

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202091028 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.09.09

(51) Int. Cl. C07D 231/12 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 213/26 (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.10.24

(54) АРОМАТИЧЕСКИЕ СУЛЬФОНАМИДНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

(31) 17199070.8

(72) Изобретатель:
Хауфф Петер, Вернер Штефан (DE)

(32) 2017.10.29

(33) EP

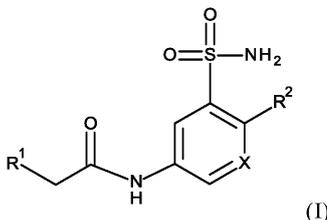
(74) Представитель:
Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)

(86) PCT/EP2018/079145

(87) WO 2019/081573 2019.05.02

(71) Заявитель:
БАЙЕР АКЦИЕНГЕЗЕЛЬШАФТ
(DE)

(57) Соединение формулы (I)



или N-оксид, соль, гидрат, сольват, таутомер или стереоизомер указанного соединения, или соль указанного N-оксида, таутомера или стереоизомера для применения для лечения или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

A1

202091028

202091028

A1

АРОМАТИЧЕСКИЕ СУЛЬФОАМИДНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

5

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение относится к замещенным ароматическим сульфонамидам формулы (I), как описано и определено в данном документе, к фармацевтическим композициям и комбинациям, содержащим указанные соединения, и к применению указанных соединений для получения фармацевтической композиции для лечения или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга. Настоящее изобретение, как описано и определено в данном документе, относится к фармацевтическим композициям и комбинациям, содержащим активный компонент, который является антагонистом или отрицательным аллостерическим модулятором P2X₄ для лечения или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга. Такие соединения применяют для производства фармацевтической композиции для лечения или профилактики заболеваний, в частности, у млекопитающих, таких как, но не ограничиваясь ими, заболевания, связанные с нейрональными повреждениями и воспалением в головном или спинном мозге, повреждение спинного мозга или ишемическая травма головного мозга, как таковые, в качестве единственного средства или в комбинации с другими активными компонентами.

25

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Аденозинтрифосфат АТФ является широко известным в качестве важного нейротрансмиттера, который вовлечен в различные физиологические и патофизиологические функции, действуя через различные подтипы пуриnergических рецепторов (Burnstock 1993, Drug Dev Res 28:196-206; Burnstock 2011, Prog Neurobiol 95:229-274). На сегодняшний день были клонированы семь членов семейства P2X, включая P2X₁₋₇ (Burnstock 2013, Front Cell Neurosci 7:227). P2X₄ рецептор представляет собой управляемый лигандами

30

ионный канал, который экспрессируется на клетках множества типов, которые, как в основном известно, вовлечены в воспалительные/иммунные процессы, включая, в частности, моноциты, макрофаги, тучные клетки и клетки микроглии (Wang и др., 2004, *BMC Immunol* 5:16; Brone и др., 2007 *Immunol Lett* 113:83-89).

5 Как известно, активация P2X4 посредством внеклеточной АТФ приводит, помимо прочего, к высвобождению провоспалительных цитокинов и простагландинов (PGE2) (Bo и др., 2003 *Cell Tissue Res* 313:159-165; Ulmann и др., 2010, *EMBO Journal* 29:2290-2300; de Ribero Vaccari и др., 2012, *J Neurosci* 32:3058-3066).

10 Было изучено участие выбранных рецепторов P2X для внеклеточного АТФ с начала гибели нейрональных клеток, вызванной недостатком глюкозы/кислорода. Исследования *in vitro* органотипических культур из гиппокампа показали, что P2X2 и P2X4 были усилены недостатком глюкозы/кислорода. Кроме того, было показано, что ишемические состояния
15 индуцировали специфическую потерю нейронов не только в гиппокампе, но также в кортикальных и стриарных органотипических культурах, и антагонисты P2-рецепторов Basilen Blue и сурамин предотвращали эти вредные эффекты. Кроме того, условия, вызванные гипоксией, подтверждают индукцию рецепторов P2X в гиппокампе песчанок в эксперименте *in vivo*, которые
20 подвергались двусторонней общей окклюзии сонной артерии. В частности, белки P2X2 и P2X4 значительно активировались, хотя и в разной степени и в разных клеточных фенотипах. Индукция ограничивалась слоем пирамидальных клеток подполя CA1 и переходной зоной подполя CA2 и совпадала с областью повреждения нейронов. P2X2 экспрессировался в телах нервных клеток и в
25 волокнах в слое пирамидальных клеток CA1 и в *strata oriens* и *radiatum*. Интенсивная иммунофлюоресценция P2X4 была локализована в клетках микроглии. (F. Cavaliere и др., *Neuroscience* 120 (2003) 85–98).

На модели преждевременной гипоксии-ишемии у постнатальных крыс 3-го дня было охарактеризовано, как изменяется экспрессия пуриновых ионотропных
30 рецепторов P2X4 в мозге после инсульта. После гипоксии-ишемии экспрессия рецептора P2X4 значительно увеличилась и была связана с поздним увеличением экспрессии ионизированный кальций-связывающего белка адаптерной молекулы 1, указывающей на активацию клеток микроглии. Миноциклин, мощный ингибитор микроглии, ослабляет увеличение экспрессии

рецептора P2X₄, вызванное гипоксией-ишемией. (Julie A. Wixey и др., *Journal of Neuroimmunology* 212 (2009) 35–43). Обзор того, что известно об экспрессии P2X₄ в ЦНС и доказательства патофизиологической роли в нейровоспалении и невропатической боли рассматриваются в «Функция рецептора P2X₄ в нервной системе и современные прорывы в фармакологии» (L. Stokes и др., *Frontiers in Pharmacology*, May 2017 | Volume 8 | Article 291)

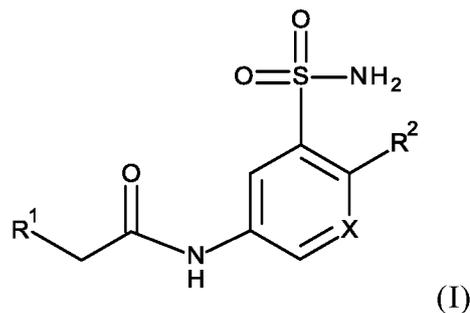
WO2015/088564 и WO2015/088565 обеспечивают модулирующие P2X₄ рецептор соединения, способы их синтеза, фармацевтические композиции, содержащие данные соединения, и способы их применения. Указанные модулирующие P2X₄ рецептор соединения являются полезными для лечения, предотвращения и/или ведения различных нарушений, включая, но не ограничиваясь ими, хроническую боль, невропатию, воспалительные заболевания и расстройства центральной нервной системы.

В известном уровне техники отсутствует какая-либо информация касательно замещенных ароматических сульфонамидов общей формулы (I), как описано и определено в данном документе, для применения указанных соединений для получения фармацевтической композиции для лечения или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга, в качестве единственного средства или в комбинации с другими активными компонентами.

Таким образом, ингибиторы P2X₄ настоящего изобретения представляют собой ценные соединения, которые должны дополнять терапевтические возможности либо в качестве единственных средств, либо в комбинации с другими препаратами.

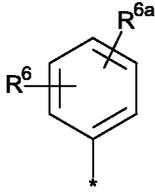
ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I)



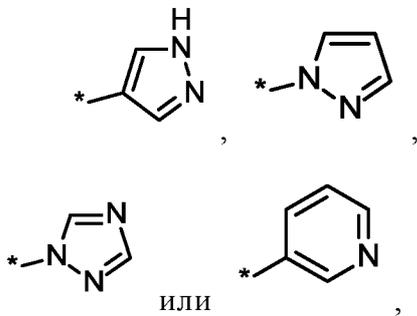
X представляет собой C или N

R¹ представляет собой



где * обозначает место присоединения указанной группы к остальной части
5 молекулы, и R⁶, R^{6a} представляют собой независимо друг от друга фтор, хлор, метокси или водород;

R² представляет собой



10 где * обозначает место присоединения указанной группы к остальной части молекулы и указанная группа необязательно замещена 1-2 раза посредством R¹¹, которые, независимо друг от друга, являются одинаковыми или различными;

R¹¹ представляют собой, независимо друг от друга, галоген, циано, C₁-C₄-алкил, C₁-C₄-галогеналкил, C₁-C₄-гидроксиалкил, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₄-галогеналкокси, (C₁-C₃-алкокси)-этил-, метокси-этил-, C₃-C₆-циклоалкил;

или N-оксид, соль, гидрат, сольват, таутомер или стереоизомер указанного соединения, или соль указанного N-оксида, таутомера или стереоизомера для применения для лечения или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ),
20 геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

Один аспект изобретения касается применения соединения общей формулы I, или его стереоизомера, таутомера, N-оксида, гидрата, сольвата, или соли, в особенности его фармацевтически приемлемой соли, или их смеси для
25 профилактики или лечения ишемии головного мозга, ишемической травмы

головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

Другой аспект изобретения касается применения соединения общей формулы I, или его стереоизомера, таутомера, N-оксида, гидрата, сольвата, или соли, в особенности его фармацевтически приемлемой соли, или их смеси для получения лекарственного средства для профилактики или лечения ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

Ишемия головного мозга может возникать в результате неприобременного повреждения головного мозга, такого как часть генетического или врожденного расстройства, такого как фетальный алкогольный синдром, перинатальное заболевание или перинатальная гипоксия; эти виды ишемии головного мозга обычно приводят к общей ишемии головного мозга, которая обычно поражает весь мозг.

Дальнейшими примерами общей ишемии головного мозга являются те, которые могут возникать в результате приобретенной черепно-мозговой травмы, травмы, возникшей после рождения, которая вызвана различными событиями, такими как гипоксия новорожденных; гипоксия, возникшая, например, из-за тяжелых заболеваний легких или сердца; гипоксия, вызванная несчастными случаями, как например, потеря кислорода во время погружения в воду; инфекционные заболевания мозга (вирусные, бактериальные, паразитарные), которые могут вызвать сильный отек мозга и сильные иммунные реакции в мозге; аутоиммунные реакции; отек мозга по разным причинам, таким как, например, высотная болезнь, злоупотребление опиоидными препаратами, интоксикации, злокачественная гипертензия, локальные закупорки в путях интерстициальной жидкости, или из-за обструкции спинномозговой жидкости (например, обструктивная гидроцефалия).

Ишемия головного мозга также может быть вызвана приобретенной черепно-мозговой травмой и привести к фокальной ишемии головного мозга, при которой ишемическое событие локализуется в определенной области мозга; ишемический инсульт, геморрагический инсульт и черепно-мозговая травма являются приобретенными повреждениями головного мозга, обычно приводящими к фокальной ишемии головного мозга.

В частности, ишемический инсульт - это фокальная ишемия головного мозга, которая связана с одним или несколькими фокальными инфарктами головного мозга в результате полного или частичного нарушения мозгового артериального кровоснабжения, как правило, из-за атеросклеротических поражений или эмболических событий, что приводит к недостатку кислорода и глюкозы в тканях (ишемия). Ишемический инсульт головного мозга определяется в соответствии с Международной классификацией болезней (ICD) как острая фокальная неврологическая дисфункция, вызванная фокальным инфарктом в одном или нескольких участках головного мозга. Свидетельством острого инфаркта может быть либо а) длительность симптома, которая составляет более 24 часов, либо б) нейровизуализация или другая методика в клинически значимой области мозга. (WHO-ICD11:<https://icd.who.int/browse11/l-m/en#/http%3a%2f%2fid.who.int%2f%2ficd%2fentity%2f636274910>).

Геморрагический инсульт возникает из-за внутримозговой или субарахноидальной разорвавшейся аневризмы мозга или ослабленной утечки кровеносных сосудов, которая внезапно приводит к фокальной ишемии с нарушениями функций мозга. Кровь выливается в определенную область мозга или вокруг нее и создает отеки, давление и ишемию, повреждая клетки и ткани мозга.

Наконец, черепно-мозговая травма (ЧМТ) является еще одним заболеванием, которое в основном приводит к фокальной ишемии, которая возникает, когда внешний фактор повреждает мозг. ЧМТ можно классифицировать по степени тяжести (легкая, средняя и тяжелая) и механизму (закрытая или проникающая травма головы). Легкие и умеренные ЧМТ приводят в основном к ушибам головного мозга различной степени, вызывая отек, связанный с ишемией головного мозга. Средние и тяжелые ЧМТ (закрытая и проникающая в череп) приводят скорее к политравматическим травмам (например, разрушение сосудов, внутричерепное кровоотечение, разрушение ткани мозга), которые тесно связаны с ишемическими состояниями в пораженных областях мозга.

Одним из аспектов изобретения являются соединения формулы (I), как описано в примерах, которые характеризуются их названиями в заголовке и их структурами, а также подкомбинациями всех остатков, конкретно раскрытых в соединениях примеров.

Дополнительный аспект изобретения, в особенности, относится к применению 2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамида или его стереоизомера, таутомера, N-оксида, гидрата, сольвата, или соли, в особенности его фармацевтически приемлемой соли, или их смеси для получения лекарственного средства для профилактики или лечения ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

Дополнительным аспектом изобретения являются соединения формулы (I), которые присутствуют в виде их солей, в особенности в виде фармацевтически приемлемых солей.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к парентеральному составу соединения общей формулы I, или его стереоизомера, таутомера, N-оксида, гидрата, сольвата, или соли, в особенности его фармацевтически приемлемой соли, или их смеси. Более особенно настоящее изобретение относится к парентеральному составу 2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамида или его стереоизомера, таутомера, N-оксида, гидрата, сольвата, или соли, в особенности его фармацевтически приемлемой соли.

В соответствии с настоящим изобретением парентеральный состав соединения общей формулы I, и в частности 2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамида или его стереоизомера, таутомера, N-оксида, гидрата, сольвата, или соли, в особенности его фармацевтически приемлемой соли, или их смеси, представляет собой парентеральный состав для внутривенного введения.

Следует понимать, что настоящее изобретение относится к любой подкомбинации в рамках любого варианта осуществления или аспекта настоящего изобретения, касающегося соединений общей формулы (I), как указано выше.

Другой вариант осуществления изобретения представляют собой соединения в соответствии с пунктами формулы изобретения, как раскрыто в разделе "Формула изобретения", где определения ограничены в соответствии с предпочтительными или более предпочтительными определениями, как

раскрыто ниже, или конкретно раскрытыми определениями остатков, приведенных в качестве примеров соединений, и их подкомбинаций.

Определения

Структурные составляющие, которые необязательно замещены, как указано в данном документе, могут быть замещены, если не указано иначе, один или несколько раз, независимо друг от друга в любом возможном положении. Когда любая переменная встречается более одного раза в любой структурной составляющей, каждое определение является независимым. Например, когда R^1 , R^2 , R^6 , R^{6a} , R^{11} , и/или X встречаются более одного раза в любом соединении формулы (I), каждое определение R^1 , R^2 , R^6 , R^{6a} , R^{11} , и X является независимым.

Если структурная составляющая состоит из более чем одной части, например, как в случае C₁-C₄-алкокси-C₁-C₄-алкила-, возможный заместитель может находиться в любой из этих частей в любом подходящем положении. Дефис в начале структурной составляющей указывает точку присоединения к остальной части молекулы. Если кольцо является замещенным, заместитель может быть в любом подходящем положении кольца, а также на кольцевом атоме азота, если это является подходящим.

Кроме того, структурную составляющую, состоящую из более чем одной части и содержащую несколько химических остатков, например, C₁-C₄-алкокси-C₁-C₄-алкил или фенил-C₁-C₄-алкил, читают слева направо, и полагают, что точка присоединения к остальной части молекулы находится на последней части (в упомянутом ранее примере - на C₁-C₄-алкильном остатке).

Термин "содержащий", используемый в описании, включает "состоящий из".

Если в рамках описания речь идет о том, "как упомянуто выше" или о "упомянутом выше", это относится к любому из раскрытий, сделанных в рамках описания на любой из предыдущих страниц.

Термин "подходящий" в контексте настоящего изобретения означает возможность получения химическим путем с помощью способов в пределах знаний специалиста в данной области.

Термины, упомянутые в настоящем тексте, предпочтительно имеют следующие значения:

Термин "галоген", "атом галогена", "галоген-" или "Hal-" следует понимать как означающий атом фтора, хлора, брома или йода, предпочтительно атом фтора или хлора.

Термин "C₁-C₄-алкил" следует понимать как предпочтительно означающий
5 линейную или разветвленную, насыщенную, одновалентную углеводородную группу, содержащую 1, 2, 3 или 4 атома углерода, например, метильную, этильную, пропильную, бутильную, изопропильную, изобутильную, *втор*-бутильную, *трет*-бутильную группу, в частности, 1, 2 или 3 атома углерода ("C₁-C₃-алкил"), например, метильную, этильную, *n*-пропильную или
10 изопропильную группу.

Термин "C₁-C₄-галогеналкил" следует понимать как предпочтительно означающий линейную или разветвленную, насыщенную, одновалентную углеводородную группу, где термин "C₁-C₄-алкил" определен выше, и в которой один или несколько атомов водорода заменены на атомы галогена, одинаково
15 или по-разному, т.е. один атом галогена является независимым от другого. В частности, указанный атом галогена представляет собой F. Указанная C₁-C₄-галогеналкильная группа представляет собой, например, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -CF₂CF₃, или -CH₂CF₃.

Термин "C₁-C₄-алкокси" следует понимать как предпочтительно
20 означающий линейную или разветвленную, насыщенную, одновалентную, углеводородную группу формулы -O-алкил, где термин "алкил" определен выше, например, метокси, этокси, *n*-пропокси, изопропокси, *n*-бутокси, изобутокси, *трет*-бутокси или *втор*-бутокси группу, или ее изомер.

Термин "C₁-C₄-галогеналкокси" следует понимать как предпочтительно
25 означающий линейную или разветвленную, насыщенную, одновалентную C₁-C₄-алкокси группу, как определено выше, в которой один или несколько атомов водорода заменены, одинаково или по-разному, на атомы галогена. В частности, указанный атом галогена представляет собой F. Указанная C₁-C₄-галогеналкокси группа представляет собой, например, -OCF₃, -OCHF₂, -OCH₂F, -OCF₂CF₃ или
30 -OCH₂CF₃.

Термин "C₁-C₄-гидроксиалкил" следует понимать как означающий линейную или разветвленную, насыщенную, одновалентную углеводородную группу, где термин "C₁-C₄-алкил" определен выше, и в которой один или несколько атомов водорода заменены на гидроксигруппы, например,

гидроксиметильную, 1-гидроксиэтильную, 2-гидроксиэтильную, 1,2-дигидроксиэтильную, 3-гидроксипропильную, 2-гидроксипропильную, 2,3-дигидроксипропильную, 1,3-дигидроксипропан-2-ильную, 3-гидрокси-2-метилпропильную, 2-гидрокси-2-метилпропильную, 1-гидрокси-2-метилпропильную группу.

Термин "C₃-C₆-циклоалкил" следует понимать как означающий насыщенное, одновалентное, моно- или бициклическое углеводородное кольцо, которое содержит 3, 4, 5 или 6 атомов углерода ("C₃-C₆-циклоалкил"). Указанная C₃-C₆-циклоалкильная группа представляет собой, например, моноциклическое углеводородное кольцо, например, циклопропильное, циклобутильное, циклопентильное или циклогексильное кольцо, или бициклическое углеводородное кольцо.

Термин "C₁-C₄", используемый по всему данному тексту, например, в контексте определения "C₁-C₄-алкил", "C₁-C₄-галогеналкил", "C₁-C₄-алкокси", или "C₁-C₄-галогеналкокси", следует понимать как означающий алкильную группу, содержащую конечное число атомов углерода от 1 до 4, т.е. 1, 2, 3 или 4 атома углерода. Кроме того, следует понимать, что указанный термин "C₁-C₄" следует интерпретировать как любой содержащийся в нем поддиапазон, например, C₁-C₄, C₂-C₄, C₃-C₄, C₁-C₂, C₁-C₃, в частности, C₁-C₂, C₁-C₃, C₁-C₄, в случае "C₁-C₆-галогеналкила" или "C₁-C₄-галогеналкокси", в особенности C₁-C₂.

Кроме того, термин "C₃-C₆", используемый по всему данному тексту, например, в контексте определения "C₃-C₆-циклоалкила", следует понимать как означающий циклоалкильную группу, содержащую конечное число атомов углерода от 3 до 6, т.е. 3, 4, 5 или 6 атомов углерода. Кроме того, следует понимать, что указанный термин "C₃-C₆" следует интерпретировать как любой содержащийся в нем поддиапазон, например, C₃-C₆, C₄-C₅, C₃-C₅, C₃-C₄, C₄-C₆, C₅-C₆; в особенности C₃-C₆.

Термин "замещенный" означает, что один или несколько атомов водорода на обозначенном атоме заменены на заместители, выбранные из указанной группы, при условии, что нормальная валентность обозначенного атома при существующих обстоятельствах не превышает, и что замещение приводит к стабильному соединению. Допустимы только такие комбинации заместителей и/или переменных, которые приводят к получению стабильных соединений.

Термин "необязательно замещенный" означает необязательное замещение оговоренными группами, радикалами или фрагментами.

Заместитель кольцевой системы означает заместитель, присоединенный к ароматической или неароматической кольцевой системе, который, например,
5 заменяет доступный водород в кольцевой системе.

Используемый в настоящей заявке термин "один или несколько", например, в определении заместителей соединений общих формул настоящего изобретения, понимают как означающий "один, два, три, четыре или пять, в частности, один, два, три или четыре, более конкретно один, два или три, еще
10 более конкретно один или два".

Изобретение также включает все подходящие изотопные варианты соединения изобретения. Изотопный вариант соединения изобретения определяется как таковой, в котором по меньшей мере один атом заменен на атом, имеющий тот же атомный номер, но атомную массу, отличающуюся от
15 атомной массы, обычно или преимущественно встречаемой в природе. Примеры изотопов, которые могут быть введены в соединение изобретения, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора, хлора, брома и йода, такие как ^2H (дейтерий), ^3H (тритий), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{33}S , ^{34}S , ^{35}S , ^{36}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I и ^{131}I , соответственно.
20 Определенные изотопные варианты соединения изобретения, например, те, в которые введено один или несколько радиоактивных изотопов, таких как ^3H или ^{14}C , являются пригодными для исследований распределения в тканях лекарства и/или субстрата. Меченные тритием и углеродом-14, т.е., изотопом ^{14}C , соединения особенно предпочтительны из-за их легкости получения и
25 способности к обнаружению. Кроме того, замещение изотопами, такими как дейтерий, может приводить к определенным терапевтическим преимуществам в результате более высокой метаболической стабильности, например, увеличенному *in vivo* периоду полураспада или сниженным необходимым дозам и поэтому может быть предпочтительным при некоторых обстоятельствах.
30 Изотопные варианты соединения изобретения как правило, могут быть получены с помощью обычных методик, известных специалисту в данной области техники, например, с помощью иллюстративных методов или с помощью синтезов, описанных в примерах ниже, используя соответствующие изотопные варианты подходящих реагентов.

Если в настоящей заявке используется форма множественного числа для слова соединения, соли, полиморфы, гидраты, сольваты и т.п., то это также следует понимать как одно соединение, соль, полиморф, изомер, гидрат, сольват или т.п.

5 Под "стабильным соединением" или "стабильной структурой" подразумевают соединение, которое достаточно устойчиво, чтобы выдержать выделение до пригодной степени чистоты из реакционной смеси, и приготовление из него эффективного терапевтического средства.

10 Соединения изобретения могут содержать один или несколько асимметричных центров, в зависимости от местоположения и природы различных желаемых заместителей. Асимметричные атомы углерода могут присутствовать в (R) или (S) конфигурации, что приводит к рацемическим смесям в случае одного асимметричного центра, и диастереомерным смесям в случае нескольких асимметричных центров. В некоторых случаях асимметрия
15 также может присутствовать из-за ограниченного вращения вокруг данной связи, например, центральной связи, прилегающей к двум замещенным ароматическим кольцам оговоренных соединений.

Заместители на кольце также могут присутствовать либо в *цис*-, либо в *транс*-форме. Предполагается, что все такие конфигурации (включая
20 энантиомеры и диастереомеры), включены в рамки настоящего изобретения.

Предпочтительными соединениями являются те, которые продуцируют более желательную биологическую активность. Отделенные, чистые или частично очищенные изомеры и стереоизомеры или рацемические или диастереомерные смеси соединений настоящего изобретения также включены в
25 рамки настоящего изобретения. Очистку и разделение таких веществ можно осуществить с помощью стандартных методов, известных в данной области техники.

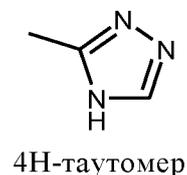
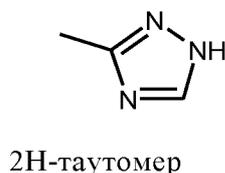
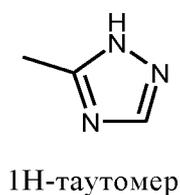
Оптические изомеры можно получить путем разделения рацемических смесей в соответствии с обычными способами, например, путем образования
30 диастереоизомерных солей с использованием оптически активной кислоты или основания, или образования ковалентных диастереомеров. Примерами пригодных кислот являются винная, диацетилвинная, дитолуоилвинная и камфорсульфоновая кислота. Смеси диастереоизомеров могут быть разделены на их отдельные диастереомеры на основе их физических и/или химических

различий с помощью методов, известных в данной области, например, с помощью хроматографии или фракционной кристаллизации. Оптически активные основания или кислоты затем высвобождают из разделенных диастереомерных солей. Иной способ разделения оптических изомеров включает использование хиральной хроматографии (например, хиральных ВЭЖХ колонок), с обычной дериватизацией, оптимально выбранной для максимального разделения энантиомеров, или без нее. Подходящие хиральные ВЭЖХ колонки производит фирма Diacel, например, Chiracel OD и Chiracel OJ, среди многих других, обычно выбираемых. Также пригодны методы ферментативного разделения, с дериватизацией или без нее. Оптически активные соединения настоящего изобретения также можно получить с помощью хирального синтеза, использующего оптически активные исходные вещества.

С целью разграничить друг от друга различные типы изомеров, дается ссылка на правила ИЮПАК, раздел E (Pure Appl Chem 45, 11-30, 1976).

Настоящее изобретение включает все возможные стереоизомеры соединений настоящего изобретения в виде отдельных стереоизомеров, или в виде любой смеси указанных стереоизомеров, например, R- или S- изомеров, или E- или Z-изомеров, в любом соотношении. Выделения отдельного стереоизомера, например, отдельного энантиомера или отдельного диастереомера, соединения настоящего изобретения можно достичь с помощью любого подходящего метода уровня техники, такого как, например, хроматография, в особенности, хиральная хроматография.

Кроме того, соединения настоящего изобретения могут существовать в виде таутомеров. Например, любое соединение настоящего изобретения, которое в качестве гетероарильной группы содержит, например, пиразольный фрагмент, может существовать в виде 1Н таутомера или 2Н таутомера, или даже смеси любых количеств двух таких таутомеров, а которое содержит, например, триазольный фрагмент - в виде 1Н таутомера, 2Н таутомера или 4Н таутомера, или даже смеси любых количеств указанных 1Н, 2Н и 4Н таутомеров, а именно:



Настоящее изобретение включает все возможные таутомеры соединений настоящего изобретения в виде отдельных таутомеров, или в виде любой смеси указанных таутомеров, в любом соотношении.

5 Кроме того, соединения настоящего изобретения могут существовать в виде N-оксидов, которые определяются тем, что по меньшей мере один атом азота соединений настоящего изобретения окислен. Настоящее изобретение включает все такие возможные N-оксиды.

10 Настоящее изобретение также относится к пригодным формам соединений, раскрытых в настоящей заявке, таким как метаболиты, гидраты, сольваты, пролекарства, соли, в частности, фармацевтически приемлемые соли, и продукты совместного осаждения.

15 Соединения настоящего изобретения могут существовать в виде гидрата, или в виде сольвата, где соединения настоящего изобретения содержат полярные растворители, в частности, воду, метанол или этанол, например, в качестве структурного элемента кристаллической решетки соединений. Количество полярных растворителей, в частности, воды, может находиться в стехиометрическом или нестехиометрическом соотношении. В случае стехиометрических сольватов, например, гидрата, возможны геми- (полу-),
20 моно-, сескви-, ди-, три-, тетра-, пента- и т.д. сольваты или гидраты, соответственно. Настоящее изобретение включает все такие гидраты или сольваты.

25 Кроме того, соединения настоящего изобретения могут существовать в свободном виде, например, в виде свободного основания, или в виде свободной кислоты, или в виде цвиттериона, или могут существовать в форме соли. Указанная соль может быть любой солью, или органической или неорганической солью присоединения, в частности, любой фармацевтически приемлемой органической или неорганической солью присоединения, обычно используемой в фармацевтическом деле.

30 Термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к относительно нетоксичной соли присоединения неорганической или органической кислоты к соединению настоящего изобретения. Например, см. S. M. Berge, и др. "Pharmaceutical Salts" J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19.

Подходящая фармацевтически приемлемая соль соединений настоящего изобретения может представлять собой, например, соль присоединения кислоты к соединению настоящего изобретения, несущему атом азота, например, в цепи или в кольце, который является достаточно основным, такую как соль присоединения с неорганической кислотой, такой как, например, соляная, бромистоводородная, йодистоводородная, серная, бисерная, фосфорная или азотная кислота, или с органической кислотой, такой как, например, муравьиная, уксусная, ацетоуксусная, пировиноградная, трифторуксусная, пропионовая, масляная, гексановая, гептановая, ундекановая, лауриновая, бензойная, салициловая, 2-(4-гидроксибензоил)-бензойная, камфорная, коричная, циклопентанпропионовая, диглюконовая, 3-гидрокси-2-нафтойная, никотиновая, памоевая, пектиновая, надсерная, 3-фенилпропионовая, пикриновая, пивалева, 2-гидроксиэтансульфоновая, итаконовая, сульфаминовая, трифторметансульфоновая, додецилсерная, этансульфоновая, бензолсульфоновая, *пара*-толуолсульфоновая, метансульфоновая, 2-нафталинсульфоновая, нафталиндисульфоновая, камфорсульфоновая кислота, лимонная, винная, стеариновая, молочная, щавелевая, малоновая, янтарная, яблочная, адипиновая, альгиновая, малеиновая, фумаровая, D-глюконовая, миндальная, аскорбиновая, глюкогептановая, глицерофосфорная, аспарагиновая, сульфосалициловая, гемисерная или тиоциановая кислота.

Кроме того, другая подходящая фармацевтически приемлемая соль соединения настоящего изобретения, которое является в достаточной мере кислым, представляет собой соль щелочного металла, например, соль натрия или калия, соль щелочноземельного металла, например, соль кальция или магния, соль аммония или соль с органическим основанием, которое дает физиологически приемлемый катион, например, соль с N-метилглюкамином, диметилглюкамином, этилглюкамином, лизином, дициклогексиламином, 1,6-гексадиамином, этаноламином, глюкозамином, саркозином, сериолом, трис-гидроксиметиламинометаном, аминопропандиолом, основанием Совака, 1-амино-2,3,4-бутантриолом. Кроме того, группы, содержащие основной азот, могут быть кватернизованы такими реагентами, как низшие алкилгалогениды, такие как метил-, этил-, пропил- и бутил-хлориды, -бромиды и -йодиды; диалкилсульфаты, подобные диметил-, диэтил- и дибутил-сульфату; и диамилсульфаты; длинноцепочечные галогениды, такие как децил-, лаурил-,

миристил- и стеарил-хлориды, -бромиды и -йодиды; аралкилгалогениды, подобные бензил- и фенетил-бромидам, и другие.

Специалисты в данной области техники далее признают, что соли присоединения кислот к заявленным соединениям могут быть получены по реакции соединений с пригодной неорганической или органической кислотой с помощью любого из ряда известных способов. Альтернативно, соли щелочных и щелочноземельных металлов с кислыми соединениями изобретения получают по реакции соединений изобретения с пригодным основанием с помощью множества известных методов.

Настоящее изобретение включает все возможные соли соединений настоящего изобретения в виде отдельных солей, или в виде любой смеси указанных солей, в любом соотношении.

В настоящем тексте, в частности, в Экспериментальной части, в случае описания синтеза промежуточных соединений и соединений - примеров настоящего изобретения, когда соединение упоминается в форме соли с соответствующим(-ей) основанием или кислотой, точный стехиометрический состав указанной формы соли, полученной с помощью соответствующего способа получения и/или очистки, в большинстве случаев не раскрыт, т.е. является неизвестным.

Если не указано иное, суффиксы в химических названиях или структурных формулах, как, например, "гидрохлорид", "трифторацетат", "натриевая соль", или " $x \text{ HCl}$ ", " $x \text{ CF}_3\text{COOH}$ ", " $x \text{ Na}^+$ ", следует понимать не в качестве стехиометрической характеристики, а исключительно в качестве указания на форму соли.

Это аналогично применимо и к случаям, в которых промежуточные соединения синтеза или соединения - примеры или их соли были получены с помощью описанных способов получения и/или очистки в виде сольватов, таких как гидраты с (если он определенного типа) неизвестным стехиометрическим составом.

Соли включают нерастворимые в воде и, в частности, растворимые в воде соли.

Кроме того, изобретением охватываются производные соединений формулы (I) и их соли, которые подвергаются превращению в соединения формулы (I) или их соли в биологической системе (биопредшественники или

пролекарства). Указанная биологическая система представляет собой, например, организм млекопитающего, в частности, человека. Биопредшественники, например, подвергаются превращению в соединения формулы (I) или их соли с помощью метаболических процессов.

5 Кроме того, настоящее изобретение включает все возможные кристаллические формы, или полиморфы, соединений настоящего изобретения, либо в виде отдельного полиморфа, либо в виде смеси из более чем одного полиморфа, в любом соотношении.

10 В контексте свойств соединений настоящего изобретения термин "фармакокинетический профиль" означает один единственный параметр или комбинацию параметров, включая проницаемость, биодоступность, воздействие и фармакодинамические параметры, такие как продолжительность или величина фармакологического действия, измеренные в подходящем эксперименте. Соединения с улучшенным фармакокинетическим профилем, например, могут
15 применяться в более низких дозах для достижения одного и того же действия, могут обеспечить более длительное действие, либо могут обеспечить комбинацию обоих действий.

В настоящее время было обнаружено, и это составляет основу настоящего изобретения, что указанные соединения настоящего изобретения имеют
20 неожиданные и полезные свойства.

В частности, неожиданно было обнаружено, что соединения в соответствии с настоящим изобретением эффективно действуют в качестве антагониста или отрицательного аллостерического модулятора P2X₄ для лечения ишемического инсульта.

25 Аллостерический модулятор представляет собой вещество, которое опосредованным путем влияет (модулирует) на действия агониста или обратного агониста в отношении целевого белка, например, рецептора. Аллостерические модуляторы связываются с сайтом, отличным от сайта связывания ортостерического агониста. Обычно они индуцируют конформационное
30 изменение в структуре белка. Отрицательный модулятор (NAM) ослабляет действия ортостерического лиганда, но неактивен в отсутствие ортостерического лиганда.

Промышленная применимость и медицинские показания

Как упомянуто выше, неожиданно было обнаружено, что соединения настоящего изобретения эффективно действуют в качестве антагониста или отрицательного аллостерического модулятора P2X₄.

5 Соединение общей формулы (I), или N-оксид, соль, таутомер или стереоизомер указанного соединения, или соль указанного N-оксида, таутомера или стереоизомера в особенности их фармацевтически приемлемая соль, или их смесь, как описано и определено в данном документе, подходит для применения для лечения или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы
10 головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, или повреждения спинного мозга.

Настоящее изобретение также относится к способу применения соединения общей формулы (I) или N-оксида, соли, таутомера или стереоизомера указанного соединения, или соли указанного N-оксида, таутомера или стереоизомера, в
15 особенности его фармацевтически приемлемой соли, или их смеси, для лечения нарушений или заболеваний, связанных с болью и воспалением у млекопитающих.

Термин "лечить" или "лечение", как он указан в данном документе, использован традиционно, например, подразумевает ведение пациента или уход
20 за ним с целью борьбы с состоянием, облегчения, уменьшения, освобождения, улучшения состояния, и т.д., заболевания или нарушения

Предпочтительно, способ лечения заболеваний, упомянутых выше, не ограничивается лечением указанных заболеваний, а также включает лечение боли и воспаления, которые относятся к указанным заболеваниям или связаны с
25 ними.

Фармацевтические композиции соединений изобретения

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим одно или несколько соединений настоящего изобретения. Эти композиции могут быть использованы для достижения
30 желательного фармакологического действия путем введения пациенту, который нуждается в этом. Пациент, для целей настоящего изобретения, является млекопитающим, включая человека, который нуждается в лечении специфического состояния или болезни.

Поэтому, настоящее изобретение включает фармацевтические композиции, которые содержат фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное средство и фармацевтически эффективное количество соединения, или его соль, настоящего изобретения.

5 Другим аспектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически эффективное количество соединения формулы (I) и фармацевтически приемлемое вспомогательное средство для лечения заболевания, упомянутого выше.

Фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное средство 10 предпочтительно представляет собой носитель, который нетоксичен и безвреден для пациента при концентрациях, соответствующих эффективной активности активного компонента таким образом, чтобы любые побочные действия, приписываемые носителю, не искажали благоприятные воздействия активного компонента. Носители и вспомогательные средства представляют собой все 15 типы добавок, способствующие композиции быть подходящей для введения.

Фармацевтически эффективное количество соединения предпочтительно представляет собой то количество, которое приводит к результату или оказывает предполагаемое влияние на специфическое состояние, которое подвергается лечению.

20 Соединения настоящего изобретения можно вводить с фармацевтически приемлемыми носителями или вспомогательными средствами, хорошо известными в данной области, используя любые эффективные обычные единичные дозированные формы, включая препараты с немедленным, замедленным и пролонгированным высвобождением, перорально, 25 парентерально, местно, назально, сублингвально, ректально и т.п.

Для перорального введения соединения могут быть составлены в твердые или жидкие препараты, такие как капсулы, пилюли, таблетки, пастилки, леденцы, плавленные формы, порошки, растворы, суспензии или эмульсии, которые могут быть приготовлены согласно методам, известным в данной 30 области для получения фармацевтических композиций. Твердые дозированные формы могут представлять собой капсулу, которая может быть стандартного желатинового типа с твердой или мягкой оболочкой, содержащую вспомогательные средства, например, поверхностно-активные вещества,

смазывающие вещества и инертные наполнители, такие как лактоза, сахароза, фосфат кальция и кукурузный крахмал.

В другом варианте осуществления соединения настоящего изобретения могут быть таблетированы с обычными таблеточными основаниями, такими как
5 лактоза, сахароза и кукурузный крахмал в комбинации со связывающими веществами, такими как акация, кукурузный крахмал или желатин, дезинтегрирующими средствами, предназначенными для того, чтобы способствовать распаду и растворению таблетки после введения, такими как картофельный крахмал, альгиновая кислота, кукурузный крахмал и гуаровая
10 смола, трагакантовая камедь, акация, смазывающими веществами, предназначенными для улучшения текучести при гранулировании таблеток и для предотвращения прилипания таблеточного вещества на поверхности таблеточного пресса и пуансонов, как, например, тальк, стеариновая кислота или стеарат магния, кальция или цинка, красителями, окрашивающими средствами и
15 ароматизирующими средствами, такими как мята, масло гаультерии или ароматизатор "вишня", предназначенными для того, чтобы повысить эстетические качества таблеток и сделать их более приемлемыми для пациента. Подходящие вспомогательные вещества для использования в пероральных жидких дозированных формах включают фосфат дикальция и разбавители, такие
20 как вода и спирты, например, этанол, бензиловый спирт и полиэтиленовые спирты, или с добавлением фармацевтически приемлемого поверхностно-активного вещества, суспендирующего средства или эмульгирующего средства, или без них. Различные другие вещества могут присутствовать в качестве оболочек или для модификации иным образом физической формы единицы
25 дозирования. Например, таблетки, пилюли или капсулы могут быть покрыты шеллаком, сахаром или и тем, и другим.

Диспергируемые порошки и гранулы являются подходящими для составления водной суспензии. Они обеспечивают активный компонент в смеси с диспергирующим или смачивающим средством, суспендирующим средством и
30 одним или несколькими консервантами. Подходящие диспергирующие или смачивающие средства и суспендирующие средства иллюстрируются уже упомянутыми выше. Могут также присутствовать дополнительные вспомогательные вещества, например, подслащающие, ароматизирующие и окрашивающие средства, описанные выше.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения могут также находиться в виде эмульсий масло-в-воде. Масляная фаза может представлять собой растительное масло, такое как жидкий парафин или смесь растительных масел. Подходящие эмульгирующие средства могут представлять собой (1) природные смолы, такие как гуммиарабик и трагакантовая камедь, (2) природные фосфатиды, такие как фосфатиды соевых бобов и лецитин, (3) сложные эфиры или частичные сложные эфиры, полученные из жирных кислот и гекситол ангидридов, например, сорбитан моноолеат, (4) продукты конденсации указанных частичных сложных эфиров с этиленоксидом, например, полиоксиэтиленсорбитан моноолеат. Эмульсии могут также содержать подслащивающие и ароматизирующие средства.

Масляные суспензии могут быть составлены путем суспендирования активного компонента в растительном масле, таком как, например, арахисовое масло, оливковое масло, сезамовое масло или кокосовое масло, или в минеральном масле, таком как жидкий парафин. Масляные суспензии могут содержать загуститель, такой как, например, воск, твердый парафин или цетиловый спирт. Суспензии могут также содержать один или несколько консервантов, например, этил или *n*-пропил *n*-гидроксibenзоат; одно или несколько окрашивающих средств; одно или несколько ароматических средств; и одно или несколько подслащивающих средств, таких как сахароза или сахарин.

Сиропы и эликсиры могут быть составлены с помощью подслащивающих средств, таких как, например, глицерин, пропиленгликоль, сорбит или сахароза. Такие препараты могут также содержать средство, уменьшающее раздражение, и консервант, такой как метил- и пропилпарабены, и ароматизирующие и окрашивающие средства.

Соединения настоящего изобретения можно также вводить парентерально, то есть, например, подкожно, внутривенно, интраокулярно, интрасиновиально, внутримышечно или интраперитонеально, в виде инъекционных дозировок соединения в предпочтительно физиологически приемлемом разбавителе с фармацевтическим носителем, который может представлять собой стерильную жидкость или смесь жидкостей, таких как вода, физиологический раствор, водные растворы декстрозы и родственных сахаров, спирт, такой как этанол, изопропиловый спирт или гексадециловый спирт, гликоли, такие как пропиленгликоль или полиэтиленгликоль, глицеринкетали, такие как 2,2-

диметил-1,1-диоксолан-4-метанол, простые эфиры, такие как поли(этиленгликоль) 400, масло, жирная кислота, сложный эфир жирной кислоты или глицерид жирной кислоты, или ацелированный глицерид жирной кислоты с добавлением фармацевтически приемлемого поверхностно-активного вещества, такого как мыло или детергент, суспендирующего средства, такого как пектин, карбомеры, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза или карбоксиметилцеллюлоза, или эмульгирующих средств и других фармацевтических адъювантов, или без них.

Примеры масел, которые могут использоваться в парентеральных препаратах настоящего изобретения, представляют собой таковые из нефти, животного, растительного или синтетического происхождения, например, арахисовое масло, соевое масло, сезамовое масло, хлопковое масло, кукурузное масло, оливковое масло, вазелин и минеральное масло. Подходящие жирные кислоты включают олеиновую кислоту, стеариновую кислоту, изостеариновую кислоту и миристиновую кислоту. Подходящими сложными эфирами жирной кислоты являются, например, этилолеат и изопропилмиристат. Подходящие мыла включают соли жирной кислоты и щелочного металла, аммония и триэтаноламина, и подходящие детергенты включают катионоактивные детергенты, например, галогениды диметилдиалкиламмония, галогениды алкилпиридиния и алкиламинацетаты; анионные детергенты, например, алкил-, арил- и олефинсульфонаты, алкил-, олефин-, простой эфир- и моноглицеридсульфаты и сульфосукцинаты; неионные детергенты, например, оксиды жирных аминов, алканоламиды жирных кислот, и поли(оксиэтилен-оксипропилен)ы или сополимеры этиленоксида или пропиленоксида; и амфотерные детергенты, например, алкил-бета-аминопропионаты и четвертичные аммониевые соли 2-алкилимидазолина, а также смеси.

Парентеральные композиции настоящего изобретения будут типично содержать от приблизительно 0.5 масс.% до приблизительно 25 масс.% активного компонента в растворе. Более особенно, парентеральные композиции соединения формулы (I) в соответствии с изобретением как правило будут содержать от приблизительно 0.5 масс.% до приблизительно 20 масс.%, или от приблизительно 0.5 масс.% до приблизительно 15 масс.%, или от приблизительно 1 масс.% до приблизительно 12 масс.%, или от приблизительно 3 масс.% до приблизительно 12 масс.%, или от приблизительно 5 масс.% до

приблизительно 10 масс.% активного компонента в растворе, причем указанное соединение в частности представляет собой 2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамойлфенил]ацетамид или его стереоизомер, таутомер, N-оксид, гидрат, сольват, или соль.

5 Также могут преимущественно использоваться консерванты и буферы. Чтобы минимизировать или устранить раздражение в участке инъекции, такие композиции могут содержать неионное поверхностно-активное вещество, имеющее гидрофильно-липофильный баланс (HLB) предпочтительно от
10 приблизительно 12 до приблизительно 17. Количество поверхностно-активного вещества в таком препарате предпочтительно колеблется от приблизительно 5 % до приблизительно 15 % по массе. Поверхностно-активное вещество может быть одним компонентом, имеющим вышеупомянутый HLB, или может представлять смесь двух или большего числа компонентов, имеющих желательный HLB.

15 Примеры поверхностно-активных веществ, используемых в парентеральных препаратах, представляют собой класс сложных эфиров полиэтиленсорбитана и жирной кислоты, как, например, сорбитанмоноолеат, и высокомолекулярные аддукты этиленоксида с гидрофобным основанием, образованным конденсацией пропиленоксида с пропиленгликолем.

20 Фармацевтические композиции могут быть в виде стерильных инъекционных водных суспензий. Такие суспензии могут быть составлены согласно известным методам с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих средств и суспендирующих средств, таких как, например, натрий карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовая камедь и
25 гуммиарабик; диспергирующих или смачивающих средств, которые могут представлять собой природный фосфатид, такой как лецитин, продукт конденсации алкиленоксида с жирной кислотой, например, полиоксиэтиленстеарат, продукт конденсации этиленоксида с длинноцепочечным алифатическим спиртом, например, гептадека-
30 этиленоксицетанол, продукт конденсации этиленоксида с частичным сложным эфиром, полученным из жирной кислоты и гекситола, такой как полиоксиэтиленсорбитмоноолеат, или продукт конденсации этиленоксида с частичным сложным эфиром, полученным из жирной кислоты и гекситолангидрида, например, полиоксиэтиленсорбитанмоноолеат.

Стерильный инъекционный препарат может также представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе. Разбавителями и растворителями, которые могут использоваться, являются, например, вода, раствор Рингера, изотонические растворы хлорида натрия и изотонические растворы глюкозы. Кроме того, стерильные нелетучие масла традиционно используются в качестве растворителей или суспендирующих сред. С этой целью, может использоваться любое мягкое, нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, при приготовлении инъекционных форм можно использовать жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

Композицию изобретения можно также вводить в виде суппозиториев для ректального введения лекарственного средства. Эти композиции могут быть получены путем смешивания лекарственного средства с подходящим нераздражающим вспомогательным веществом, которое является твердым при обычных температурах, но становится жидким при ректальной температуре и будет поэтому таять в прямой кишке для высвобождения лекарственного средства. Такими веществами являются, например, масло какао и полиэтиленгликоль.

Препараты с контролируемым высвобождением для парентерального введения включают липосомальную, полимерную микросферу и полимерные гелевые препараты, которые известны в данной области.

Может быть желательно или необходимо вводить фармацевтическую композицию пациенту через механическое устройство доставки. Конструкция и использование механических устройств доставки для доставки фармацевтических средств хорошо известны в данной области. Прямые методы введения, например, позволяющие введение лекарственного средства непосредственно в головной мозг обычно предполагают размещение катетера для доставки лекарственного средства в систему желудочков пациента, чтобы обойти гематоэнцефалический барьер. Одна такая имплантируемая система доставки, используемая для транспорта средств в определенные анатомические участки организма, описана в патенте США № 5,011,472, опубликованном 30 апреля 1991 г.

Композиции изобретения могут также содержать другие обычные фармацевтически приемлемые компоненты, в общем обозначаемые как носители

или разбавители, по мере необходимости или по желанию. Могут использоваться обычные методики для приготовления таких композиций в пригодных дозируемых формах.

Такие компоненты и методики включают описанные в следующих ссылках, каждая из которых включена авторами путем ссылки: Powell, M.F. и др., "Compendium of Excipients for Parenteral Formulations" PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology **1998**, 52(5), 238-311; Strickley, R.G "Parenteral Formulations of Small Molecule Therapeutics Marketed in the United States (1999)-Part-1" PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology **1999**, 53(6), 324-349; и Nema, S. и др., "Excipients and Their Use in Injectable Products" PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology **1997**, 51(4), 166-171.

Обычно используемые фармацевтические компоненты, которые могут использоваться как пригодные для составления композиции для ее намеченного пути введения, включают:

подкисляющие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, уксусную кислоту, лимонную кислоту, фумаровую кислоту, соляную кислоту, азотную кислоту);

подщелачивающие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, раствор аммиака, карбонат аммония, диэтаноламин, моноэтаноламин, гидроксид калия, борат натрия, карбонат натрия, гидроксид натрия, триэтаноламин, троламин);

адсорбенты (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, порошкообразную целлюлозу и активированный древесный уголь);

аэрозольные пропелленты (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, углекислый газ, CCl_2F_2 , $\text{F}_2\text{ClC-CClF}_2$ и CClF_3),

средства для вытеснения воздуха (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, азот и аргон);

противогрибковые консерванты (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, бензойную кислоту, бутилпарабен, этилпарабен, метилпарабен, пропилпарабен, бензоат натрия);

антибактериальные консерванты (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, хлорид бензалкония, хлорид бензэтония, бензиловый спирт, хлорид цетилпиридиния, хлорбутанол, фенол, фенилэтиловый спирт, нитрат фенилртути и тимерозал);

антиоксиданты (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, аскорбиновую кислоту, аскорбил пальмитат, бутилированный гидроксианизол, бутилированный гидрокситолуол, гипофосфорную кислоту, монотиоглицерин, пропилгаллат, аскорбат натрия, бисульфит натрия, формальдегид-сульфоксилат натрия, метабисульфит натрия);

связывающие вещества (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, блоксополимеры, природный и синтетический каучук, полиакрилаты, полиуретаны, силиконы, полисилоксаны и сополимеры бутадиенстирола);

буферные средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, метафосфат калия, фосфат дикалия, ацетат натрия, безводный цитрат натрия и дигидрат цитрата натрия),

средства-носители (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, акациевый сироп, ароматический сироп, ароматический эликсир, вишневый сироп, сироп какао, апельсиновый сироп, сироп, кукурузное масло, минеральное масло, арахисовое масло, сезамовое масло, бактериостатический натрия хлорид для инъекций и бактериостатическую воду для инъекций),

хелатирующие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, динатрия эдетат и эдетовую кислоту),

красители (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, FD&C Красный № 3, FD&C Красный № 20, FD&C Желтый № 6, FD&C Синий № 2, D&C Зеленый № 5, D&C Оранжевый № 5, D&C Красный № 8, карамель и оксид железа красный);

просветляющие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, бентонит);

эмульгирующие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, акацию, цетомacroгол, цетиловый спирт, глицерилмоностеарат, лецитин, сорбитанмоноолеат, полиоксиэтилен 50 моностеарат);

инкапсулирующие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, желатин и ацетат фталат целлюлозы),

ароматизаторы (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, анисовое масло, коричное масло, какао, ментол, апельсиновое масло, масло мяты и ванилин);

5 гигроскопические вещества (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, глицерин, пропиленгликоль и сорбит);

отмучивающие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, минеральное масло и глицерин);

10 масла (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, арахисовое масло, минеральное масло, оливковое масло, ореховое масло, сезамовое масло и растительное масло);

основания мазей (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, ланолин, гидрофильную мазь, полиэтиленгликолевую мазь, вазелин, гидрофильный вазелин, белую мазь, желтую мазь и мазь с розовой водой);

15 усиливающие проницаемость средства (трансдермальная доставка) (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, моногидрокси- или полигидроксиспирты, моно- или поливалентные спирты, насыщенные или ненасыщенные жирные спирты, насыщенные или ненасыщенные жирные сложные эфиры, насыщенные или ненасыщенные дикарбоновые кислоты, 20 эфирные масла, фосфатидильные производные, цефалин, терпены, амиды, эфиры, кетоны и мочевины),

пластификаторы (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, диэтилфталат и глицерин);

25 растворители (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, этанол, кукурузное масло, хлопковое масло, глицерин, изопропиловый спирт, минеральное масло, олеиновую кислоту, арахисовое масло, очищенную воду, воду для инъекций, стерильную воду для инъекций и стерильную воду для ирригаций);

30 усиливающие жесткость средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, цетиловый спирт, цетиловые сложные эфиры, воск, микрокристаллический воск, парафин, стеариловый спирт, белый воск и желтый воск);

основания суппозиториев (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, масло какао и полиэтиленгликоли (смеси));

поверхностно-активные вещества (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, бензалкония хлорид, ноноксиол 10, октоксинол 9, полисорбат 80, натрия лаурилсульфат и сорбитанмонопальмитат);

5 суспендирующие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, агар, бентонит, карбомеры, натрий карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, каолин, метилцеллюлозу, трагакант и вигум);

10 подслащающие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, аспартам, декстрозу, глицерин, маннит, пропиленгликоль, натрий сахарин, сорбит и сахарозу);

таблеточные антиадгезивные вещества (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, стеарат магния и тальк);

15 таблеточные связывающие вещества (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, акацию, альгиновую кислоту, натрий карбоксиметилцеллюлозу, прессуемый сахар, этилцеллюлозу, желатин, жидкую глюкозу, метилцеллюлозу, несшитый поливинилпирролидон и прежелатинизированный крахмал);

20 разбавители для таблеток и капсул (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, двухосновный фосфат кальция, каолин, лактозу, маннит, микрокристаллическую целлюлозу, порошкообразную целлюлозу, осажденный карбонат кальция, карбонат натрия, фосфат натрия, сорбит и крахмал);

25 средства для таблеточной оболочки (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, жидкую глюкозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, ацетатфталат целлюлозы и шеллак);

вспомогательные вещества для прямого прессования таблеток (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, двухосновный фосфат кальция);

30 таблеточные дезинтегранты (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, альгиновую кислоту, кальций карбоксиметилцеллюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, полакриллин калия, поперечно сшитый поливинилпирролидон, альгинат натрия, натрия крахмалгликолят и крахмал);

таблеточные скользящие вещества (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, коллоидный диоксид кремния, кукурузный крахмал и тальк);

5 таблеточные смазывающие вещества (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, стеарат кальция, стеарат магния, минеральное масло, стеариновую кислоту и стеарат цинка);

пигменты таблеток/капсул (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, диоксид титана);

10 таблеточные полирующие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, карнаубский воск и белый воск);

загустители (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, пчелиный воск, цетиловый спирт и парафин);

средства тоничности (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, декстрозу и хлорид натрия);

15 увеличивающие вязкость средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, альгиновую кислоту, бентонит, карбомеры, натрий карбоксиметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, поливинилпирролидон, альгинат натрия и трагакант); и

20 смачивающие средства (примеры включают, но не ограничиваются перечисленными, гептадекаэтиленоксицетанол, лецитин, сорбитмоноолеат, полиоксиэтиленсорбитмоноолеат и полиоксиэтиленстеарат).

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением можно проиллюстрировать следующим образом:

25 Стерильный в/в раствор: 5 мг/мл раствор целевого соединения настоящего изобретения можно приготовить с использованием стерильной инъекционной воды, и, в случае необходимости, проводят коррекцию pH. Раствор разводят для введения до 1 - 2 мг/мл с помощью стерильной 5% декстрозы и вводят как в/в инфузию приблизительно в течении 60 минут.

30 Лиофилизированный порошок для в/в введения: стерильный препарат можно приготовить с использованием (i) 100 - 1000 мг целевого соединения настоящего изобретения в виде лиофилизированного порошка, (ii) 32-327 мг/мл цитрата натрия, и (iii) 300 - 3000 мг Декстрана 40. Препарат восстанавливают с помощью стерильного, инъекционного физиологического раствора или 5 % декстрозы до раствора с концентрацией 10 - 20 мг/мл, который дополнительно

разбавляют с помощью физиологического раствора или 5 % декстрозы до 0.2 - 0.4 мг/мл, и вводят либо в/в болюсом, либо в/в инфузией в течении 15 - 60 минут.

5 Внутримышечная суспензия: следующий раствор или суспензию можно приготовить для внутримышечной инъекции:

50 мг/мл целевого, водонерастворимого соединения настоящего изобретения

5 мг/мл натрий карбоксиметилцеллюлозы

4 мг/мл ТВИН 80

10 9 мг/мл хлорида натрия

9 мг/мл бензилового спирта

15 Капсулы с твердой оболочкой: большое количество капсул готовят путем заполнения каждой из стандартных двойных твердых желатиновых капсул 100 мг порошкообразного активного компонента, 150 мг лактозы, 50 мг целлюлозы и 6 мг стеарата магния.

20 Мягкие желатиновые капсулы: готовят смесь активного компонента в перевариваемом масле, таком как соевое масло, хлопковое масло или оливковое масло, и вводят с помощью насоса положительного вытеснения в размягченный желатин с образованием мягких желатиновых капсул, содержащих 100 мг активного компонента. Капсулы промывают и высушивают. Активный компонент может быть растворен в смеси полиэтиленгликоля, глицерина и сорбита с получением смешивающейся с водой лекарственной смеси.

25 Таблетки: большое количество таблеток готовят в соответствии с обычными методиками так, чтобы единица дозировки составляла 100 мг активного компонента, 0.2 мг коллоидного кремния диоксида, 5 мг стеарата магния, 275 мг микрокристаллической целлюлозы, 11 мг крахмала и 98.8 мг лактозы. Могут наноситься пригодные водные и неводные покрытия для увеличения вкусовой привлекательности, улучшения элегантности и стабильности или задержки всасывания.

30 Таблетки/капсулы с немедленным высвобождением: они представляют собой твердые пероральные дозированные формы, полученные с помощью стандартных и новых процессов. Эти единицы принимают перорально без воды для немедленного высвобождения и доставки препарата. Активный компонент смешивают в жидкости, содержащей компоненты, такие как сахар, желатин,

пектин и подсластители. Эти жидкости отверждают в твердые таблетки или
каплеты путем высушивания вымораживанием и методами экстракции из
твердого состояния. Лекарственные соединения могут быть спрессованы с
вязкоупругими и термоэластичными сахарами и полимерами или шипучими
5 компонентами для получения пористых матриц, предназначенных для
немедленного высвобождения без необходимости запивать водой.

Доза и введение

На основании стандартных лабораторных методов, известных для оценки
соединений, пригодных для лечения нарушений и/или заболеваний, которые
10 находятся под влиянием P2X₄, с помощью стандартных тестов на токсичность и
стандартных фармакологических исследований для определения параметров
лечения состояний, идентифицированных выше, у млекопитающих, и путем
сравнения этих результатов с результатами известных лекарственных средств,
которые применяются для лечения этих состояний, может быть легко определена
15 эффективная дозировка соединений настоящего изобретения для лечения
каждого желательного показания. Количество активного компонента,
подлежащее введению при лечении одного из этих состояний, может широко
варьироваться согласно таким рассматриваемым факторам, как конкретное
соединение и используемая единица дозировки, способ введения, период
20 лечения, возраст и пол пациента, подвергающегося лечению, и природа и
степень состояния, подвергающегося лечению.

Общее количество соединения формулы I, подлежащее введению, обычно
будет варьироваться от приблизительно 0.1 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг
массы тела в сутки, в особенности от приблизительно 0.2 мг/кг до
25 приблизительно 30 мг/кг массы тела в сутки, более особенно от приблизительно
0.5 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг массы тела в сутки.

Клинически пригодные схемы дозирования будут варьироваться от
дозирования один - три раза в сутки до дозирования один раз каждые четыре
недели. Кроме того, "лекарственные каникулы", в течение которых пациент не
30 принимает лекарственное средство на протяжении определенного промежутка
времени, могут быть выгодными для общего равновесия между
фармакологическим действием и переносимостью. Единица дозировки может
содержать приблизительно от приблизительно 5 мг до приблизительно 500 мг
активного компонента, в особенности от приблизительно 25 мг до

приблизительно 150 мн, и может вводиться один или несколько раз в сутки или реже одного раза в сутки.

В соответствии с особой формой варианта осуществления изобретения, пероральная единица дозировки для введения соединений настоящего изобретения включает активный компонент в количестве, но не ограничивается 5 указанным, от 0.5 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг массы тела, которое водят от одного - трех раз в сутки до одного раза в неделю.

Средняя суточная дозировка для введения путем инъекции, включая внутривенные, внутримышечные, подкожные и парентеральные инъекции, и 10 использование методик инфузии, будет составлять в соответствии с особенными формами варианта осуществления изобретения от 0.5 до 50 мг/кг общей массы тела.

Режим среднего суточного ректального дозирования предпочтительно будет составлять от 0.5 до 50 мг/кг общей массы тела.

15 Режим среднего суточного местного дозирования предпочтительно будет составлять от 0.5 до 50 мг/кг, которые применяют один - четыре раза в сутки.

Режим среднего суточного дозирования ингаляцией предпочтительно будет составлять от 0.5 до 30 мг/кг общей массы тела.

Несомненно определенный начальный и продолжающийся режим 20 дозирования для каждого пациента будет варьироваться в зависимости от природы и тяжести состояния, определенного лечащим диагностом, активности определенного используемого соединения, возраста и общего состояния пациента, времени введения, пути введения, скорости выведения лекарственного средства из организма, комбинаций лекарственных средств, и т.п. Желательный 25 способ лечения и количество доз соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира или композиции могут быть установлены квалифицированными специалистами в данной области с использованием обычных методов экспериментального лечения.

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) формируется эндотелием капилляров 30 головного мозга и работает как фильтр, который исключает из мозга ~100% крупных молекул и более 98% всех малых молекул, предназначенных для нейротерапии. Во время острой фазы ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы и повреждения спинного мозга, ГЭБ

подвергается риску, и его соединения, выполняющие исключаяющую функцию, ослаблены. Во временных интервалах от появления вышеописанных расстройств, от появления ИИ до закрытия ГЭБ, доставка терапевтических средств в определенные области мозга является особенно благоприятной.

5 Соединение общей формулы (I), или N-оксид, соль, таутомер или стереоизомер указанного соединения, или соль указанного N-оксида, таутомера или стереоизомера, в особенности его фармацевтически приемлемая соль, или их смесь, как описано и определено в настоящем документе, преимущественно вводят с начала появления ишемической травмы головного мозга, ишемического
10 инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы и повреждения спинного мозга, в частности ИИ, с начала заболеваний до восстановления ГЭБ, так что соединение проникает через ГЭБ в адекватных количествах.

Более особенно соединение общей формулы (I), такое как 2-(2-хлорфенил)-
15 N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамилфенил]ацетамид, преимущественно вводят с начала заболевания, как например ИИ, до приблизительно одного месяца, еще более особенно до приблизительно трех недель, еще более особенно до приблизительно двух недель, еще более особенно до приблизительно десяти дней.

20 Более особенно соединение общей формулы (I), такое как 2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамилфенил]ацетамид, предпочтительно вводят в течение 6 часов, ещё более особенно в течение 3 часов с начала заболевания.

Началом заболевания можно считать не только точное время, когда
25 происходит ишемическая травма головного мозга, ишемический инсульт (ИИ), геморрагический инсульт, черепно-мозговая травма, или повреждение спинного мозга, но также время, когда симптомы такого заболевания были идентифицированы или такое заболевание было подтверждено, например, с помощью компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной
30 томографии (МРТ).

Комбинированная терапия

Термин "комбинация" в настоящем изобретении используется в качестве известного специалистам в данной области техники и может быть представлен в

виде фиксированной комбинации, нефиксированной комбинации или набора компонентов.

Термин "фиксированная комбинация" в настоящем изобретении используется в качестве известного специалистам в данной области техники и его определяют как комбинацию, в которой указанный первый активный компонент и указанный второй активный компонент присутствуют вместе в одной единичной лекарственной форме или в форме единого целого. Одним из примеров "фиксированной комбинации" является фармацевтическая композиция, в которой указанный первый активный компонент и указанный второй активный компонент присутствуют в смеси для одновременного введения, как например, в составе. Другим примером "фиксированной комбинации" является фармацевтическая комбинация, в которой указанный первый активный компонент и указанный второй активный компонент присутствуют в одной единице в не смешанном состоянии.

Термин "нефиксированная комбинация" или "набор компонентов" в настоящем изобретении используется в качестве известного специалистам в данной области техники и его определяют как комбинацию, в которой указанный первый активный компонент и указанный второй активный компонент присутствуют в более, чем одной единице. Одним из примеров нефиксированной комбинации или набора компонентов является комбинация, в которой указанный первый активный компонент и указанный второй активный компонент присутствуют раздельно. Компоненты нефиксированной комбинации или набора компонентов могут быть введены раздельно, последовательно, одновременно, параллельно или хронологически смещено.

Соединения настоящего изобретения могут вводиться в виде единственного фармацевтического средства или в комбинации с одним или несколькими другими фармацевтическими средствами, где комбинация не вызывает неприемлемые побочные действия. Настоящее изобретение относится также к таким комбинациям.

Кроме того, соединения настоящего изобретения можно комбинировать с терапевтическими средствами или активными компонентами, которые уже одобрены или которые все еще находятся на стадии разработки, для лечения и/или профилактики заболеваний, которые связаны с P2X4 или опосредуются им.

Для лечения и/или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга, соединения настоящего изобретения могут вводить в комбинации или в качестве
5 сопутствующего препарата в дополнение к соответствующему стандарту медицинской помощи (SOC) = базовая интенсивная терапия, включая стабилизацию артериального давления (обычно снижение АД); реканализацию (фармакологический внутривенный лизис с использованием, например, rtPA и/или механическая реканализация путем экстракции внутриартериального
10 тромба); лечение отека мозга с помощью осмотерапии, например глицерина, маннита или гипертонического раствора и/или лечение глюкокортикоидами.

Для лечения и/или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга, соединения
15 настоящего изобретения можно вводить в комбинации или в качестве сопутствующего препарата с любым веществом, которое может применяться в качестве антитромботических веществ, в частности антикоагулянтов, таких как гликозаминогликаны, например, гепарин, низкомолекулярные гепарины или данапароид; прямые ингибиторы тромбина, такие как, например, аргатробан,
20 антитромбин или белок С; антиагрегантные средства: аспирин, или клопидогрель; блокаторы глюкопротеиновых рецепторов П₂/П₃, такие как абциксимаб или эптифибатид (интегрилин), фибринолитические препараты, такие как стрептокиназа, анистреплаза или альтеплаза. Очень особым примером является введение или совместное назначение соединения согласно изобретению
25 вместе с аспирином.

Соединения настоящего изобретения можно комбинировать с другими лекарственными средствами и соединениями, которые предназначены для
лечения воспалительных заболеваний, воспалительной боли или общих болевых состояний.

30 Методы тестирования конкретного фармакологического или фармацевтического свойства хорошо известны специалистам в данной области техники.

Иллюстративные тестовые эксперименты, описанные в данном документе, служат для иллюстрации настоящего изобретения, и изобретение не ограничено приведенными примерами.

5 Как будет ясно специалистам в данной области техники, изобретение не ограничивается конкретными вариантами осуществления, описанными в данном документе, а охватывает все модификации указанных вариантов осуществления, которые находятся в рамках существа и объема изобретения, согласно определению в прилагаемой формуле изобретения.

10 Следующие примеры иллюстрируют изобретение более подробно, без его ограничения. Дальнейшие соединения в соответствии с изобретением, получение которых явно не описано, можно получить аналогичным путем.

Соединения, которые упомянуты в примерах, и их соли представляют собой предпочтительные варианты осуществления изобретения, также как и формула, охватывающая все подкомбинации остатков соединения формулы (I), как раскрыто особыми примерами.

15 Термин "в соответствии с" в рамках Экспериментальной части используется в том смысле, что указанная методика должна использоваться "по аналогии".

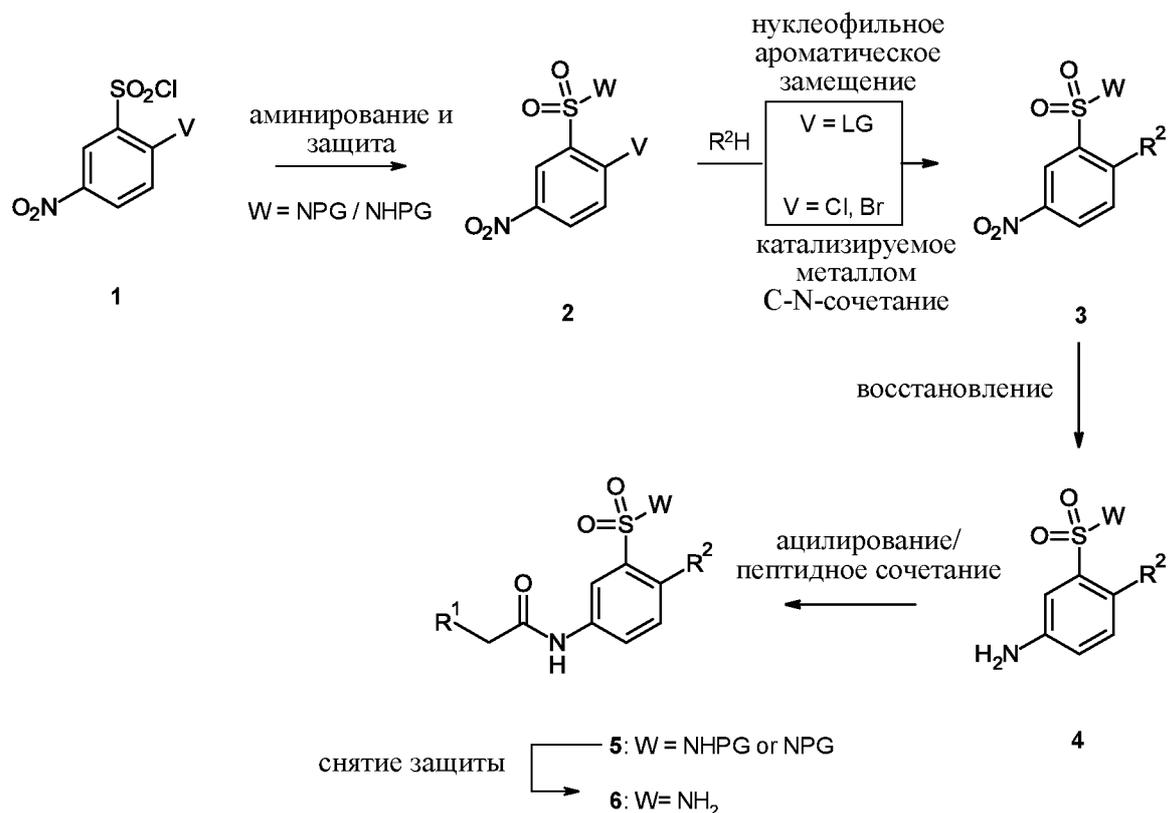
СИНТЕЗ СОЕДИНЕНИЙ

20 Следующие схемы и общие методики иллюстрируют общие пути синтеза соединений общей формулы (I) изобретения и не предназначены для ограничения его объема. Специалисту в данной области техники является очевидным, что порядок превращений, приведенный в качестве примера на схемах 1 – 5, может быть модифицирован различными путями. Таким образом, порядок превращений, приведенный в качестве примера на схемах 1 – 5, не предназначен для ограничения. Кроме того, взаимопревращение заместителей, например, остатков R^1 , R^2 или R^{11} , можно осуществить до и/или после приведенных в качестве примеров превращений. Эти модификации могут быть такими, как введение защитных групп, отщепление защитных групп, восстановление или окисление функциональных групп, галогенирование, металлизирование, замещение или другие реакции, известные специалисту в данной области техники. Эти превращения включают те реакции, которые вводят функции, которые позволяют дополнительное взаимопревращение заместителей. Пригодные защитные группы и методики их введения и

30

отщепления хорошо известны специалисту в данной области техники (см., например, T.W. Greene и P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3^{-е} изд., Wiley 1999).

5 Все реагенты, применяемые для получения соединений изобретения, коммерчески доступны, известны в литературе или могут быть получены согласно описанию.



10 **Схема 1:** Общие методики получения соединений общей формулы (I) и общей формулы (Ia), соответствующей формуле 6; R¹ является таким, как определено в описании и пунктах формулы настоящего изобретения; W соответствует или аминогруппе с водородом и/или защитной группе PG (например, (диметиламино)метилеи, 2,4-диметоксибензил); V соответствует LG, хлору или бром; LG соответствует уходящей группе (например, хлор, фтор, тозил); R² означает гетероароматическую систему с нуклеофильным азотом (например, пиразол, имидазол, триазол) и испытывает нуклеофильное ароматическое замещение по этому атому азота.

Соединения общей формулы 6 можно синтезировать, как показано на Схеме 1. Специалист в данной области техники способен превратить сульфонилхлориды 1 в защищенные сульфонамиды 2 и способен выбрать

защитную группу PG, которая является подходящей для следующих стадий. Примерами подходящих защитных групп PG являются 2,4-диметоксибензил или (диметиламино)метилен. В случае, если V соответствует уходящей группе LG (например, фторид, хлорид, тозил), соединения **2** можно превратить в реакции нуклеофильного ароматического замещения в подходящем растворителе (например, ацетонитрил) и в присутствии подходящего основания (например, карбонат калия, карбонат цезия, ...) с помощью гетероароматической системы R²N, которая содержит нуклеофильный азот (например, пиразол, имидазол, триазол, ...), в соединения **3** с образованием новой C-N-связи. В случае, если V соответствует хлору или бром, соединения **3** можно получить в катализируемой металлом реакции C-N-сочетания с азотсодержащей гетероароматической системой (например, 1,2,3-триазолы) и в присутствии подходящей каталитической системы (например, трис(дибензилиденацетон)дипалладий/*дипрет*-бутил(2',4',6'-триизопропил-3,4,5,6-тетраметил-[1,1'-бифенил]-2-ил)фосфин/фосфат калия/толуол). На следующей стадии, нитросоединения **3** можно превратить в соответствующие анилины **4** путем восстановления в условиях гидрирования, в полярных растворителях, таких как этанол, метанол, диоксан или тетрагидрофуран, в присутствии, например, катализаторов на основе Pd, Pt, Fe или Sn. Анилины **4** можно превратить в соответствующие амиды **5**, например, по реакции с ацилхлоридами или путем стандартного образования пептидной связи с использованием всевозможных известных методик, таких как реакция соответствующей карбоновой кислоты в присутствии реагента сочетания, например, NATU. На последней стадии, с амидов **5** снимают защиту с получением целевых сульфонамидов **6**. Условия снятия защиты зависят от используемой защитной группы (например, ТФУ/дихлорметан в случае 2,4-диметоксибензила, или водный раствор аммиака/метанол в случае (диметиламино)метилена).

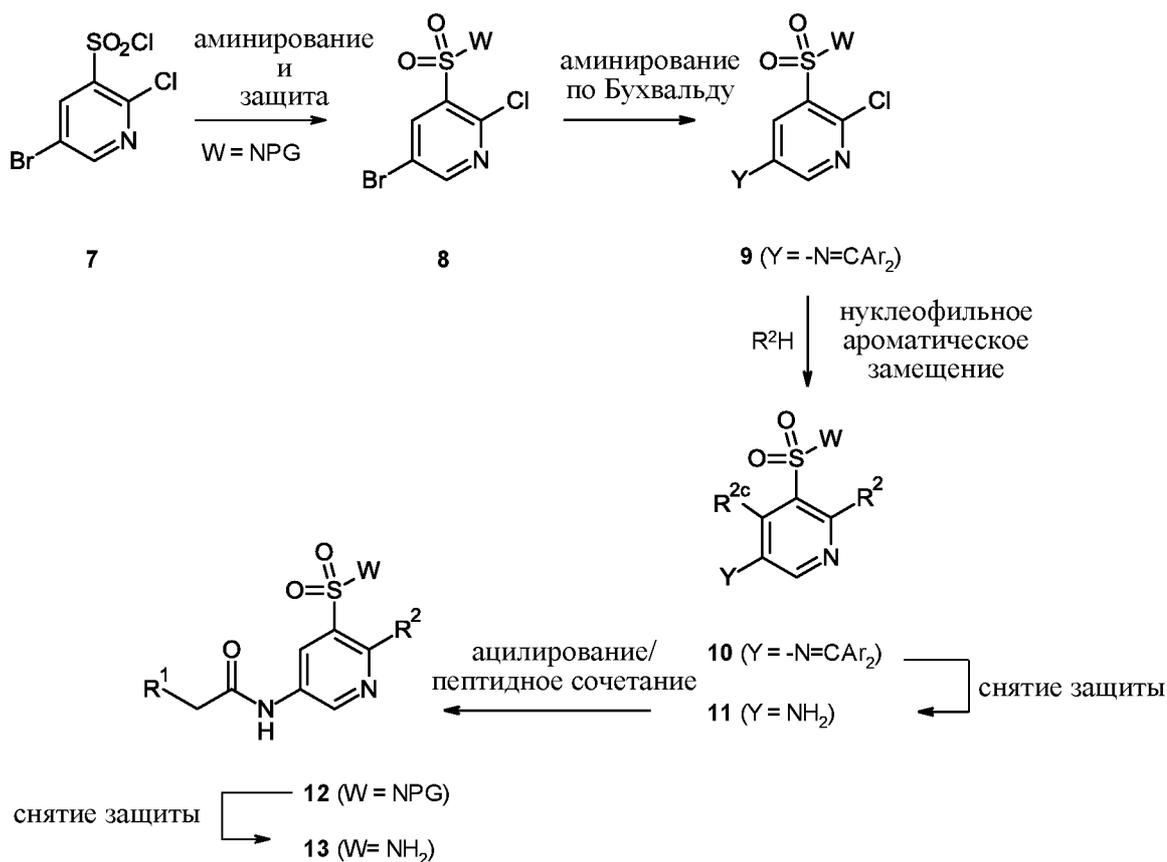


Схема 2: Общая методика получения соединений общей формулы (I) и общей формулы (Ib), соответствующей формуле 13; R¹ является таким, как
5 определено в описании и пунктах формулы настоящего изобретения; W соответствует или аминогруппе с водородом и/или защитной группе PG (например, (диметиламино)метилен); Ar означает арил; R² означает гетероароматическую систему с нуклеофильным азотом (например, пиразол, имидазол, триазол) и испытывает нуклеофильное ароматическое замещение по
10 этому атому азота.

Соединения общей формулы 13 можно синтезировать, как показано на
Схеме 2. Специалист в данной области техники способен превратить
сульфонилхлориды 7 в защищенные сульфонамиды 8 и способен выбрать
защитную группу PG, которая является подходящей для следующих стадий.
15 Примером подходящей защитной группы PG является (диметиламино)метилен (реакция сульфонилов 7 с аммиаком, затем реакция с 1,1-диметокси-*N,N*-диметилметанамин в ДМФА). При использовании стратегий защиты и снятия защиты, аминирование соединений 8 по Бухвальду в присутствии подходящих

катализаторов (см., например, WO2011120026A1) приводит к промежуточным соединениям **9**. Реакция нуклеофильного ароматического замещения в подходящем растворителе (например, ацетонитрил) и в присутствии подходящего основания (например, карбонат калия, ...) с гетероароматической системой R²N, которая содержит нуклеофильный азот (например, пиразол, имидазол, триазол, ...) приводит к пиридинам **10**. Снятие защиты с **10** (в кислых условиях в случае Y = -N=CAr₂) сопровождаются превращением полученных в результате анилинов **11** в амиды **12**, например, по реакции с ацилхлоридами или путем стандартного образования пептидной связи с использованием всевозможных известных методик, таких как реакция соответствующих карбоновых кислот в присутствии реагента сочетания, например, HATU. На последней стадии, с амида **12** снимают защиту с получением целевых сульфонамидов **13**. Условия снятия защиты зависят от используемой защитной группы (например, водный раствор аммиака/метанол в случае (диметиламино)метилена).

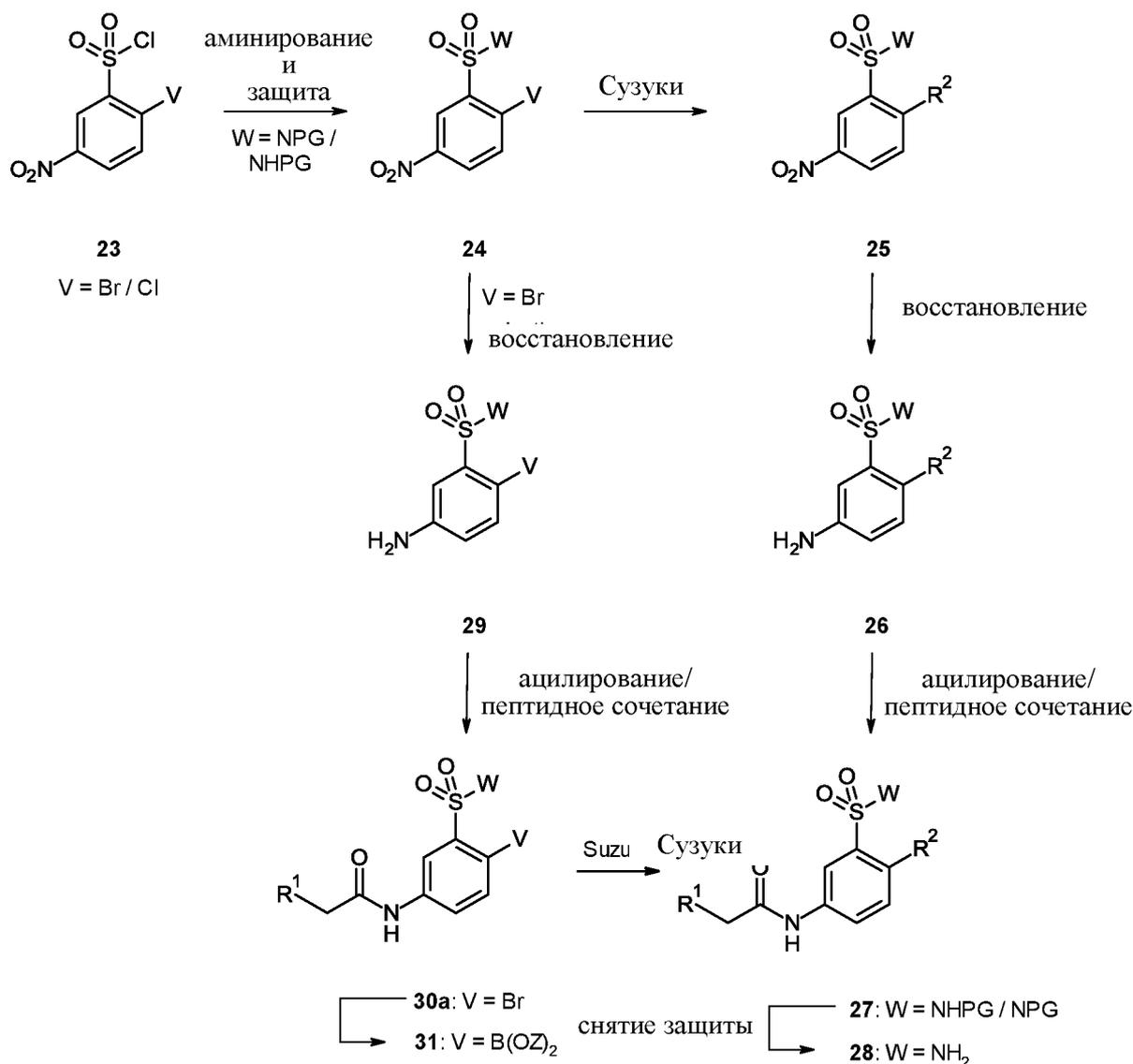


Схема 4: Общие методики получения соединений общей формулы (I) и общей формулы (Ia), соответствующей формуле **28**; R^1 и R^2 являются такими, как определено в описании и пунктах формулы настоящего изобретения, $\text{B}(\text{OZ})_2$ соответствует $\text{B}(\text{OH})_2$ или $\text{B}(\text{O}_2\text{C}_6\text{H}_{12})$ или смеси обоих, и W соответствует или аминогруппе с водородом и/или защитной группе PG (например, (диметиламино)метиле, 2,4-диметоксибензил).

Соединения общей формулы **28** можно синтезировать, как показано на Схеме 4. Исходя из соответствующих сульфонилхлоридов **23** (где V означает либо бромид, либо хлорид) C -присоединенные арильные и гетероарильные производные можно получить с помощью, например, реакций перекрестного сочетания Сузуки, известных специалисту в данной области техники. Превращение защищенных сульфонамидов **24** в арильные/гетероарильные соединения с общей формулой **25** можно осуществить по реакции с

соответствующей бороновой кислотой (или сложным эфиром, или смесью
обоих) в условиях катализа палладием в протонных (например, изопропанол)
или апротонных растворителях. Соответствующие амины **26** можно получить из
промежуточных соединений **25** путем восстановления в условиях гидрирования,
5 в полярных растворителях, таких как этанол или тетрагидрофуран, в
присутствии, например, катализаторов на основе Pd, Pt, Fe или Sn. Последующее
ацилирование до соответствующих амидов **27** можно осуществить например, по
реакции с ацилхлоридами или путем стандартного образование пептидной связи
с использованием всевозможных известных методик, таких как реакция
10 соответствующей карбоновой кислоты в присутствии реагента сочетания,
например, NACU. В случае W, означающего защитную группу, последующее
снятие защиты, например, трифторуксусной кислотой (ТФУ), приводит к
получению соединений общей формулы **28**.

Альтернативно, исходя из промежуточных соединений **24**, где V = Br,
15 восстановление в условиях гидрирования, в полярных растворителях, таких как
этанол или тетрагидрофуран, в присутствии, например, катализаторов на основе
Pt, Fe или Sn, приводит к получению аминов **29**. Соответствующие амиды **30a**
можно получить по реакции с ацилхлоридами или путем стандартного
образование пептидной связи с использованием всевозможных известных
20 методик. Последующее арилирование/гетероарилирование с использованием,
например, катализируемых палладием реакций перекрестного сочетания,
предоставляет доступ к промежуточным соединениям **27**. Альтернативно
бромиды **30a** можно превратить в соответствующие бороновые кислоты/сложные
эфиры - промежуточные соединения **31** ($V(OZ)_2 = V(OH)_2$ или $V(O_2C_6H_{12})$) и
25 далее подвергнуть превращению, используя, например, катализ палладием,
известный специалисту в данной области техники, с получением промежуточных
соединений **27**, которые после снятия защиты приводят к получению конечных
продуктов с общей формулой **28**.

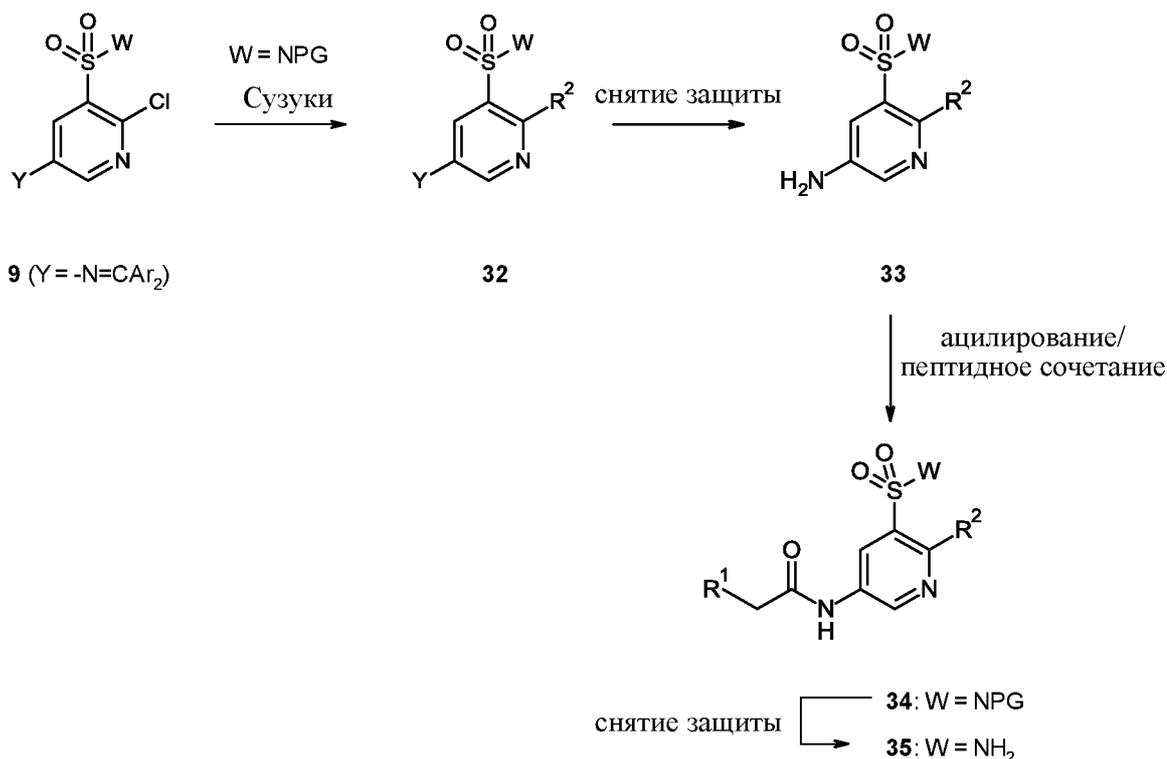
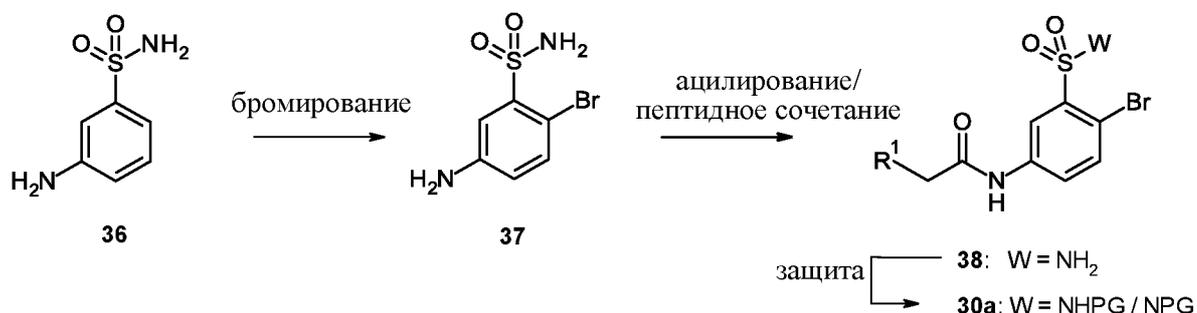


Схема 5: Общая методика получения соединений общей формулы (I) и общей формулы (Ib), соответствующей формуле **35**; R^1 и R^2 являются такими, как определено в описании и пунктах формулы настоящего изобретения, W соответствует или аминогруппе с водородом и/или защитной группе PG (например, (диметиламино)метиле, 2,4-диметоксибензил); Ar означает арил.

Соединения общей формулы **35** можно синтезировать, как показано на Схеме 5. Исходя из промежуточного соединения **9** C-присоединенные арильные и гетероарильные производные **32** можно получить с помощью, например, реакций катализируемого палладием перекрестного сочетания, например, реакций Сузуки, известных специалисту в данной области техники (см., например, US 20110281865). Снятие защиты, например, в кислых условиях, приводит к получению аминов **33**. Последующее ацилирование до соответствующих амидов можно осуществить например, по реакции с ацилхлоридами или путем стандартного образования пептидной связи с использованием всевозможных известных методик, таких как реакция соответствующей карбоновой кислоты в присутствии реагента сочетания например, HATU. В случае W , означающего защищенную аминофункцию, последующее снятие защиты (например, водным раствором аммиака в случае

(диметиламино)метиленовой группы в качестве защитной), приводит к получению соединений общей формулы **35**.



5 **Схема 6: Общая методика получения соединений формулы 30a; R¹ является таким, как определено в описании и пунктах формулы настоящего изобретения, W соответствует или аминогруппе с водородом и/или защитной группе PG (например, (диметиламино)метилен, 2,4-диметоксибензил).**

Соединения общей формулы **30a** можно синтезировать как показано на
 10 Схеме 6. Исходя из соответствующего анилина **36**, бромирование (например, с помощью NBS в ДМФА) приводит к броманилину **37**. Последующее ацилирование до соответствующих амидов **38** можно осуществить например, по реакции с ацилхлоридами или путем стандартного образования пептидной связи с использованием всевозможных известных методик, таких как реакция
 15 соответствующей карбоновой кислоты в присутствии реагента сочетания например, HATU. Последующая защита сульфонамидного фрагмента (например, 1,1-диметокси-N,N-диметилметанамином в ДМФА) приводит к защищенным амидам **30a**, которые затем можно подвергнуть дополнительному превращению, например, с использованием химии Сузуки, как описано на Схеме 4.

20 Соединения в соответствии с изобретением выделяют и очищают способом, известным как таковым, например, путем отгонки растворителя в вакууме и перекристаллизации полученного остатка из подходящего растворителя, или подвергая остаток одному из обычных методов очистки, таких как хроматография на подходящем материале-подложке. Кроме того, препаративная
 25 ВЭЖХ с обращенной фазой соединений настоящего изобретения, которые обладают достаточной основной или кислотной функциональностью, может привести к образованию соли, такой как, в случае соединения настоящего изобретения, которое является достаточно основным, например, трифторацетат

или формиат, или, в случае соединения настоящего изобретения, которое является достаточно кислым, например, соль аммония. Соль этого типа можно либо превратить в форму ее свободного основания или форму свободной кислоты, соответственно, различными методами, известными специалисту в данной области техники, либо сразу использовать как таковую в последующих биологических анализах. Кроме того, процесс сушки во время выделения соединений настоящего изобретения может полностью не удалить следы соразтворителей, в особенности, таких как муравьиная кислота или трифторуксусная кислота, что приводит к получению сольватов или комплексов включения. Специалист в данной области техники определит, какие сольваты или комплексы включения являются приемлемыми для применения в последующих биологических анализах. Следует понимать, что особая форма (например, соль, свободное основание, сольват, комплекс включения) соединения настоящего изобретения, выделенная, как описано в данном документе, необязательно является единственной формой, в которой указанное соединение может применяться в биологическом анализе для количественной оценки специфической биологической активности.

Соли соединений формул (I), (Ia) и (Ib) в соответствии с изобретением можно получить путем растворения свободного соединения в подходящем растворителе (например, кетоне, таком как ацетон, метилэтилкетон или метилизобутилкетон, простом эфире, таком, как диэтиловый эфир, тетрагидрофуран или диоксан, хлорированном углеводороде, таком как метиленхлорид или хлороформ, или низкомолекулярном алифатическом спирте, таком как метанол, этанол или изопропанол), который содержит требуемую кислоту или основание, или к которому требуемую кислоту или основание добавляют потом. Кислоту или основание можно использовать для получения соли, в зависимости от того, моно- или многоосновная кислота или моно- или многокислотное основание представляет интерес и в зависимости от требуемой соли, в эквимолярном количественном соотношении или отличающемся от него.

Соли получают путем фильтрования, повторного осаждения, осаждения с помощью осадителя для соли или путем упаривания растворителя. Полученные соли можно превратить в свободные соединения, которые, в свою очередь, можно превратить в соли. Таким способом, фармацевтически неприемлемые соли, которые можно получить, например, в качестве продуктов способа при

производстве в промышленном масштабе, можно превратить в фармацевтически приемлемые соли с помощью способов, известных специалисту в данной области техники. Особенно предпочтительными являются гидрохлориды и способ, применяемый в разделе "Примеры".

5 Чистые диастереомеры и чистые энантиомеры соединений и солей в соответствии с изобретением можно получить например, с помощью асимметричного синтеза, с помощью применения в синтезе хиральных исходных соединений и с помощью разделения энантиомерных и диастереомерных смесей, полученных в синтезе.

10 Энантиомерные и диастереомерные смеси можно разделить на чистые энантиомеры и чистые диастереомеры с помощью методов, известных специалисту в данной области техники. Предпочтительно, диастереомерные смеси разделяют с помощью кристаллизации, в частности, фракционной кристаллизации, или хроматографии. Энантиомерные смеси можно разделить,
15 например, путем образования диастереомеров с хиральным вспомогательным агентом, разделения полученных диастереомеров и удаления хирального вспомогательного агента. В качестве хиральных вспомогательных агентов, например, для разделения энантиомерных оснований, можно использовать хиральные кислоты, такие как, например, миндальная кислота, а для разделения
20 энантиомерных кислот можно использовать хиральные основания, причем разделение обеспечивается благодаря образованию диастереомерных солей. Кроме того, диастереомерные производные, такие как диастереомерные сложные эфиры, можно получить из смесей энантиомеров спиртов или смесей энантиомеров кислот, соответственно, используя хиральные кислоты или
25 хиральные спирты, соответственно, в качестве хиральных вспомогательных агентов. Кроме того, диастереомерные комплексы или диастереомерные клатраты можно использовать для разделения энантиомерных смесей. Альтернативно, энантиомерные смеси можно разделять, используя при хроматографии хиральные разделяющие колонки. Другим подходящим методом
30 для выделения энантиомеров является ферментативное разделение.

Один предпочтительный аспект изобретения представляет собой способ получения соединений общей формулы (I), (Ia) или (Ib), или N-оксидов, солей, таутомеров или стереоизомеров указанных соединений, или солей указанных N-

оксидов, таутомеров или стереоизомеров в соответствии с примерами, а также промежуточные соединения, применяемые для их получения.

Необязательно, соединения формул (I), (Ia) и (Ib) можно превратить в их соли, или, необязательно, соли соединений формул (I), (Ia) и (Ib) можно превратить в свободные соединения. Соответствующие способы являются
5 обычными для специалиста в данной области.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Сокращения

В следующей таблице перечислены сокращения, используемые в данном
10 разделе и в разделах "Примеры промежуточных соединений" и "Примеры", поскольку они не разъяснены в основном тексте.

Сокращение	Значение
AcOH	уксусная кислота (этановая кислота)
водн.	водный
boc	<i>трет</i> -бутоксикарбонил
br	широкий
CI	химическая ионизация
d	дублет
DAD	детектор на диодной матрице
DBU	1,8-диазабисцикло(5.4.0)ундец-7-ен
ДХМ	дихлорметан
dd	двойной дублет
DIPEA	диизопропилэтиламин
ДМФА	<i>N,N</i> -диметилформамид
DMCO	диметилсульфоксид
ELSD	испарительный детектор по светорассеянию
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол
экв.	эквивалент
ESI	электрораспылительная (ES) ионизация
HATU	гексафторфосфат 1- [бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3- триазоло[4,5-b]пиридиний 3-оксида

ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ЖХ-МС	жидкостная хроматографии - масс-спектрометрия
m	мультиплет
MeCN	ацетонитрил
MeOH	метанол
МС	масс-спектрометрия
MTBE	метил <i>трет</i> -бутиловый эфир
ЯМР	спектроскопия ядерного магнитного резонанса: химические сдвиги (δ) приведены в м.д. Химические сдвиги корректировали путем установки сигнала ДМСО на 2.50 м.д., если не указано иное
PDA	фотодиодная матрица
PoraPak TM	ВЭЖХ колонка, доступная от Waters
q	квартет
к.т. или КТ	комнатная температура
Rt	время удержания (как измерено с помощью либо ВЭЖХ, либо СВЭЖХ) в минутах
s	синглет
ИБ	исходное вещество
SQD	одионочный квадрупольный детектор
t	триплет
td	дублет триплета
dt	триплет дублета
TEA	триэтиламин
ТГФ	тетрагидрофуран
СВЭЖХ	сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография

Другие сокращения имеют значения, как таковые обычные для специалиста в данной области.

Различные аспекты изобретения, описанные в данном документе, иллюстрируются следующими примерами, которые не предназначены для ограничения изобретения каким бы то ни было образом.

Специальные описания экспериментов

5 Формы ЯМР пиков в следующих специальных описаниях экспериментов указаны в том виде, как они проявляются в спектрах, возможные эффекты более высокого порядка не рассматриваются. Реакции, для которых требовалось микроволновое облучение, можно выполнять с использованием микроволновой печи Biotage Initiator[®], необязательно оснащенной роботизированным блоком.

10 Сообщенное время реакций в случае использования нагревания следует понимать как фиксированное время реакций после достижения указанной температуры реакции. Соединения и промежуточные соединения, полученные в соответствии со способами изобретения, могут потребовать очистки. Способы очистки органических соединений хорошо известны специалисту в данной

15 области техники, и может существовать несколько способов очистки одного и того же соединения. В некоторых случаях очистка может не потребоваться. В некоторых случаях соединения можно очистить с помощью кристаллизации. В некоторых случаях загрязнения можно удалить, используя методику перемешивания в подходящем растворителе. В некоторых случаях соединения

20 можно очистить с помощью хроматографии, в частности, колоночной флэш-хроматографии, используя, например, предварительно заполненные картриджи с силикагелем, например, от Separtis, как, например, Isolute[®] Flash silica gel или Isolute[®] Flash NH₂ silica gel, в комбинации с автоматическим очистителем Isolera[®] (Biotage) и элюентами, такими как градиенты, например,

25 гексан/этилацетат или ДХМ/метанол. В некоторых случаях соединения можно очистить с помощью препаративной ВЭЖХ, используя, например, автоматический очиститель Waters, оснащенный детектором на диодной матрице и/или масс-спектрометром с "онлайн" ионизацией электрораспылением в комбинации с подходящей предварительно заполненной колонкой с обращенной

30 фазой и элюентами, такими как градиенты воды и ацетонитрила, которые могут содержать добавки, такие как трифторуксусная кислота, муравьиная кислота или водный раствор аммиака. В некоторых случаях методы очистки, как описано выше, могут обеспечить соединения настоящего изобретения, которые обладают достаточной основной или кислотной функциональностью, в форме соли, такой

как, в случае соединения настоящего изобретения, которое является достаточно основным, например, трифторацетат или формиат, или, в случае соединения настоящего изобретения, которое является достаточно кислым, например, соль аммония. Соль этого типа можно либо превратить в форму ее свободного основания или форму свободной кислоты, соответственно, различными методами, известными специалисту в данной области техники, либо сразу использовать как таковую в последующих биологических анализах. Следует понимать, что особая форма (например, соль, свободное основание и т.д.) соединения настоящего изобретения, выделенная, как описано в данном документе, необязательно является единственной формой, в которой указанное соединение может применяться в биологическом анализе для количественной оценки специфической биологической активности.

Процентные выходы, сообщенные в следующих примерах, основаны на исходном компоненте, который использовали в самом низком молярном количестве. Большинство условий реакций не были оптимизированы с точки зрения выхода. Чувствительные к воздуху и влажности жидкости и растворы переносились через шприц или канюлю, и вводились в реакционные сосуды через резиновые прокладки. Реагенты и растворители коммерческого класса использовали без дополнительной очистки. Термин "концентрировали в вакууме" относится к использованию роторного испарителя Бюхи при минимальном давлении приблизительно 15 мм Hg. Все температуры сообщаются без учета поправок в градусах Цельсия (°C).

Для лучшего понимания этого изобретения, приведены следующие примеры. Эти примеры предназначены только для иллюстративных целей, и не должны быть истолкованы как ограничение объема изобретения каким-либо образом. Все публикации, упомянутые в данном описании, включены путем ссылки в их полном объеме.

Условия аналитической ЖХ-МС и СВЭЖХ-МС

Данные касательно ЖХ-МС и СВЭЖХ-МС, приведенные в последующих специальных описаниях экспериментов, относятся (если не указано иное) к следующим условиям:

Метод А

Прибор: Waters Acquity UPLC-MS SingleQuad; колонка: Acquity UPLC BEH C18 1.7 мкм, 50x2.1 мм; элюент А: вода + 0.1 об.% муравьиной кислоты (99%),

элюент В: ацетонитрил; градиент: 0-1.6 мин 1-99% В, 1.6-2.0 мин 99% В; поток 0.8 мл/мин; температура: 60 °С; DAD сканирование: 210-400 нм.

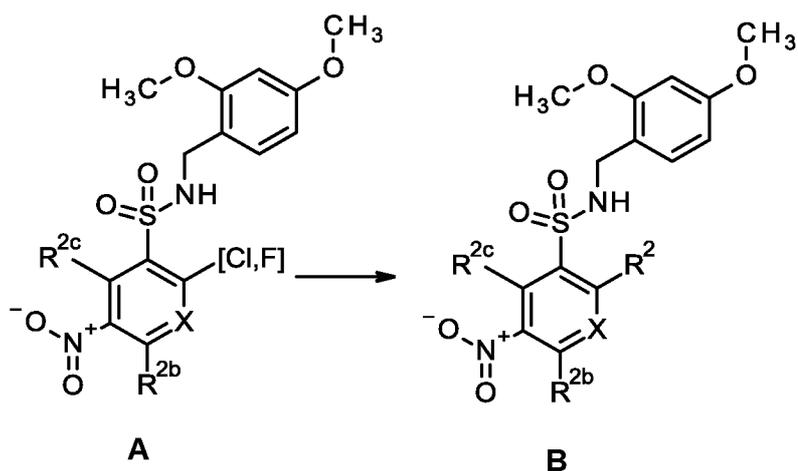
Метод В

Прибор: Waters Acquity UPLC-MS SingleQuad; колонка: Acquity UPLC BEH C18 1.7 мкм, 50x2.1 мм; элюент А: вода + 0.2 об.% водного раствора аммиака (32%), элюент В: ацетонитрил; градиент: 0-1.6 мин 1-99% В, 1.6-2.0 мин 99% В; поток 0.8 мл/мин; температура: 60 °С; DAD сканирование: 210-400 нм.

Условия колоночной флэш-хроматографии

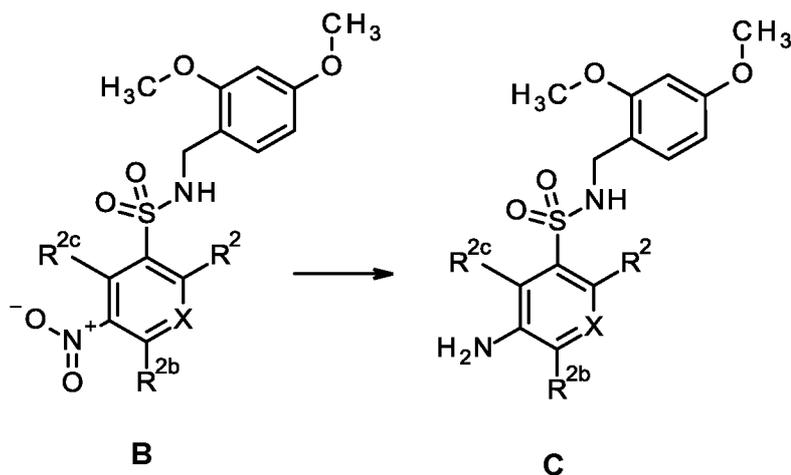
"Очистка с помощью (флэш) колоночной хроматографии", как указано в последующих специальных описаниях экспериментов, относится к применению системы очистки Biotage Isolera. Касательно технических характеристик см. "Biotage product catalogue" на сайте www.biotage.com.

Общие методики экспериментов



Общая методика GP1.2

Сульфонамид А (например, 1.29 ммоль) растворяли в ацетонитриле (15 мл в случае масштаба 1.29 ммоль) и добавляли тонкоизмельченный карбонат калия (3.0 экв.) и соответствующий азол (1.5 экв.). Перемешивание продолжали при 100 - 110°С до тех пор, пока ТСХ не показывала израсходование исходного вещества. Растворитель удаляли при пониженном давлении с последующим добавлением воды и дихлорметана. После этого фазы разделяли, органическую фазу сушили и концентрировали в вакууме. Сырой продукт либо использовали без дополнительной очистки, либо очищали, как указано в примерах.

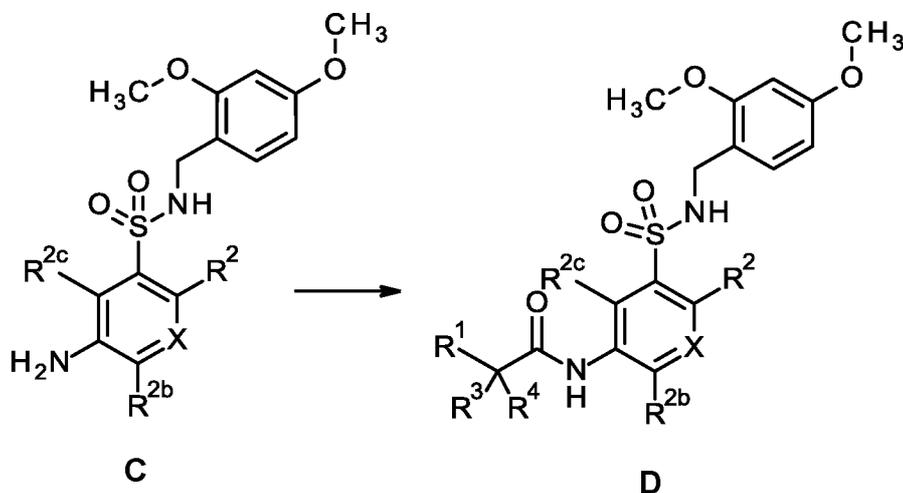


Общая методика GP2.1

Сырое нитросоединение **B** (например, 1.29 ммоль) растворяли в диоксане (15 мл в случае масштаба 1.29 ммоль) и добавляли дигидрат хлорида олова(II) (3.0 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 70°C. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь фильтровали и концентрировали в вакууме. Фильтрат либо использовали без дополнительной очистки, либо очищали, как указано в примерах.

Общая методика GP2.2

Сырое нитросоединение **B** (например, 1.29 ммоль) растворяли в диоксане (15 мл в случае масштаба 1.29 ммоль) и добавляли дигидрат хлорида олова(II) (5.0 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 70°C. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь фильтровали и концентрировали в вакууме. Фильтрат либо использовали без дополнительной очистки, либо очищали, как указано в примерах.

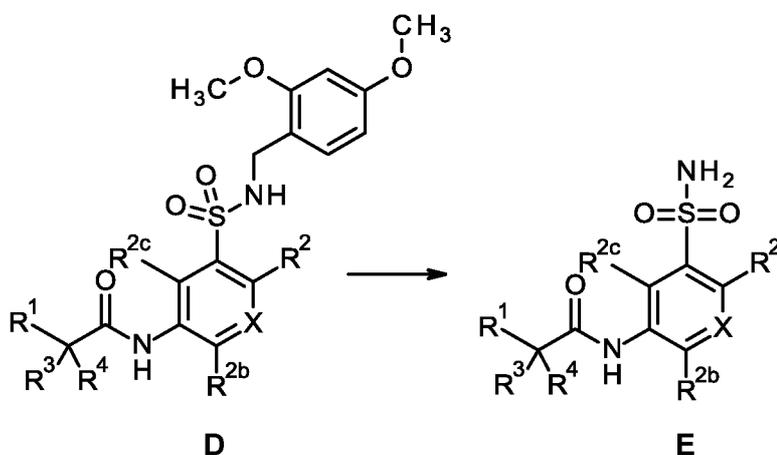


Общая методика GP3.4

Сырой замещенный анилин **C** (1.29 ммоль) растворяли в диметилформамиде (10 мл в случае масштаба 1.29 ммоль) с последующим добавлением соответствующей кислоты (количество, как указано в примерах), *N,N*-диизопропилэтиламина (2.0 экв. в перерасчете на кислоту) и НАТУ (1.0 экв. в перерасчете на кислоту). Реакционную смесь либо перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, либо нагревали при 50°C до тех пор, пока ТСХ не показывала израсходование исходного вещества. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь концентрировали в вакууме. Добавляли этилацетат и воду, органическую фазу сушили и концентрировали в вакууме. Сырой продукт использовали без дополнительной очистки.

Общая методика GP3.5

Сырой замещенный анилин **C** (1.29 ммоль) растворяли в диметилформамиде (10 мл в случае масштаба 1.29 ммоль) с последующим добавлением соответствующей кислоты (количество, как указано в примерах), *N,N*-диизопропилэтиламина (4.0 экв. в перерасчете на кислоту) и НАТУ (1.3 экв. в перерасчете на кислоту). Реакционную смесь либо перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, либо нагревали при 50°C до тех пор, пока ТСХ не показывала израсходование исходного вещества. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь концентрировали в вакууме. Добавляли этилацетат и воду, органическую фазу сушили и концентрировали в вакууме. Сырой продукт использовали без дополнительной очистки.

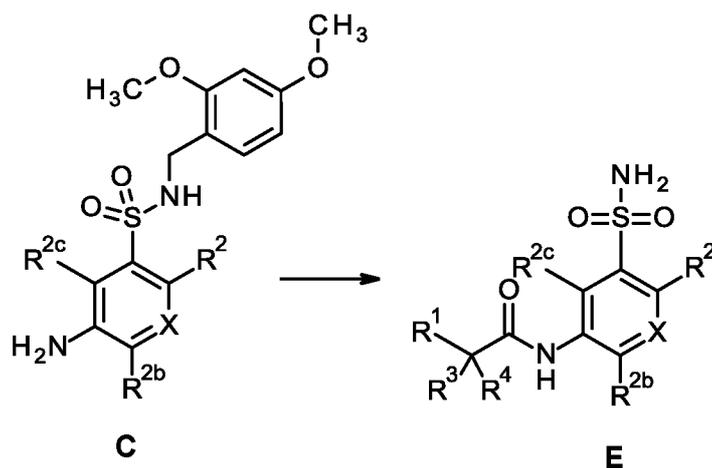


Общая методика GP4.1

Сырой амид **D** (например, 1.29 ммоль) растворяли в дихлорметане (5-10 мл в случае масштаба 1.29 ммоль), добавляли трифторуксусную кислоту (50 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре до тех пор, пока ТСХ не показывала израсходование исходного вещества. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, к сырому продукту добавляли этилацетат и воду, и органическую фазу сушили и растворитель удаляли при пониженном давлении. Полученный в результате остаток очищали, как указано в примерах. Очистка без экстрагирования водой также была возможной, но делала ВЭЖХ очистку более трудной.

Общая методика GP4.2

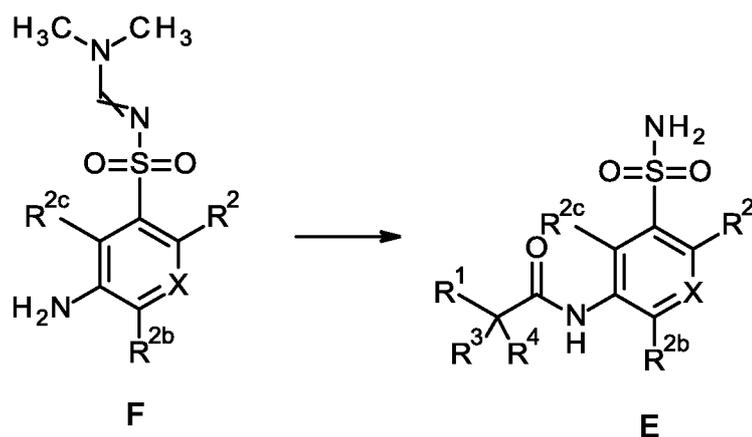
Сырой амид **D** (например, 1.29 ммоль) растворяли в смеси дихлорметан/трифторуксусная кислота 2/1 (6 мл в случае масштаба 1.29 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре до тех пор, пока ТСХ не показывала израсходование исходного вещества. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, к сырому продукту добавляли этилацетат и воду, и органическую фазу сушили и растворитель удаляли при пониженном давлении. Полученный в результате остаток очищали, как указано в примерах. Очистка без экстрагирования водой также была возможной, но делала ВЭЖХ очистку более трудной.



Общая методика GP5.1

В реакционный сосуд добавляли растворы замещенного анилина **C** (0.20 ммоль в 0.4 мл 1-метил-2-пирролидона), соответствующей кислоты (0.40 ммоль в 0.8 мл 1-метил-2-пирролидона), НАТУ (0.40 ммоль в 0.8 мл 1-метил-2-пирролидона), *N*-метилморфолина (0.80 ммоль в 0.267 мл 1-метил-2-

пирролидона, содержащего 2.5% 4-диметиламинопиридина) и взбалтывали в течение ночи. Затем, реакционную смесь концентрировали в вакууме, и остаток повторно растворяли в смеси трифторуксусная кислота/дихлорметан 3/1 (2 мл, содержащей 5% воды). Реакционную смесь снова взбалтывали в течение ночи с последующим выполнением концентрирования в вакууме и очистки с помощью ВЭЖХ.

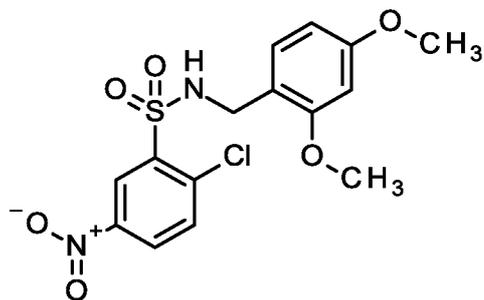


Общая методика GP6.1

10 Сырой замещенный анилин **F** (0.137 ммоль) растворяли в диметилформамиде (2 мл в случае масштаба 0.137 ммоль) с последующим добавлением соответствующей кислоты (количество, как указано в примерах), *N,N*-диизопропилэтиламина (2.7 экв. в перерасчете на кислоту) и NATU (1.0 экв. в перерасчете на кислоту). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре с последующим концентрированием в вакууме. Добавляли этилацетат и воду, органическую фазу сушили и концентрировали в вакууме.

20 Сырой продукт повторно растворяли в метаноле (1 мл), обрабатывали концентрированным водным раствором аммиака (70 мкл) и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали, как указано в примерах.

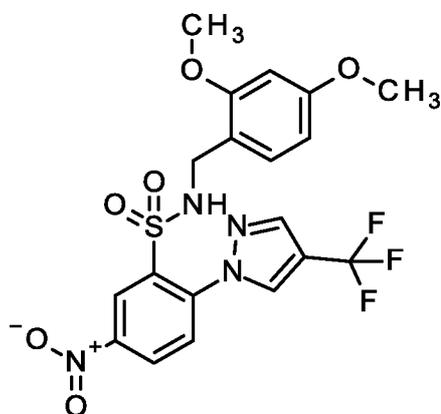
Синтез промежуточных соединений

2-Хлор-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамид

К раствору 2-хлор-5-нитробензолсульфонилхлорида (10.8 г, 42.2 ммоль) в
 5 дихлорметане (108 мл) добавляли бикарбонат натрия (7.09 г, 84.4 ммоль) и 1-(2,4-диметоксифенил)метанамин (7.05 г, 42.2 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме с последующим добавлением воды (75 мл) и этилацетата (75 мл). После перемешивания в течение 10 мин полученный в результате осадок отделяли с помощью
 10 фильтрования и сушили при 40°C в течение ночи в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (14.1 г, 36.5 ммоль, выход 86 %).

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.17$ мин; МС (ESI отрицат.): $m/z = 385$ [M-H]⁻

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ [м.д.]: 3.56 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 4.08 (s, 2H),
 6.10 (d, 1H), 6.26 (dd, 1H), 7.04 (d, 1H), 7.79 (d, 1H), 8.19 (d, 1H), 8.28 (dd, 1H),
 15 8.45 (s, 1H).

N-(2,4-Диметоксибензил)-5-нитро-2-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]бензолсульфонамид

20 К раствору 2-хлор-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамида (5.69 г, 14.7 ммоль) в ацетонитриле (170 мл) добавляли 4-(трифторметил)-1*H*-

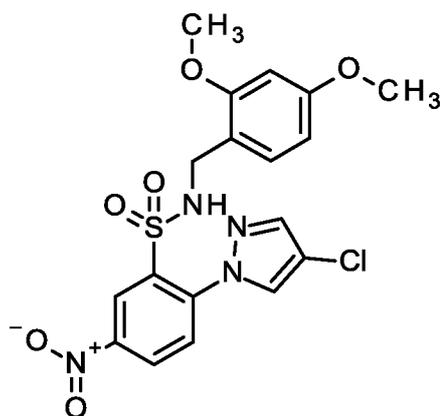
пиразол (3.00 г, 22.1 ммоль) и порошкообразный карбонат калия (6.09 г, 44.1 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 100°C.

Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток экстрагировали дихлорметаном и водой. Органическую фазу промывали соевым раствором и сушили над сульфатом натрия. Концентрирование при пониженном давлении приводило к указанному в заголовке сырому соединению (7.50 г, колич., прил. чистота 95%), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод В): Rt = 1.31 мин; МС (ESI положит.): m/z = 487 [M+H]⁺

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ [м.д.]: 3.52 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 4.15 (d, 2H), 6.18 (d, 1H), 6.29 (dd, 1H), 7.08 (d, 1H), 7.93 (d, 1H), 8.03 - 8.09 (m, 1H), 8.25 (d, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.49 (dd, 1H), 8.94 (s, 1H).

2-(4-Хлор-1H-пиразол-1-ил)-N-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамид



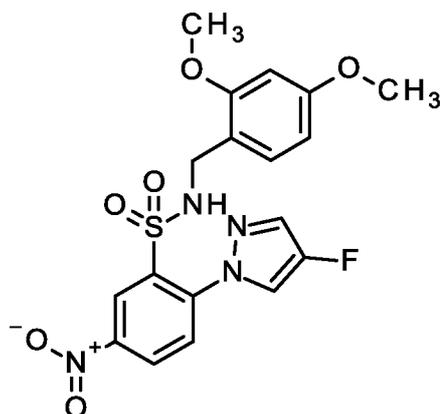
К раствору 2-хлор-N-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамида (5.03 г, 13.0 ммоль) в ацетонитриле (150 мл) добавляли 4-хлор-1H-пиразол (2.00 г, 19.5 ммоль) и порошкообразный карбонат калия (5.39 г, 39.0 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 100°C. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток экстрагировали дихлорметаном и водой. Органическую фазу промывали соевым раствором и сушили. Концентрирование в вакууме приводило к указанному в заголовке сырому соединению (6.27 г, колич., прил. чистота 95%), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): Rt = 1.26 мин; МС (ESI положит.): m/z = 453 [M+H]⁺

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.48 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 4.15 (s, 2H), 6.14 (d, 1H), 6.27 (dd, 1H), 7.08 (d, 1H), 7.84 (d, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.09 (d, 1H), 8.21 (d, 1H), 8.45 (dd, 1H), 8.57 (s, 1H).

***N*-(2,4-Диметоксибензил)-2-(4-фтор-1*H*-пиразол-1-ил)-5-**

5 **нитробензолсульфонамид**

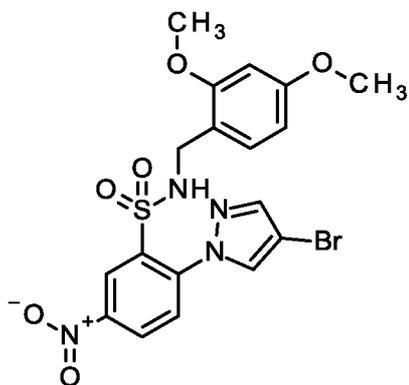


К раствору 2-хлор-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамида (5.00 г, 11.6 ммоль) в ацетонитриле (135 мл) добавляли 4-фтор-1*H*-пиразол (1.50 г, 17.4 ммоль) и порошкообразный карбонат калия (4.82 г, 34.9 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 100°C. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток экстрагировали дихлорметаном и водой. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили над сульфатом натрия. Концентрирование в вакууме приводило к указанному в заголовке сырому соединению (5.54 г, колич., чистота припл. 85 %), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.23$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 437$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.48 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 4.13 (s, 2H), 6.15 (d, 1H), 6.28 (dd, 1H), 7.09 (d, 1H), 7.81 (d, 1H), 8.00 - 8.10 (m, 2H), 8.23 (d, 1H), 8.43 (dd, 1H), 8.59 (s, 1H).

2-(4-Бром-1*H*-пиразол-1-ил)-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамид

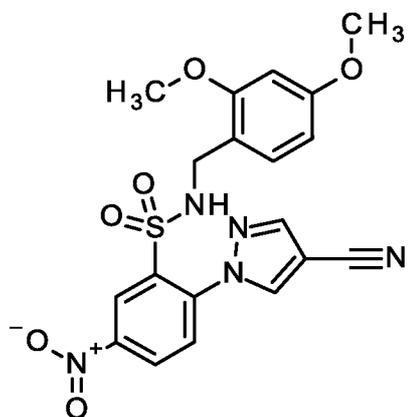


К раствору 2-хлор-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамида
 5 (1.75 г, 4.54 ммоль) в ацетонитриле (53 мл) добавляли 4-бром-1*H*-пиразол (1.00
 г, 6.80 ммоль) и порошкообразный карбонат калия (1.88 г, 13.6 ммоль) и
 реакцию смесь перемешивали в течение ночи при 100°C. Реакционную
 смесь концентрировали в вакууме и остаток экстрагировали дихлорметаном и
 водой. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили над
 10 сульфатом натрия. Концентрирование в вакууме приводило к указанному в
 заголовке сырому соединению (2.38 г, колич., прикл. чистота 95 %), которое
 использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.29$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 497 [M+H]^+$

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ [м.д.]: 3.48 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 4.13 (s, 2H),
 15 6.15 (d, 1H), 6.28 (dd, 1H), 7.09 (d, 1H), 7.84 (d, 1H), 8.00 - 8.10 (m, 2H), 8.23 (s,
 1H), 8.43 (dd, 1H), 8.65 (s, 1H).

2-(4-Циано-1*H*-пиразол-1-ил)-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамид



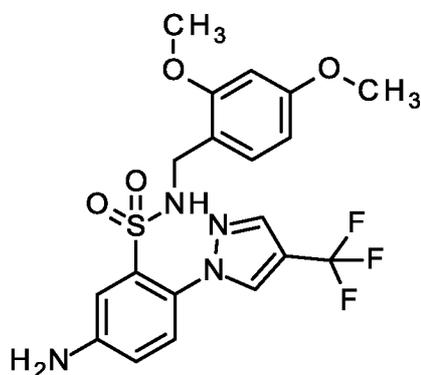
К раствору 2-хлор-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамида (15.0 г, 38.8 ммоль) в ацетонитриле (450 мл) добавляли 1*H*-пиразол-4-карбонитрил (5.41 г, 93.1 ммоль) и порошкообразный карбонат калия (16.1 г, 116 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 100°C.

5 Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток экстрагировали этилацетатом и водой. Наблюдалось осаждение указанного в заголовке чистого соединения и его отфильтровывали (9.09 г, 20.5 ммоль, выход 53 %, чистота 97 %), Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили над сульфатом натрия. Концентрирование в вакууме приводило к дополнительной порции указанного в заголовке сырого соединения (9.11 г, чистота прибл. 60 %).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 1.17$ мин; МС (ESI отрицат.): $m/z = 442$ [M-H]⁻

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ [м.д.]: 3.53 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 4.08 (s, 2H), 6.20 (d, 1H), 6.29 (dd, 1H), 7.07 (d, 1H), 7.89 (d, 1H), 8.12 (br s, 1H), 8.30 (br s, 1H), 8.41 - 8.54 (m, 2H), 9.17 (br s, 1H).

15 **5-Амино-*N*-(2,4-диметоксибензил)-2-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]бензолсульфонамид**

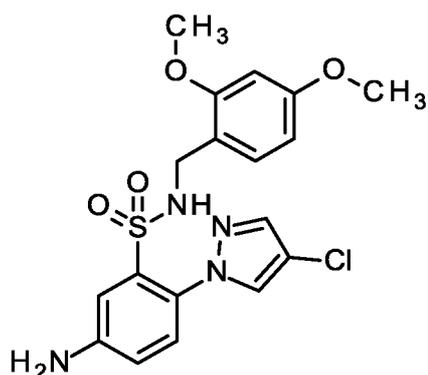


Pd/C (нагрузка 10%, 750 мг) добавляли к раствору *N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитро-2-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]бензолсульфонамида (7.50 г, 14.7 ммоль) в метаноле (120 мл) и перемешивали в атмосфере водорода в течение 4 ч при комнатной температуре. Для растворения осажденного продукта добавляли некоторое количество этилацетата, и затем раствор фильтровали, промывали и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке сырого соединения (6.50 г, колич., прибл. чистота 95%), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.20$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 457 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.70 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.94 (d, 2H), 6.01 (s, 2H), 6.41 - 6.48 (m, 2H), 6.78 (dd, 1H), 7.09 - 7.14 (m, 2H), 7.18 - 7.27 (m, 2H), 8.12 (s, 1H), 8.56 (s, 1H).

5 **5-Амино-2-(4-хлор-1H-пиразол-1-ил)-N-(2,4-диметоксибензил)-бензолсульфонамид**

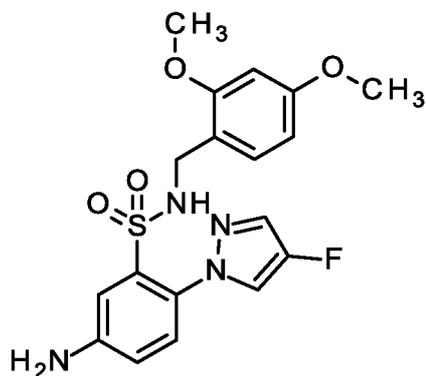


10 R_t/C (нагрузка 10%, 600 мг) добавляли к раствору сырого 2-(4-хлор-1H-пиразол-1-ил)-N-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамида (6.27 г, 13.9 ммоль) в этаноле (100 мл) и перемешивали в атмосфере водорода в течение 24 часов при комнатной температуре. Катализатор отфильтровывали, промывали этилацетатом и фильтрат концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке сырого соединения (5.99 г, колич., прибл. чистота 90%), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

15 ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.23$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 423 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.69 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.92 (d, 2H), 5.95 (s, 2H), 6.41 - 6.47 (m, 2H), 6.76 (dd, 1H), 7.08 - 7.12 (m, 2H), 7.15 (d, 1H), 7.19 (t, 1H), 7.78 (d, 1H), 8.15 (d, 1H).

**5-Амино-*N*-(2,4-диметоксибензил)-2-(4-фтор-1*H*-пиразол-1-ил)-
бензолсульфонамид**



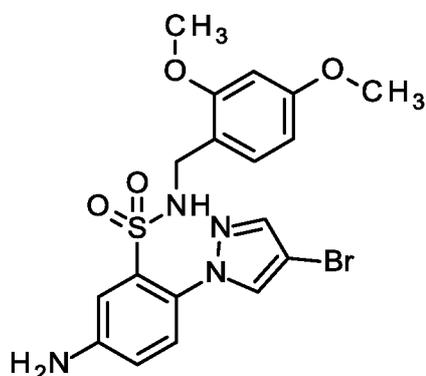
Pt/C (нагрузка 10%, 1.76 г) добавляли к раствору сырого *N*-(2,4-
5 диметоксибензил)-2-(4-фтор-1*H*-пиразол-1-ил)-5-нитробензолсульфонамида
(5.50 г, 12.6 ммоль) в смеси этанола (125 мл) и диоксана (200 мл) и
перемешивали в атмосфере водорода в течение 8 ч при комнатной температуре.
Катализатор отфильтровывали, промывали этилацетатом и фильтрат
концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке сырого
10 соединения (5.07 г, колич., прибр. чистота 90%), которое использовали без
дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): Rt = 1.10 мин

МС (ESI положит.): m/z = 407 [M+H]⁺

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ [м.д.]: 3.69 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.92 (d, 2H),
15 5.93 (s, 2H), 6.42 - 6.47 (m, 2H), 6.78 (dd, 1H), 7.08 - 7.19 (m, 4H), 7.74 (dd, 1H),
8.07 (dd, 1H).

**5-Амино-2-(4-бром-1*H*-пиразол-1-ил)-*N*-(2,4-диметоксибензил)-
бензолсульфонамид**



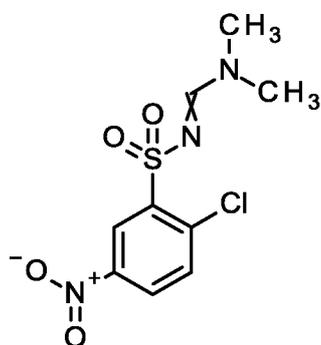
Pt/C (нагрузка 10%, 1.76 г) добавляли к раствору сырого 2-(4-бром-1*H*-
20 пиразол-1-ил)-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамида (5.60 г,

12.8 ммоль) в этаноле (140 мл) и перемешивали в атмосфере водорода в течение 14 ч при комнатной температуре. Катализатор отфильтровывали, промывали этилацетатом и фильтрат концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке сырого соединения (1.87 г, колич., прибл. чистота 90%), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.18$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 467$ (M+H)⁺

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ [м.д.]: 3.69 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.92 (d, 2H), 5.95 (s, 2H), 6.39 - 6.48 (m, 2H), 6.77 (dd, 1H), 7.08 - 7.23 (m, 4H), 7.79 (d, 1H), 8.15 (d, 1H).

2-Хлор-*N*-[(диметиламино)метил]-5-нитробензолсульфонамид

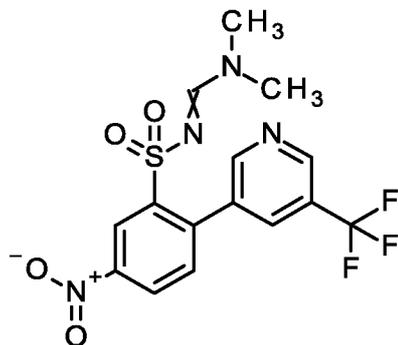


1,1-Диметокси-*N,N*-диметилметанамин (3.02 г, 25.4 ммоль) добавляли к раствору 2-хлор-5-нитробензолсульфонамида (3.00 г, 12.7 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (43 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток экстрагировали смесью дихлорметан/вода. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили. Концентрирование в вакууме приводило к получению указанного в заголовке сырого соединения (4.18 г, колич., прибл. чистота 90%), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 0.86$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 292$ [M+H]⁺

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ [м.д.] 2.94 - 2.96 (m, 3H), 3.20 (s, 3H), 7.91 (d, 1H), 8.31 - 8.33 (m, 1H), 8.39 (dd, 1H), 8.69 (d, 1H).

***N*-[(Диметиламино)метиле́н]-5-нитро-2-[5-(трифторметил)пиридин-3-ил]бензолсульфонамид**



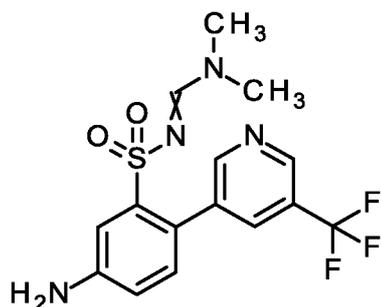
2-Хлор-*N*-[(диметиламино)метиле́н]-5-нитробензолсульфонамид (1.10 г, 3.77 ммоль) растворяли в дегазированном *n*-пропаноле (33 мл) и обрабатывали [5-(трифторметил)пиридин-3-ил]бороновой кислотой (1.08 г, 5.68 ммоль), дихлоридом бис(трифенилфосфин)палладия(II) (132 мг, 0.189 ммоль) и трифенилфосфином (49.5 мг, 0.189 ммоль). Добавляли 2М водный дегазированный раствор карбоната калия (5.65 мл), флакон герметизировали и перемешивали в течение 16 часов при 100°C. После охлаждения до комнатной температуры добавляли воду и реакцию смесь три раза экстрагировали этилацетатом с последующим концентрированием в вакууме.

Целевые молекулы с частично удаленной защитой повторно защищали, как описано выше, путем перемешивания при комнатной температуре с 1,1-диметокси-*N,N*-диметилметанамином в ДМФА. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Chromatorex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.1% водного раствора аммиака (32%)) с получением указанного в заголовке соединения (174 мг, 0.432 ммоль, выход 11%, чистота 95%).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 1.08$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 403 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.] 2.76 (s, 3H), 2.99 (s, 3H), 7.76 (s, 1H), 7.81 (d, 1H), 8.33 - 8.36 (m, 1H), 8.52 (dd, 1H), 8.76 (d, 1H), 8.88 (d, 1H), 9.09 (dd, 1H).

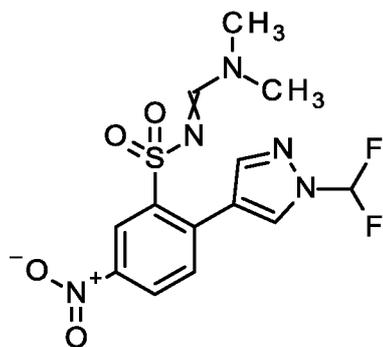
5-Амино-*N*-[(диметиламино)метилен]-2-[5-(трифторметил)пиридин-3-ил]бензолсульфонамид



Pd/C (нагрузка 10%, 21 мг) добавляли к раствору *N*-
 5 [(диметиламино)метилен]-5-нитро-2-[5-(трифторметил)пиридин-3-
 ил]бензолсульфонамида (174 мг, 0.39 ммоль) в смеси метанола (10 мл) и
 диоксана (10 мл) и перемешивали в атмосфере водорода в течение ночи при
 комнатной температуре. Катализатор отфильтровывали, промывали
 этилацетатом и фильтрат концентрировали в вакууме с получением указанного в
 10 заголовке соединения (140 мг, колич., чистота 95%), которое использовали без
 дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 0.90$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 373 [M+H]^+$

2-[1-(Дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-нитробензолсульфонамид



15 2-Хлор-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-нитробензолсульфонамид (1.00 г,
 3.43 ммоль) растворяли в дегазированном *n*-пропаноле (30 мл) и обрабатывали 1-
 (дифторметил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразолом
 (1.25 г, 5.14 ммоль), дихлоридом бис(трифенилфосфин)палладия(II) (121 мг,
 20 0.171 ммоль) и трифенилфосфином (45.0 мг, 0.171 ммоль). Добавляли водный
 дегазированный 2М раствор карбоната калия (5.14 мл), флакон герметизировали
 и перемешивали в течение 16 часов при 100°C. После охлаждения до комнатной

температуры добавляли воду и реакционную смесь три раза экстрагировали этилацетатом с последующим концентрированием в вакууме.

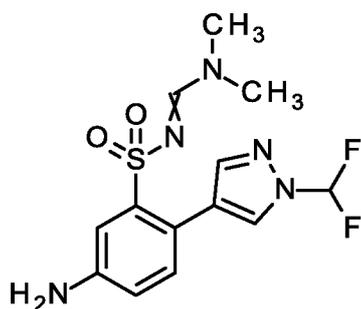
Остаток повторно растворяли в смеси метанола (25 мл) и *n*-пропанола (25 мл) и добавляли концентрированный водный раствор аммиака (50 мл) с целью
 5 полного снятия защиты с целевых молекул для облегчения очистки. Реакционную смесь экстрагировали дихлорметаном и этилацетатом. Органические фазы сушили с последующим выполнением концентрирования в вакууме и очистки с помощью препаративной ВЭЖХ (Chromatorex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.1% водного раствора аммиака (32%)) с
 10 получением 2-[1-(дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-5-нитробензолсульфонамида (383 мг).

Затем, целевые молекулы с удаленной защитой повторно защищали, как описано выше, путем перемешивания при комнатной температуре с 1,1-диметокси-*N,N*-диметилметанамином в ДМФА. Концентрирование в вакууме
 15 приводило к получению указанного в заголовке соединения (418 мг), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.98$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 374 [M+H]^+$

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ [м.д.] 2.76 (d, 3H), 3.02 (s, 3H), 7.85 (d, 1H),
 7.91 - 7.93 (m, 2H), 7.95 (t, 1H), 8.19 - 8.21 (m, 1H), 8.43 (dd, 1H), 8.72 (d, 1H),
 20 8.77 (d, 1H).

**5-Амино-2-[1-(дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-*N*-
 [(диметиламино)метилен]бензолсульфонамид**

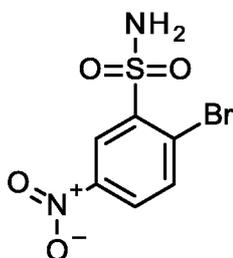


Pd/C (нагрузка 10%, 54 мг) добавляли к раствору 2-[1-(дифторметил)-1*H*-
 25 пиразол-4-ил]-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-нитробензолсульфонамида (418 мг, 1.01 ммоль) в смеси метанола (10 мл) и диоксана (10 мл) и перемешивали в атмосфере водорода в течение ночи при комнатной температуре. Катализатор отфильтровывали, промывали этилацетатом и фильтрат концентрировали в

вакууме с получением указанного в заголовке сырого соединения (370 мг, колич., чистота 90%), которое использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод А): Rt = 0.74 мин; МС (ESI положит.): m/z = 344 [M+H]⁺

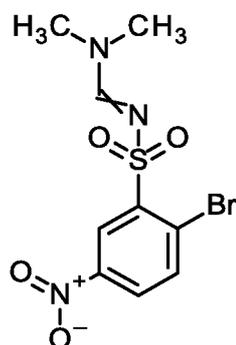
5 **2-Бром-5-нитробензолсульфонамид**



2-Бром-5-нитробензолсульфонилхлорид (20.0 г, 66.6 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (100 мл) и охлаждали до 0°C. Медленно добавляли водный раствор аммиака (400 мл, 0.50 М, 200 ммоль) и перемешивание продолжали при
10 комнатной температуре до завершения реакции. Растворитель удаляли при пониженном давлении и добавляли дихлорметан. Органическую фазу три раза промывали водой. Суспензию фильтровали (твердое вещество - продукт), и органическую фазу промывали солевым раствором. Объединенные органические фазы сушили над сульфатом натрия и растворитель удаляли при пониженном
15 давлении. Сырой продукт перекристаллизовывали из диэтилового эфира с получением 16.4 г конечного продукта (чистота 93%, выход 88 %).

ЖХ-МС (Метод В): Rt = 0.45 мин; МС (ESI положит.): m/z = 281 [M+H]⁺

2-Бром-N-[(диметиламино)метилен]-5-нитробензолсульфонамид



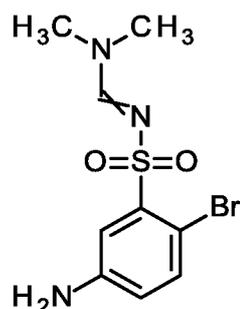
20 2-Бром-5-нитробензолсульфонамид (16.4 г, 58.3 ммоль) растворяли в ДМФА (200 мл) при комнатной температуре и добавляли 1,1-диметокси-N,N-диметилметанамин (15 мл, 120 ммоль). Перемешивание продолжали до завершения реакции. Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой

продукт распределяли между дихлорметаном и соевым раствором.

Органическую фазу сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки (19.2 г, чистота 78%, выход 98%).

5 ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 0.92$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 336 [M+H]^+$

5-Амино-2-бром-*N*-[(диметиламино)метилен]бензолсульфонамид



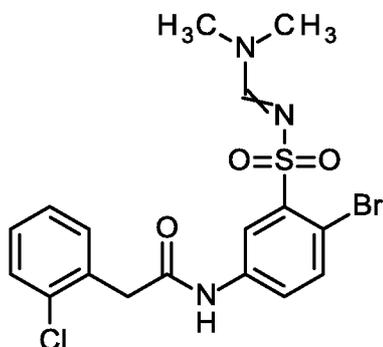
2-Бром-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-нитробензолсульфонамид (12.7 г, 37.8 ммоль) растворяли в метаноле (170 мл) и колбу наполняли азотом.

10 Добавляли платину на древесном угле (нагрузка 5%, 1.61 г, 8.26 ммоль) и колбу вакуумировали и затем наполняли водородом (1 бар). Перемешивание продолжали при комнатной температуре до завершения реакции. Реакционную смесь фильтровали через целит и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт использовали без дополнительной очистки на

15 следующей стадии (5.5 г, чистота 76%, выход 59%).

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 0.75$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 306 [M+H]^+$

***N*-(4-Бром-3-[[диметиламино)метилен]сульфамойл]фенил)-2-(2-хлорфенил)ацетамид**



20

5-Амино-2-бром-*N*-[(диметиламино)метилен]бензолсульфонамид (4.85 г, 15.8 ммоль) растворяли в ДМФА (100 мл) и добавляли (2-хлорфенил)уксусную

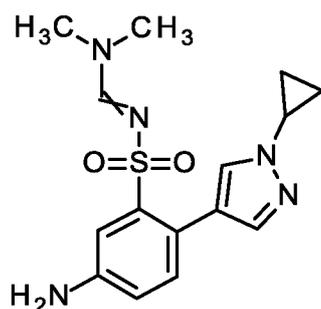
кислоту (3.24 г, 19.0 ммоль) с последующим добавлением *N,N*-диизопропилэтиламина (13 мл, 79 ммоль) и НАТУ (9.64 г, 25.3 ммоль).

Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при 50°C. Растворитель удаляли при пониженном давлении и добавляли этилацетат и воду. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт суспендировали в дихлорметане и фильтровали, растворитель удаляли и сырой продукт использовали без дополнительной очистки на следующей стадии (15.7 г).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 1.08$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 458 [M+H]^+$

Это промежуточное соединение также можно использовать в виде соли HCl.

5-Амино-2-(1-циклопропил-1*H*-пиразол-4-ил)-*N*-[(диметиламино)метилен]бензолсульфонамид



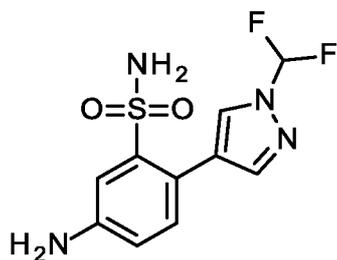
2-Хлор-5-нитробензолсульфонамид (674 мг, 2.85 ммоль) и 1-циклопропил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол (1.00 г, 4.27 ммоль) растворяли в *n*-пропаноле (34 мл) и добавляли дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (CAS 13965-03-2) (100 мг, 142 мкмоль) и трифенилфосфин (37.3 мг, 142 мкмоль). Реакционную смесь продували аргоном в течение 5 минут и добавляли водн. раствор карбоната калия (5.7 мл, 1.0 М, 5.7 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 100°C в течение 3 ч. После этого смесь фильтровали через целит и растворитель удаляли при пониженном давлении. Добавляли этилацетат и воду. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

2-(1-Циклопропил-1*H*-пиразол-4-ил)-5-нитробензолсульфонамид (1.17 г, 3.79 ммоль) и 1,1-диметокси-*N,N*-диметилметанамин (1.0 мл, 7.6 ммоль) растворяли в ДМФА (25 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре до завершения реакции. Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

2-(1-Циклопропил-1*H*-пиразол-4-ил)-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-нитробензолсульфонамид (1.84 г, 5.06 ммоль) растворяли в ТГФ (30 мл) и колбу наполняли азотом. Добавляли палладий на древесном угле (нагрузка 10%, 53.9 г, 506 мкмоль) и колбу вакуумировали и затем наполняли водородом (1 бар). Перемешивание продолжали при комнатной температуре до завершения реакции. Реакционную смесь фильтровали через целит и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт использовали без дополнительной очистки на следующей стадии (1.3 г, чистота 53%, выход за 3 стадии 75%).

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 0.70$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 334 [M+H]^+$

5-Амино-2-[1-(дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]бензолсульфонамид



2-Бром-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-нитробензолсульфонамид (800 мг, 2.3 ммоль) и 1-(дифторметил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол (700 мг, 2.87 ммоль) растворяли в *n*-пропаноле (15 мл) и добавляли дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (CAS 13965-03-2) (84 мг, 119 мкмоль) и трифенилфосфин (31 мг, 119 мкмоль). Раствор продували аргоном в течение 5 минут и добавляли водн. раствор карбоната калия (3.6 мл, 2.0 М, 7.2 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 100°C в течение 16 ч. Добавляли воду и этилацетат. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

2-[1-(Дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-нитробензолсульфонамид (2.16 г, 5.79 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (50 мл) и добавляли платину на древесном угле (нагрузка 5%, 307 мг, 1.57 ммоль). Колбу три раза вакуумировали и наполняли водородом (1 бар).

5 Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре. В соответствии с СВЭЖХ-МС реакция еще не завершилась, поэтому добавляли такое же количество платины на древесном угле и реакционную смесь перемешивали в атмосфере в течение дополнительных 16 ч. После этого смесь фильтровали через целит и растворитель удаляли при пониженном давлении.

10 Сырой продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

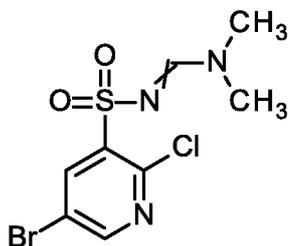
5-Амино-2-[1-(дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-*N*-[(диметиламино)метилен]бензолсульфонамид (670 мг, 1.95 ммоль) растворяли в метаноле (25 мл) и обрабатывали 25% водным раствором аммиака (25 мл) при

15 комнатной температуре до завершения реакции. Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле (Biotage, градиент дихлорметан/этилацетат) и последующей ВЭЖХ очистки ((Waters XBrigde C18 5 мк 100x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.1% муравьиной кислоты) с получением 53 мг конечного продукта (чистота 99%,

20 выход за 3 стадии 9 %). Реакции повторяли и сырой продукт применяли для следующих стадий, используя данное промежуточное соединение.

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.58$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 289 [M+H]^+$

5-Бром-2-хлор-*N*-[(диметиламино)метилен]пиридин-3-сульфонамид

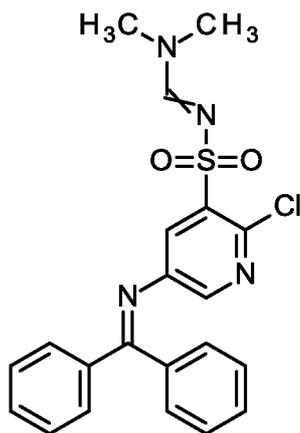


25 5-Бром-2-хлорпиридин-3-сульфонамид (3.86 г, 14.2 ммоль) и 1,1-диметокси-*N,N*-диметилметанамин (3.8 мл, 28 ммоль) растворяли в ДМФА (40 мл) и перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Растворитель удаляли при пониженном давлении и добавляли дихлорметан и солевой раствор. Фазы разделяли и органическую фазу промывали водой. Объединенные

органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки (5.12 г).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.89$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 326 [M+H]^+$

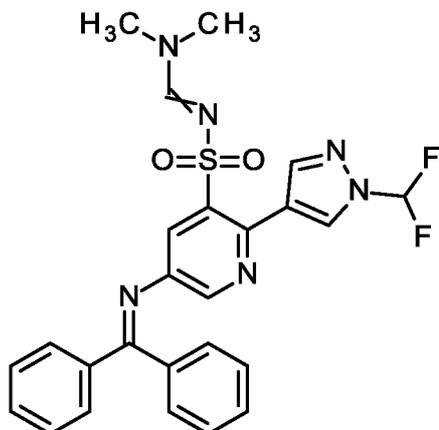
5 **2-Хлор-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-
[(дифенилметилен)амино]пиридин-3-сульфонамид**



10 5-Бром-2-хлор-*N*-[(диметиламино)метилен]пиридин-3-сульфонамид (5.00 г, 15.3 ммоль), 1,1-дифенилметанимин (3.9 мл, 23 ммоль), XantPhos (886 мг, 1.53 ммоль) и ацетат палладия(II) (172 мг, 765 мкмоль) растворяли в диоксане (150 мл). Раствор продували аргоном в течение 5 минут и добавляли карбонат цезия (15.0 г, 45.9 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 100°C в течение 1 ч. После этого растворитель удаляли при пониженном давлении и добавляли воду
15 и этилацетат. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Половину сырого продукта использовали без дополнительной очистки, а 3 г очищали с помощью хроматографии на силикагеле, покрытом аммиаком (Biotage, гексан/этилацетат) с получением 1.00
20 г конечного продукта (чистота 78%, выход 15 % в пересчете на общее количество исходного вещества).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 1.26$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 427 [M+H]^+$

**2-[1-(Дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-
[(дифенилметилен)амино]пиридин-3-сульфонамид**



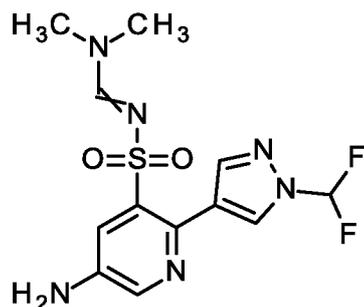
2-Хлор-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-

5 [(дифенилметилен)амино]пиридин-3-сульфонамид (1.50 г, 3.51 ммоль, сырой)
и 1-(дифторметил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол
(1.71 г, 7.03 ммоль) растворяли в смеси *n*-пропанол (30 мл)/ДМФА (15 мл) и
добавляли дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (CAS 13965-03-2) (371
мг, 527 мкмоль), трифенилфосфин (225 мг, 0.85 ммоль), фторид калия (408 мг,
10 7.03 ммоль) и водн. раствор фосфата калия (1.8 мл, 2.0 М, 3.5 ммоль). Раствор
продували аргоном в течение 5 минут и реакционную смесь нагревали при 100°C
в течение 1 ч в микроволновой печи (1 бар/30 Вт). Растворитель удаляли при
пониженном давлении и добавляли воду и этилацетат. Фазы разделяли и водную
фазу экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фазы сушили
15 на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой
продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле, покрытом аммиаком
(Biotage, гексан/этилацетат) (1.54 г, чистота 65%, выход 86 %).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 1.26$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 509 [M+H]^+$

5-Амино-2-[1-(дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-*N*-

20 [(диметиламино)метилен]пиридин-3-сульфонамид

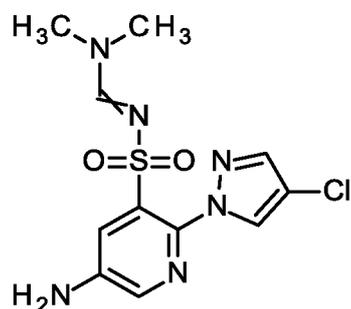


2-[1-(Дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-[(дифенилметилен)амино]пиридин-3-сульфонамид (1.54 г, 3.03 ммоль) растворяли в диоксане (15 мл) и добавляли водн. HCl (2.0 мл, 3.0 М, 6.1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре.

5 Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт использовали без дополнительной очистки на следующей стадии (2.45 г).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.66$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 345 [M+H]^+$

5-Амино-2-(4-хлор-1*H*-пиразол-1-ил)-*N*-[(диметиламино)метилен]пиридин-3-сульфонамид



10

2-Хлор-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-[(дифенилметилен)амино]пиридин-3-сульфонамид (1.00 г, 2.34 ммоль) растворяли в ДМСО (18 мл). Добавляли 4-хлор-1*H*-пиразол (480 мг, 4.69 ммоль), йодид калия (389 мг, 2.34 ммоль) и фосфат калия (746 мг, 3.51 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 100°C. После этого реакционную смесь концентрировали в вакууме, экстрагировали смесью дихлорметан/вода и органическую фазу промывали солевым раствором и сушили над сульфатом натрия с последующим концентрированием в вакууме.

15

В связи с частичным снятием защиты, вещество повторно растворяли в ДМФА (2 мл) и перемешивали в течение ночи с 1,1-диметокси-*N,N*-диметилметанаминном (0.5 мл). Перемешивание в течение ночи приводило к образованию осадка, который удаляли путем фильтрования (229 мг, чистый 2-(4-хлор-1*H*-пиразол-1-ил)-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-

20

[(дифенилметилен)амино]пиридин-3-сульфонамид). Фильтрат концентрировали в вакууме, экстрагировали смесью дихлорметан/вода и органическую фазу промывали солевым раствором и сушили над сульфатом натрия с последующим концентрированием в вакууме с получением сырого 2-(4-хлор-1*H*-пиразол-1-ил)-

25

N-[(диметиламино)метилен]-5-[(дифенилметилен)амино]пиридин-3-сульфонамида (549 мг).

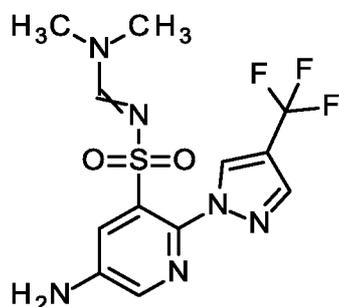
ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.31$ мин, МС (ESI положит.): $m/z = 493 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.] 2.80 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 7.27 - 7.33 (m, 2H), 7.38 - 7.44 (m, 3H), 7.49 - 7.56 (m, 2H), 7.58 - 7.64 (m, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.69 - 7.76 (m, 2H), 7.79 - 7.83 (m, 2H), 8.17 (d, 1H), 8.32 (d, 1H).

Чистое вещество (229 мг) из предыдущей стадии растворяли в диоксане (2.0 мл) и добавляли 2М раствор HCl в диоксане (1.00 мл, 2.00 ммоль) с последующим перемешиванием в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и экстрагировали смесью этилацетат/вода. Органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке сырого соединения (200 мг), которое использовали без дополнительной очистки на следующих стадиях.

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 0.71$ мин, МС (ESI положит.): $m/z = 329 [M+H]^+$

5-Амино-*N*-[(диметиламино)метилен]-2-[4-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил]пиридин-3-сульфонамид



Реакцию проводили три раза в 1 г масштабе. 2-Хлор-*N*-[(диметиламино)метилен]-5-[(дифенилметилен)амино]пиридин-3-сульфонамид (3.00 г, 7.03 ммоль) и 4-(трифторметил)-1H-пиразол (1.43 г, 10.5 ммоль) растворяли в ДМСО (110 мл, 1.6 моль) и добавляли йодид калия (583 мг, 3.51 ммоль) и фосфат калия (2.24 г, 10.5 ммоль). Реакционную смесь нагревали в течение 5 ч в микроволновой печи при 100°C. После этого твердое вещество отфильтровывали и к фильтрату добавляли этилацетат и воду. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили над сульфатом натрия. Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт очищали с

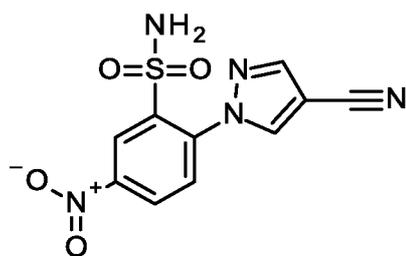
помощью хроматографии на силикагеле (Biotage, этилацетат/гексан) с получением 15.7 г конечного продукта (выход 424 %).

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.40$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 472 [M+H]^+$

5 5-[Дифенилметилен)амино]-2-[4-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил]пиридин-3-сульфонамид (3.50 г, 7.42 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (100 мл) и добавляли HCl (4.9 мл, 3.0 М, 15 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт распределяли между этилацетатом и водой. После этого органическую фазу сушили на фильтре Ватмана и
10 растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт растворяли в ацетонитриле и воде и лиофилизировали в течение ночи.

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.56$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 307 [M+H]^+$

2-(4-Циано-1H-пиразол-1-ил)-5-нитробензолсульфонамид

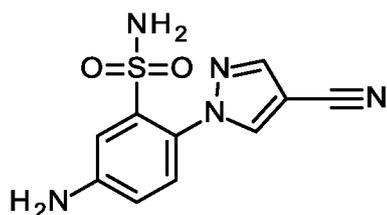


15 2-Хлор-5-нитробензолсульфонамид (250 мг, 1.06 ммоль) растворяли в ацетонитриле (10 мл) с последующим добавлением 1H-пиразол-4-карбонитрила (148 мг, 1.59 ммоль) и тонкоизмельченного карбоната калия (438 мг, 3.17 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при 100°C. После охлаждения до комнатной температуры добавляли дихлорметан и воду и
20 органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Очистка с помощью препаративной ВЭЖХ (Chromatorex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.1% муравьиной кислоты) приводила к получению указанного в заголовке соединения (128 мг, 0.436 ммоль, выход 41 %, чистота 70 %).

25 ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 0.78$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 294 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 7.94 (br d, 2H), 7.98 (d, 1H), 8.42 (d, 1H), 8.61 (dd, 1H), 8.83 (d, 1H), 9.04 (d, 1H).

5-Амино-2-(4-циано-1*H*-пиразол-1-ил)бензолсульфонамид



2-(4-Циано-1*H*-пиразол-1-ил)-5-нитробензолсульфонамид (128 мг, 0.44 ммоль) растворяли в метаноле (17 мл) и диоксане (3 мл). Колбу вакуумировали и продували азотом с последующим добавлением палладия на угле (13 мг, нагрузка 10%). Колбу снова вакуумировали и тотчас же продували водородом с последующим перемешиванием в атмосфере водорода в течение 5 ч при комнатной температуре. Водород удаляли, катализатор отфильтровывали и фильтрат концентрировали в вакууме. Продукт повторно растворяли в дихлорметане и снова концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (81 мг, 0.308 ммоль, выход 70 %, чистота 79%).

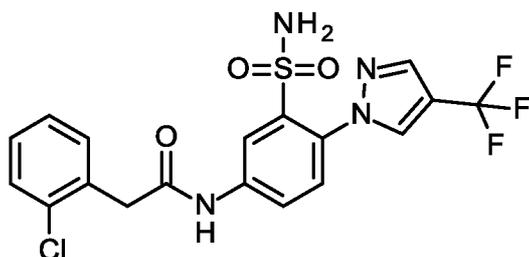
ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.46$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 264 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ [м.д.]: 6.06 (s, 2H), 6.77 (dd, 1H), 7.17 - 7.23 (m, 4H), 8.23 (d, 1H), 8.71 (d, 1H).

Синтез Примеров

Пример 19

2-(2-Хлорфенил)-*N*-{3-сульфамойл-4-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]фенил}ацетамид



5-Амино-*N*-(2,4-диметоксибензил)-2-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]бензолсульфонамид (22.3 г, 48.9 ммоль) растворяли в ДМФА (460 мл) с последующим добавлением (2-хлорфенил)уксусной кислоты (12.5 г, 73.3 ммоль), *N,N*-диизопропилэтиламина (25.3 г, 195 ммоль) и НАТУ (27.9 г, 73.3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Затем ее концентрировали в вакууме и экстрагировали дихлорметаном и водой. Органическую фазу промывали раствором бикарбоната натрия, соевым

раствором и раствором хлорида аммония, сушили над сульфатом натрия и снова концентрировали в вакууме. Защищенный продукт уже был частично осажден во время промывания хлоридом аммония, и его удаляли перед сушкой сульфатом натрия.

5 Обе порции продукта, остаток и осадок, растворяли в дихлорметане (150 мл) и обрабатывали трифторуксусной кислотой (75 мл) с последующим перемешиванием в течение ночи при комнатной температуре.

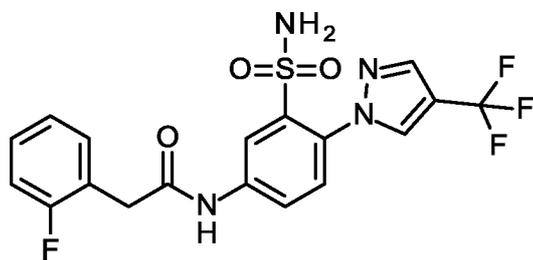
Опять же, продукт уже был частично осажден и его удаляли. Оставшийся раствор концентрировали в вакууме и экстрагировали дихлорметаном и водой.
10 Органическую фазу промывали раствором бикарбоната и соевым раствором, сушили над сульфатом натрия и в заключение концентрировали в вакууме. Во время обработки водой, продукт частично осаждался снова. Объединенные осадочные фракции плюс фракцию, полученную при концентрировании органической фазы, объединяли и очищали с помощью кристаллизации из
15 кипящего с обратным холодильником этилацетата с получением указанного в заголовке соединения (12.3 г, 26.8 ммоль, выход за 2 стадии 55 %, чистота 98 %).

ЖХ-МС (Метод В): Rt = 1.06 мин; МС (ESI положит.): m/z = 459 [M+H]⁺

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ [м.д.] 3.92 (s, 2H), 7.30 - 7.37 (m, 2H), 7.42 - 7.48 (m, 4H), 7.60 (d, 1H), 7.98 (dd, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.39 (d, 1H), 8.74 (s, 1H),
20 10.83 (s, 1H).

Пример 20

2-(2-Фторфенил)-N-{3-сульфамоил-4-[4-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил]фенил}ацетамид



25 5-Амино-N-(2,4-диметоксибензил)-2-[4-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил]бензолсульфонамид (350 мг, 0.767 ммоль) растворяли в ДМФА (15 мл) с последующим добавлением (2-фторфенил)уксусной кислоты (130 мг, 0.843 ммоль), N,N-диизопропилэтиламина (496 мг, 3.83 ммоль) и НАТУ (466 мг, 1.23 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной

температуре. Затем ее концентрировали в вакууме и экстрагировали дихлорметаном и водой. Органическую фазу промывали соевым раствором, сушили над сульфатом натрия и снова концентрировали в вакууме.

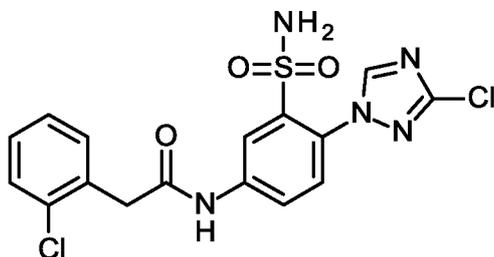
Остаток растворяли в дихлорметане (10 мл) и обрабатывали трифторуксусной кислотой (4.37 г, 38.3 ммоль) с последующим перемешиванием в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Chromatogex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.1% муравьиной кислоты) с получением указанного в заголовке соединения (60.5 мг, 0.137 ммоль, выход за 2 стадии 18 %, чистота 98 %).

ЖХ-МС (Метод А): Rt = 1.10 мин; МС (ESI положит.): m/z = 443 [M+H]⁺

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ [м.д.] 3.82 (s, 2H), 7.17 - 7.23 (m, 2H), 7.31 - 7.49 (m, 4H), 7.60 (d, 1H), 7.98 (dd, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.39 (d, 1H), 8.74 (s, 1H), 10.82 (s, 1H).

Пример 24

2-(2-Хлорфенил)-N-[4-(3-хлор-1H-1,2,4-триазол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид



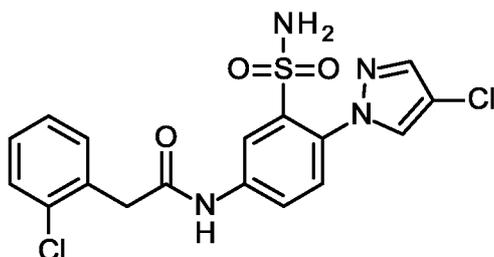
В соответствии с общими методиками GP1.2, GP2.1, GP3.4 и GP4.2, 2-хлор-N-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамид (500 мг, 1.29 ммоль), 3-хлор-1H-1,2,4-триазол (201 мг, 1.94 ммоль) и (2-хлорфенил)уксусную кислоту (203 мг, 1.19 ммоль) превращали без очистки промежуточных соединений в указанное в заголовке соединение и очищали на завершающем этапе с помощью препаративной ВЭЖХ (Waters XBridge C18 5 мк 100x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора аммиака (32%)) (9 мг, 0.0211 ммоль, выход за 4 стадии 2 %, чистота 97 %).

ЖХ-МС (Метод В): Rt = 0.70 мин; МС (ESI положит.): m/z = 426 [M+H]⁺

^1H -ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.92 (s, 2H), 7.31 - 7.35 (m, 2H), 7.43 - 7.49 (m, 2H), 7.60 (s, 2H), 7.62 (d, 1H), 7.95 (dd, 1H), 8.42 (d, 1H), 8.81 (s, 1H), 10.87 (s, 1H).

Пример 25

5 **2-(2-Хлорфенил)-*N*-[4-(4-хлор-1*H*-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид**



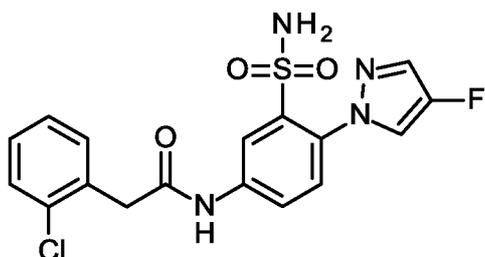
В соответствии с общими методиками GP1.2, GP2.1, GP3.4 и GP4.2, 2-хлор-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамид (500 мг, 1.29 ммоль), 4-хлор-1*H*-пиразол (199 мг, 1.94 ммоль) и (2-хлорфенил)уксусную кислоту (313 мг, 1.83 ммоль) превращали без очистки промежуточных соединений в указанное в заголовке соединение и очищали на завершающем этапе с помощью препаративной ВЭЖХ (Waters XBridge C18 5 мк 100x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора аммиака (32%)) (55 мг, 0.129 ммоль, выход за 4 стадии 10 %, чистота 99 %).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.95$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 425$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H -ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.91 (s, 2H), 7.31 - 7.37 (m, 2H), 7.41 (s, 2H), 7.44 - 7.49 (m, 2H), 7.55 (d, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.97 (dd, 1H), 8.35 (d, 1H), 8.38 (d, 1H), 10.81 (s, 1H).

Пример 26

20 **2-(2-Хлорфенил)-*N*-[4-(4-фтор-1*H*-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид**



В соответствии с общими методиками GP1.2, GP2.1, GP3.4 и GP4.2, 2-хлор-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамид (500 мг, 1.29 ммоль), 4-

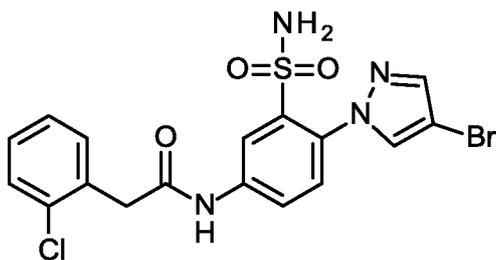
фтор-1*H*-пиразол (167 мг, 1.94 ммоль) и (2-хлорфенил)уксусную кислоту (151 мг, 1.89 ммоль) превращали без очистки промежуточных соединений в указанное в заголовке соединение и очищали на завершающем этапе с помощью препаративной ВЭЖХ (Waters XBridge C18 5 мк 100x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора аммиака (32%)) (43 мг, 0.105 ммоль, выход за 4 стадии 8 %, чистота 97 %).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.88$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 409 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.91 (s, 2H), 7.30 - 7.37 (m, 2H), 7.39 (s, 2H), 7.43 - 7.50 (m, 2H), 7.53 (d, 1H), 7.84 (d, 1H), 7.97 (dd, 1H), 8.26 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 10.79 (s, 1H).

Пример 28

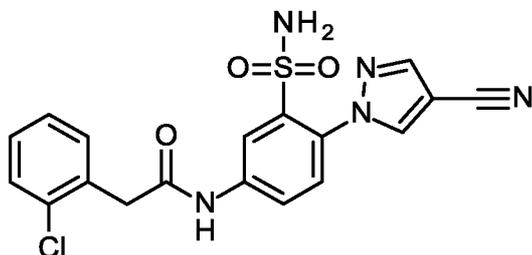
N-[4-(4-Бром-1*H*-пиразол-1-ил)-3-сульфамойлфенил]-2-(2-хлорфенил)ацетамид



В соответствии с общими методиками GP1.2, GP2.2, GP3.5 и GP4.1, 2-хлор-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамид (400 мг, 1.03 ммоль), 4-бром-1*H*-пиразол (228 мг, 1.55 ммоль) и (2-хлорфенил)уксусную кислоту (264 мг, 1.55 ммоль) превращали без очистки промежуточных соединений в указанное в заголовке соединение и очищали на завершающем этапе с помощью препаративной ВЭЖХ (Waters XBridge C18 5 мк 100x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.1% муравьиной кислоты) (27 мг, 0.0575 ммоль, выход за 4 стадии 6 %, чистота 95 %).

ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.10$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 469/471 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.90 (s, 2H), 7.29 - 7.36 (m, 2H), 7.41 (s, 2H), 7.42 - 7.48 (m, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.87 (d, 1H), 7.96 (dd, 1H), 8.34 (d, 1H), 8.37 (d, 1H), 10.80 (s, 1H).

Пример 39**2-(2-Хлорфенил)-*N*-[4-(4-циано-1*H*-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид**

5 Метод 1: Pd/C (нагрузка 10%, 350 мг) добавляли к раствору 2-(4-циано-1*H*-пиразол-1-ил)-*N*-(2,4-диметоксибензил)-5-нитробензолсульфонамида (9.09 г, 20.5 ммоль) в смеси метанола (120 мл) и тетрагидрофурана (250 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в потоке водорода. Катализатор удаляли путем фильтрования с последующим промыванием

10 тетрагидрофураном и концентрированием фильтрата в вакууме. Реакционную смесь экстрагировали смесью этилацетат/вода. Добавляли раствор карбоната натрия и смесь перемешивали в течение ночи. Полученный в результате осадок удаляли путем фильтрования и отбрасывали. Органическую фазу отделяли, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме с получением

15 сырого 5-амино-2-(4-циано-1*H*-пиразол-1-ил)-*N*-(2,4-диметоксибензил)бензолсульфонамида (6.37 г), который использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 1.06$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 414$ $[M+H]^+$

20 ^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.69 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.92 (br d, 2H), 6.04 (s, 2H), 6.40 - 6.48 (m, 2H), 6.78 (dd, 1H), 7.08 - 7.14 (m, 2H), 7.19 (d, 1H), 7.27 (br t, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.70 (s, 1H).

25 Сырой продукт из предыдущей стадии (6.37 г) растворяли в ДМФА (87 мл) с последующим добавлением (2-хлорфенил)уксусной кислоты (3.94 г, 23.1 ммоль), *N,N*-диизопропилэтиламина (5.97 г, 46.2 ммоль) и НАТУ (8.78 г, 23.1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение выходных дней при комнатной температуре. Затем ее концентрировали в вакууме и экстрагировали этилацетатом и водой. Органическую фазу промывали хлоридом аммония, раствором бикарбоната натрия и солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и снова концентрировали в вакууме с получением сырого 2-(2-

хлорфенил)-*N*-{4-(4-циано-1*H*-пиразол-1-ил)-3-[(2,4-диметоксибензил)-сульфамоил]фенил}ацетамида (9.77 г), который использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

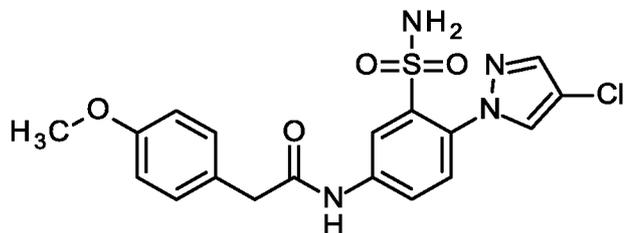
ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 1.27$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 566 [M+H]^+$

5 Сырой продукт из предыдущей стадии (9.77 г) растворяли в смеси дихлорметана (30 мл) и трифторуксусной кислоты (15 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме, растворяли в дихлорметане и снова концентрировали в вакууме для удаления оставшейся трифторуксусной кислоты. Затем реакционную смесь
10 перемешивали в смеси дихлорметан/вода в течение выходных дней. Полученный в результате осадок удаляли путем фильтрования и обеспечивали указанное в заголовке чистое соединение (5.40 г, 13.0 ммоль, выход за 3 стадии 63 %, чистота 97%). Чистота могла быть дополнительно улучшена путем перекристаллизации из смеси этилацетат/гексаны.

15 ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.84$ мин, МС (ESI положит.): $m/z = 416 [M+H]^+$

^1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ [м.д.]: 3.91 (s, 2H), 7.29 - 7.36 (m, 2H), 7.42 - 7.49 (m, 4H), 7.58 (d, 1H), 7.97 (dd, 1H), 8.31 (d, 1H), 8.39 (d, 1H), 8.86 (d, 1H), 10.84 (br s, 1H).

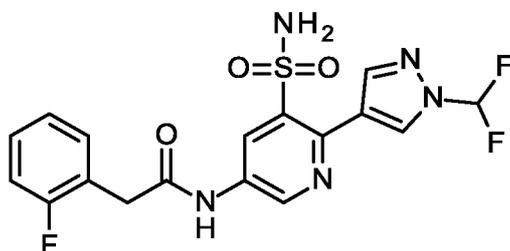
Метод 2: 5-амино-2-(4-циано-1*H*-пиразол-1-ил)бензолсульфонамид (81 мг, 0.31 ммоль) растворяли в диметилформамиде (1 мл) с последующим
20 добавлением *N,N*-диизопропилэтиламина (119 мг, 0.92 ммоль), (2-хлорфенил)уксусной кислоты (63 мг, 0.37 ммоль) и НАТУ (гексафторфосфат 1-[бис(диметиламино)метиле]-1*H*-1,2,3-триазоло[4,5-*b*]пиридиний 3-оксида, 140 мг, 0.37 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при
25 комнатной температуре. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме, добавляли этилацетат и воду и органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Очистка с помощью препаративной ВЭЖХ (Chromatorex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.1% водного раствора аммиака (32%)) приводила к
30 получению указанного в заголовке соединения (33 мг, 0.0794 ммоль, выход 26 %, чистота 50 %).

Пример 170***N*-[4-(4-Хлор-1*H*-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]-2-(4-метоксифенил)ацетамид**

5

В соответствии с общей методикой GP5.1, 5-амино-2-(4-хлор-1*H*-пиразол-1-ил)-*N*-(2,4-диметоксибензил)бензолсульфонамид (0.20 ммоль) и (4-метоксифенил)уксусную кислоту (0.40 ммоль) превращали в указанное в заголовке соединение (12.2 мг, 0.0290 ммоль, выход 14 %, чистота 100 %).

10 ЖХ-МС (Метод А): $R_t = 1.07$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 421$ $[M+H]^+$

Пример 321***N*-{6-[1-(Дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-5-сульфамоилпиридин-3-ил}-2-(2-фторфенил)ацетамид**

15 5-Амино-2-[1-(дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-*N*-[(диметиламино)метилен]пиридин-3-сульфонамид (400 мг, 1.16 ммоль) растворяли в ДМФА (10 мл) и добавляли (2-фторфенил)уксусную кислоту (179 мг, 1.16 ммоль) с последующим добавлением *N,N*-диизопропилэтиламина (1.0 мл, 5.8 ммоль) и НАТУ (530 мг, 1.39 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении и добавляли этилацетат и воду. Фазы разделяли и водную фазу промывали этилацетатом. Объединенные органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт очищали с помощью ВЭЖХ (Chromatorex C-18 10 мкм, 125x30 мм,

20

ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора аммиака (32%)) с получением 30.0 мг конечного продукта (выход 5%).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.99$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 481 [M+H]^+$

N-(6-[1-(Дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-5-

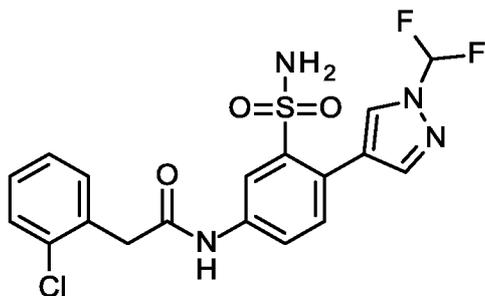
5 {[(диметиламино)метилен]сульфамоил} пиридин-3-ил)-2-(2-фторфенил)ацетамид (30.0 мг, 62.4 мкмоль) растворяли в аммиаке в метаноле (10 мл, 7 М) и перемешивали при комнатной температуре. После этого растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт очищали с помощью ВЭЖХ (Chromatogex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного
10 раствора аммиака (32%)) с получением указанного в заголовке соединения (10.1 мг, чистота 99%, выход 38%).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.66$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 426 [M+H]^+$

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ [м.д.] = 3.83 (s, 2H), 7.15 - 7.24 (m, 2H), 7.31 - 7.38 (m, 1H), 7.42 (td, 1H), 7.71 - 8.07 (m, 3H), 8.29 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.78 (d,
15 1H), 8.93 (d, 1H), 10.86 (s, 1H).

Пример 326

2-(2-Хлорфенил)-*N*-{4-[1-(дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-3-сульфамоилфенил}ацетамид



20 *N*-(4-Бром-3-{[(диметиламино)метилен]сульфамоил}фенил)-2-(2-хлорфенил)ацетамид (1.50 г, 3.27 ммоль), 1-(дифторметил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол (958 мг, 3.92 ммоль) и фторид калия (418 мг, 7.19 ммоль) растворяли в ДМФА (36 мл). Смесь продували
25 аргоном в течение 5 минут с последующим добавлением бис(три-*tert*-бутилфосфин)палладия(0) (CAS 53199-31-8) (83.5 мг, 163 мкмоль). Реакционную смесь нагревали в течение 1 ч при 100°C, фильтровали через стекловолоконный фильтр и методику повторяли. После этого растворитель удаляли при пониженном давлении и добавляли этилацетат и воду. Фазы разделяли и водную

фазу промывали этилацетатом. Объединенные органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки (2.78 г).

2-(2-Хлорфенил)-*N*-(4-[1-(дифторметил)-1*H*-пиразол-4-ил]-3-

5 {[(диметиламино)метилен]сульфамоил}фенил)ацетамид (2.78 г, 5.61 ммоль) растворяли в метаноле (90 мл) и обрабатывали 25% водным раствором аммиака (90 мл) при комнатной температуре до завершения реакции. Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле (Biotage, 8% этанол в дихлорметане) и затем с
10 помощью ВЭЖХ (Chromatorex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора аммиака (32%)) с получением указанного в заголовке соединения (1.09 г, чистота 99%, выход за 2 стадии 34%).

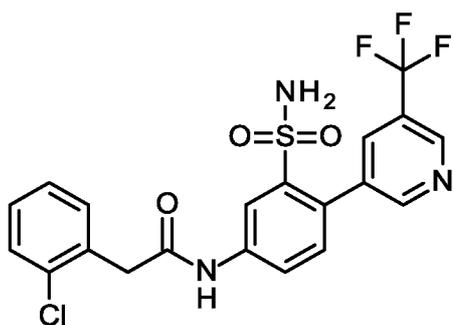
ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.94$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 441 [M+H]^+$

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ [м.д.] = 3.89 (s, 2H), 7.31 - 7.35 (m, 2H), 7.41
15 (s, 2H), 7.43 - 7.50 (m, 3H), 7.69 - 8.00 (m, 2H), 8.02 (m, 1H), 8.36 (d, 1H), 8.43 (m, 1H), 10.65 (s, 1H).

Пример 331

2-(2-Хлорфенил)-*N*-{3-сульфамоил-4-[5-(трифторметил)пиридин-3-
ил]фенил}ацетамид

20



N-(4-Бром-3-{[(диметиламино)метилен]сульфамоил}фенил)-2-(2-
хлорфенил)ацетамид (500 мг, 1.09 ммоль) и [5-(трифторметил)пиридин-3-
ил]бороновую кислоту (520 мг, 2.72 ммоль) растворяли в *n*-пропаноле (15 мл) и
25 добавляли дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (CAS 13965-03-2) (38.4 мг, 54.5 мкмоль), трифенилфосфин (14.3 мг, 54.5 мкмоль), фторид калия (23.1 мг, 270 мкмоль) и водн. раствор карбоната калия (1.4 мл, 2.0 М, 2.7 ммоль).

Реакционную смесь нагревали при 100°C в течение 1 ч в микроволновой печи (1

бар/15 Вт). После этого смесь фильтровали через целит, растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт перегоняли совместно с ТГФ и использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

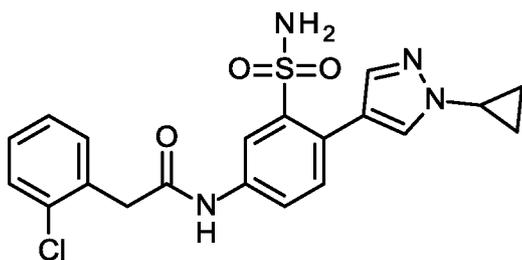
2-(2-Хлорфенил)-*N*-(3-{{(диметиламино)метилен}сульфамоил}-4-[5-(трифторметил)пиридин-3-ил]фенил)ацетамид (1.50 г, 2.86 ммоль) растворяли в метаноле (29 мл) и обрабатывали 32% водным раствором гидроксида натрия (1.6 мл) при 80°C до завершения реакции. Растворитель удаляли при пониженном давлении, сырой продукт растворяли в дихлорметане и промывали водой. Фазы разделяли и объединенные органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле (Biotage, 40% этилацетат в гексане) и затем с помощью ВЭЖХ (Chromatorex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.1% муравьиной кислоты) с получением указанного в заголовке соединения (562 мг, чистота 95%, выход за 2 стадии 40%).

ЖХ-МС (Метод А): Rt = 1.13 мин; МС (ESI отрицат.): m/z = 468 [М-Н]⁻

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ [м.д.] = 3.91 (s, 2H), 7.28 - 7.37 (m, 2H), 7.39 (d, 1H), 7.42 - 7.51 (m, 4H), 7.88 (dd, 1H), 8.10 - 8.16 (m, 1H), 8.40 (d, 1H), 8.81 (d, 1H), 8.96 (d, 1H), 10.73 (s, 1H).

Пример 349

2-(2-Хлорфенил)-*N*-[4-(1-циклопропил-1*H*-пиразол-4-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид



N-(4-Бром-3-{{(диметиламино)метилен}сульфамоил}фенил)-2-(2-хлорфенил)ацетамид (500 мг, 1.09 ммоль), 1-циклопропил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол (510 мг, 2.18 ммоль) и фторид калия (139 мг, 2.4 ммоль) растворяли в сухом и дегазированном ДМФА (30 мл) и раствор снова продували аргоном в течение 5 минут с последующим добавлением бис(три-*трет*-бутилфосфин)палладия(0) (CAS 53199-31-8) (28 мг, 54 мкмоль). Реакционную смесь нагревали в течение 2 ч при 100°C. После этого смесь

фильтровали через целит, растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

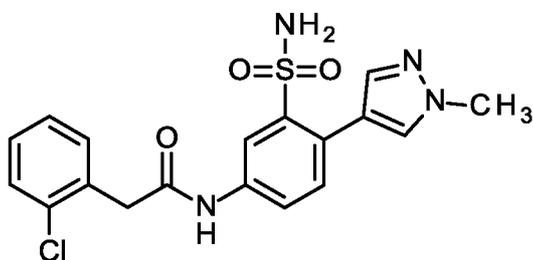
2-(2-Хлорфенил)-*N*-[4-(1-циклопропил-1*H*-пиразол-4-ил)-3-
 5 {[(диметиламино)метилен]сульфамоил}фенил]ацетамид (560 мг, 1.15 ммоль)
 растворяли в метаноле (54 мл) и обрабатывали 32% водным раствором
 гидроксида натрия (560 мкл) при 80°C до завершения реакции. Растворитель
 удаляли при пониженном давлении и очищали с помощью хроматографии на
 силикагеле (Biotage, этилацетат/гексан) и затем с помощью ВЭЖХ (Waters
 XBrigde C18 5 мк 100x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора
 10 аммиака (32%)) с получением указанного в заголовке соединения (192 мг,
 чистота 95%, выход за 2 стадии 37%).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.96$ мин; МС (ESI отрицат.): $m/z = 429$ [M-H]⁻

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ [м.д.] = 0.94 - 1.01 (m, 2H), 1.05 - 1.10 (m,
 2H), 3.67 - 3.80 (m, 1H), 3.88 (s, 2H), 7.19 (s, 2H), 7.30 - 7.35 (m, 2H), 7.40 - 7.48
 15 (m, 3H), 7.67 (d, 1H), 7.81 (dd, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.31 (d, 1H), 10.57 (s, 1H).

Пример 360

2-(2-Хлорфенил)-*N*-[4-(1-метил-1*H*-пиразол-4-ил)-3-
 сульфамоилфенил]ацетамид



N-(4-Бром-3-{[(диметиламино)метилен]сульфамоил}фенил)-2-(2-
 20 хлорфенил)ацетамид (900 мг, 1.96 ммоль) и 1-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-
 диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол (490 мг, 2.35 ммоль) растворяли в ДМФА (25
 мл) с последующим добавлением фторида калия (251 мг, 4.32 ммоль). Раствор
 продували аргоном в течение 5 минут и добавляли бис(три-*трет*-
 25 бутилфосфин)палладий(0) (CAS 53199-31-8) (50.1 мг, 98.1 мкмоль).
 Реакционную смесь нагревали в течение 1 ч при 100°C. Смесь фильтровали
 через стекловолоконный фильтр и растворитель удаляли при пониженном
 давлении. Сырой продукт еще один раз подвергали описанной выше методики
 реакции. После этого растворитель удаляли при пониженном давлении и

добавляли этилацетат и воду. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фазы сушили на фильтре Ватмана и растворитель удаляли при пониженном давлении. Сырой продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки (2.39 г).

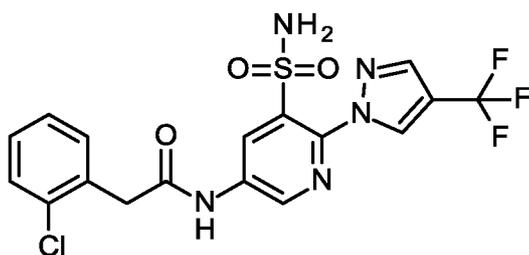
5 2-(2-Хлорфенил)-*N*-[3-[[диметиламино)метилен]сульфамоил]-4-(1-метил-1*H*-пиразол-4-ил)фенил]ацетамид (2.39 г, 5.20 ммоль) растворяли в метаноле (80 мл) и обрабатывали 25% водным раствором аммиака (80 мл) при комнатной температуре. СВЭЖХ указывала, что реакция не завершена, поэтому снова добавляли 25% водный раствор аммиака (80 мл) и перемешивание
10 продолжали до завершения реакции. Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле (Biotage, 10% этанол в дихлорметане) с последующей ВЭЖХ (Waters XBridge C18 5 мк 100x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора аммиака (32%)) с получением указанного в заголовке соединения (327 мг, чистота 98%, выход за
15 2 стадии 15%).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.86$ мин; МС (ESI отрицат.): $m/z = 403$ [M-H]⁻

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ [м.д.] = 3.78 - 3.96 (m, 5H), 7.17 (s, 2H), 7.28 - 7.37 (m, 2H), 7.38 - 7.52 (m, 3H), 7.66 (d, 1H), 7.82 (dd, 1H), 7.96 (s, 1H), 8.32 (d, 1H), 10.57 (s, 1H).

20 **Пример 380**

2-(2-Хлорфенил)-*N*-{5-сульфамоил-6-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]пиридин-3-ил}ацетамид



5-Амино-*N*-[[диметиламино)метилен]-2-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]пиридин-3-сульфонамид (250 мг, 690 мкмоль) и (2-хлорфенил)уксусную кислоту (177 мг, 1.03 ммоль) растворяли в ДМФА (10 мл) и последовательно добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (600 мкл, 3.4 ммоль) и 2,4,6-триоксид 2,4,6-трипропил-1,3,5,2,4,6-триоксатрифосфинана (310 мкл, 1.0 ммоль).
25 Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи.

После этого растворитель удаляли при пониженном давлении и добавляли этилацетат и воду. Фазы разделяли и органическую фазу сушили на фильтре Ватмана. Растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт использовали без дополнительной очистки на следующей стадии (400 мг).

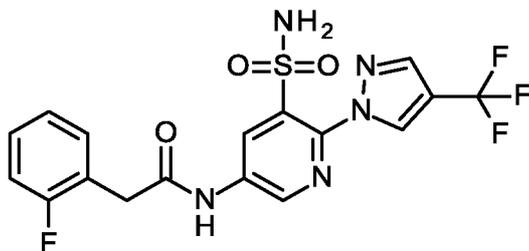
5 2-(2-Хлорфенил)-*N*-(5-[[диметиламино)метилен]сульфамоил]-6-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]пиридин-3-ил)ацетамид (400 мг, 777 мкмоль) растворяли в метаноле (37 мл) и обрабатывали 40% водным раствором гидроксида натрия (24 мкл, 1.9 ммоль) в течение 1 ч при 50°C. После этого растворитель удаляли при пониженном давлении и сырой продукт очищали с
10 помощью ВЭЖХ хроматографии (Chromatorex C-18 10 мкм, 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора аммиака (32%)) с получением 3.8 мг указанного в заголовке соединения (чистота 95%, выход за 2 стадии 1%).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.93$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 460 [M+H]^+$

15 ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆): δ [м.д.] = 3.95 (s, 2H), 7.29 - 7.39 (m, 2H), 7.43 - 7.52 (m, 2H), 7.61 (s, 2H), 8.24 (s, 1H), 8.86 (d, 1H), 8.91 (d, 1H), 8.97 (d, 1H), 11.06 (s, 1H).

Пример 381

2-(2-Фторфенил)-*N*-{5-сульфамоил-6-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]пиридин-3-ил}ацетамид



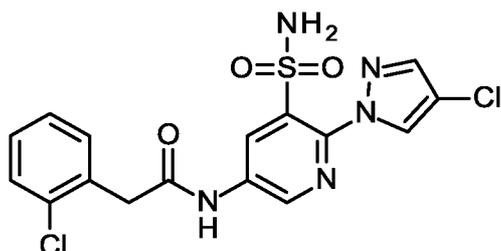
20 Указанное в заголовке соединение получали аналогично Примеру 380 в 2-е стадии исходя из 5-амино-*N*-[[диметиламино)метилен]-2-[4-(трифторметил)-1*H*-пиразол-1-ил]пиридин-3-сульфонамида (250 мг, 690 мкмоль), после заключительной ВЭЖХ очистки (Chromatorex C-18 10 мкм,
25 125x30 мм, ацетонитрил/вода + 0.2% водного раствора аммиака (32%)) (12.8 мг, чистота 90%, выход 4%).

ЖХ-МС (Метод В): $R_t = 0.90$ мин; МС (ESI положит.): $m/z = 444 [M+H]^+$

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆): δ [м.д.] = 3.85 (s, 2H), 7.13 - 7.26 (m, 2H), 7.29 - 7.47 (m, 2H), 7.61 (s, 2H), 8.23 (s, 1H), 8.86 (d, 1H), 8.91 (d, 1H), 8.97 (s, 1H), 11.04 (s, 1H).

Пример 387

5 **2-(2-Хлорфенил)-N-[6-(4-хлор-1H-пиразол-1-ил)-5-сульфамоилпиридин-3-ил]ацетамид**



В соответствии с общей методикой GP6.1, сырой 5-амино-2-(4-хлор-1H-пиразол-1-ил)-N-[(диметиламино)метил]пиридин-3-сульфонамид (100 мг) и (2-хлорфенил)уксусную кислоту (77.8 мг, 0.46 ммоль) превращали без очистки промежуточных соединений в указанное в заголовке соединение. Указанное в заголовке соединение осаждалось во время реакции и было выделено путем фильтрования, дальнейшая очистка не требовалась (38 мг, 0.0891 ммоль, выход за 5 стадий 27 %, чистота 99 %).

ЖХ-МС (Метод А): Rt = 1.13 мин, МС (ESI положит.): m/z = 426 [M+H]⁺

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ [м.д.]: 3.94 (s, 2H), 7.30 - 7.37 (m, 2H), 7.43 - 7.49 (m, 2H), 7.60 (s, 2H), 7.94 (d, 1H), 8.58 (d, 1H), 8.84 (d, 1H), 8.89 (d, 1H), 11.01 (s, 1H).

20 **БИОЛОГИЧЕСКИЕ АНАЛИЗЫ**

Следующие анализы можно использовать для иллюстрации промышленной применимости соединений в соответствии с настоящим изобретением.

Примеры тестировали в выбранных биологических анализах один или несколько раз. Когда тестирование осуществляли более одного раза, данные сообщаются или в виде средних (ср.) значений, или в виде медианных значений, где

- среднее значение, также называемое средним арифметическим значением, означает сумму полученных значений, деленную на число полученных значений, и

- медианное значение означает срединное число группы полученных значений при ранжировке в порядке возрастания или убывания. Если число значений в массиве данных нечетное, медиана является срединным значением. Если число значений в массиве данных четное, медиана является средним арифметическим двух срединных значений.

Если имеющий смысл расчет средних значений или медианных значений невозможен из-за наличия измеренных значений, выходящих за пределы диапазона обнаружения данного анализа (в приведенных ниже таблицах обозначено < или >), указываются все отдельные измеренные значения.

Примеры синтезировали один или несколько раз. Когда синтез проводили более чем один раз, данные из биологических анализов представляют собой средние значения или медианные значения, рассчитанные с использованием массивов данных, полученных при тестированиях одной или нескольких партий синтеза.

ИССЛЕДОВАНИЯ *IN VITRO*

FLIPR анализ с использованием P2X4 НЕК клеток человека

НЕК293 клетки, стабильно экспрессирующие P2X4 человека, высевали на покрытые поли-D-лизином 384-луночные планшеты при плотности посева 30000 клеток/лунку и инкубировали в течение ночи. Функционирование P2X4 оценивали путем измерения изменений внутриклеточного кальция, используя хелатирующий кальций краситель Fluo8-AM (Molecular Devices), на спектрофотометре для чтения планшетов для визуализации флуоресценции (станция FLEX/FLIPR; Molecular Devices). В день анализа, среду удаляли и клетки инкубировали в течение 30 мин при 37°C и 5% CO₂ в 30 мкл буфера красителя (сбалансированный солевой раствор Хенкса, 10 mM HEPES, 1.8 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 2 mM пробенецид, 5 mM моногидрат D-глюкозы, 5 мкМ Fluo8-AM, pH=7.4). Соединения, разбавленные в пробенецидном буфере (сбалансированный солевой раствор Хенкса, 10 mM HEPES, 1.8 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 2 mM пробенецид, 5 mM моногидрат D-глюкозы, pH=7.4), добавляли в объеме 10 мкл и оставляли инкубироваться в течение 30 мин при комнатной температуре. Конечная концентрация ДМСО в анализируемом образце составляла 0.5%. Агонист, Vz-АТФ (Tocris), добавляли в объеме 10 мкл при концентрации, представляющей EC₈₀ значение. EC₈₀ значение Vz-АТФ определяли каждый день анализа перед определением профиля соединений.

Флуоресценцию измеряли в течение 120-секундного интервала с 2-секундными интервалами. Длины волн возбуждения и излучения, используемые для мониторинга флуоресценции, составляли 470-495 нм и 515-575 нм, соответственно. Данные анализировали на основании повышения пика относительных единиц флуоресценции (RFU) по сравнению с базальной флуоресценцией и данные нормализовали к контрольному агонисту. Соединения тестировали в трех повторах на планшет и средние значения представляли графически в Excel XLFit для определения значений IC₅₀, процента максимального ингибирования и коэффициентов Хилла.

Номер Примера	P2X4 НЕК клеток человека (FLIPR анализ) ср. IC ₅₀ [нМ]	P2X4 НЕК клеток человека (FLIPR анализ) ср. эффективность [%]
19	47	71
20	140	67
24	45	92
25	26	93
26	27	85
28	31	90
39	32	96
170	126	70
321	87	84
326	17	95
331	25	66
349	37	99
360	132	93
380	299	69
381	1241	77
387	34	73

10

Методы FLIPR для h/m/rP2X4 1321N1 клеток астроцитомы

Клетки астроцитомы 1321N1, стабильно экспрессирующие P2X4 человека или P2X4 крысы, или P2X4 мыши высевали в Collagen I TC-обработанный микропланшет при плотности посева 10000 клеток/лунку и инкубировали в течение ночи. Функционирование P2X4 оценивали путем измерения изменений внутриклеточного кальция, используя хелатирующий кальций краситель Fluo8-AM (Molecular Devices) на спектрофотометре для чтения планшетов для визуализации флуоресценции (станция FLEX/FLIPR; Molecular Devices). В день анализа, среду удаляли и клетки инкубировали в течение 30 мин при 37°C и 5%

15

CO₂ в 30 мкл буфера красителя (сбалансированный солевой раствор Хенкса, 10 mM HEPES, 1.8 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 2 mM пробенецид, 5 mM моногидрат D-глюкозы, 5 мкМ Fluo8-AM, pH=7.4). Соединения, разбавленные в пробенецидном буфере (сбалансированный солевой раствор Хенкса, 10 mM HEPES, 1.8 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 2 mM пробенецид, 5 mM моногидрат D-глюкозы, pH=7.4), добавляли в объеме 10 мкл и оставляли инкубироваться в течение 30 мин при комнатной температуре. Конечная концентрация ДМСО в анализируемом образце составляла 0.25%. Агонист, Mg-АТФ (Sigma), добавляли в объеме 10 мкл при концентрации, представляющей EC₈₀ значение.

EC₈₀ значение определяли равным 0.5 мкМ для P2X4 человека и мыши и 5 мкМ для P2X4 крысы. Флуоресценцию измеряли в течение 120-секундного интервала с 2-секундными интервалами. Длины волн возбуждения и излучения, используемые для мониторинга флуоресценции, составляли 470-495 нм и 515-575 нм, соответственно. Данные анализировали на основании повышения пика относительных единиц флуоресценции (RFU) по сравнению с базальной флуоресценцией и данные нормализовали к контрольному агонисту. Соединения тестировали в трех повторах на планшет и средние значения представляли графически в Excel XLFit для определения значений IC₅₀, процента максимального ингибирования и коэффициентов Хилла.

Номер примера	P2X4 1321N1 клетки астроцитомы человека (анализ FLIPR) ср. IC ₅₀ [нМ]	P2X4 1321N1 клетки астроцитомы человека (анализ FLIPR) ср. эффективность [%]
19	57 нМ	60 %
39	64 нМ	83 %
326	46 нМ	80 %

Номер примера	P2X4 1321N1 клетки астроцитомы мыши (анализ FLIPR) ср. IC ₅₀ [нМ]	P2X4 1321N1 клетки астроцитомы мыши (анализ FLIPR) ср. эффективность [%]
19	43 нМ	69 %
39	37 нМ	87 %
326	26 нМ	87 %

Номер примера	Р2Х4 1321N1 клетки астроцитомы крысы (анализ FLIPR) ср. IC ₅₀ [нМ]	Р2Х4 1321N1 клетки астроцитомы крысы (анализ FLIPR) ср. эффективность [%]
19	71 нМ	57 %
39	308 нМ	87 %
326	325 нМ	99 %

Электрофизиологический анализ с использованием Р2Х4 НЕК клеток человека

Электрофизиологический анализ А

5 НЕК293 клетки, стабильно экспрессирующие Р2Х4 человека, высевали в Т75 колбы для культивирования клеток при плотности $7 \cdot 10^6$ клеток и инкубировали в течение ночи. Функционирование Р2Х4 анализировали, используя автоматизированную пэтч-клемп платформу PatchLiner (Nanion) в одноэлектродном режиме. Состав внеклеточного буфера был следующим (в мМ):

10 NaCl 145, KCl 4, HEPES 10, CaCl₂ 1, MgCl₂ 0.5, моногидрат D-глюкозы 10, рН=7.4. Внутриклеточный буфер содержал (в мМ): CsF 135, EGTA 1, HEPES 10, NaCl 10, рН 7.2. В день анализа, клетки собирали с использованием Ассимах (Sigma) и повторно суспендировали во внеклеточном буфере. Агонист лиганда, 5'-трифосфат аденозина (АТФ, 5 мкМ), добавляли в объеме 5 мкл, тот час же

15 смывая внеклеточным буфером (40 мкл). Фиксировали напряжение клеток -80 мВ, и каждые 5 мин в течение 20 мин вносили лиганд. В течение этого периода ответ на агонист был стабильным и соединения измеряли в режиме одной концентрации на лунку. Соединения, разбавленные во внеклеточном буфере (конечная концентрация ДМСО в анализируемом образце 0.3%),

20 добавляли в объеме 40 мкл и оставляли инкубироваться в течение 8 мин при комнатной температуре. Данные анализировали на основе снижения пиковой амплитуды тока и нормализовали к контрольному агонисту. Средние значения представляли графически в Excel XLFit для определения значений IC₅₀, процента максимального ингибирования и коэффициентов Хилла.

Номер примера	Р2Х4 НЕК клеток человека (система PatchLiner, электрофизиология) ср. IC ₅₀ [нМ]
19	111

Номер примера	P2X4 НЕК клеток человека (система PatchLiner, электрофизиология) ср. IC ₅₀ [нМ]
39	138
326	57
380	320

Электрофизиологический анализ В

Условия культивирования клеток: клетки НЕК-293 mito-Photina pcDNA3(neo-)/pPURO N/pcDNA3_P2RX4, клон 2a/4 (НЕК-293 mito-Photina/hP2RX4) культивировали в ЕМЕМ, минимальной эссенциальной среде Игла со сбалансированным солевым раствором Эрла (BioWhittaker кат. BE12-125F), дополненной 5 мл 200 мМ ультраглутамина1 (BioWhittaker кат. BE17-605E/U1), 5 мл 100X пенициллина/стрептомицина (BioWhittaker кат. DE17-602E; конечная концентрация 1%), 4 мл 50 мг/мл G418 (Sigma кат. G8168-100 мл; конечная концентрация 400 мкг/мл), 10 мкл 10 мг/мл пурамицина (InvivoGen кат. ant-pr-1; конечная концентрация 0,2 мкг/мл) и 50 мл фетальной бычьей сыворотки (Sigma кат. F7524; конечная концентрация 10%).

Экспериментальный протокол: линии клеток НЕК-293 высевали за 72 или 96 часов до эксперимента при концентрации 5 или 2.5 миллионов клеток, соответственно, на T225 колбу. Незадолго до экспериментов клетки промывали два раза D-PBS без Ca²⁺/Mg²⁺ (Euroclone кат. ECB4004L) и отсоединяли от колбы с помощью трипсина-ЭДТА (Sigma, кат. T4174, разбавленный 1/10). Клетки затем повторно суспендировали в суспензионном растворе: 25 мл среды EX-CELL ACF CHO (Sigma, кат. C5467); 0.625 мл HEPES (BioWhittaker, кат. BE17-737E); 0.25 мл 100x пенициллина/стрептомицина (BioWhittaker, кат. DE17-602E), 0.1 мл ингибитора трипсина соевых бобов 10 мг/мл (Sigma, кат. T6522), и помещали на QPatch 16X.

Получение и хранение соединений: использовали основные растворы соединений (10 мМ; 100% ДМСО; хранили при -20°C). Свежие растворы из основных растворов (1 или 3 мМ, 100% ДМСО) получали незадолго до экспериментов (конечная концентрация ДМСО 0.1%).

ДМСО раствор получали от SIGMA (кат.# D-5879) и хранили при комнатной температуре.

Пэтч-клемп анализ с QPatch16X (Фигура 1): Стандартные эксперименты фиксации напряжения цельной клетки выполняли при комнатной температуре с использованием многоэлектродной технологии.

В случае экспериментов с фиксацией напряжения на hP2X4, данные собирали на частоте 2 кГц. После размещения уплотнения и канала в конфигурацию целой клетки, клетки поддерживали на уровне -90 мВ и hP2X4 ток вызывали агонистом в отсутствие (период носителя, т.е. 0.1% ДМСО) или в присутствии рассматриваемого соединения в возрастающих концентрациях; см. протокол применения на Фигуре 1.

Выход: максимальный входящий ток, индуцированный агонистом (АТФ 5 микроМ).

Внутриклеточный раствор содержал (мМ) 135 CsF, 10 NaCl, 1 EGTA, 10 HEPES (pH 7.2 с помощью CsOH), тогда как внеклеточный раствор содержал (мМ) 145 NaCl, 4 KCl, 0.5 MgCl₂, 1 CaCl₂, 10 HEPES, 10 глюкоза (pH 7.4 с помощью NaOH).

Для сбора данных использовали программное обеспечение Sophion, и анализ осуществляли в режиме офлайн, используя программы Excel и GraphPad Prism.

При наличии возможности, т.е. когда %-ное значение ингибирования для самой высокой тестируемой концентрации составляло больше, чем 50 %, данные кривой зависимости от дозы подгоняли с помощью следующего уравнения:

$$Y=100/(1+10^{((\text{LogIC}_{50}-X)*\text{HillSlope}))}$$

[X означает log концентрации; Y означает нормализованный ответ (от 100% до 0%, уменьшающийся по мере увеличения X); LogIC₅₀ - те же log единицы, что и X; HillSlope означает безразмерный угловой коэффициент или угловой коэффициент Хилла].

Номер примера	P2X4 НЕК клеток человека (QPatch, электрофизиология) ср. IC ₅₀ [нМ]	Число эксп.
19	278	4
20	195	4
25	222	5
26	222	5
321	227	4

Номер примера	P2X4 НЕК клеток человека (QPatch, электрофизиология) ср. IC ₅₀ [нМ]	Число эксп.
326	51	6
331	155	5
349	117	3
360	205	3
380	157	4
381	2583	3

ИССЛЕДОВАНИЯ *EX VIVO*

Анализ с использованием P2X4 моноцитов человека

Принцип анализа состоит в том, чтобы измерить приток кальция через эндогенные каналы P2X4 в первичные человеческие моноциты после активации с помощью 2',3'-O-(4-бензоилбензоил)-АТФ (Bz-АТФ). Изменения концентрации внутриклеточного кальция измеряли с помощью устройства Fluo-8 (Molecular Devices), используя кальций-чувствительный краситель (Fluo-8). В первичных моноцитах P2X4 расположен на лизосомальной мембране, таким образом, чтобы экспонировать P2X4 на клеточной мембране, должен запускаться экзоцитоз.

Мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) из антикоагулированной крови (кроваые клетки, BC) выделяли с помощью центрифугирования в градиенте плотности. Цельную кровь разбавляли 1:3 с помощью PBS. Образцы объемом 30 мл осторожно наслаивали сверху 15 мл Bicol (BIOCHROM) в 50 мл центрифужных пробирках (Falcon). Пробирки центрифугировали при 914 x g в течение 25 мин при КТ без применения тормоза. PBMC слой удаляли пипеткой объемом 10 мл и переносили в пробирки с охлажденным льдом PBS до общего объема 50 мл. Клетки промывали два раза путем осаждения центрифугированием 300 x g при 4°C, в течение 10 мин и в течение 5 мин, соответственно. PBMC повторно суспендировали в 10 мл среды (X-vivo, Biozym Scientific) и подсчитывали в камере Нойбауэра.

Моноциты выделяли с помощью негативной селекции, используя Monocyte isolation kit II от Miltenyi (#130-091-153) в соответствии с инструкциями. Выделение должно было выполняться быстро, а клетки и растворы следовало постоянно хранить на льду. PBMC в партиях по 10exp8 клеток осаждали

центрифугированием (300 x g, 10 мин) и повторно суспендировали с помощью 300 мкл буфера MACS в 50 мл пробирке Falcon. Добавляли блокирующий FcR реагент (100 мкл) и Biotin-Ab (100 мкл), и смесь перемешивали и инкубировали на льду в течение 10 мин. Добавляли буфер MACS (300 мкл) и анти-биотиновые микрошарики (100 мкл), и перемешивали и инкубировали на льду в течение 15 мин. Клетки промывали с помощью осаждения центрифугированием (300 x g в течение 10 мин) и повторно суспендировали в 500 мкл буфера MACS. Для каждой партии одну разделительную колонку помещали в MACS сепаратор и промывали 3 мл MACS буфера. К колонке добавляли суспензию клеток с последующим добавлением 3 x 3 мл MACS буфера для промывки, и элюент, содержащий моноциты, собирали. Клетки осаждали центрифугированием (300 x g в течение 10 мин), повторно суспендировали в X-vivo среде и подсчитывали. Моноциты высевали в покрытые фибронектином микропланшеты (384-луночные, черные, с плоским прозрачным дном; Corning #3848) при плотности 30,000 клеток/лунку в 50 мкл, и культивировали в течение ночи (37°C, 5% CO₂).

Тестируемые вещества растворяли в 100% ДМСО при базовой концентрации 10 мМ и хранили при -20°C в аликвотах. Серийные разведения (2x) получали в ДМСО и разбавляли 500x аналитическим буфером с получением антагонистического планшета. Для выполнения Flirg измерения, переносили 10 мкл смеси на лунку (4x разведение) и получали в анализируемой смеси конечные верхние концентрации 5 мкМ и 0.05% ДМСО. Агонист VzАТР хранили при концентрации 10 мМ в аликвотах и разбавляли до промежуточной концентрации 15 мкМ с получением агонистического планшета. Для выполнения Flirg измерения, переносили 10 мкл смеси на лунку (5x разведение), в результате чего в анализируемой смеси получали конечную концентрацию 3 мкМ.

Для эксперимента среду клеточного планшета отбрасывали вручную и добавляли 70 мкл/лунку загрузочного буфера, и смесь инкубировали в течение 1 ч (37°C, 5% CO₂). Загрузочный буфер содержал HBSS (без кальция/магния), 10 мМ HEPES pH 7.4, 5 мкМ Fluo-8 (AM) (Tebu-bio) и 50 мМ метиламин (Sigma) для запуска экзоцитоза. Загрузочный буфер отбрасывали вручную и добавляли 30 мкл/лунку аналитического буфера с низким содержанием кальция (5 мМ KCl, 145 мМ NaCl, 0.5 мМ CaCl₂, 13 мМ глюкоза, 10 мМ HEPES pH 7.4).

Антагонистический планшет переносили (10 мкл/лунку) и спустя 15 мин выдерживания при КТ переносили агонистический планшет (10 мкл/лунку).

Добавление агониста регистрировали в течение 240 секунд после 10 секундной базовой линии. При анализе использовали фоновую поправку, и находили максимум кривой. Данные нормализовали к 0% ингибированию (сигнал при 3 мкМ VzATP) и 100% ингибированию (отсутствие VzATP стимуляции) и подгоняли к четырехпараметрической сигмоидальной кривой ингибирования с использованием Prism GraphPad с получением значений IC₅₀.

Номер примера	P2X4 моноцитов человека (FLIPR анализ) IC₅₀ (эффективность) для различных доноров
19	59 нМ (57%), 21 нМ (74%), 76 нМ (48%), 59 нМ (46%), 45 нМ (93%)
24	141 нМ (79%), 34 нМ (77%), 91 нМ (88%)
25	27 нМ (87%), 5 нМ (82%), 127 нМ (70%), 87 нМ (70%), 118 нМ (70%), 59 нМ (53%), 63 нМ (68%), 39 нМ (111%)
26	290 нМ (71%), 182 нМ (88%)
28	78 нМ (64%), 164 нМ (90%)
39	105 нМ (88%), 32 нМ (81%), 71 нМ (78%)
170	303 нМ (60%), 183 нМ (69%), 110 нМ (54%)
321	158 нМ (49%), 94 нМ (49%), 157 нМ (60%), 537 нМ (60%), 173 нМ (34%), 331 нМ (46%), 39 нМ (95%)
326	407 нМ (86%), 167 нМ (89%), 149 нМ (82%), 45 нМ (91%), 49 нМ (70%)
380	263 нМ (70%), 251 нМ (70%), 434 нМ (70%), 93 нМ (43%), 50 нМ (32%), 207 нМ (107%)
387	122 нМ (35%), 104 нМ (51%)

10 **Анализ цельной крови человека на P2X4**

В этом анализе *ex vivo*, кровь здоровых добровольцев женского пола сперва сенсibilizировали липополисахаридом (LPS) и затем стимулировали с помощью АТФ для запуска высвобождения интерлейкина 1бета (IL-1β). В этой системе тестировали эффективность действия антагонистов P2X4 в отношении продуцирования IL-1β в цельной крови. Клетки сначала в течение 2 ч обрабатывали 100 нг/мл LPS, и затем стимулировали с помощью 3 мМ АТФ и обрабатывали в трех повторах соединениями Примеров 19, 28, 39, 321, 326 и 380 в разных концентрациях. После 1 ч инкубации, супернатант отбирали и после центрифугирования анализировали IL-1β в супернатанте, используя стандартные наборы ELISA. Анализ осуществляли с кровью от трех разных доноров (см. 20 Фигуры 2а и 2b).

На Фигурах 2a и 2b в качестве неограничивающего пояснительного примера соединений в соответствии с изобретением представлено влияние соединений в соответствии с Примерами 19, 28, 39, 321, 326 и 380 на образование IL-1 β в цельной крови человека после АТФ стимуляции вслед за праймированием клеток липополисахаридом в течении двух часов и указанной обработки. Данные, показывающие абсолютное количество IL-1 β в пг/мл в супернатанте крови от трех доноров представлены по оси y, а данные относительно контрольных обработок и обработок различными концентрациями соединений примеров представлены по оси x. Для каждого бара показаны среднее значение трех технических повторов и SD. Данные показывают ингибирование высвобождения IL-1 β несколькими, но не всеми из тестируемых соединений примеров.

ИССЛЕДОВАНИЯ *IN VIVO*

**Модель ишемического инсульта, вызванного tMCAO, у крыс –
Соединение Примера 39**

Временную окклюзию средней мозговой артерии (tMCAO) осуществляли у самцов крыс Sprague Dawley (SD) возрастом примерно 3 месяца в соответствии с методом, описанным Schmid-Elsaesser и др. [Stroke. 1998; 29(10):2162-2170]. В частности, правая общая сонная артерия (ССА) была обнажена посредством разреза шеи по средней линии и аккуратно рассечена и освобождена от окружающих нервов и оболочки мышц - от ее бифуркации до основания черепа. Ветви затылочной и верхней щитовидной артерии наружной сонной артерии (ЕСА) были выделены, и эти ветви были коагулированы. ЕСА пересекали дальше дистально и коагулировали вместе с ветвями концевой язычной и верхнечелюстной артерии, непосредственно перед их раздвоением. Внутренняя сонная артерия (ІСА) была выделена и тщательно отделена от смежного блуждающего нерва, а птеригопалатиновая артерия была лигирована близко к ее основанию с помощью нейлоновой хирургической нити № 5-0. После этого шелковую хирургическую нить № 4-0 слабо завязывали вокруг мобилизованной ЕСА культи, и через проксимальную ЕСА в ІСА вводили 4 см длиной моноволоконистую нить Dossol 4-0 (покрытую силиконом), а затем в круг Виллиса, эффективно окклюдирова МСА. Хирургическую рану закрывали, и животных возвращали в их клетки для восстановления от наркоза. Через два

часа после окклюзии крыс повторно анестезировали и моноволоконно извлекали для реперфузии. Рану снова закрывали и крыс возвращали в свои клетки.

Четыре группы крыс с 12-15 крысами на группу были включены в исследование. Две группы были подвергнуты tMCAO, а 2 группы представляли ложнооперированных животных (группа 1 = фиктивное лечение без лечения, группа 2 = фиктивное лечение носителем, группа 3 = tMCAO с лечением носителем, группа 4 = tMCAO с лечением антагонистом P2X4). Группы 2, 3 и 4 поддавали лечению в течение семи дней два раза в день путем перорального введения носителя или антагониста P2X4, начиная за час до операции. Для изучения и оценки неврологических функций использовали модифицированную шкалу тяжести неврологических симптомов (mNSS) [Li и др., *Neurology* 2001, 56: 1666–1672]. mNSS представляет собой комплекс моторных, сенсорных, рефлекторных и балансовых тестов с оцениванием по шкале от 0 до 18 (нормальный балл 0 и максимальный балл недостаточности представлен как 18). Все крысы были подвергнуты тесту mNSS перед операцией для включения только животных с нормальным mNSS. Через два часа после tMCAO в исследование были включены только крысы с mNSS равным или более 10. Тест mNSS также проводился в 1, 2, 8, 15, 22 и 29 день после операции.

Начиная с 8-го дня, tMCAO-группа, которую лечили антагонистом P2X4, привела к значительному уменьшению mNSS, по сравнению с tMCAO-группой, которую лечили носителем ($p < 5\%$; двухсторонний статистический анализ ANOVA с последующим сравнительным анализом Bonferroni). Обе группы с фиктивным лечением продемонстрировали mNSS 0 в каждый момент времени (см. Фиг. 3).

Модель ишемического инсульта, вызванного tMCAO, у мышей

Временную окклюзию средней мозговой артерии (tMCAO) осуществляли у самцов мышей C57BL/6N возрастом 8-10 недель в соответствии с методом, описанным Nata и др. [*J Cereb Blood Flow Metab.* 2000; 20 (6): 937-946]. В частности, левая общая сонная артерия (ССА) была обнажена посредством разреза шеи по средней линии и аккуратно рассечена и освобождена от окружающих нервов и оболочки мышц, и лигирована у анестезированных мышей. Затем левую наружную сонную артерию (ЕСА) с той же стороны отделяли и также лигировали. После получения хорошего обзора рассеченной внутренней сонной артерии (ІСА) и птеригопалатиновой артерии (РА) обе

артерии перерезали. После этого нейлоновую мононить № 8–0 (Ethilon; Ethicon, Norderstedt, Germany), покрытую силиконовой смолой (Xantopren; Bayer Dental, Osaka, Japan), вводили через небольшой разрез в общую сонную артерию и продвигали на 9 мм дистальнее бифуркации сонной артерии для окклюзии МСА.

5 Диаметр кончика нити (от 0,15 до 0,20 мм) подбирали в соответствии с массой тела животных. Хирургическую рану закрывали, и животных возвращали в их клетки для восстановления от наркоза. Через 45 минут после окклюзии мышей повторно анестезировали и моноволоконно извлекали, чтобы обеспечить реперфузию. Рану закрывали, и мышей возвращали в их клетки.

10 Четыре группы мышей с 10-15 мышами на группу были включены в исследование. Три группы были подвергнуты tMCAO, а 1 группа представляла ложнооперированных животных (группа 1 = фиктивное лечение без лечения, группа 2 = tMCAO с эталонным соединением МК-801, группа 3 = tMCAO с лечением носителем, группа 4 = tMCAO с лечением антагонистом P2X4). Группу

15 2 лечили эталонным соединением МК-801 только один раз в перерасчете на животное внутрибрюшинно за 15 минут до операции в связи с инсультом в дозировке 3 мг/кг массы тела при объеме дозы 5 мл/кг массы тела. Группы 3 и 4 лечили в течение 14 дней два раза в день пероральным введением носителя или антагониста P2X4 (60 мг/кг массы тела), начиная с одного часа до операции, обе

20 с объемом дозы 5 мл/кг массы тела.

Четыре различных сенсомоторных теста [модифицированный тест тяжести неврологических симптомов (mNSS), тест на удаление клейкого вещества (ART), угловой тест (CoT) и цилиндрический тест (CT)] были включены в качестве параметров считывания для измерения эффектов лекарственной терапии.

25 Модифицированный тест тяжести (mNSS) осуществляли до операции и в 1, 7, 14, 21 и 28 день после tMCAO или фиктивной операции. mNSS, использованный в этом исследовании, был модифицирован в соответствии со шкалами тяжести неврологических симптомов, опубликованными в Orsini и др. [Circulation. 2012; 126 (12): 1484-1494] и De Simoni и др. [J Cereb Blood Flow

30 Metab. 2003; 23 (2): 232-239]. mNSS использовали для оценки общего состояния и фокальной неврологической дисфункции после tMCAO. оценка варьируется от 0 (без недостаточности) до 39 (представляет наихудшие показатели по всем пунктам) и рассчитывается как сумма общего и фокальной недостаточности. Результаты mNSS были выражены в виде комплексной шкалы

неврологических симптомов, которая включала следующие общие
недостаточности (баллы): волосы (от 0 до 2), уши (от 0 до 2), глаза (от 0 до 3),
осанка (от 0 до 3), спонтанная активность (от 0 до 3), и следующие фокальные
недостаточности (баллы): симметрия тела (от 0 до 2), походка (от 0 до 4),
5 подъем по поверхности, наклоненной под углом 45° (от 0 до 3), вращательное
поведение (от 0 до 3), симметрия передних конечностей (От 0 до 4),
вращательное поведение (от 0 до 3), реакция усов на легкое прикосновение (от 0
до 4) и тест на сжатие передних лап (от 0 до 3).

Все мыши были подвергнуты тесту mNSS перед операцией для включения
10 только животных с нормальным показателем mNSS. Через двадцать четыре часа
после tMCAO в исследование были включены только мыши с mNSS, равным или
более 8.

Тест на удаление клейкого вещества (ART) использовали для измерения
соматосенсорной недостаточности. Кусок покрытой клеем бумажной марки
15 (примерно 2 мм Ø) использовали в качестве тактильного раздражителя,
фиксируя их на подошвенной области правой передней конечности. За неделю
до операции tMCAO каждое животное получало 3 исследования ART в день в
течение двух дней. Если животным не удавалось удалить раздражитель во
второй день заданных условий в среднем за 60 секунд, добавляли
20 дополнительный день заданных условий. Если животное не смогло удалить
раздражитель даже после дополнительного пробного дня в течение 60 секунд, то
животное было исключено из исследования. ART проводилась до операции, и на
7, 14, 21 и 28 день после операции. В каждый день испытаний тест проводили 3
25 раза в перерасчете на животное. Время в трех испытаниях, необходимое для
обнаружения и удаления клейких раздражителей с правой передней конечности,
записывали и оценивали.

Угловой тест (CoT) использовали для измерения акинезии передних
конечностей, связанной с инсультом. Система углового теста была изготовлена
путем использования четырех досок, которые были склеены друг с другом,
30 чтобы образовать два противоположных угла с углами 30° , при этом один из
этих углов содержит небольшой зазор, чтобы побудить мышей найти этот
соответствующий угол. Эта система углового теста была помещена в клетку со
стандартной подстилкой для животных. Для выполнения CoT запускали камеру,
мышь помещали в середину прямоугольника и записывали в течение 10 мин.

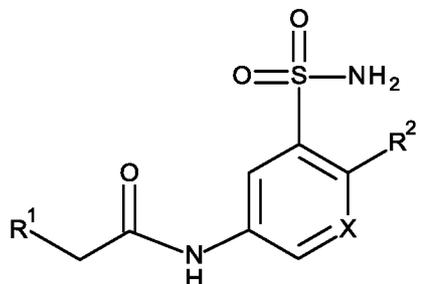
Мышь пыталась добраться до угла с целью. Тем не менее, мыши с инсультом не могут идти прямо вперед. Поэтому они поворачивали скорее влево или вправо, а количество поворотов влево и вправо подсчитывалось из записей для оценки.

СоТ проводился до операции, и на 14 и 28 день после операции.

- 5 Цилиндрический тест (СТ) использовали для исследования познавательного инстинкта путем подсчета спонтанного использования передних конечностей. Для проведения этого теста мышь помещали в прозрачный цилиндр (диаметром 12 см и высотой 20 см) на 5 минут. Зеркало было расположено позади цилиндра под углом, чтобы позволить регистрировать движения передних конечностей,
- 10 когда животное отворачивается от наблюдателя. Цилиндр был достаточно высоким, чтобы животное не достигло верхнего края при попытке вскарабкаться. Привыкание к цилиндру до наблюдения не допускалось. Количество контактов на стенке, выполненных независимо левой и правой передними лапами, и параллельный контакт с обеими передними лапами
- 15 подсчитывали в перерасчете на мышь за сеанс. Были подсчитаны только безотрывные движения, то есть полное наложение лап с открытыми подушками на стенки цилиндра. СТ проводили на 14 и 28 день после операции.

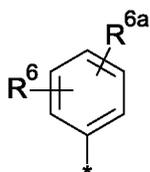
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)

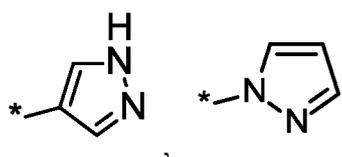


(I)

X представляет собой С или N

R¹ представляет собой

где * обозначает место присоединения указанной группы к остальной части молекулы, и R⁶, R^{6a} представляют собой независимо друг от друга фтор, хлор, метокси или водород;

R² представляет собой

или

где * обозначает место присоединения указанной группы к остальной части молекулы, и указанная группа необязательно замещена 1-2 раза посредством R¹¹, которые, независимо друг от друга, являются одинаковыми или различными;

R¹¹ представляют собой, независимо друг от друга, галоген, циано, C₁-C₄-алкил, C₁-C₄-галогеналкил, C₁-C₄-гидроксиалкил, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₄-галогеналкокси, (C₁-C₃-алкокси)-этил-, метокси-этил-, C₃-C₆-циклоалкил;

или N-оксид, соль, гидрат, сольват, таутомер или стереоизомер указанного соединения, или соль указанного N-оксида, таутомера или стереоизомера для применения для лечения или профилактики ишемии головного мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ),
 5 геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

2. Применение соединения общей формулы I по п. 1, для профилактики или лечения ишемии головного мозга, ишемической травмы
 10 головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

3. Применение соединения общей формулы I по п. 1, для получения лекарственного средства для профилактики или лечения ишемии головного
 15 мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

4. Применение по любому из п.п. 1-3, где соединение представляет
 20 собой

2-(2-хлорфенил)-N-{3-сульфамоил-4-[4-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил]фенил}ацетамид;

2-(2-фторфенил)-N-{3-сульфамоил-4-[4-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил]фенил}-ацетамид;

2-(2-хлорфенил)-N-[4-(3-хлор-1H-1,2,4-триазол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]-ацетамид;

2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-хлор-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид;

2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-фтор-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид;

N-[4-(4-бром-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]-2-(2-хлорфенил)ацетамид;

2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид

N-[4-(4-хлор-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]-2-(4-метоксифенил)ацетамид;

N-{6-[1-(дифторметил)-1H-пиразол-4-ил]-5-сульфамоилпиридин-3-ил}-2-(2-фторфенил)ацетамид;

5 2-(2-хлорфенил)-N-{4-[1-(дифторметил)-1H-пиразол-4-ил]-3-сульфамоилфенил}ацетамид;

2-(2-хлорфенил)-N-{3-сульфамоил-4-[5-(трифторметил)пиридин-3-ил]фенил}-ацетамид;

10 2-(2-хлорфенил)-N-[4-(1-циклопропил-1H-пиразол-4-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид;

2-(2-хлорфенил)-N-{5-сульфамоил-6-[4-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил]пиридин-3-ил}ацетамид;

2-(2-фторфенил)-N-{5-сульфамоил-6-[4-(трифторметил)-1H-пиразол-1-ил]пиридин-3-ил}ацетамид;

15 2-(2-хлорфенил)-N-[6-(4-хлор-1H-пиразол-1-ил)-5-сульфамоилпиридин-3-ил]ацетамид,

или N-оксид, соль, гидрат, сольват, таутомер или стереоизомер указанного соединения, или соль указанного N-оксида, таутомера или стереоизомера.

20 5. Применение по любому из п.п. 1-3, где соединение представляет собой 2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамоилфенил]ацетамид или его стереоизомер, таутомер, N-оксид, гидрат, сольват, или фармацевтически приемлемую соль, или их смесь для получения лекарственного средства для профилактики или лечения ишемии головного
25 мозга, ишемической травмы головного мозга, ишемического инсульта (ИИ), геморрагического инсульта, черепно-мозговой травмы, повреждения спинного мозга.

30 6. Применение по любому из п.п. 1-3, где соединение вводят с начала заболевания до приблизительно одного месяца, или до приблизительно трех недель, или до приблизительно двух недель, или до приблизительно десяти дней.

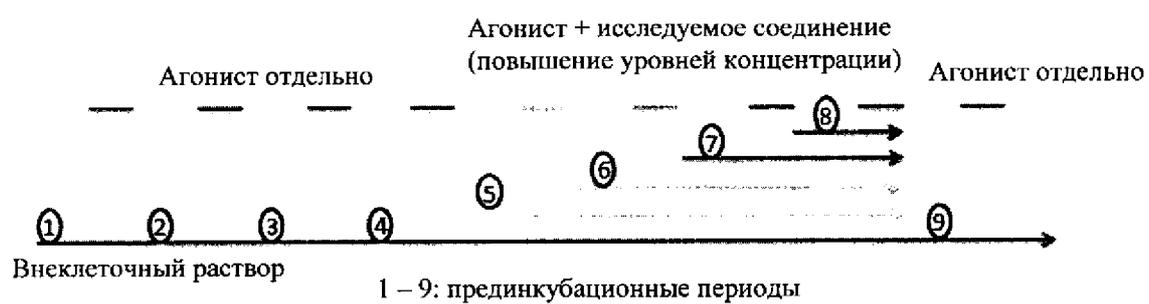
7. Применение по любому из п.п. 13, где соединение вводят в комбинации или в качестве сопутствующего препарата с антитромботическими веществами.

5 8. Применение по любому из п.п. 1-3, где соединение вводят в комбинации или в качестве сопутствующего препарата с гепарином, или низкомолекулярными гепаринами или данапароидом; или аргатробаном, или антитромбином или белком С; или аспирином, или клопидогрелем, или абциксимабом, или эптифибатидом (интегрилином).

10 9. Парентеральный состав соединения общей формулы I по п. 1, или его стереоизомера, таутомера, N-оксида, гидрата, сольвата, или соли, в особенности его фармацевтически приемлемой соли, или их смеси.

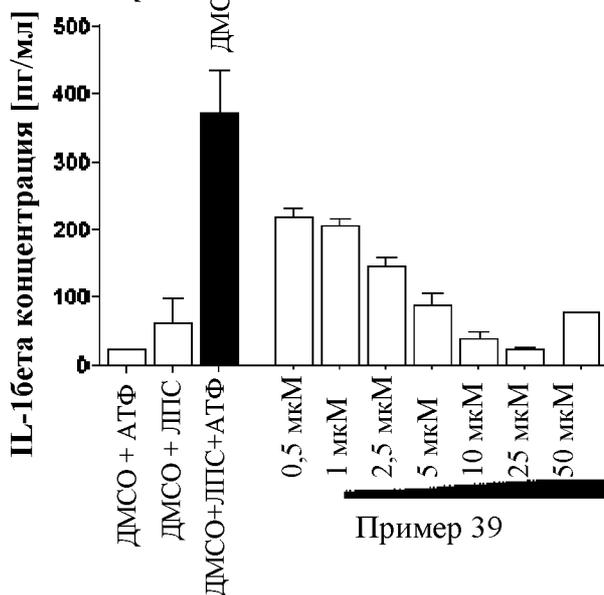
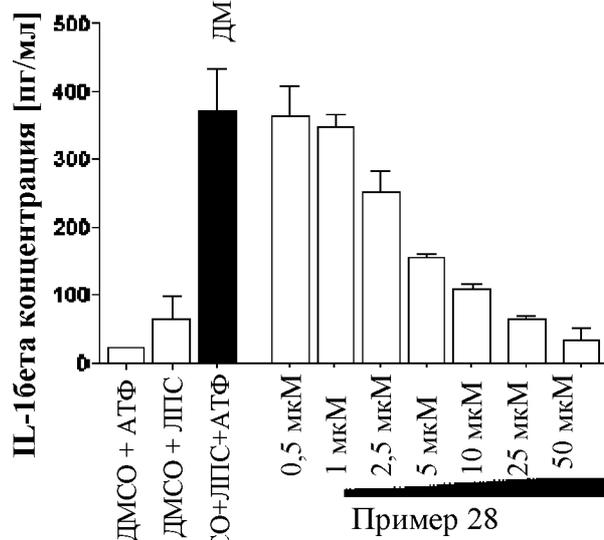
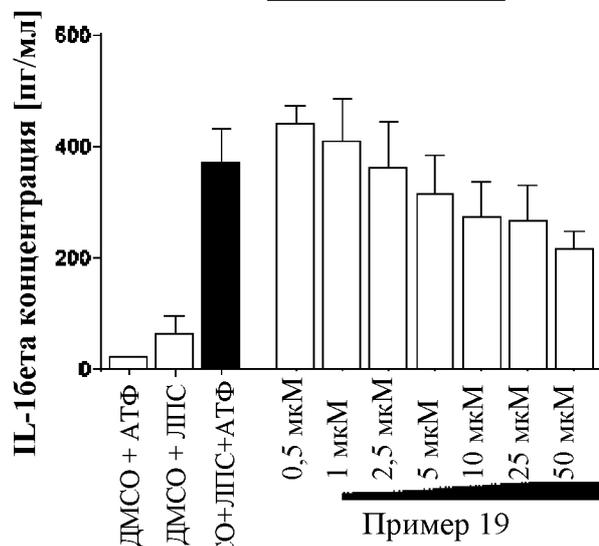
15 10. Парентеральный состав 2-(2-хлорфенил)-N-[4-(4-циано-1H-пиразол-1-ил)-3-сульфамойлфенил]ацетамида или его стереоизомера, таутомера, N-оксида, гидрата, сольвата, или соли, в особенности его фармацевтически приемлемой соли.

20 11. Парентеральный состав по п. 6 или п. 7, который отличается тем, что он представляет собой парентеральный состав для внутривенного введения.



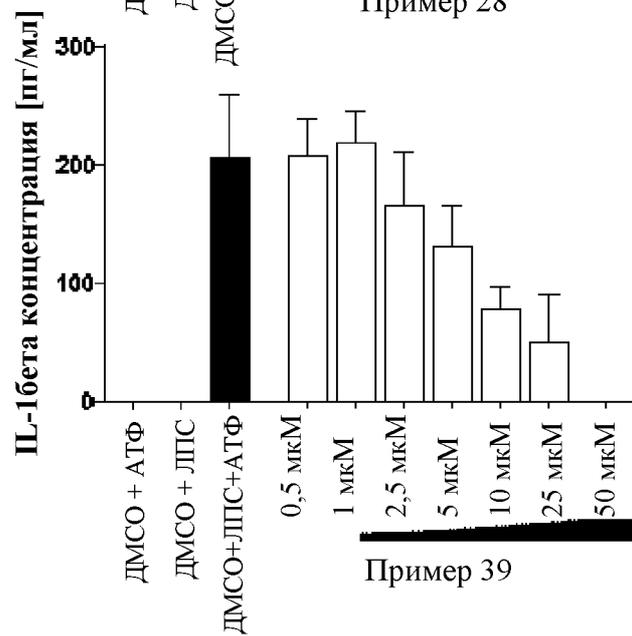
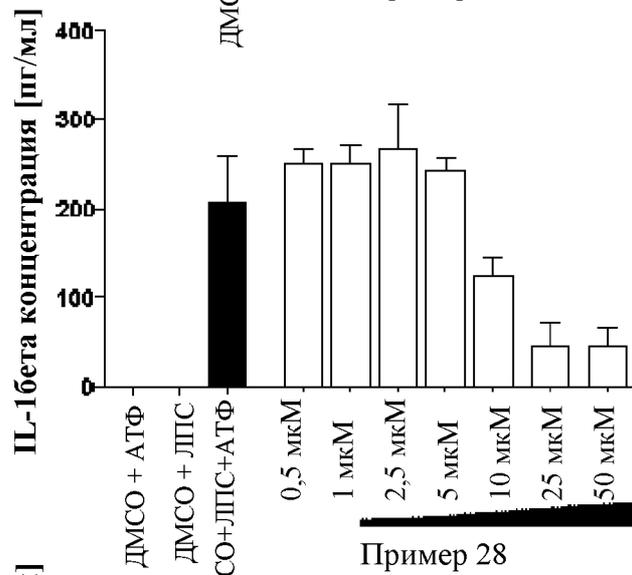
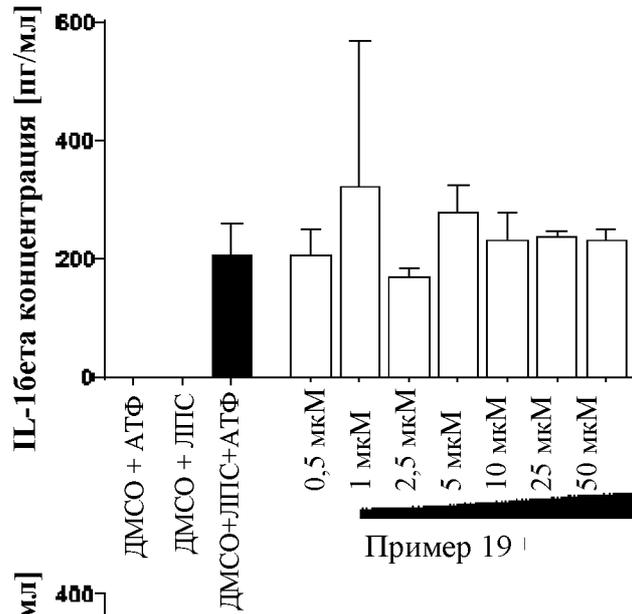
Фиг. 1

Донор 1



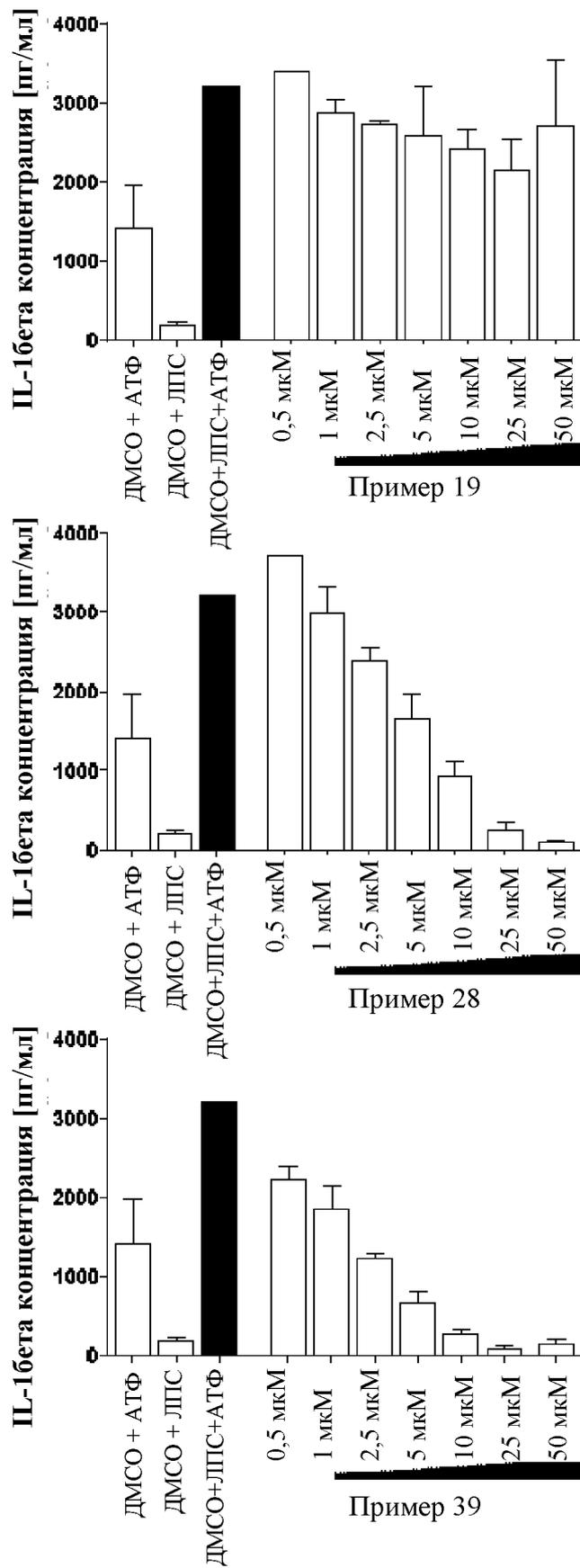
Фиг. 2а(1)

Донор 2



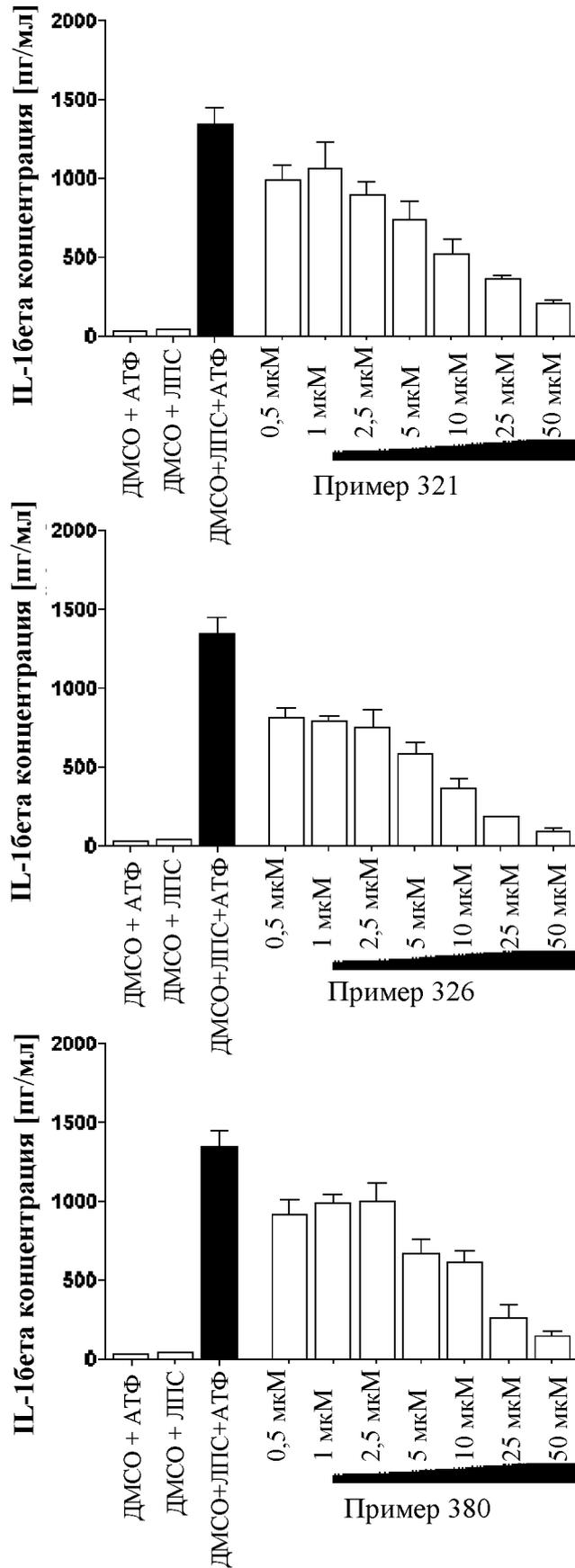
Фиг. 2а(2)

Донор 3



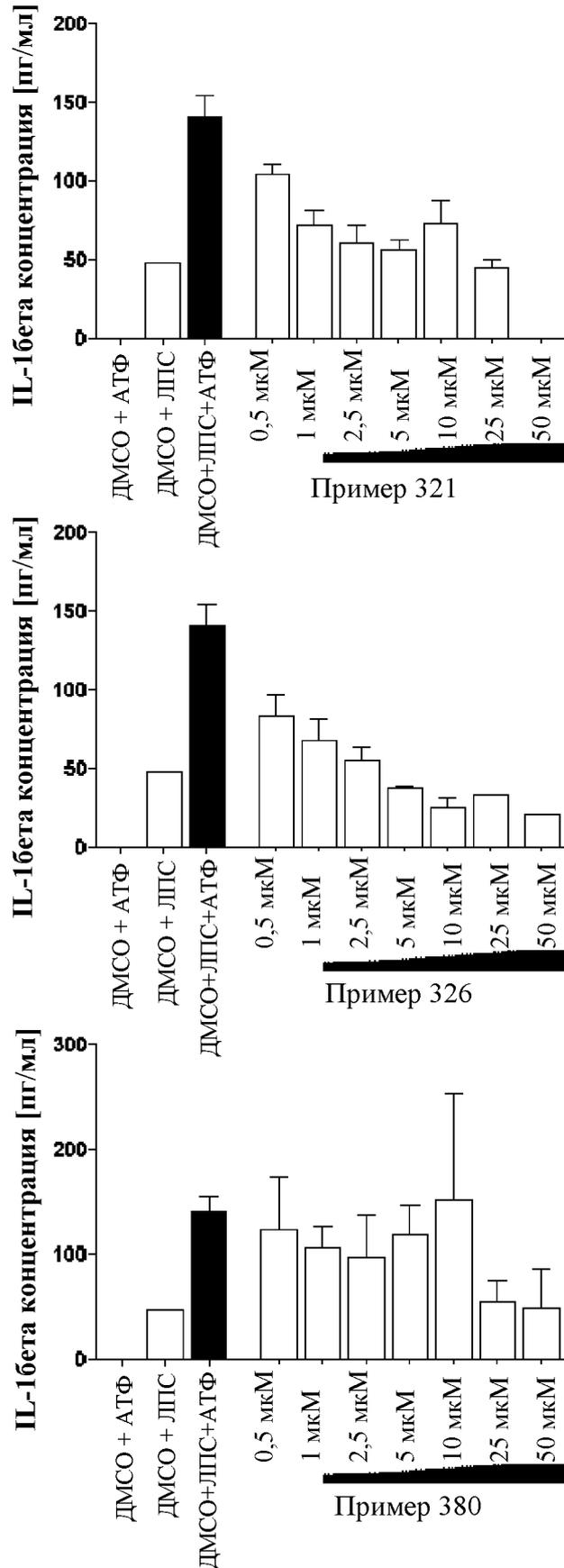
Фиг. 2а(3)

Донор 1



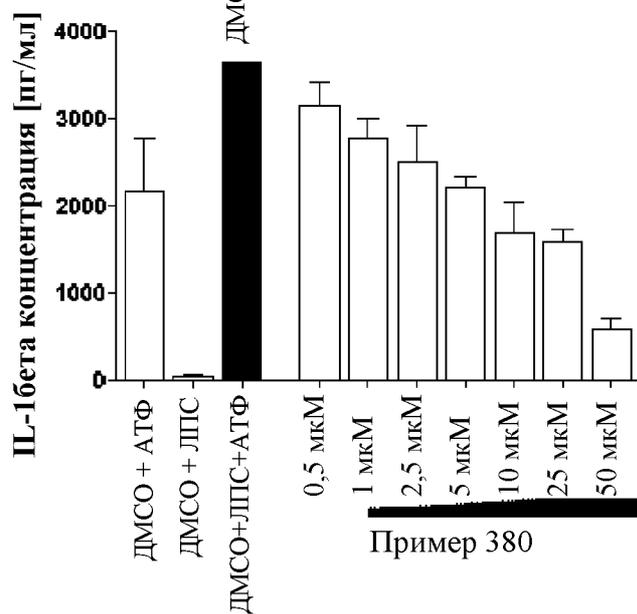
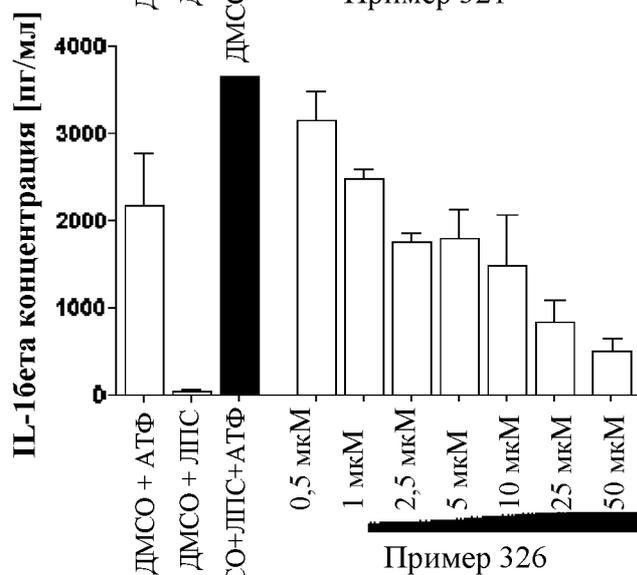
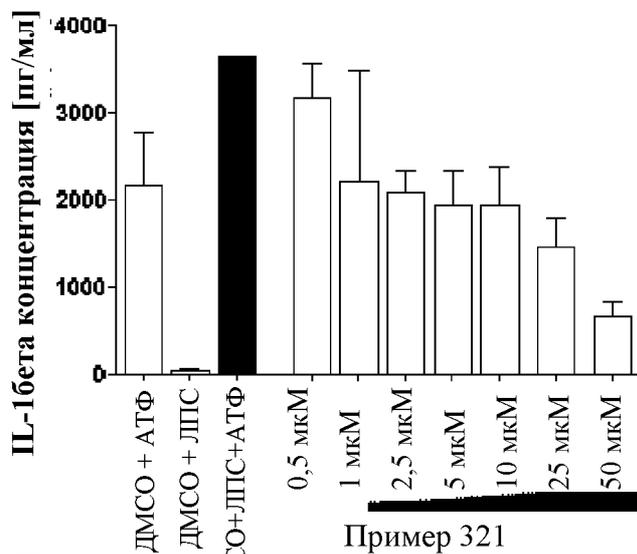
Фиг. 26(1)

Донор 2

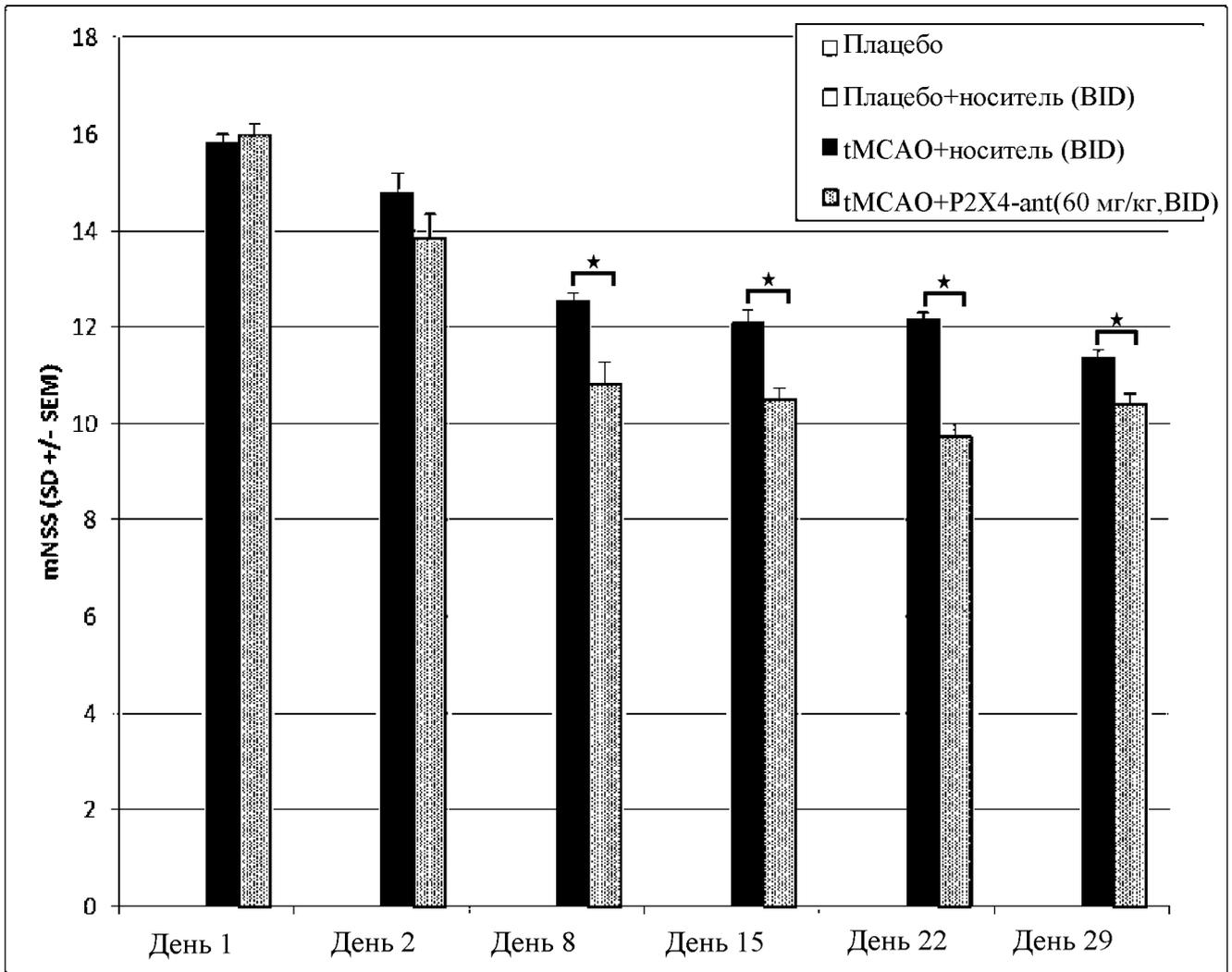


Фиг. 2б(2)

Донор 3



Фиг. 26(3)



Фиг. 3