокси-3-метилбутил)-4-метил-3-{6-[1-(2-морфолин-4-илэтил)-1Н-пиразол-4-ил]пиразин-2-ил}бензолсульфонамид



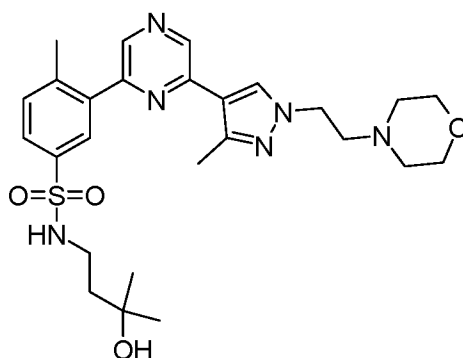
Соединение, указанное в заголовке, получали из 3-(6-хлорпиразин-2-ил)-N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метилбензолсульфонамида (Промежуточное соединение D1) и 4-{2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)пиразол-1-ил]этил}морфолина в условиях, аналогичных условиям Примера 5.

ЖХМС: Rt 0,63 мин; MS m/z 515,4 [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,79 (1H, с), 8,55 (1H, с), 8,18 (1H, ушир с), 8,10 (1H, с), 8,05 (1H, д), 7,38 (1H, дд), 7,50 (1H, д), 5,62 (1H, ушир т), 4,35 (2H, ушир с), 3,71 (4H, ушир с), 3,19 (2H, м), 2,89 (2H, ушир с), 2,55 (3H, с), 2,53 (4H, ушир с), 1,65 (2H, м), 1,19 (6H, с), ОН заменен.

Пример 10

N-(3-Гидрокси-3-метилбутил)-4-метил-3-{6-[3-метил-1-(2-морфолин-4-илэтил)-1H-пиразол-4-ил]пиразин-2-ил}бензолсульфонамид



К раствору 4-(2-(4-(6-бромпиразин-2-ил)-5-метил-1H-пиразол-1-ил)этил)морфолина (Промежуточное соединение C2) (50 мг, 0,142ммоль) в толуоле/EtOH (2:1; 1,5 мл) добавляли N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамид (Промежуточное соединение

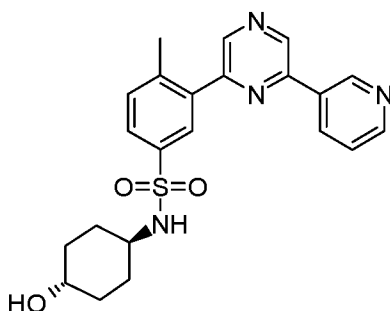
В3) (54,4 мг, 0,142ммоль), а затем $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (5 мг, 7,10 мкмоль) и 2М водный раствор карбоната натрия (0,213 мл, 0,426 ммоль). Реакционную смесь нагревали в микроволновой печи при 100°C в течение 30 мин. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали водой, и органический слой концентрировали при пониженном давлении. Осадок очищали флэш-хроматографией на силикагеле (12 г), используя ISCO combiflash, элюируя градиентом DCM/MeOH (0-10%) с получением продукта.

ЖХМС: Rt 0,70 мин; MS m/z 529,3 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 8,91 (1H, с), 8,62 (1H, с), 8,47 (1H, с), 7,93 (1H, д), 7,79 (1H, дд), 7,62 (1H, д), 7,46 (1H, ушир с), 4,28 (1H, ушир с), 4,21 (2H, т), 3,56 (4H, т), 2,85 (2H, ушир т), 2,73 (2H, т), 2,50 (3H, с частично закрыт DMSO), 2,48 (3H, с), 2,42 (4H, т), 1,50 (2H, т), 1,01 (6H, с).

Пример 11

Транс N-(4-гидроксициклогексил)-4-метил-3-(6-пиридин-3-илпиразин-2-ил) бензолсульфонамид



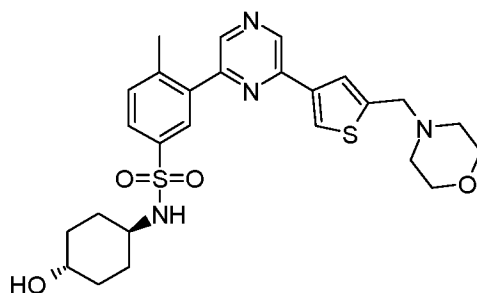
Красную суспензию *транс* N-(4-гидроксициклогексил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамида (Промежуточное соединение В5) (204 мг, 0,517 ммоль), 3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридина (106 мг, 0,517 ммоль), 2М водн. NaHCO_3 (1,3 мл, 2,58 ммоль) и аддукта $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (21,11 мг, 0,026 ммоль) в 1,2-диметоксиэтаноле (2,53 мл) в атмосфере N_2 нагревали в микроволновой печи при 120°C в течение 0,75 ч. Добавляли 3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин (106 мг, 0,517 ммоль) и аддукт $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (21,11 мг, 0,026 ммоль)

к черной суспензии, а затем нагревали до 120°C в течение 0,75 ч. Добавляли воду (50 мл), а затем экстрагировали дважды EtOAc (50 мл×2), промывая насыщенным солевым раствором (20 мл) и сушили над MgSO₄. Полученную органическую фазу концентрировали при пониженном давлении. Сырой продукт очищали хроматографией ISCO combiflash, элюируя модифицированным градиентом 0-10% (DCM-NH₃ в MeOH) на колонке 12 г силикагеля, наполняя DCM, с получением соединения, указанного в заголовке.

ЖХМС: Rt 0,76 мин; MS m/z 425,5 [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003
¹H (400 МГц, d6-DMCO) δ 9,40 (2H, м), 8,95 (1H, с), 8,74 (1H, дд), 8,57 (1H, м), 8,03 (1H, д), 7,85 (1H, дд), 7,67 (1H, д), 7,62 (2H, м), 4,48 (1H, д), 3,30 (1H, м), 2,96 (1H, м), 2,55 (3H, с), 1,69 (4H, м), 1,14 (4H, м).

Пример 12

Транс N-(4-гидроксициклогексил)-4-метил-3-[6-(5-морфолин-4-илметилтиофен-3-ил)-пиразин-2-ил]бензолсульфонамид



К раствору *транс* 3-(6-хлорпиразин-2-ил)-N-(4-гидроксициклогексил)-4-метилбензолсульфонамида (Промежуточное соединение D2) (80 мг, 0,209 ммоль) в DME (1047 мкл) добавляли 4-((4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)тиофен-2-ил)метил)морфолин (97 мг, 0,314 ммоль), бис(трифенилфосфин)палладий (II) хлорид (7,35 мг, 10,47 μmol) и Na₂CO₃ (водн. 2,0M) (66,6 мг, 0,628 ммоль). Реакционную смесь нагревали в микроволновой печи при 120°C в течение 30 мин. Реакционную смесь добавляли в воду (50 мл), и продукт экстрагировали в EtOAc (60 мл). Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором, сушили над MgSO₄ и добавляли триметил тиол с полимерной подложкой для очистки Pd. Эту смесь время от времени перемешивали с круговоротом в течение 1 часа.

Твердые продукты удаляли фильтрацией, промывали EtOAc и концентрировали при пониженном давлении.

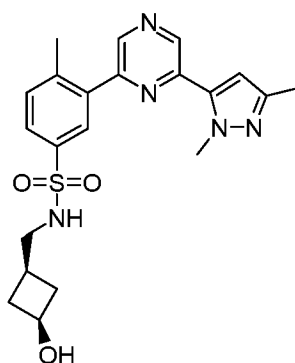
Сырой продукт очищали хроматографией ISCO combiflash, элюируя модифицированным градиентом 0-10% (DCM-2M NH₃ в MeOH) на колонке с 12 г силикагелем, наполняя DCM, с получением белого твердого продукта.

ЖХМС: Rt 0,64 мин; MS m/z 529,3 [M+H]⁺; Способ 2minLowpH

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,91 (1H, с), 8,75 (1H, с), 8,32 (1H, с), 7,98 (1H, с), 7,84 (1H, д), 7,69 (1H, с), 7,60 (1H, д), 4,52 (1H, с), 3,72 (2H, ушир с), 2,59 (4H, ушир с), 3,41 (1H, ушир с), 2,98 (1H, ушир с), 2,42 (4H, ушир с), 1,84-1,55 (4H, м), 1,30-1,10 (4H, м).

Пример 13

Цис 3-[6-(2,5-диметил-2H-пиразол-3-ил)пиразин-2-ил]-N-(3-гидроксициклобутилметил)-4-метилбензолсульфонамид



В 0,5-2 мл-ый сосуд для микроволновой печи добавляли *цис* 3-бром-N-(3-гидроксициклобутилметил)-4-метилбензолсульфонамид (Промежуточное соединение А7) 150 мг, 0,449 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (125 мг, 0,494 ммоль), ацетат калия (66,1 мг, 0,673 ммоль) и аддукт PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (18,33 мг, 0,022 ммоль) в DME (1,3 мл), и реакционную смесь нагревали при 120°C в течение 1 часа в микроволновой печи biotage initiator (устанавливали время 30 с на перемешивание). В реакционную смесь затем добавляли 2-хлор-6-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-ил)пиразин (Промежуточное соединение С3) (94 мг, 0,449 ммоль), аддукт PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (18,33 мг, 0,022 ммоль) и 2M водный раствор Na₂CO₃ (0,673 мл, 1,346 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 120°C в течение 1

часа в микроволновой печи biotage initiator (устанавливали время, 30 с на перемешивание). Реакционную смесь добавляли в воду (10 мл) и экстрагировали в EtOAc (10 мл). Органические экстракты промывали насыщенным соевым раствором (10 мл), а затем сушили над MgSO₄ и концентрировали в вакууме.

Реакционную смесь очищали колоночной флэш-хроматографией, используя ISCO combiflash Rf, элюируя гексан/EtOAc (0-100%) в течение 15 мин на 12 г силикагелевом картридже с получением соединения, указанного в заголовке.

ЖХМС: Rt 0,95 мин; MS m/z 429,3 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

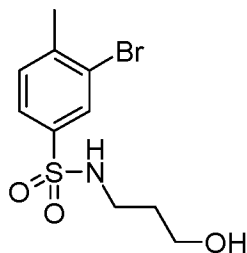
¹H ЯМР (400 МГц, d6-DMCO), δ 9,10 (1H, c), 8,84 (1H, c), 7,94 (1H, д), 7,81 (1H, дд), 7,61 (2H, м), 6,86 (1H, c), 4,90 (1H, д), 4,09 (3H, c), 3,84 (1H, м), 2,76 (2H, т), 2,23 (3H, c), 2,17 (2H, м), 1,74 (1H, м), 1,40 (2H, м), одна метильная группа была закрыта пиком растворителя DMCO.

Получение Промежуточных соединений:

Бромиды (A)

Промежуточное соединение A1

3-Бром-N-(3-гидроксипропил)-4-метилбензолсульфонамид

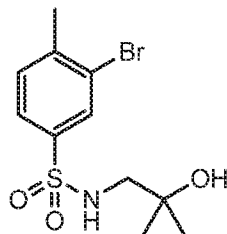


К перемешиваемому раствору 3-бром-4-метилбензол-1-сульфонил хлорида (2 г, 7,42 ммоль) в THF (37 мл) в атмосфере N₂ добавляли 3-амино-1-пропанол (0,568 мл, 7,42 ммоль), DIPEA (1,56 мл, 8,9 ммоль), и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении, и сырое вещество добавляли в 0,1M HCl (100 мл). Смесь экстрагировали EtOAc (150 мл), и органический экстракт промывали насыщт. Na₂CO₃ (60 мл), насыщенным соевым раствором, сушили над MgSO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения, указанного в заголовке;

ЖХМС: Rt 0,89 мин; MS m/z 310,1 [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003

Промежуточное соединение А2

3-Бром-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)-4-метилбензолсульфонамид

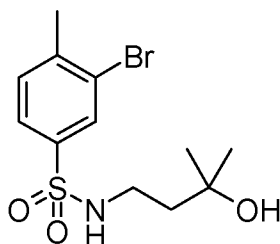


К перемешиваемому раствору 3-бром-4-метилбензол-1-сульфонил хлорида (3,02 г, 11,22 ммоль) в пиридине (56 мл) в атмосфере N₂ добавляли 1-амино-2-метилпропан-2-ол (1,0 г, 11,22 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 72 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении, полученный сырой продукт добавляли к 0,1M HCl (100 мл). Смесь экстрагировали EtOAc (150 мл), и органический экстракт промывали насыщ. Na₂CO₃ (100 мл), насыщенным соевым раствором, сушили над MgSO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения, указанного в заголовке;

ЖХМС: Rt 1,01 мин; MS m/z 324,1 [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003

Промежуточное соединение А3

3-Бром-N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метилбензолсульфонамид



Получали из 3-бром-4-метилбензол-1-сульфонил хлорида и 4-амино-2-метилбутан-2-ола, по аналогии с Промежуточным соединением А2.

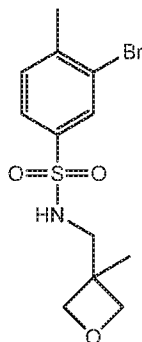
ЖХМС: Rt 1,04 мин; MS m/z не ионизирован [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 7,93 (1H, с), 7,70 (1H, д),

7,58 (1H, д), 7,52 (1H, ушир), 4,28 (1H, ушир), 2,80 (2H, м), 2,43 (3H, с), 1,49 (2H, м), 1,15 (6H, с).

Промежуточное соединение А4

3-Бром-4-метил-N-(3-метилоксетан-3-илметил) бензолсульфонамид



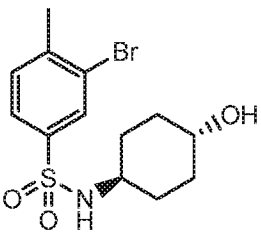
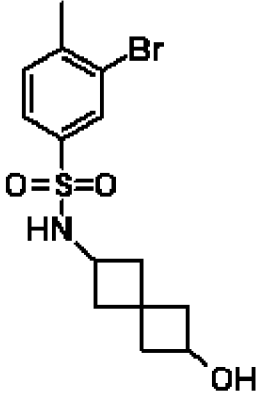
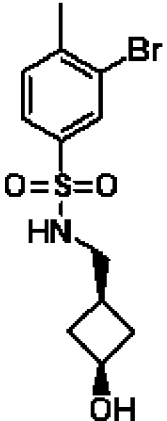
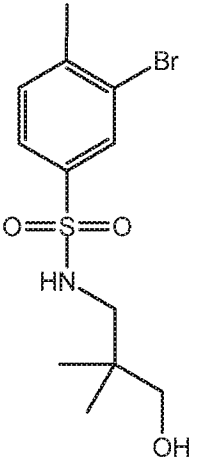
К раствору (3-метилоксетан-3-ил)метанамина (2,026 г, 20,03 ммоль) в DMA (50 мл) добавляли этил диизопропиламин (4,37 мл, 25,04 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, а затем добавляли 3-бром-4-метилбензол-1-сульфонил хлорид (4,5 г, 16,70 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель удаляли в вакууме, и осадок растворяли в EtOAc и промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃, а затем 0,1M HCl, затем насыщенным соевым раствором. Органический экстракт сушили над MgSO₄, и растворитель удаляли с получением продукта в виде светло-желтого порошка (5,19 г, 93%)

ЖХМС: Rt 1,10 мин; MS m/z 336,1 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

Соединения, приведенных в таблице промежуточных соединений, получали по аналогии с Промежуточным соединением А1 из подходящих исходных соединений:

Таблица 1

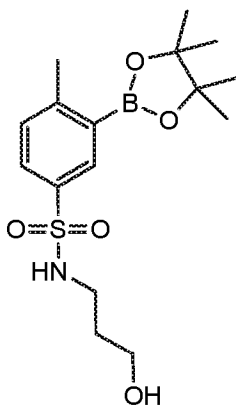
Пр. соед.	Структура	Название	[M+H] ⁺ /ЯМР

A5		<p>Транс 3-бром-N-(4- гидроксициклогексил)-4- метилбензол сульфонамид</p>	<p>ЖХМС: Rt 1,01 мин; MS m/z 348,1 [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003</p>
A6		<p>3-Бром-N-(6-гидрокси- спиро [3, 3] гепт-2-ил)-4- метилбензол сульфонамид</p>	<p>ЖХМС: Rt 1,01 мин; MS m/z 360,3 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01</p>
A7		<p>Цис 3-бром-N-(3- гидроксициклобутил- метил)-4-метил- бензолсульфонамид</p>	<p>ЖХМС: Rt 0,91 мин; MS m/z 336,1 [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003</p>
A8		<p>3-Бром-N-(3-гидрокси- 2,2-диметилпропил)-4- метилбензолсульфон амид</p>	<p>ЖХМС: Rt 0,98 мин; MS m/z 336,1 [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003</p>

Бороновые эфиры (B)

Промежуточное соединение B1

N-(3-Гидроксипропил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил) бензолсульфонамид



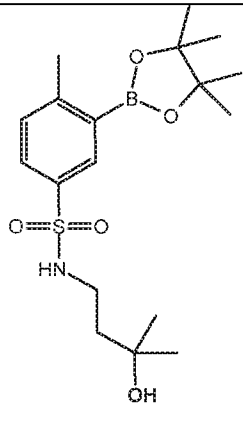
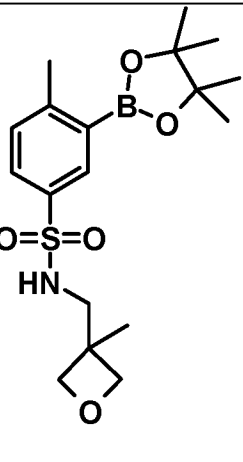
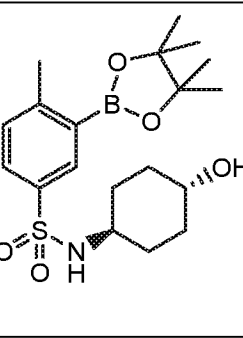
Смесь, содержащую 3-бром-N-(3-гидроксипропил)-4-метилбензолсульфонамид (Промежуточное соединение A1) (2,25 г, 7,30 ммоль), KOAc (1,075 г, 10,95 ммоль), аддукта PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (0,298 г, 0,365 ммоль) и бис(пинаколато)диборон (2,039 г, 8,03 ммоль) в DME (36,5 мл) в атмосфере N₂ перемешивали при 90°C в течение 5 часов. Полученную смесь добавляли в воду (100 мл) и экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным соевым раствором, сушили над MgSO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Очищение хроматографией на силикагеле, элюируя 0-100% градиентом EtOAc в изогексане, давало соединение, указанное в заголовке;

ЖХМС: Rt 1,03 мин; MS m/z 356,5 [M+H]⁺; 2minLC_v003

Соединения, приведенных в таблице промежуточных соединений, получали по аналогии с Промежуточным соединением B1 из подходящих исходных соединений:

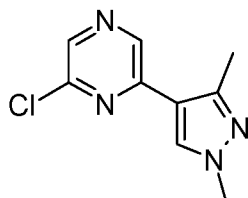
Таблица 2

Пр. соед.	Структура	Название	[M+H] ⁺ /ЯМР
B2		N-(2-Гидрокси-2-метилпропил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамид	ЖХМС RT 1,20 мин. MS m/z 370,3 [M+H] ⁺ , Способ: 2minLowpHv01

B3		N-(3-Гидрокси-3-метилбутил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамид	ЖХМС: Rt 1,10 мин; MS m/z 384,5 [M+H] ⁺ ; Способ 2minLC_v003
B4		4-Метил-N-(3-метил-оксетан-3-илметил)-3-(4,4,5,5)тетраметил-[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)бензол-сульфонамид	ЖХМС: Rt 1,22 мин; MS m/z 382,6 [M+H] ⁺ ; Способ 2minLC_v003
B5		<i>Транс</i> N-((1r,4r)-4-гидроксициклогексил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамид	ЖХМС: Rt 1,14 мин; MS m/z 396,3 [M+H] ⁺ ; Способ 2minLC_v003

Промежуточное соединение C1

2-Хлор-6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)-пиразин



Карбонат натрия (33 мл 2М раствора, 67 ммоль) добавляли к смеси 2-бром-6-хлорпиразина (4,8 г, 25 ммоль), 1,3-диметил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (5,0 г, 22,3 ммоль) и PdCl₂(PPh₃)₂ (0,79 г, 67 ммоль) в DME (80 мл). Смесь дегазировали несколько раз в атмосфере азота, нагревали при перемешивании при 70°C в течение 3 ч.

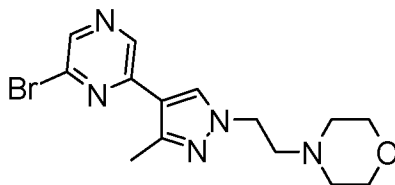
Растворитель удаляли в вакууме, и осадок разбавляли насыщенным соевым раствором и экстрагировали несколько раз EtOAc. Объединенный органический экстракт разделяли, сушили ($MgSO_4$), и растворитель концентрировали в вакууме при этом продукт выпадал в осадок (2,21 г, 46%). Твердый осадок собирали фильтрацией и промывали диэтиловым эфиром-гексаном.

LC-MS: Rt 0,90 мин; MS m/z 209,4 [M+H]⁺; Способ 2minLowpH_v01

¹H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,64 (1H, c), 8,43 (1H, c), 7,92 (1H, c), 3,92 (3H, c), 2,57 (3H, c).

Промежуточное соединение C2

4-{2-[4-(6-Бромпиразин-2-ил)-3-метилпиразол-1-ил]этил}морфолин



Стадия 1: 4-(2-(3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил)этил)морфолин

К раствору 3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (300 мг, 1,442 ммоль) в MeCN (10 мл) добавляли карбонат цезия (1,4 г, 4,33 ммоль), а затем 4-(2-хлорэтил)морфолин (402 мг, 2,163 ммоль), и реакционную смесь нагревали при кипячении с обратным холодильником в течение 5 часов, а затем перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь фильтровали при пониженном давлении для удаления карбоната цезия. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Смесь продукта очищали флэш-хроматографией на силикагеле (24 г), используя ISCO combiflash (GRE-15), элюируя градиентом DCM/метанол (0-15%) с получением соединения, указанного в заголовке, и его региоизомер.

ЖХМС: RT 0,70 мин; MS m/z 323,6 [M+H]⁺; Способ 2minLowpHv01

Стадия 2: 4-{2-[4-(6-Бромпиразин-2-ил)-3-метилпиразол-1-ил]этил}морфолин

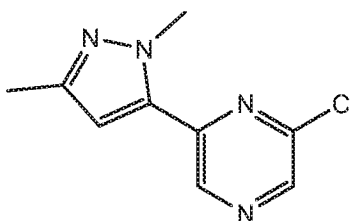
К раствору 4-(2-(3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил)этил)морфолина и региоизомера (стадия 1) (302 мг, 0,799 ммоль) в толуоле/EtOH (2:1; 9 мл) добавляли 2,6-дибромпиразин (190 мг, 0,799 ммоль), а затем Pd(PPh₃)₂Cl₂ (28,0 мг, 0,040 ммоль), после чего 2М водный раствор карбоната натрия (1,2 мл, 2,396 ммоль). Реакционную смесь нагревали в микроволновой печи при 80°C в течение 1 ч. Органический слой реакционной смеси выделяли и концентрировали при пониженном давлении до желтого масла. Продукт очищали флэш-хроматографией на силикагеле (24 г), используя ISCO combiflash (GPE-15), элюируя градиент DCM/MeOH (0-10%) с получением двух продуктов в виде желтого масла, которое разделяли препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой (Способ; 10-35% градиент LowpH) с получением соединения, указанного в заголовке. Это был второй элюент соединения. Стереохимию определяли с помощью NOE; первое соединение показало взаимодействие «через пространство» между метилом и метиленом при этом требуемое соединение - нет.

ЖХМС: RT 0,61 мин; MS m/z 354,1 [M+H]⁺; Способ 2minLowpH.

¹H ЯМР (400 МГц, d₆-DMCO) δ 8,88 (1H, с), 8,58 (1H, с), 8,45 (1H, с), 4,20 (2H, т), 3,54 (4H, м), 3,32 (3H, с), 2,72 (2H, т), 2,45 (4H, м).

Промежуточное соединение С3

2-Хлор-6-(2,5-диметил-2Н-пиразол-3-ил) пиразин



Соединение, указанное в заголовке, получали из 2-бром-6-хлорпиразина (4,8 г, 25 ммоль) и 1,3-диметил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола в условиях, аналогичных условиям для Промежуточного соединения С1.

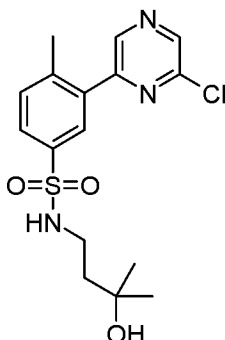
ЖХМС: 0,90 мин; MS m/z 211,3 [M+H]⁺; Способ 2minLowpH

¹H ЯМР (400 МГц, DMCO-d₆), δ 9,05 (1H, с), 8,73 (1H, с),

6,84 (1H, c), 4,05 (3H, c), 2,20 (3H, c)

Промежуточное соединение D1

3-(6-Хлорпиразин-2-ил)-N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метилбензолсульфонамид



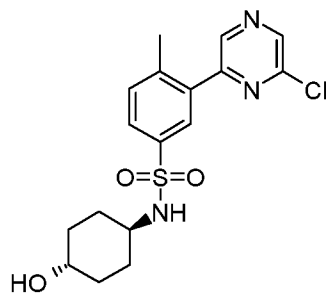
Перемешанный раствор N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамида (Промежуточное соединение В3) (1,98 г, 5,17 ммоль) и 2-бром-6-хлорпиразина (1,0 г, 5,17 ммоль) в DME (10 мл) и 2M Na₂CO₃ (7,8 мл, 15,5 ммоль) дегазировали несколько раз в атмосфере азота перед добавлением аддукта PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (0,211 г, 0,26 ммоль). Смесь дегазировали снова, затем нагревали при 80°C. Через 3 ч растворитель удаляли, и осадок разделяли между EtOAc и водой. Органический экстракт удаляли, сушили над MgSO₄, и растворитель удаляли с получением коричневого осадка. Хроматография на силикагеле, элюируя EtOAc, давала продукт в виде бесцветной смолы (1,401 г, 73%)

ЖХМС: RT 0,95 мин; MS m/z 370,4 [2M+H]⁺; Способ 2minLC_v003.olp

¹H ЯМР (400 МГц, d₆-ДМСО) δ 8,96 (1H, c), 8,86 (1H, c), 7,90 (1H, c), 7,82 (1H, c), 7,63 (1H, д), 7,99 (1H, ушир т), 4,28 (1H, c), 2,83 (2H, м), 2,45 (3H, c), 1,50 (2H, м), 1,00 (6H, c)

Промежуточное соединение D2

Транс 3-(6-хлорпиразин-2-ил)-N-(4-гидроксициклогексил)-4-метилбензолсульфонамид



Соединение, указанное в заголовке, получали из N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бензолсульфонамида (Промежуточное соединение B5) и 2-бром-6-хлорпиразина, по аналогии с Промежуточным соединением D1.

ЖХМС: Rt 1,13 мин; MS m/z 396,3 [M+H]⁺; Способ 2minLC_v003.olp

Фармацевтическое применение и исследование

Соединения по настоящему изобретению и их фармацевтически приемлемые соли могут использоваться в качестве фармацевтических средств. В частности, соединения могут использоваться в качестве селективных ингибиторов гамма-изоформы PI 3-киназы и могут быть тестированы в следующих анализах.

Люминесцентный анализ киназы с Kinase-Glo (K_{glo}) для PI 3-киназы альфа (A), PI 3-киназы бета (B), Vps34 (C), PI 4-киназы бета (D)

Реагент KinaseGlo для измерения АТФ на основе люминисценции получали из Promega (номер в каталоге V6714, лот 236161) при посредничестве Catalys, Wallisellen, Швейцария. L-альфа-фосфатидилинозитол (PI, печень, бычья) получали от Avanti Polar Lipid (номер в каталоге 840042C, лот LPI-274), фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат (PIP(4,5)2) получали от Avanti Polar Lipid (номер в каталоге 840046X). L-α-фосфатидилсерин (PS) также получали от Avanti Polar Lipid (номер в каталоге 840032C), н-октилглюкозид от Avanti Polar Lipid (номер в каталоге 10634425001). Люминисценция является широко принятой регистрируемой величиной для определения концентрации АТФ и, таким образом, может быть использована для контроля активности многих киназ, независимо от их субстрата. Люминесцентный анализ

киназы с KinaseGlo (Promega, Madison/WI, США) представляет собой метод гомогенного HTS для измерения активности киназы путем определения количества АТФ, оставшегося в растворе после киназной реакции.

Разведения соединения, 50 нл, распределяли в черных 384-луночных планшетах с малым объемом с несвязывающей поверхностью из стирола (NBS) (Costar, номер в каталоге NBS 3676). L- α -фосфатидилинозитол (PI) в виде 10 мг/мл раствора в метаноле переносили в стеклянную пробирку и сушили в струе азота. Затем проводили суспендирование в 3% октил глюкозиде (1- β -D-октил-бета-D-глюкопиранозид) при встряхивании и хранили при температуре 4°C. Добавляли 5 мкл смеси PI/октил глюкозид вместе с PI 3-киназой подтипа альфа и PI 3-киназой подтипа бета или Vps34 или PI 4-киназу бета. Киназные реакции инициировали добавлением 5 мкл АТФ-смеси, содержащей в конечном объеме 10 мкл 10 мМ TRIS-HCl pH 7,5, 3 мМ MgCl₂, 50 мМ NaCl, 0,05% CHAPS, 1 мМ DTT и 1 мкМ АТФ при комнатной температуре. Реакции останавливали с помощью 10 мкл KinaseGlo и планшеты считывали через 10 минут в ридере Synergy2, используя время интегрирования 0,1 секунды на лунку. В аналитические планшеты добавляли 2,5 мкМ NVP-BGT226 (1-(3-(трифторметил)-4-(пиперазин-1-ил)фенил)-8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1H-имидазо[4,5-с]хинолин-2(3H)-он) для 100% ингибирования киназной реакции и для 0% ингибирования добавляли раствор с носителем (90% ДМСО в воде). (1-(3-(трифторметил)-4-(пиперазин-1-ил)фенил)-8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1H-имидазо[4,5-с]хинолин-2(3H)-он) использовали в качестве эталонного соединения и вводили во все аналитические планшеты как 16 точек разведения, дублируя.

Значения IC₅₀ процентного ингибирования каждого соединения при 8-и концентрациях (10, 3,0, 1,0, 0,3, 0,1, 0,030, 0,010 и 0,003 мкМ) n=2 получали путем построения сигмовидной кривой доза-ответ на графике анализа регистрируемой величины к концентрации ингибитора, как описано. Все построения выполняли с помощью программы Xlfit4 (ID Business Solutions, Guildford,

Великобритания).

Анализ TR-FRET Adapta для PI 3-киназы гамма (E), PI 3-киназы дельта (F)

Набор для анализа киназы, TR-FRET Adapta™ Universal Kinase Assay Kit, приобретали у Invitrogen Corporation (Carlsbad/CA, США) (номер в каталоге PV5099). Набор содержал следующие реагенты: Eu-анти-АДФ антитела Adapta (анти-APD антитело, меченное Европием, в солевом буфере HEPES, номер в каталоге PV5097), Alexa Fluor® 647-меченый АДФ маркер (Alexa Fluor® 647-меченый АДФ маркер в солевом растворе HEPES, номер в каталоге PV5098), буфер TR-FRET для разведения, pH 7,5 (номер в каталоге PV3574).

PIK3CD субстрат фосфатидилинозитол (PI) получали от Invitrogen (везикулы, состоящие из 2 мМ фосфатидилинозитола (PI) в 50 мМ HEPES pH 7,5, номер в каталоге PV5371). PIK3CG субстрат фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (PIP(4,5)2) получали от Invitrogen (PIP2:PS большие однослойные везикулы, состоящие из 1 мМ PIP2: 19 мМ PS в 50 мМ HEPES pH 7,5, 3 мМ MgCl₂, 1 мМ EGTA; номер в каталоге PV5100).

Резонансный перенос энергии флуоресценции с разрешением по времени (TR-FRET) является технологией, основанной на переносе энергии между двумя соседними красителями, от возбужденного электрона в одном красителе (донора) на электрон соседнего красителя (акцептора) посредством резонанса, выпуская, таким образом, фотон. Такой перенос энергии обнаруживается за счет повышения флуоресценции акцептора и снижения флуоресценции донора. В анализе TR-FRET для протеинкиназ в качестве доноров используют долгоживущий лантанид Тербий или хелаты Европия, которые преодолевают интерференцию при автофлуоресценции соединения или при рассеивании света от осажденных соединений, путем введения задержки после возбуждения разрядной лампой в качестве источника возбуждения. Результаты часто выражают как отношение интенсивностей акцепторных и донорных флуорофоров. Логометрическая природа такого значения корректирует различия в значениях анализа между лунками, а также корректирует эффект

гашения окрашенных соединений. Анализ Adapta™ можно разделить на две фазы: фазу киназной реакции и фазу обнаружения АДФ. В фазе киназной реакции все компоненты киназной реакции добавляют в лунку, и реакционную смесь оставляют инкубироваться в течение заданного периода времени, определенного для каждой киназы. После завершения реакции в лунки для анализа добавляют раствор для детекции анти-АДФ антитела, меченного Европием, Alexa Fluor® 647-меченный АДФ маркер и EDTA (для остановки киназной реакции). АДФ, образованная киназной реакцией, будет замещена Alexa Fluor® 647-меченой АДФ меткой из антитела, что приводит к уменьшению сигнала TR-FRET. В присутствии ингибитора количество АДФ, образованное киназной реакцией, снижается, а полученное в результате взаимодействие интактное антитело-метка поддерживает высокий сигнал TR-FRET. В анализе Adapta™ донор (Европейский-анти-АДФ антитело) возбуждается при 340 нм и переносит свою энергию на акцептор (AlexaFluor® 647-меченый АДФ маркер). Излучение Alexa Fluor® 647 можно контролировать с помощью фильтра, центрированного при 665 нм, так как он расположен между пиками излучения донора, измеряемого при 615/620 нм.

Разведения соединения, 50 нл, распределяли на белом 384-луночном полистирольном планшете с малым объемом. Затем 5 мкл либо PI 3-киназы гамма, либо PI 3-киназы дельта и липидный субстрат (PI или PIP2:PS), а потом 5 мкл АДФ (конечный объем в анализе 10 мкл) инкубировали при комнатной температуре. Стандартный буфер реакции для анализа Adapta™ TR-FRET содержал 10 mM Tris-HCl, pH 7,5, 3 mM MgCl₂, 50 mM NaCl, 1 mM ДТТ, 0,05% CHAPS ((3-[(3-холамидопропил)диметиламмоний]-1-пропансульфонат)). Реакции останавливали с помощью 5 мкл смеси EDTA, содержащей анти-АДФ антитело, меченное Eu, и Alexa Fluor® 647-меченый АДФ маркер в TR-FRET буфере для разведения. Планшеты считывали через 15-60 минут на ридере Synergy2, используя время интегрирования 0,4 секунды и задержку 0,05 секунды. Контроль 100%-ного ингибирования киназной реакции осуществляли путем замены PI 3-киназы на стандартный реакционный буфер. Контролем 0% ингибирования был растворитель

любого из соединений (90% ДМСО в H₂O). Стандартное соединение 1-(3-(трифторметил)-4-(пиперазин-1-ил)фенил)-8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1H-имидазо[4,5-с]хинолин-2(3H)-он (NVP-BGT226) использовали в качестве эталонного соединения и вводили во все аналитические планшеты как 16 точек разведения, дублируя.

Данные анализировали с помощью программы, подходящей для Excel, или GraphPad Prism. Значения IC₅₀ получали путем построения сигмовидной кривой доза-ответ на графике анализа регистрируемой величины к концентрации ингибитора. Все построения выполняли с помощью программы Xlfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Великобритания). Определение значения IC₅₀ процентного ингибирования каждого соединения при 8-и концентрациях (обычно 10, 3, 0, 1, 0, 0,3, 0,1, 0,030, 0,010 и 0,003 мкМ) n получали путем построения сигмовидной кривой доза-ответ на графике анализа регистрируемой величины к концентрации ингибитора. Все построения выполняли с помощью программы Xlfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Великобритания).

Анализ связывания киназы Lanthascreen™ для mTOR (G)

Анализы связывания основаны на связывании и замещении Alexa Fluor® 647-меченных АТФ-конкурентных ингибиторов киназы на интересующую киназу. "Киназные маркеры" фирмы Invitrogen были разработаны и направлены на широкий спектр киназных мишеней и основаны на АТФ-конкурентных ингибиторах киназ, что делает их подходящим для обнаружения любых соединений, которые связываются с АТФ сайтом или аллостерическим сайтом, изменяющим конформацию АТФ-сайта.

В анализе связывания киназы Lanthascreen™ донор (Eu³⁺-анти-GST (глутатион S-трансфераза) антитело) возбуждается при 340 нм и переносит свою энергию на акцептор (AlexaFluor® 647-меченый АТФ-конкурентный киназный ингибитор=Tracer-314). Излучение Tracer-314 (ингибитор Alexa Fluor® 647) можно контролировать с помощью фильтра, центрованного при 665 нм, так как он расположен между пиками излучения донора, измеряемого при 615/620 нм. Связывание обоих, Tracer-314 и Eu³⁺-анти-GST

антитела, с киназой дает FRET с высокой степенью из Eu^{3+} -донорного флуорофора к Alexa-Fluor® 647-акцепторному флуорофору на Tracer-314. Связывание ингибитора с киназой конкурирует за связывание с радиоактивной меткой, что приводит к потере FRET.

Разведения соединений, 50 нл, распределяли на белом 384-луночном полистирольном планшете с малым объемом. Потом 5 мкл GST-mTOR и Европий-анти-GST антитело, а затем 5 мкл Tracer-314 (окончательный анализ объемом 10 мкл) инкубировали при комнатной температуре. Стандартный реакционный буфер для анализа связывания киназы Lanthascreen™ содержал 50 мМ HEPES pH 7,5, 5 мМ MgCl_2 , 1 мМ EGTA, 0,01% Pluronic F-127. Планшеты считывали через 60 минут на ридере Synergy2, используя время интегрирования 0,2 секунды и задержку 0,01 микросекунд.

Для расчета коэффициента эмиссии сигнал, испускаемый при 665 нм акцептором (Alexa Fluor® 647-меченный Tracer-314), делят на сигнал, испускаемый при 620 нм донором (Eu^{3+} анти-GST антитело).

Контролем 0% ингибирования был растворитель любого из соединений (90% ДМСО в H_2O). Контроль за относительным 100% ингибированием осуществляли путем добавления 10 мкМ в смесь, содержащую GST-mTOR и Европий-меченное анти-GST антитело. Дополнительный контроль за абсолютным 0% ингибированием дает Eu^{3+} анти-GST антитело без GST-mTOR. Использовали стандартные соединения для получения профиля липидной киназы в качестве эталона и их вводили во все планшеты для анализа как 8 точек разведения.

Клеточные анализы PI-3-киназы альфа (H), бета (I) и дельта (J)

AlphaScreen (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay, ALPHA, Perkin Elmer) представляет собой нерадиоактивный анализ близости, основанный на применении бусин, для изучения биомолекулярных взаимодействий в формате гомогенных микротитровальных планшетов. Торговая марка *SureFire* обозначает анализы AlphaScreen, которые адаптированы для количественного определения фосфорилирования эндогенных клеточных белков в

клеточных лизатах, используя подобранные пары антител, которые состоят из анти-фосфо-киназного и анти-киназного антитела. Анализ позволяет характеризовать передачу сигналов киназ в клетках, а также измерять эффекты ингибиторов киназ.

Клеточные линии Rat-1, стабильно экспрессирующие активированные изоформы класса I PI 3-киназы - Rat-1 pVAVЕpuro Myr-NA-hp110 дельта клон 5 (Rat-1_PI3Кдельта) и Rat-1 pVAVЕpuro Myr-NA-hp110 альфа клон 6 (Rat-1_PI3К альфа) и Rat-1 pVAVЕpuro Myr-NA-hp110 бета (Rat-1_PI3бета), культивировали в полной среде для роста (DMEM с глюкозой, 10% (об/об) фетальная бычья сыворотка, 1% (об/об) MEM NEAA, 10 мМ HEPES, 2 мМ L-глутамин, пирамицин (10 мкг/мл Rat-1_PI3Кдельта и Rat-1_PI3Кальфа, 4 мкг/мл Rat-1_PI3бета), 1% (об/об) Pen/Strep) до 90% конфлюентности при 37°C/5% CO₂/90% влажности в инкубаторе с CO₂ и влажной средой и дважды в неделю разделяли.

Следующие вещества были использованы для обнаружения p-AKT (S473) в клеточных лизатах Rat-1: среда Игла, модифицированная по Дульбекко Игла (DMEM) с высоким содержанием глюкозы (Gibco Invitrogen, Basel, Швейцария, номер в каталоге 41965), инактивированная нагреванием эмбриональная телячья сыворотка, надлежащего качества (HI FBS; Gibco Invitrogen, Basel, Швейцария, лот 16140), MEM неосновные аминокислоты (NEAA; Gibco Invitrogen, Basel, Швейцария, номер в каталоге 11140), HEPES (Gibco Invitrogen, Basel, Швейцария, номер в каталоге 15630), пенициллин/стрептомицин (Pen/Strep, 100x; Gibco Invitrogen, Basel, Швейцария, номер в каталоге 15140-122), L-глутамин (Gibco Invitrogen, Basel, Швейцария, номер в каталоге 25030), пуромицин (Sigma Aldrich, Buchs, Швейцария, номер в каталоге P9620), ДМСО (MERCCK, Dietikon, Швейцария, номер в каталоге 8.02912.2500), H₂O, MilliQ-H₂O, если не указано иного (MILLIPORE QGARD00R1, Millipore, Zug, Швейцария), альбумин бычьей сыворотки (BSA; Sigma Aldrich, Buchs, Швейцария, номер в каталоге A8412), SureFire p-Akt 1/2 (Ser473) набор для анализа (PerkinElmer, Schwerzenbach, Швейцария, номер в каталоге TGRAS50K).

Анализ p-Akt (S473) SureFire измеряет фосфорилирование эндогенного клеточного Akt 1/2 на Ser473 в клеточных лизатах. Используя клетки Rat-1, стабильно экспрессирующие myr-НА-маркированные версии изоформ каталитических субъединиц P110 PI3Kдельта, PI3Kальфа или PI3Kбета человека, был разработан анализ в виде протокола на двух планшетах в 384-луночном формате.

Для тестируемого соединения клетки высевали при плотности 4000 (Rat-1_PI3Kдельта), 7500 (Rat-1_PI3Kальфа) или 6200 (Rat-1_PI3Kбета) клеток в 20 мкл полной среды для роста в 384-луночные планшеты, обработанные клеточной культурой и выращивали их при 37°C/5% CO₂/90% влажности в течение 24 ч. Непосредственно перед переносом соединения полную среду удаляли, добавляли 30 мкл буфера для анализа (DMEM с высоким содержанием глюкозы, 1x MEM NEAA, 10 mM HEPES, 2 mM L-глутамин, 0,1% (масс/об) BSA) и переносили 10 мкл заранее разведенного соединения в клетки. После обработки соединением в течение 1 ч клетки лизировали путем добавления 20 мкл буфера для лизиса, дополненного 0,24% (масс/об) BSA. Обнаружение p-AKT (Ser473) проводили с помощью набора для анализа SureFire p-Akt 1/2 (Ser473) в соответствии с инструкциями изготовителя, используя 5 мкл клеточного лизата в общем объеме детекции 12 мкл.

Значения IC₅₀ процентного ингибирования каждого соединения при 8-и концентрациях (обычно 10, 3,0, 1,0, 0,3, 0,1, 0,030, 0,010 и 0,003 мкМ) n=2 получали путем построения сигмовидной кривой доза-ответ на графике анализа регистрируемой величины к концентрации ингибитора, как описано. Все построения выполняли с помощью программы Xlfit4 (ID Business Solutions, Guildford, Великобритания).

Клеточный анализ U937 АКТ для PI 3-киназы гамма (K)

Клеточную линию моноцитов U937 поддерживали в базальной среде RPMI 1640, дополненной 10% инактивированным нагреванием FCS, 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 2 mM L-глутамина (Invitrogen). Суспендированную культуру U937 поддерживали путем посева клеток при плотности 0,125×10⁶ клеток

на мл в свежей среде каждые три или четыре дня. Клетки инкубировали при 37°C, 5% CO₂. За три или четыре дня до анализа высевали при плотности 0,25×10⁶ клеток на мл в общем объеме 40 мл в колбе для культивирования T162.

Перед началом манипуляции с клетками, как описано ниже, аналитический планшет блокировали (Meso Scale Discovery) путем добавления 150 мкл/лунку дополненного буфера для блокирования и инкубировали при встряхивании в течение минимум одного часа при комнатной температуре. Все стадии анализа должны выполняться быстро, точно выдерживая инкубационный период и наблюдая температурные контроли, где указано.

Клетки, которые высевали при 0,25×10⁶/мл за 3 или 4 дня до анализа аспирировали, переносили в 50 мл-овые пробирки falcon, подсчитывали и центрифугировали в течение восьми минут при 300 g при комнатной температуре.

Супернатант отсасывали, клеточный осадок ресуспендировали и промывали один раз в HBSS (сбалансированный солевой раствор Хэнка), центрифугируя в течение восьми минут при 300 g при комнатной температуре. Клеточный осадок ресуспендировали в HBSS до концентрации 4×10⁶ на мл и добавляли 100 мкл клеточной суспензии в каждую лунку 96-луночного планшета для культуры ткани с плоским дном. Планшеты инкубировали в течение 1,5 ч при 37°C в атмосфере 5% CO₂ для уменьшения фона АКТ фосфорилирования перед стадией стимулирования соединения.

Готовили основной раствор с 5 мМ концентрацией соединения в 100% DMSO; из него делали разведение 1 в 125 в HBSS с получением максимальной концентрации соединения 40 мкМ, 0,8% DMSO.

Соединение титровали в свежем плоскодонном 96-луночном планшете с помощью 10-кратных серийных разведений 40 мкМ в HBSS 0,8% DMSO; наконечники на пипетке заменяли после каждого сделанного разведения. Концентрации соединения на этой стадии были 4-кратные от финальной концентрации, требуемой для анализа планшета. Клетки стимулировали соединением или HBSS 0,8% DMSO путем непосредственного переноса 50 мкл/лунка из плашки с

разведенным соединением. Плашку для анализа, содержащую клетки, обработанные соединением, затем инкубировали в течение 30 минут при 37°C. Стандартное размещение в планшете использовали для всех экспериментов.

Обработанные соединением клетки, в дополнение к положительным контрольным лункам ("максимум MIP1 α "), стимулировали 50 мкл на лунку 40 нг/мл MIP1 α (R&D Systems, номер в каталоге 270-LD, лиофилизированный основной раствор, восстановленный до 50 мкг/мл с помощью PBS 0,1% БСА). Отрицательные контрольные лунки ("минимум HBSS") стимулировали с помощью 50 мкл/лунку HBSS в отсутствие MIP1 α . Конечные концентрации соединений теперь разводили в 4 раза, получая максимальную концентрацию 10 мкМ; где добавляли, там конечная концентрация MIP1 α составляла 10 нг/мл. Клетки инкубировали с MIP1 α в течение 3 минут при 37°C, 5% CO₂. После трехминутного периода стимуляции планшет охлаждали на льду каждый раз. Планшеты центрифугировали в течение 2 мин при 300 г, 4°C и супернатант удаляли, осторожного переворачивания, а затем проводя блоттинг планшета на ткани. Затем клетки промывали, осторожного добавляя 150 мкл/лунку охлажденного на льду HBSS, и центрифугированием при 300 г в течение 5 минут при 4°C. Супернатант отсасывали и планшет промывали, как описано выше. Планшет помещают на лед, и клетки немедленно обрабатывают 35 мкл на лунку охлажденным на льду буфером для лизиса, полученным в соответствии с инструкциями набора (на планшет для анализа, в 5 мл Tris-буфер для лизиса добавляют 100 мкл 50 \times раствора ингибитора протеазы и 50 мкл каждого 100 \times раствора I и II ингибитора фосфатазы). Планшеты инкубировали на льду в течение 20 минут, а затем центрифугировали при 841 г в течение 5 минут, 4°C.

Буфер для блокирования отсасывали из планшета MSD, и планшет промывали четыре раза 300 мкл/лунку Tris-буфером для промывки. 25 мкл клеточного лизата затем переносили из аналитического планшета в промытый планшет MSD, который

герметично закрывали и инкубировали при комнатной температуре в течение одного часа при встряхивании. Планшеты четыре раза промывали 300 мкл на лунку Tris буфером для промывки, а затем добавляли 25 мкл на лунку сульфо-таг анти-общий АКТ/рАКТ антитело для детекции (60 мкл 50х основного раствора антитела разбавляли в 1 мл блокирующего буфера, смешанного с 2 мл буфера для промывки) и инкубировали при комнатной температуре в течение одного часа при встряхивании. Планшет промывали четыре раза 300 мкл на лунку Tris буфером для промывки и добавляли 150 мкл на лунку буфера для считывания, следя за тем, чтобы избежать введения пузырьков. Планшет сразу считывали при помощи MSD SECTOR Imager 6000.

Результаты экспортировали в Excel и процент фосфорилированного АКТ рассчитывали по следующей формуле: % фосфопротеина = $(2 * \text{фосфо сигнал}) / (\text{фосфо сигнал} + \text{общий сигнал}) * 100$. Ингибирование, опосредованное соединением, фосфорилирования АКТ анализировали программным обеспечением Prism V GraphPad.

Анализ изменения формы нейтрофилов цельной крови (L)

Способ, основанный на проточной цитометрии, использовали для измерения ингибирования изменения формы нейтрофилов в цельной крови человека, индуцированного IL-8 (интерлейкин-8).

Реагенты, материалы и оборудование

Стерильную дистиллированную воду, Baxter UKF117

10х раствор CellFIX, Becton Dickinson Biosciences 340181

IL-8, R&D Systems 208-IL

DMCO, Hybri-Max, Sigma-Aldrich D2650

Фосфатно-солевой буфер Дульбекко 1х [+] CaCl_2 , MgCl_2 , Gibco by lifr Technologies 14040

Раствор альбумина бычьей сыворотки (30%), Sigma Aldrich A9576-50 мл

Хлористый аммоний NH_4Cl , Sigma Aldrich A0171

Бикарбонат калия KHCO_3 , Sigma Aldrich P9144

K2 EDTA Vacutainers, Becton Dickinson Vacutainer® 367525

96-луночные полипропиленовые планшеты с глубокими лунками,

VWR PORV219009

96-луночные планшеты с V-образным дном и крышкой, Costar 3894

96-луночные полипропиленовые планшеты с круглым дном, Greiner 650261 (для HIGH THROUGHPUT SAMPLER FACS)

120 мкл предварительно стерилизованные наконечники с фильтром Biohit, Biohit 790101F

350 мкл предварительно стерилизованные наконечники Biohit, Biohit 790350

1200 мкл предварительно стерилизованные наконечники Biohit, Biohit 791202

Электронная 8-и канальная пипетка Biohit E1200

Электронная 8-и канальная пипетка Biohit e120

100-1000 мкл-овая пипетка Eppendorf Research Plus

20-200 мкл-ова пипетка Eppendorf Research Plus

Цитомер Becton Dickinson Biosciences FACS Canto Flow с высокой пропускной способностью сэмплера.

IL-8 готовили как 2 мкМ основной раствор в 0,1% бычий сывороточный альбумин/PBS и хранили при -80°C . В день исследования IL-8 разводили в PBS (фосфатно-солевой буфер) за 10 минут до использования. IL-8 использовали при конечной концентрации 2 нМ и в диапазоне концентраций от 0,003 до 200 нМ для кривой доза-ответ.

Фиксирующий аналитический раствор готовили свежим каждый день из 10× концентрированного раствора CellFIX™, разведенного 1:10 в стерильной дистиллированной воде, а затем 1:4 в PBS. Фиксирующий аналитический раствор хранили на льду перед использованием.

Заранее готовили 10× буфер для лизиса путем растворения 20,75 г NH_4Cl и 2,5 г KHCO_3 в 250 мл стерильной H_2O . Этот 10× буфер для лизиса фильтровали в стерильных условиях и хранили в течение двух недель при температуре 4°C . В день исследования готовили 1× раствор для лизиса с помощью стерильной дистиллированной H_2O и держали на льду до использования.

Тестируемые соединения получали в виде 10 мМ основных

растворов в 100% ДМСО и хранили при температуре 4°C. Только тогда, когда использовали в анализе 10 мМ основные растворы соединения оттаивали и хранили при комнатной температуре в защищенном от света месте. Свежие разведения соединений готовили каждый день исследования. Первое, что делали утром исследования, - готовили первую серию разведений в 100% ДМСО. Только тогда, когда кровь была собрана и доставлена в лабораторию проводили следующий набор разведений в PBS (1:10 PBS, 10% ДМСО). Это ограничивало контакт разведенного соединения с пластиком и гарантировало, что время экспозиции было постоянным в анализах. Соединения добавляли к 96-луночные планшеты с глубокими лунками при 10х окончательной желаемой концентрации (с добавлением крови, конечное [ДМСО]=1%).

Таблица 3 иллюстрирует серийные разведения соединения, используемые в анализе изменения формы нейтрофилов в цельной крови человека.

Таблица 3

100% ДМСО Серийное разведение 1 к 4	100% ДМСО 1 к 10 PBS	1% ДМСО Планшет для анализа	Пример, номер лунки
10000 кММ	1000 мкМ	100 мкМ	B2; CPD+IL-8
2500	250	25	B3; CPD+IL-8
625	62,5	6,25	B4; CPD+IL-8
156,25	15,62	1,56	B5; CPD+IL-8
39,0625	3,9	0,39	B6; CPD+IL-8
9,765625	0,97	0,097	B7; CPD+IL-8
2,441406	0,24	0,024	B8; CPD+IL-8
0,610352	0,06	0,006	B9; CPD+IL-8
100% ДМСО	10% ДМСО	10% ДМСО	B10; +IL-8
100% ДМСО	10% ДМСО	1% ДМСО	B11; +IL-8

В день начала анализа фиксирующий буфер для анализа и 1х раствор для лизиса получали и хранили на льду. Готовили разведения соединений в 100% ДМСО, как описано выше. Собирали цельную кровь человека в K2 EDTA Vacutainers. После того, как кровь доставляли в лабораторию, соединения разводили в PBS, как

описано ранее и показано в Таблице 1.

10 мкл 10× конечной концентрации соединения добавляли в соответствующие лунки 96-луночной планшки с глубокими лунками, кроме контролей, куда добавляли 10 мкл 10% ДМСО вместо соединения, как подчеркнуто в серийных разведениях в Таблице 1. Крайние лунки планшета для анализа с глубокими лунками наполняли 1200 мкл стерильной дистиллированной H₂O для того, чтобы ограничить краевые эффекты (ряды A1-N1, A1-A12, A12-N12).

Определяли IL-8 доза-ответ для каждого исследуемого донора крови для контроля ответа донора на IL-8. На этой стадии к определенным лункам в анализируемый раствор для образцов IL-8 доза ответ добавляли 10 мкл PBS. Кроме того, окно анализа без ДМСО также анализировали каждый день. Для каждого образца на этой стадии в аналитический раствор добавляли 10 мкл PBS, вместо 10% ДМСО.

80 мкл цельной крови добавляли к соединению/10% ДМСО/PBS и один раз аккуратно перемешивали при добавлении. 96-луночные планшеты закрывали крышками, и образцы инкубировали в течение 15 мин при 37°C на водяной бане.

После предварительно инкубирования соединения добавляли 10× конечную концентрацию IL-8 добавляли в соответствующие лунки (10 мкл 20 нМ рабочего раствора IL-8, конечная концентрация IL-8 в крови=2 нМ) и 10 мкл PBS добавляли в не стимулированные контроли. 10× конечный диапазон доза ответ IL-8 также добавляли к определенным лункам (диапазон конечной концентрации в аналитической лунке составил от 200 нМ до 0,0005 нМ, 1:5 серийные разведения в PBS). IL-8 и PBS добавляли в соответствующие лунки в всех аналитических планшетах в той же последовательности, в которой добавляли кровь к соединению. После добавления во все аналитические планшеты образцы быстро перемешивали один раз для гарантии равномерного распределения IL-8. Образцы инкубировали в течение 5 минут при 37°C на водяной бане. После того, как инкубированные планшеты с образцами переносили на лед, 250 мкл охлажденного фиксирующего буфера для анализа быстро добавляли к каждой лунке.

Образцы инкубировали на льду в течение 7 минут (не перемешивая). После фиксации к каждой лунке быстро добавляли 1,2 мл 1× раствора для лизиса. После добавления образцы один раз перемешивали и инкубировали на льду в течение 30 минут для достижения однородного лизиса эритроцитов. После лизиса 200 мкл образца переносили в 96-луночный планшет на льду. Образцы были получены с использованием HTS на режиме высокой пропускной способности Becton Dickinson FACS Canto II. Гранулоциты определяли на основе характеристик дифференциального бокового рассеяния (SSC) и прямого рассеяния (FSC). Нейтрофилы отличали от эозинофилов с использованием канала фикоэритрина, поскольку последний имеет более высокую автофлуоресценцию.

Среднее значение FSC для популяции нейтрофилов было принято как мера изменения формы клеток (чем больше значение FSC, тем больше степень изменения формы). Данные были представлены в виде % измерения формы по отношению базальной для кривой доза IL-8-ответ и окно анализа контроля и представлены в виде % ингибирования изменения формы для образцов обработанных соединений.

% изменения формы выше базального

Вычесть не стимулированный контроль по данным FSC из агониста по данным FSC, результаты разделить на значение не стимулированного FSC и умножить на 100 с получением % изменения формы выше базального.

% ингибирования

% ингибирования = $(XY) / X \times 100$ (Фигура 2 для значений образцов)

X = IL-8 FSC ответ минут не стимулированный контроль (базальный) FSC.

$$(120,984 - 86,163) = 34821 = X$$

Y = IL-8 FSC ответ в образцах обработанного соединения минус не стимулированный контроль (базальный) FSC.

$$(89,841 - 86,163) = 3678 = Y$$

$$(34821 - 3678) / 34821 \times 100 = 89\% \text{ ингибирования изменение формы}$$

Значения % ингибирования были нанесены на оси ординат в

зависимости от концентрации соединения по оси x с получением значений IC_{50} .

Данные биохимического анализа для примеров 1-13 приведены в следующей таблице:

Таблица 4

Данные биохимического анализа

	Способ А	Способ В	Способ С	Способ D	Способ Е	Способ F	Способ G
	PI3K α	PI3K β	VPS34	PI4K β	PI3K γ	PI3K δ	mTOR
Пример	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)
1	0,19	6,16	3,07	>9,1	0,022	0,20	5,25
2	0,05	0,71	3,45	>9,775	0,019	0,06	1,18
3	0,08	1,45	5,30	>9,55	0,048	0,07	3,85
4	0,06	0,68	4,30	>10	0,014	0,07	0,89
5	0,15	1,12	1,81	>9,1	0,015	0,09	4,77
6	0,04	0,45	9,40	>10	0,013	0,09	0,77
7	0,09	0,63	4,40	>10	0,011	0,10	6,00
8	0,06	0,68	4,40	>9,55	0,020	0,07	1,95
9	0,26	>9,10	>9,1	>9,1	0,160	0,01	>9,1
10	0,07	8,50	>10	>10	0,027	0,02	9,80
11	0,40	3,93	3,08	>9,1	0,088	0,12	6,24
12	0,16	>9,10	8,60	>9,1	0,006	0,01	>9,1
13	0,10	1,90	2,45	>9,55	0,038	0,04	3,00

Данные клеточного анализа и данные функционального анализа изменения формы в цельной крови, Примеры 1-13, приведены в следующей таблице:

Таблица 5

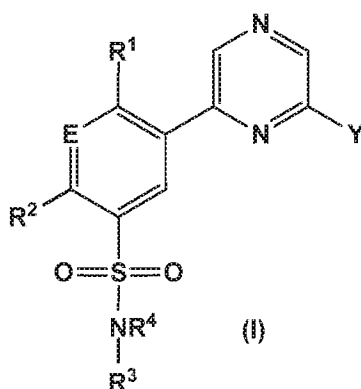
Данные клеточного анализа и данные об изменении формы в цельной крови

	Способ H	Способ I	Способ J	Способ K1	Способ K2	Способ L	Способ M
	PI3K α	PI3K β	PI3K δ	PI3K γ	PI3K γ	WBSC	RLMC1 (внт)
Пример	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	IC50 (мкМ)	(мкл · мин ⁻¹ · мг ⁻¹)
1				0,329	1,331	1	
2	0,45	0,784	0,3665	0,066	0,266	2	0,45
3	1,02	3,18	1,37	0,080	1,075	3	1,02
4	0,293	0,833	0,285	0,054	0,548	4	0,293
5	0,838	9,42	0,54	0,038	0,179	5	0,838

6	0,709	1,05	0,515	0,022	0,374	6	0,709
7				0,061	0,212	7	
8				0,096	0,625	8	
9	2,48	6,98	1,68	0,599	0,598	9	2,48
10	3,09	3,83	0,771	0,121	0,663	10	3,09
11	1,7	>10	1,05	0,213	0,752	11	1,7
12	1,14	1,11	0,306	0,122	0,830	12	1,14
13				0,122	0,847	13	

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I),



где

E выбран из N и CR^E;

R¹, R² и R^E независимо выбраны из H, галогена, C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ галогеналкокси и C₃₋₆ циклоалкила;

R³ выбран из

(i) C₁₋₄ алкила, который не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ алкила, оксо-, -NR^{3a}R^{3b} и C₃₋₆ циклоалкила, и где C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ алкокси и C₁₋₄ галогеналкила;

(ii) C₁₋₄ алкокси, который не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ алкокси, оксо-, -NR^{3a}R^{3b} и C₃₋₆ циклоалкила, и где C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ алкокси и C₁₋₄ галогеналкила;

(iii) -C₃₋₆ циклоалкила или -O-C₃₋₆ циклоалкила, где C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксигруппы, галогена, C₁₋₄ алкокси, C₁₋₄ галогеналкила и -(C₀₋₃ алкил)-NR^{3a}R^{3b};

(iv) -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила или -(O-C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила, спиро-конденсированные со вторым C₃₋₆ циклоалкилом

или C_{3-6} гетероциклилом с помощью одного атома углерода, где C_{3-6} циклоалкил или C_{3-6} гетероциклил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-4} гидроксидалкила, галогена, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3}$ алкил) $-NR^{3a}R^{3b}$;

(v) $-(C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ гетероциклила или $-(O-C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ гетероциклила, где C_{3-6} гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C_{3-6} гетероциклил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, гидроксид, C_{1-4} гидроксидалкила, галогена, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3}$ алкил) $-NR^{3a}R^{3b}$;

(vi) $-(C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ гетероциклила или $-(O-C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ гетероциклила, где C_{3-6} гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C_{3-6} гетероциклил спиро-конденсирован со вторым C_{3-6} гетероциклилом или C_{3-6} циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где C_{3-6} гетероциклил или C_{3-6} циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкокси, гидроксид, C_{1-4} гидроксидалкила, галогена, C_{1-4} галогеналкила и $-(C_{0-3}$ алкил) $-NR^{3a}R^{3b}$;

R^{3a} и R^{3b} независимо выбраны из H, C_{1-4} алкила и C_{1-4} галогеналкила;

R^4 выбран из H и C_{1-4} алкила; или

R^3 и R^4 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют C_{3-6} гетероциклил, где C_{3-6} гетероциклил необязательно спиро-конденсирован со вторым C_{3-6} гетероциклилом или C_{3-6} циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где C_{3-6} гетероциклил и C_{3-6} циклоалкил не замещены или замещены 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, гидроксид, C_{1-4} гидроксидалкила, галогена, C_{1-4} алкокси и C_{1-4} галогеналкила;

Y представляет собой 5-6-членный гетероарил, где гетероарил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C_{1-4} алкила, C_{1-4} галогеналкила, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} гидроксидалкила, C_{1-4} алкокси, C_{1-4} галогеналкокси, галогена, $-(C_{0-3}$ алкил) $-NR^{3a}R^{3b}$, $-(C_{0-3}$ алкил) $-C_{3-6}$ циклоалкила и -

(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ гетероциклила;

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение или соль по п.1, где R³ выбран из

(i) C₁₋₄ алкила, замещенного 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ алкила, галогена, оксо и -NR^{3a}R^{3b};

(ii) C₁₋₄ алкокси, замещенного 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, галогена и C₁₋₄ алкила;

(iii) -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила, где C₃₋₆ циклоалкил замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксипроксиалкила и галогена;

(iv) -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила, спиро-конденсированного со вторым C₃₋₆ циклоалкилом с помощью одного атома углерода, где второй C₃₋₆ циклоалкил замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы и галогена; и

(v) -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ гетероциклила, где C₃₋₆ гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C₃₋₆ гетероциклил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ алкила и C₁₋₄ гидроксипроксиалкила;

(vi) -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ гетероциклила, где C₃₋₆ гетероциклил содержит по меньшей мере один гетероатом, выбранный из O и N, и где указанный C₃₋₆ гетероциклил спиро-конденсирован со вторым C₃₋₆ гетероциклилом или C₃₋₆ циклоалкилом с помощью одного атома углерода, и где C₃₋₆ гетероциклил или C₃₋₆ циклоалкил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C₁₋₄ алкила, гидроксигруппы и C₁₋₄ гидроксипроксиалкила;

R^{3a} и R^{3b} независимо выбраны из H и C₁₋₄ алкила;

R⁴ выбран из H и C₁₋₄ алкила; или

R³ и R⁴ вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют C₃₋₆ гетероциклил, где C₃₋₆ гетероциклил не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидроксигруппы, C₁₋₄ гидроксипроксиалкила и C₁₋₄ алкила.

3. Соединение или соль по п.1 или 2, где

Y выбран из

- тиазолила,

- пиразолила,

- пиридила,
- тиазолила,
- имидазолила,
- оксадиазолила,
- пиримидинила,
- изоксазолила,
- оксазолила и
- тиенила;

каждый из которых не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄алкоксиC₁₋₄алкила, C₁₋₄гидроксиалкила, C₁₋₄алкокси, C₁₋₄ галогеналкокси, галогена, C₁₋₄ гидроксиалкила, C₁₋₄алкоксиалкила, -NR^{3a}R^{3b}, -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила и -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ гетероциклила.

4. Соединение или соль по любому из п.п.1-3,

Y выбран из

- тиазол-5-ила,
- пиразол-4-ила,
- пиразол-5-ила,
- пиразол-1-ила,
- пирид-4-ила,
- пирид-3-ила,
- 1,2,4-тиазол-1-ила,
- 1,2,3-тиазол-4-ила,
- имидазол-1-ила,
- 1,2,4-оксадиазол-5-ила,
- 1,3,4-оксадиазол-2-ила,
- тиен-3-ила,
- изоксазол-5-ила,
- пиримидин-5-ила,

каждый из которых не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из C₁₋₄ алкила, C₁₋₄ галогеналкила, C₁₋₄алкоксиC₁₋₄алкила, C₁₋₄гидроксиалкила, C₁₋₄алкокси, C₁₋₄ галогеналкокси и -(C₀₋₃ алкил)-C₃₋₆ циклоалкила.

5. Соединение или соль по любому из п.п.1-4,

где Y выбран из

- тиазол-5-ила,
- пиразол-4-ила,
- пиразол-5-ила,
- пиразол-1-ила,
- пирид-4-ила,
- пирид-3-ила,
- 1,2,4-тиазол-1-ила,
- 1,2,3-тиазол-4-ила,
- имидазол-1-ила,
- 1,2,4-оксадиазол-5-ила,
- изоксазол-5-ила,
- пиримидин-5-ила,
- тиен-3-ила,

каждый из которых не замещен или замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из метила, этила, пропила, изопропила, циклопропила, CF_3 , гидроксиэтила, метоксиэтила и метокси.

6. Соединение или соль по любому из п.п.1-5, где

R^3 выбран из пропила, бутила и пентила, замещенного 1-3 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-4} алкила, галогена, $-\text{NR}^{3a}\text{R}^{3b}$ и оксо.

7. Соединение или соль по любому из п.п.1-6, где

R^1 выбран из C_{1-4} алкила и Н; и

R^2 выбран из Н, C_{1-4} алкила и галогена.

8. Соединение по п.1, выбранное из

N-(3-гидроксипропил)-4-метил-3-[6-(2-метилтиазол-5-ил)-пиразин-2-ил]бензолсульфонамида;

3-[6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)-4-метилбензолсульфонамида;

3-[6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-N-(3-гидрокси-3-метилбутил)-4-метилбензолсульфонамида;

3-[6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-4-метил-N-(3-метилоксетан-3-илметил)бензолсульфонамида;

N-((1r,4r)-4-гидроксициклогексил)-4-метил-3-(6-(2-метилтиазол-5-ил)пиразин-2-ил)бензолсульфонамида;

3-[6-(1,3-диметил-1Н-пиразол-4-ил)пиразин-2-ил]-N-(6-

гидроксиспиро [3.3] гепт-2-ил) -4-метилбензолсульфонамида;

3- [6- (1, 3-диметил-1Н-пиразол-4-ил) пиразин-2-ил] -N- (3-гидроксициклобутилметил) -4-метилбензолсульфонамида;

3- [6- (1, 3-диметил-1Н-пиразол-4-ил) пиразин-2-ил] -N- (3-гидрокси-2, 2-диметил-пропил) -4-метилбензолсульфонамида;

N- (3-гидрокси-3-метилбутил) -4-метил-3- {6- [1- (2-морфолин-4-илэтил) -1Н-пиразол-4-ил] пиразин-2-ил} бензолсульфонамида;

N- (3-гидрокси-3-метилбутил) -4-метил-3- {6- [3-метил-1- (2-морфолин-4-илэтил) -1Н-пиразол-4-ил] пиразин-2-ил} бензолсульфонамид;

N- (4-гидроксициклогексил) -4-метил-3- (6-пиридин-3-илпиразин-2-ил) бензолсульфонамид;

N- (4-гидроксициклогексил) -4-метил-3- [6- (5-морфолин-4-илметилтиофен-3-ил) пиразин-2-ил] бензолсульфонамида; и

3- [6- (2, 5-диметил-2Н-пиразол-3-ил) пиразин-2-ил] -N- (3-гидроксициклобутилметил) -4-метилбензолсульфонамида;

или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая:

терапевтически эффективное количество соединения или соли по любому из п.п.1-8 и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей.

10. Фармацевтическая комбинация, содержащая:

терапевтически эффективное количество соединения или соли по любому из п.п.1-8 и второе активное средство.

11. Применение соединения или соли по любому из п.п.1-8 для лечения заболевания или расстройства, опосредованного активацией гамма-изоформы PI 3-киназы.

12. Применение соединения или соли по любому из п.п.1-8 для лечения заболеваний дыхательных путей, аллергии, ревматоидного артрита, остеоартрита, ревматических заболеваний, псориаза, язвенного колита, болезни Крона, септического шока, пролиферативных заболеваний, таких как рак, атеросклероз, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, диабета, инсульта, ожирения и рестеноза.

13. Применение соединения или соли по любому из п.п.1-8 для получения лекарственного средства для лечения расстройства

или заболевания, опосредованного активацией гамма-изоформы PI 3-киназы.

14. Способ расстройства или заболевания, опосредованного активацией гамма-изоформы PI 3-киназы, включающий введение индивиду, при необходимости, терапевтически эффективного количества соединения или соли по любому из п.п.1-8.

15. Способ лечения заболеваний дыхательных путей, аллергии, ревматоидного артрита, остеоартрита, ревматических заболеваний, псориаза, язвенного колита, болезни Крона, септического шока, пролиферативных заболеваний, таких как рак, атеросклероз, отторжение аллотрансплантата после трансплантации, диабета, инсульта, ожирения и рестеноза, включающий

введение индивиду, при необходимости, терапевтически эффективного количества соединения или соли по любому из п.п.1-8.

По доверенности