(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 034985 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.04.14

(21) Номер заявки
201792093

(22) Дата подачи заявки
2016.04.21

(51) Int. Cl. ***C07D 239/56*** (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(54) 2-ТИОПИРИМИДИНОНЫ

(31) **62/157,067**
(32) **2015.05.05**
(33) **US**
(43) **2018.05.31**
(86) **PCT/IB2016/052279**
(87) **WO 2016/178113 2016.11.10**

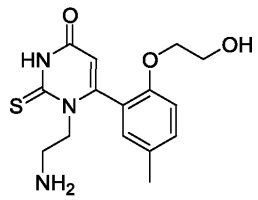
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ПФАЙЗЕР ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Раджери Роджер (US)

(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Соколова М.В., Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев А.В. (RU)

(56) WO-A1-2013068875

(57) Предложен ингибитор миелопероксидазы формулы I, фармацевтическая композиция, содержащая указанный ингибитор, и применение указанного ингибитора для лечения, например, состояний сердечно-сосудистой системы.



формула I

034985 B1

034985 B1

Предшествующий уровень техники

Изобретение относится к ингибиторам миелопероксидазы, фармацевтическим композициям, содержащим такие ингибиторы, и применению таких ингибиторов для лечения, например, состояний сердечно-сосудистой системы, включая острый коронарный синдром.

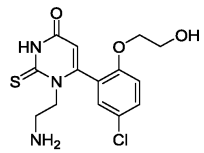
Миелопероксидаза (MPO) представляет собой гемсодержащий фермент, принадлежащий к суперсемейству пероксидаз. Примерами пероксидаз животных являются лактопероксидаза, тиреоидная пероксидаза (TPO), эозинофильная пероксидаза и миелопероксидаза. Миелопероксидаза присутствует в первичных гранулах нейтрофилов и в меньшей степени в моноцитах. Она катализирует синтез хлорноватистой кислоты из хлорида и пероксида водорода. Образованная хлорноватистая кислота является мощным окислителем, который взаимодействует с множеством клеточных субстратов, включая гемсодержащие белки, порфирины, тиолы, железо-серные центры, нуклеотиды, ДНК, ненасыщенные липиды, амины и аминокислоты.

Также было обнаружено, что MPO-катализируемые реакции и их продукты демонстрируют проатерогенную биологическую активность в процессе развития атеросклероза и сердечно-сосудистого заболевания. Например, содержание миелопероксидазы в плазме крови коррелирует с появлением сердечно-сосудистых расстройств у пациентов, страдающих от нестабильной стенокардии. Сообщалось, что миелопероксидаза способствует развитию атеросклероза, окисляя липиды и белок в LDL (липопротеин низкой плотности) и HDL (липопротеин высокой плотности).

Кроме того, было замечено, что MPO-генерируемые окислители снижают биодоступность оксида азота, важного вазодилататора. Соответственно, высокие уровни MPO в плазме крови обратным образом коррелируют с успехом терапии, направленной на проведение реперфузии окклюзированных артерий. Высокие уровни MPO также ассоциируют со снижением выживаемости в случае застойной сердечной недостаточности. Кроме того, показано, что MPO участвует в дестабилизации бляшек, которая приводит к разрыву бляшек и инфаркту миокарда.

Таким образом, MPO, как полагают, принимает участие в нескольких процессах, которые приводят к сердечно-сосудистому заболеванию, включая 1) нарушение передвижения холестерина и развитие атеросклеротической бляшки в направлении нестабильного состояния, 2) дестабилизацию атеросклеротической бляшки и разрыв бляшки, 3) поглощение оксида азота, приводящее к нарушению функции эндотелия и кровотока, и 4) патологическое повреждение ткани вследствие ишемии, способствующее появлению фибрилляции предсердий и неблагоприятному ремоделированию сердца с гипертрофией левого желудочка, приводящей к застойной сердечной недостаточности, аневризме аорты и аневризме сосудов головного мозга. Предполагается, что ингибиторы активности MPO как таковые окажут значительную терапевтическую пользу в предупреждении и лечении сердечно-сосудистого заболевания.

В принадлежащей заявителю родственной заявке WO2013/068875, опубликованной 16 мая 2013 года, раскрыт ряд 2-тиопиримидинонов, полезных в качестве ингибиторов MPO, включая соединение-ингибитор из примера 427



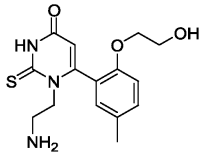
Пример 427.

Кроме того, родственными являются принадлежащий заявителю патент США с № 8835449, выданный 16 сентября 2014 года и впервые опубликованный как US2013123230 16 мая 2013 года, где раскрыт 2-(6-(5-хлор-2-метоксифенил)-4-оксо-2-тиоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил)ацетамид (пример 1), и принадлежащий заявителю патент США с № 8884314, выданный 2 мая 2013 года и впервые опубликованный как US201313296351 7 ноября 2013 года, где раскрыт N-(2-аминоэтил)-2-[6-(2,4-диметоксифенил)-4-оксо-2-тиоксо-3,4-дигидропиримидин-1 (2H)-ил]ацетамид (пример 241).

При этом, несмотря на то, что MPO широко вовлечена в этиологию и прогрессирование сердечно-сосудистого заболевания, по-прежнему сохраняется необходимость в улучшенных ингибиторах MPO. Соответственно, остается необходимость в фармацевтических агентах, которые обладают ингибирующей миелопероксидазу активностью и полезны в лечении, предупреждении или ослаблении проявлений заболеваний, изложенных в данном описании.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к соединению формулы I



Формула I

или его фармацевтически приемлемой соли.

Особенно предпочтительным аспектом этого изобретения является гидрохлоридная соль соединения формулы I.

Другим предпочтительным аспектом этого изобретения является соединение, представляющее собой 1-(2-аминоэтил)-6-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-2-тиоксо-2,3-дигидропиримидин-4(1H)-он (соединение A).

Это изобретение также относится к способу лечения сердечно-сосудистых явлений и состояний, включающему введение млекопитающему, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы I или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения, где сердечно-сосудистое состояние или явление представляет собой сердечную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, заболевание периферических артерий, легочную гипертензию, васкулит, первичный или вторичный инфаркт миокарда, ишемию, ишемическое реперфузионное повреждение, фибрилляцию предсердий, нестабильную стенокардию, заболевание коронарных артерий, инсульт или операцию аортокоронарного шунтирования (CABG).

Это изобретение также относится к способу лечения состояния, включающему введение млекопитающему, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы I или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения, где состояние представляет собой диабет, почечную недостаточность, диализ, отсроченную функцию трансплантата, отторжение трансплантированного органа или нефропатию, вызванную контрастирующими агентами.

В данном изобретении также предложены композиции, содержащие фармацевтически эффективное количество соединения формулы I, описанного в данной заявке, и фармацевтически приемлемый носитель, наполнитель или разбавитель.

Это изобретение также относится к фармацевтическим комбинированным композициям, содержащим терапевтически эффективное количество композиции, содержащей первое соединение, представляющее собой соединение формулы I или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения;

второе соединение, представляющее собой ингибитор ангиотензин-превращающего фермента, ингибитор HMG-CoA-редуктазы (3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент A-редуктазы), ингибитор неприлизина, нестероидный противовоспалительный агент, ингибитор фактора Xa или варфарин; и/или, возможно, фармацевтический носитель, наполнитель или разбавитель.

Все патенты и патентные заявки, которые упоминаются в данном описании, тем самым включены посредством ссылки.

Другие отличительные признаки и преимущества этого изобретения будут очевидны из этого описания и прилагаемой формулы изобретения, описывающей изобретение.

Краткое описание графических материалов

На чертеже представлена характерная картина дифракции рентгеновских лучей на порошке, на которой продемонстрирована кристаллическая форма из примера 1, стадии получения 5 (вертикальная ось: интенсивность (CPS (число импульсов в секунду)); горизонтальная ось: два тета (градусы)).

Подробное описание изобретения

Предпочтительные сердечно-сосудистые состояния включают сердечную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, фибрилляцию предсердий, заболевание периферических артерий, легочную гипертензию, заболевание коронарных артерий или васкулит.

Другие предпочтительные сердечно-сосудистые состояния включают нестабильную стенокардию или состояние пациента, который перенес инфаркт миокарда, а также ишемический или геморрагический инсульт.

Термин "соединение формулы I", использованный в данном описании, относится к соединению формулы I и также включает соли, полиморфы, изомеры, таутомеры, цвиттерионы, комплексы, изотопы и тому подобное, как описано ниже.

Фармацевтически приемлемые соли соединения формулы I включают их соли присоединения кислоты и основные соли. Кислотные соли соединения формулы I являются предпочтительными. Подходящие соли присоединения кислоты получают из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Примеры включают следующие соли: ацетат, адипат, аспартат, бензоат, безилат, бикарбонат/карбонат, бисульфат/сульфат, борат, камзилат, цитрат, цикламат, эдизилат, эзилат, формиат, фумарат, глюцептат, глюконат, глюкуронат, гексафторфосфат, гибензат, гидрохлорид/хлорид, гидробромид/бромид, гидройодид/йодид, изетионат, лактат, малат, малеат, малонат, мезилат, метилсульфат, нафтилат, 2-напсилат, никотинат, нитрат, оротат, оксалат, пальмитат, памоат, фосфат/гидрофосфат/дигидрофосфат, пироглутамат, сахарат, стеарат, сукцинат, таннат, тартрат, тозилат, трифторацетат и ксинофоат.

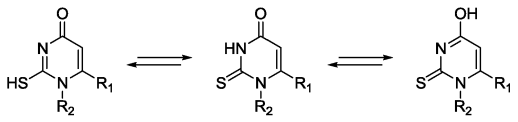
Подходящие основные соли получают из оснований, которые образуют нетоксичные соли. Хотя основные соли не являются предпочтительными, типичные основные соли включают соли алюминия, аргинина, кальция, холина, диэтиламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, триметиламина и цинка. Также могут быть образованы гемисоли кислот и оснований, например гемисульфатная и гемикальциевая соли. Обзор подходящих солей см. в Stahl and Wermuth, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties. Selection, and Use (Wiley-VCH, 2002).

Соединение формулы I может существовать как в несольватированной, так и в сольватированной формах. Термин "сольват" используется в данной заявке для описания молекулярного комплекса, содержащего соединение по изобретению и одну или более молекул фармацевтически приемлемого растворителя, например этанола и/или воды. Такими молекулами растворителей являются широко применяемые в фармацевтической области, про которые известно, что они являются безвредными для реципиента, например молекулы воды, этанола и тому подобного. Другие растворители, такие как метанол, метил-трет-бутиловый эфир, этилацетат, метилацетат, (S)-пропиленгликоль, (R)-пропиленгликоль, 1,4-бутин-диол и тому подобное, могут быть использованы в промежуточных сольватах при получении более желательных сольватов. Термин "гидрат" используется тогда, когда указанным растворителем является вода. Фармацевтически приемлемые сольваты включают гидраты (например, полигидраты, моногидраты) и другие сольваты, в которых растворитель для кристаллизации может быть изотопно-замещенным, например D_2O, d_6-ацетон, d_6-DMSO. Сольваты и/или гидраты предпочтительно существуют в кристаллической форме.

В объем термина "соединение формулы I" включены комплексы, такие как клатраты, комплексы включения лекарственное средство -"хозяин", где, в отличие от вышеупомянутых сольватов, лекарственное средство и "хозяин" присутствуют в стехиометрических или нестехиометрических количествах. Также включены комплексы лекарственного средства, содержащие два или более органических и/или неорганических компонентов, которые могут находиться в стехиометрических или нестехиометрических количествах. Полученные комплексы могут быть ионизированными, частично ионизированными или неионизированными. Обзор таких комплексов см. в статье Haleblian в J. Pharm. Sci., 64 (8), 1269-1288 (август 1975).

В тех случаях, когда соединение содержит, например, кето- или тиокарбонильную группу либо ароматическую группировку, может иметь место таутомерная изомерия ("таутомерия"). Из этого следует, что одно соединение может демонстрировать более одного типа изомерии. Например, иллюстративными таутомерами соединений формулы I являются следующие:

Тиоурацильные Таутомеры



наиболее предпочтительный таутомер

В объем термина "соединение формулы I" включены все таутомерные формы соединения формулы I, в том числе соединения, демонстрирующие более одного типа изомерии, и смеси одного или более из них. Также включены соли присоединения кислоты или основные соли, у которых противоион является оптически активным, например D-лактат или L-лизин, или рацемическим, например DL-тартрат или DL-аргинин.

Настоящее изобретение включает все фармацевтически приемлемые меченные изотопом соединения формулы I, у которых один или более атомов заменены на атомы, имеющие такое же атомное число, при этом их атомная масса или массовое число отличаются от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе.

Примеры изотопов, подходящих для включения в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, такие как ^{2}H и ^{3}H, углерода, такие как ^{11}C, ^{13}C и ^{14}C, хлора, такие как ^{36}Cl, фтора, такие как ^{18}F, йода, такие как ^{123}I и ^{125}I, азота, такие как ^{13}N и ^{15}N, кислорода, такие как ^{15}O, ^{17}O и ^{18}O, фосфора, такие как ^{32}P, и серы, такие как ^{35}S.

Некоторые меченные изотопом соединения формулы I, например содержащие радиоактивный изотоп, полезны в исследованиях распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях. Радиоактивные изотопы тритий, т.е. ^{3}H, и углерод-14, т.е. ^{14}C, особенно полезны для этой цели ввиду простоты их включения и наличия готовых средств обнаружения.

Замена на более тяжелые изотопы, такие как дейтерий, т.е. ^{2}H, может давать некоторые терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например увеличенный in vivo период полувыведения или потребность в уменьшенной дозировке, и, следовательно, в некоторых случаях может быть предпочтительной.

Замена на изотопы, испускающие позитроны, такие как ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O и ^{13}N, может быть полезной в исследованиях с использованием позитронно-эмиссионной томографии (PET) для изучения степени занятости рецепторов субстратом.

Обычно меченное изотопом соединение формулы I может быть получено по традиционным методикам, известным специалистам в данной области техники, или способами, аналогичными тем, которые описаны в прилагаемых примерах и стадиях получения, с использованием подходящего меченного изотопом реагента вместо ранее используемого немеченого реагента. Упомянутые в данном описании термины "лечить", "подвергание лечению", "лечение" и тому подобные включают куративное, паллиативное и профилактическое лечение.

Использованные в данном описании выражения "реакционно-инертный растворитель" и "инертный растворитель" относятся к растворителю или смеси растворителей, которые не взаимодействуют с исходными веществами, реагентами, промежуточными соединениями или продуктами образом, который неблагоприятно влияет на выход целевого продукта.

Под "фармацевтически приемлемым" понимают, что носитель, наполнитель или разбавитель и/или соль должны быть совместимы с другими ингредиентами композиции и безвредны для своего реципиента.

Термин "фармацевтически эффективное количество", использованный в данном описании, относится к количеству соединения формулы I (или комбинируемого агента либо соединения формулы I в комбинации с комбинируемым агентом), достаточному для лечения, предупреждения возникновения или задержки либо ослабления симптомов и физиологических проявлений для показаний, описанных в данной заявке.

Термин "комнатная температура или температура окружающей среды" означает температуру от 18 до 25°C, "HPLC" относится к жидкостной хроматографии высокого давления, "MPLC" относится к жидкостной хроматографии среднего давления, "TLC" относится к тонкослойной хроматографии, "MS" относится к масс-спектру или масс-спектроскопии либо масс-спектрометрии, "ЯМР" относится к спектроскопии ядерного магнитного резонанса, "DCM" относится к дихлорметану, "DMSO" относится к диметилсульфоксиду, "DME" относится к диметоксиэтану, "EtOAc" относится к этилацетату, "MeOH" относится к метанолу, "Ph" относится к фенильной группе, "Pr" относится к пропилу, "тритил" относится к трифенилметильной группе, "ACN" относится к ацетонитрилу, "DEAD" относится к диэтилазодикарбоксилату, и "DIAD" относится к диизопропилазодикарбоксилату.

Исходные вещества и реагенты для описанного выше соединения формулы I также являются легкодоступными или могут быть легко синтезированы специалистами в данной области техники с использованием традиционных методов органического синтеза. Например, многие использованные в данной заявке соединения являются родственными по отношению к соединениям (или происходят из соединений), к которым имеется большой научный интерес и в которых существует большая коммерческая потребность, вследствие чего многие такие соединения имеются в продаже или упоминаются в литературе, или могут быть легко получены из других общедоступных веществ способами, которые упоминаются в литературе.

Цис/транс-изомеры можно разделять посредством традиционных методик, хорошо известных специалистам в данной области техники, например хроматографией и фракционной кристаллизацией.

Фармацевтически приемлемые соли соединения формулы I могут быть получены одним или более чем одним из трех типичных методов:

(1) путем взаимодействия соединения формулы I с желаемой кислотой или желаемым основанием;

(2) путем удаления кислото- или щелочно-лабильной защитной группы из подходящего предшественника соединения формулы I, например посредством обработки О-трет-бутилкарбамата кислотой, или путем раскрытия кольца подходящего циклического предшественника, например лактона или лактама, с использованием желаемой кислоты или желаемого основания; или

(3) путем превращения одной соли соединения формулы I в другую посредством взаимодействия с подходящей кислотой или подходящим основанием либо с использованием подходящей ионообменной колонки.

Все три взаимодействия обычно проводят в растворе. Полученную соль можно осадить и собрать путем фильтрования или можно извлечь путем выпаривания растворителя. Степень ионизации в полученной соли может варьировать от полностью ионизированной до почти неионизированной.

Некоторые способы получения соединения по этому изобретению предложены в качестве других отличительных признаков изобретения и описаны в экспериментальной части.

Соединение формулы I по этому изобретению также можно использовать вместе с другими фармацевтическими агентами (например, антиатеросклеротическими и антитромботическими агентами) для лечения заболеваний/состояний, описанных в данной заявке.

Комбинируемые агенты

Соединение формулы I можно вводить само по себе или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами. Под "вводимый в комбинации" или "комбинированной терапией" понимают, что соединение по настоящему изобретению и один или несколько дополнительных терапевтических агентов одновременно вводят подвергаемому лечению млекопитающему. В случае введения в комбинации каждый компонент можно вводить в одно и то же время или последовательно в любом порядке в разные моменты времени. Так, каждый компонент можно вводить по отдельности, но достаточно близко по времени для того, чтобы получить желаемый терапевтический эффект. Таким образом, способы предупреждения и лечения, описанные в данной заявке, включают использование комбинируемых агентов.

Комбинируемые агенты вводят млекопитающему в терапевтически эффективном количестве. Под "терапевтически эффективным количеством" понимают количество соединения по настоящему изобретению, которое при введении млекопитающему соединения самого по себе или в комбинации с дополни-

тельным терапевтическим агентом оказывается эффективным для лечения желаемого заболевания/состояния, например сердечно-сосудистого состояния, такого как острый коронарный синдром.

Дополнительные терапевтические агенты включают антикоагулянтные или ингибирующие свертывание агенты, антитромбоцитарные или ингибирующие тромбоциты агенты, ингибиторы тромбина, тромболитические или фибринолитические агенты, антиаритмические агенты, антигипертензивные средства, блокаторы кальциевых каналов (L-типа и T-типа), сердечные гликозиды, диуретики, антагонисты минералокортикоидных рецепторов, агенты, являющиеся донорами NO, такие как органонитраты, агенты, способствующие выработке NO, такие как ингибиторы фосфодиэстеразы, агенты, снижающие содержание холестерина/липидов, и влияющие на липидный профиль терапии, антидиабетические средства, антидепрессанты, противовоспалительные агенты (стероидные и нестероидные), антиостеопорозные агенты, гормонозаместительные терапии, пероральные контрацептивы, средства против ожирения, противотревожные средства, антипролиферативные агенты, противоопухолевые агенты, противоязвенные агенты и средства для лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, гормон роста и/или средства, усиливающие секрецию гормона роста, тиреоидные миметики (включая агонист рецепторов гормонов щитовидной железы), антитиреоидные агенты (например, пропилтиоурацил, метимазол и карбимазол), противоинфекционные агенты, противовирусные агенты, антибактериальные агенты и противогрибковые агенты.

Включены агенты, применяемые в условиях ICU (отделение интенсивной терапии), например добутамин, дофамин, эпинефрин, нитроглицерин, нитропруссид и так далее.

Включены комбинируемые агенты, полезные для лечения васкулита, например азатиоприн, циклофосфамид, микофенолат, мофетил, ритуксимаб и так далее.

В другом воплощении настоящего изобретения предложена комбинация, где вторым агентом является по меньшей мере один агент, выбранный из ингибитора фактора Xa, антикоагулянтного агента, антитромбоцитарного агента, ингибирующего тромбин агента, тромболитического агента и фибринолитического агента.

Типичные ингибиторы фактора Xa включают апиксабан и ривароксабан.

Примеры подходящих антикоагулянтов для применения в комбинации с соединениями по настоящему изобретению включают гепарины (например, нефракционированные и низкомолекулярные гепарины, такие как эноксапарин и далтепарин).

В другом предпочтительном воплощении вторым агентом является по меньшей мере один агент, выбранный из варфарина, нефракционированного гепарина, низкомолекулярного гепарина, синтетического пентасахарида, гирудина, аргатробана, аспирина, ибупрофена, напроксена, сулиндака, индометацина, мефенамата, дроксикама, диклофенака, сульфинпиразона, пироксикама, тиклопедина, клопидогреля, тирофибана, эптифибатида, абциксимаба, мелагатрана, дисульфатогирудина, тканевого активатора плазминогена, модифицированного тканевого активатора плазминогена, анистеплазы, урокиназы и стрептокиназы.

Предпочтительным вторым агентом является по меньшей мере один антитромбоцитарный агент. Особенно предпочтительными антитромбоцитарными агентами являются аспирин и клопидогрель.

Термин "антитромбоцитарные агенты" (или агенты, ингибирующие тромбоциты), использованный в данном описании, обозначает агенты, которые ингибируют функцию тромбоцитов, например, посредством ингибирования агрегации, адгезии или гранулярной секреции тромбоцитов. Агенты включают, но не ограничиваются этим, различные известные нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (NSAID), такие как аспирин, ибупрофен, напроксен, сулиндак, индометацин, мефенамат, дроксикам, диклофенак, сульфинпиразон, пироксикам и их фармацевтически приемлемые соли или пролекарства. Среди NSAID предпочтительными считаются аспирин (ацетилсалициловая кислота или ASA) и ингибиторы COX-2 (циклооксигеназа-2), такие как целебрекс или пироксикам. Другие подходящие агенты, ингибирующие тромбоциты, включают IIb/IIIa антагонисты (например, тирофибан, эптифибатид и абциксимаб), антагонисты рецепторов тромбоксана A2 (например, ифетробан), ингибиторы тромбоксан-A2-синтетазы, ингибиторы фосфодиэстеразы-III (PDE-III) (например, плетал, дипиридамол) и их фармацевтически приемлемые соли или пролекарства.

Также подразумевается, что термин "антитромбоцитарные агенты" (или агенты, ингибирующие тромбоциты), использованный в данном описании, включает антагонисты АДФ(аденозиндифосфат)-рецепторов, предпочтительно антагонисты пуринергических рецепторов P_2Y_1 и P_2Y_{12}, при этом P_2Y_{12} считается даже более предпочтительным. Предпочтительные антагонисты рецепторов P_2Y_{12} включают тикагрелор, прасугрел, тиклопидин и клопидогрел, в том числе их фармацевтически приемлемые соли или пролекарства. Клопидогрел является даже более предпочтительным агентом. Тиклопидин и клопидогрел являются предпочтительными соединениями, так как они, как известно, при своем применении оказывают слабое воздействие на желудочно-кишечный тракт.

Термин "ингибиторы тромбина" (или антитромбиновые агенты), использованный в данном описании, обозначает ингибиторы сериновой протеазы -тромбина. В результате ингибирования тромбина нарушаются различные тромбин-опосредуемые процессы, такие как тромбин-опосредуемая активация тромбоцитов (то есть, например, агрегация тромбоцитов и/или гранулярная секреция ингибитора актива-

тора плазминогена 1 типа и/или серотонина) и/или образование фибрина. Специалисту в данной области техники известен ряд ингибиторов тромбина, и эти ингибиторы предполагаются для применения в комбинации с соединениями по настоящему изобретению. Такие ингибиторы включают, но не ограничиваются этим, производные бороаргинина, боропептиды, гепарины, гирудин, аргатробан и мелагатран, в том числе их фармацевтически приемлемые соли и пролекарства. Производные бороаргинина и боропептиды включают N-ацетильные и пептидные производные бороновой кислоты, такие как производные альфа-аминобороновой кислоты по С-концу лизина, орнитина, аргинина, гомоаргинина и их соответствующие изотиоурониевые аналоги. Термин "гирудин", использованный в данном описании, включает подходящие производные или аналоги гирудина, обозначаемые в данном описании как гирулоги, такие как дисульфатогирудин. Термин "тромболитические или фибринолитические агенты" (или тромболитики либо фибринолитики), использованный в данном описании, обозначает агенты, которые лизируют сгустки крови (тромбы). Такие агенты включают тканевой активатор плазминогена (природный или рекомбинантный) и его модифицированные формы, анистреплазу, урокиназу, стрептокиназу, тенектеплазу (TNK), ланотеплазу (nPA), ингибиторы фактора VIIa, ингибиторы PAI-1 (то есть, инактиваторы ингибиторов тканевого активатора плазминогена), ингибиторы альфа2-антиплазмина и анизоилированный активаторный комплекс плазминогена и стрептокиназы, в том числе их фармацевтически приемлемые соли или пролекарства. Термин "анистреплаза", использованный в данном описании, относится к анизоилированному активаторному комплексу плазминогена и стрептокиназы, раскрытому, например, в документе EP 028489, описание которого тем самым включено в данную заявку посредством ссылки. Подразумевается, что термин "урокиназа", использованный в данном описании, означает как двуцепочечную, так и одноцепочечную урокиназу, при этом последняя также обозначена в данном описании как проурокиназа.

Примеры подходящих антиаритмических агентов включают: агенты I класса (такие как пропафенон); агенты II класса (такие как метопролол, атенолол, карведилол и пропранолол); агенты III класса (такие как соталол, дофетилид, амиодарон, азимилид и ибутилид); агенты IV класса (такие как дилтиазем и верапамил); активаторы K^+-каналов, такие как ингибиторы I_{Ach} (ацетилхолинзависимый ток) и ингибиторы I_{Kur} (сверхбыстрый выходящий ток задержанного выпрямления) (например, такие соединения, которые раскрыты в WO01/40231).

Соединение формулы I можно использовать в комбинации с антигипертензивными средствами, и специалисты в данной области техники легко определят такую антигипертензивную активность согласно стандартным анализам (например, посредством измерений кровяного давления). Примеры подходящих антигипертензивных средств включают: альфа-адренергические блокаторы; бета-адренергические блокаторы; блокаторы кальциевых каналов (например, дилтиазем, верапамил, нифедипин и амлодипин); вазодилататоры (например, гидралазин), диуретики (например, хлортиазид, гидрохлортиазид, флуметиазид, гидрофлуметиазид, бендрофлуметиазид, метилхлортиазид, трихлорметиазид, политиазид, бензтиазид, этакриновую кислоту, трикринафен, хлорталидон, торсемид, фуросемид, музолимин, буметанид, триамтерен, амилорид, спиронолактон); ингибиторы ренина; ингибиторы ACE (ангиотензин-превращающий фермент) (например, каптоприл, зофеноприл, фозиноприл, эналаприл, цераноприл, цилазоприл, делаприл, пентоприл, хинаприл, рамиприл, лизиноприл); антагонисты рецепторов AT-1 (ангиотензин-1) (например, лозартан, ирбесартан, валсартан); антагонисты рецепторов ET (эндотелии) (например, ситаксентан, атрсентан и соединения, раскрытые в патентах США №№ 5612359 и 6043265); двойной антагонист ET/AII (например, соединения, раскрытые в WO00/01389); ингибиторы нейтральной эндопептидазы (NEP); ингибиторы вазопепсидазы (двойные ингибиторы NEP-ACE) (например, гемопатрилат и нитраты). Типичным антиангинальным средством является ивабрадин.

Примеры подходящих блокаторов кальциевых каналов (L-типа или T-типа) включают дилтиазем, верапамил, нифедипин и амлодипин и мибефрадил.

Примеры подходящих сердечных гликозидов включают дигиталис и уабаин.

В одном из воплощений соединение формулы I можно вводить вместе с одним или более чем одним диуретиком. Примеры подходящих диуретиков включают (а) петлевые диуретики, такие как фуросемид (например, LASIX™), торсемид (например, DEMADEX™), буметанид (например, BUMEX™) и этакриновая кислота (например, EDECRIN™); (б) диуретики тиазидного типа, такие как хлортиазид (например, DIURIL™, ESIDRIX™ или HYDRODIURIL™), гидрохлортиазид (например, MICROZIDE™ или ORETIC™), бензтиазид, гидрофлуметиазид (например, SALURON™), бендрофлуметиазид, метихлортиазид, политиазид, трихлорметиазид и индапамид (например, LOZOL™); (в) диуретики фталимидинового типа, такие как хлорталидон (например, HYGROTON™) и метолазон (например, ZAROXOLYN™); (г) диуретики хиназолинового типа, такие как хинетазон; и (д) калийсберегающие диуретики, такие как триамтерен (например, DYRENIUM™) и амилорид (например, MIDAMOR™ или MODURETIC™).

В другом воплощении соединение формулы I можно вводить вместе с петлевым диуретиком. В еще одном воплощении петлевой диуретик выбран из фуросемида и торсемида. В еще одном воплощении соединение формулы I можно вводить вместе с фуросемидом. В еще одном воплощении соединение формулы I можно вводить вместе с торсемидом, который возможно может представлять собой форму торсемида с контролируемым или модифицированным высвобождением.

В другом воплощении соединение формулы I можно вводить вместе с диуретиком тиазидного типа. В еще одном воплощении диуретик тиазидного типа выбран из группы, состоящей из хлортиазида и гидрохлортиазида. В еще одном воплощении соединение формулы I можно вводить вместе с хлортиазидом. В еще одном воплощении соединение формулы I можно вводить вместе с гидрохлортиазидом.

В другом воплощении соединение формулы I можно вводить вместе с диуретиком фталимидинового типа. В еще одном воплощении диуретиком фталимидинового типа является хлорталидон.

Примеры подходящих комбинируемых антагонистов минералокортикоидных рецепторов включают спиронолактон и эплеренон.

Примеры подходящих комбинируемых ингибиторов фосфодиэстеразы включают: ингибиторы PDE III (такие как цилостазол) и ингибиторы PDE V (такие как силденафил).

Соединения по настоящему изобретению можно использовать в комбинации с холестерин-модулирующими агентами (в том числе со снижающими содержание холестерина агентами), такими как ингибитор липазы, ингибитор HMG-CoA-редуктазы, ингибитор HMG-CoA-синтазы, ингибитор экспрессии гена HMG-CoA-редуктазы, ингибитор экспрессии гена HMG-CoA-синтазы, ингибитор секреции MTP/ApoB (микросомальный белок-переносчик триглицеридов/аполипопротеин B), ингибитор CETP (белок-переносчик эфиров холестерина), ингибитор всасывания желчных кислот, ингибитор всасывания холестерина, ингибитор синтеза холестерина, ингибитор скваленсинтетазы, ингибитор скваленэпоксидазы, ингибитор скваленциклазы, комбинированный ингибитор скваленэпоксидазы/скваленциклазы, фибрат, ниацин, ионообменная смола, антиоксидант, ингибитор ACAT (ацил-CoA-холестерин-ацилтрансфераза) или вещество, усиливающее экскрецию желчных кислот, или такой агент, как мипомерсен.

Примеры подходящих агентов, снижающих содержание холестерина/липидов, и влияющих на липидный профиль терапий включают: ингибиторы HMG-CoA-редуктазы (например, правастатин, ловастатин, аторвастатин, симвастатин, флувастатин, NK-104 (также известный как итавастатин, или нисвастатин, или нисбастатин) и ZD-4522 (также известный как розувастатин, или атавастатин, или визастатин)); ингибиторы скваленсинтетазы; фибраты; вещества, усиливающие экскрецию желчных кислот (такие как квестран); ингибиторы ACAT; ингибиторы MTP; ингибиторы липоксигеназы; ингибиторы всасывания холестерина и ингибиторы белка-переносчика эфиров холестерина.

Противовоспалительные агенты также включают ингибиторы sPLA2 (секреторная фосфолипаза A2) и lpPLA2 (липопротеин-ассоциированная фосфолипаза) (такие как дарапладиб), ингибиторы 5-LO (5-липоксигеназа) (такие как атрелейтон), ингибиторы p38 (такие как лосмапимод) и антагонисты IL-1 (интерлейкин-1) и IL-1r (рецептор IL-1) (такие как канакинумаб).

Другие атеросклеротические агенты включают агенты, которые модулируют действие PCSK9 (пропротеиновая конвертаза субтилизин-кексинового типа 9 (от англ. proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)).

Сердечно-сосудистые осложнения диабета 2 типа ассоциированы с неблагоприятными уровнями MPO; соответственно, соединения по настоящему изобретению можно применять в комбинации с антидиабетическими средствами, в частности, со средствами против диабета 2 типа. Примеры подходящих антидиабетических средств включают, например, инсулины, метформин, ингибиторы DPP-IV, агонисты GLP-1, аналоги и миметики, ингибиторы SGLT1 (натрий-зависимый переносчик глюкозы 1) и SGLT2. Подходящие антидиабетические средства включают ингибитор ацетил-CoA-карбоксилазы (ACC), такой как описанный в WO2009144554, WO2003072197, WO2009144555 и WO2008065508, ингибитор диацилглицерол-O-ацилтрансферазы 1 (DGAT-1), такой как описанный в WO09016462 или WO2010086820, AZD7687 или LCQ908, ингибитор диацилглицерол-O-ацилтрансферазы 2 (DGAT-2), ингибиторы моноацилглицерол-O-ацилтрансферазы, ингибитор фосфодиэстеразы(PDE)-10, активатор AMPK (АМФ-активируемая протеинкиназа), сульфонилмочевину (например, ацетогексамид, хлорпропамид, диабинез, глибенкламид, глипизид, глибурид, глимепирид, гликлазид, глипентид, гликвидон, глизоламид, толазамид и толбутамид), меглитинид, ингибитор α-амилазы (например, тендамистат, трестатин и AL-3688), ингибитор α-глюкозидгидролазы (например, акарбозу), ингибитор α-глюкозидазы (например, адипозин, камиглибозу, эмиглитат, миглитол, воглибозу, прадимицин-Q и салбостатин), агонист PPARγ (рецептор-гамма, активируемый пролифератором пероксисом) (например, балаглитазон, циглитазон, дарглитазон, энглитазон, изаглитазон, пиоглитазон и розиглитазон), агонист PPAR-α/γ (например, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767 и SB-219994), бигуанид (например, метформин), модулятор глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), такой как агонист (например, эксендин-3 и эксендин-4), лираглутид, албиглутид, эксенатид (Byetta®), албиглутид, ликсисенатид, дулаглутид, семаглутид, NN-9924, TTP-054, ингибитор протеинтирозинфосфатазы-1B (PTP-1B) (например, тродусквемин, экстракт из морских губок Hyrtios sp. и соединения, раскрытые в Zhang S., et al., Drug Discovery Today, 12(9/10), 373-381 (2007)), ингибитор SIRT-1 (сиртуина-1) (например, ресвератрол, GSK2245840 или GSK184072), ингибитор дипептидилпептидазы IV (DPP-IV) (например, такой как в WO2005116014, ситаглиптин, вилдаглиптин, алоглиптин, дутоглиптин, линаглиптин и саксаглиптин), стимулятор секреции инсулина, ингибитор окисления жирных кислот, A2-антагонист, ингибитор c-Jun-N-концевой киназы

(JNK), активаторы глюкокиназы (GKa), такие как описанные в WO2010103437, WO2010103438, WO2010013161, WO2007122482, TTP-399, TTP-355, TTP-547, AZD1656, ARRY403, MK-0599, TAK-329, AZD5658 или GKM-001, инсулин, миметик инсулина, ингибитор гликогенфосфорилазы (например, GSK1362885), агонист рецептора VPAC2 (вазоактивный интестинальный пептид), ингибиторы SGLT2, такие как описанные в E.C. Chao et al., Nature Reviews Drug Discovery, 9, 551-559 (июль 2010 г.), включая дапаглифлозин, канаглифлозин, эмпаглифлозин, тофоглифлозин (CSG452), ASP-1941, THR1474, TS-071, ISIS388626 и LX4211, а также таковые из WO2010023594, модулятор рецептора глюкагона, такой как описанный в Demong D.E. et al., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2008, 43, 119-137, модуляторы GPR119 (G-белок-связанный рецептор 119), в частности, агонисты, такие как описанные в WO2010140092, WO2010128425, WO2010128414, WO2010106457, Jones R.M. et al., Medicinal Chemistry, 2009, 44, 149-170 (например, MBX-2982, GSK1292263, APD597 и PSN821), производные или аналоги FGF21 (фактор роста фибробластов 21), такие как описанные в Kharitonenkov A. et al., Current Opinion in Investigational Drugs, 2009, 10(4), 359-364, модуляторы рецептора TGR5 (рецептор желчных кислот 5) (также называемого GPBAR1 (G-белок-связанный рецептор 1 желчных кислот)), в частности, агонисты, такие как описанные в Zhong M., Current Topics in Medicinal Chemistry, 2010, 10(4), 386-396, и INT777, агонисты GPR40, такие как описанные в Medina J.C., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2008, 43, 75-85, включая TAK-875, но этим не ограничиваясь, модуляторы GPR120, в частности, агонисты, активаторы высокоаффинного рецептора никотиновой кислоты (HM74A) и ингибиторы SGLT1, такие как GSK1614235. Дополнительный репрезентативный список антидиабетических средств, которые можно комбинировать с соединениями по настоящему изобретению, можно найти, например, в WO2011005611 со страницы 28, строка 35, по страницу 30, строка 19. Предпочтительными антидиабетическими средствами являются метформин и ингибиторы DPP-IV (например, ситаглиптин, вилдаглиптин, алоглиптин, дутоглиптин, линаглиптин и саксаглиптин). Другие антидиабетические средства могут включать ингибиторы или модуляторы ферментов карнитинпальмитоил-трансфераз, ингибиторы фруктозо-1,6-бифосфатазы, ингибиторы альдозоредуктазы, ингибиторы минералокортикоидных рецепторов, ингибиторы TORC2, ингибиторы CCR2 (C-C-хемокиновый рецептор 2) и/или CCR5, ингибиторы изоформ PKC (протеинкиназа C) (например, PKCα, PKCβ, PKCγ), ингибиторы синтетазы жирных кислот, ингибиторы серинпальмитоилтрансферазы, модуляторы GPR81, GPR39, GPR43, GPR41, GPR105, Kv1.3, ретинолсвязывающего белка 4, глюкокортикоидного рецептора, соматостатиновых рецепторов (например, SSTR1, SSTR2, SSTR3 и SSTR5), ингибиторы или модуляторы PDHK2 (киназа пируватдегидрогеназы 2) или PDHK4 (киназа пируватдегидрогеназы 4), ингибиторы MAP4K4, модуляторы семейства IL1, включая IL1бета, модуляторы RXR альфа (ретиноидный X-рецептор альфа). Кроме того, подходящие антидиабетические средства охватывают механизмы, перечисленные в Carpino P. A., Goodwin B., Expert Opin. Ther. Pat., 2010, 20(12), 1627-51.

Специалистам в данной области техники будет понятно, что соединения по этому изобретению также можно использовать вместе с другими сердечно-сосудистыми или цереброваскулярными терапиями, включая PCI (чрескожное коронарное вмешательство), CABG, пересадку сердца, пересадку почки, стентирование, применение стентов с лекарственным покрытием, лечение стволовыми клетками и применение медицинских устройств, таких как имплантируемые кардиостимуляторы, дефибрилляторы, или сердечную ресинхронизирующую терапию.

Миелопероксидазная активность была продемонстрирована для нейровоспалительных состояний; соответственно, соединения по настоящему изобретению можно использовать в комбинации с нейровоспалительными и нейродегенеративными агентами у млекопитающих. Примеры дополнительных нейровоспалительных и нейродегенеративных агентов включают антидепрессанты, антипсихотические средства, агенты против боли, агенты против болезни Альцгеймера и противотревожные агенты. Примеры конкретных классов антидепрессантов, которые можно использовать в комбинации с соединениями по изобретению, включают ингибиторы обратного захвата норэпинефрина, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (SSRI), антагонисты рецепторов NK-1 (нейрокинина-1), ингибиторы моноаминоксидазы (MAOI), обратимо действующие ингибиторы моноаминоксидазы (RIMA), ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (SNRI), антагонисты кортикотропин-рилизинг-фактора (CRF) и атипичные антидепрессанты. Подходящие ингибиторы обратного захвата норэпинефрина включают третичные трициклические амины и вторичные трициклические амины. Примеры подходящих третичных трициклических аминов и вторичных трициклических аминов включают амитриптилин, кломипрамин, доксепин, имипрамин, тримипрамин, дотиепин, бутриптилин, нортриптилин, протриптилин, амоксапин, дезипрамин и мапротилин. Примеры подходящих SSRI включают флуоксетин, флувоксамин, пароксетин и сертралин. Примеры ингибиторов моноаминоксидазы включают изокарбоксазид, фенелзин и транилциклопрамин. Примеры подходящих обратимо действующих ингибиторов моноаминоксидазы включают моклобемид. Примеры SNRI, подходящих для применения в настоящем изобретении, включают венлафаксин. Примеры подходящих атипичных антидепрессантов включают бупропион, литий, тразодон и вилоксазин. Примеры агентов против болезни Альцгеймера включают антагонисты NMDA(N-метил-D-аспартат)-рецепторов, такие как мемантин; и ингибиторы холинэстеразы, такие как донепезил и галантамин. Примеры подходящих классов противотревожных агентов, которые можно ис-

пользовать в комбинации с соединениями по изобретению, включают бензодиазепины и агонисты рецептора серотонина, тип 1A (5-HT1A), и антагонисты CRF. Подходящие бензодиазепины включают алпразолам, хлордиазепоксид, клоназепам, хлоразепат, диазепам, лоразепам, оксазепам и празепам. Подходящие агонисты рецептора 5-HT1A включают буспирон и ипсапирон. Подходящие антагонисты CRF включают веруцерфонт. Подходящие атипичные антипсихотические средства включают палиперидон, зипрасидон, рисперидон, арипипразол, оланзапин и кветиапин. Подходящие агонисты никотиновых ацетилхолиновых рецепторов включают CP-601927 и варениклин. Агенты против боли включают прегабалин, габапентин, клонидин, неостигмин, баклофен, мидазолам, кетамин и зиконотид.

Специалистам в данной области техники будет понятно, что соединения по этому изобретению также можно использовать вместе с иммуномодулирующими терапиями, такими как циклоспорин A (Сандиммун или Неорал), такролимус, лефлуномид, дезоксиспергуалин, микофенолат (например, Селлсепт), Атгам, противовоспалительные стероиды (например, преднизон или дексаметазон), азатиоприн, 6-меркаптопурин, рапамицин, ингибиторы JAK (Янус-киназа) (например, Кселянз), антитела к TNF-альфа (фактор некроза опухоли альфа) (например, инфликсимаб (ремикейд), адалимумаб (Хумира), цертолизумаб пегол (Симзия), голимумаб (Симпони), этанерцепт (Энбрел) и метотрексат.

Существует возможность химического взаимодействия между комбинированными активными ингредиентами, особенно в случае их представления в одной единице дозирования. По этой причине, в случае объединения соединения формулы I и второго терапевтического агента в одной единице дозирования, их композицию изготавливают таким образом, чтобы, несмотря на объединение активных ингредиентов в одной единице дозирования, физический контакт между активными ингредиентами был минимизирован (то есть, снижен). Например, один из активных ингредиентов может иметь энтеросолюбильное покрытие. Использование энтеросолюбильного покрытия для одного из активных ингредиентов дает возможность не только минимизировать контакт между комбинированными активными ингредиентами, но также дает возможность контролировать высвобождение одного из этих компонентов в желудочно-кишечном тракте, благодаря чему один из этих компонентов не высвобождается в желудке, а в большей степени высвобождается в кишечнике. Один из активных ингредиентов также может быть покрыт веществом, которое приводит к длительному высвобождению на протяжении всего желудочно-кишечного тракта, а также служит для минимизации физического контакта между комбинированными активными ингредиентами. Кроме того, компонент с длительным высвобождением может дополнительно иметь энтеросолюбильное покрытие, благодаря чему высвобождение этого компонента происходит только в кишечнике. Еще один подход предполагает изготовление композиции комбинированного продукта, в которой один компонент покрыт полимером, обеспечивающим длительное высвобождение и/или высвобождение в кишечнике, а другой компонент покрыт таким полимером, как гидроксипропилметилцеллюлоза (HPMC) с низкой вязкостью, или другими подходящими веществами, известными в данной области техники для дополнительного разделения активных компонентов. Полимерное покрытие служит для образования дополнительного барьера, препятствующего взаимодействию с другим компонентом.

Эти, также как и другие пути минимизации контакта между компонентами комбинированных продуктов по настоящему изобретению, независимо от того, вводят ли их в одной лекарственной форме или вводят в раздельных формах, но в одно и то же время одним и тем же образом, будут очевидны специалистам в данной области техники, ознакомленным с описанием настоящего изобретения.

При лечении с использованием комбинированной терапии соединение формулы I и другие лекарственные средства вводят млекопитающим (например, людям, мужчине или женщине) традиционными способами.

Соединение формулы I и его соли полностью адаптированы к терапевтическому применению в качестве агентов, которые ингибируют миелопероксидазу у млекопитающих, в частности, людей, и, таким образом, являются полезными для лечения различных состояний (например, описанных в данной заявке), в которые вовлечено такое действие.

Считается, что миелопероксидаза вовлечена в патологическое окисление белков, липидов и нуклеиновых кислот и способствует дисфункциональному метаболизму холестерина, повреждению тканей и дисфункции органов, и может вызывать сердечнососудистые заболевания и ассоциированные с ними неблагоприятные исходы или способствовать этому.

Заболевания/состояния, которые можно лечить в соответствии с настоящим изобретением, включают, но не ограничиваются этим, состояния сердечно-сосудистой системы, диабет (например, II типа) и осложнения диабета, сосудистые состояния, нейровоспалительные состояния, нейродегенеративные состояния, боль, рак, сепсис, NASH (неалкогольный стеатогепатит), повреждение легких и легочную гипертензию, почечные заболевания и васкулитные синдромы, в особенности связанные с ANCA (антинейтрофильными цитоплазматическими антителами) и тому подобное.

С учетом положительной корреляции между активацией миелопероксидазы и развитием сердечно-сосудистых и ассоциированных с ними заболеваний/состояний соединение формулы I, в силу фармакологического действия, является полезным для предупреждения, торможения и/или регрессии атеросклероза и ассоциированных с ним болезненных состояний.

Считается, что MPO проявляет проатерогенную биологическую активность в процессе развития

сердечно-сосудистого заболевания. Кроме того, было обнаружено, что МРО-генерируемые окислители снижают биодоступность оксида азота, важного вазодилататора. Помимо этого показано, что МРО принимает участие в дестабилизации бляшек посредством активации металлопротеиназ, что приводит к ослаблению фиброзного утолщения бляшек и последующим событиям дестабилизации и разрыва бляшек. Таким образом, МРО, вследствие широкого диапазона указанных эффектов МРО, вовлечена в разнообразные сердечно-сосудистые заболевания.

Состояния сердечно-сосудистой системы включают, но не ограничиваются этим, коронарное заболевание сердца, острый коронарный синдром, ишемическую болезнь сердца, первичный или рецидивирующий инфаркт миокарда, вторичный инфаркт миокарда, инфаркт миокарда без подъема сегмента ST или инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, скоропостижную смерть от ишемической болезни сердца, преходящую ишемическую атаку, окклюзионное заболевание периферических артерий, стенокардию, атеросклероз, гипертензию, сердечную недостаточность (такую как застойная сердечная недостаточность), диастолическую дисфункцию (такую как диастолическая дисфункция левого желудочка, диастолическая сердечная недостаточность и нарушенное диастолическое наполнение), систолическую дисфункцию (такую как систолическая сердечная недостаточность с уменьшенной фракцией выброса), фибрилляцию предсердий, аритмию (желудочковую), ишемию, гипертрофическую кардиомиопатию, внезапную сердечную смерть, миокардиальный и сосудистый фиброз, нарушенную податливость сосудистой стенки, некротические поражения миокарда, повреждения сосудов, гипертрофию левого желудочка, сниженную фракцию выброса, патологические изменения сердца, гипертрофию стенок сосудов, утолщение эндотелия, фибриноидный некроз коронарных артерий, неблагоприятное ремоделирования, инсульт и тому подобное. Также включены венозный тромбоз, тромбоз глубоких вен, тромбофлебит, артериальная эмболия, тромбоз коронарных артерий, тромбоз артерий головного мозга, церебральная эмболия, почечная эмболия, легочная эмболия и тромбоз, возникающий в результате применения (а) искусственных клапанов или других имплантатов, (б) полостных катетеров, (в) стентов, (г) сердечно-легочного шунтирования, (д) гемодиализа или (е) других процедур, при которых кровь подвергается воздействию искусственной поверхности, способствующей тромбозу. Следует отметить, что тромбоз включает окклюзию (например, после шунтирования) и реокклюзию (например, в ходе или после чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики).

Сердечно-сосудистые осложнения диабета 2 типа ассоциированы с неблагоприятными уровнями МРО; соответственно, соединение формулы можно использовать для лечения диабета и диабетических осложнений, таких как макрососудистое заболевание, гипергликемия, метаболический синдром, нарушенная толерантность к глюкозе, гиперурикемия, глюкозурия, катаракты, диабетическая нейропатия, диабетическая нефропатия, диабетическая ретинопатия, ожирение, дислипидемия, гипертензия, гиперинсулинемия и синдром инсулинорезистентности.

Помимо этого, связь миелопероксидазной активности с заболеванием продемонстрирована в случае нейровоспалительных и нейродегенеративных состояний. Таким образом, соединение формулы I показано, в частности, для применения в лечении нейровоспалительных и нейродегенеративных состояний (т.е. расстройств или заболеваний) у млекопитающих, включая людей, таких состояний, как рассеянный склероз, мигрень; эпилепсия; болезнь Альцгеймера; болезнь Паркинсона; множественная системная атрофия; травма головного мозга; инсульт; цереброваскулярные заболевания (включая церебральный артериосклероз, церебральную амилоидную ангиопатию, наследственную церебральную геморрагию и обусловленную гипоксией ишемию головного мозга); когнитивные расстройства (включая амнезию, сенильную деменцию, деменцию, ассоциированную с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), деменцию, ассоциированную с болезнью Альцгеймера, деменцию, ассоциированную с болезнью Гентингтона, деменцию с тельцами Леви, сосудистую деменцию, деменцию, связанную с приемом лекарственных средств, делирий и умеренную когнитивную недостаточность); умственная неполноценность (включая синдром Дауна и синдром ломкой Х-хромосомы); расстройства сна (включая гиперсомнию, расстройство циркадного ритма сна, бессонницу, парасомнию и недосыпание) и психические расстройства (такие как тревога (включая острое стрессовое расстройство, генерализованное тревожное расстройство, социальное тревожное расстройство, паническое расстройство, посттравматическое стрессовое расстройство и обсессивно-компульсивное расстройство)); симулятивное расстройство (включая острую галлюцинаторную манию); расстройства контроля импульсивного поведения (включая компульсивное влечение к азартным играм и интермиттирующее эксплозивное расстройство); расстройства настроения (включая биполярное расстройство I типа, биполярное расстройство II типа, манию, смешанное аффективное состояние, глубокую депрессию, хроническую депрессию, сезонную депрессию, психотическую депрессию и послеродовую депрессию); психомоторное расстройство; психотические расстройства (включая шизофрению, шизоаффективное расстройство, шизофреноформное и бредовое расстройство); лекарственную зависимость (включая наркотическую зависимость, алкоголизм, амфетаминовую зависимость, кокаинизм, никотиновую зависимость и абстинентный наркотический синдром); расстройства приема пищи (включая анорексию, булимию, компульсивное переедание, гиперфагию и пагофагию); и психические расстройства у детей (включая синдром дефицита внимания, синдром дефицита внимания с гиперактивностью, кондуктивное расстройство и аутизм), у млекопитающего, предпочтительно человека,

путем введения данному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

Другие воспалительные заболевания или расстройства включают астму, хроническую обструктивную болезнь легких, кистозный фиброз, идиопатический легочный фиброз, острый респираторный дистресс-синдром, синусит, ринит, псориаз, дерматит, увеит, гингивит, атеросклероз, воспалительное заболевание кишечника, поражение почечных клубочков, фиброз печени, сепсис, проктит, ревматоидный артрит и воспаление, ассоциированное с реперфузионным повреждением, травму спинного мозга и повреждение/рубцевание/адгезию/отторжение тканей.

Термин "нефропатия, вызванная контрастирующими агентами" включает в себя индуцируемую контрастированием нефропатию после осуществления процедур, в которых используются визуализирующие агенты, включая кардиохирургию, некардиальные хирургические вмешательства и трансплантационную хирургию. Нефропатия, вызванная контрастирующими агентами, также включает нефропатию, вызванную применением усиливающих визуализацию контрастирующих агентов, у пациентов, в том числе с риском первичного инфаркта миокарда (MI) или вторичного MI.

Применимость соединения формулы I в качестве лекарственного агента в лечении описанных выше заболеваний/состояний у млекопитающих (например, людей, мужчин или женщин) демонстрируется по активности соединений по данному изобретению в традиционных описанных ниже анализах in vitro и in vivo. Анализы in vivo (с соответствующими модификациями, известными специалисту в данной области техники) можно использовать для определения активности других агентов, а также соединений по данному изобретению. Кроме того, такие анализы обеспечивают возможность сравнения активностей соединения формулы I (или других агентов, описанных в данной заявке) друг с другом и с активностями других известных соединений. Результаты этих сравнений полезны для определения уровней дозировок у млекопитающих, включая людей, для лечения таких заболеваний.

В следующие далее протоколы, несомненно, могут быть внесены изменения специалистами в данной области техники.

Анализ цельной крови человека в отношении необратимого ингибирования MPO

Для измерения ингибирования активности MPO в биологической системе в настоящем изобретении проводили биологические анализы с использованием цельной крови человека, собранной в обработанные гепарином пробирки у добровольцев-людей, которые не были подвергнуты лечению (APP Pharmaceuticals, LLC, № по каталогу NDC (Национальный код лекарственных средств) #63323-047-10, #4710). Отбирали аликвоты крови и обрабатывали ингибитором MPO в разных концентрациях или разбавителем в качестве контроля и совместно обрабатывали бактериальным липополисахаридом (LPS, InVivogen) или без него с целью стимулирования лейкоцитов крови к одновременному генерированию H_2O_2 (необходимого субстрата MPO) и высвобождению MPO. Через 4 часа инкубирования при комнатной температуре собирали фракцию плазмы крови после центрифугирования при 2000×g и 4°C.

Фракцию плазмы делили на две части: для анализа общей MPO и активной MPO. Общее содержание MPO определяли, используя стандартный ELISA (иммуноферментный твердофазный анализ) сэндвич-типа (захватывающие и детектирующие антитела: Cell Sciences, № по каталогу HP9048, и Cell Sciences, № по каталогу HM2164, клон 266-6K1), и осуществляли расчет относительно стандартной кривой для очищенной MPO (миелопероксидаза; Calbiochem, № по каталогу 475911), которую готовили путем разведения в аутологичной донорской плазме. Активность MPO определяют посредством захвата общей MPO из плазмы с использованием стадии захвата, как описано для вышеупомянутого метода ELISA. После промывки для удаления несвязанного материала плазмы, включая непрореагировавший ингибитор MPO, добавляли субстраты для проведения реакции с MPO (H_2O_2 (2 мкМ) и Amplex Red (Invitrogen, № по каталогу A12222)) и определяли значение V_{max} для MPO-катализируемого превращения субстрата Amplex Red в резоруфин, измеряя возрастание флуоресценции (возбуждение при 530 нм, излучение при 580 нм) с использованием флуоресцентного планшетного ридера в кинетическом анализе. Активность MPO в захваченном материале сравнивали с активностью, измеренной по стандартной кривой для очищенной MPO (миелопероксидаза; Calbiochem, № по каталогу 475911), которую готовили в аутологичной донорской плазме. Долю "активной" миелопероксидазы для каждого образца рассчитывали из соотношения между активной миелопероксидазой в анализе с использованием Amplex Red и общей миелопероксидазой из ELISA для каждого образца. Затем, для определения величины IC_{50}, зависимость активности MPO от концентрации соединения отражали на графике в виде кривой доза-ответ.

Анализ с использованием hERG

Все тестирования проводили на клетках яичников китайского хомячка (CHO), трансфицированных геном hERG (специфических калиевых каналов сердца человека), приобретенных у Millipore (рекомбинантная клеточная линия hERG-CHO CYL3038, PrecisION). Клеточную линию выращивали в DMEM/F-12 (модифицированная Дульбекко среда Игла с питательной смесью Хэма F12), GlutaMAX™ с 10% фетальной телячьей сыворотки, 1% пенициллина-стрептомицина, 1% генетицина и 1% 1M буферного раствора на основе HEPES (2-гидроксиэтил-пиперазин-2-этансульфоновая кислота) и поддерживали при приблизительно 37°C в увлажненной атмосфере, содержащей 5% диоксида углерода. Клетки пересевали

каждые 3-5 суток с учетом конфлюентности. В день проведения эксперимента собирали клетки с конфлюентностью 50-80% из культурального флакона площадью 175 $см^2$, используя Detachin™. Через 10 минут воздействия Detachin™ при 37°C клетки центрифугировали в течение 1 минуты при скорости 1000 об./мин. Супернатант удаляли и клеточный осадок после центрифугирования ресуспендировали в 5-8 мл бессывороточной среды, содержащей 2,5% 1M раствора HEPES, помещали на мешалку Qstirrer™ и оставляли для восстановления. По истечении примерно 30-минутного периода восстановления начинали эксперименты.

Получали и регистрировали ток hERG, используя автоматизированную систему Qpatch HT™ (как описано в Kutchinsky J., Friis S., Asmild M., et al. Characterization of potassium channel modulators with QPatch automated patch-clamp technology: system characteristics and performance. Assay Drug Dev. Technol., 2003, 1(5): 685-93). Суспендированные клетки из Qstirrer™ переносили в 48 отдельных регистрирующих камер на Qplate 48™, содержащих внеклеточный регистрирующий физиологический раствор следующего состава (в мМ): NaCl - 138; KCl - 5,3; $CaCl_2$ - 1,3; $MgCl_2$ - 0,5; глюкоза - 5,6; HEPES - 5; $MgSO_4$ - 0,4; KH_2PO_4 - 0,44; $NaHCO_3$ - 4,2; Na_2HPO_4 - 0,34; и pH подводили до 7,4 ± 0,1, используя NaOH. В качестве внутриклеточного регистрирующего физиологического раствора использовали смесь следующего состава (в мМ): KCl - 130; $MgCl_2$ - 1; HEPES - 10; Mg-АТФ - 5; и EGTA (этиленгликольтетрауксусная кислота) - 5; и pH подводили до 7,2 ± 0,1, используя KOH. Мембранные токи регистрировали при комнатной температуре.

Ток hERG получали, начиная с исходного потенциала -80 мВ с шагом напряжения +30 мВ в течение 1 секунды, с последующим линейным изменением обратно к -80 мВ со скоростью 0,55 мВ/мс. Тестовые импульсы подавали с частотой 0,25 Гц. На каждой клетке исследовали до 4 разных концентраций включительно, причем каждая экспозиция длилась 5 минут или до тех пор, пока не наблюдали устойчивые эффекты. В отдельной серии экспериментов определяли полное соотношение концентрация-ответ и IC_{50} для положительного контроля, цизаприда (Jules C. Hancox, Mark J. McPate, Aziza El Harchi, Yi Hong Zhang, The hERG potassium channel and hERG screening for drug-induced torsades de pointes, Pharmacology & Therapeutics, volume 119, issue 2, august 2008, pages 118-132).

Используя для анализа программное обеспечение Qpatch от Sophion, измеряли амплитуду пика выходящего тока hERG непосредственно после реполяризующего линейного изменения. Амплитуду тока определяли посредством усреднения последних 5 пиков тока для каждого условия исследования. Процент ингибирования определяли, рассчитывая отношение тока, измеренного в стационарном состоянии в присутствии тестируемого изделия ($I_{\text{тестируемое изделие}}$), к контрольному току ($I_{\text{контроль}}$), и выражали в виде: % ингибирования = 100 - ($I_{\text{тестируемое изделие}}/I_{\text{контроль}}$)*100. По возможности строили кривую зависимости ответа от концентрации и с использованием программного обеспечения Qpatch проводили подгонку данных для определения IC_{50}.

В приведенной ниже табл. 1 показана ингибирующая миелопероксидазу активность в цельной крови человека для соединения по изобретению (в виде соли HCl) и для некоторых соединений из примеров, описанных в принадлежащей тому же правообладателю заявке WO 2013/068875, опубликованной 16 мая 2013 года, в соответствии с описанным выше анализом. Помимо этого приводится активность в отношении hERG и конечное рассчитанное терапевтическое соотношение hERG IC_{50} / MPO IC_{50} (IC_{50} для hERG)/(IC_{50} для MPO) для этих соединений.

Неожиданно обнаружено, что соединение примера 1 из этой патентной заявки имеет преимущество с точки зрения соотношения hERG IC_{50} / MPO IC_{50}, ассоциируемое с сердечно-сосудистой безопасностью, по сравнению с соединениями C, D и E (описанными в WO 2013/068875), как более полно описано ниже.

В приведенной ниже табл. 1 значение MPO IC_{50} (определенное в соответствии с приведенным выше анализом на цельной крови человека для необратимого ингибирования MPO) отражает концентрацию соединения, необходимую для необратимого ингибирования 50% активной MPO, экзогенно присутствующей в образце тестируемой крови человека. Соединение A (из примера 1 в этой патентной заявке) эффективно ингибирует MPO в плазме крови человека в более низкой концентрации, чем любое из соединений D или E, и поэтому считается более сильнодействующим, позволяя снизить концентрацию в плазме крови, необходимую для получения заданной терапевтической пользы. В дополнение к этому следует отметить, что метилфенильные аналоги (соединения B и D) хлорфенильных заместителей (соединения F и C) имеют более высокие значения MPO IC_{50}. Так что удивительно, что метилфенильный аналог (соединение A) имеет более низкое значение MPO IC_{50} по сравнению с хлорфенильным аналогом (соединением E).

Кроме того, значительной и нежелательной активностью, не имеющей отношения к мишени, для любого действующего системно терапевтического агента является ингибирование калиевого канала hERG. Неблагоприятный эффект ингибирования этого ионного канала хорошо известен специалистам в данной области техники, поскольку он ассоциирован с пролонгированием QTc-интервала на электрокардиограмме (ЭКГ) пациента и возможно с инициированием "трепетания-мерцания (torsades de pointes)" и желудочковой тахикардии (Bernard Fermini, Anthony A. Fossa, Pre-Clinical Assessment of Drug-Induced QT

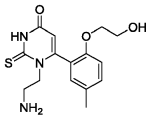
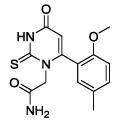
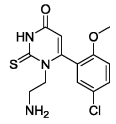
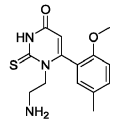
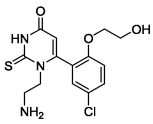
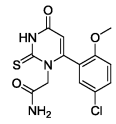
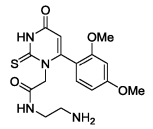
Interval Prolongation. Current Issues and Impact on Drug Discovery, Annual Reports in Medicinal Chemistry, Academic Press, 2004, volume 39, pages 323-334). Более высокое значение соотношения между концентрациями, необходимыми для ингибирования hERG и миелопероксидазной активности (в этом случае, hERG IC_{50} / MPO IC_{50}), обеспечивает преимущество, поскольку позволяет безопасно ингибировать MPO в большей степени до того, как будут обнаружены связанные с hERG неблагоприятные для сердечно-сосудистой системы эффекты. Это соотношение пропорционально терапевтическому индексу (концентрации в плазме крови, при которой наблюдается неблагоприятный эффект, деленной на концентрацию в плазме крови, при которой достигается терапевтическая польза). Терапевтический индекс, связанный с ингибирующей активностью в отношении hERG, представляет собой особенно важное преимущество в случае ингибитора миелопероксидазы, поскольку ожидается, что важной целевой группой будут пациенты, которые недавно перенесли сердечный приступ и поэтому будут более восприимчивы к сердечной аритмии и ее неблагоприятным последствиям. По этой причине особенно предпочтительно вводить лекарственное средство с профилем высокой сердечно-сосудистой безопасности пациентам, страдающим от сердечнососудистого заболевания или коронарного заболевания сердца.

Существенным преимуществом кандидата в ингибиторы миелопероксидазы является более высокое соотношение между hERG IC_{50} и MPO IC_{50}, чтобы максимально повысить соотношение между возможной терапевтической пользой и безопасностью. В табл. 1, соединение A (из примера 1 в этой патентной заявке) имеет соотношение hERG IC_{50}/MPO IC_{50}, равное 5515 (hERG IC_{50} составляет 3033 мкМ; получали экстраполированием от 9% при 300 мкМ: [300 мкМ × ((100 - 9)/9)]), по сравнению с таковым для соединения D (соотношение hERG IC_{50}/MPO IC_{50} равно 162; hERG IC_{50} составляет 160 мкМ: подгонка к кривой, включающей 40% при 100 мкМ и 63% при 300 мкМ) и соединения E (соотношение hERG IC_{50}/MPO IC_{50} равно 260; hERG IC_{50} составляет 335 мкМ, получали экстраполированием от 23% при 100 мкМ: [100 мкМ × ((100 - 23)/23)]). (Метод экстраполяции см. в "Optimizing Higher Throughput Methods to Assess Drug-Drug Interactions for CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, rCYP2D6 and CYP3A4 In Vitro Using a Single Point IC50". J. Biomol. Screen. (2002), 7: 373). Согласно аналогичному анализу соединение F имеет соотношение hERG IC_{50}/MPO IC_{50}, равное 900 (hERG IC_{50} составляет 1700 мкМ; получали экстраполированием от 15% при 300 мкМ: [300 мкМ × ((100 - 15)/15)]); соединение C имеет соотношение hERG IC_{50}/MPO IC_{50}, равное 41 (hERG IC_{50} составляет 33 мкМ; подгонка к кривой, включающей 49% при 30 мкМ и 75% при 100 мкМ); а соединение G имеет соотношение hERG IC_{50}/MPO IC_{50}, равное 1500 (hERG IC_{50} составляет 900 мкМ; получали экстраполированием от 25% при 300 мкМ: [300 мкМ × ((100 - 25)/25)]). (Результаты для соединения B не были определены)

Таким образом, соединение A (Пример 1 в этой патентной заявке) имеет ожидаемое 34-кратное соотношение безопасности hERG IC_{50} / MPO IC_{50} по сравнению с соединением D (т.е. 5515/162) и 21-кратное соотношение безопасности hERG IC_{50} / MPO IC_{50} по сравнению с соединением E (т.е. 5515/260). Такая исключительно высокая селективность в отношении ингибирования MPO по сравнению с активностью в отношении hERG для соединения A дает неожиданно значительное предсказуемое преимущество с точки зрения сердечно-сосудистой безопасности, в особенности для соединения, которое предполагается для введения пациентам с состоянием сердечнососудистой системы.

Аналогичным образом, соединение A (из примера 1 в этой патентной заявке) имеет ожидаемое соотношение безопасности hERG IC50/MPO IC_{50}, в 135 раз (т.е. 5515/41) превышающее таковое для соединения C, соотношение безопасности hERG IC_{50}/MPO IC_{50}, в 6,1 раза (т.е. 5515/900) превышающее таковое для соединения F, и соотношение безопасности hERG IC_{50}/MPO IC_{50}, в 3,7 раза (т.е. 5515/1500) превышающее таковое для соединения G.

Таблица 1. Терапевтический индекс: активность в отношении MPO/hERG

Соединение	№ примера	Структура	MPO IC_{50} в цельной крови человека	hERG IC_{50} (определенная аппроксимацией кривой или *полученная экстраполированием* от % показанной активности)	Терапевтич. индекс: hERG IC_{50}/MPO IC_{50}
A, пример 1	См. пример 1 в этой патентной заявке		0,55 мкМ	*3033 мкМ* (9% при 300 мкМ)	5515
B	Пример 164 из WO 13068875		2,5 мкМ	Нет данных	Нет данных
C	Пример 63 из WO 13068875		0,80 мкМ	33 мкМ (49% при 30 мкМ) (75% при 100 мкМ)	41
D	Пример 159 из WO 13068875		0,99 мкМ	160 мкМ (40% при 100 мкМ) (63% при 300 мкМ)	162
E	Пример 427 из WO 13068875		1,3 мкМ	*335 мкМ* (23% при 100 мкМ)	260
F	Пример 1 из WO 13068875 2-(6-(5-хлор-2-метокси-фенил)-4-оксо-2-тиоксо-3,4-дигидро-пиримидин-1(2H)-ил)ацетамид		1,9 мкМ	1700 мкМ (15% при 300 мкМ)	900
G	Пример 241 из WO 13068875 N-(2-аминоэтил)-2-[6-(2,4-диметокси-фенил)-4-оксо-2-тиоксо-3,4-дигидро-пиримидин-1(2H)-ил]ацетамид		0,60 мкМ	900 мкМ (25% при 300 мкМ)	1500

Анализ активности MPO с использованием Amplex Red

Пероксидазную активность MPO измеряли, проводя мониторинг образования резоруфина, получающегося в результате окисления Amplex Red (10-ацетил-3,7-дигидроксифеноксазина; Invitrogen, Carlsbad, CA) под действием MPO (Gomes, Fernandes и др., 2005). Анализируемые смеси (общим объемом 100 мкл) содержали 50 мМ NaPi, pH 7,4, 150 мМ NaCl, 1 мМ DTPA (диэтилентриамин-пентауксусная кислота), 2% DMSO, 2 мкМ H_2O_2, 30 мкМ Amplex Red, и реакцию инициировали путем добавления 100 пМ раствора MPO (очищенной из многоядерных лейкоцитов человека и приобретенной у Calbiochem/EMD Biosciences, Gibbstown, NJ). Все анализы проводили в 96-луночных черных полистироловых планшетах с половинным объемом лунок с несвязывающей поверхностью (Corning) и мониторинг образования резоруфина (возбуждение при 530 нм, излучение при 580 нм) осуществляли каждые 20 с на спектрофотометре для микропланшетов Spectramax M2 (Molecular Devices, Palo Alto, CA), оснащенном программным обеспечением Softmax Pro (Molecular Devices, Palo Alto, CA). Реакционные смеси для определения скорости фоновой реакции содержали все используемые для анализа компоненты и 4 мкл бычьей каталазы (Sigma) в количестве 500 единиц/мл 50 мМ раствора KPi, pH 7,0. Скорость фоновой реакции вычитали из данных для каждой реакционной кривой. Все данные анализировали, используя анализ методом нелинейной регрессии в Microsoft Excel и Kaleidagraph (программное обеспечение Synergy).

Чтобы определить эффективность ингибирования ($k_{инакт.}/K_I$) в отношении MPO, реакционные кривые, соответствующие первым 600 с, подгоняли к уравнению 1, где V_o представляет собой начальную скорость в RFU(относительные единицы флуоресценции)/с, а t представляет собой время в секундах, получая константу скорости первого порядка для инактивации фермента ($k_{набл.}$) для каждой концентрации ингибитора.

$$Продукт = \frac{V_0}{k_{набл.}}\left[1 - \exp(-k_{набл.}t)\right] \qquad (1)$$

Уравнение 1 представляет собой вариант стандартного уравнения для ингибирования с медленным установлением равновесия, когда скорость в стационарном состоянии (V_s) устанавливается равной нулю. Каждое значение $k_{набл.}$ корректировали с учетом самоинактивации фермента, вычитая значение $k_{набл.}$ для реакции в отсутствие ингибирования. Затем строили кривую зависимости скорректированных значений $k_{набл.}$ от концентрации ингибитора [I] и подгоняли к уравнению 2:

$$k_{набл.} = \frac{k_{инакт.}[I]}{K_I + [I]} \qquad (2),$$

где $k_{инакт.}$ соответствует максимальной скорости инактивации, а K_I представляет собой концентрацию ингибитора, которая дает половину от скорости максимальной инактивации (Copeland, 2005).

Анализ активности тиреоидной пероксидазы (TPO) с использованием Amplex Red

Активность TPO измеряли, используя тот же анализ, что и для MPO, с 2 мкМ H_2O_2, 30 мкМ Amplex Red, и реакции инициировали добавлением 1,3 мкг белка из мембран клеток HEK293 (почки человеческого эмбриона), экспрессирующих TPO человека (hTPO). кДНК, кодирующую 933 аминокислоты полноразмерной TPO человека, клонировали в индуцибельный экспрессирующий вектор pcDNA5/frt/to (InVitrogen), отбирали стабильные 293 клона, используя гигромицин (100 мкг/мл) и бластицидин (15 мкг/мл) в DMEM с 10% FBS (фетальная телячья сыворотка). Когда клетки достигали 50-60% конфлюэнтности, экспрессию TPO индуцировали в среде, содержащей все из перечисленного выше плюс доксициклин (10 мкг/мл) и гемин (5 мкг/мл) (Sigma). Мембраны выделяли из HEK293hTPO, собирая такие клетки в PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор). Клетки собирали центрифугированием при 1000×g в течение 5 мин при 4°C, ресуспендировали в буфере для гомогенизации (1 мМ бикарбонат натрия, pH 7,4), включающем в себя ингибитор протеаз (Roche), не содержащий этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA), и инкубировали на льду в течение 10 мин, затем подвергали гомогенизации с использованием гомогенизатора Даунса. Ядра и нелизированные клетки удаляли посредством центрифугирования при 1000×g в течение 10 мин при 4°C. Затем супернатант центрифугировали при 25000×g в течение 20 мин при 4°C. Осадок после центрифугирования ресуспендировали в буфере для гомогенизации и снова центрифугировали при 25000×g в течение 20 мин при 4°C. Полученный после центрифугирования осадок ресуспендировали в буфере для хранения (50 мМ трис, pH 7, 150 мМ NaCl), содержащем ингибиторы протеаз, описанные выше. Концентрацию мембран определяли, используя анализ белка с применением бицинхониновой кислоты (BCA Protein Assay; Pierce). Активность TPO измеряли, используя анализ с применением Amplex Red, как описано выше. Отбирали аликвоты с учетом активности, соответственно, и хранили при -80°C.

Значения IC_{50} определяли путем построения графика зависимости начальных скоростей (соответствующих первым 200 сек для каждой реакционной кривой), выраженных в процентах ингибирования относительно реакции в отсутствие ингибирования (DMSO), как функции от концентрации ингибитора. Данные подгоняли к уравнению 3:

$$y = \frac{100}{1 + (x / IC_{50})^z} \qquad (3),$$

где IC_{50} представляет собой концентрацию ингибитора при ингибировании на 50%, а z представляет собой коэффициент Хилла (наклон кривой в точке ее перегиба).

Ссылки

Copeland R. A. (2005). Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery. A Guide for Medicinal Chemists and Pharmacologists. Hoboken, Wiley.

Gomes A., E. Fernandes, et al. (2005). "Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species". J. Biochem. Biophys. Methods, 65(2-3): 45-80.

"Введение" соединения формулы I (или его комбинаций) можно осуществлять любым способом, посредством которого это соединение (или его комбинации) доставляется системно и/или местно. Эти способы включают пероральные пути, парентеральные, интрадуоденальные пути, трансбуккальные, интраназальные, местные и так далее. Обычно соединение формулы I (или его комбинации) вводят перорально, однако можно использовать и парентеральное введение (например, внутривенное, внутримышечное, подкожное или интрамедуллярное), например, в случаях, когда пероральное введение не соответствует целевому назначению, или когда пациент не способен проглотить лекарственное средство.

Пероральная суточная доза соединения формулы I для введения пациентам-людям может находиться в диапазоне от 1 мг до 5000 мг в зависимости, несомненно, от способа и частоты введения, болезненного состояния и возраста и состояния пациента и так далее. Можно использовать пероральную суточ-

ную дозу в диапазоне от 3 мг до 2000 мг. Другая пероральная суточная доза находится в диапазоне от 5 мг до 1000 мг. Для удобства соединение формулы I можно вводить в стандартной лекарственной форме. При желании, стандартную лекарственную форму можно использовать многократно в течение одних суток для увеличения общей суточной дозы. Стандартная лекарственная форма, например, может представлять собой таблетку или капсулу, содержащую примерно 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 500 или 1000 мг соединения формулы I. Общую суточную дозу можно вводить в виде единичной дозы или разделенных доз, и на усмотрение врача она может находиться вне пределов типичных диапазонов, приведенных в данном описании.

Суточная доза соединения формулы I для инфузионного введения пациентам-людям может находиться в диапазоне от 1 до 2000 мг в зависимости, несомненно, от способа и частоты введения, болезненного состояния и возраста и состояния пациента и так далее. Другая инфузионная суточная доза находится в диапазоне от 5 до 1000 мг. Общую суточную дозу можно вводить в виде единичной дозы или разделенных доз, и на усмотрение врача она может находиться вне пределов типичных диапазонов, приведенных в данном описании.

Кроме того, соединение формулы I можно вводить животным, не являющимся людьми, например, в случае подробно описанных выше показаний. Точная вводимая дозировка каждого активного ингредиента будет варьировать в зависимости от любого количества факторов, включая, без ограничения, тип животного и тип подвергаемого лечению болезненного состояния, возраст животного и путь(и) введения.

Используют такую дозировку комбинируемых фармацевтических агентов, предназначенных для применения в сочетании с соединением формулы I, которая является эффективной для подлежащего лечению показания. Такие дозировки могут быть определены в стандартных анализах, таких как анализы, упомянутые выше и приведенные в данном описании. Комбинируемые агенты можно вводить одновременно или последовательно в любом порядке.

Эти дозировки рассчитаны исходя из среднестатистического субъекта-человека массой примерно от 60 до 70 кг. Врач сможет легко определить дозы для субъектов, масса которых выходит за пределы этого диапазона, таких как младенцы и люди пожилого возраста.

Режимы дозирования можно корректировать для обеспечения оптимального желаемого ответа. Например, можно вводить единственный болюс, можно вводить несколько разделенных доз в течение некоторого периода времени, или дозу можно пропорционально уменьшать или увеличивать в соответствии с требованиями терапевтической ситуации. Особенно предпочтительно изготовление парентеральных композиций в стандартной лекарственной форме для облегчения введения и единообразия дозирования. Термин "стандартная лекарственная форма" использованный в данном описании, относится к физически дискретным единицам, пригодным в качестве однократных дозировок для подлежащих лечению субъектов-млекопитающих; при этом каждая единица содержит предварительно заданное количество активного соединения, рассчитанное с целью получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтически приемлемым носителем. Технические требования для стандартных лекарственных форм по изобретению обусловлены (а) уникальными характеристиками химиотерапевтического агента и конкретным терапевтическим или профилактическим эффектом, который должен быть достигнут, и (б) ограничениями в данной области техники, присущими приготовлению смесей такого активного соединения для лечения чувствительного состояния у индивидуумов, и непосредственно зависят от них.

Таким образом, специалисту в данной области с учетом приведенного в данной заявке описания будет понятно, что дозу и режим введения корректируют в соответствии с методами, хорошо известными в области терапии. То есть, можно легко установить максимальную переносимую дозу, а также можно определить эффективное количество, предоставляющее явную терапевтическую пользу пациенту, сообразно временным требованиям к введению каждого агента с целью предоставления пациенту явной терапевтической пользы. Соответственно, несмотря на то, что в данном описании в качестве примеров приведены определенные дозовые диапазоны и режимы введения, эти примеры никоим образом не ограничивают дозу и режим введения, которые могут быть предложены пациенту при осуществлении на практике настоящего изобретения.

Следует отметить, что величины дозировок могут варьировать в зависимости от типа и тяжести подлежащего облегчению состояния и могут включать однократные или многократные дозы. Также следует понимать, что для любого конкретного субъекта со временем следует проводить корректировку специальных режимов введения с учетом индивидуальных потребностей и профессионального суждения лица, осуществляющего введение или контролирующего введение композиций, и что диапазоны дозировок, приведенных в данном описании, являются всего лишь типичными и не предназначены для ограничения объема или практического применения заявленной композиции. Например, дозы могут быть скорректированы с учетом фармакокинетических или фармакодинамических параметров, которые могут включать клинические эффекты, такие как токсические эффекты, и/или полученные в лабораторных условиях показатели. Таким образом, настоящее изобретение охватывает индивидуальное для пациента увеличение дозы, которое определяет специалист в данной области. Определение надлежащих дозировок и режимов для введения химиотерапевтического агента хорошо известно в релевантной области техники,

и понятно, что оно будет выполнено специалистом в данной области при условии ознакомления с рекомендациями, изложенными в данном описании.

Настоящее изобретение также включает применение соединения формулы I для использования в качестве лекарственного средства (как например, в виде содержащей стандартную дозировку таблетки или содержащей стандартную дозировку капсулы). В другом воплощении настоящее изобретение включает применение соединения формулы I для приготовления лекарственного средства (как например, в виде содержащей стандартную дозировку таблетки или содержащей стандартную дозировку капсулы) для лечения одного или более чем одного из состояний, индентифицированных ранее в приведенных выше разделах, в которых обсуждаются способы лечения.

Фармацевтическую композицию по изобретению можно изготавливать, упаковывать или продавать в нерасфасованной форме, в виде однократной стандартной дозы или в виде множества однократных стандартных доз. Как использовано в данном описании, "стандартная доза" представляет собой дискретное количество фармацевтической композиции, содержащей предварительно заданное количество активного ингредиента. Как правило, количество активного ингредиента равно дозировке активного ингредиента, которая будет введена субъекту, или соответствующей части такой дозировки, в частности, например, половине или одной трети такой дозировки.

Соединение формулы I (или его комбинации) можно вводить в виде композиции, содержащей фармацевтически эффективное количество соединения формулы I (или его комбинаций), вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми эксципиентами, в том числе носителями, наполнителями и разбавителями. Термин "эксципиент", использованный в данном описании, означает любое вещество, которое само не является терапевтическим агентом, применяемое в качестве разбавителя, адъюванта или наполнителя для доставки терапевтического агента субъекту, или добавляемое к фармацевтической композиции для улучшения ее свойств в случае обработки или хранения либо для обеспечения формирования или содействия формированию твердой лекарственной формы, такой как таблетка, капсула, или раствора либо суспензии, подходящих для перорального, парентерального, интрадермального, подкожного или местного применения. Эксципиенты могут включать, посредством иллюстрации и без ограничения, разбавители, разрыхлители, связующие вещества, адгезивные средства, увлажняющие агенты, полимеры, смазывающие вещества, глиданты, стабилизаторы, вещества, добавляемые для маскировки или нейтрализации неприятного вкуса или запаха, корригенты, красители, ароматизаторы и вещества, добавляемые для улучшения внешнего вида композиции. Приемлемые эксципиенты включают (но не ограничиваются этим) стеариновую кислоту, стеарат магния, оксид магния, натриевую и кальциевую соли фосфорной и серной кислот, карбонат магния, тальк, желатин, аравийскую камедь, альгинат натрия, пектин, декстрин, маннит, сорбит, лактозу, сахарозу, крахмалы, желатин, вещества на основе целлюлозы, такие как сложные эфиры целлюлозы и алкановых кислот и сложные алкиловые эфиры целлюлозы, легкоплавкий воск, масло какао или порошок, полимеры, такие как поливинил-пирролидон, поливиниловый спирт и полиэтиленгликоли, и другие фармацевтически приемлемые вещества. Примеры эксципиентов и их применения можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition (Lippincott Williams & Wilkins, 2000). Выбор эксципиента в большой степени будет зависеть от таких факторов, как конкретный способ введения, влияние эксципиента на растворимость и стабильность и тип лекарственной формы.

На основе соединения формулы I (или комбинаций на его основе) могут быть изготовлены композиции для перорального, трансбуккального, интраназального, парентерального (например, внутривенного, внутримышечного или подкожного) или ректального введения или в форме, подходящей для введения посредством ингаляции. На основе соединений по изобретению также могут быть изготовлены композиции для длительной доставки.

Способы изготовления различных фармацевтических композиций, содержащих определенное количество активного ингредиента, известны или будут очевидны, с учетом данного описания, специалистам в этой области техники. В качестве примеров способов изготовления фармацевтических композиций см. Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition (Lippincott Williams & Wilkins, 2000).

Фармацевтические композиции по изобретению могут содержать 0,1-95% соединения(ий) по данному изобретению, предпочтительно 1-70%. В любом случае вводимая композиция будет содержать количество соединения(ий) по изобретению в количестве, эффективном для лечения заболевания/состояния у подвергаемого лечению субъекта.

Поскольку настоящее изобретение имеет аспект, относящийся к лечению заболеваний/состояний, описанных в данной заявке, комбинацией активных ингредиентов, которые можно вводить по отдельности, то данное изобретение также относится к комбинированию отдельных фармацевтических композиций в форме набора. Такой набор включает в себя две отдельные фармацевтические композиции: соединение формулы I и второе соединение, как описано выше. Набор содержит средство для размещения в нем отдельных композиций, такое как контейнер, секционный флакон или секционный пакет из фольги. Обычно набор содержит указания для введения отдельных компонентов. Форма набора имеет особое преимущество тогда, когда отдельные компоненты предпочтительно вводят в разных лекарственных формах (например, пероральной и парентеральной), вводят с разными интервалами дозирования или когда лечащим врачом предписано провести титрование индивидуальных компонентов комбинации.

Примером такого набора является так называемая блистерная упаковка. Блистерные упаковки хорошо известны в упаковочной индустрии и широко используются для упаковки фармацевтических стандартных лекарственных форм (таблеток, капсул и тому подобного). Блистерные упаковки обычно состоят из листа относительно плотного материала, покрытого пленкой предпочтительно из прозрачного пластичного материала. В процессе упаковывания в полимерной пленке формируют ячейки. Эти ячейки имеют размер и форму таблеток или капсул, подлежащих упаковыванию. Далее таблетки или капсулы помещают в эти ячейки, и лист относительно плотного материала герметично спаивают с полимерной пленкой с лицевой стороны этой пленки, находящейся на противоположной стороне по отношению к расположению сформированных ячеек. В результате, таблетки или капсулы оказываются герметично укупоренными в этих ячейках между полимерной пленкой и данным листом. Предпочтительно, прочность листа является такой, что таблетки или капсулы можно удалять из блистерной упаковки путем надавливания вручную на ячейки, в результате чего в листе в месте ячейки образуется отверстие. Затем таблетку или капсулу можно извлечь через указанное отверстие.

При желании к набору может быть придана памятка, например, в виде чисел, наряду с таблетками или капсулами, при этом данные числа соответствуют дням в схеме лечения, в которые таблетки или капсулы, отмеченные таким образом, следует принимать. Другим примером такой памятки является календарь, отпечатанный на карточке, например, как приведено ниже, "первая неделя: понедельник, вторник и т.д., ... вторая неделя: понедельник, вторник" и т.д. Другие варианты памяток будут очевидны. "Суточная доза" может представлять собой одну таблетку или капсулу, либо в данные сутки необходимо принимать несколько пилюль или капсул. Кроме того, суточная доза соединения формулы I может состоять из одной таблетки или капсулы, в то время как суточная доза второго соединения может состоять из нескольких таблеток или капсул, и наоборот. Это должно быть отражено в памятке.

В другом конкретном воплощении изобретения предложен диспенсер, сконструированный для последовательного дозирования суточных доз в порядке их предполагаемого применения. Предпочтительно, чтобы диспенсер был снабжен памяткой, чтобы дополнительно способствовать соблюдению режима терапии. Примером такой памятки является механический счетчик, показывающий количество суточных доз, которые введены. Другим примером такой памятки является питающаяся от батарейки микросхема памяти, соединенная с жидкокристаллической индикаторной панелью или снабженная звуковым сигналом напоминания, которая, например, считывает дату, когда была принята последняя суточная доза, и/или напоминает субъекту, когда следует принимать следующую дозу.

Кроме того, поскольку настоящее изобретение имеет аспект, относящийся к лечению заболеваний/состояний, описанных в данной заявке, комбинацией активных ингредиентов, которые можно вводить совместно, то данное изобретение также относится к комбинированию отдельных фармацевтических композиций в разовой лекарственной форме, такой как (но не ограничиваясь этим) таблетка или капсула для однократного приема, бислойная или многослойная таблетка или капсула, или посредством применения отдельных компонентов или составных частей таблетки или капсулы.

Активный ингредиент может быть доставлен в виде раствора в водном или неводном разбавителе с добавлением или без добавления дополнительных растворителей, сорастворителей, эксципиентов или агентов комплексообразования, выбранных из фармацевтически приемлемых разбавителей, эксципиентов, наполнителей или носителей.

Типичную внутривенную композицию готовят так, как приведено ниже.

Композиция: внутривенный раствор.

Ингредиент	Количество
Активный ингредиент, растворенный в 5%-ном растворе декстрозы для инъекции, USP (Фармакопея США)	150 мг
5%-ный раствор декстрозы для инъекции, USP	1,0 мл

Раствор указанных выше ингредиентов вводят внутривенно пациенту со скоростью примерно 1 мл в минуту.

На основе активного ингредиента может быть приготовлена композиция в виде твердой дисперсии или в виде самоэмульгирующей системы доставки лекарственных средств (SEDDS) вместе с фармацевтически приемлемыми эксципиентами.

На основе активного ингредиента может быть приготовлена композиция в виде таблетки или капсулы с немедленным высвобождением или модифицированным высвобождением. Альтернативно, активный ингредиент можно доставлять в виде только лишь активного ингредиента, находящегося внутри оболочки капсулы, без дополнительных эксципиентов.

Общие экспериментальные методики

Все химические реактивы, реагенты и растворители приобретали из коммерческих источников, по мере доступности, и использовали без дополнительной очистки. Спектры протонного ядерного магнитного резонанса (^{1}H ЯМР) регистрировали, используя спектрометры Varian при 400 и 500 МГц. Химические сдвиги выражали в частях на миллион в сторону слабого поля от тетраметилсилана. Формы пиков

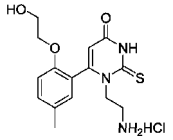
обозначали так, как приведено ниже: s, синглет; d, дублет; t, триплет; q, квартет; m, мультиплет; br s, уширенный синглет. Масс-спектрометрию (MS) проводили с использованием источников химической ионизации при атмосферном давлении (APCI) или ионизации рассеянием электронов (ES). Значения обнаруженной массы (обн. масса), приведенные в таблицах, соответствуют точному значению массы родительской молекулы плюс единица, если не указано иное. Хроматографию на силикагеле проводили, используя главным образом системы Biotage или ISCO, работающие при умеренном давлении, и применяя колонки, предварительно упакованные различными коммерческими поставщиками, включая Biotage и ISCO. Микроанализы выполняли при поддержке Quantitative Technologies Inc., и значения находились в пределах 0,4% от рассчитанных величин. Термины "концентрировали" и "выпаривали" относятся к удалению растворителя при пониженном давлении на роторном испарителе с температурой бани менее 60°C. Сокращение "мин" и "ч" означает "минуты" и "часы", соответственно.

Дифракция рентгеновских лучей на порошке

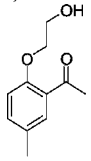
Анализ с применением дифракции рентгеновских лучей на порошке проводили, используя дифрактометр AXS D4 Endeavor от Bruker, оборудованный источником Cu-излучения. Значение щели расходимости устанавливали на 0,6 мм, в то время как во вторичном оптическом устройстве использовали щели с регулируемой шириной. Детектирование дифрагированного излучения выполняли с помощью детектора PSD-Lynx Eye. Значения напряжения и силы электрического тока на рентгеновской трубке устанавливали равными 40 кВ и 40 мА, соответственно. Данные собирали в гониометре Тета-2Тета при длине волны CuKα_1-излучения, равной 1,54056 Å, в диапазоне от 3,0 до 40,0° 2-Тета с использованием размера шага 0,020° и продолжительности шага 0,3 с. Образцы готовили, помещая их в кремниевый низкофоновый держатель для образцов, и вращали в ходе сбора данных. Данные собирали, используя программное обеспечение DIFFRAC Plus от Bruker, а для анализа применяли программное обеспечение EVA Diffract Plus.

Массив данных PXRD (дифракция рентгеновских лучей на порошке) не обрабатывали до проведения поиска пиков. Используя алгоритм поиска пиков в программном обеспечении EVA, отбирали пики с величиной порога 1, а для выполнения предварительного отнесения пиков использовали значение ширины пика 0,3. Результат автоматизированных отнесений контролировали визуально, для обеспечения достоверности, и при необходимости корректировки выполняли вручную. Пики с относительной интенсивностью не менее 3% суммированы в табл. 2. Пики, которые оказались не разрешенными или соответствовали шуму, не отбирали. Типичная ошибка, ассоциированная с положением пика в случае PXRD, утвержденная в USP и JP (Фармакопея Японии), составляет до +/- 0,2° 2-тета.

Пример 1. Гидрохлорид 1-(2-аминоэтил)-6-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-2-тиоксо-2,3-дигидропиримидин-4(1H)-она

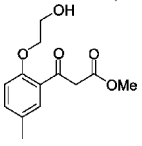


Стадия получения 1. 1-(2-(2-Гидроксиэтокси)-5-метилфенил)этанон



В снабженный рубашкой реактор загружали 1-(2-гидрокси-5-метилфенил)этанон (30,0 г, 0,200 моль, 1,0 экв.) и диметилсульфоксид (DMSO, 210 мл) и полученную смесь перемешивали при 20°C. Добавляли карбонат цезия (200 г, 0,608 моль, 3 экв.), затем 2-хлорэтанол (27,0 мл, 0,40 моль, 2 экв.) и полученную смесь перемешивали при 80°C до завершения реакции. Затем полученную смесь охлаждали до 15°C, после чего добавляли воду (500 мл). Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (500 мл и затем 300 мл). Объединенные органические слои промывали рассолом (300 мл) и затем обрабатывали Darco G-60 (10 г) в течение 1 ч при температуре окружающей среды, после чего фильтровали через целит и концентрировали, получая желаемый продукт, 1-[2-(2-гидроксиэтокси)-5-метил-фенил]этанон (34,35 г, 89%) в виде оранжевого масла. ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7.53-7.48 (m, 1H), 7.29-7.22 (m, 1H), 6.91-6.85 (m, 1H), 4.21-4.15 (m, 2H), 4.02-3.94 (m, 2H), 2.83 (b, 1H), 2.62 (s, 3H), 2.31 (s, 3H). ^{13}C-ЯМР (101 МГц, $CDCl_3$): δ = 200,11, 159,91, 134,18, 130,64, 130,44, 128,26, 113,67, 70,69, 61,23, 31,27, 20,30.

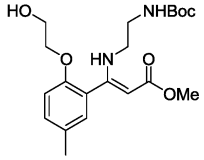
Стадия получения 2. Метил-3-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-3-оксопропаноат



В снабженный рубашкой реактор загружали трет-бутилат калия (48,9 г; 0,427 моль) и тетрагидро-

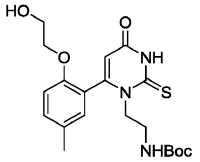
фуран (170 мл) и полученную смесь перемешивали при 20°C, затем добавляли диметилкарбонат (47,1 г; 0,523 моль; 3,0 экв.), что приводило к умеренному экзотермическому эффекту с образованием белой суспензии. К этой смеси добавляли раствор 1-[2-(2-гидроксиэтокси)-5-метил-фенил]этанона (33,84 г; 0,174 моль) в тетрагидрофуране (170 мл) и полученную смесь нагревали до 30°C. Через 3 ч реакционную смесь обрабатывали раствором уксусной кислоты (57,5 мл; 1,00 моль) в воде (338 мл). После перемешивания в течение 1 ч реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (340 мл) и органическую фазу обрабатывали Darco (2,0 г) в течение 1 ч при комнатной температуре, после чего смесь фильтровали через целит, концентрировали, растворяли в изопропиловом спирте (160 мл) и затем концентрировали, получая красное масло. Этот неочищенный продукт далее переносили в изопропиловый спирт (65 мл), охлаждали до 0°C и затем медленно в течение 15 мин добавляли воду (120 мл). После перемешивания в течение 1 ч при 0-5°C добавляли дополнительное количество воды (240 мл) в течение 30 мин и смесь перемешивали в течение 30 мин, после чего полученное твердое вещество собирали фильтрованием, промывали водой (200 мл) и сушили, получая метил-3-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-3-оксопропаноат (37,2 г; 85%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7.69-7.65 (m, 1H), 7.33-7.27 (m, 1H), 6.89-6.83 (m, 1H), 4.16-4.11 (m, 2H), 3.99 (s, 2H), 3.98-3.93 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.53-3.40 (b, 1H), 2.30 (s, 3H). ^{13}C-ЯМР (101 МГц, $CDCl_3$) δ 192.39, 169.63, 156.40, 135.46, 131.31, 130.46, 125.75, 112.39, 70.73, 60.85, 52.55, 50.26, 20.15 млн$^{-1}$, m/z (EI+) для $C_{13}H_{16}O_5$ 253,1 $(M+H)^+$.

Стадия получения 3. (Z)-Метил-3-(2-(трет-бутоксикарбониламино)этиламино)-3-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)акрилат



В снабженный рубашкой реактор добавляли изопропиловый спирт (250 мл), метил-3-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-3-оксопропаноат (36,0 г; 0,143 моль), трет-бутил-2-аминоэтилкарбамат (35,0 г; 0,218 моль) и уксусную кислоту (12,3 мл; 0,215 моль) и смесь нагревали при 84°C. Через 8 ч реакционную смесь охлаждали до 5°C и медленно добавляли воду (830 мл), пока раствор не становился опалесцирующим, затем добавление приостанавливали, позволяя в течение 15 мин образовываться твердым веществам, после чего добавление воды медленно завершали. Полученную суспензию перемешивали при 15°C в течение 3 ч, затем фильтровали и осадок на фильтре промывали водой (290 мл). Твердое вещество сушили в вакуумном сушильном шкафу при 50°C в течение 16 ч, получая (Z)-метил-3-(2-(трет-бутоксикарбониламино)этиламино)-3-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)акрилат (51,96 г; 92%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, d_6-DMSO) δ 8.69-8.52 (m, 1H), 7.18 (dd, J = 8,6; 1,6 Гц, 1H), 7.01-6.91 (m, 2H), 6.83 и 6.45 (b, полное интегрирование = 1H), 4.79 (t, J = 5,3 Гц, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.99 (b, 2H), 3.67 (q, J = 5,3 Гц, 2H), 3.53 (s, 3H), 3.17-2.80 (m, 4H), 2.24 (s, 3H), 1.36 (s, 9H). ^{13}C-ЯМР (101 МГц, d_6-DMSO) δ 169.48, 162.05, 155.61, 152.99, 130.92, 129.80, 129.34, 124.32, 112.21, 82.80, 77.66, 69.84, 59.46, 49.58, 43.20, 40.53, 28.17, 19.91. m/z (EI+) для $C_{20}H_{30}N_2O_6$ 395,3 $(M+H)^+$.

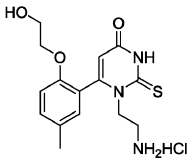
Стадия получения 4. трет-Бутил-2-(6-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-4-оксо-2-тиоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил)этилкарбамат



В снабженный рубашкой реактор загружали бутилацетат (70 мл), (Z)-метил-3-(2-(трет-бутоксикарбониламино)этиламино)-3-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)акрилат (10,00 г; 25,35 моль) и изотиоцианатотриметилсилан (10,0 мл; 70,98 моль). Полученный раствор нагревали до 80°C и перемешивали в течение 8 ч, после чего реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды. Через 12 ч к реакционной смеси в течение 10 мин постепенно добавляли гептан (100 мл). Полученную суспензию нагревали до 40°C и перемешивали в течение 3 ч, после чего охлаждали до 20°C. Через 3 ч твердые вещества выделяли фильтрованием, промывали раствором гептан/бутилацетат (1:1; 50 мл) и оставляли сушиться в течение ночи. Полученные твердые вещества (9,57 г) смешивали с бутилацетатом (60 мл) и смесь перемешивали при 40°C в течение 3 ч, затем охлаждали до 25°C в течение 30 мин и перемешивали в течение 3 ч. Полученные твердые вещества собирали фильтрованием, промывали бутилацетатом (20 мл) и сушили в вакуумном сушильном шкафу при 35°C в течение 24 ч, получая трет-бутил-2-(6-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-4-оксо-2-тиоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил)этилкарбамат (7,75 г; 72,5%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, d_6-DMSO) δ 12.52 (s, 1H), 7.21 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.97 (d, J = 8,6 Гц, 1H), 6.51 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 5.62 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 4.51 (m, 1H), 3.96 (m, 2H), 3.56 (t, J = 5,1 Гц, 2H), 3.47 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 2.86 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 1.27 (s, 9H). ^{13}C-ЯМР (101 МГц, d_6-DMSO) δ 177.53, 159.93, 155.77, 154.89, 152.96, 132.54, 131.00, 130.08, 122.89, 112.76, 109.22, 78.10, 70.44, 59.92,

50.94, 37.75, 28.69, 20.59. m/z (EI+) для $C_{20}H_{27}N_3O_5S$ 42,3 $(M+H)^+$.

Стадия получения 5. Гидрохлорид 1-(2-аминоэтил)-6-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-2-тиоксо-2,3-дигидропиримидин-4(1H)-она



В высушенную круглодонную колбу емкостью 1 л загружали этанол (515 мл) и охлаждали до 0°C, после чего через капельную воронку с перемешиванием в течение 20 мин добавляли ацетилхлорид (160 мл; 2,25 моль). Далее полученный раствор нагревали при 50°C в течение 30 мин и затем охлаждали до температуры окружающей среды. В отдельную круглодонную колбу емкостью 4 л, снабженную механической мешалкой, загружали трет-бутил-2-(6-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-4-оксо-2-тиоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил)этилкарбамат (95,0 г; 0,23 моль) и этанол (515 мл), получая белую суспензию. К суспензии, находящейся в круглодонной колбе емкостью 4 л, постепенно при перемешивании добавляли полученный ранее раствор HCl в круглодонной колбе емкостью 1 л. Полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 20 минут, после чего нагревали до 50°C. Затем после перемешивания в течение 1 ч реакционную смесь оставляли постепенно охлаждаться до температуры окружающей среды и после перемешивания в течение 3 ч к реакционной смеси добавляли этилацетат (550 мл). Полученную суспензию перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 ч, после чего твердые вещества собирали фильтрованием, промывали смесью 1:1 этилацетат/гептан (2,5 л). Выделенное твердое вещество сушили в вакуумном сушильном шкафу при 50°C в течение 20 ч, получая гидрохлорид (1-(2-аминоэтил)-6-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-2-тиоксо-2,3-дигидропиримидин-4(1H)-она (78,78 г; 98%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ: 12.82 (br. s., 1H), 7.95 (br. s., 3H), 7.32 (dd, J = 8,5; 1,5 Гц, 1H), 7.17 (d, J = 1,8 Гц, 1H), 7.10 (d, J = 8,8 Гц, 1H), 5.76 (s, 1H), 4.88 (t, J = 5,0 Гц, 1H), 4.52 (br. s., 1H), 4.06 (t, J = 5,0 Гц, 2H), 3.98-4.04 (m, 1H), 3.64 (d, J = 4,7 Гц, 2H), 2.93-3.01 (m, 1H), 2.86-2.93 (m, 1H), 2.28 (s, 3H); ^{13}C ЯМР (101 МГц, DMSO-d_6) δ 177.2, 159.3, 153.9, 152.7, 132.4, 130.1, 129.8, 121.6, 112.9, 109.3, 70.1, 59.3, 47.0, 35.9, 20.0; m/z (EI+) для $C_{15}H_{19}N_3O_3S$ 322,1 $(M+H)^+$.

Картина дифракции рентгеновских лучей на порошке PXRD для полученного кристаллического продукта представлена на фиг. 1.

Ниже в табл. показан список пиков PXRD* для одного и того же полученного кристаллического продукта.

Таблица 2. Список пиков PXRD* для кристаллического вещества

Угол 2Θ (°)	Относительная интенсивность (%)
8,1	11
9,4	10
10,4	51
11,8	8
15,8	5
16,1	4
16,5	3
17,0	7
18,2	48
18,9	6
21,0	18
21,2	28
21,4	100
22,3	51
22,5	54
22,8	22
22,9	34
23,6	9
23,8	18
24,1	39
24,7	21
25,8	53
26,3	10
27,2	5
27,5	7
27,8	4
28,1	20
28,3	4

28,6	11
29,1	3
29,7	38
30,1	3
30,8	9
31,2	19
31,9	11
32,0	11
32,4	7
32,6	7
34,1	4
34,5	5
34,9	10
35,8	11
36,3	12
36,8	7
37,8	8
38,5	15
39,1	17

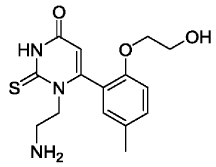
*Примечание: положения характерных пиков выбирали на основе визуального наблюдения формы и интенсивности пиков.

Каждая из всех публикаций, включая, но не ограничиваясь этим, выданные патенты, патентные заявки и журнальные статьи, цитируемые в этой заявке, включена в данное описание посредством ссылки во всей своей полноте.

Несмотря на то, что данное изобретение изложено выше со ссылкой на описанные воплощения, специалистам в данной области техники будет абсолютно понятно, что подробно описанные конкретные эксперименты являются только иллюстрациями изобретения. Следует понимать, что могут быть осуществлены различные модификации без отклонения от сущности изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I



формула I

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Гидрохлоридная соль соединения формулы I.

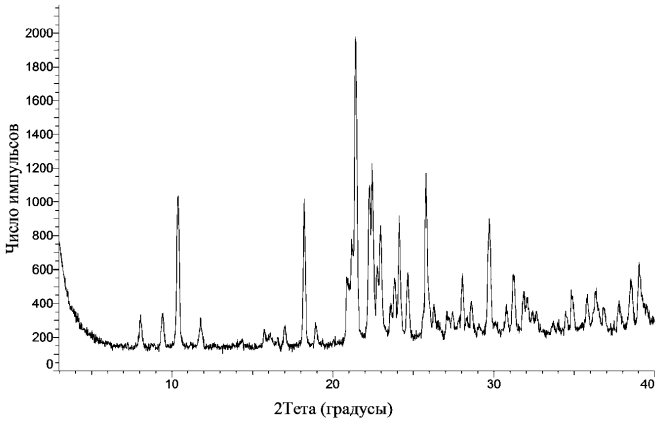
3. Соединение 1-(2-аминоэтил)-6-(2-(2-гидроксиэтокси)-5-метилфенил)-2-тиоксо-2,3-дигидропиримидин-4(1H)-он.

4. Способ лечения состояний сердечно-сосудистой системы, включающий введение млекопитающему, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения по п.1 или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения.

5. Способ по п.4, где состояние сердечно-сосудистой системы представляет собой сердечную недостаточность, застойную сердечную недостаточность, заболевание периферических артерий, легочную гипертензию или васкулит.

6. Способ по п.4, где млекопитающее имеет нестабильную стенокардию, заболевание коронарных артерий, инсульт, фибрилляцию предсердий или имеет перенесенный инфаркт миокарда.

7. Фармацевтическая композиция для ингибирования миелопероксидазы (MPO), содержащая терапевтически эффективное количество соединения по п.1 или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения и фармацевтически приемлемый носитель, наполнитель или разбавитель.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2