

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 034528

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.02.17

(51) Int. Cl. C07D 405/04 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)

(21) Номер заявки
201790147

(22) Дата подачи заявки
2015.07.17

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ВИЧ

(31) 62/025,840

(56) US-A1-20060252764

(32) 2014.07.17

(33) US

(43) 2017.07.31

(86) PCT/US2015/040848

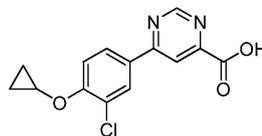
(87) WO 2016/011316 2016.01.21

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СИЭЙЧДИАЙ ФАУНДЭЙШН, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Домингез Селиа, Мунос-Санхуан
Игнасио, Толедо-Шерман Летиция
(US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В патенте предложен определенный вариант терапии, включающий ингибитор кинуренин-3-монооксигеназы и противовирусный агент для лечения нарушений, связанных с ВИЧ. В частности, предложен способ лечения нарушения, связанного с ВИЧ, у субъекта, инфицированного ВИЧ, включающий ведение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы



или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения; с последующим введением указанному субъекту противовирусного агента, выбранного из эмтрицитабина, ралтегравира, дарунавира, тенофовира алафенамида fumarата, эмтрицитабина/тенофовира, тенофовира дизопроксила и их комбинаций.

B1

034528

034528

B1

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки США № 62/025,840, поданной 17 июля 2014 года, которая полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки.

В настоящей заявке предложен определенный вариант терапии нарушений, связанных с ВИЧ, причем указанный вариант включает введение ингибитора кинуренин-3-монооксигеназы вместе с противовирусным агентом.

Воспалительные процессы вносят значительный вклад в прогрессирование и манифестацию широкого спектра заболеваний центральной нервной системы (ЦНС), включая острые и хронические микробные инфекции, аутоиммунные процессы, инсульт и физическую травму ЦНС. Существует множество механизмов, посредством которых воспаление может вызывать неврологическое заболевание, включая продукцию нейротоксических агентов хозяином или микроорганизмами, поступающими извне. Обнаружение таких медиаторов и процессов, которые вызывают продукцию и накопление нейротоксических агентов, является важным этапом разработки рациональных подходов терапии. Двигательные аномалии, когнитивные нарушения и деменция (энцефалопатия) являются частыми осложнениями при инфекции вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), которые могут возникнуть независимо от оппортунистических инфекций ЦНС. В основе неврологических симптомов наиболее часто лежит ВИЧ-энцефалит, воспалительное состояние, которое характеризуется присутствием ВИЧ-инфицированных макрофагов, астроглиозом, побледнением белого вещества мозга и нейрональным повреждением (утратой нейронов и синапсов). Была высказана гипотеза, что продукция токсинов микроглией/макрофагами является возможным механизмом, который отвечает за неврологическую дисфункцию и нейродегенерацию, поскольку ВИЧ локализуется преимущественно в микроглии/макрофагах и поскольку макрофаг-тропные изоляты связаны с неврологическим заболеванием в большей степени, чем Т-клеточно-тропные изоляты. Потенциальные кодируемые хозяином нейротоксины включают агонист NMDA-рецептора - хинолиновую кислоту (QUIN).

QUIN представляет собой эксайтотоксичный метаболит пути триптофан-кинуренин. На моделях воспалительных неврологических нарушений, таких как экспериментальный аллергический энцефалит, бактериальные и вирусные инфекции, глобальная ишемия переднего мозга или спинномозговая травма, уровни QUIN в головном мозге являются чрезвычайно увеличенными. Данная увеличенная концентрация QUIN в головном мозге может быть обусловлена увеличенной циркулирующей концентрацией эксайтотоксина или увеличенным синтезом *de novo* в активированной микроглии или в макрофагах после инфильтрации. QUIN представляет собой агонист подгруппы NMDA-рецепторов, и при непосредственной инъекции в области головного мозга QUIN разрушает большинство тел нейронных клеток, при этом не повреждая волокна и терминалы нейронов. QUIN представляет собой относительно слабый агонист комплекса NMDA-рецептора, содержащего субъединицы NR2C или NR2D, который с большей аффинностью взаимодействует с субъединицей NR2A (7-10 мкмоль) и субъединицей NR2B (100 мкмоль). Нейротоксические эффекты данного соединения исследовали на различных модельных системах *in vitro*, причем были получены различные результаты: хроническое воздействие на органотипические кортикостриарные культуры субмикромольной концентрации QUIN вызывало гистологические признаки патологии; подобные результаты были получены после хронического воздействия на культивируемые нейроны. Существенное увеличение концентраций QUIN наблюдается в спинномозговой жидкости (СМЖ) и крови ВИЧ-инфицированных пациентов и макаков, инфицированных вирусом иммунодефицита обезьян (ВИО), и начинается вскоре после первичной инфекции. Увеличенные уровни QUIN в СМЖ связаны с двигательными дефектами и выделением вируса из ЦНС на ранних бессимптомных стадиях заболевания и коррелируют с количественными показателями нейропсихологических дефектов, стриарной и лимбической атрофии и маркеров интрацеллюлярной иммунной активации (концентрациями в СМЖ β -микроглобулина и неоптерина) у пациентов, которые находятся на поздней стадии. В одном исследовании сообщалось, что у ВИЧ-инфицированных пациентов концентрации QUIN в головном мозге были увеличены в >300 раз до концентраций, которые превышают концентрации в спинномозговой жидкости (СМЖ) в 8,9 раз. Более того, у инфицированных ретровирусом макаков наибольшие ответы пути кинуренина в головном мозге и СМЖ были связаны с индуцированным ретровирусом энцефалитом. Непосредственные измерения количества QUIN в головном мозге макака с энцефалитом, проведенные в крови, продемонстрировали, что почти вся QUIN (98%) синтезировалась местно в головном мозге. В противоположность изменениям в головном мозге, какое-либо отличие в любом системном показателе при сравнении макаков с энцефалитом и без энцефалита отсутствовало. Данные результаты демонстрируют роль индукции индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) в ускорении местного образования QUIN в ткани головного мозга, в частности, в областях энцефалита, нежели чем поступления QUIN в головной мозг из оболочек головного мозга или крови. Фактически, в областях воспаления головного мозга было обнаружено значительное увеличение активностей IDO и двух других ферментов кинуренинового пути метаболизма триптофана, кинуренин-3-монооксигеназы (КМО) и кинурениназы (КYNU). Соответственно, стратегии для уменьшения продукции QUIN, нацеленные на интрацеребральные области, представляют собой потенциальные подходы для терапии.

Патогенез вируса иммунодефицита человека и обезьян характеризуется истощением CD4(+) Т-

клеток и хронической активацией Т-клеток, что в конечном итоге приводит к развитию СПИДа. CD4(+) Т-хелперные (Т(х)) клетки обеспечивают защитный иммунитет и иммунную регуляцию посредством различных функциональных подгрупп иммунных клеток, включая Т(х)1, Т(х)2, Т-регуляторные (Т(рег)) и интерлейкин-17 (ИЛ-17)-секретирующие Т(х) 17-клетки. Поскольку ИЛ-17 может усиливать защитные механизмы организма, направленные против микробных агентов, тем самым поддерживая целостность слизистого барьера, утрата клеток Т(х)17 может способствовать перемещению микроорганизмов и постоянному воспалению. Было обнаружено, что у ВИЧ-сероположительных субъектов прогрессирование заболевания связано с утратой Т(х)17-клеток и реципрокным увеличением фракции иммуносупрессивных Т(рег)-клеток в периферической крови и в образцах биопсии из ректосигмовидного отдела. Утрата баланса Т(х)17/Т(рег) связана с индукцией индоламин-2,3-диоксигеназы 1 (IDO1) миелоидными антигенпрезентирующими дендритными клетками и с увеличенной концентрацией в плазме микробных продуктов. Утрата баланса Т(х)17/Т(рег) *in vitro* опосредуется непосредственно проксимальным катаболитом триптофана из метаболизма IDO, 3-оксиантриниловой кислотой (3-ОН-АА). Было высказано предположение, что индукция IDO может представлять собой критическое инициирующее событие, которое приводит к изменению баланса Т(х)17/Т(рег) и к последующему поддержанию хронического воспалительного состояния при прогрессирующем заболевании ВИЧ. Соответственно, согласно прогнозам, стратегии снижения уровней 3-ОН-АА способны устранить или облегчить системное воспаление после ВИЧ-инфекции.

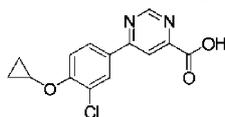
КМО катализирует преобразование кинуренина (KYN) в 3-гидроксикинуренин (3-НК или 3-ОН-KYN), который затем расщепляется KYNУ до 3-оксиантриниловой кислоты, а затем -до QUIN. 3-ОН-KYN и QUIN действуют синергически, т.е. 3-ОН-KYN в значительной степени потенцирует эксайтотоксичное действие QUIN. Исследования, проведенные в нескольких лабораториях, позволили получить доказательства того, что сдвиг метаболизма пути KYN от ветви 3-ОН-KYN/QUIN к увеличению образования нейропротекторной KYNA (кинуреновой кислоты) в головном мозге приводит к нейропротекции.

Помимо эффектов в головном мозге, как предполагают, ингибирование КМО также оказывает влияние на периферические ткани. Исходя из роли 3-ОН-АА в модулировании Т(х)17-клеток и балансе ИЛ-17/ИЛ-23 при патогенезе ВИЧ, ингибиторы КМО, как предполагают, предотвращают увеличение перемещения микроорганизмов через слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта и системное воспаление у пациентов с длительно прогрессирующим заболеванием. Таким образом, ингибирование КМО может являться пригодным при лечении периферических нарушений, связанных с ВИЧ, а также заболеваний головного мозга.

Соединение и фармацевтически приемлемые соли соединения, описанного в настоящей заявке, которые ингибируют КМО, раскрыты в публикациях патентов РСТ WO 2013/033068 и WO 2013/033085, каждая из которых полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки.

Сохраняется потребность в способах, которые являются эффективными при лечении нарушений, связанных с ВИЧ-инфекцией.

Соответственно, в настоящей заявке предложен способ лечения нарушения, связанного с ВИЧ, у субъекта, инфицированного ВИЧ, причем указанный способ включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы



или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения; с последующим введением указанному субъекту противовирусного агента, выбранного из эмтрицитабина, ралтегравира, дарунавира, тенофовира алафенамида фумарата, эмтрицитабина/тенофовира, тенофовира дизопроксила и их комбинаций.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1. представлено дозозависимое увеличение уровня кинуренина (KYN) во внеклеточном пространстве стриатума после введения соединения 6.

На фиг. 2. представлено дозозависимое увеличение уровня кинуреновой кислоты (KYNA) во внеклеточном пространстве стриатума после введения соединения 6.

На фиг. 3. представлено дозозависимое увеличение уровня антриниловой кислоты (АА) во внеклеточном пространстве стриатума после введения соединения 6.

На фиг. 4. представлено недостаточное модулирование 3-гидроксикинуренина (3-НК или 3-ОН-KYN) во внеклеточном пространстве стриатума после введения соединения 6.

На фиг. 5. представлено дозозависимое увеличение уровня метаболитов пути кинуренина (ПК) в стриатуме после введения соединения 6 у мышей дикого типа.

На фиг. 6. представлено дозозависимое увеличение уровня метаболитов пути кинуренина в стриатуме после введения соединения 6 на гомозиготных мышах Q175_KI.

На фиг. 7. представлено модулирование уровня KYN в стриатуме после введения соединения 6, KYN и (соединения 6+KYN).

На фиг. 8. представлено модулирование уровня KYNA в стриатуме после введения соединения 6, KYN и (соединения 6+KYN).

На фиг. 9. представлено модулирование уровня антраниловой кислоты (AA) в стриатуме после введения соединения 6, KYN и (соединения 6+KYN).

На фиг. 10. представлено модулирование уровня 3-ОН-KYN в стриатуме после введения соединения 6, KYN и (соединения 6+KYN).

На фиг. 11. представлено модулирование уровня хинолиновой кислоты (QA) в стриатуме после введения соединения 6, KYN и (соединения 6+KYN).

В настоящей спецификации следующие слова, фразы и символы, как правило, имеют те значения, которые приведены ниже, за исключением случаев, в которых контекст, в котором используются указанные слова, фразы и символы, диктует обратное.

Следующие сокращения и термины имеют в настоящей заявке указанные значения.

Соединение, описанное в настоящей заявке, включает, но не ограничено указанными, оптические изомеры, рацематы и другие смеси указанного соединения. В таких ситуациях отдельные энантиомеры или диастереомеры, т.е. оптически активные формы, можно получить посредством асимметричного синтеза или посредством расщепления рацематов. Расщепление рацематов можно осуществить, например, общепринятыми способами, такими как кристаллизация в присутствии расщепляющего средства или хроматография с применением, например, колонки для хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Термин "изомеры" означает различные соединения, которые характеризуются одинаковой молекулярной формулой.

Термин "стереоизомеры" означает изомеры, которые отличаются только способом, которым атомы организованы в пространстве. Термин "энантиомеры" означает стереоизомеры, которые представляют собой несовпадающие при наложении зеркальные отображения друг друга. Смесь пары энантиомеров в соотношении 1:1 представляет собой "рацемическую" смесь. Символ "(±)" может быть использован для обозначения рацемической смеси в соответствующих случаях. Термин "диастереоизомеры" означает стереоизомеры, которые содержат по меньшей мере два асимметричных атома, но которые не представляют собой зеркальные отображения друг друга. Термин "мезосоединение" или "мезоизомер" означает оптически неактивный член ряда стереоизомеров. Мезоизомеры содержат два или более стереоцентров, но не являются хиральными (т.е. в молекуле присутствует плоскость симметрии). Абсолютную стереохимию указывают согласно системе R-S Кана - Ингольда - Прелога. Если соединение представляет собой чистый энантиомер, стереохимия на каждом хиральном углероде может быть указана как R или S. Разделенные соединения, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут быть обозначены как (+) или (-) в зависимости от направления (право- или левовращающие), в котором данные соединения вращают плоскость поляризуемого света при длине волны линии D спектра натрия. Термин "соединение" включает все таутомерные формы соединения. Такие соединения также включают кристаллические формы, в том числе полиморфы и клатраты. Аналогично, термин "соль" включает все таутомерные формы и кристаллические формы соединения. Термин "таутомеры" означает различные по структуре изомеры, которые взаимно превращаются в процессе таутомеризации. Таутомеризация представляет собой форму изомеризации и включает прототропную таутомеризацию или таутомеризацию с переносом протона, которую считают подгруппой химии кислотно-основных взаимодействий. Прототропная таутомеризация или таутомеризация с переносом протона включает миграцию протона, которая сопровождается изменением кратности связей, часто с взаимопревращением одинарной связи с соседней двойной связью. Когда таутомеризация возможна (например, в растворе), может быть достигнуто химическое равновесие таутомеров. Пример таутомеризации представляет собой кето-енольную таутомеризацию. Конкретный пример кето-енольной таутомеризации представляет собой взаимное превращение таутомеров пентан-2,4-диона и 4-гидроксипент-3-ен-2-она. Другой пример таутомеризации представляет собой фенол-кетольную таутомеризацию. Конкретный пример фенол-кетольной таутомеризации представляет собой взаимное превращение таутомеров пиридин-4-ола и пиридин-4(1H)-она.

"Фармацевтически приемлемые соли" включают, но не ограничены указанными, соли, образованные с неорганическими кислотами, такие как гидрохлорат, фосфат, дифосфат, гидробромат, сульфат, сульфат, нитрат и подобные соли, а также соли, образованные с органической кислотой, такие как малат, малеат, фумарат, тартрат, сукцинат, цитрат, ацетат, лактат, метансульфонат, п-толуолсульфонат, 2-гидроксиэтилсульфонат, бензоат, салицилат, стеарат и алканоат, такой как ацетат, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, где n означает 0-4, и подобные соли. Аналогично фармацевтически приемлемые катионы включают, но не ограничены указанными, натрий, калий, кальций, алюминий, литий и аммоний. Кроме того, если соединение, описанное в настоящей заявке, получают в форме соли присоединения кислоты, свободное основание можно получить подщелачиванием раствора кислой соли. И наоборот, если продукт представляет собой свободное основание, соль присоединения, в частности, фармацевтически приемлемую соль присоединения, можно получить посредством растворения свободного основания в подходящем органическом растворителе и обработки раствора кислотой в соответствии с общепринятыми способами получения солей присоединения кислоты из основных соединений. Специалистам в данной области техники известны различные способы синтеза, которые можно использовать для получения нетоксичных фарма-

цветически приемлемых солей присоединения.

Соединение, описанное в настоящей заявке, может представлять собой обогащенные изотопные формы, например, обогащенные по содержанию ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C и/или ^{14}C . Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения соединение содержит по меньшей мере один атом дейтерия. Такие дейтерированные формы могут быть получены, например, посредством процедур, описанных в патентах США №№ 5,846,514 и 6,334,997. Такие дейтерированные соединения могут улучшить эффективность и увеличить длительность действия соединений, раскрытых и/или описанных в настоящей заявке. Соединения, замещенные дейтерием, можно синтезировать различными способами, такими как способы, описанные в публикациях Dean, D., *Recent Advances in the Synthesis and Applications of Radiolabeled Compounds for Drug Discovery and Development*, *Curr. Pharm. Des.*, 2000; 6(10); Kabalka, G. et al., *The Synthesis of Radiolabeled Compounds via Organometallic Intermediates*, *Tetrahedron*, 1989, 45(21), 6601-21; и Evans, E., *Synthesis of radiolabeled compounds*, *J. Radioanal. Chem.*, 1981, 64(1-2), 9-32.

"Сольват" означает соединение, образованное в результате взаимодействия растворителя и соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения. Термин "соединение" включает сольваты соединения. Аналогично, термин "соли" включает сольваты солей. Подходящие сольваты представляют собой фармацевтически приемлемые сольваты, такие как гидраты, включая моногидраты и полугидраты.

"Хелат" означает соединение, образованное в результате координации соединения с ионом металла в двух (или более) точках. Термин "соединение" включает хелаты соединения. Аналогично, термин "соли" включает хелаты солей.

"Нековалентный комплекс" означает соединение, образованное в результате взаимодействия соединения и другой молекулы, причем в указанном комплексе между соединением и молекулой не образуется ковалентная связь. Например, комплексообразование может возникнуть посредством ван-дер-ваальсовых взаимодействий, водородных связей и электростатических взаимодействий (которые также называют ионными связями). Такие нековалентные комплексы включены в термин "соединение".

Термин "водородная связь" означает форму ассоциации между электроотрицательным атомом (также известным как акцептор водородной связи) и атомом водорода, присоединенным ко второму, относительно электроотрицательному атому (также известному как донор водородной связи). Подходящие доноры и акцепторы водородной связи хорошо известны в медицинской химии (G. C. Pimentel and A. L. McClellan, *The Hydrogen Bond*, Freeman, San Francisco, 1960; R. Taylor and O. Kennard, "Hydrogen Bond Geometry in Organic Crystals", *Accounts of Chemical Research*, 17, pp. 320- 326(1984)).

"Акцептор водородной связи" означает группу, содержащую кислород или азот, такой как кислород или азот, который является sp^2 -гибридизованным, кислород либо кислород сульфоксида или N-оксида.

Термин "донор водородной связи" означает кислород, азот или гетероароматический углерод, который несет водородную группу, содержащую азот кольца, или гетероарильную группу, содержащую азот кольца.

В настоящей заявке термины "группа" или "фрагмент" означают функциональную группу или фрагмент молекулы, который можно присоединить к связи или другим фрагментам молекул.

Термин "активный агент" означает соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, которое обладает биологической активностью. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения "активный агент" представляет собой соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, которое характеризуется фармацевтической применимостью. Например, активный агент может представлять собой противонейродегенеративный терапевтический агент или противовирусный терапевтический агент.

Термин "терапевтически эффективное количество" соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, означает количество, которое при введении субъекту-человеку или субъекту, отличному от человека, является эффективным для обеспечения терапевтической пользы, такой как облегчение симптомов, замедление прогрессирования заболевания или предотвращение заболевания, например, терапевтически эффективное количество может представлять собой количество, достаточное для уменьшения симптомов заболевания в ответ на ингибирование активности КМО и модулирование уровня метаболитов пути кинуренина (таких как кинуренин, кинуреновая кислота, антраниловая кислота, 3-ОН-кинуренин, 3-ОН-антраниловая кислота или хинолиновая кислота). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для лечения симптомов нарушения, связанного с ВИЧ. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для уменьшения признаков или побочных эффектов нарушения, связанного с ВИЧ. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтически эффективное количество соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения представляет собой количество, достаточное для предотвращения значительного увеличения или значительного уменьшения уровня гибели нейронных клеток, связанной с ВИЧ. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтически эффективное количество соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения представляет собой количество, достаточное для предотвращения значительного увеличения или значительного уменьшения уровня QUIN, ассоциированного с

вызванной ВИЧ гибелью нейронных клеток. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для осуществления увеличения уровня KYNA, связанного с состоянием нейронных клеток у пациента, инфицированного ВИЧ. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для увеличения противосудорожных и нейропротекторных свойств, связанных с уменьшенными уровнями QUIN и увеличенными уровнями KYNA, у пациента, инфицированного ВИЧ. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для модулирования воспалительного процесса у пациента, инфицированного ВИЧ, включая, но не ограничиваясь указанными, воспаление в головном мозге, спинном мозге и периферической нервной системе или в оболочках головного мозга. В способах, описанных в настоящей заявке для лечения нарушения, связанного с ВИЧ, терапевтически эффективное количество может также представлять собой количество, которое при введении пациенту является достаточным для обнаруживаемого замедления прогрессирования нарушения, связанного с ВИЧ, или для предотвращения возникновения симптомов нарушения, связанного с ВИЧ, у пациента, который принимает соединение. В некоторых способах, описанных в настоящей заявке для лечения нарушения, связанного с ВИЧ, терапевтически эффективное количество может также представлять собой количество, достаточное для обеспечения обнаруживаемого уменьшения уровня гибели нейронных клеток, связанной с ВИЧ. Например, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапевтически эффективное количество представляет собой количество, достаточное для значительного уменьшения уровня связанной с ВИЧ гибели нейронов посредством обеспечения обнаруживаемого уменьшения количества QUIN и увеличения количества кинурина, KYNA или антраниловой кислоты. Кроме того, количество считают терапевтически эффективным количеством, если данное количество характеризуется по существу по меньшей мере одним из вышеуказанных критериев или условий эксперимента, вне зависимости от любого непоследовательного или противоречивого результата, полученного при различном наборе критериев или условий эксперимента.

Термин "ингибирование" означает значительное уменьшение исходной активности биологической активности или процесса. "Ингибирование активности КМО" означает снижение активности КМО в качестве прямого или опосредованного ответа на наличие по меньшей мере одного соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, относительно активности КМО при отсутствии по меньшей мере одного указанного соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения. Снижение активности может быть вызвано прямым взаимодействием соединения или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения с КМО или может быть вызвано взаимодействием соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, с одним или несколькими другими факторами, которые, в свою очередь, оказывают влияние на активность КМО. Например, присутствие соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения может уменьшать активность КМО в результате непосредственного связывания с КМО, посредством стимулирования (напрямую или опосредованно) другого фактора к уменьшению активности КМО или посредством уменьшения (напрямую или опосредованно) количества КМО, присутствующей в клетке или организме. Ингибирование активности КМО также означает наблюдаемое ингибирование продукции 3-НК и QUIN в стандартном анализе, таком как анализы, описанные ниже. Ингибирование активности КМО также означает наблюдаемое увеличение продукции KYNA. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, характеризуется значением IC_{50} , меньшим или равным 1 мкмоль. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соединение или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения характеризуется значением IC_{50} , меньшим или равным 100 мкмоль. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соединение или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения характеризуется значением IC_{50} , меньшим или равным 10 нмоль. Ингибирование активности КМО также означает активацию, перераспределение, перестроение или кэпирование одного или нескольких различных мембраносвязанных белков КМО (таких как рецепторы, обнаруженные в митохондриях), либо сайты связывания могут подвергаться перераспределению и кэпированию, которое может запустить трансдукцию сигнала. Активность КМО также может модулировать доступность кинурина, что может оказывать влияние на синтез или продукцию QUIN, KYNA, антраниловой кислоты и/или 3-НК.

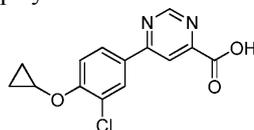
"Заболевание, отвечающее на ингибирование активности КМО", означает заболевание, при котором ингибирование КМО обеспечивает терапевтическую пользу, такую как облегчение симптомов, уменьшение степени прогрессирования заболевания, предотвращение или отсрочивание манифестации заболевания, предотвращение или облегчение воспалительного ответа или ингибирование нарушенной активности и/или смерти определенных типов клеток (таких как нейроны).

"Лечение" означает любое лечение заболевания у пациента, включая: а) предотвращение заболевания, иными словами, обеспечение отсутствия развития клинических симптомов заболевания; б) ингибирование прогрессирования заболевания; в) замедление или прекращение развития клинических симпто-

мов; и/или d) ослабление заболевания, иными словами, обеспечение регрессии клинических симптомов. "Субъект" или "пациент" означает животное, такое как млекопитающее, которое является или будет являться объектом лечения, наблюдения или эксперимента. Способы, описанные в настоящей заявке, могут являться пригодными как при терапии человека, так и при ветеринарном применении. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой млекопитающее; и согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъект представляет собой человека. Термин "заболевание" означает аномальное состояние организма человека или животного либо одной или нескольких частей указанного организма, которое нарушает нормальное функционирование, как правило, проявляется посредством характерных признаков и симптомов и вызывает уменьшение продолжительности либо качества жизни человека или животного. В настоящей заявке данные термины являются, как правило, синонимичными и используются взаимозаменяемо с терминами "нарушение" и "состояние" (как медицинское состояние).

Способы получения соединения или фармацевтически приемлемых солей соединения, описанного в настоящей заявке, очевидны средним специалистам в данной области техники, подходящие процедуры описаны, например, в примерах ниже и в источниках, ссылки на которые приводятся в настоящей заявке.

В настоящей заявке предложен способ лечения нарушения у субъекта, инфицированного ВИЧ, причем указанный способ включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы



или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения; с последующим введением указанному субъекту противовирусного агента, выбранного из: эмтрицитабина, ралтегравира, дарунавира, тенофовира алафенамида фумарата, эмтрицитабина/тенофовира, тенофовира дизопроксила и их комбинаций. Лекарственные препараты против ВИЧ подразделяют на шесть классов в зависимости от того, каким способом препарат препятствует жизненному циклу ВИЧ. Данные шесть классов включают нуклеозидные/нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ), нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ), ингибиторы протеазы (ИП), ингибиторы слияния, антагонисты CCR5 и ингибиторы переноса цепи интегразой (ИПЦИ). ВИЧ использует обратную транскриптазу (ОТ) для преобразования своей РНК в ДНК (обратной транскрипции). Блокировка ОТ и обратной транскрипции предотвращает репликацию ВИЧ. В НИОТ отсутствует 3'-гидроксильная группа, и данные соединения метаболическим способом активируются киназами клеток-хозяев в соответствующие 5'-трифосфатные формы, которые затем встраиваются в ДНК обратной транскриптазой (ОТ) ВИЧ и которые выступают в качестве терминаторов цепи синтеза ДНК. Примеры НИОТ включают препараты амдоксовир, Комбивир®, Эмтрива®, Эпивир®, Эпзиком®, Ретровир®, тенофовира алафенамида фумарат, Тризивир®, Трувада®, Видекс®, Видекс® ЕС, Виреад®, Зерит® и Зиаген®. ННИОТ представляют собой неконкурентные ингибиторы полимеризации ДНК, которые присоединяются к гидрофобному карману ОТ вблизи от активного сайта полимеразы. Примеры НИОТ включают препараты Эдурант®, Интеленс®, лерсивирин, Рескриптор®, Сустива®, Вирамун® и Вирамун® XR. После транскрипции в ядре вирусная мРНК поступает в цитоплазму и использует клеточные механизмы хозяина для наработки вирусного белка. Затем компоненты вируса собираются на клеточной мембране, и незрелые вирусы отпочковываются от клетки. Капсидные белки продуцируются в виде части длинных полипептидов, которые должны разрезаться на более короткие фрагменты ферментом протеазой для образования зрелых функциональных белков. ИП связываются с сайтом, в котором происходит разрезание белка, и тем самым предотвращают высвобождение ферментом отдельных капсидных белков. В результате этого новые вирусные частицы становятся не способными созреть или становиться инфекционными. Примеры ИП включают препараты Аптивус®, Криксиван®, Инвираз®, Калетра®, Лексива®, Норвир®, Презиста®, Реатаз® и Вирасепт®. Ингибиторы слияния препятствуют соединению оболочки ВИЧ с мембраной клеток-хозяев (слиянию), что предотвращает поступление ВИЧ в клетки-хозяева. Примером ингибиторов слияния является препарат Фузеон®. Антагонисты CCR5 блокируют рецептор CCR5 на поверхности определенных иммунных клеток, таких как клетки CD4+, что предотвращает поступление ВИЧ в клетки. Примеры антагонистов CCR5 включают препараты сенековиров и Селзенстри®. ИПЦИ блокируют интегразу, фермент, который ВИЧ использует для встраивания (инсерции) вирусной ДНК в ДНК клеток-хозяев. Блокирование интегразы предотвращает репликацию ВИЧ. Примеры ИПЦИ включают препараты Исентресс®, Тивикай® и Элвитегравир®. Комбинации лекарственных препаратов различных классов включают препараты Атрипла® (эфавиренц + тенофовир + эмтрицитабин), Комплера® (рипивирин + тенофовир + эмтрицитабин), Стрибилд® (элвитегравир + кобицистат + тенофовир + эмтрицитабин) и Трии™ (долутегравир + абакавир + ламивудин). Рекомендуются режимы антиретровирусной терапии (АРТ) для лечения ВИЧ включают применение комбинации трех или более антиретровирусных (АРВ) лекарственных препаратов из по меньшей мере двух различных классов лекарственных препаратов против ВИЧ. Принятым на сего-

днешний день стандартом лечения ВИЧ/СПИД в развитых странах является высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРВТ) - как правило, комбинация двух ингибиторов обратной транскриптазы и ингибитора протеазы. В режимах с резервированием класса намеренно исключают все АРВ лекарственных препаратов конкретного класса лекарственных препаратов для сохранения конкретных АРВ лекарственных препаратов для будущего применения в случае, если режим будет необходимо изменить в связи с токсичностью или лекарственной устойчивостью. Режим с резервированием класса можно также использовать во избежание нежелательных эффектов, связанных с конкретным классом лекарственных препаратов. Определенные режимы АРТ ВИЧ включают усилитель фармакокинетики, который увеличивает уровень определенных АРВ препаратов в крови и делает данные препараты более эффективными. Примеры усилителей фармакокинетики включают препараты Кобицистат®, компонент одобренной комбинации с фиксированными дозировками в форме таблеток Стрибилд®; ритонавир, ИП улучшающий профили фармакокинетики (ФК) сопутствующих ИП; и SPI-452. Экспериментальные варианты терапии ВИЧ на иммунной основе включают препараты Арален®, ДермаВир®, интерлейкин-7, лексгенлейцел-Т (lexgenleucel-T), Плаквенил®, Пролейкин® и SB-728-T. Ингибиторы поступления представляют собой класс АРВ препаратов, в который включены ингибиторы слияния, антагонисты CCR5 и ингибиторы гликозидазы. Ингибиторы созревания представляют собой класс АРВ препаратов, нацеленных на полипротеин-предшественник gag, главный структурный белок, который отвечает за сборку и отпочкование частиц вириона в процессе созревания. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения противовирусный агент выбран из группы, включающей препараты: Эмтрива®, Исентресс®, Презиста®, тенофовира алафенамида фумарат, Трувада® и Виреад®, а также комбинации указанных средств.

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) представляет собой вирус, вызывающий синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), который является наиболее прогрессирующей стадией ВИЧ-инфекции. ВИЧ разрушает CD4(+) Т-лимфоциты (CD4(+)-клетки) иммунной системы, в результате чего организм становится незащищенным от жизнеугрожающих инфекций и вариантов рака. ВИЧ представляет собой ретровирус, который подразделяют на два подтипа: ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Оба типа передаются в результате непосредственного контакта с ВИЧ-инфицированными жидкостями организма, такими как кровь, семенная жидкость и выделения половых органов, или от ВИЧ-инфицированной матери к ребенку в течение беременности, родов или кормления грудью (через грудное молоко). ВИЧ-1 можно подразделить на четыре группы: Группу М, Группу N, Группу O и Группу P. Вирусы в пределах каждой группы можно затем дополнительно подразделить на подтипы. Например, группа ВИЧ-1 М включает по меньшей мере девять подтипов: A1, A2, B, C, D, F1, F2, G, H, J и K. Инфекция ВИЧ-2 является эндемичной для Западной Африки. Данная инфекция, как правило, прогрессирует до ВИЧ/СПИД с клиническими симптомами в течение более длительного времени и характеризуется меньшим процентом смертности, чем инфекция ВИЧ-1.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения ВИЧ представляет собой ВИЧ-1.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения ВИЧ представляет собой ВИЧ-1 группы М.

ВИЧ поступает в центральную нервную систему (ЦНС) в начале процесса инфекции и в течение заболевания вызывает несколько важных состояний ЦНС, таких как ВИЧ-энцефалопатия и комплекс СПИД-деменция. В качестве части острого синдрома ВИЧ в процессе сероконверсии пациенты могут испытывать ВИЧ-энцефалопатию. ВИЧ-ассоциированная прогрессирующая энцефалопатия (ВПЭ) представляет собой комплексный синдром, который характеризуется когнитивными, двигательными и поведенческими чертами, наблюдаемыми у детей. До появления высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРВТ) деменция являлась распространенной причиной заболеваемости и смертности у ВИЧ-инфицированных пациентов. Данное заболевание обычно наблюдалось на поздних стадиях СПИДа, когда число CD4(+)-лимфоцитов становится менее 200 клеток/мл, и фиксировалось у вплоть до 50% пациентов перед смертью. В 1986 году для описания уникальной совокупности нейроповеденческих наблюдений был введен термин "комплекс СПИД-деменция" (КСД). ВИЧ-ассоциированные нейрокогнитивные нарушения (ВАНН) охватывают иерархию прогрессирующих более серьезных форм неврологического поражения. Данные поражения могут варьировать от бессимптомного нейрокогнитивного ухудшения (БНУ) до умеренного нейрокогнитивного нарушения (УНН) и до более тяжелой ВИЧ-ассоциированной деменции (ВАД) (также называемой комплекс СПИД-деменция [КСД] или ВИЧ-энцефалопатия). КСД рассматривают как единое заболевание с широким и разнообразным спектром клинических манифестаций и тяжести. КСД характеризуется когнитивными, двигательными и поведенческими чертами у взрослых, обычно с прогрессирующим СПИДом. С появлением ВААРВТ более распространенной стала менее тяжелая дисфункция, чем КСД, - умеренное когнитивное двигательное нарушение (УКДН).

Общая психосоциальная и эмоциональная нагрузка на семью и друзей пациентов с ВИЧ-деменцией является огромной и в значительной степени превосходит таковую у когнитивно интактного пациента со СПИД. У пациентов с когнитивными сложностями наблюдаются проблемы с наблюдением и приверженностью графику приема лекарственного препарата. В связи с психоневрологическими проблемами данные пациенты, вероятно, являются менее подверженными ингибированию и более склонными к рис-

кованному поведению в отношении ВИЧ (например, к незащищенным половым отношениям), и вследствие этого такие пациенты подвержены большему риску передачи вируса. Помимо ВИЧ самого по себе другие причины неврологических осложнений у ВИЧ-инфицированных индивидуумов включают оппортунистические инфекции, опухоли и антиретровирусные лекарственные препараты. Другие неврологические осложнения, которые возникают в результате первичной ВИЧ-инфекции, включают вакуолярную миелопатию, периферические нейропатии и полимиозит.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нарушение, связанное с ВИЧ, представляет собой оппортунистическую инфекцию, которая выбрана из кандидоза, кокцидиоидомикоза, криптококкоза, криптоспориоза, цитомегаловируса, вируса простого герпеса, опоясывающего герпеса, гистоплазмоза, изоспороза, комплекса *Mycobacterium avium*, пневмоцистной пневмонии, бактериальной пневмонии, прогрессивной мультифокальной лейкоэнцефалопатии *Salmonella*, токсоплазмоза и туберкулеза.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нарушение, связанное с ВИЧ, представляет собой связанный со СПИДом рак, который выбран из рака шейки матки, саркомы Капоши и лимфом.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нарушение, связанное с ВИЧ, представляет собой заболевание, свидетельствующее о наличии СПИДа, которое выбрано из группы, состоящей из: кандидоза пищевода, бронхов, трахеи или легких, инвазивного рака шейки матки, диссеминированного или внелегочного кокцидиоидомикоза, внелегочного криптококкоза, хронического кишечного криптоспориоза, цитомегаловирусного заболевания (отличного от печени, селезенки или узлов), цитомегаловирусного ретинита с потерей зрения, связанной с ВИЧ энцефалопатии, простого герпеса (с хроническими язвами, бронхитом, пневмонитом или эзофагитом), диссеминированного или внелегочного гистоплазмоза, хронического кишечного изоспороза, саркомы Капоши, лимфомы Беркитта, иммунобластной лимфомы, первичной лимфомы головного мозга, диссеминированного или внелегочного комплекса *Mycobacterium avium* или *M. kansasii*, легочного или внелегочного *Mycobacterium tuberculosis*, диссеминированных или внелегочных видов рода *Mycobacterium*, пневмоцистной пневмонии Йировеца, рецидивирующей пневмонии, прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии, рецидивирующей сальмонеллезной септицемии, токсоплазмоза головного мозга и синдрома изнурения, вызванного ВИЧ. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нарушение, связанное с ВИЧ, представляет собой неврологическое нарушение. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения неврологическое нарушение выбрано из комплекса СПИД-деменция, вызванной СПИДом энцефалопатии, ВИЧ-энцефалопатии, ВИЧ-ассоциированной прогрессирующей энцефалопатии, ВИЧ-ассоциированного нейрокогнитивного нарушения, бессимптомного нейрокогнитивного ухудшения, умеренного нейрокогнитивного нарушения, ВИЧ-ассоциированной деменции, умеренного когнитивного двигательного нарушения, вакуолярной миелопатии, периферической нейропатии и полимиозита. Сочетание соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусного агента может являться физическим или нефизическим. Примеры физическим способом ассоциированных композиций включают: композиции, содержащие вещество, в котором соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусный агент совместно упакованы химическим/физико-химическим способом (например, нанесены на или в липидные везикулы, частицы (например, микро- или наночастицы) или капли эмульсии); и фармацевтические наборы, фармацевтические упаковки или упаковки для пациента, в которых соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусный агент совместно упакованы или совместно предложены (например, как часть совокупности разовых доз).

Примеры композиций, ассоциированных нефизическим способом, включают: вещество (например, которое не находится в одном составе), содержащее соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, или противовирусный агент вместе с инструкциями по терапии соединением или фармацевтически приемлемой солью соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусным агентом; вещество, содержащее соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, или противовирусный агент с инструкциями по введению популяции пациентов, которой вводили (или вводят) другие соединения или фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящей заявке, или противовирусный агент; и вещество, содержащее соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, или противовирусный агент в количестве или в форме, которая конкретно приспособлена для применения в комбинации с другим соединением или фармацевтически приемлемой солью соединения, описанного в настоящей заявке, или противовирусным агентом. Также предложены упакованные композиции. Такие упакованные композиции содержат по меньшей мере одно соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент и инструкции по применению композиции для лечения субъекта (как правило, пациента-человека). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инструкции представляют собой инструкции по применению фармацевтической композиции для лечения субъекта, страдающего от нарушения, связанного с ВИЧ. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инструкции представ-

ляют собой инструкции по применению фармацевтической композиции для лечения субъекта, страдающего от связанного с ВИЧ неврологического нарушения. Упакованная фармацевтическая композиция может включать предоставление информации по применению, например, для пациента или медицинского работника; либо данная информация может быть представлена в виде этикетки на упакованной фармацевтической композиции. Информация по применению может включать, например, информацию об эффективности, дозе и введении, противопоказаниях и нежелательных реакциях, относящихся к фармацевтической композиции.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусный агент совместно упакованы в один контейнер или в несколько контейнеров в одной внешней упаковке.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, вводят до введения противовирусного агента.

Как правило, соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусный агент будут вводить в терапевтически эффективных количествах любым из приемлемых способов введения агентов, которые предназначены для аналогичного применения. Фактические количества соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусного агента, т.е. активных компонентов, будут зависеть от множества факторов, таких как тяжесть заболевания, которое подвергают лечению, возраст и относительное состояние здоровья субъекта, активность используемого соединения, путь и форма введения, а также другие факторы, хорошо известные специалистам в данной области техники. Активные компоненты можно вводить по меньшей мере один раз в день, например, один или два раза в день.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент вводят в форме фармацевтической композиции. Соответственно, фармацевтические композиции содержат соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент вместе с по меньшей мере одним фармацевтически приемлемым наполнителем, который выбран из носителей, вспомогательных агентов и вспомогательных веществ.

Фармацевтически приемлемые наполнители должны характеризоваться достаточно высокой степенью чистоты и достаточно низкой степенью токсичности, чтобы являться подходящими для введения животному, лечение которого проводят. Наполнитель может являться инертным или может обладать фармацевтическими преимуществами. Количество наполнителя, используемого в сочетании с соединением или фармацевтически приемлемой солью соединения, описанного в настоящей заявке, и/или с противовирусным агентом, является достаточным для обеспечения удобного количества вещества для введения на разовую дозу соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента. Примеры фармацевтически приемлемых носителей или компонентов указанных носителей представляют собой сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и метилцеллюлоза; порошковый трагакант, соевый лецитин, желатин, тальк, твердые смазывающие вещества, такие как стеариновая кислота и стеарат магния, сульфат кальция, синтетические масла; растительные масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, кунжутное масло, оливковое масло и кукурузное масло; полиолы, такие как пропиленгликоль, глицерин, сорбитол, маннитол и полиэтиленгликоль, альгиновую кислоту, фосфатные буферные растворы, эмульгаторы, такие как TWEENS, смачивающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия, красители; вкусовые добавки, компоненты для таблетирования, стабилизаторы, антиоксиданты, консерванты, апирогенную воду, изотонический солевой раствор и фосфатные буферные растворы.

В фармацевтическую композицию могут быть включены необязательные активные вещества, которые по существу не препятствуют активности соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента.

Эффективные концентрации соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента смешивают с подходящим фармацевтически приемлемым наполнителем. В случаях, когда соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент демонстрирует недостаточную растворимость, можно использовать способы солюбилизации соединений. Такие способы известны специалистам в данной области техники и включают, но не ограничены указанными, использование соразстворителей, таких как диметилсульфоксид (DMSO), использование поверхностно-активных веществ, таких как TWEEN, или растворение в водном бикарбонате натрия.

После смешивания или добавления соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента полученная в результате смесь может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию или т.п. Форма полученной в результате смеси зависит от ряда факторов, включая предусматриваемый способ введения и растворимость соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусного

агента в выбранном наполнителе. Эффективную концентрацию, достаточную для облегчения симптомов заболевания, которое лечат, можно установить эмпирическим путем. Соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусный агент можно вводить перорально, местно, парентерально, внутривенно, путем внутримышечной инъекции, посредством ингаляции или спрея, сублингвально, трансдермально, путем буккального введения, ректально, в виде офтальмологического раствора или другим способами в составах с единицами дозирования.

Соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент могут быть включены в жидкие препараты для перорального применения, такие как, например, водные или масляные суспензии, растворы, эмульсии, сиропы или эликсиры. Более того, фармацевтические композиции, содержащие соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент, могут быть представлены в виде сухого продукта, предназначенного для восстановления водой или другим подходящим наполнителем перед применением. Такие жидкие препараты могут содержать общепринятые добавки, такие как суспендирующие вещества (например, сироп сорбитола, метилцеллюлозу, глюкозу/агар, сироп, желатин, гидроксиметилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, гель стеарата алюминия и гидрированные пищевые жиры), эмульгирующие вещества (например, лецитин, сорбитанмоноолеат или аравийскую камедь), неводные наполнители, которые могут включать пищевые масла (например, миндальное масло, фракционированное кокосовое масло, силиловые сложные эфиры, пропиленгликоль и этиловый спирт) и консерванты (например, метил- или пропил-п-гидроксibenзоат и сорбиновую кислоту).

В случае суспензий типичные суспендирующие вещества включают метилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу натрия, Avicel RC-591, трагакант и альгинат натрия; типичные смачивающие вещества включают лецитин и полисорбат 80, и типичные консерванты включают метилпарабен и бензоат натрия.

Водные суспензии содержат фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент в смеси со вспомогательными веществами, подходящими для приготовления водных суспензий. Такие вспомогательные вещества представляют собой суспендирующие вещества, например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовую камедь и аравийскую камедь; диспергирующие или смачивающие вещества; существующие в природе фосфатиды, например, лецитин, или продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, например, полиоксиэтиленстеарат, или продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, например, гептадекаэтиленоксицетанол, или продукты конденсации этиленоксида с частичными сложными эфирами, полученными из жирных кислот и гекситола, такие как полиоксиэтиленсорбитоловый заместитель, или продукты конденсации этиленоксида с частичными сложными эфирами, полученными из жирных кислот и гекситоловых ангидридов, например, полиэтиленсорбитановый заместитель. Водные суспензии могут также содержать один или несколько консервантов, например, этил- или n-пропил-п-гидроксibenзоат.

Масляные суспензии могут быть приготовлены в состав посредством суспендирования активных компонентов в растительном масле, например, арахисовом масле, оливковом масле, кунжутном масле или кокосовом масле, либо в минеральном масле, таком как жидкий парафин. Масляные суспензии могут содержать загуститель, например, пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт. Можно добавить подсластители, такие как вышеперечисленные вещества, и вкусовые вещества для получения препаратов для перорального применения с приятным вкусом. Данные фармацевтические композиции можно законсервировать посредством добавления антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота.

Фармацевтические композиции также могут находиться в форме эмульсий типа "масло в воде". Масляная фаза может представлять собой растительное масло, например, оливковое масло или арахисовое масло, либо минеральное масло, например, жидкий парафин, или смеси указанных масел. Подходящие эмульгирующие вещества могут представлять собой существующие в природе камеди, например, аравийскую камедь или трагакантовую камедь, существующие в природе фосфатиды, например, соевые бобы, лецитин и сложные эфиры или частичные сложные эфиры, полученные из жирных кислот и гекситола, ангидриды, например, сорбитанмоноолеат, а также продукты конденсации указанных частичных сложных эфиров с этиленоксидом, например, полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат.

Диспергируемые порошки и гранулы, подходящие для получения водной суспензии при добавлении воды, обеспечивают активный компонент в смеси с диспергирующим или смачивающим веществом, суспендирующим веществом и одним или несколькими консервантами. Примеры подходящих диспергирующих или смачивающих веществ и суспендирующих веществ представлены выше.

Таблетки, как правило, содержат общепринятые фармацевтически приемлемые вспомогательные средства в качестве инертных разбавителей, такие как карбонат кальция, карбонат натрия, маннитол, лактоза и целлюлоза; связывающие вещества, такие как крахмал, желатин и сахароза; разрыхлители, такие как крахмал, альгиновая кислота и кроскармеллоза; смазывающие вещества, такие как стеарат магния, стеариновая кислота и тальк. Для улучшения характеристик сыпучести порошковой смеси можно использовать вещества, способствующие скольжению, такие как диоксид кремния. Красители, такие как красители FD&C, могут быть добавлены для получения желаемого внешнего вида. Подсластители и вкусовые добавки, такие как аспартам, сахарин, ментол, перечная мята и фруктовые вкусовые добавки, мо-

гут представлять собой эффективные вспомогательные средства для жевательных таблеток. Капсулы (включая составы с замедленным высвобождением и пролонгированным высвобождением), как правило, содержат один или несколько вышеуказанных твердых разбавителей. Выбор компонентов носителя часто зависит от вторичных признаков, например, вкуса, стоимости и стабильности при хранении. Такие фармацевтические композиции можно также покрыть общепринятыми способами, как правило, pH- или время-зависимыми покрытиями, так что соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент высвобождается в желудочно-кишечном тракте вблизи от требуемой области применения или в различные периоды времени для удлинения требуемого действия. Такие лекарственные формы, как правило, включают, но не ограничены указанными, один или несколько компонентов, которые выбраны из ацетатфталатцеллюлозы, поливинилацетатфталата, фталатгидроксипропилметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, покрытий Eudragit®, восков и шеллака.

Фармацевтические композиции для перорального применения могут быть также представлены в виде твердых желатиновых капсул, в которых активный компонент смешан с инертным твердым разбавителем, например, карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином, либо в виде мягких желатиновых капсул, в которых активный компонент смешан с водной или масляной средой, например, арахисовым маслом, жидким парафином или оливковым маслом.

Фармацевтические композиции могут находиться в форме стерильной инъекционной водной или масляной суспензии. Данную суспензию можно приготовить в состав согласно известному уровню техники при использовании тех подходящих диспергирующих или смачивающих веществ и суспендирующих веществ, которые были упомянуты выше. Стерильный инъекционный препарат может также представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном исходно приемлемом наполнителе, например, такой как раствор в 1,3-бутандиоле. В число приемлемых наполнителей, которые можно использовать, входят вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, стерильные нелетучие масла традиционно используют в качестве растворителя или суспендирующей среды. Для данной цели можно использовать любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно-или диглицериды. Кроме того, для получения инъекционных препаратов можно использовать жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

Соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент можно ввести парентеральным способом в стерильной среде. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, внутривенную, внутримышечную, интратекальную инъекцию или способы инфузии. Соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент в зависимости от используемых наполнителя и концентрации могут являться либо суспендированными, либо растворенными в наполнителе. Преимуществом является, если вспомогательные средства, такие как анестезирующие средства, консерванты и буферные вещества, можно растворить в наполнителе. Во многих фармацевтических композициях для парентерального введения носитель содержит по меньшей мере 90 мас.% от всей композиции. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения носитель для парентерального введения выбран из пропиленгликоля, этилолеата, пирролидона, этанола и кунжутного масла. Соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент можно также вводить в форме суппозиторий для ректального введения лекарственного препарата. Данные фармацевтические композиции можно получить посредством смешивания лекарственного препарата с подходящим нераздражающим вспомогательным веществом, которое является твердым при обычных температурах, но жидким при ректальной температуре и, вследствие этого, будет плавиться в прямой кишке, высвобождая лекарственный препарат. Данные материалы включают масло какао и полиэтиленгликоли.

Соединение или фармацевтически приемлемая соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент могут быть приготовлены в состав для местного или наружного применения, например, для местного нанесения на кожу и слизистые оболочки, такие как в глазах, в форме гелей, кремов и лосьонов, а также могут быть предназначены для введения в глаз. Фармацевтические композиции для местного применения могут находиться в любой форме, включая, например, растворы, кремы, мази, гели, лосьоны, молочко, очищающие вещества, увлажняющие вещества, спреи, кожные пластыри и т.п.

Такие растворы можно приготовить в состав в виде 0,01-10% изотонических растворов, pH 5-7, с использованием подходящих солей. Можно также приготовить в состав соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент, предназначенные для трансдермального введения, в виде трансдермального пластыря.

Фармацевтические композиции для местного применения, содержащие по меньшей мере одно соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент, можно смешать с множеством веществ-носителей, хорошо известных в данной области техники, таких как, например, вода, спирт, гель алоэ вера, аллантоин, глицерин, витамины А и Е в масле, минеральное масло, пропиленгликоль, ППГ-2 миристилпропионат и т.п.

Другие вещества, подходящие для использования в носителях для препаратов для местного приме-

нения, включают, например, смягчающие вещества, растворители, увлажнители, загустители и порошки. Примерами каждого из данных типов веществ, которые можно использовать отдельно или в виде смесей одного или нескольких веществ, являются следующие вещества.

Типичные смягчающие вещества включают стеариловый спирт, глицерилмонорицинолеат, глицерилмоностеарат, пропан-1,2-диол, бутан-1,3-диол, масло норки, цетиловый спирт, изопропилстеарат, стеариновую кислоту, изобутилпальмитат, изоцетилстеарат, олеиловый спирт, изопропиллаурат, гексиллаурат, децилолеат, октадекан-2-ол, изоцетиловый спирт, цетилпальмитат, диметилполисилоксан, ди-н-бутилсебацат, изопропилмирилат, изопропилпальмитат, изопропилстеарат, бутилстеарат, полиэтиленгликоль, триэтиленгликоль, ланолин, кунжутное масло, кокосовое масло, арахисовое масло, касторовое масло, ацетилированные ланолиновые спирты, нефть, минеральное масло, бутилмирилат, изостеариновую кислоту, пальмитиновую кислоту, изопропиллинолеат, лауриллактат, миристиллактат, децилолеат и миристилмирилат; пропелленты, такие как пропан, бутан, изобутан, диметиловый эфир, диоксид углерода и оксид азота; растворители, такие как этиловый спирт, метилхлорид, изопропанол, касторовое масло, моноэтиловый эфир этиленгликоля, монобутиловый эфир диэтиленгликоля, моноэтиловый эфир диэтиленгликоля, диметилсульфоксид, диметилформамид, тетрагидрофуран; увлажнители, такие как глицерол, сорбитол, натрий 2-пирролидон-5-карбоксилат, растворимый коллаген, дибутилфталат и желатин, а также порошки, такие как мел, тальк, фуллерова земля, каолин, крахмал, камеди, коллоидный диоксид кремния, полиакрилат натрия, тетраалкиламмонийсметиты, триалкиларилламмонийсметиты, химически модифицированный силикат магния алюминия, органически модифицированная монтмориллонитовая глина, гидратированный силикат алюминия, плавленный оксид кремния, карбоксивиниловый полимер, карбоксиметилцеллюлоза натрия и этиленгликольмоностеарат.

Соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент можно также применять местным способом в форме систем доставки на основе липосом, таких как маленькие однослойные везикулы, большие однослойные везикулы и многослойные везикулы. Липосомы можно сформировать из множества фосфолипидов, таких как холестерол, стеариламин и фосфатидилхолины.

Другие фармацевтические композиции, пригодные для обеспечения системной доставки соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента включают сублингвальные, буккальные и назальные лекарственные формы. Такие фармацевтические композиции, как правило, содержат одно или несколько растворимых веществ-наполнителей, таких как сахароза, сорбитол и маннитол, и связующих веществ, таких как аравийская камедь, микрокристаллическая целлюлоза, карбоксиметилцеллюлоза и гидроксипропилметилцеллюлоза. Также могут быть включены описанные выше вещества, способствующие скольжению, смазывающие вещества, подсластители, красители, антиоксиданты и вкусовые добавки.

Фармацевтические композиции для ингаляции, как правило, могут быть представлены в форме раствора, суспензии или эмульсии, которую можно ввести в виде сухого порошка или в форме аэрозоля при использовании общепринятого пропеллента (например, дихлордифторметана или трихлорфторметана).

Фармацевтические композиции могут также необязательно содержать усилитель активности. Усилитель активности можно выбрать из широкого множества молекул, которые действуют различными путями для усиления терапевтических эффектов или для того, чтобы указанные вещества не зависели от терапевтических эффектов соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента. Конкретные классы усилителей активности включают усилители проникновения через кожу и усилители всасывания.

Фармацевтические композиции могут также содержать дополнительные активные агенты, которые можно выбрать из широкого множества молекул, которые могут действовать различными путями для усиления терапевтических эффектов соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента. Данные необязательные другие активные агенты, при наличии, как правило, используют в фармацевтических композициях на уровне, варьирующем от 0,01 до 15%. Некоторые варианты реализации настоящего изобретения содержат от 0,1 до 10% от массы композиции. Другие варианты реализации настоящего изобретения содержат от 0,5 до 5% от массы композиции.

Во всех вышеописанных случаях соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент можно вводить в комбинации с другими активными агентами.

При использовании в комбинации с одним или несколькими дополнительными фармацевтическими агентами соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент можно вводить до, одновременно с или после введения дополнительно фармацевтического агента или агентов.

Дозы соединений, описанных в настоящей заявке, зависят от множества факторов, включая конкретный синдром, который подвергают лечению, тяжесть симптомов, путь введения, частоту интервала доз, конкретное используемое соединение, эффективность, токсикологический профиль, фармакокинетический профиль соединения и наличие каких-либо вредных побочных эффектов, помимо других сооб-

ражений.

Соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и противовирусный агент, как правило, вводят на уровнях доз и способом, общепринятым для ингибиторов КМО и противовирусных средств, соответственно. Например, соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент можно вводить в одной или нескольких дозах посредством перорального введения на уровне дозы, как правило, 0,001-100 мг/кг/день, например 0,01-100 мг/кг/день, например 0,1-70 мг/кг/день, например 0,5-10 мг/кг/день. Единичные лекарственные формы могут содержать, как правило, 0,01-1000 мг соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента, например, 0,1-50 мг по меньшей мере одного соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента. Для внутривенного введения по меньшей мере одно соединение или фармацевтически приемлемую соль соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусный агент можно вводить в одной или нескольких дозах на уровне дозы, например, 0,001-50 мг/кг/день, например, 0,001-10 мг/кг/день, например, 0,01-1 мг/кг/день. Единичные лекарственные формы могут содержать, например, 0,1-10 мг соединения или фармацевтически приемлемой соли соединения, описанного в настоящей заявке, и/или противовирусного агента.

При осуществлении процедур способов, описанных в настоящей заявке, разумеется, следует понимать, что упоминание конкретных буферов, сред, реактивов, клеток, условий культивирования и т.п. не являются ограничивающими, и должны пониматься как включающие все схожие материалы, которые средний специалист в данной области техники считает представляющими интерес или ценность в конкретном контексте, в котором представлено данное обсуждение. Например, часто возможно заменить одну буферную систему или культуральную среду на другую и получить аналогичные, если не идентичные, результаты. Специалисты в данной области техники обладают достаточными знаниями таких систем и методологий, чтобы быть в состоянии без чрезмерного экспериментирования осуществить указанные замены, которые будут оптимальным способом служить достижению поставленных целей при применении способов и процедур, раскрытых в настоящей заявке.

Примеры

Соединение, фармацевтически приемлемые соли соединения, описанные в настоящей заявке, и способ, описанный в настоящей заявке, дополнительно иллюстрируются следующими неограничивающими примерами.

В настоящей заявке следующие сокращения имеют следующие значения. Если определение сокращения не приведено, данное сокращение имеет, как правило, общепринятое значение.

DCM	=	дихлорметан
DMF	=	N,N -диметилформамид
DMSO	=	диметилсульфоксид
EtOAc	=	этилацетат
г	=	грамм
ч	=	час, часы
ЖХ/МС	=	жидкостная хроматография/масс-спектрометрия
мг	=	миллиграмм
мин	=	минуты
мл	=	миллилитр
ммоль	=	миллимоли
мМ	=	миллимолярный
нм	=	нанометр
к.т.	=	комнатная температура
TBME	=	метил т-бутиловый эфир
THF	=	тетрагидрофуран
мкл	=	микролитр
мкМ	=	микромольный
1г/1мл	=	1 объем

Эксперименты

Коммерчески доступные реактивы и растворители (квалификации "для ВЭХЖ") использовали без дополнительной очистки.

Анализ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) проводили на пластинах Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) и визуализировали с применением УФ-света. Реакции с применением микроволнового излучения проводили с использованием прибора фокусированного микроволнового излучения СЕМ.

Аналитическую ВЭЖХ-МС проводили с помощью систем Agilent HP1100 и Shimadzu 2010 с при-

менением колонок Atlantis dC18 с обращенной фазой (5 мкм, 2,1×50 мм), градиент 5-100% В (А=вода/0,1% муравьиная кислота, В=ацетонитрил/0,1% муравьиная кислота) в течение 3 мин, объем инъекции 3 мкл, поток=1,0 мл/мин. УФ-спектр считывали при длине волны 215 нм с применением двух-волнового УФ-детектора Waters 2487 или системы Shimadzu 2010. Масс-спектры получали в диапазоне соотношения масса-заряд (m/z) от 150 до 850 при скорости записи спектра 2 скана в секунду с применением детектора Waters ZMD и в диапазоне m/z от 100 до 1000 при скорости записи спектра 2 Гц с применением ионизации электрораспылением с помощью системы ЖХ-МС Shimadzu 2010, либо аналитическую ВЭЖХ-МС проводили с помощью систем Agilent HP1100 и Shimadzu 2010 с применением колонок с обращенной фазой Water Atlantis dC18 (3 мкм, 2,1×100 мм), градиент 5-100% В (А=вода/0,1% муравьиная кислота, В=ацетонитрил/0,1% муравьиная кислота) в течение 7 мин, объем инъекции 3 мкл, поток=0,6 мл/мин. УФ-спектр считывали при длине волны 215 нм с применением фотодиодной матрицы Waters 2996 или с помощью системы Shimadzu 2010. Масс-спектры получали в диапазоне m/z от 150 до 850 при скорости записи спектра 2 скана в секунду с применением детектора Waters ZQ и в диапазоне m/z от 100 до 1000 при скорости записи спектра 2 Гц с применением ионизации электрораспылением с помощью системы Shimadzu 2010 ЖХ-МС. Данные обобщали и представляли с применением программного обеспечения OpenLynx и OpenLynx Browser или с применением программного обеспечения Shimadzu PsiPort.

Пример 1.

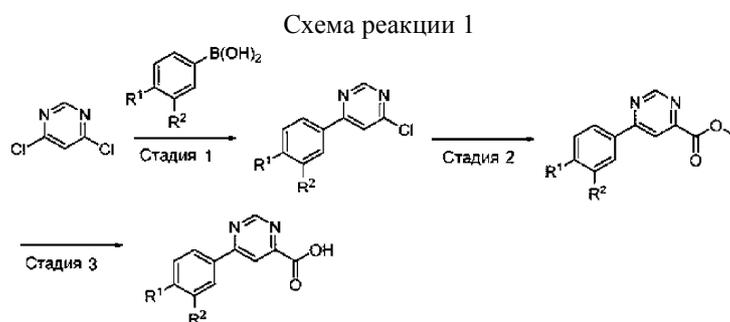


Схема реакции 1, стадия 1.

К перемешиваемой суспензии дихлорпиримидина (1 экв. (эквивалент)) в 1,4-диоксане (15 об. (объемов)) добавляли бороновую кислоту (0,7 экв.) и Pd(PPh₃)₄ (0,025 экв.). К полученной смеси добавляли 2М раствор K₂CO₃ (7,5 об.) и нагревали при температуре 90°C в течение ночи в атмосфере N₂. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в смеси EtOAc:вода (1:1) (100 об.), и полученный раствор фильтровали через целит. Органический слой отделяли, затем водный слой экстрагировали EtOAc (50 об.). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным NaCl (20 об.), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали, и растворитель удаляли в вакууме. Полученный остаток очищали методом колоночной флэш-хроматографии (элюент: [от 0:1 до 1:19] EtOAc:гептан) с получением желаемого целевого соединения.

Схема реакции 1, стадия 2.

4-Хлор-6-замещенный-фенил-пиримидин (1 экв.), PdCl₂(dppf)·DCM (0,05 экв.) и триэтиламин (2 экв.) суспендировали в дегазированном MeOH (50 об.) в бомбе, оснащенной магнитной мешалкой. Атмосферу в реакционном сосуде заменяли на N₂ посредством последовательного вакуумирования и нагнетания газа N₂ (данный процесс повторяли трижды). Затем бомбу продували CO посредством последовательного нагнетания CO и вакуумирования. В сосуде создавали давление 5 бар CO, и сосуд нагревали при температуре 50°C при перемешивании в течение 5 ч. Реакционному сосуду позволяли остыть до комнатной температуры перед продуванием CO и заполнением N₂. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, и полученный остаток растворяли в EtOAc (30 об.) и воде (30 об.). Раствор фильтровали через хлопковую вату, и органический слой отделяли, промывали насыщенным водным NaCl (15 об.), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Очистка методом колоночной флэш-хроматографии (элюент: [от 0:1 до 1:9] EtOAc:гептан) приводила к получению целевого соединения.

Схема реакции 1, стадия 3.

6-Замещенный-фенилпиримидин-4-карбоновой кислоты метиловый сложный эфир (1 экв.) суспендировали в MeOH (20 об.), 1М растворе NaOH (20 об.) и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь подкисляли 2М HCl. Растворимые продукты экстрагировали DCM (2×20 об.), и объединенные органические слои высушивали над MgSO₄ и фильтровали; концентрирование при пониженном давлении приводило к получению целевого соединения. Нерастворимые продукты фильтровали, промывали водой (3×10 об.) и гептаном (3×10 об.), после чего высушивали в вакууме с получением целевого соединения. Следующие соединения были получены, как по существу описано выше.

№ соединения	Химическая структура	Молекулярная масса	Результат масс-спектрометрии
1		264,67	[M+H] ⁺ = 265/267, 100% при времени удерживания = 3,53 и 3,70 мин
16		252,63	[M+H] ⁺ = 253, 100% при времени удерживания = 4,06 мин
17		252,63	[M+H] ⁺ = 253, 100% при времени удерживания = 3,92 – 4,23 мин
18		269,09	[M+H] ⁺ = 269, 100% при времени удерживания = 4,04 мин
19		236,18	[M+H] ⁺ = 237, 100% при времени удерживания = 3,74 мин
20		264,67	[M+H] ⁺ = 265, 100% при времени удерживания = 3,73 – 4,10 мин

Пример 2.

Схема реакции 2

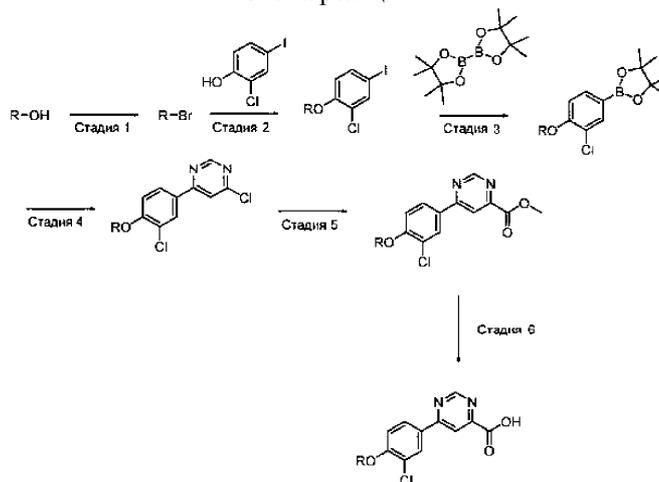


Схема реакции 2, стадия 1.

К R-OH (1 экв.) в DCM (70 об.) при температуре 0°C добавляли дибром(трифенил)фосфоран (1,2 экв.). Реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч. Растворитель удаляли в вакууме. К реакционной смеси добавляли DCM (10 об.). Преципитат фильтровали с получением целевого соединения. Неочищенную смесь использовали на следующем этапе без дополнительной очистки.

Схема реакции 2, стадия 2.

К R-Br (1,1 экв.) в DMF (15 об.) добавляли 2-хлор-4-иодфенол (1 экв.) и Cs₂CO₃ (2,5 экв.). Реакционную смесь нагревали в колбе с обратным холодильником в течение 3 ч в атмосфере азота. Реакционной смеси позволяли охладиться до комнатной температуры, добавляли EtOAc (40 об.) и водный аммоний (40 об.). Органический слой отделяли, а затем водный слой экстрагировали EtOAc (50 об.). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным NaCl (20 об.), высушивали над Na₂CO₃, фильтровали, и растворитель удаляли в вакууме. Полученный остаток очищали методом колоночной флэш-хроматографии (элюент: [3:1] EtOAc:гептан) с получением желаемого целевого соединения.

Схема реакции 2, стадия 3.

К перемешиваемой суспензии 4-замещенного-3-хлориодбензена (1 экв.) в дегазированном DMF (15 об.) добавляли бис-диборан (1,05 экв.), Pd(OAc)₂ (0,04 экв.) и KOAc (3,0 экв.). Реакционную смесь нагревали при температуре 90°C в течение 5 ч в атмосфере N₂. Реакционную смесь охлаждали до комнатной

температуры и фильтровали через целит, после чего концентрировали в вакууме с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт использовали на следующем этапе без дополнительной очистки.

Схема реакции 2, стадия 4.

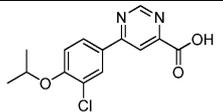
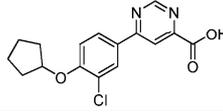
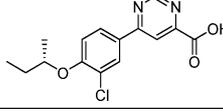
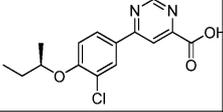
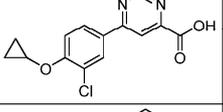
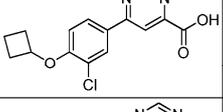
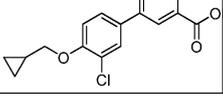
К перемешиваемой суспензии дихлорпиримидина (1 экв.) в 1,4-диоксане (90 об.) добавляли бороновый сложный эфир (1,0 экв.) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,03 экв.). К полученной смеси добавляли 2М раствор K_2CO_3 (3 экв.) и нагревали при температуре 90°C в течение 16 ч в атмосфере N_2 . Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в смеси EtOAc :вода (1:1) (100 об.), и полученный раствор фильтровали через целит. Органический слой отделяли, а затем водный слой экстрагировали EtOAc (50 об.). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным NaCl (20 об.), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали, и растворитель удаляли в вакууме. Полученный остаток очищали методом колоночной флэш-хроматографии (элюент: [3:1] EtOAc :гептан) с получением желаемого целевого соединения.

Схема реакции 2, стадия 5.

4-Хлор-6-замещенный-фенилпиримидин (1 экв.), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{DCM}$ (0,05 экв.) и триэтиламин (2 экв.) суспендировали в дегазированном MeOH (50 об.) в бомбе, оснащенной магнитной мешалкой. Атмосферу в реакционном сосуде заменяли N_2 посредством последовательного вакуумирования и нагнетания газа N_2 (данный процесс повторяли трижды). Затем бомбу продували CO посредством последовательного нагнетания CO и вакуумирования. В сосуде создавали давление 5 бар CO , и сосуд нагревали при температуре 50°C при перемешивании в течение 16 ч. Реакционному сосуду позволяли остыть до комнатной температуры перед продуванием CO и заполнением N_2 . Реакционную смесь концентрировали в вакууме, и полученный остаток растворяли в EtOAc (30 об.) и воде (30 об.). Органический слой отделяли, промывали насыщенным водным NaCl (15 об.), высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Очистка методом перекристаллизации с применением MeOH приводила к получению целевого соединения.

Схема реакции 2, стадия 6.

6-Замещенный-фенилпиримидин-4-карбоновой кислоты метиловый сложный эфир (1 экв.) суспендировали в THF (20 об.), 2М NaOH (2,5 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Растворитель (THF) удаляли, и реакционную смесь подкисляли 2М HCl . Полученное твердое вещество фильтровали и водой с получением желаемого продукта. Следующие соединения были получены, как по существу описано выше.

№ соединения	Химическая структура	Молекулярная масса	Результат масс-спектрометрии
2		292,72	$[\text{M}+\text{H}]^+ = 293/295$, 100% при времени удерживания = 4,18 мин
3		318,76	$[\text{M}+\text{H}]^+ = 319$, 100% при времени удерживания = 4,61 мин
4		306,75	$[\text{M}+\text{H}]^+ = 307/309$, 100% при времени удерживания = 4,37 мин
5		306,75	$[\text{M}+\text{H}]^+ = 307/309$, 100% при времени удерживания = 4,37 мин
6		290,71	$[\text{M}+\text{H}]^+ = 291/293$, 100% при времени удерживания = 3,93 мин
7		304,79	$[\text{M}+\text{H}]^+ = 305/307$, 100% при времени удерживания = 4,20 мин
8		302,72	$[\text{M}-\text{Na}]^- = 303/305$, 100% при времени удерживания = 4,14 мин

Пример 3.

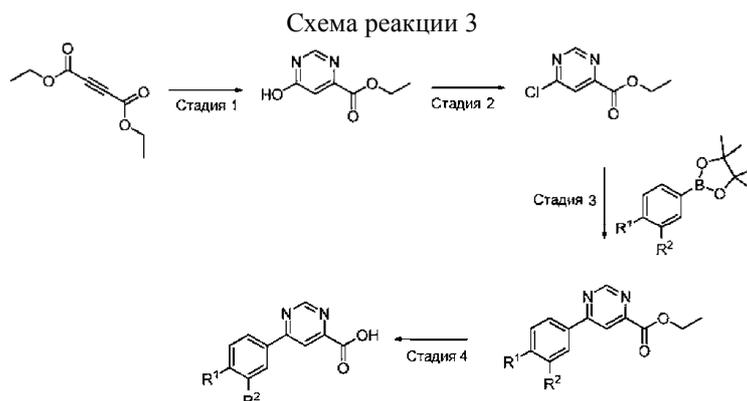


Схема реакции 3, стадия 1.

Триэтиламин (19,01 мл, 146,92 ммоль) добавляли по каплям к раствору диэтил бут-2-индиоата (25,0 г, 146,92 ммоль) и формамидин гидрохлорида (11,83 г, 146,92 ммоль) в ацетонитриле (500 мл). Полученный красный раствор нагревали при температуре 80°C в течение 2,5 ч. По прошествии данного времени реакционную смесь охлаждали до температуры 5°C с применением бани с насыщенным NaCl/льдом, и реакционную смесь перемешивали при данной температуре в течение 25 мин. По прошествии данного времени полученный твердый преципитат собирали при отсасывании и высушивали на воронке из окалины в течение 30 мин в вакууме при комнатной температуре, после чего высушивали в вакууме при комнатной температуре в течение 3 ч с получением целевого соединения (21,3 г, выход 86%) в виде бледно-коричневого твердого вещества. $T_{\text{удерж.}}=0,85$ мин (метод 3,5 минут) m/z (ES^+) $[M+H]^+$ 169.

Схема реакции 3, стадия 2.

Этил 6-гидроксипиримидин-4-карбоксилат (21,3 г, 126,67 ммоль) растворяли в сухом DMF (100 мл) в двухгорлой колбе. Колбу продували потоком азота при охлаждении на ледяной бане в течение 10 мин. По прошествии данного времени в течение 20 мин добавляли по каплям тионил хлорид (15,6 мл, 215,6 ммоль), после чего реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в атмосфере азота в течение 2 ч. По прошествии данного времени реакционную смесь аккуратно выливали на ~100 мл ледяной воды. Добавляли ТВМЕ (100 мл), отделяли органический слой, и водный слой экстрагировали дополнительным количеством ТВМЕ (3 × 100 мл). Объединенные органические слои последовательно промывали водой (2 × 100 мл) и соевым раствором (100 мл), после чего высушивали ($MgSO_4$), фильтровали и концентрировали с получением целевого соединения (8,8 г, выход 37%) в виде светло-оранжевого порошка. δH (500 МГц, DMSO) 9,23 (д (дуплет), $J=0,95$ Гц, 1 H), 8,16 (д, $J=1,10$ Гц, 1 H), 4,39 (к (квадруплет), $J=7,09$ Гц, 2 H), 1,34 (т (триплет), $J=7,17$ Гц, 3 H). $T_{\text{удерж.}}=1,43$ мин (метод 3,5 минут) m/z (ES^+) $[M+H]^+$ 187.

Схема реакции 3, стадия 3.

Трикалий фосфат (1,12 г, 5,63 ммоль) добавляли в виде одной порции к перемешиваемому раствору диоксаборолана (3,75 ммоль) и этил-6-хлорпиримидин-4-карбоксилата (0,7 г, 3,75 ммоль) в DMF (20 мл). Смесь дегазировали азотом в течение 5 мин, после чего добавляли $Pd(dppf)_2Cl_2$ (0,14 г, 0,19 ммоль) в виде одной порции, затем смесь нагревали до температуры 80°C и перемешивали при указанной температуре в течение 16 ч в атмосфере азота. По прошествии данного времени реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разделяли между этилацетатом (200 мл) и водой (100 мл). Органический слой отделяли, последовательно промывали водой (100 мл), затем соевым раствором (100 мл), после чего высушивали ($MgSO_4$), фильтровали и концентрировали. Полученное коричневое твердое вещество очищали методом колоночной флэш-хроматографии (элюирование: 40% EtOAc, 60% гептан) с получением целевого соединения.

Схема реакции 3, стадия 4.

К перемешиваемому раствору этил 6-замещенного пиримидин-4-карбоксилата (1,15 ммоль) в THF (10 мл) в виде одной порции добавляли NaOH (2M раствор, 0,63 мл, 1,27 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, после чего нагревали в колбе с обратным холодильником в течение 2 ч. По прошествии данного времени реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и полученный преципитат собирали посредством фильтрации, промывали THF (20 мл), после чего высушивали в вакууме с получением целевого соединения. Следующие соединения были получены, как по существу описано выше.

№ соединения	Химическая структура	Молекулярная масса	Результат масс-спектрометрии
9		278,04	$[M+H]^+ = 279/281$, 100% при времени удерживания = 3,65 мин

Пример 4.

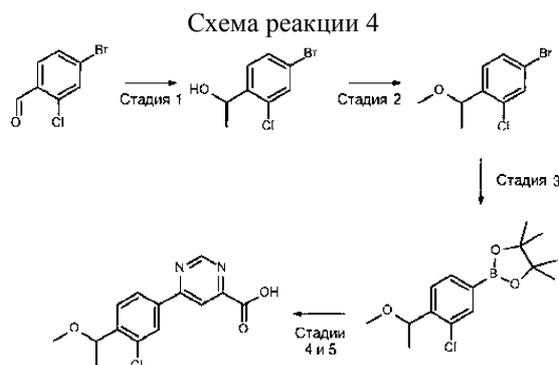


Схема реакции 4, стадия 1.

В холодный (-78°C) перемешиваемый раствор 4-бром-2-хлорбензальдегида (5,0 г, 0,023 моль) в THF (100 мл) в течение 1 ч добавляли по каплям метилмагния бромид (1,4М в толуоле/THF, 1,5 мл, 0,046 моль), и смесь перемешивали при данной температуре в атмосфере азота в течение 1 ч. По прошествии данного времени реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры в течение 1 ч, после чего перемешивали в течение еще 1,5 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до температуры 5°C на ледяной бане и перемешивали в течение 10 мин, после чего добавляли по каплям насыщенный хлорид аммония (40 мл) и продолжали перемешивание при данной температуре в течение еще 10 мин, а затем реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры. Затем полученную смесь экстрагировали этилацетатом (1×100 мл), органический слой последовательно промывали водой (100 мл) и соевым раствором (100 мл), после чего высушивали (MgSO_4), фильтровали и концентрировали. Полученный остаток очищали методом колоночной флэш-хроматографии (элюирование: 10% этилацетат, 90% гептан) с получением целевого соединения (4,33 г, выход 81%) в виде бесцветного масла. δH (500 МГц, DMSO) 7,64 (д, $J=1,58$ Гц, 1H), 7,49-7,60 (м (мультиплет), 2H), 5,47 (д, $J=3,00$ Гц, 1H), 4,96 (дд (двойной дуплет), $J=6,07, 2,60$ Гц, 1H), 1,28 (д, $J=6,31$ Гц, 3H).

Схема реакции 4, стадия 2.

К охлажденному (0°C) перемешиваемому раствору 1-(4-бром-2-хлорфенил)этан-1-ола (1,5 г, 6,4 ммоль) в DMF (15 мл) в течение 5 мин по частям добавляли гидрид натрия (60% в масле, 0,38 г, 9,6 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при данной температуре в течение 20 мин в атмосфере азота. По прошествии данного времени добавляли метилиодид (0,48 мл, 7,6 ммоль) в виде одной порции, и реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры, после чего реакционную смесь перемешивали в течение еще 18 ч. Реакцию гасили добавлением воды по каплям (15 мл) в течение 10 мин, и полученный раствор экстрагировали этилацетатом (2×30 мл). Объединенные органические экстракты последовательно промывали водой (100 мл) и соевым раствором (10 мл), после чего высушивали (MgSO_4), фильтровали и концентрировали с получением целевого соединения (1,5 г, выход 99%) в виде желтого масла. δH (500 МГц, DMSO) 7,71 (д, $J=1,89$ Гц, 1H), 7,60 (дд, $J=8,35, 1,89$ Гц, 1H), 7,39 (д, $J=8,35$ Гц, 1H), 4,63 (к, $J=6,46$ Гц, 1H), 3,16 (с (синглет), 3H), 1,26-1,38 (м, 3H).

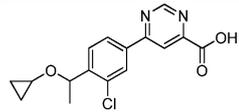
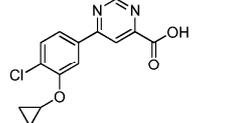
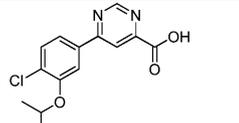
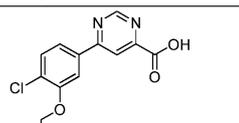
Схема реакции 4, стадии 3, 4 и 5 проводили так, как описано для схемы реакции 3. Следующие соединения были получены, как по существу описано выше.

№ соединения	Химическая структура	Молекулярная масса	Результат масс-спектрометрии
10		292,72	$[\text{M}+\text{H}]^+ = 293/295$, 100% при времени удерживания = 3,72 мин

Пример 5.

Следующие соединения можно получить, как по существу описано выше.

№ соединения	Химическая структура	Химическое название
11		6-(3-хлор-4-(циклопропоксиметил)-фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота

12		6-(3-хлор-4-(1-циклопропоксиэтил)-фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота
13		6-(4-хлор-3-циклопропокси-фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота
14		6-(4-хлор-3-изопропокси-фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота
15		6-(4-хлор-3-изобутоксифенил)пиримидин-4-карбоновая кислота

Пример 6.

Ниже представлена обобщенная процедура контроля гидроксирования L-кинурина (KYN) с образованием продукта 3-гидрокси-кинурина (3ОН-KYN) методом ЖХ/МС. Продукт количественно определяли посредством мониторинга множественных реакций с применением МС.

Основные реактивы:

- Соединение: Исходные концентрации: 10 мМ в 100% DMSO
- Линия клеток: линия клеток CHO GST HIS KMO, 1E4 клеток/лунку/100 мкл в 96-луночном планшете для клеток
- Субстрат: L-Кинурин (Sigma: кат. № K3750, исходная концентрация: 10 мМ в 100 мМ калий-фосфатном буфере, pH 7,4)

Условия анализа:

- Среда: OptiMem (lx среда со сниженным содержанием сыворотки, +L-глутамин + HEPES – феноловый красный; GIBCO: кат. № 11058)
- Объем анализа: 200 мкл
- Формат планшета: 96-луночный планшет, прозрачный (Corning)
- Считывание: количественное определение продукта (3ОН-KYN) с применением продукт-специфичного MMP
- Считывающее устройство: ЖХ/МС/МС

Протокол анализа:

готовили серийные разведения (с фактором 3) соединения в 100% DMSO (верхняя концентрация=6,67 мМ, 100% DMSO) [8 точек: 6,67 мМ; 2,22 мМ; 0,74 мМ; 0,247 мМ; 0,082 мМ; 0,027 мМ; 0,009 мМ; 0,003 мМ];

готовили 300-кратный концентрированный раствор каждой концентрации соединения (верхняя концентрация 22,22 мкМ, 0,3% DMSO) в среде OptiMem

[22,2 мкМ; 7,41 мкМ; 2,47 мкМ; 0,82 мкМ; 0,27 мкМ; 0,09 мкМ; 0,03 мкМ; 0,01 мкМ];

готовили субстрат (10 мМ) в концентрации 1,1 мМ в среде;

отбирали среду из планшета с клетками;

клетки промывали OptiMem (100 мкл/лунку) и снова отбирали среду;

смесь для анализа:

90 мкл OptiMem/лунку+90 мкл соединение/лунку в каждой концентрации

[конечная верхняя концентрация соединения: 10 мкМ; 0,15% DMSO]

[конечная нижняя концентрация соединения: 0,004 мкМ; 0,15% DMSO];

предварительная инкубация: 30 мин. при температуре 37°C;

добавляли 20 мкл/лунку раствора субстрата 1,1 мМ (конечная концентрация в анализе: 100 мкМ);

положительный контроль: 200 мкл OptiMem;

отрицательный контроль: 180 мкл OptiMem + 20 мкл 1,1 мМ субстрата;

инкубировали ~24 ч при температуре 37°C;

перенесли по 100 мкл из каждой лунки в прозрачный 96-луночный планшет (Corning);

добавляли по 100 мкл/лунку 10% трихлоруксусной кислоты (ТСА) в воде;

центрифугировали планшет в течение 3 мин при 4000 об./мин;

обнаруживали продукт методом ЖХ/МС (инъекция 50 мкл/лунку; 2,5-кратное переполнение пробоотборной петли объемом 20 мкл).

Анализ данных: IC_{50} рассчитывали с применением автоматизированного алгоритма подбора (A+ Анализ).

Пример 7.

Ниже описан способ контроля гидроксирования L-кинурина (KYN) для образования продукта 3-гидрокси-кинурина (3ОН-KYN) методом ЖХ/МС. Продукт количественно определяли посредством мониторинга множественных реакций.

Основные реактивы:

Соединение:	Исходные концентрации: 10 мМ в 100% DMSO
Фермент:	фермент КМО, полученный в Evotec посредством выделения митохондрий из клеток CHO-GST HIS КМО
Субстрат:	L-Кинурин (Sigma: кат. № K3750) [исходная концентрация: 10 мМ в 100 мМ калий-фосфатном буфере, pH 7,4]

Условия анализа:

Буфер:	100 мМ фосфат калия, pH 7,4, 200 мкМ NADPH, 0,4 Е/мл G6P-DH (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа), 3 мМ G6P (D-глюкозо-6-фосфат)
Объем анализа:	40 мкл
Формат планшета:	384-луночный планшет, прозрачный (Matrix)
Считывание:	количественное определение продукта (3ОН-KYN) с применением продукт-специфичного ММР (мониторинга множественных реакций)
Считывающее устройство:	ЖХ/МС/МС

Протокол анализа:

готовили серийные разведения (с фактором 3) соединения в 100% DMSO (верхняя концентрация=10 мМ, 100% DMSO)

[8 точек: 10 мМ; 3,33 мМ; 1,11 мМ; 0,37 мМ; 0,12 мМ; 0,04 мМ; 0,0137 мМ; 0,0045 мМ, 0,0015 мМ];

готовили 3,33-кратный концентрированный раствор каждой концентрации соединения (верхняя концентрация 300 мкМ, 3% DMSO) в буфере для анализа

[концентрации: 300 мкМ; 100 мкМ; 33,3 мкМ; 11,1 мкМ; 3,70 мкМ; 1,23 мкМ; 0,41 мкМ; 0,137 мкМ];

готовили субстрат (10 мМ) в концентрации 1 мМ в буфере для анализа смесь; для анализа:

4 мкл соединение/лунку каждой концентрации+24 мкл буфера для анализа/лунку+8 мкл фермента КМО человека+4 мкл 1 мМ субстрата (конечная концентрация=100 мкМ)

[конечная верхняя концентрация соединения: 30 мкМ; 0,3% DMSO]

[конечная нижняя концентрация соединения: 0,0137 мкМ; 0,3% DMSO];

положительный контроль: 4 мкл 50 мкМ FCE28833 в буфере для анализа [0,5% DMSO] (конечная концентрация в анализе=5 мкМ)+24 мкл буфера для анализа/лунку+8 мкл фермента КМО человека+4 мкл 1 мМ субстрата (конечная концентрация=100 мкМ);

отрицательный контроль: 28 мкл буфера для анализа/лунку+8 мкл фермента КМО человека+4 мкл 1 мМ субстрата (конечная концентрация =100 мкМ);

инкубировали 400 мин при к.т.;

добавляли по 40 мкл/лунку 10% трихлоруксусной кислоты в воде для остановки анализа и преципитации белка;

центрифугировали планшет в течение 3 мин при 4000 об./мин;

обнаруживали продукт посредством ЖХ/МС (инъекция 50 мкл/лунку; 2,5-кратное переполнение пробоотборной петли объемом 20 мкл).

Анализ данных: IC_{50} рассчитывали с применением автоматизированного алгоритма подбора (A+ Анализ).

Пример 8.

Описан способ контроля гидроксирования L-кинурина (KYN) с образованием 3-гидрокси-кинурина (3ОН-KYN) методом ЖХ/МС. Продукт количественно определяли посредством мониторинга множественных реакций (метод ММР).

Основные реактивы:

Соединение:	Исходные концентрации: 10 мМ в 100% DMSO
Фермент:	фермент КМО, полученный Evotec из печени мыши (в возрасте 4 – 6 недель) посредством выделения митохондрий, как описано в литературе
Субстрат:	L-Кинурин (Sigma: кат. № K3750, исходная концентрация: 10 мМ в 100 мМ калий-фосфатном буфере, pH 7,4)

Условия анализа:

Буфер: 100 мМ фосфат калия, рН 7,4, 200 мкМ NADPH, 0,4 Е/мл G6P-DH
(глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа), 3 мМ G6P (D-глюкозо-6-фосфат)

Объем анализа: 40 мкл

Формат планшета: 384-луночный планшет, прозрачный (Matrix)

Считывание: количественное определение продукта (ЗОН-KYN) с применением
продукт-специфичного ММР

Считывающее устройство: ЖХ/МС/МС.

Протокол анализа:

готовили серийные разведения (с фактором 3) соединения в 100% DMSO (верхняя концентрация=10 мМ, 100% DMSO)

[8 точек: 10 мМ; 3,33 мМ; 1,11 мМ; 0,37 мМ; 0,12 мМ; 0,04 мМ; 0,0137 мМ; 0,0045 мМ, 0,0015 мМ];

готовили 3,33-кратный концентрированный раствор каждой концентрации соединения (верхняя концентрация 300 мкМ, 3% DMSO) в буфере для анализа

[концентрации: 300 мкМ; 100 мкМ; 33,3 мкМ; 11,1 мкМ; 3,70 мкМ; 1,23 мкМ; 0,41 мкМ; 0,137 мкМ];

готовили субстрат (10 мМ) в концентрации 1 мМ в буфере для анализа;

смесь для анализа:

4 мкл соединения/лунку каждой концентрации+24 мкл буфера для анализа/лунку+8 мкл фермента КМО мыши+4 мкл 1 мМ субстрата (конечная концентрация=100 мкМ)

[конечная верхняя концентрация соединения: 30 мкМ; 0,3% DMSO]

[конечная нижняя концентрация соединения: 0,0137 мкМ; 0,3% DMSO];

положительный контроль: 4 мкл 50 мкМ FCE28833 в буфере для анализа, 0,5% DMSO [конечная концентрация в анализе=5 мкМ]+24 мкл буфера для анализа/лунку+8 мкл фермента КМО мыши+4 мкл 1 мМ субстрата [конечная концентрация=100 мкМ];

отрицательный контроль: 28 мкл буфера для анализа/лунку+8 мкл фермента КМО мыши+4 мкл 1 мМ субстрата [конечная концентрация=100 мкМ];

инкубировали 40 мин при к.т.;

добавляли по 40 мкл/лунку 10% трихлоруксусной кислоты в воде для остановки анализа и преципитации белка;

центрифугировали планшет в течение 3 мин при 4000 об./мин;

обнаруживали продукт посредством ЖХ/МС (инъекция 20 мкл/лунку, 2-кратное переполнение пробоотборной петли объемом 10 мкл).

Анализ данных: IC₅₀ рассчитывали с применением автоматизированного алгоритма подбора (A+ Анализ).

Пример 9.

С применением процедур, аналогичных процедурам, описанным в настоящей заявке, была проанализирована активность следующих соединений.

Название согласно IUPAC (Международный союз чистой и прикладной химии)	% Ингибирования в концентрации 10 мкМ*
6-(4-хлор-3-метокси-фенил)пиримидин-4- карбоновая кислота	99,62
6-(3-хлор-4-изопропокси- фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота	100
6-(3-хлор-4-(циклопентилокси)- фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота	97
(S)-6-(4-втор-бутокси-3-хлор- фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота	100
(R)-6-(4-втор-бутокси-3-хлор- фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота	100
6-(3-хлор-4-циклопропокси- фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота	100
6-(3-хлор-4-циклобутокси- фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота	100
6-(3-хлор-4-(циклопропилметокси)- фенил)пиримидин-4-карбоновая кислота	101
6-(4-хлор-3-фтор-фенил)пиримидин-4- карбоновая кислота	102,645

Пример 10. Процедура микродиализа для исследований на мышах.

Животным проводили анестезию с применением изофлурана (2%, 800 мл/мин O₂). Для местного обезболивания использовали бупивакаин/эпинефрин, для до-/послеоперационного обезболивания использовали финадин или карпрофен. Животных помещали в стереотаксическую рамку (Kopf instruments, США). В стриатум вводили I-образные зонды (мембрана: полиакрилонитрил, поверхность воздействия 3 мм; Brainlink, Нидерланды). После хирургической процедуры животных содержали в клетках по одному; животные получали пищу и воду без ограничения.

Эксперименты проводили через один день после хирургической процедуры. В день эксперимента зонды животных соединяли гибкой трубкой РЕЕК с микроперфузионным насосом (шприцевый насос Harvard PHD 2000, Holliston, MA или аналогичный). I-образные зонды для микродиализа перфузировали иСМЖ (искусственной спинномозговой жидкостью), содержащей 147 mM NaCl, 3,0 mM KCl, 1,2 mM CaCl₂ и 1,2 mM MgCl₂, при скорости потока 1,5 мкл/мин. Образцы для микродиализа отбирали с интервалами 20 мин с помощью автоматического коллектора фракций (820 Microsampler, Univentor, Мальта или аналогичный) в минифлаконы, содержащие по 10 мкл 0,02 M муравьиной кислоты (FA) и 0,04% аскорбиновой кислоты в ультраочищенной H₂O. В момент времени t=-30 мин вводили наполнитель или ингибитор КМО, чтобы подтвердить центральное и периферическое ингибирование КМО в момент введения кинуренина. В момент времени t=0 вводили наполнитель или кинуренин. Образцы микродиализата отбирали в течение 240 мин после введения кинуренина. Все образцы после диализа хранили при температуре -80°C перед проведением анализа. Уровни любых или всех метаболитов ПК-KYN, KYNA, 3-ОН-KYN, AA и QA, - в диализатах количественно определяли методом ЖХ-МС/МС с привлечением компании Brains On-Line. После проведения эксперимента мышей умерщвляли, и образцы терминальной области головного мозга (стриатум+кора), печени, почек, плазмы и СМЖ отбирали для анализа метаболитов ПК. Уровни метаболитов ПК измеряли в образцах терминальной области головного мозга (стриатум+кора), печени, почек, плазмы и СМЖ с привлечением компании Brains On-Line. Наконец, уровни кинуренина и ингибиторов КМО в образцах дозированных составов количественно определяли с привлечением компании Brains On-Line.

Пример 11.

Раскрыт способ изучения модулирования KYN, KYNA, AA и 3-НК посредством ингибирования КМО Соединением 6 во внеклеточном пространстве стриатума. Более конкретно, целью данного эксперимента была демонстрация дозозависимых различий повышения уровня центральных метаболитов ПК (KYN, KYNA, AA, 3-НК) при введении различных уровней соединения 6 в головном мозге животного. После процедуры микродиализа, описанной в настоящей заявке, уровни метаболитов ПК-KYN, KYNA, 3-НК и AA - в диализате количественно определяли методом ЖХ-МС/МС с привлечением компании Brains On-Line.

Проводили микродиализ после п.о. (перорального) введения соединения 6 в различных уровнях доз (3 мг/кг, 10 мг/кг или 30 мг/кг). Было показано, что соединение 6 вызывало дозозависимое увеличение уровня KYN (см. фиг. 1), а также защитных метаболитов KYNA (см. фиг. 2) и AA (см. фиг. 3) в стриатуме мыши, в то время как в отношении вредного метаболита 3-НК наблюдался незначительный эффект либо отсутствие эффекта (см. фиг. 4).

Пример 12.

Раскрыт способ изучения модулирования уровня метаболитов ПК у животных HD, аналогичных контролям ДТ (дикого типа). Более конкретно, целью данного эксперимента была демонстрация того, что соединение 6 модулирует различия при повышении уровня KYNA в головном мозге животного. После процедуры микродиализа, описанной в настоящей заявке, уровни метаболита ПК KYNA в диализате количественно определяли методом ЖХ-МС/МС с привлечением компании Brains On-Line.

Проводили микродиализ после п.о. введения соединения 6 в концентрации 3 мг/кг или 10 мг/кг. Было показано, что соединение 6 увеличивает KYNA как у животных ДТ (см. фиг. 5), так и у животных HD (см. фиг. 6), причем разница между данными двумя группами была незначительной.

Пример 13.

Раскрыт способ изучения фармакодинамических эффектов кинуренина (30 мг/кг, п.о.) и соединения 6 (30 мг/кг, п.о.), которые вводили совместно или вводили независимо, на внеклеточные уровни KYN, KYNA, 3-ОН-KYN, AA и QA в стриатуме (STR) взрослых самцов мышей ДТ. Более конкретно, целью данного эксперимента была демонстрация различий при повышении уровня центрального метаболита ПК при введении кинуренина по сравнению с введением ингибитора КМО, который, как ожидается, блокирует катаболизм кинуренина на этапе, который расположен после КМО, в головном мозге животного.

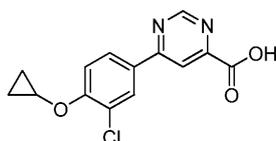
После проведения микродиализа после п.о. введения соединения (30 мг/кг, п.о.) осуществляли совместное введение соединения 6 (30 мг/кг, п.о.) или кинуренина и соединения 6 (30 мг/кг, каждый п.о.). Было показано, что соединение 6 увеличивает KYN (см. фиг. 7), а также защитные метаболиты KYNA (см. фиг. 8) и AA (см. фиг. 9) в стриатуме мышей, в то время как кинуренин сам по себе оказывал незначительный эффект или не оказывал эффекта на данные метаболиты. Более того, п.о. введение соединения 6 блокирует токсичные метаболиты 3-ОН-KYN (см. фиг. 10) и QA (см. фиг. 11), тогда как введение ки-

нуренина увеличивает уровень данных метаболитов в связи с катаболизмом кинуренина в головном мозге мыши.

Несмотря на то, что были показаны и описаны некоторые варианты реализации настоящего изобретения, в пределах духа и объема настоящего изобретения возможны различные модификации и замены. Например, при толковании пунктов формулы изобретения не предполагается, что формулу изобретения, изложенную ниже, следует толковать каким-либо более узким способом, чем буквальный язык указанной формулы изобретения, и, таким образом, не предполагается, что примеры вариантов реализации из спецификации должны быть включены в формулу изобретения. Соответственно, следует понимать, что настоящее изобретение было описано в качестве иллюстрации, а не для ограничения объема формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения нарушения, связанного с ВИЧ, у субъекта, инфицированного ВИЧ, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения формулы

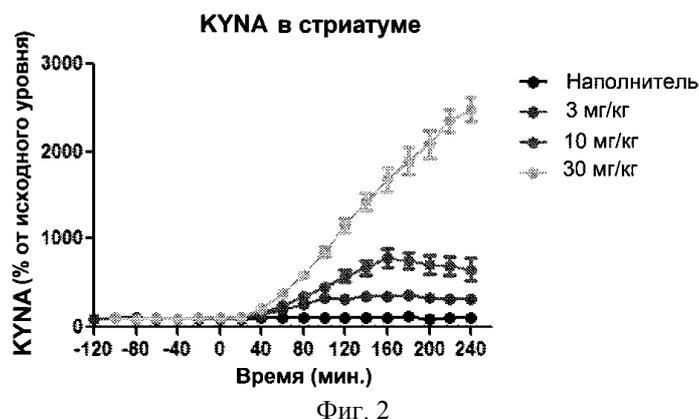
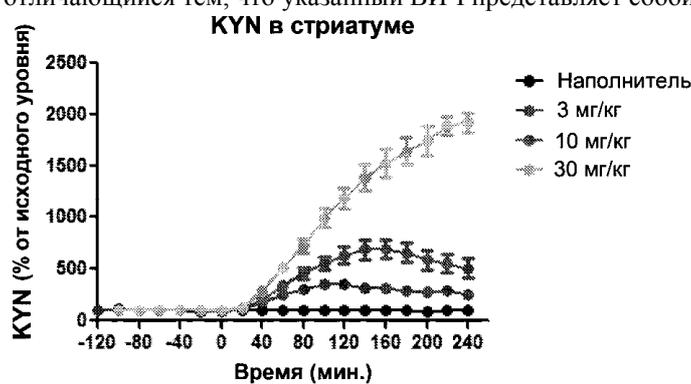


или фармацевтически приемлемой соли указанного соединения; с последующим введением указанному субъекту противовирусного агента, выбранного из эмтрицитабина, ралтегравира, дарунавира, тенофовира алафенамида фумарата, эмтрицитабина/тенофовира, тенофовира дизопроксила и их комбинаций.

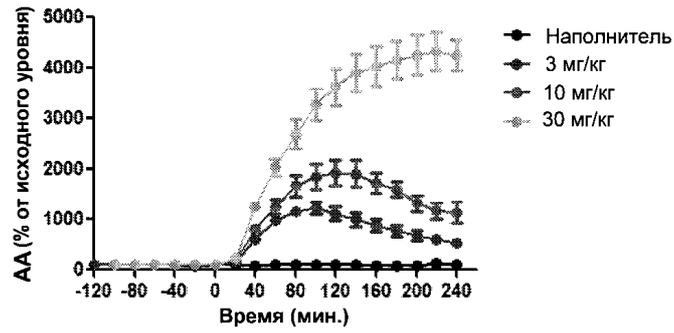
2. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанное соединение или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения и указанный противовирусный агент совместно упакованы в один контейнер или в несколько контейнеров в одной внешней упаковке.

3. Способ по любому из пп.1-2, отличающийся тем, что указанный ВИЧ представляет собой ВИЧ-1.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что указанный ВИЧ представляет собой ВИЧ-1 группы М.

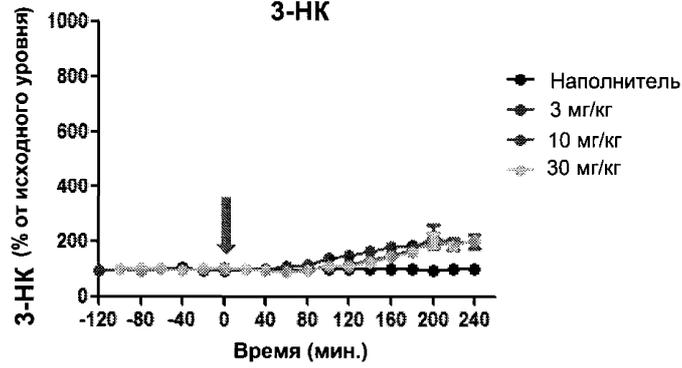


АА в стриатуме



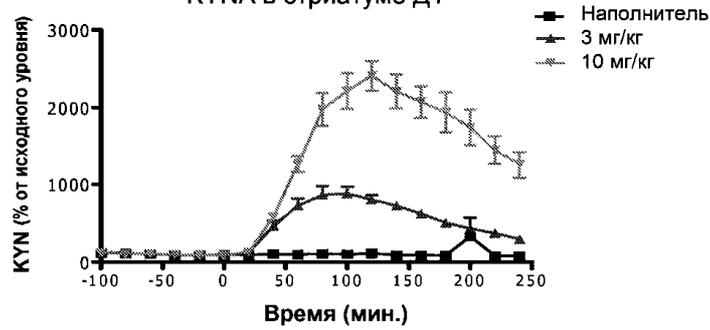
Фиг. 3

3-НК



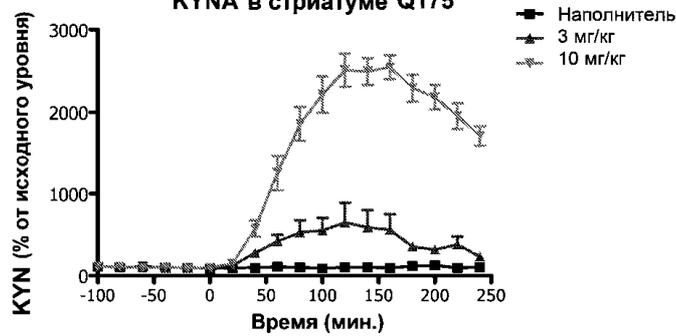
Фиг. 4

КУНА в стриатуме ДТ

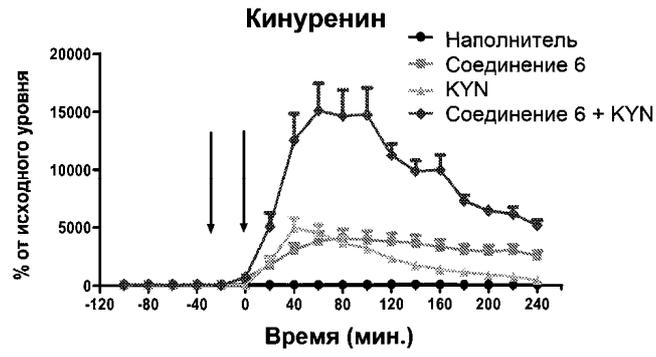


Фиг. 5

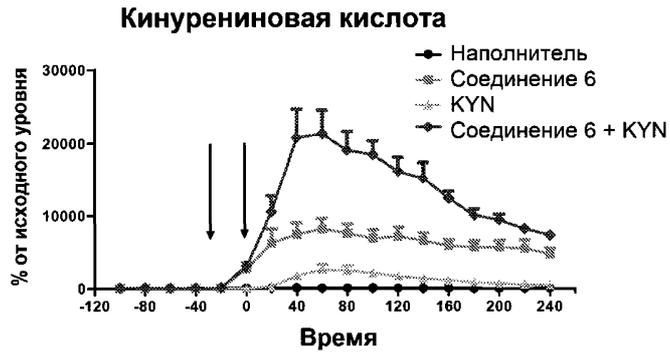
КУНА в стриатуме Q175



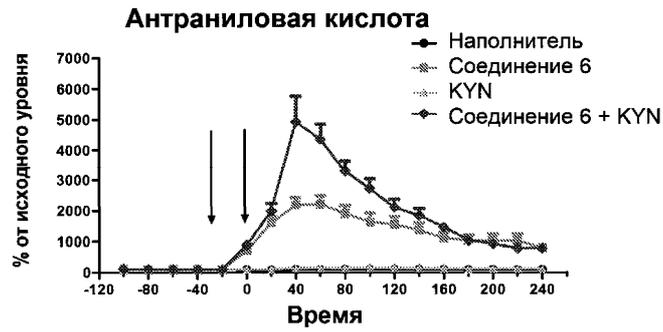
Фиг. 6



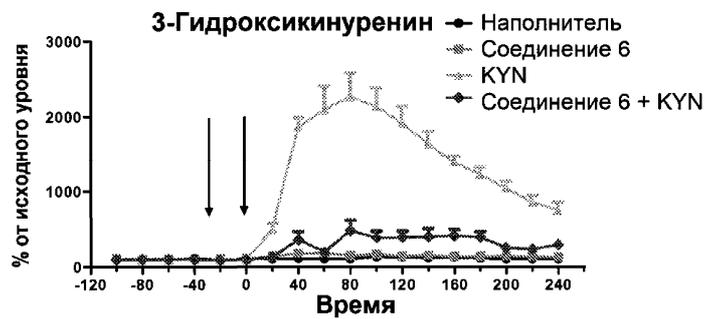
Фиг. 7



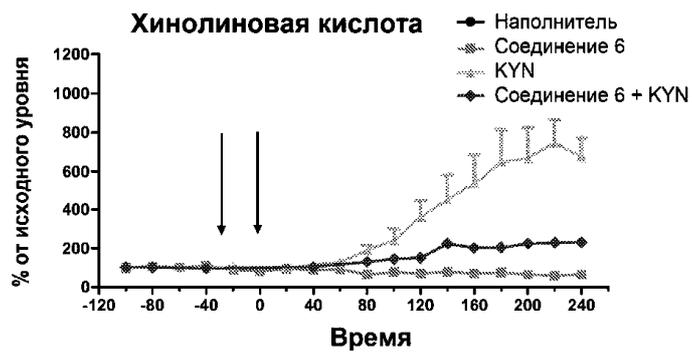
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11

