

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290909** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.08.29

(51) Int. Cl. *A61K 31/4164* (2006.01)
C07D 235/04 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.10.05

(54) **ЛЕЧЕНИЕ НА ОСНОВЕ БИОМАРКЕРОВ ФОКАЛЬНО-СЕКМЕНТАРНОГО
ГЛОМЕРУЛОСКЛЕРОЗА И ДИАБЕТИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ПОЧЕК**

(31) 62/910,758

(32) 2019.10.04

(33) US

(86) PCT/US2020/054282

(87) WO 2021/067946 2021.04.08

(71) Заявитель:
ГОЛДФИНЧ БАЙО, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Рейлли Джон Френсиз, Дагон Йосси,
Рагху Хари, Коэффет-Ле Галь
Мари-Франсуаза Ивелин, Дэниел
Мэттью Х., Юй Маолин, Ледебоер
Марк У., Харманж Жан-Кристоф П.,
Мандел Питер Х. (US)

(74) Представитель:

Строкова О.В., Гизатуллин Ш.Ф.,
Гизатуллина Е.М., Прищепный С.В.,
Джермакян Р.В., Христофоров А.А.,
Угрюмов В.М., Костюшенкова М.Ю.
(RU)

(57) Раскрыты соединения, имеющие структурные формулы (I)-(XI), и связанные фармацевтические композиции. Также раскрыты способы отбора и лечения субъектов-людей, страдающих заболеванием почек, с использованием соединений формул (I)-(XI) и способы определения эффективности лечения ингибитором TRPC5 с их использованием.

A1

202290909

202290909

A1

ЛЕЧЕНИЕ НА ОСНОВЕ БИОМАРКЕРОВ ФОКАЛЬНО-СЕГМЕНТАРНОГО ГЛОМЕРУЛОСКЛЕРОЗА И ДИАБЕТИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ПОЧЕК

Описание

Ссылка на родственные заявки

Согласно настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/910758, поданной 4 октября 2019 г.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Белки каналов TRP млекопитающих образуют шесть трансмембранных проницаемых для катионов каналов, которые могут быть сгруппированы в шесть подсемейств на основе гомологии аминокислотной последовательности (TRPC, TRPV, TRPM, TRPA, TRPP и TRPML). Недавние исследования каналов TRP показывают, что они вовлечены в многочисленные фундаментальные клеточные функции и их рассматривают как играющие важную роль в патофизиологии многих заболеваний. Многие TRP экспрессируются в почках вдоль различных частей нефрона, и появляется все больше доказательств, что эти каналы участвуют в наследственных, а также приобретенных нарушениях почек. TRPC6, TRPM6 и TRPP2 участвуют в развитии наследственного фокально-сегментарного гломерулосклероза (FSGS), гипомagneмии со вторичной гипокальциемией (HSH) и поликистозной болезни почек (PKD), соответственно.

Повреждение и потеря подоцитов являются центральным компонентом патогенеза FSGS и диабетического заболевания почек (DKD) (Jefferson et al. 2014, Weil et al. 2012, Lin et al. 2016). FSGS рассматривают как первичную подоцитопатию, что указывает на то, что патогенез является результатом дисфункции и повреждения подоцитов. В то время как несколько механизмов были постулированы как провоцирующая причина повреждения подоцитов, среди недавно описанных генетических причин заболевания есть мутации в Rho-GTPазах, регуляторах динамики актинового цитоскелета (Wen et al. 2018). Потеря правильно функционирующих Rho-GTPаз (например, мутации в ARHGAP24 и ARHGDIА) приводит к беспрепятственной активации Rac1 в подоцитах, что способствует ремоделированию цитоскелета и гибели подоцитов посредством повышения уровня цитоплазматического кальция и активных форм кислорода (Akilesh et al. 2011, Gee et al. 2013, Greka et al. 2011). Многие наследственные и спорадические формы FSGS связаны с генетической дисрегуляцией Rac1, что подчеркивает значение Rac1 как движущей силы заболевания (Lovric et al. 2015).

Экспериментальные данные, как *in vitro*, так и *in vivo*, подтверждают роль активации Rac1 в патогенезе DKD. В диабетической среде культивируемые подоциты подвергаются ремоделированию цитоскелета, а также эпителиально-мезенхимальному переходу, и то, и другое отменяется нокдауном Rac1 (Liu et al. 2013). Кроме того, подоцит-специфические мыши с дефицитом Rac1 защищены от диабетической нефропатии (Liu et al. 2018). Активация пути Rac1 также опосредована непосредственно активацией канала TRPC5 через либо рецептор эпителиального фактора роста, либо толл-подобные рецепторы (TLR), либо ATIR (Liu et al. 2018), все из которых вовлечены в патогенез DKD (Greka et al., 2011). Синаптодин, актин-ассоциированный белок подоцитов, который разрушается после активации TRPC5, был обнаружен в моче пациентов с DKD (Zheng et al. 2011), что дополнительно подтверждает актуальность активации Rac1 при DKD. Учитывая роль передачи сигналов TRPC5-

Rac1 в опосредовании повреждения при DKD, ингибирование TRPC5 представляет собой возможный вариант лечения в этой области, где существует большая неудовлетворенная медицинская потребность.

По оценкам Renal Data System США (US), на FSGS приходится 4% взрослых и 12% детей среди пациентов с ESKD (USRDS 2018a, USRDS 2018b). Общая заболеваемость FSGS оценивается как 0,2/100000/год и 1,1/100000/год, при этом диапазон объясняется географическими различиями в частоте биопсии и, возможно, генетическими различиями между популяциями (McGrogan et al. 2011, Rosenberg 2017). В исследовании для диагностики путем анализа биопсии почки по подтипу гломерулярного заболевания в США и Канаде FSGS составляет 19,1% (O'Shaughnessy et al. 2018). FSGS является причиной приблизительно 40% нефротического синдрома у взрослых и 20% нефротического синдрома у детей (Kitiyakara et al., 2003).

В настоящее время в США нет одобренной терапии со специфическими показаниями для лечения FSGS. Как правило, как для детей, так и для взрослых начальная терапия включает блокаду ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) и кортикостероиды (KDIGO 2012, D'Agati et al. 2011). При FSGS ответ на кортикостероиды часто бывает неполным или, при достижении ремиссии, у пациентов часто возникают рецидивы при прекращении лечения, и поэтому они могут стать зависимыми от длительного приема кортикостероидов. Пациентам с FSGS, которые не реагируют на кортикостероиды, назначают ингибиторы кальциневрина (CNI) или, в некоторых случаях, другие иммуномодулирующие средства для снижения протеинурии (D'Agati et al. 2011, Gipson et al. 2011a, Ochi et al. 2012). В целом, хотя ремиссия протеинурии может быть достигнута с помощью кортикостероидов или CNI, токсичность, связанная с длительным применением, ограничивает хроническое использование этих препаратов в эффективных дозах (Gipson et al. 2011a, Gipson et al. 2007). Когда потребность в лечении перевешивает связанную с ним токсичность, у пациентов, особенно у детей, могут возникнуть долгосрочные последствия для их здоровья. Учитывая важность достижения значимого снижения протеинурии, ограниченную эффективность доступных в настоящее время способов лечения и значительный профиль побочных эффектов, связанных с этими агентами, существует необходимость в разработке новых способов лечения пациентов всех возрастов с TR-MCD или FSGS

Диабет, распространенность которого во всем мире оценивается в 415 миллионов человек, является основной причиной заболеваемости и смертности как в США, так и во всем мире (Ogurtsova et al. 2017). Диабетическое заболевание почек является основным последствием длительного диабета, по оценкам, она развивается приблизительно у 40% пациентов с диабетом и связана со значительным увеличением частоты ESKD, сердечно-сосудистых осложнений и ранней смертности (Alicic et al. 2017). Несмотря на общее улучшение контроля гипергликемии и артериальной гипертензии, у пациентов по-прежнему наблюдается прогрессирующая потеря функции почек. По сравнению с индивидуумами с диабетом, но без заболевания почек, пациенты с DKD подвержены повышенному риску смертности со стандартизированной кумулятивной 10-летней частотой смертности до 47% (Afkarian et al., 2013). Эти данные подтверждают необходимость вновь сфокусироваться на целенаправленной разработке лекарственных средств для пациентов с диабетом и заболеванием почек.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способам отбора и лечения субъекта-человека, страдающего заболеванием почек. Согласно некоторым вариантам осуществления способ предусматривает стадии:

a. отбора субъекта, если уровень в моче одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, у субъекта выше предварительно определенного порогового значения, и

b. введения отобранному субъекту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор TRPC5 или ингибитор кальциневрина и фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, предусматривающему стадию:

введения субъекту фармацевтической композиции, содержащей

ингибитор TRPC5 или ингибитор кальциневрина и

фармацевтически приемлемый носитель,

только если у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения.

Согласно некоторым вариантам осуществления заболеванием почек является диабетическая нефропатия, фокально-сегментарный гломерулосклероз, нефропатия минимальных изменений, мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит, мембранозная нефропатия, другие вирус гепатита С-ассоциированные гломерулопатии или наследственный геморрагический нефрит (синдром Альпорта).

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу определения эффективности терапии ингибитором TRPC5 у субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, где перед началом терапии у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения, причем способ предусматривает:

a. получение уровня в моче выбранного биомаркера у субъекта-человека в момент времени после начала лечения TRPC5,

b. сравнение уровня выбранного биомаркера со стадии а. с уровнем в моче до лечения выбранного биомаркера,

c. определение, что терапия TRPC5 является эффективной, если уровень выбранного биомаркера на стадии а. ниже уровня в моче до лечения выбранного биомаркера.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу определения эффективности терапии ингибитором TRPC5 у субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, где перед началом терапии у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения, причем способ предусматривает:

a. получение уровня в моче выбранного биомаркера у субъекта-человека в момент времени после начала лечения TRPC5, и

b. определение, что терапия TRPC5 является эффективной, если уровень выбранного биомаркера на стадии а. ниже предварительно определенного порогового значения для выбранного биомаркера.

Способы эффективны для различных субъектов, включая млекопитающих, например, человека и других животных, таких как лабораторные животные, например, мыши, крысы, кролики или обезьяны, или домашних и

сельскохозяйственных животных, например, кошек, собак, коз, овец, свиней, коров или лошадей. Согласно некоторым вариантам осуществления субъектом является человек.

Настоящее изобретение обеспечивает несколько преимуществ. Описанные в настоящем документе профилактические и терапевтические способы эффективны при лечении заболеваний почек, например, протеинурии, и имеют минимальные побочные эффекты, если таковые имеются. Кроме того, способы, описанные в настоящем документе, эффективны для идентификации соединений, которые лечат или снижают риск развития заболевания почек, тревоги, депрессии или рака.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой относится настоящее изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в настоящем документе, могут быть использованы при практическом применении или тестировании настоящего изобретения, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, упомянутые в настоящем документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте. В случае конфликта настоящее изобретение, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Кроме того, материалы, способы и примеры носят исключительно иллюстративный характер и не предназначены для ограничения.

Другие признаки, задачи и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из подробного описания и формулы настоящего изобретения.

Краткое описание чертежей

На **фиг. 1А** и **фиг. 1В** представлены графики рассеяния, показывающие уровни $Rac1$ в моче у здоровых людей (кружки) и при DN (квадраты), FSGS (ромбы) и наследственном геморрагическом нефрите (треугольники) у пациентов-людей (фиг. 1А), или уровни $Rac1$ в моче у большего числа здоровых людей (кружки), большего числа пациентов с DN (квадраты), большего числа пациентов с FSGS (ромбы), пациентов с PKD (шестиугольники) и такого же числа пациентов с наследственным геморрагическим нефритом (треугольники) (фиг. 1В).

На **фиг. 2** показано соотношение $Rac1$: креатинина в моче крыс, не подвергавшихся лечению, в зависимости от времени после обработки 10 мг/кг соединения 1 или носителем-контролем.

На **фиг. 3** показано соотношение $Rac1$: креатинина в моче крыс с гипертензией, получавших DOCA или соль DOCA, в зависимости от времени после обработки 10 мг/кг соединения 1 или носителем-контролем.

На **фиг. 4А** и **фиг. 4В** показано изменение $Rac1$: креатинина в моче здоровых людей с течением времени после лечения однократной пероральной дозой 20 мг соединения 1 или плацебо, выраженное в процентах от соотношения $Rac1$: креатинина до лечения (фиг. 4А), или однократной пероральной дозой либо плацебо, либо 5 мг соединения 1 в виде жидкой суспензии, либо 20, 40 или 80 мг соединения 1 в виде таблетки (фиг. 4В), выраженное в процентах от концентрации $Rac1$ до лечения.

На **фиг. 5** показано количество $Rac1$ во фракции внеклеточных везикул мочи по сравнению с супернатантом у здоровых людей.

На **фиг. 6** показано дневное количество альбумина, экскретируемого с мочой крыс ZDSD, с течением времени после обработки различными дозами соединения 1 (3 мг/кг или 10 мг/кг) или носителем-контролем.

На **фиг. 7** показано дневное количество альбумина, экскретируемого с мочой крыс с гипертензией, получавших DOCA или соль DOCA, с течением времени после лечения различными дозами соединения 1 (3 мг/кг или 10 мг/кг) или носителем-контролем.

На **фиг. 8** показано соотношение белок: креатинин в моче («UPCR») у мышей с нокаутом COL4A4 с течением времени после лечения различными дозами соединения 1 (3 мг/кг или 10 мг/кг) или носителем-контролем.

На **фиг. 9** показано дневное количество альбумина, экскретируемого с мочой крыс с гипертензией, получавших DOCA или соль DOCA, с течением времени после лечения различными дозами соединения 2 (10 мг/кг или 60 мг/кг с постепенным повышением до 100 мг/кг через 1 неделю) или носителем-контролем.

На **фиг. 10** показано дневное количество альбумина, экскретируемого с мочой крыс с гипертензией, получавших DOCA или соль DOCA, с течением времени после лечения различными дозами соединения 3 (30 мг/кг), эплеренона (50 мг/кг два раза в день) или носителем-контролем.

На **фиг. 11** показано дневное количество белка, экскретируемого с мочой крыс с гипертензией, получавших DOCA или соль DOCA, с течением времени после лечения различными дозами соединения 4 (20 мг/кг, 50 мг/кг или 100 мг/кг) или носителем-контролем.

На **фиг. 12** показано дневное количество альбумина, экскретируемого с мочой крыс с гипертензией, получавших DOCA или соль DOCA, с течением времени после лечения циклоспорином А (3 мг/кг), такролимусом (от 0,3 мг/кг снижено до 0,1 мг/кг через 14 дней) или носителем-контролем.

На **фиг. 13** показаны уровни Ras1 в моче у шести субъектов-людей, у которых было диагностировано активное острое повреждение почек после положительного ПЦР-теста на COVID-19.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Определения

Термин «ацил» известен специалистам и относится к группе, представленной общей формулой гидрокарбилС(О)-, предпочтительно алкилС(О)-.

Термин «ациламино» известен специалистам и относится к аминогруппе, замещенной ацильной группой, и может быть представлен, например, формулой гидрокарбилС(О)NH-.

Термин «ацилокси» известен специалистам и относится к группе, представленной общей формулой гидрокарбилС(О)О-, предпочтительно алкилС(О)О-.

Термин «алкокси» относится к алкильной группе, предпочтительно к нижней алкильной группе, к которой присоединен кислород. Иллюстративные алкоксигруппы включают метокси, трифторметокси, этокси, пропокси, трет-бутокси и т.п.

Термин «алкоксиалкил» относится к алкильной группе, замещенной алкоксигруппой, и может быть представлен общей формулой алкил-О-алкил.

В контексте настоящего изобретения термин «алкенил» относится к алифатической группе, содержащей по меньшей мере одну двойную связь, и включает как «незамещенные алкенилы», так и «замещенные алкенилы», где последние относятся к алкенильным фрагментам, имеющим заместители, замещающие водород при одном или более атомах углерода алкенильной группы. Такие заместители могут встречаться при одном или более атомах углерода, которые включены или не включены в одну или более двойных связей. Более того, такие

заместители включают все предполагаемые для алкильных групп, как обсуждается ниже, за исключением случаев, когда стабильность является недопустимой. Например, охватывается замещение алкенильных групп одной или более алкильными, карбоциклическими, арильными, гетероциклическими или гетероарильными группами.

«Алкильная» группа или «алкан» представляет собой неароматический углеводород с прямой или разветвленной цепью, который является полностью насыщенным. Обычно алкильная группа с прямой или разветвленной цепью содержит от 1 до приблизительно 20 атомов углерода, предпочтительно от 1 до приблизительно 10, если не указано иное. Примеры алкильных групп с прямой и разветвленной цепью включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, гексил, пентил и октил. Алкильную группу C₁-C₆ с прямой или разветвленной цепью также называют «низшей алкильной» группой.

Более того, термин «алкил» (или «низший алкил»), используемый в описании настоящего изобретения, примерах и формуле настоящего изобретения, включает как «незамещенные алкилы», так и «замещенные алкилы», причем последние относятся к алкильным фрагментам, имеющим заместители, замещающие водород при одном или более атомах углерода углеводородного остова. Такие заместители, если не указано иное, могут включать, например, галоген (например, фтор), гидроксил, карбонил (такой как карбоксил, алкоксикарбонил, формил или ацил), тиокарбонил (такой как сложный тиоэфир, тиоацетат или тиоформиат), алкокси, фосфорил, фосфат, фосфонат, фосфинат, амино, амидо, амидин, имин, циано, нитро, азидо, сульфгидрил, алкилтио, сульфат, сульфонат, сульфамойл, сульфонамидо, сульфонила, гетероциклический, аралкил или ароматический или гетероароматический фрагмент. Согласно предпочтительным вариантам осуществления заместители замещенных алкилов выбраны из C₁₋₆ алкила, C₃₋₆ циклоалкила, галогена, карбонила, циано или гидроксила. Согласно более предпочтительным вариантам осуществления заместители замещенных алкилов выбраны из фтора, карбонила, циано или гидроксила. Специалистам в данной области понятно, что фрагменты, замещенные в углеводородной цепи, сами могут быть замещены, если это является подходящим. Например, заместители замещенного алкила могут включать замещенные и незамещенные формы амино, азидо, имино, амидо, фосфорила (включая фосфонат и фосфинат), сульфонила (включая сульфат, сульфонамидо, сульфамойл и сульфонат) и силильных групп, а также простые эфиры, алкилтио, карбонилы (включая кетоны, альдегиды, карбоксилаты и сложные эфиры), -CF₃, -CN и т.п. Иллюстративные замещенные алкилы описаны ниже. Циклоалкилы могут быть дополнительно замещены алкилами, алкенилами, алкокси, алкилтио, аминоклилами, карбонилзамещенными алкилами, -CF₃, -CN и т.п.

Если не указано иное, «алкилен» сам по себе или как часть другого заместителя относится к насыщенной двухвалентной группе с прямой или разветвленной цепью, имеющей указанное число атомов углерода и полученной путем удаления двух атомов водорода из соответствующего алкана. Примеры алкиленовых групп с прямой и разветвленной цепью включают -CH₂- (метилен), -CH₂-CH₂- (этилен), -CH₂-CH₂-CH₂- (пропилен), -C(CH₃)₂-, -CH₂-CH(CH₃)-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- (пентилен), -CH₂-CH(CH₃)-CH₂- и -CH₂-C(CH₃)₂-CH₂-.

Термин «C_{x-y}» при использовании в сочетании с химическим фрагментом, таким как ацил, ацилокси, алкил, алкенил, алкинил или алкокси, означает включение групп, содержащих от x до y атомов углерода в цепи. Например, термин «C_{x-y} алкил» относится к замещенным или незамещенным насыщенным углеводородным группам, включая алкильные группы с прямой цепью и алкильные группы с разветвленной цепью, которые

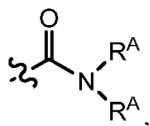
содержат от x до y атомов углерода в цепи, включая галогеналкильные группы. Предпочтительные галогеналкильные группы включают трифторметил, дифторметил, 2,2,2-трифторэтил и пентафторэтил. C₀ алкил указывает на водород, где группа находится в концевом положении, связь, если она внутренняя. Термины «C_{2-y} алкенил» и «C_{2-y} алкинил» относятся к замещенным или незамещенным ненасыщенным алифатическим группам, аналогичным по длине и возможному замещению алкилам, описанным выше, но которые содержат по меньшей мере одну двойную или тройную связь, соответственно.

В контексте настоящего изобретения термин «алкиламино» относится к аминогруппе, замещенной по меньшей мере одной алкильной группой.

В контексте настоящего изобретения термин «алкилтио» относится к тиольной группе, замещенной алкильной группой, и может быть представлен общей формулой алкилS-

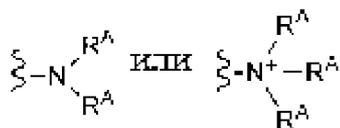
В контексте настоящего изобретения термин «алкинил» относится к алифатической группе, содержащей по меньшей мере одну тройную связь, и включает как «незамещенные алкинилы», так и «замещенные алкинилы», причем последние относятся к алкинильным фрагментам, имеющим заместители, замещающие водород при одном или более атомах углерода алкинильной группы. Такие заместители могут встречаться при одном или более атомах углерода, которые включены или не включены в одну или более тройные связи. Кроме того, такие заместители включают все предполагаемые для алкильных групп, как раскрыто выше, за исключением случаев, когда стабильность недопустима. Например, охватывается замещение алкинильных групп одной или более алкильными, карбоциклическими, арильными, гетероциклическими или гетероарильными группами.

В контексте настоящего изобретения термин «амид» относится к группе



где каждый R^A независимо представляет собой водород или гидрокарбильную группу, или два R^A вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют гетероцикл, содержащий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

Термины «амин» и «амино» известны в данной области техники и относятся как к незамещенным, так и к замещенным аминам и их солям, например, к фрагменту, который может быть представлен



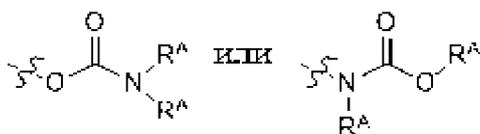
где каждый R^A независимо представляет собой водород или гидрокарбильную группу, или два R^A вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют гетероцикл, содержащий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

В контексте настоящего изобретения термин «аминоалкил» относится к алкильной группе, замещенной аминогруппой.

В контексте настоящего изобретения термин «аралкил» относится к алкильной группе, замещенной арильной группой.

В контексте настоящего изобретения термин «арил» включает замещенные или незамещенные ароматические группы с одним кольцом, в которых каждый атом кольца представляет собой атом углерода. Предпочтительно кольцо представляет собой 6- или 10-ти членное кольцо, более предпочтительно 6-ти членное кольцо. Термин «арил» также включает полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических кольца, в которых два или более атомов углерода являются общими для двух соседних колец, где по меньшей мере одно из колец является ароматическим, например, другие циклические кольца могут быть циклоалкилами, циклоалкенилами, арилами, гетероарилами и/или гетероциклами. Арильные группы включают бензол, нафталин, фенантрен, фенол, анилин и т.п.

Термин «карбамат» известен в области техники и относится к группе



где каждый R^A независимо представляет собой водород или гидрокарбильную группу, такую как алкильная группа, или обе R^A вместе с промежуточным атомом (атомами) составляют гетероцикл, содержащий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

В контексте настоящего изобретения термины «карбоцикл» и «карбоциклический» относятся к насыщенному или ненасыщенному кольцу, в котором каждый атом кольца представляет собой атом углерода. Термин «карбоцикл» включает как ароматические карбоциклы, так и неароматические карбоциклы. Неароматические карбоциклы включают как циклоалкановые кольца, в которых все атомы углерода насыщены, так и циклоалкеновые кольца, содержащие по меньшей мере одну двойную связь. «Карбоцикл» включает 5-7-ми членные моноциклические и 8-12-ти членные бициклические кольца. Каждое кольцо бициклического карбоцикла могут быть выбраны из насыщенных, ненасыщенных и ароматических колец. Карбоцикл включает бициклические молекулы, в которых один, два, три или более атомов являются общими для двух колец. Термин «конденсированный карбоцикл» относится к бициклическому карбоциклу, в котором каждое из колец имеет два общих соседних атома с другим кольцом. Каждое кольцо конденсированного карбоцикла может быть выбрано из насыщенных, ненасыщенных и ароматических колец. Согласно иллюстративному варианту осуществления ароматическое кольцо, например, фенил, может быть конденсировано с насыщенным или ненасыщенным кольцом, например, циклогексаном, циклопентаном или циклогексенном. Любая комбинация насыщенных, ненасыщенных и ароматических бициклических колец, если позволяет валентность, включена в определение карбоцикла. Примеры «карбоциклов» включают циклопентан, циклогексан, бицикло[2.2.1]гептан, 1,5-циклооктадиен, 1,2,3,4-тетрагидронафталин, бицикло[4.2.0]окт-3-ен, нафталин и адамантан. Примеры конденсированных карбоциклов включают декалин, нафталин, 1,2,3,4-тетрагидронафталин, бицикло[4.2.0]октан, 4,5,6,7-тетрагидро-1H-инден и бицикло[4.1.0]гепт-3-ен. «Карбоциклы» могут быть замещены в любом одном или более положениях, способных нести атом водорода.

«Циклоалкильная» группа представляет собой циклический углеводород, который является полностью насыщенным. «Циклоалкил» включает моноциклические и бициклические кольца. Обычно моноциклическая циклоалкильная группа имеет от 3 до приблизительно 10 атомов углерода, более типично от 3 до 8 атомов углерода, если не указано иное. Второе кольцо бициклического циклоалкила может быть выбрано из

насыщенных, ненасыщенных и ароматических колец. Циклоалкил включает бициклические молекулы, в которых один, два или три или более атомов являются общими для двух колец. Термин «конденсированный циклоалкил» относится к бициклическому циклоалкилу, в котором каждое из колец имеет два общих соседних атома с другим кольцом. Второе кольцо конденсированного бициклического циклоалкила может быть выбрано из насыщенных, ненасыщенных и ароматических колец. «Циклоалкенильная» группа представляет собой циклический углеводород, содержащий одну или более двойных связей.

В контексте настоящего изобретения термин «карбоциклизалкил» относится к алкильной группе, замещенной карбоциклической группой.

Термин «карбонат» известен в области техники и относится к группе $-\text{OCO}_2\text{-R}^A$, где R^A представляет собой гидрокарбильную группу.

В контексте настоящего изобретения термин «карбоксил» относится к группе, представленной формулой $-\text{CO}_2\text{H}$.

В контексте настоящего изобретения термин «сложный эфир» относится к группе $\text{C}(\text{O})\text{OR}^A$, где R^A представляет собой гидрокарбильную группу.

В контексте настоящего изобретения термин «простой эфир» относится к гидрокарбильной группе, связанной через атом кислорода с другой гидрокарбильной группой. Соответственно, простозэфирный заместитель гидрокарбильной группы может представлять собой гидрокарбил-О-. Простые эфиры могут быть как симметричными, так и несимметричными. Примеры простых эфиров включают без ограничения гетероцикл-О-гетероцикл и арил-О-гетероцикл. Простые эфиры включают «алкоксиалкильные» группы, которые могут быть представлены общей формулой алкил-О-алкил.

В контексте настоящего изобретения термин «галоген» и «галоген» означают галоген и включают хлор, фтор, бром и йод.

В контексте настоящего изобретения термины «гетаралкил» и «гетероаралкил» относятся к алкильной группе, замещенной гетарильной группой.

В контексте настоящего изобретения термин «гетероалкил» относится к насыщенной или ненасыщенной цепи атомов углерода и по меньшей мере одного гетероатома, где никакие два гетероатома не являются соседними.

Термины «гетероарил» и «гетарил» включают замещенные или незамещенные ароматические одинарные кольцевые структуры, предпочтительно 5-7-ми членные кольца, более предпочтительно 5-6-ти членные кольца, чьи кольцевые структуры включают по меньшей мере один гетероатом, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, более предпочтительно один или два гетероатома. Термины «гетероарил» и «гетарил» также включают полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических кольца, в которых два или более атомов углерода являются общими для двух соседних колец, где по меньшей мере одно из колец является гетероароматическим, например, другие циклические кольца могут быть циклоалкилами, циклоалкенилами, арилами, гетероарилами и/или гетероциклами. Гетероарильные группы включают, например, пиррол, фуран, тиофен, имидазол, оксазол, тиазол, пирозол, пиридин, пиразин, пиридазин и пиримидин и т.п.

В контексте настоящего изобретения термин «гетероатом» означает атом любого элемента, отличного от углерода или водорода. Предпочтительными гетероатомами являются азот, кислород и сера.

Термины «гетероцикл», «гетероцикл» и «гетероциклический» относятся к замещенным или незамещенным неароматическим кольцевым структурам, предпочтительно 3-10-ти членным кольцам, более предпочтительно 3-7-ми членным кольцам, чьи кольцевые структуры включают по меньшей мере один гетероатом, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, более предпочтительно один или два гетероатома. Термины «гетероцикл» и «гетероциклический» также включают полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических кольца, в которых два или более атомов углерода являются общими для двух соседних колец, где по меньшей мере одно из колец является гетероциклическим, например, другие циклические кольца могут быть циклоалкилами, циклоалкенилами, арилами, гетероариллами и/или гетероциклами. Гетероциклические группы включают, например, пиперидин, пиперазин, пирролидин, тетрагидропиран, тетрагидрофуран, морфолин, лактоны, лактамы и т.п.

В контексте настоящего изобретения термин «гетероциклический алкил» или «гетероциклоалкил» относится к алкильной группе, замещенной гетероциклической группой.

В контексте настоящего изобретения термин «гидрокарбил» относится к группе, которая связана через атом углерода, который не имеет заместителя =O или =S, и обычно имеет по меньшей мере одну углерод-водородную связь и преимущественно углеродную основную цепь, но может необязательно включать гетероатомы. Таким образом, такие группы, как метил, этоксиэтил, 2-пиридил и трифторметил, считаются гидрокарбилами для целей настоящей заявки, но такие заместители, как ацетил (который имеет заместитель =O при углероде связывания) и этокси (который связан посредством кислорода, а не углерода) не считаются. Гидрокарбильные группы включают без ограничения арил, гетероарил, карбоцикл, гетероцикл, алкил, алкенил, алкинил и их комбинации.

В контексте настоящего изобретения термин «гидроксиалкил» относится к алкильной группе, замещенной гидроксильной группой.

Термин «низший» при использовании в сочетании с химическим фрагментом, таким как ацил, ацилокси, алкил, алкенил, алкинил или алкокси, означает включение групп, где в заместителе присутствуют десять или менее атомов, отличных от водорода, предпочтительно шесть или менее. «Низший алкил», например, относится к алкильной группе, которая содержит десять или менее атомов углерода, предпочтительно шесть или менее. Согласно определенным вариантам осуществления ацильные, ацилокси, алкильные, алкенильные, алкинильные или алкоксильные заместители, определенные в настоящем документе, представляют собой, соответственно, низший ацил, низший ацилокси, низший алкил, низший алкенил, низший алкинил или низший алкокси, независимо от того, появляются ли они отдельно или в комбинации с другими заместителями, как например, в перечислениях гидроксиалкила и арилалкила (в этом случае, например, атомы в арильной группе не учитываются при подсчете атомов углерода в алкильном заместителе).

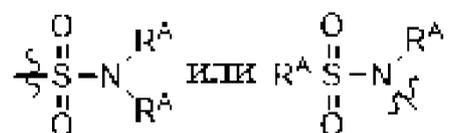
Термины «полицикл», «полицикл» и «полициклический» относятся к двум или более кольцам (например, циклоалкилам, циклоалкенилам, арилам, гетероариллам и/или гетероциклам), в которых два или более атомов являются общими для двух соседних колец, например, кольца представляют собой «конденсированные кольца». Каждое из колец полицикла может быть замещенным или незамещенным. Согласно определенным вариантам осуществления каждое кольцо полицикла содержит от 3 до 10 атомов в кольце, предпочтительно от 5 до 7.

Термин «силлил» относится к кремниевой части с тремя присоединенными к ней гидрокарбильными группами.

Термин «замещенный» относится к фрагментам, имеющим заместители, замещающие атом водорода при одном или более атомах углерода основной цепи. Следует понимать, что «замещение» или «замещено» включает неявное условие, что такое замещение соответствует допустимой валентности замещенного атома и заместителя, и что замещение приводит к стабильному соединению, например, которое самопроизвольно не распадается, подвергаясь трансформации, такой как перегруппировка, циклизация, отщепление и т.д. В контексте настоящего изобретения термин «замещенный» предполагается как включающий все допустимые заместители органических соединений. В широком аспекте допустимые заместители включают ациклические и циклические, разветвленные и неразветвленные, карбоциклические и гетероциклические, ароматические и неароматические заместители органических соединений. Допустимые заместители могут быть одним или более и одинаковыми или различными для соответствующих органических соединений. В контексте настоящего изобретения гетероатомы, такие как азот, могут иметь водородные заместители и/или любые допустимые заместители органических соединений, как описано в настоящем документе, которые удовлетворяют валентности гетероатомов. Заместители могут включать любые заместители, описанные в настоящем документе, например, галоген, гидроксил, карбонил (такой как карбоксил, алкоксикарбонил, формил или ацил), тиокарбонил (такой как сложный тиоэфир, тиоацетат или тиоформиат), алкокси, фосфорил, фосфат, фосфонат, фосфинат, аминок, амидо, амидин, имин, циано, нитро, азидо, сульфгидрил, алкилтио, сульфат, сульфонат, сульфоамидо, сульфонамидо, сульфонило, гетероциклило, аралкило или ароматический или гетероароматический фрагмент. Согласно предпочтительным вариантам осуществления заместители замещенных алкилов выбраны из C₁₋₆ алкила, C₃₋₆ циклоалкила, галогена, карбонила, циано или гидроксила. Согласно более предпочтительным вариантам осуществления заместители замещенных алкилов выбраны из фтора, карбонила, циано или гидроксила. Специалистам в данной области техники понятно, что заместители сами по себе могут быть замещены, если это является подходящим. Если конкретно не указано «незамещенный», ссылки на химические фрагменты в настоящем документе включают замещенные варианты. Например, ссылка на «арильную» группу или фрагмент неявно включает как замещенные, так и незамещенные варианты.

Термин «сульфат» известен в данной области техники и относится к группе -OSO₃H или ее фармацевтически приемлемой соли.

Термин «сульфонамид» известен в данной области техники и относится к группе, представленной общими формулами



где каждый R^A независимо представляет собой водород или гидрокарбил, такой как алкил, или оба R^A вместе с промежуточным атомом (атомами) образуют гетероцикл, содержащий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

Термин «сульфоксид» известен в данной области техники и относится к группе -S(O)-R^A, где R^A представляет собой гидрокарбил.

Термин «сульфонат» известен в данной области техники и относится к группе SO_3H или его фармацевтически приемлемой соли.

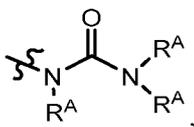
Термин «сульфон» известен в данной области техники и относится к группе $-\text{S}(\text{O})_2\text{-R}^A$, где R^A представляет собой гидрокарбил.

В контексте настоящего изобретения термин «тиоалкил» относится к алкильной группе, замещенной тиольной группой.

В контексте настоящего изобретения термин «сложный тиоэфир» относится к группе $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^A$ или $-\text{SC}(\text{O})\text{R}^A$, где R^A представляет собой гидрокарбил.

В контексте настоящего изобретения термин «простой тиоэфир» эквивалентен простому эфиру, в котором кислород заменен серой.

Термин «мочевина» известен в данной области техники и может быть представлен общей формулой



где каждый R^A независимо представляет собой водород или гидрокарбил, такой как алкил, или в любом случае R^A вместе с другим и промежуточным атомом (атомами) составляют гетероцикл, имеющий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

«Защитная группа» относится к группе атомов, которые при присоединении к реакционноспособной функциональной группе в молекуле маскируют, снижают или предотвращают реакционную способность функциональной группы. Как правило, защитная группа может быть селективно удалена по желанию в ходе синтеза. Примеры защитных групп можно найти в Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 3rd Ed., 1999, John Wiley & Sons, NY and Harrison et al., *Compendium of Synthetic Organic Methods*, Vols. 1-8, 1971-1996, John Wiley & Sons, NY. Иллюстративные защитные группы азота включают без ограничения формил, ацетил, трифторацетил, бензил, бензилоксикарбонил («CBZ»), трет-бутоксикарбонил («Boc»), триметилсиллил («TMS»), 2-триметилсиллилэтансульфонил («TES»), тритильные и замещенные тритильные группы, аллилоксикарбонил, 9-флуоренилметилоксикарбонил («FMOC»), нитровератрилоксикарбонил («NVOC») и т.п. Иллюстративные гидроксильные защитные группы включают без ограничения группы, в которых гидроксильная группа либо ацилирована (эстерифицирована), либо алкилирована, как например бензиловый и тритиловый простые эфиры, а также алкиловые простые эфиры, тетрагидропираниловые простые эфиры, триалкилсиллиловые простые эфиры (например, группы TMS или TIPS), простые эфиры гликолей, такие как производные этиленгликоля и пропиленгликоля, и простые аллиловые эфиры.

В контексте настоящего изобретения терапевтический препарат, который «предотвращает» или «снижает риск развития» заболевания, нарушения или состояния, относится к соединению, которое в статистической выборке снижает частоту возникновения заболевания, нарушения или состояния в образце, подвергнутом лечению, по сравнению с необработанным контрольным образцом, или задерживает начало или уменьшает тяжесть одного или более симптомов нарушения или состояния по сравнению с контрольным образцом, не подвергнутом лечению.

Термин «лечение» включает профилактическое и/или терапевтическое лечение. Термин «профилактическое или терапевтическое» лечение известен в данной области техники и включает введение

субъекту одной или более рассматриваемых композиций. Если ее вводят до клинических проявлений нежелательного состояния (например, заболевания или другого нежелательного состояния субъекта-животного), то лечение является профилактическим (т. е. оно защищает субъекта от развития нежелательного состояния), тогда как если ее вводят после проявления нежелательного состояния, лечение является терапевтическим (т.е. оно предназначено для уменьшения, облегчения или стабилизации существующего нежелательного состояния или его побочных эффектов).

Фразы «совместное введение» и «введение совместно» относятся к любой форме введения двух или более различных терапевтических соединений, так что второе соединение вводят в то время, когда ранее введенное терапевтическое соединение все еще эффективно в организме (например, два соединения одновременно эффективны у пациента, что может включать синергетическое действие двух соединений). Например, различные терапевтические соединения можно вводить либо в одном и том же составе, либо в виде отдельного состава, либо одновременно, либо последовательно. Согласно определенным вариантам осуществления различные терапевтические соединения можно вводить в течение одного часа, 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 72 часов или недели между ними. Таким образом, индивидуум, получающий такое лечение, может получить пользу от комбинированного эффекта различных терапевтических соединений.

Предполагается, что термин «пролекарство» включает соединения, которые в физиологических условиях превращаются в терапевтически активные средства согласно настоящему изобретению. Обычный способ получения пролекарства предусматривает включение одного или более выбранных фрагментов, которые гидролизуются в физиологических условиях с выявлением желаемой молекулы. Согласно другим вариантам осуществления пролекарство преобразуется ферментативной активностью субъекта-животного. Например, предпочтительными пролекарствами согласно настоящему изобретению являются сложные эфиры или карбонаты (например, сложные эфиры или карбонаты спиртов или карбоновых кислот). Согласно определенным вариантам осуществления некоторые или все соединения согласно настоящему изобретению в составе, представленном выше, могут быть заменены соответствующим подходящим пролекарством, например, где гидроксил в исходном соединении представлен в виде сложного эфира, или карбонат или карбоновая кислота, присутствующие в исходном соединении, представлены в виде сложного эфира.

В контексте настоящего изобретения «низкомолекулярный» относится к небольшим органическим или неорганическим молекулам с молекулярной массой менее приблизительно 3000 дальтон. Обычно небольшие молекулы, полезные согласно настоящему изобретению, имеют молекулярную массу менее 3000 дальтон (Да). Небольшие молекулы могут составлять, например, от по меньшей мере приблизительно 100 до приблизительно 3000 Да (например, от приблизительно 100 до приблизительно 3000 Да, от приблизительно 100 до приблизительно 2500 Да, от приблизительно 100 до приблизительно 2000 Да, от приблизительно 100 до приблизительно 1750 Да, от приблизительно 100 до приблизительно 1500 Да, от приблизительно 100 до приблизительно 1250 Да, от приблизительно 100 до приблизительно 1000 Да, от приблизительно 100 до приблизительно 750 Да, от приблизительно 100 до приблизительно 500 Да, от приблизительно 200 до приблизительно 1500, от приблизительно 500 до приблизительно 1000, от приблизительно 300 до приблизительно 1000 Да или от приблизительно 100 до приблизительно 250 Да).

Согласно некоторым вариантам осуществления «низкомолекулярный» относится к органическому, неорганическому или металлоорганическому соединению, обычно имеющему молекулярную массу менее

приблизительно 1000. Согласно некоторым вариантам осуществления небольшая молекула представляет собой органическое соединение с размером порядка 1 нм. Согласно некоторым вариантам осуществления низкомолекулярные лекарственные средства согласно настоящему изобретению включают олигопептиды и другие биомолекулы с молекулярной массой менее приблизительно 1000.

«Эффективное количество» представляет собой количество, достаточное для достижения полезных или желаемых результатов. Например, терапевтическое количество представляет собой такое количество, при котором достигается желаемый терапевтический эффект. Это количество может быть таким же или отличным от профилактически эффективного количества, которое является количеством, необходимым для предотвращения начала заболевания или симптомов заболевания. Эффективное количество можно вводить за один или более приемов, применений или доз. Терапевтически эффективное количество композиции зависит от выбранной композиции. Композиции можно вводить от одного или более раз в день до одного или более раз в неделю, включая один раз через день. Специалисту в данной области техники понятно, что на дозировку и сроки, необходимые для эффективного лечения субъекта, могут влиять определенные факторы, включая без ограничения тяжесть заболевания или нарушения, предыдущее лечение, общее состояние здоровья и/или возраст субъекта и другие присутствующие заболевания. Более того, лечение субъекта терапевтически эффективным количеством композиций, описанных в настоящем документе, может включать однократное лечение или серию лечений.

Соединения согласно настоящему изобретению

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способам отбора и лечения субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, предусматривающим стадию:

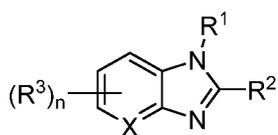
- a. отбора субъекта, если уровень в моче одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, у субъекта выше предварительно определенного порогового значения, и
- b. введения отобранному субъекту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор TRPC5 или ингибитор кальциневрина и фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, предусматривающему стадию

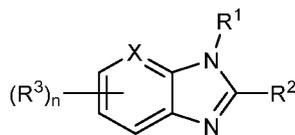
- введения субъекту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор TRPC5 или ингибитор кальциневрина и фармацевтически приемлемый носитель,
- только если у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой низкомолекулярный ингибитор TRPC5. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой:

- a. соединение Формулы (I) или Формулы (II):



(I) или



(II), или фармацевтически приемлемую соль

любого из вышеуказанных, где:

X представляет собой CH, C(R³) или N,

R¹ выбран из группы, состоящей из H, алкила, циклоалкила, гетероциклоалкила, алкенила, арила, гетероарила, алкиленарила, алкиленгетероарила, -CH₂(O)N(R)-гетероарила, -CH₂(O)N(R)-алкила, алкилен-N(алкила)₂, гетероциклоалкила, алкилен-O-алкила, алкилен-O-арила, алкилен-N(R)-C(O)-арила, алкилен-N(R)-C(O)-алкила, алкилен-C(O)-N(R)-алкила, алкилен-C(O)-N(R)-арила, алкилен-C(O)-циклоалкила и алкилен-C(O)-N(R)-гетероарила,

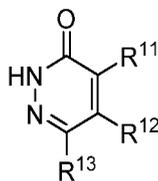
R² выбран из группы, состоящей из H, NH₂, алкила, циклоалкила, арила, гетероарила, алкиленарила, алкилен-N(алкила)₂, алкиленгетероциклоалкила, алкиленциклоалкила, -N(R)-алкила, -N(R)-арила, -N(R)-алкиленарила, -N(R)-циклоалкила, -N(R)-гетероциклоалкила, -O-арила, алкилен-O-арила, гетероциклоалкила, -N=C(R)-арила, -N(R)-алкиленгетероарила, -N(R)-алкилен-OH, -S-алкилен-C(O)N(R)-арила, -S-алкилен-C(O)N(R)-гетероарила, алкилен-C(O)-гетероциклоалкила, алкилен-N(R)-алкила, алкилен-N(R)-арила и -S-алкила,

R³ независимо выбран из алкила, галогена, -CN, -OMe, -OH, -NO₂, -NH₂, -N(Me)₂, -CF₃, -OCF₃, -CHF₂, -OCHF₂ и -O-алкилен-OH,

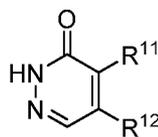
R представляет собой H или Me, и

n представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4,

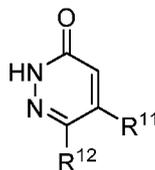
b. соединение Формулы (III), (IV) или (V):



(III),



(IV) или



(V), или таутомер, или фармацевтически

приемлемую соль любого из вышеуказанных, где:

R¹¹ и R¹³ независимо выбраны из группы, состоящей из H, алкила, алкенила, алкинила, арила, гетероциклила, гетероарила, галогена, -OH, -CN, -циклоалкила, -O-алкила, -O-циклоалкила, -O-арила, -арил-O-арил -CF₃, -C(H)F₂, алкилен-CF₃, алкилен-C(H)F₂, -SO₂-алкила и -O-алкилен-O-алкила, -гетероциклил-L-R⁴ и -гетероарил-L-R⁴,

R¹² представляет собой -гетероциклил-L-R¹⁴,

R¹⁴ отсутствует или выбран из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, арила, алкиленарила, алкиленгетероарила, гетероарила, гетероциклила, -C(O)N(R¹⁵)₂ и CF₃,

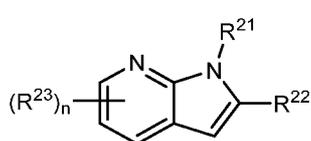
R¹⁵ независимо представляет собой H или алкил,

R¹⁶ выбран из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, арила, гетероциклила, гетероарила, алкиленарила, -C(O)N(R¹⁵)₂ и CF₃,

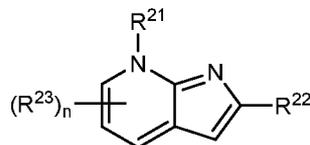
L отсутствует или выбран из группы, состоящей из метилена, -C(O)-, -SO₂-, -CH₂N(Me)-, -N(R¹⁵)(R¹⁶)-, -C(R¹⁵)(R¹⁶)- и -O-R¹⁶, и

один и только один из R^{11} , R^{12} и R^{13} представляет собой –гетероцикл- $L-R^{14}$ или гетероарил- $L-R^{14}$,

с. соединение Формулы (VI) или (VII):



(VI) или



(VII) или их фармацевтически

приемлемую соль, где:

R^{21} выбран из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, алкиленарила, алкиленгетероарила, алкилен- O -арила, алкилен- N (алкила) $_2$, алкиленгетероциклоалкила, алкиленциклоалкила, - N (алкила) $_2$ и - $C(O)$ -арила,

R^{22} выбран из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, алкилен- N (алкила) $_2$, алкиленгетероциклоалкила, алкиленциклоалкила, алкиленгетероциклоалкила и алкилен- OR' ,

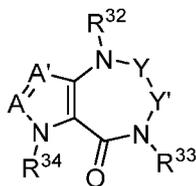
R^{23} независимо выбран из алкила, галогена, OMe , OH , $N(Me)_2$, CF_3 или OCF_3 , - O - и алкилен- OH ,

R представляет собой H или Me ,

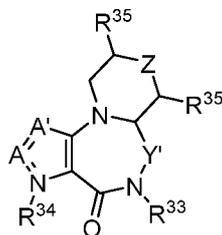
R' представляет собой H , метил, этил или изопропил, и

n представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4, или

d. соединение Формулы (VIII) или (IX):



(VIII) или



(IX), или фармацевтически приемлемую соль любого

из вышеуказанных, где:

A и A' независимо выбраны из CR^a и N ,

R^a представляет собой $L-R^{31}$,

L отсутствует или представляет собой CH_2 , O , SO_2 или NR^{32} ,

R^{31} выбран из необязательно замещенного алкила, необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила,

каждый R^{32} независимо представляет собой H или алкил,

R^{33} выбран из необязательно замещенного алкила, необязательно замещенного алкилен- OR^{32} , необязательно замещенного циклоалкилен- OR^{32} , необязательно замещенного алкилен- $N(R^{37})_2$, необязательно замещенного циклоалкилен- $N(R^{37})_2$, необязательно замещенного алкилен- $C(O)N(R^{32})_2$, необязательно замещенного циклоалкилен- $C(O)N(R^{32})_2$, необязательно замещенного алкилен- $S(O)_2N(R^{32})_2$ и необязательно замещенного циклоалкилен- $S(O)_2N(R^{32})_2$,

R^{34} выбран из алкила, необязательно замещенного алкиленарила и необязательно замещенного алкиленгетероарила,

каждый R^{35} независимо выбран из H, $N(R^{32})_2$, OR^{32} ,

каждый R^{37} независимо выбран из H, алкила, (алкил)C(O)-, (арил)C(O)-, (алкил)S(O)₂- и (арил)S(O)₂-,

Y представляет собой -C(O)-, CH₂, CHR³⁶, C(R³⁶)₂,

каждый R^{36} независимо выбран из H, алкила и необязательно замещенного алкилен-OH,

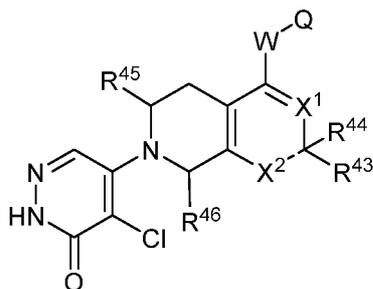
Y' представляет собой -C(O)-, CH₂, CHR^{33'}, C(R^{33'})₂, или Y' вместе с R^{33} образуют 5- или 6-ти членное кольцо,

каждый $R^{33'}$ независимо выбран из необязательно замещенного алкила, необязательно замещенного алкилен-OR³², необязательно замещенного циклоалкилен-OR³², необязательно замещенного алкилен-N(R³⁷)₂, необязательно замещенного циклоалкилен-N(R³⁷)₂, необязательно замещенного алкилен-C(O)N(R³²)₂, необязательно замещенного циклоалкилен-C(O)N(R³²)₂, необязательно замещенного алкилен-S(O)₂N(R³²)₂ и необязательно замещенного циклоалкилен-S(O)₂N(R³²)₂, и

Z отсутствует или представляет собой CH₂, CHR³⁵, O, -NR³²- или -SO₂-,

при условии, что Y и Y' не представляют собой -C(O)- одновременно.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой соединение структурной формулы X:



(X) или его фармацевтически приемлемую соль, где:

«---» представляет собой простую связь или двойную связь,

X¹ представляет собой CH или N,

когда «---» представляет собой двойную связь, X² представляет собой CH или N,

когда «---» представляет собой простую связь, X² представляет собой N(CH₃),

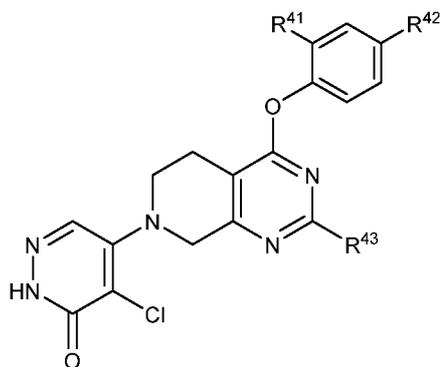
когда X¹ представляет собой CH, X² представляет собой N или N(CH₃),

W представляет собой -O-, -N(CH₃)-, -N(CH₂CH₂OH)-, циклопропан-1,1-диил или -CH(CH₃)-

Q представляет собой 2-трифторметил-4-фторфенил, 2-дифторметил-4-фторфенил, 2-трифторметилфенил, 2-метил-4-фторфенил, 2-хлор-4-фторфенил, 2-хлорфенил, 1-(бензил)-4-метилпиперидин-3-ил, 4-трифторметилпиридин-3-ил, 2-трифторметил-6-фторфенил, 2-трифторметил-3-цианофенил, 2-этил-3-фторфенил, 2-хлор-3-цианофенил, 2-трифторметил-5-фторфенил или 2-дифторметилфенил,

R⁴³ представляет собой водород, -CH₂OH, -CH(OH)-CH₂OH, -NH₂, -CH(OH)CH₃, -OCH₃ или -NH-(CH₂)₂OH, и когда «---» представляет собой двойную связь, R⁴⁴ отсутствует, и когда «---» представляет собой простую связь, R⁴³ и R⁴⁴ вместе образуют =O, и каждый из R⁴⁵ и R⁴⁶ независимо представляет собой водород или -CH₃.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой соединение Формулы XI:



(XI) или его фармацевтически приемлемую соль, где:

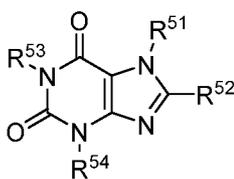
R⁴¹ представляет собой хлор, -CF₃, -CHF₂ или -CH₃,

R⁴² представляет собой водород или фтор, и

R⁴³ представляет собой водород, -NH₂, -CH₂OH или CH(OH)-CH₂OH.

Соединения Формул I-XI могут быть синтезированы с использованием способов, известных специалистам в данной области техники, например, способов, раскрытых в WO 2019/055966, которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой соединение Формулы (H-I):



(H-I) или его фармацевтически приемлемую соль, где:

R⁵¹ представляет собой C₁-C₆ алкил, C₂-C₆ алкенил или C₂-C₆ алкинил, каждый из которых необязательно замещен 1-4 R⁵⁵,

R⁵² представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, C₂-C₆ алкенил, C₂-C₆ алкинил, C₁-C₆ галоалкил, гало, C₁-C₆ галоалкокси, гидроксил, C₁-C₆ алкокси, C₃-C₇ циклоалкилокси, C₆-C₁₀ арил, C₆-C₁₀ арилокси, C₇-C₁₆ арилалкокси, amino, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, -S-, -S-C₁-C₆ алкил, -S(O)-, S(O)₂-, гетероциклоалкил, гетероарил, гетероарилокси, сульфонамидил, амидо, мочевино, сульфонилмочевину, ацил, нитро, циано,

где каждый из C₁-C₆ алкила, C₁-C₆ гетероалкила, C₂-C₆ алкенила, C₂-C₆ алкинила, C₁-C₆ галоалкила, C₁-C₆ галоалкокси, гидроксила, C₁-C₆ алкокси, C₃-C₇ циклоалкилокси, C₆-C₁₀ арила, C₆-C₁₀ арилокси, C₇-C₁₆ арилалкокси, amino, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, -S-, -S-C₁-C₆ алкила, -S(O)-, -S(O)₂-, гетероциклоалкила, гетероарила, гетероарилокси, сульфонамидила, амидо, мочевины, сульфонилмочевины, ацила необязательно замещен 1-3 R⁵⁶,

R⁵³ представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, C₃-C₇ циклоалкил, C₂-C₆ алкенил, C₂-C₆ алкинил, C₂-C₆ гидроксилалкил или C₁-C₆ алкокси, каждый из которых необязательно замещен 1-4 R⁵⁷,

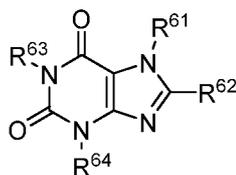
R⁵⁴ представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, C₂-C₆ алкенил или C₂-C₆ алкинил, каждый из которых необязательно замещен 1-4 R⁵⁸,

R^{55} , R^{56} , R^{57} и R^{58} каждый независимо представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_1 - C_6 гетероалкил, гало, C_1 - C_6 галоалкил, C_1 - C_6 галоалкокси, гидроксил, C_1 - C_6 алкокси, amino, C_1 - C_6 алкиламино, C_2 - C_{12} диалкиламино, циано, нитро, амидо, C_1 - C_6 алкиламидо, C_2 - C_{12} диалкиламидо, -S-, -S(O)₂-, -C(O)O-, -C(O)-, -C(O)O- C_1 - C_6 алкил, C_3 - C_7 циклоалкил, C_6 - C_{10} арил, гетероциклоалкил или гетероарил,

где каждый из C_1 - C_6 алкила, C_1 - C_6 гетероалкила, C_1 - C_6 галоалкила, C_1 - C_6 галоалкокси, гидроксила, C_1 - C_6 алкокси, amino, C_1 - C_6 алкиламино, C_2 - C_{12} диалкиламино, амидо, C_1 - C_6 алкиламидо, C_2 - C_{12} диалкиламидо, -S-, -S(O)₂-, -C(O)O-, -C(O)-, -C(O)O- C_1 - C_6 алкила, C_3 - C_7 циклоалкила, C_6 - C_{10} арила, гетероциклоалкила или гетероарила необязательно замещен 1-3 R^{59} , и

каждый R^{59} независимо представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_1 - C_6 гетероалкил, C_1 - C_6 галоалкил, C_1 - C_6 галоалкокси, гетероциклоалкил, C_6 - C_{10} арил, гетероарил, C_4 - C_{10} циклоалкилалкил, гетероциклоалкил- C_1 - C_6 алкил, C_7 - C_{16} арилалкил, гетероарил- C_1 - C_6 алкил, гало, гидроксил, C_1 - C_6 алкокси, C_6 - C_{10} арилокси, C_7 - C_{16} арилалкокси, C_2 - C_8 алкоксиалкоксил, amino, C_1 - C_6 алкиламино, C_2 - C_{12} диалкиламино, C_1 - C_6 алкил-amino- C_1 - C_6 алкил, C_1 - C_6 алкил-amino- C_2 - C_{12} диалкил, -S-, -S- C_1 - C_6 алкил, -S(O)₂- C_1 - C_6 алкил, сульфонамидил, амидо, мочевино, сульфонилмочевино, ацил, -C(O)- C_6 - C_{10} арил, -NH-C(O)- C_6 - C_{10} арил, -C(O)NH- C_6 - C_{10} арил, -C(O)OH, -C(O)O- C_1 - C_6 алкил, -C(O)- C_1 - C_6 алкил, ацил, нитро или циано.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой соединение Формулы H-Ia:



(H-Ia) или его фармацевтически приемлемую соль, где:

R^{61} представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_2 - C_6 алкенил или C_2 - C_6 алкинил, каждый из которых необязательно замещен 1-4 R^{65} ,

R^{62} представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_1 - C_6 гетероалкил, C_2 - C_6 алкенил, C_2 - C_6 алкинил, C_1 - C_6 галоалкил, гало, C_1 - C_6 галоалкокси, гидроксил, C_1 - C_6 алкокси, C_3 - C_7 циклоалкилокси, C_6 - C_{10} арил, C_6 - C_{10} арилокси, C_7 - C_{16} арилалкокси, amino, C_1 - C_6 алкиламино, C_2 - C_{12} диалкиламино, -S-, -S- C_1 - C_6 алкил, -S(O)-, S(O)₂-, гетероциклоалкил, гетероарил, гетероарилокси, сульфонамидил, амидо, мочевино, сульфонилмочевино, ацил, нитро, циано,

где каждый из C_1 - C_6 алкила, C_1 - C_6 гетероалкила, C_2 - C_6 алкенила, C_2 - C_6 алкинила, C_1 - C_6 галоалкила, C_1 - C_6 галоалкокси, гидроксила, C_1 - C_6 алкокси, C_3 - C_7 циклоалкилокси, C_6 - C_{10} арила, C_6 - C_{10} арилокси, C_7 - C_{16} арилалкокси, amino, C_1 - C_6 алкиламино, C_2 - C_{12} диалкиламино, -S-, -S- C_1 - C_6 алкила, -S(O)-, -S(O)₂-, гетероциклоалкила, гетероарила, гетероарилокси, сульфонамидила, амидо, мочевины, сульфонилмочевины, ацила необязательно замещен 1-3 R^{66} ,

R^{63} представляет собой C_2 - C_6 гидроксилалкил или C_1 - C_6 гетероалкил,

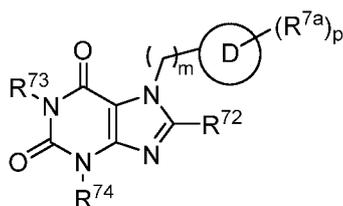
R^{64} представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_1 - C_6 гетероалкил, C_2 - C_6 алкенил или C_2 - C_6 алкинил, каждый из которых необязательно замещен 1-4 R^{68} ,

R^{65} , R^{66} и R^{68} каждый независимо представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_1 - C_6 гетероалкил, гало, C_1 - C_6 галоалкил, C_1 - C_6 галоалкокси, гидроксил, C_1 - C_6 алкокси, amino, C_1 - C_6 алкиламино,

C₂-C₁₂ диалкиламино, циано, нитро, амидо, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, -S-, -S(O)₂-, -C(O)O-, -C(O)-, -C(O)O-C₁-C₆ алкил, C₃-C₇ циклоалкил, C₆-C₁₀ арил, гетероциклоалкил или гетероарил, каждый из C₁-C₆ алкила, C₁-C₆ гетероалкила, C₁-C₆ галоалкила, C₁-C₆ галоалкокси, гидроксила, C₁-C₆ алкокси, амино, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, амидо, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, -S-, -S(O)₂-, -C(O)O-, -C(O)-, -C(O)O-C₁-C₆ алкила, C₃-C₇ циклоалкила, C₆-C₁₀ арила, гетероциклоалкила или гетероарила необязательно замещен 1-3 R⁶⁹, и

каждый R⁶⁹ независимо представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, C₁-C₆ галоалкил, C₁-C₆ галоалкокси, гетероциклоалкил, C₆-C₁₀ арил, гетероарил, C₄-C₁₀ циклоалкилалкил, гетероциклоалкил-C₁-C₆ алкил, C₇-C₁₆ арилалкил, гетероарил-C₁-C₆ алкил, гало, гидроксил, C₁-C₆ алкокси, C₆-C₁₀ арилокси, C₇-C₁₆ арилалкокси, C₂-C₈ алкоксиалкоксил, амино, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, C₁-C₆ алкил-амино-C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ алкил-амино-C₂-C₁₂ диалкил, -S-, -S-C₁-C₆ алкил, -S(O)₂-C₁-C₆ алкил, сульфонаридил, амидо, мочевины, сульфонилмочевину, ацил, -C(O)-C₆-C₁₀ арил, -NHC(O)-C₆-C₁₀ арил, -C(O)NH-C₆-C₁₀ арил, -C(O)OH, -C(O)O-C₁-C₆ алкил, -C(O)-C₁-C₆ алкил, ацил, нитро или циано.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой соединение Формулы Н-II:



(H-II) или его фармацевтически приемлемую соль, где:

кольцо D представляет собой фенил, пиридил, тиазолил, пиримидинил или оксазолил,

R⁷² представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, C₂-C₆ алкенил, C₂-C₆ алкинил, C₁-C₆ галоалкил, гало, C₁-C₆ галоалкокси, гидроксил, C₁-C₆ алкокси, C₃-C₇ циклоалкилокси, C₆-C₁₀ арил, C₆-C₁₀ арилокси, C₇-C₁₆ арилалкокси, амино, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, -S-, -S-C₁-C₆ алкил, -S(O)-, S(O)₂-, гетероциклоалкил, гетероарил, гетероарилокси, сульфонаридил, амидо, мочевины, сульфонилмочевину, ацил, нитро, циано,

где каждый из C₁-C₆ алкила, C₁-C₆ гетероалкила, C₂-C₆ алкенила, C₂-C₆ алкинила, C₁-C₆ галоалкила, C₁-C₆ галоалкокси, гидроксила, C₁-C₆ алкокси, C₃-C₇ циклоалкилокси, C₆-C₁₀ арила, C₆-C₁₀ арилокси, C₇-C₁₆ арилалкокси, амино, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, -S-, -S-C₁-C₆ алкила, -S(O)-, -S(O)₂-, гетероциклоалкила, гетероарила, гетероарилокси, сульфонаридила, амидо, мочевины, сульфонилмочевины, ацила необязательно замещен 1-3 R⁷⁶,

R⁷³ представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, C₂-C₆ алкенил, C₂-C₆ алкинил, C₂-C₆ гидроксилалкил или C₁-C₆ алкокси, каждый из которых необязательно замещен 1-4 R⁷⁷,

R⁷⁴ представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, C₂-C₆ алкенил или C₂-C₆ алкинил, каждый из которых необязательно замещен 1-4 R⁷⁸,

R⁷⁶, R⁷⁷ и R⁷⁸ каждый независимо представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, гало, C₁-C₆ галоалкил, C₁-C₆ галоалкокси, гидроксил, C₁-C₆ алкокси, амино, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, циано,

нитро, амидо, C₁-C₆ алкиламидо, C₂-C₁₂ диалкиламидо, -S-, -S(O)₂-, -C(O)O-, -C(O)-, -C(O)O-C₁-C₆ алкил, C₃-C₇ циклоалкил, C₆-C₁₀ арил, гетероциклоалкил или гетероарил,

где каждый из C₁-C₆ алкила, C₁-C₆ гетероалкила, C₁-C₆ галоалкила, C₁-C₆ галоалкокси, гидроксила, C₁-C₆ алкокси, amino, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, амидо, C₁-C₆ алкиламидо, C₂-C₁₂ диалкиламидо, -S-, -S(O)₂-, -C(O)O-, -C(O)-, -C(O)O-C₁-C₆ алкила, C₃-C₇ циклоалкила, C₆-C₁₀ арила, гетероциклоалкила или гетероарила необязательно замещен 1-3 R⁷⁹,

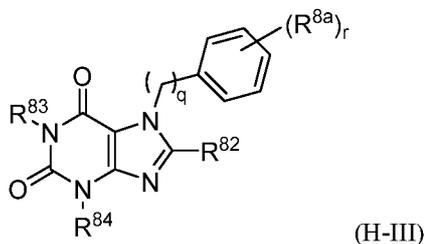
каждый R⁷⁹ независимо представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ гетероалкил, C₁-C₆ галоалкил, C₁-C₆ галоалкокси, гетероциклоалкил, C₆-C₁₀ арил, гетероарил, C₄-C₁₀ циклоалкилалкил, гетероциклоалкил C₁-C₆ алкил, C₇-C₁₆ арилалкил, гетероарил-C₁-C₆ алкил, гало, гидроксил, C₁-C₆ алкокси, C₆-C₁₀ арилокси, C₇-C₁₆ арилалкокси, C₂-C₈ алкоксиалкоксил, amino, C₁-C₆ алкиламино, C₂-C₁₂ диалкиламино, C₁-C₆ алкил-амино-C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ алкил-амино-C₂-C₁₂ диалкил, -S-, -S-C₁-C₆ алкил, -S(O)₂-C₁-C₆ алкил, сульфонамидил, амидо, мочевино, сульфонилмочевино, ацил, -C(O)-C₆-C₁₀ арил, -NHC(O)-C₆-C₁₀ арил, -C(O)NH-C₆-C₁₀ арил, -C(O)OH, -C(O)O-C₁-C₆ алкил, -C(O)-C₁-C₆ алкил ацил, нитро или циано,

каждый R⁷⁸ представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ галоалкил, гало,

р представляет собой 1 или 2, и

m представляет собой 1, 2 или 3.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой соединение Формулы Н-III:



или его фармацевтически приемлемую соль, где:

R⁸² представляет собой C₁-C₆ алкокси или C₆-C₁₀ арилокси, замещенный 1-3 R⁸⁶,

R⁸³ представляет собой C₁-C₆ гетероалкил или C₂-C₆ гидроксиалкил,

R⁸⁴ представляет собой C₁-C₆ алкил,

R⁸⁶ независимо представляет собой C₁-C₆ алкил, гало, C₁-C₆ галоалкил, C₁-C₆ галоалкокси или C₁-C₆ алкокси,

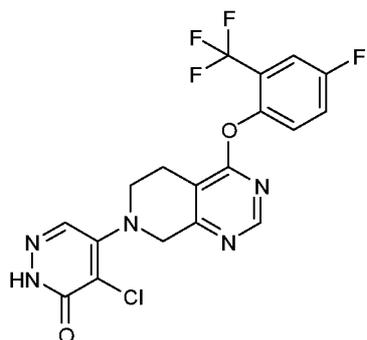
каждый R^{8a} представляет собой C₁-C₆ алкил, C₁-C₆ галоалкил, гало,

г представляет собой 1 или 2, и

q представляет собой 1, 2 или 3.

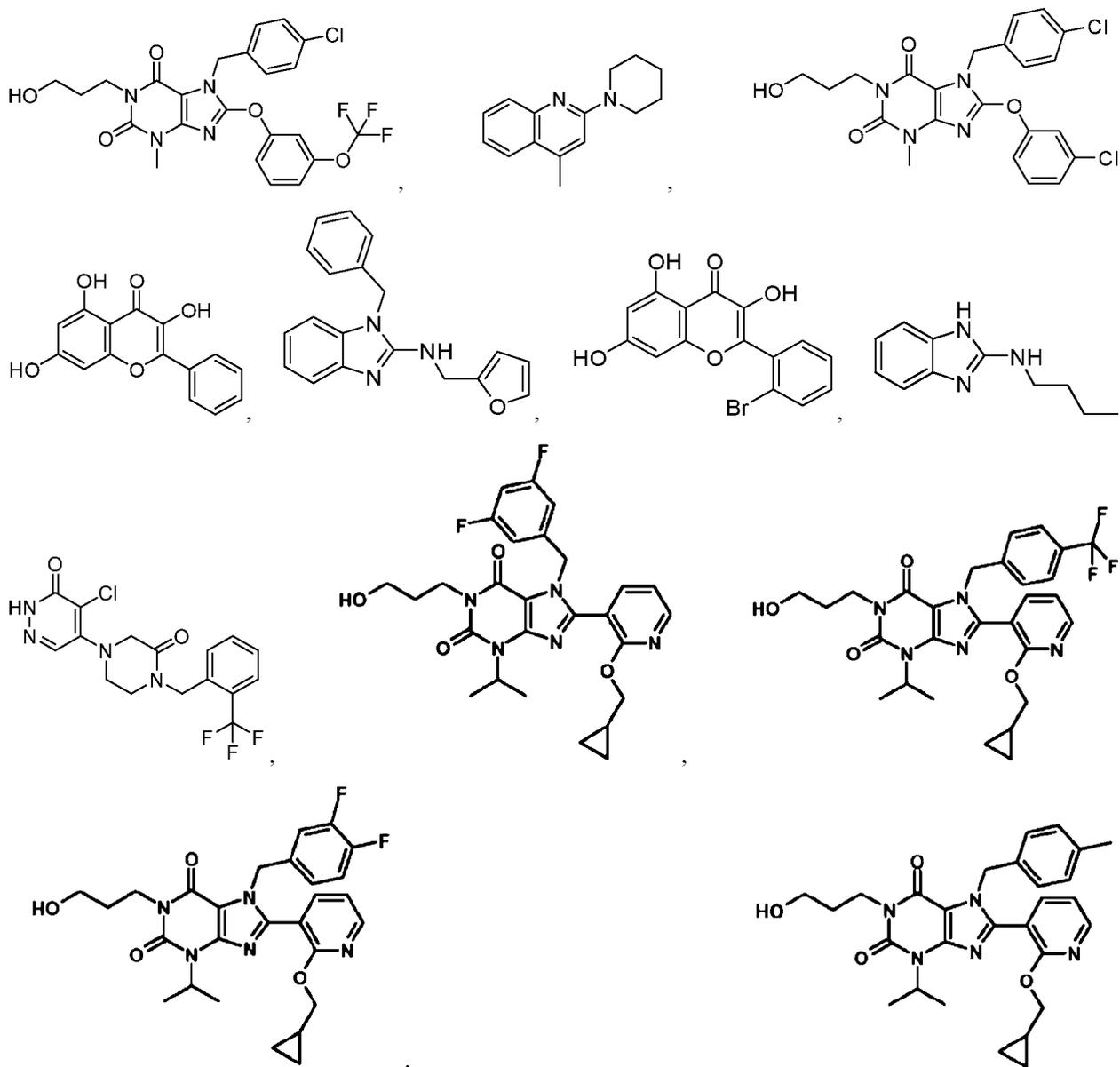
Соединения формул (H-I), (H-Ia), (H-II) и (H-III) могут быть синтезированы с использованием способов, известных специалистам в данной области техники, например, способов, раскрытых в публикации международной патентной заявки № WO 2014/143799, которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

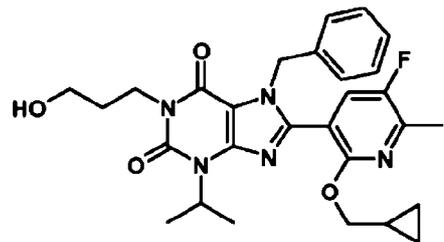
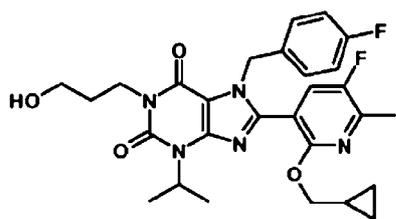
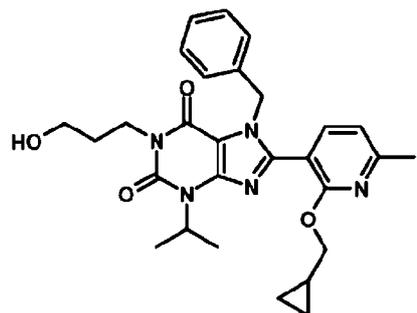
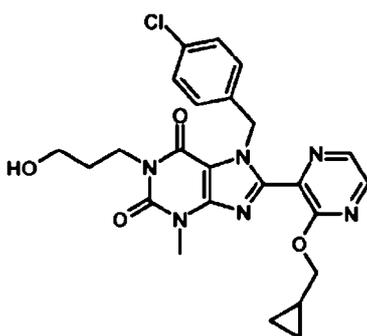
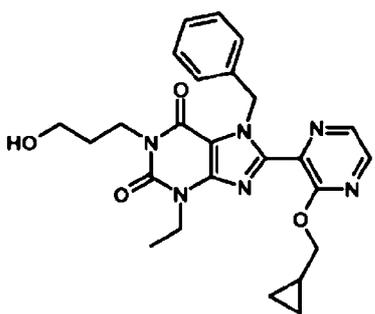
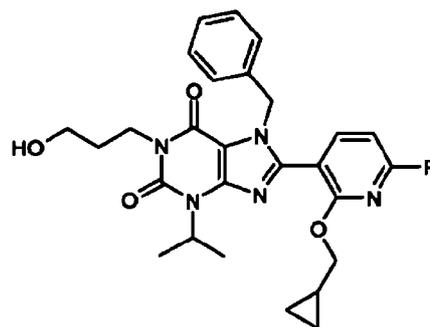
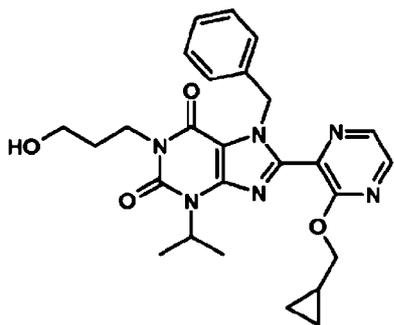
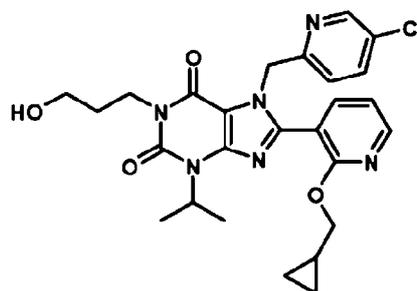
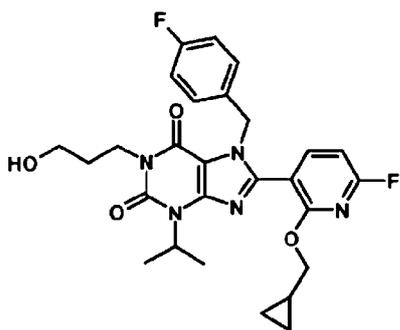
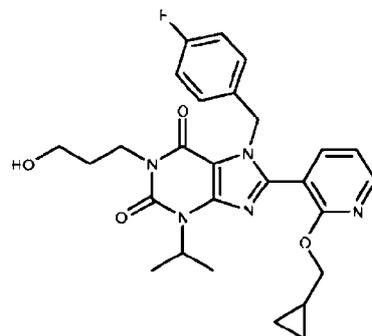
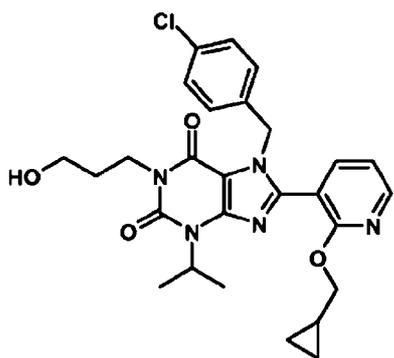
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой

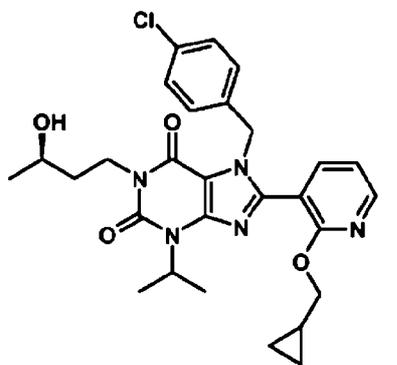
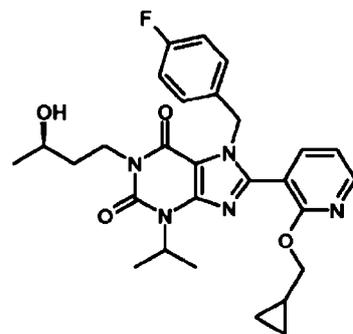
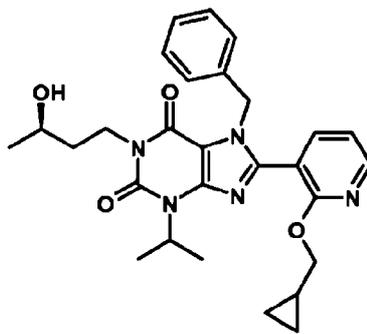
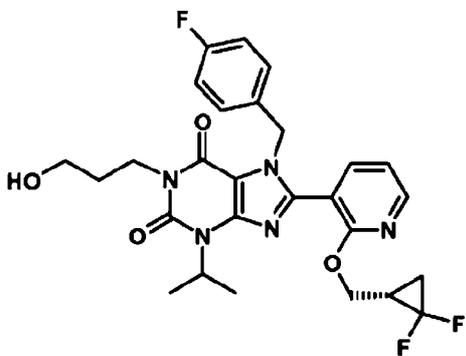
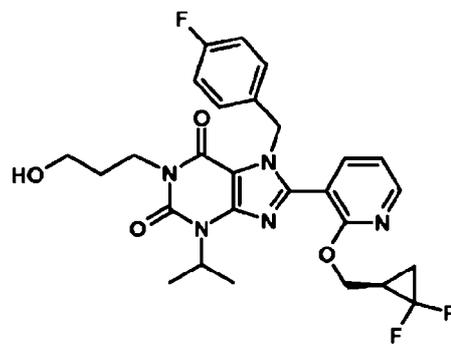
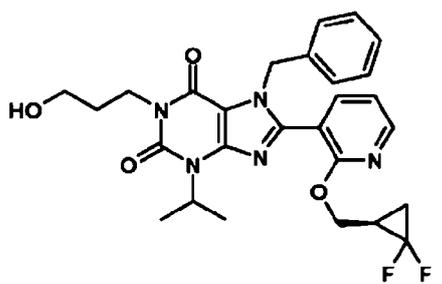
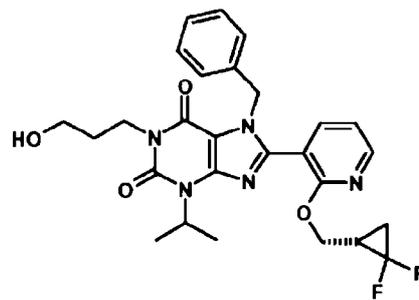
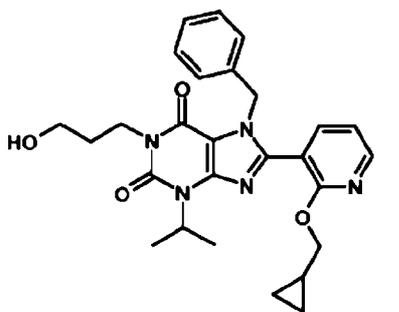
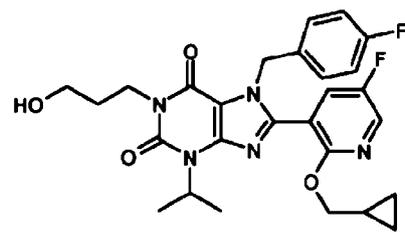
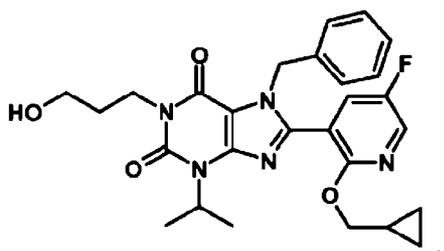


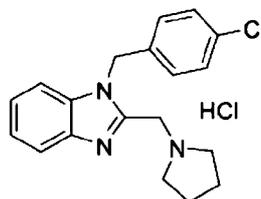
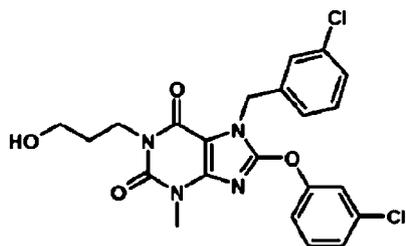
или его фармацевтически приемлемую соль.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой



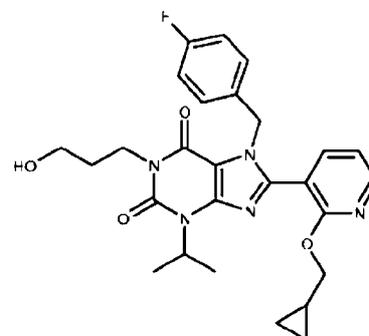
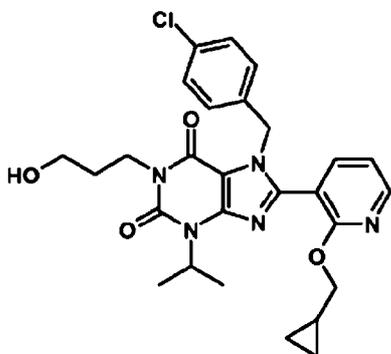
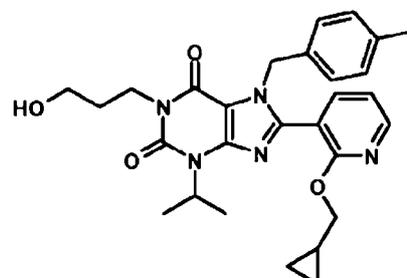
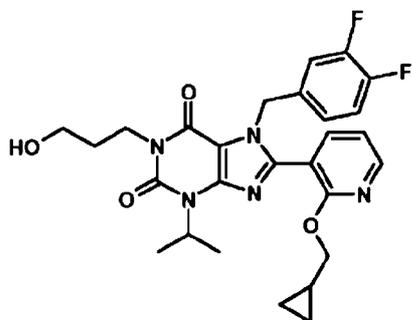
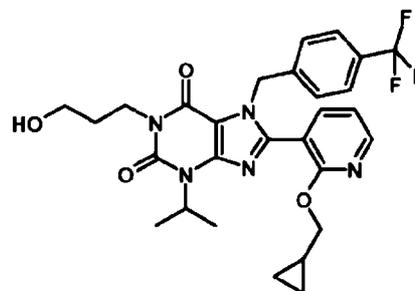
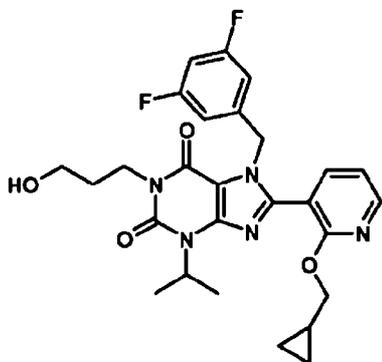


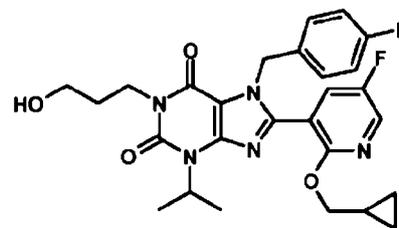
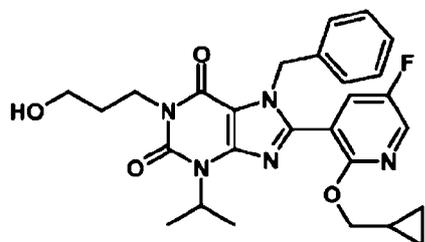
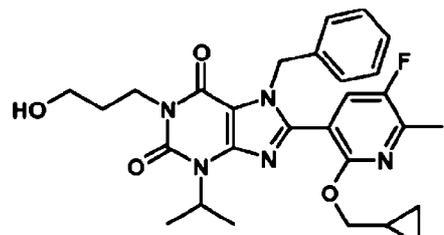
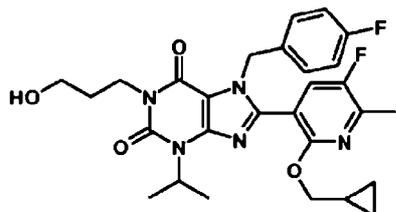
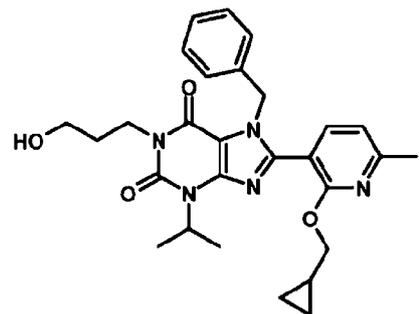
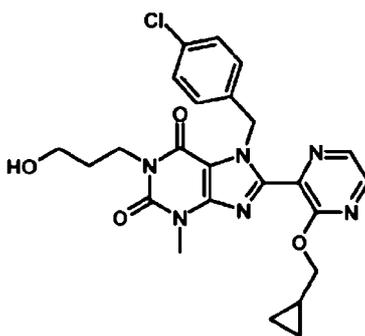
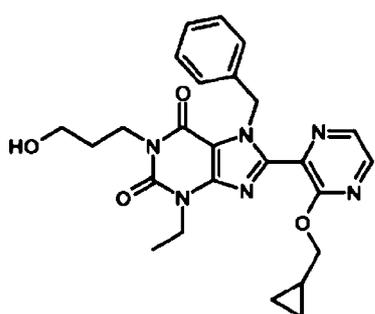
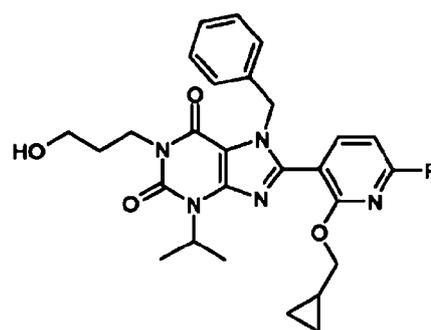
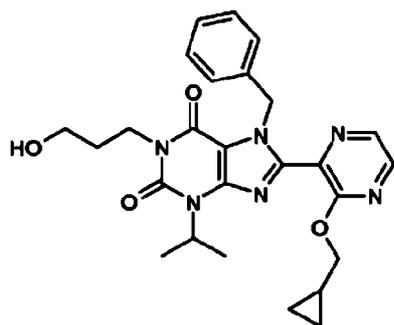
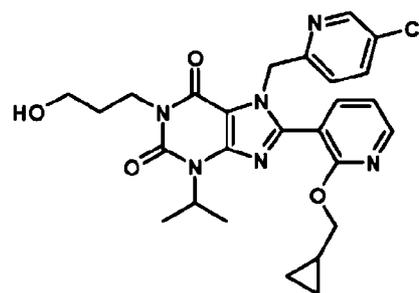
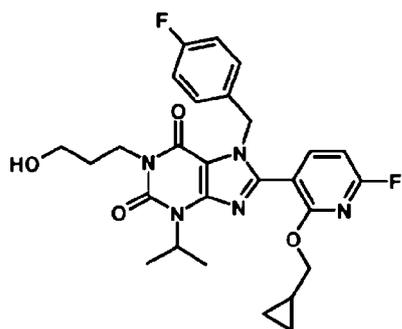


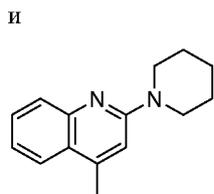
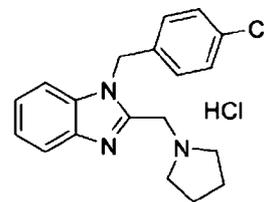
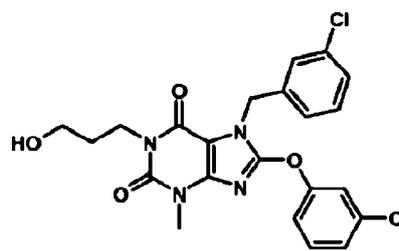
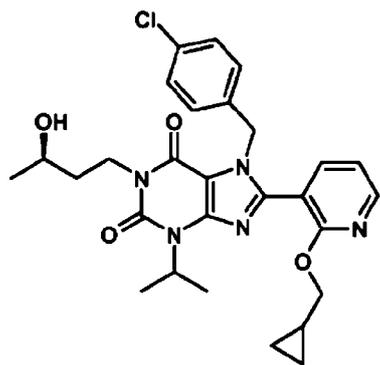
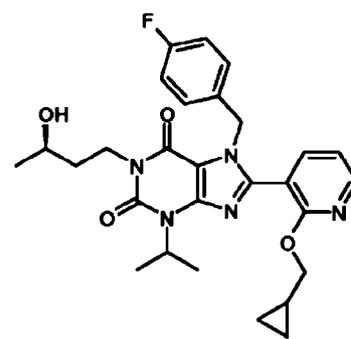
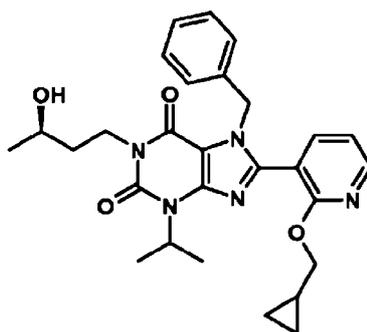
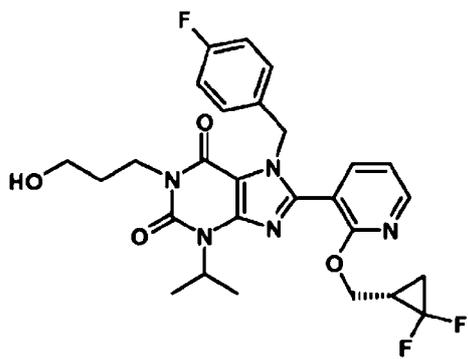
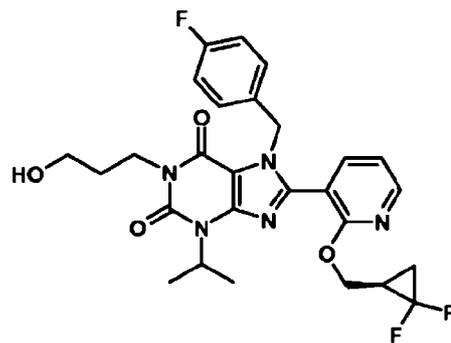
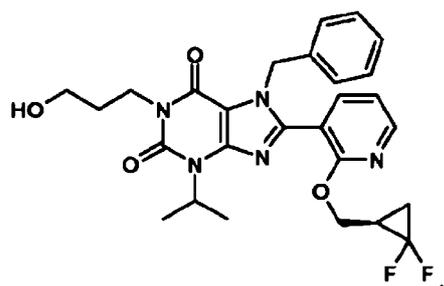
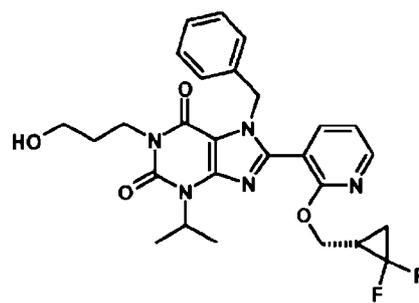
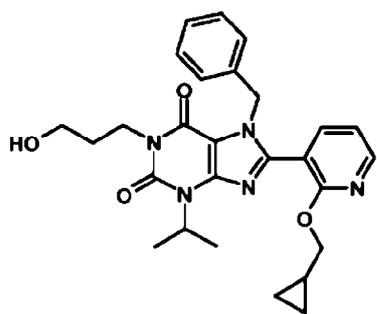


или , или их фармацевтически приемлемую соль.

Эти соединения могут быть синтезированы способами, известными специалистам в данной области техники, например, способами, раскрытыми в публикации международной патентной заявки № WO 2019/011802 (включенной посредством ссылки), в Rubaiy et al., Br. J. Pharmacol. (2019) 176:832-846 и в Miller et al., J. Biol. Chem. (2011) 286(38):33436-33446.



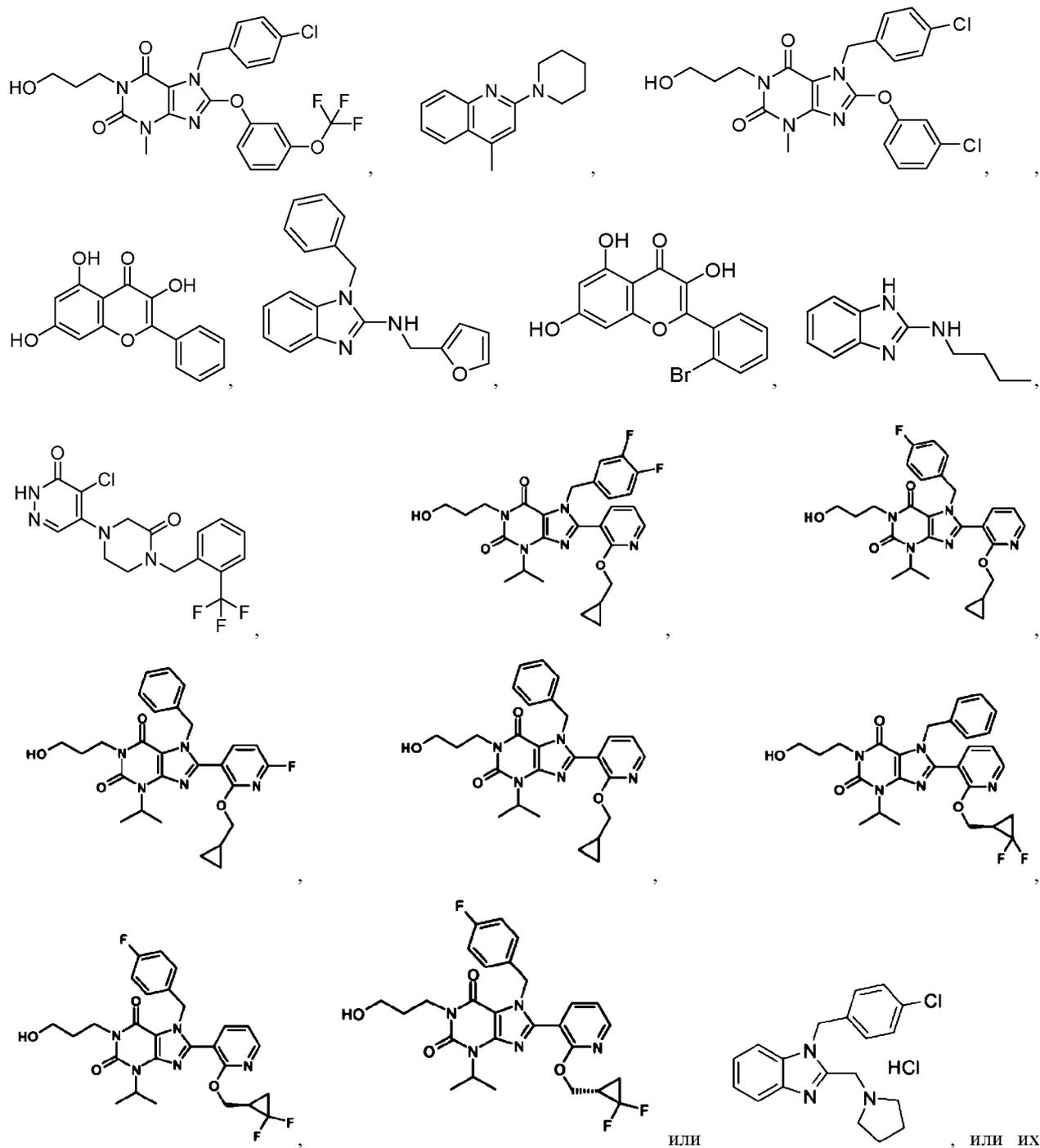




H

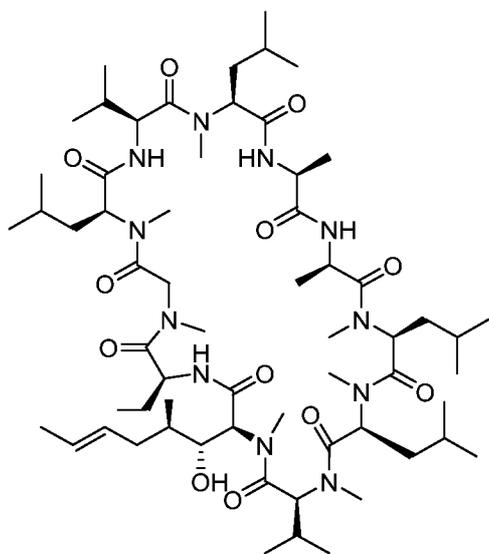
H

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TRPC5 представляет собой

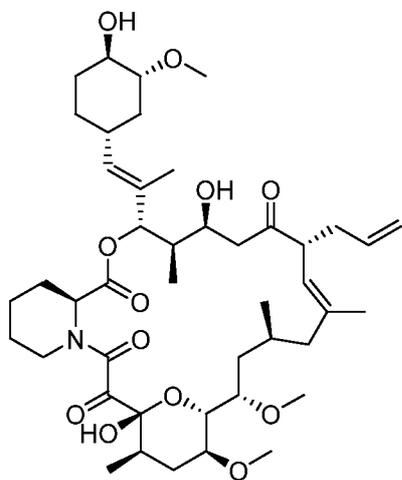


фармацевтически приемлемую соль.

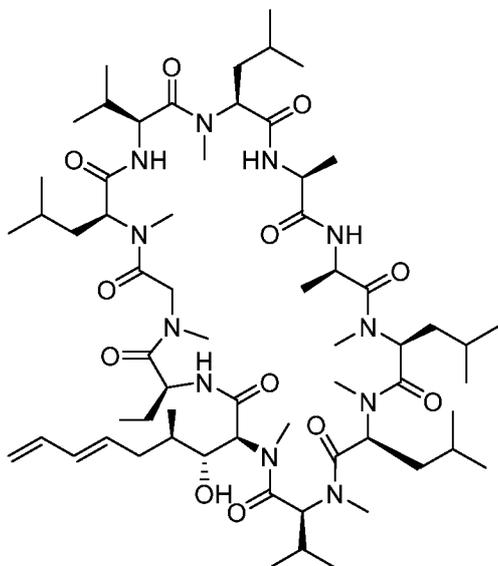
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор кальциневрина представляет собой низкомолекулярный ингибитор кальциневрина. Согласно определенным вариантам осуществления ингибитор кальциневрина представляет собой циклоспорин А, такролимус или воклоспорин, или их фармацевтически приемлемую соль. Циклоспорин А имеет следующую структуру:



Такролимус имеет следующую структуру:



Воклоспорин имеет следующую структуру:



Согласно определенным вариантам осуществления соединения согласно настоящему изобретению могут быть рацемическими. Согласно определенным вариантам осуществления соединения согласно настоящему

изобретению могут быть обогащены одним энантиомером. Например, соединение согласно настоящему изобретению может иметь более 30% ee, 40% ee, 50% ee, 60% ee, 70% ee, 80% ee, 90% ee или даже 95% или более ee.

Соединения согласно настоящему изобретению имеют более одного стереоцентра. Соответственно, соединения согласно настоящему изобретению могут быть обогащены одним или более диастереоизомерами. Например, соединение согласно настоящему изобретению может иметь более 30% de, 40% de, 50% de, 60% de, 70% de, 80% de, 90% de или даже 95% или более. Согласно определенным вариантам осуществления соединения согласно настоящему изобретению имеют по существу одну изомерную конфигурацию при одном или более стереогенных центрах и имеют множество изомерных конфигураций при остальных стереогенных центрах.

Согласно определенным вариантам осуществления энантиомерный избыток стереоцентра составляет по меньшей мере 40% ee, 50% ee, 60% ee, 70% ee, 80% ee, 90% ee, 92% ee, 94% ee, 95% ee, 96% ee, 98% ee или более ee.

В контексте настоящего изобретения простые связи, показанные без стереохимии, не указывают на стереохимию соединения.

В контексте настоящего изобретения заштрихованные или выделенные жирным шрифтом неклиновидные связи указывают на относительную, но не абсолютную стереохимическую конфигурацию (например, не различают энантиомеры данного диастереомера).

В контексте настоящего изобретения заштрихованные или выделенные жирным шрифтом клиновидные связи указывают на абсолютную стереохимическую конфигурацию.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Согласно определенным вариантам осуществления терапевтический препарат или фармацевтическая композиция соединения согласно настоящему изобретению может быть обогащена с получением преимущественно одного энантиомера соединения. Энантиомернообогащенная смесь может содержать, например, по меньшей мере 60 мольных процентов одного энантиомера или, более предпочтительно, по меньшей мере 75, 90, 95 или даже 99 мольных процентов. Согласно определенным вариантам осуществления соединение, обогащенное одним энантиомером, по существу не содержит другого энантиомера, где «по существу не содержит» означает, что рассматриваемое вещество составляет менее 10 %, или менее 5 %, или менее 4 %, или менее 3 %, или менее 2 %, или менее 1% по сравнению с количеством другого энантиомера, например, в композиции или смеси соединений. Например, если композиция или смесь соединений содержит 98 грамм первого энантиомера и 2 грамма второго энантиомера, можно сказать, что они содержат 98 мольных процентов первого энантиомера и только 2% второго энантиомера.

Согласно определенным вариантам осуществления терапевтический препарат или фармацевтическая композиция могут быть обогащены с получением преимущественно одного диастереомера соединения согласно настоящему изобретению. Диастереомернообогащенная смесь может содержать, например, по меньшей мере 60 мольных процентов одного диастереомера или более предпочтительно по меньшей мере 75, 90, 95 или даже 99 мольных процентов.

Фармацевтические композиции

Композиции и способы согласно настоящему изобретению можно применять для лечения субъекта, нуждающегося в этом. Согласно определенным вариантам осуществления субъект представляет собой млекопитающее, такое как человек, или млекопитающее, отличное от человека. При введении субъекту, такому как человек, композицию или соединение предпочтительно вводят в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, соединение согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтически приемлемые носители хорошо известны в данной области техники и включают, например, водные растворы, такие как вода или физиологически забуференный солевой раствор, или другие растворители или среды, такие как гликоли, глицерин, масла, такие как оливковое масло, или органические сложные эфиры для инъекций. Согласно предпочтительным вариантам осуществления, когда такие фармацевтические композиции предназначены для введения человеку, в частности, для инвазивных путей введения (т.е. путей, таких как инъекция или имплантация, которые обходят транспорт или диффузию через эпителиальный барьер), водный раствор является апирогенным или по существу апирогенным. Вспомогательные вещества могут быть выбраны, например, для обеспечения замедленного высвобождения агента или для селективного воздействия на одну или более клеток, тканей или органов. Фармацевтическая композиция может быть в стандартной лекарственной форме, такой как таблетка, капсула (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), гранулы, лиофилизаты для восстановления, порошок, раствор, сироп, суппозиторий, инъекция и т.п. Композиция также может присутствовать в системе трансдермальной доставки, например, в кожном пластыре. Композиция также может находиться в растворе, подходящем для местного применения, таком как глазные капли.

Фармацевтически приемлемый носитель может содержать физиологически приемлемые агенты, которые действуют, например, стабилизируя, увеличивая растворимость или увеличивая абсорбцию соединения, такого как соединение согласно настоящему изобретению. Такие физиологически приемлемые агенты включают, например, углеводы, такие как глюкоза, сахароза или декстраны, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или глутатион, хелатирующие агенты, низкомолекулярные белки или другие стабилизаторы или вспомогательные вещества. Выбор фармацевтически приемлемого носителя, в том числе физиологически приемлемого агента, зависит, например, от пути введения композиции. Препарат или фармацевтическая композиция может представлять собой самоэмульгирующуюся систему доставки лекарственного средства или самомикрoэмульгирующуюся систему доставки лекарственного средства. Фармацевтическая композиция (препарат) также может представлять собой липосому или другую полимерную матрицу, в которую может быть включено, например, соединение согласно настоящему изобретению. Липосомы, например, которые содержат фосфолипиды или другие липиды, являются нетоксичными, физиологически приемлемыми и метаболизируемыми носителями, которые относительно просто получить и ввести.

Фраза «фармацевтически приемлемый» используется в настоящем документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые, в рамках здравого медицинского суждения, подходят для использования в контакте с тканями субъекта без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соответствуя разумному соотношению польза/риск.

«Фармацевтически приемлемая соль» используется в настоящем документе для обозначения кислотно-аддитивной соли или основно-аддитивной соли, которая подходит или совместима с терапией пациентов.

В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтически приемлемая кислотно-аддитивная соль» означает любую нетоксичную органическую или неорганическую соль раскрытых соединений. Иллюстративные неорганические кислоты, которые образуют подходящие соли, включают соляную, бромистоводородную, серную и фосфорную кислоты, а также соли металлов, такие как моногидроортофосфат натрия и гидросульфат калия. Примеры органических кислот, которые образуют подходящие соли, включают моно-, ди- и трикарбоновые кислоты, такие как гликолевая, молочная, пировиноградная, малоновая, янтарная, глутаровая, фумаровая, яблочная, винная, битартаровая, лимонная, аскорбиновая, малеиновая, бензойная, фенилуксусная, коричная, салициловая и сульфосалициловая кислоты, а также сульфоновые кислоты, такие как *p*-толуолсульфоновая и метансульфоновая кислоты. Могут быть образованы либо монокислотные, либо двухкислотные соли, и такие соли могут существовать либо в гидратированной, сольватированной, либо в практически безводной форме. Как правило, кислотно-аддитивные соли соединений, описанных в настоящем документе, более растворимы в воде и различных гидрофильных органических растворителях и обычно демонстрируют более высокие температуры плавления по сравнению с их формами свободного основания. Выбор подходящей соли известен специалисту в данной области техники. Другие нефармацевтически приемлемые соли, например, оксалаты, могут использоваться, например, при выделении раскрытых в настоящем документе соединений для лабораторного применения или для последующего превращения в фармацевтически приемлемую кислотно-аддитивную соль.

В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтически приемлемая основно-аддитивная соль» означает любую нетоксичную органическую или неорганическую основно-аддитивную соль любых раскрытых в настоящем документе кислотных соединений. Примеры неорганических оснований, которые образуют подходящие соли, включают гидроксид лития, натрия, калия, кальция, магния или бария. Примеры органических оснований, которые образуют подходящие соли, включают алифатические, алициклические или ароматические органические амины, такие как метиламин, триметиламин и пиколин или аммиак. Выбор подходящей соли известен специалисту в данной области техники.

В контексте настоящего изобретения фраза «фармацевтически приемлемый носитель» означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель или инкапсулирующий материал. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами состава и не вреден для субъекта. Некоторые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза, (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал, (3) целлюлозу и ее производные, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы, (4) порошкообразный трагакант, (5) солод, (6) желатин, (7) тальк, (8) вспомогательные вещества, такие как масло какао и воск для суппозитория, (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло, (10) гликоли, такие как пропиленгликоль, (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль, (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат, (13) агар, (14) буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия, (15) альгиновую кислоту, (16) апирогенную воду, (17) изотонический раствор, (18) раствор Рингера, (19) этиловый спирт, (20) фосфатно-буферные растворы и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах.

Фармацевтическую композицию (препарат) можно вводить субъекту любым из ряда путей введения, включая, например, пероральный (например, примочки в виде водных или неводных растворов или суспензий, таблетки, капсулы (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык), всасывание через слизистую оболочку полости рта (например, сублингвально), анальный, ректальный или вагинальный (например, в виде пессария, крема или пены), парентеральный (в том числе внутримышечно, внутривенно, подкожно или интратекально в виде, например, стерильного раствора или суспензии), назальный, внутрибрюшинный, подкожный, чрескожный (например, в виде пластыря, наносимого на кожу) и местный (например, в виде крема, мази или спрея, наносимого на кожу, или в виде глазных капель). Соединение также может быть составлено для ингаляции. Согласно определенным вариантам осуществления соединение можно просто растворить или суспендировать в стерильной воде. Подробное описание соответствующих путей введения и композиций, подходящих для них, можно найти, например, в патенте США № 6110973, 5763493, 5731000, 5541231, 5427798, 5358970 и 4172896, а также в цитируемых в них патентах.

Композиции могут быть представлены в стандартной лекарственной форме и могут быть получены любыми способами, хорошо известными в области фармации. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом-носителем для получения стандартной лекарственной формы, будет варьироваться в зависимости от субъекта, подлежащего лечению, и конкретного пути введения. Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с материалом-носителем для получения стандартной лекарственной формы, обычно будет таким количеством соединения, которое оказывает терапевтическое действие. Как правило, из ста процентов это количество составляет от приблизительно 1 до приблизительно девяноста девяти процентов активного ингредиента, предпочтительно от приблизительно 5 до приблизительно 70 процентов, наиболее предпочтительно от приблизительно 10 до приблизительно 30 процентов.

Способы получения этих составов или композиций включают стадию связывания активного соединения, такого как соединение согласно настоящему изобретению, с носителем и необязательно с одним или более вспомогательными ингредиентами. Как правило, составы получают путем однородного и тесного связывания соединения согласно настоящему изобретению с жидкими носителями, или тонкоизмельченными твердыми носителями, или и тем, и другим, а затем, при необходимости, формования продукта.

Составы согласно настоящему изобретению, подходящие для перорального введения, могут быть в форме капсул (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), облаток, пилюль, таблеток, пастилок (с использованием ароматизированной основы, обычно сахарозы и акации или трагаканта), лиофилизатов, порошков, гранул или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле, или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с использованием инертной основы, такой как желатин и глицерин или сахароза и аравийская камедь), и/или жидкости для полоскания рта и т.п., каждый из которых содержит заданное количество соединения согласно настоящему изобретению в качестве активного ингредиента. Композиции или соединения можно также вводить в виде болюса, электуария или пасты.

Для получения твердых лекарственных форм для перорального введения (капсулы (в том числе вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы и т.п.) активный ингредиент смешивают с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, такими как цитрат натрия или дикальцийфосфат и/или любым из следующего: (1) наполнители или добавки, такие как крахмалы, лактоза,

сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота, (2) связующие, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или аравийская камедь, (3) увлажнители, такие как глицерин, (4) разрыхлители, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или маниоковый крахмал, альгиновая кислота, определенные силикаты и карбонат натрия, (5) замедлители растворения, такие как парафин, (6) ускорители абсорбции, такие как соединения четвертичного аммония, (7) смачивающие агенты, такие как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина, (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина, (9) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси, (10) комплексообразователи, такие как модифицированные и немодифицированные циклодекстрины, и (11) красители. В случае капсул (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), таблеток и пилюль фармацевтические композиции могут также содержать буферные агенты. Твердые композиции подобного типа также можно применять в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием таких вспомогательных веществ, как лактоза или молочные сахара, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и т.п.

Таблетку можно получить прессованием или формованием, необязательно с одним или более вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть получены с использованием связующего (например, желатина или гидроксипропилметилцеллюлозы), смазывающего вещества, инертного разбавителя, консерванта, разрыхлителя (например, крахмалгликолята натрия или сшитой карбоксиметилцеллюлозы натрия), поверхностно-активного вещества или диспергирующего агента. Формованные таблетки могут быть получены путем формования в подходящей машине смеси порошкообразного соединения, смоченного инертным жидким разбавителем.

Таблетки и другие твердые лекарственные формы фармацевтических композиций, такие как драже, капсулы (включая вскрываемые капсулы и желатиновые капсулы), пилюли и гранулы, необязательно могут иметь надрезы или быть получены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, известные в области получения фармацевтических препаратов. Они также могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить медленное или контролируемое высвобождение содержащегося в них активного ингредиента с использованием, например, гидроксипропилметилцеллюлозы в различных пропорциях для обеспечения желаемого профиля высвобождения, других полимерных матриц, липосом и/или микросфер. Их можно стерилизовать, например, путем фильтрации через удерживающий бактерии фильтр или путем включения стерилизующих агентов в виде стерильных твердых композиций, которые можно растворять в стерильной воде или какой-либо другой стерильной среде для инъекций непосредственно перед использованием. Эти композиции также могут необязательно содержать агенты, придающие непрозрачность, и могут иметь такой состав, что они высвобождают активный (активные) ингредиент (ингредиенты) только или предпочтительно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно замедленным образом. Примеры заливных композиций, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски. Активный ингредиент также может быть в микрокапсулированной форме, при необходимости, с одним или более из вышеописанных вспомогательных веществ.

Жидкие лекарственные формы, подходящие для перорального введения, включают фармацевтически приемлемые эмульсии, лиофилизаты для восстановления, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к активному ингредиенту жидкие лекарственные формы могут содержать инертные

разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, циклодекстрины и их производные, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбитана и их смеси.

Помимо инертных разбавителей пероральные композиции могут содержать адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгаторы и суспендирующие агенты, подсластители, ароматизаторы, красители, отдушки и консерванты.

Суспензии, кроме активных соединений, могут содержать суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбита и сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, а также их смеси.

Составы фармацевтических композиций для ректального, вагинального или уретрального введения могут быть представлены в виде суппозиториев, которые могут быть получены путем смешивания одного или более активных соединений с одним или более подходящими нераздражающими наполнителями или носителями, включающими, например, масло какао, полиэтиленгликоль, воск для суппозиториев или салицилат, и которые являются твердым при комнатной температуре, но жидкими при температуре тела и, следовательно, будут таять в прямой кишке или вагинальной полости и высвободить активное соединение.

Составы фармацевтических композиций для введения в рот могут быть представлены в виде жидкости для полоскания рта, или перорального спрея, или пероральной мази.

Альтернативно или дополнительно композиции могут быть составлены для доставки через катетер, стент, проволоку или другое внутриспросветное устройство. Доставка с помощью таких устройств может быть особенно полезной для доставки в мочевой пузырь, уретру, мочеточник, прямую кишку или кишечник.

Составы, подходящие для вагинального введения, также включают pessaries, тампоны, кремы, гели, пасты, пены или спреи, содержащие такие носители, которые, как известно в данной области техники, являются подходящими.

Лекарственные формы для местного или чрескожного введения включают порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и ингалянты. Активное соединение может быть смешано в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми консервантами, буферами или пропеллентами, которые могут потребоваться.

Мази, пасты, кремы и гели могут содержать в дополнение к активному соединению вспомогательные вещества, такие как животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, крахмал, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремниевая кислота, тальк и оксид цинка или их смеси.

Порошки и спреи могут содержать в дополнение к активному соединению вспомогательные вещества, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамидный порошок или смеси этих веществ. Спреи могут дополнительно содержать обычные пропелленты, такие как хлорфторуглеродороды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

Трансдермальные пластыри имеют дополнительное преимущество, состоящее в обеспечении контролируемой доставки соединения согласно настоящему изобретению в организм. Такие лекарственные

формы могут быть получены путем растворения или диспергирования активного соединения в соответствующей среде. Усилители абсорбции также могут быть использованы для увеличения потока соединения через кожу. Скорость такого потока можно регулировать либо с помощью регулирующей скорости мембраны, либо путем диспергирования соединения в полимерной матрице или геле.

Офтальмологические составы, глазные мази, порошки, растворы и т.п. также входят в объем настоящего изобретения. Примеры офтальмологических составов описаны в публикациях США № 2005/0080056, 2005/0059744, 2005/0031697 и 2005/004074 и в патенте США № 6583124, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Если желательно, жидкие офтальмологические составы обладают свойствами, сходными со свойствами слезной жидкости, водянистой влаги или стекловидного тела, или совместимы с такими жидкостями. Предпочтительным способом введения является местное введение (например, местное введение, такое как глазные капли или введение через имплантат).

В контексте настоящего изобретения фразы «парентеральное введение» и «вводимый парентерально» означают способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включают без ограничения внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрикапсульную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, внутриглазную, подкапсулярную, субаракноидальную, интраспинальную и интрастернальную инъекцию и инфузию.

Фармацевтические композиции, подходящие для парентерального введения, содержат одно или более активных соединений в сочетании с одним или более фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями или стерильными порошками, которые могут быть преобразованы в стерильные растворы или дисперсии для инъекций непосредственно перед применением, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты, растворенные вещества, которые делают состав изотоническим с кровью предполагаемого реципиента, или суспендирующие или загущающие агенты.

Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые можно использовать в фармацевтических композициях согласно настоящему изобретению, включают воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, посредством использования материалов для покрытия, таких как лецитин, посредством поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и посредством использования поверхностно-активных веществ.

Эти композиции могут также содержать адьюванты, такие как консерванты, смачивающие агенты, эмульгаторы и диспергирующие агенты. Предупреждение действия микроорганизмов может быть обеспечено включением различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и т.п. Также может быть желательным включение в композиции изотонических агентов, таких как сахара, хлорид натрия и т.п. Кроме того, пролонгированное всасывание инъекционной фармацевтической формы может быть вызвано включением агентов, замедляющих всасывание, таких как моностеарат алюминия и желатин.

В некоторых случаях для продления действия лекарственного средства желательно замедлить всасывание лекарственного средства при подкожном или внутримышечном введении. Этого можно достичь путем использования жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала, плохо растворимого в воде. Тогда скорость всасывания лекарственного средства зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера и формы кристаллов. Альтернативно, замедленное всасывание парентерально вводимой лекарственной формы достигается путем растворения или суспендирования лекарственного средства в масляном носителе.

Иньекционные депо-формы получают путем формования микроинкапсулированных матриц рассматриваемых соединений в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения лекарственного средства и полимера и природы конкретного используемого полимера можно контролировать скорость высвобождения лекарственного средства. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают поли(сложные ортоэфиры) и поли(ангидриды). Инъекционные депо-составы также получают путем включения лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, совместимые с тканями организма.

Для применения в способах согласно настоящему изобретению активные соединения можно вводить сами по себе или в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, от приблизительно 0,1 до приблизительно 99,5% (более предпочтительно от приблизительно 0,5 до приблизительно 90%) активного ингредиента в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем.

Способы введения также могут быть обеспечены перезаряжаемыми или биоразлагаемыми устройствами. В последние годы были разработаны и испытаны *in vivo* различные полимерные устройства с медленным высвобождением для контролируемой доставки лекарственных средств, включая белковые биофармацевтические препараты. Множество биосовместимых полимеров (включая гидрогели), включая как биоразлагаемые, так и неразлагаемые полимеры, можно использовать для формирования имплантата для замедленного высвобождения соединения в конкретном сайте-мишени.

Фактические уровни дозы активных ингредиентов в фармацевтических композициях можно варьировать для того, чтобы получить количество активного ингредиента, эффективное для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения без токсического воздействия на организм пациента.

Выборный уровень дозы будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения или комбинации используемых соединений, или их сложного эфира, соли или амида, пути введения, времени введения, скорости выведения конкретного (конкретных) используемого (используемых) соединения (соединений), продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в сочетании с конкретным (конкретными) используемым (используемыми) соединением (соединениями), возраст, пол, вес, состояние, общее состояние здоровья и предшествующую историю болезни субъекта, подлежащего лечению, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

Врач или ветеринарный врач, обладающие обычными знаниями в данной области техники, могут легко определить и прописать терапевтически эффективное количество требуемой фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринарный врач могут начать введение доз фармацевтической композиции или соединения с более низких уровней, чем те, которые необходимы для достижения желаемого терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозу до тех пор, пока не будет достигнут желаемый эффект. Под

«терапевтически эффективным количеством» понимают концентрацию соединения, достаточную для получения желаемого терапевтического эффекта. В общем понятно, что эффективное количество соединения будет варьироваться в зависимости от веса, пола, возраста и истории болезни субъекта. Другие факторы, которые влияют на эффективное количество, могут включать без ограничения тяжесть состояния субъекта, заболевание, подлежащее лечению, стабильность соединения и, при желании, другой тип терапевтического средства, вводимого с соединением согласно настоящему изобретению. Большая общая доза может быть доставлена путем многократного введения агента. Способы определения эффективности и дозы известны специалистам в данной области техники (Isselbacher *et al.* (1996) *Harrison's Principles of Internal Medicine* 13 ed., 1814-1882, включена в настоящий документ посредством ссылки).

В общем, подходящей дневной дозой активного соединения, используемого в композициях и способах согласно настоящему изобретению, будет такое количество соединения, которое представляет собой наименьшую дозу, эффективную для получения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза в общем будет зависеть от факторов, описанных выше.

При желании эффективную дневную дозу активного соединения можно вводить в виде одной, двух, трех, четырех, пяти, шести или более поддоз, вводимых отдельно с соответствующими интервалами в течение дня, необязательно, в виде стандартных лекарственных форм. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения активное соединение можно вводить два или три раза в день. Согласно определенным вариантам осуществления активное соединение вводят один раз в день.

Согласно определенным вариантам осуществления соединения согласно настоящему изобретению можно применять отдельно или совместно с другим типом терапевтического средства. В контексте настоящего изобретения фраза «совместное введение» относится к любой форме введения двух или более различных терапевтических соединений, так что второе соединение вводят в то время, когда ранее введенное терапевтическое соединение все еще эффективно в организме (например, два соединения одновременно эффективны у субъекта, что может включать синергетическое действие двух соединений). Например, различные терапевтические соединения можно вводить либо в одном и том же составе, либо в виде отдельного состава, либо одновременно, либо последовательно. Согласно определенным вариантам осуществления различные терапевтические соединения можно вводить в течение одного часа, 12 часов, 24 часов, 36 часов, 48 часов, 72 часов или недели между ними. Таким образом, субъект, получающий такое лечение, может получить пользу от комбинированного действия различных терапевтических соединений.

Согласно определенным вариантам осуществления совместное введение соединений согласно настоящему изобретению с одним или более дополнительными терапевтическими средствами обеспечивает улучшенную эффективность по сравнению с каждым отдельным введением соединения согласно настоящему изобретению или одного или более дополнительных терапевтических средств. Согласно некоторым таким вариантам осуществления совместное введение обеспечивает аддитивный эффект, при этом аддитивный эффект относится к сумме каждого из эффектов индивидуального введения соединения согласно настоящему изобретению и одного или более дополнительных терапевтических средств.

Настоящее изобретение относится к применению фармацевтически приемлемых солей соединений согласно настоящему изобретению в композициях и способах согласно настоящему изобретению. Согласно определенным вариантам осуществления рассматриваемые соли согласно настоящему изобретению включают

без ограничения соли алкила, диалкила, триалкила или тетраалкиламмония. Согласно определенным вариантам осуществления рассматриваемые соли согласно настоящему изобретению включают без ограничения соли L-аргинина, бенентамина, бензатина, бетаина, гидроксида кальция, холина, деанола, диэтанолamina, диэтиламина, 2-(диэтиламино)этанола, этаноламина, этилендиамина, N-метилглюкамина, гидрабамина, 1H-имидазола, лития, L-лизина, магния, 4-(2-гидроксиэтил)морфолина, пиперазина, калия, 1-(2-гидроксиэтил)пирролидина, натрия, триэтанолamina, трометамина и цинка. Согласно определенным вариантам осуществления рассматриваемые соли согласно настоящему изобретению включают без ограничения соли Na, Ca, K, Mg, Zn или других металлов.

Фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли также могут существовать в виде различных сольватов, например, с водой, метанолом, этанолом, диметилформамидом и т.п. Также можно получать смеси таких сольватов. Источником такого сольвата может быть растворитель кристаллизации, присущий растворителю получения или кристаллизации, или посторонний к такому растворителю.

В композициях также могут присутствовать смазывающие агенты, эмульгаторы и смазывающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красители, антиадгезивы, покрывающие агенты, подсластители, ароматизаторы и отдушки, консерванты и антиоксиданты.

Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т.п., (2) маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т.п., и (3) металл-хелатирующие агенты, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т.п.

Способы лечения

Неселективные Ca^{2+} -проницаемые каналы транзиторного рецепторного потенциала (TRP) действуют как сенсоры, которые передают внеклеточные сигналы во внутриклеточную среду в различных клеточных процессах, включая ремоделирование актина и клеточную миграцию (Greka et al., *Nat Neurosci* 6, 837-845, 2003, Ramsey et al., *Annu Rev Physiol* 68, 619-647, 2006, Montell, *Pflugers Arch* 451, 19-28, 2005, Clapham, *Nature* 426, 517-524, 2003). Динамическая перестройка актинового цитоскелета зависит от регулируемого пространственно-временным образом притока Ca^{2+} (Zheng and Poo, *Annu Rev Cell Dev Biol* 23, 375-404, 2007), Brandman and Meyer, *Science* 322, 390-395, 2008), Collins and Meyer, *Dev Cell* 16, 160-161, 2009), а малые GTPазы RhoA и Rac1 служат ключевыми модуляторами этих изменений (Etienne-Manneville and Hall, *Nature* 420, 629-635, 2002), Raftopoulou and Hall, *Dev Biol* 265, 23-32, 2004). RhoA индуцирует образование стрессовых волокон и фокальной адгезии, в то время как Rac1 опосредует образование ламеллиподий (Etienne-Manneville and Hall, *Nature* 420, 629-635, 2002). Катионный канал транзиторного рецепторного потенциала, подсемейство C, член 5, (TRPC5) действует совместно с TRPC6, регулируя приток Ca^{2+} , ремоделирование актина и подвижность клеток в подоцитах и фибробластах почек. TRPC5-опосредованный приток Ca^{2+} увеличивает активность Rac1, тогда как TRPC6-опосредованный приток Ca^{2+} способствует активности RhoA. Замалчивание генов каналов TRPC6 устраняет стрессовые волокна и уменьшает фокальные контакты, придавая фенотип подвижных, мигрирующих клеток. Напротив, замалчивание генов каналов TRPC5 восстанавливает образование стрессовых волокон, создавая фенотип сокращающихся клеток. Описанные в настоящем документе результаты раскрывают консервативный механизм передачи

сигналов, посредством которого каналы TRPC5 и TRPC6 контролируют строго регулируемый баланс динамики цитоскелета посредством дифференциального связывания с Rac1 и RhoA.

Ca²⁺-зависимое ремоделирование актинового цитоскелета представляет собой динамический процесс, который управляет миграцией клеток (Wei et al., *Nature* 457, 901-905, 2009). RhoA и Rac1 действуют как переключатели, ответственные за перестройки цитоскелета в мигрирующих клетках (Etienne-Manneville and Hall, *Nature* 420, 629-635, 2002), Raftopoulou and Hall, *Dev Biol* 265, 23-32, 2004). Активация Rac1 опосредует фенотип подвижных клеток, тогда как активность RhoA способствует сократительному фенотипу (Etienne-Manneville and Hall, *Nature* 420, 629-635, 2002). Ca²⁺ играет центральную роль в регуляции малой GTPазы (Aspenstrom et al., *Biochem J* 377, 327-337, 2004). Ограниченные пространственным и временным образом колебания Ca²⁺ обогащены вблизи переднего края мигрирующих клеток (Wei et al., *Nature* 457, 901-905, 2009). Ca²⁺-микродомены присоединяются таким образом к локальным всплескам активности Rac1 (Gardiner et al., *Curr Biol* 12, 2029-2034, 2002, Machacek et al., *Nature* 461, 99-103, 2009) в качестве критических событий на переднем крае. На сегодняшний день источники притока Ca²⁺, ответственные за регуляцию GTPазы, остаются в значительной степени неуловимыми. Каналы TRP (транзиторного рецепторного потенциала) генерируют ограниченные по времени и пространству сигналы Ca²⁺, связанные с миграцией клеток в фибробластах и конусах роста нейронов 0. В частности, каналы TRPC5 являются известными регуляторами ведения конуса роста нейронов I, и их активность в нейронах зависит от активности PI3K и Rac1 (Bezzarides et al., *Nat Cell Biol* 6, 709-720, 2004).

Подоциты представляют собой нейрноподобные клетки, происходящие из метанефрической мезенхимы почечных клубочков и необходимые для формирования фильтрационного аппарата почек (Somlo and Mundel, *Nat Genet.* 24, 333-335, 2000, Fukasawa et al., *J Am Soc Nephrol* 20, 1491-1503, 2009). Подоциты обладают исключительно улучшенным набором адаптаций цитоскелета к сигналам окружающей среды (Somlo and Mundel, *Nat Genet* 24, 333-335, 2000, Garg et al., *Mol Cell Biol* 27, 8698-8712, 2007, Verma et al., *J Clin Invest* 116, 1346-1359, 2006, Verma et al., *J Biol Chem* 278, 20716-20723, 2003, Barletta et al., *J Biol Chem* 278, 19266-19271, 2003, Holzman et al., *Kidney Int* 56, 1481-1491, 1999, Ahola et al., *Am J Pathol* 155, 907-913, 1999, Tryggvason and Wartiovaara, *N Engl J Med* 354, 1387-1401, 2006, Schnabel and Farquhar, *J Cell Biol* 111, 1255-1263, 1990, Kurihara et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 89, 7075-7079, 1992). Ранние случаи повреждения подоцитов характеризуются нарушением регуляции актинового цитоскелета (Faul et al., *Trends Cell Biol* 17, 428-437, 2007, Takeda et al., *J Clin Invest* 108, 289-301, 2001, Asanuma et al., *Nat Cell Biol* 8, 485-491, 2006) и Ca²⁺ гомеостаза (Hunt et al., *J Am Soc Nephrol* 16, 1593-1602, 2005, Faul et al., *Nat Med* 14, 931-938, 2008). Эти изменения связаны с возникновением протеинурии, потерей альбумина в мочевыводящем пространстве и, в конечном итоге, с почечной недостаточностью (Tryggvason and Wartiovaara, *N Engl J Med* 354, 1387-1401, 2006). Вазоактивный гормон ангиотензин II индуцирует приток Ca²⁺ в подоциты, и длительное лечение приводит к потере стрессовых волокон (Hsu et al., *J Mol Med* 86, 1379-1394, 2008). В то время как существует общепризнанная связь между притоком Ca²⁺ и реорганизацией цитоскелета, механизмы, с помощью которых подоциты воспринимают и передают внеклеточные сигналы, которые модулируют форму и подвижность клеток, остаются неясными. Мутации канала TRP Canonical 6 (TRPC6) были связаны с повреждением подоцитов (Winn et al., *Science* 308, 1801-1804, 2005, Reiser et al., *Nat Genet* 37, 739-744, 2005, Moller et al., *J Am Soc Nephrol* 18, 29-36, 2007, Hsu et al., *Biochim Biophys Acta* 1772, 928-936, 2007), но мало что известно о конкретных путях, регулирующих этот процесс. Более того, TRPC6 обладает близкой гомологией с шестью другими членами семейства каналов TRPC (Ramsey et al., *Annu Rev Physiol* 68, 619-

647, 2006, Clapham, Nature 426, 517-524, 2003). Каналы TRPC5 противодействуют активности каналов TRPC6 для того, чтобы контролировать строго регулируемый баланс динамики цитоскелета посредством дифференциального связывания с отдельными малыми GTPазами.

Протеинурия

Протеинурия представляет собой патологическое состояние, при котором в моче присутствует белок. Альбуминурия является разновидностью протеинурии. Микроальбуминурия возникает, когда почки выделяют небольшое количество альбумина в мочу. В нормально функционирующем организме альбумин обычно не присутствует в моче, поскольку он задерживается в кровотоке почками. Микроальбуминурию диагностируют либо при 24-часовом сборе мочи (от 20 до 200 мкг/мин), либо, более часто, при повышенных концентрациях (от 30 до 300 мг/л) при по меньшей мере двух случаях. Микроальбуминурия может быть предвестником диабетической нефропатии. Уровень альбумина выше этих значений называется макроальбуминурией. У субъектов с определенными состояниями, например, диабетической нефропатией, микроальбуминурия может прогрессировать до макроальбуминурии и достигать нефротического диапазона (>3,5 г/24 часа) по мере того, как заболевание почек достигает поздних стадий.

Причины протеинурии

Протеинурия может быть связана с рядом состояний, включая фокально-сегментарный гломерулосклероз, нефропатию IgA-типа, диабетическую нефропатию, волчаночный нефрит, мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит, прогрессирующий (серповидный) гломерулонефрит и мембранозный гломерулонефрит. Каждое из этих состояний можно лечить описанными в настоящем документе способами стратификации пациентов.

Некоторые из заболеваний почек, которые можно лечить описанными в настоящем документе способами, подробно описаны ниже.

А. Фокально-сегментарный гломерулосклероз (FSGS)

Фокально-сегментарный гломерулосклероз (FSGS) представляет собой заболевание, которое поражает фильтрующую систему почек (клубочки), вызывая серьезные рубцы. FSGS является одной из многих причин заболевания, известного как нефротический синдром, который возникает, когда белок в крови попадает в мочу (протеинурия). Первичный FSGS, когда основная причина не обнаружена, обычно проявляется как нефротический синдром. Вторичный FSGS при выявлении основной причины обычно проявляется почечной недостаточностью и протеинурией. FSGS может быть генетическим, в настоящее время известно несколько генетических причин наследственных форм FSGS.

Для пациентов с FSGS доступно очень мало способов лечения. Многие пациенты получают лечение по стероидным схемам, большинство из которых имеют очень тяжелые побочные эффекты. Некоторые пациенты положительно реагируют на иммунодепрессанты, а также на лекарственные средства от кровяного давления, которые снижают уровень белка в моче. На сегодняшний день не существует общепринятой эффективной терапии или лечения, а также нет одобренных FDA препаратов для лечения FSGS. Поэтому желательны более эффективные способы снижения или подавления протеинурии.

В. Диабетическая нефропатия

Диабетическая нефропатия, также известная как синдром Киммелстила - Уилсона и интеркапиллярный гломерулосклероз, представляет собой прогрессирующее заболевание почек, вызванное ангиопатией капилляров в почечных клубочках. Оно характеризуется нефротическим синдромом и диффузным гломерулосклерозом. Оно вызвано давним сахарным диабетом и является основной причиной диализа. Самым ранним выявляемым изменением течения диабетической нефропатии является утолщение клубочка. На этой стадии почки могут начать выделять с мочой больше сывороточного альбумина, чем обычно. По мере прогрессирования диабетической нефропатии увеличивается количество клубочков, разрушаемых узелковым гломерулосклерозом, и увеличивается количество альбумина, выделяемого с мочой.

С. Мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит I/II/III

Мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит представляет собой тип гломерулонефрита, вызванный отложениями в мезангии клубочков почек и утолщением базальной мембраны, активацией комплемента и повреждением клубочков. Различают три типа мембранозно-пролиферативного гломерулонефрита. Тип I вызывается отложением иммунных комплексов в почках и, как полагают, связан с классическим путем комплемента. Тип II подобен типу I, однако полагают, что он связан с альтернативным путем комплемента. Тип III встречается очень редко и характеризуется сочетанием субэпителиальных отложений и типичных патологических признаков заболевания типа I.

Существует два основных типа MPGN, которые основаны на иммунофлуоресцентной микроскопии: опосредованный иммунными комплексами и опосредованный комплементом. Гипокомплементемия характерна для всех типов MPGN. При опосредованном иммунными комплексами MPGN активация комплемента происходит классическим путем и обычно проявляется нормальной или умеренно сниженной концентрацией C3 в сыворотке и низкой концентрацией C4 в сыворотке. При комплемент-опосредованном MPGN обычно наблюдается низкий уровень C3 в сыворотке и нормальный уровень C4 из-за активации альтернативного пути. Однако комплемент-опосредованный MPGN не исключается нормальной концентрацией C3 в сыворотке крови, и нет ничего необычного в обнаружении нормальной концентрации C3 у взрослых с болезнью плотных депозитов (DDD) или C3-гломерулонефритом (C3GN).

C3-гломерулонефрит (C3GN) показывает гломерулонефрит при световой микроскопии (LM), яркое окрашивание C3 и отсутствие C1q, C4 и иммуноглобулинов (Ig) при иммунофлуоресцентной микроскопии (IF), а также мезангиальные и/или субэндотелиальные электронноплотные отложения при электронной микроскопии (EM). Также часто присутствуют нерегулярные внутримембранные и субэпителиальные отложения. Термин «C3-гломерулопатия» часто используется для обозначения C3GN и болезни плотных депозитов (DDD), оба из которых являются результатом нарушения регуляции альтернативного пути (AP) комплемента. C3GN и DDD может быть трудно отличить друг от друга в исследованиях LM и IF. Однако EM показывает мезангиальные и/или субэндотелиальные, внутримембранные и субэпителиальные отложения при C3GN, в то время как плотные осмиофильные отложения присутствуют вдоль базальных мембран клубочков (GBM) и в мезангии при DDD. Как

C3GN, так и DDD отличаются от гломерулонефрита, опосредованного иммунными комплексами, отсутствием окрашивания иммуноглобулина на IF (Sethi et al., *Kidney Int.* (2012) 82(4):465-473).

D. Мембранозный гломерулонефрит

Мембранозный гломерулонефрит (МГН) представляет собой медленно прогрессирующее заболевание почек, поражающее в основном пациентов в возрасте от 30 до 50 лет, как правило, европеоидной расы. Он может перерасти в нефротический синдром. MGN вызывается циркулирующим иммунным комплексом. Текущие исследования показывают, что большинство иммунных комплексов образуются посредством связывания антител к антигенам *in situ* с базальной мембраной клубочков. Указанные антигены могут быть эндогенными для базальной мембраны или депонироваться из системного кровообращения.

E. Наследственный геморрагический нефрит

Наследственный геморрагический нефрит представляет собой генетическое нарушение, поражающее приблизительно 1 из 5000–10000 детей и характеризующееся гломерулонефритом, терминальной стадией заболевания почек и потерей слуха. Наследственный геморрагический нефрит также может поражать глаза, хотя эти изменения обычно не влияют на зрение, за исключением случаев, когда изменения хрусталика происходят в более позднем возрасте. Кровь в моче универсальна. Протеинурия является признаком прогрессирования заболевания почек.

F. Нефропатия минимальных изменений

Нефропатия минимальных изменений (также известная как MCD, гломерулопатия с минимальными изменениями и болезнь с нулевыми изменениями, среди прочего) представляет собой заболевание, поражающее почки и вызывающее нефротический синдром. Клиническими признаками нефропатии минимальных изменений являются протеинурия (патологическая экскреция белков, главным образом альбумина, с мочой), отеки (отек мягких тканей вследствие задержки воды), увеличение массы тела и гипоальбуминемия (низкий уровень альбумина в сыворотке). Эти признаки в совокупности называются нефротическим синдромом. Первым клиническим признаком нефропатии минимальных изменений обычно является отек с сопутствующим увеличением веса. Отек может быть легким, но у пациентов могут проявляться отеки в нижней половине тела, периорбитальный отек, отек в области мошонки/лабиальной области и анasarка в более тяжелых случаях. У пожилых пациентов также может наблюдаться острая почечная недостаточность (у 20–25% пораженных взрослых) и высокое кровяное давление. Из-за патологического процесса пациенты с нефропатией минимальных изменений также подвержены риску образования тромбов и инфекций.

G. Мембранозная нефропатия

Мембранозная нефропатия относится к отложению иммунных комплексов на базальной мембране клубочков (GBM) с утолщением GBM. Причина обычно неизвестна (идиопатическая), хотя вторичные причины включают лекарственные средства, инфекции, аутоиммунные заболевания и рак. Проявления включают протекающее без явных симптомов развитие отеков и тяжелой протеинурии с доброкачественным мочевым осадком, нормальной функцией почек и нормальным или повышенным артериальным давлением. Мембранозную

нефропатию диагностируют с помощью биопсии почки. Часто встречаются спонтанные ремиссии. Лечение пациентов с высоким риском прогрессирования обычно проводится кортикостероидами и циклофосфамидом или хлорамбуцилом.

Н. Постинфекционный гломерулонефрит

Острый пролиферативный гломерулонефрит представляет собой заболевание клубочков (гломерулонефрит) или мелких кровеносных сосудов в почках. Это частое осложнение бактериальных инфекций, обычно кожных инфекций, вызванных стрептококковыми бактериями типов 12, 4 и 1 (импетиго), а также после стрептококкового фарингита, для которого он также известен как постинфекционный или постстрептококковый гломерулонефрит. Он может быть фактором риска будущей альбуминурии. У взрослых признаки и симптомы инфекции могут все еще присутствовать в то время, когда развиваются проблемы с почками, и также используются термины гломерулонефрит, связанный с инфекцией, или гломерулонефрит, связанный с бактериальной инфекцией. Острый гломерулонефрит привел к 19000 смертей в 2013 году по сравнению с 24000 смертей в 1990 году во всем мире. Острый пролиферативный гломерулонефрит (постстрептококковый гломерулонефрит) вызывается инфекцией стрептококковых бактерий, обычно через три недели после инфицирования, обычно глотки или кожи, учитывая время, необходимое для образования антител и белков комплемента. Инфекция вызывает воспаление кровеносных сосудов в почках, что затрудняет способность почечных органов фильтровать мочу [Eison et al., "Post-streptococcal acute glomerulonephritis in children: clinical features and pathogenesis," *Pediatr. Nephrol.* 2011, 26:165-180] Острый пролиферативный гломерулонефрит чаще всего возникает у детей. Кроме того, гломерулопатии, такие как гломерулонефрит, также были связаны с бактериальным эндокардитом, инфекцией гепатита С, инфекцией ВИЧ.

И. Синдром Гудпасчера

Синдром Гудпасчера, также известный как заболевание с образованием антител к базальной мембране клубочков, представляет собой редкое аутоиммунное заболевание, при котором антитела атакуют базальную мембрану в легких и почках, что приводит к кровотечению из легких и почечной недостаточности. Полагают, что они атакуют субъединицу альфа-3 коллагена IV типа, поэтому его называют антигеном Гудпасчера. Синдром Гудпасчера может быстро привести к необратимому повреждению легких и почек, что часто приводит к смерти.

Ж. Нефропатия IgA-типа

Нефропатия IgA-типа (также известная как IgA-нефрит, IgAN, болезнь Бергера и синфарингитный гломерулонефрит) представляет собой форму гломерулонефрита (воспаление клубочков почек). Нефропатия IgA-типа является наиболее распространенным гломерулонефритом во всем мире. Первичная нефропатия IgA-типа характеризуется отложением IgA-антител в клубочках. Существуют и другие заболевания, связанные с гломерулярными отложениями IgA, наиболее распространенным из которых является пурпура Шенлейна-Геноха (HSP), которую многие считают системной формой нефропатии IgA-типа. Пурпура Шенлейна-Геноха проявляется характерной пурпурной кожной сыпью, артритом и болью в животе и чаще возникает у молодых людей (16–35 лет). HSP связана с более благоприятным прогнозом, чем нефропатия IgA-типа. При нефропатии

IgA-типа наблюдается медленное прогрессирование в хроническую почечную недостаточность в 25-30% случаев в течение 20 лет.

К. Волчаночный нефрит

Волчаночный нефрит представляет собой заболевание почек, являющееся осложнением системной красной волчанки. Волчаночный нефрит возникает, когда антитела и комплемент накапливаются в почках, вызывая воспаление. Он часто вызывает протеинурию и может быстро прогрессировать до почечной недостаточности. Азотные отходы накапливаются в кровотоке. Системная красная волчанка вызывает различные нарушения внутренних структур почек, в том числе интерстициальный нефрит. Волчаночный нефрит поражает примерно 3 из 10 000 человек.

Л. Поликистозная болезнь почек

Поликистозная болезнь почек (PKD, также известная как синдром поликистозных почек) представляет собой генетическое заболевание, при котором почечные каналцы становятся структурно аномальными, что приводит к развитию и росту множественных кист в почках. Эти кисты могут начать развиваться внутриутробно, в младенчестве, в детстве или во взрослом возрасте. Кисты представляют собой нефункционирующие каналцы, заполненные закачанной в них жидкостью, размер которых варьируется от микроскопических до огромных, разрушая соседние нормальные каналцы и в конечном итоге делая их нефункциональными. PKD вызывается аномальными генами, которые продуцируют специфический аномальный белок, этот белок оказывает неблагоприятное влияние на развитие каналцев. PKD является общим термином для двух типов, каждый из которых имеет свою собственную патологию и генетическую причину: аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек (ADPKD) и аутосомно-рецессивная поликистозная болезнь почек (ARPKD). PKD поражает приблизительно 500000 человек в Соединенных Штатах Америки.

Измерение уровней белка в моче

Уровни белка в моче можно измерить с использованием способов, известных в данной области техники. До недавнего времени для точного измерения белка требовался сбор мочи в течение 24 часов. При 24-часовом сборе пациент мочится в контейнер, который хранится в холодильнике между походами в туалет. Пациента инструктируют начать сбор мочи после первого похода в туалет утром. Каждая капля мочи до конца дня должна быть собрана в контейнер. На следующее утро больной прибавляет первое мочеиспускание после пробуждения и сбор завершен.

Совсем недавно исследователи обнаружили, что один образец мочи может предоставить необходимую информацию. В более новой методике количество альбумина в образце мочи сравнивают с количеством креатинина, побочного продукта нормального разрушения мышечной ткани. Измерение обозначают как соотношение альбумина и креатинина в моче (UACR). Образец мочи, содержащий более 30 миллиграммов альбумина на каждый грамм креатинина (30 мг/г), является предупреждением о возможной проблеме. Если лабораторный тест превышает 30 мг/г, через 1–2 недели следует провести еще один тест UACR. Если второй тест

также показывает высокий уровень белка, у человека имеется стойкая протеинурия, признак ухудшения функции почек, и ему следует пройти дополнительные тесты для оценки функции почек.

Тесты, которые измеряют количество креатинина в крови, также показывают, насколько эффективно почки субъекта удаляют отходы. Слишком много креатинина в крови является признаком того, что у человека есть повреждение почек. Врач может использовать измерение креатинина, чтобы оценить, насколько эффективно почки фильтруют кровь. Это вычисление обозначают как расчетная скорость клубочковой фильтрации или eGFR. Хроническое заболевание почек имеется, когда eGFR составляет менее 60 миллилитров в минуту (мл/мин).

TRPC5

TRPC представляет собой семейство катионных каналов транзиторного рецепторного потенциала у животных. TRPC5 является подтипом семейства TRPC ионных каналов транзиторного рецепторного потенциала млекопитающих. Три примера TRPC5 выделены ниже в таблице 1.

Таблица 1

Ортологи TRPC 5 из трех различных видов с их ссылочными номерами доступа последовательностей из GenBank			
Вид	Нуклеиновая кислота	Аминокислота	ID гена
<i>Homo sapiens</i>	NM_012471.2	NP_036603.1	7224
<i>Mus musculus</i>	NM_009428.2	NP_033454.1	22067
<i>Rattus norvegicus</i>	NM_080898.2	NP_543174.1	140993

Канал транзиторного рецепторного потенциала 5 (TRPC5) представляет собой проницаемый для кальция неспецифический катионный канал, преимущественно экспрессируемый в головном мозге, где он может образовывать гетеротетрамерные комплексы с субъединицами каналов TRPC1 и TRPC4. TRPC5 также экспрессируется в почках, более конкретно в подоцитах, где он участвует в регуляции актинового цитоскелета подоцитов.

Соответственно, согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения субъекта, страдающего заболеванием почек, или снижения риска развития заболевания почек, выбранного из диабетической нефропатии, фокально-сегментарного гломерулосклероза, нефропатии минимальных изменений, мембранозно-пролиферативного гломерулонефрита (включая постстрептококковый гломерулонефрит и бактериальный эндокардит-ассоциированный гломерулонефрит), мембранозной нефропатии, других вирус гепатита С-ассоциированных гломерулопатий, ВИЧ-ассоциированных гломерулопатий, COVID-19-ассоциированного острого почечного повреждения, наследственного геморрагического нефрита, поликистозной болезни почек (как аутосомно-доминантной, так и аутосомно-рецессивной), нефропатии IgA-типа, других генетических нефропатий и цилиопатий (например, HNF1бета, нефронофтиз, аутосомно-доминантная кистозная/тубулярная болезнь почек), волчаночного нефрита, синдрома Гудпасчера (анти-БМК-нефрит) и других комплемент- или иммуноопосредованных заболеваний почек, при которых у субъекта уровни в моче одного или более биомаркеров, выбранных из Ras1, Ra c1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, выше предварительно определенного порогового значения, причем способ предусматривает введение субъекту,

нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению (например, соединения структурной формулы I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X или XI или ингибитора кальциневрина) или фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение. Согласно некоторым аспектам этих вариантов осуществления заболевание почек выбрано из диабетической нефропатии, фокально-сегментарного гломерулосклероза, нефропатии минимальных изменений, мембранозно-пролиферативного гломерулонефрита, мембранозной нефропатии, другие вирус гепатита С-ассоциированных гломерулопатий и наследственного геморрагического нефрита.

Согласно некоторым вариантам осуществления заболеванием почек является диабетическая нефропатия или фокально-сегментарный гломерулосклероз.

Субъекты, подлежащие лечению

Согласно одному аспекту настоящего изобретения субъект отбирают на основании того, что у него уровни в моче одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, выше предварительно определенного порогового значения, и он имеет или подвержен риску развития заболевания почек, такого как диабетическая нефропатия, фокально-сегментарный гломерулосклероз, нефропатия минимальных изменений, мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит (включая постстрептококковый гломерулонефрит и бактериальный эндокардит-ассоциированный гломерулонефрит), мембранозная нефропатия, другие вирус гепатита С-ассоциированные гломерулопатии, ВИЧ-ассоциированные гломерулопатии, COVID-19-ассоциированное острое почечное повреждение, наследственный геморрагический нефрит, поликистозная болезнь почек (как аутосомно-доминантная, так и аутосомно-рецессивная), нефропатия IgA-типа, другие генетические нефропатии и цилиопатии (например, HNF1бета, нефронофтиз, аутосомно-доминантная кистозная/тубулярная болезнь почек), волчаночный нефрит, синдром Гудпасчера (анти-БМК-нефрит) и другие комплемент- или иммуноопосредованные заболевания почек.

Согласно некоторым конкретным аспектам субъект имеет или подвержен риску развития диабетической нефропатии, фокально-сегментарного гломерулосклероза, нефропатии минимальных изменений, мембранозно-пролиферативного гломерулонефрита, мембранозной нефропатии, другие вирус гепатита С-ассоциированных гломерулопатий или наследственного геморрагического нефрита. Субъекты имеют или подвержены риску развития протеинурии, включают людей с диабетом, гипертонией или определенным семейным анамнезом. В Соединенных Штатах Америки диабет является основной причиной терминальной стадии почечной недостаточности (ESRD). Как при диабете 1 типа, так и при диабете 2 типа альбумин в моче является одним из первых признаков ухудшения функции почек. По мере снижения функции почек количество альбумина в моче увеличивается. Еще одним фактором риска развития протеинурии является артериальная гипертензия. Протеинурия у человека с высоким кровяным давлением является показателем снижения функции почек. Если гипертонию не контролировать, у человека может развиться полная почечная недостаточность. Афроамериканцы чаще, чем представители европеоидной расы, страдают высоким кровяным давлением и связанными с ним проблемами с почками, даже если их кровяное давление повышено незначительно. Другими группами риска протеинурии являются американские индейцы, испаноговорящее население/латиноамериканцы, американцы с тихоокеанских островов, пожилые люди и люди с избыточным весом.

Согласно одному аспекту субъекта отбирают на основании того, что у него уровни в моче одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, выше предварительно определенного порогового значения, и он имеет или подвержен риску развития протеинурии. Субъектом, который имеет протеинурию или подвержен риску ее развития, является субъект, имеющий один или более симптомов состояния. Симптомы протеинурии известны специалистам в данной области техники и включают без ограничения большое количество белка в моче, из-за чего моча выглядит пенистой в туалете. Потеря большого количества белка может привести к отеку, где может происходить отек рук, ног, живота или лица. Это признаки большой потери белка и указывают на то, что заболевание почек прогрессирует. Лабораторные исследования являются единственным способом выяснить, присутствует ли белок в моче субъекта, до того, как произойдет обширное повреждение почек.

Способы эффективны для различных субъектов, включая млекопитающих, например, людей и других животных, таких как лабораторные животные, например, мыши, крысы, кролики или обезьяны, или домашних и сельскохозяйственных животных, например, кошек, собак, коз, овец, свиней, коров или лошадей. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект представляет собой млекопитающее. Согласно некоторым вариантам осуществления субъектом является человек.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу отбора и лечения субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, причем способ предусматривает стадии:

- a. отбора субъекта, если уровень в моче одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, у субъекта выше предварительно определенного порогового значения, и
- b. введения отобранному субъекту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор TRPC5 или ингибитор кальциневрина и фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, предусматривающему стадию

введения субъекту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор TRPC5 или ингибитор кальциневрина и фармацевтически приемлемый носитель,

только если у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения.

В соответствии с этими аспектами субъект, у которого уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, ниже предварительно определенного порогового значения для этого биомаркера, не подвергается лечению ингибитором TRPC5 или ингибитором кальциневрина. Согласно некоторым конкретным аспектам субъект, у которого уровень в моче до лечения Rac1 ниже заранее определенного порогового значения, не подвергается лечению ингибитором TRPC5 или ингибитором кальциневрина. Согласно другим конкретным аспектам субъект, у которого уровень в моче до лечения Rac1-GTP ниже заранее определенного порогового значения, не подвергается лечению ингибитором TRPC5 или ингибитором кальциневрина. Согласно другим конкретным аспектам субъект, у которого уровень в моче до лечения фосфо-LIM киназы 1 ниже заранее определенного порогового значения, не подвергается лечению

ингибитором TRPC5 или ингибитором кальциневрина. Согласно другим конкретным аспектам субъект, у которого уровень в моче до лечения фосфокофилина ниже заранее определенного порогового значения, не подвергается лечению ингибитором TRPC5 или ингибитором кальциневрина.

Rac1 и Rac1-GTP

Rac1, также известный как Ras-родственный субстрат 1 ботулинического токсина С3, представляет собой небольшой (~21 кДа) сигнальный G-белок (более конкретно, GTPазу), обнаруживаемый в клетках человека, и является членом подсемейства Rac семейства Rho семейства GTPазы. Члены этого суперсемейства, как оказалось, регулируют широкий спектр клеточных событий, включая контроль транслокации GLUT4 с поглощением глюкозы, рост клеток, реорганизацию цитоскелета, антимикробную цитотоксичность и активацию протеинкиназ. Rac1 экспрессируется в значительных количествах в чувствительных к инсулину тканях, таких как жировая ткань и скелетные мышцы. Здесь Rac1 регулирует транслокацию глюкозотранспортирующих везикул GLUT4 из внутриклеточных компарментов к плазматической мембране. В ответ на инсулин это позволяет глюкозе крови проникать в клетку, чтобы снизить уровень глюкозы в крови. В условиях ожирения и диабета 2 типа передача сигналов Rac1 в скелетных мышцах дисфункциональна, что позволяет предположить, что Rac1 способствует прогрессированию заболевания. Белок Rac1 также необходим для поглощения глюкозы скелетными мышцами, активируемыми при физических упражнениях и растяжении мышц. RAC1 имеет две конформации: активную (RAC1-GTP) и неактивную (RAC1-GDP). [*Laboratory Investigation* (2018) 98:989–998, *Cell Mol Life Sci.* (2009) 66:370–4].

Фосфо-LIM киназа 1

LIM киназа-1 (LIMK1) и LIM киназа-2 (LIMK2) представляют собой актин-связывающие киназы, которые фосфорилируют членов семейства ADF/кофилин актин-связывающих и расщепляющих волокна белков. ADF/кофилин все еще являются единственными субстратами, идентифицированными для киназ LIM. Киназы LIM непосредственно фосфорилируют и инактивируют членов семейства кофилина, что приводит к стабилизации филаментозного (F)-актина. Киназы Lim активируются путем передачи сигналов через малые GTPазы семейства Rho. Домены LIM представляют собой высококонсервативные структуры, богатые цистеином, содержащие 2 цинковых пальца. Хотя цинковые пальцы обычно функционируют путем связывания с ДНК или РНК, мотив LIM, вероятно, опосредует белок-белковые взаимодействия. Киназа-1 LIM и киназа-2 LIM принадлежат к небольшому подсемейству с уникальной комбинацией 2 N-концевых мотивов LIM и C-концевого домена протеинкиназы.

Фосфокофилин

Кофилин и фактор деполимеризации актина (ADF) являются членами семейства важных консервативных малых актин-связывающих белков, которые играют ключевую роль в цитокинезе, эндоцитозе, эмбриональном развитии, реакции на стресс и регенерации тканей (Carrier, M.F. et al. (1999) *J Biol Chem* 274, 33827-30.). В ответ на раздражители кофилин способствует регенерации актиновых волокон путем разрыва ранее существовавших волокон (Condeelis, J. (2001) *Trends Cell Biol* 11, 288-93.). Расщепляющая активность кофилина ингибируется фосфорилированием LIMK или TESK при Ser3 кофилина (Arber, S. et al. (1998) *Nature* 393, 805-9, Yang, N. et al. (1998) *Nature* 393, 809-12, Toshima, J. et al. (2001) *J Biol Chem* 276, 31449-58.). Фосфорилирование по Ser3 также

регулирует транслокацию кофилина из ядра в цитоплазму (Neb1, G. et al. (1996) J Biol Chem 271, 26276-80.). [<https://www.cellsignal.com/products/primary-antibodies/фосфокофилин-ser3-77g2-rabbit-mab/3313>]

Измерение уровней биомаркеров в моче

Уровни белка в моче могут быть измерены с использованием способов, известных в данной области техники, как описано выше, и биомаркеры могут быть измерены в концентрированных образцах мочи. Антитела, специфические в отношении Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM-киназы 1 и фосфокофилина, коммерчески доступны. Образцы мочи могут быть обработаны одним или более из этих антител в соответствии со способами, известными специалистам.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъекта отбирают на основе уровня в моче Rac1 выше предварительно определенного порогового значения. Пороговое значение может быть скорректировано на основе уровня Rac1 (или другого метаболита) у субъектов с определенным заболеванием почек (например, для FSGS по сравнению с мембранозной нефропатией) и/или на основании результатов клинических испытаний.

Согласно некоторым вариантам осуществления уровень в моче Rac1 у субъекта измеряют во фракции мочи, содержащей внеклеточные везикулы. Когда активный Rac1 локализуется на плазматической мембране, микровезикулы представляют собой класс внеклеточных везикул, которые образуются в результате отпочкования плазматической мембраны. Высвобождение микровезикул увеличивается посредством увеличения содержания кальция и разрушения цитоскелета, событий, которые играют центральную роль в повреждении подоцитов при FSGS и DN. Внеклеточные везикулы можно фракционировать и выделять из мочи согласно определенным вариантам осуществления с использованием ультрацентрифугирования.

Согласно некоторым вариантам осуществления предварительно определенный пороговый уровень устанавливают путем определения диапазона уровней в моче выбранного биомаркера в популяции здоровых людей и установления предварительно определенного порогового уровня для выбранного биомаркера при уровне выше 75-ого перцентиля в популяции. В контексте настоящего изобретения «n-й перцентиль» относится к значению по 100-балльной шкале, которое указывает процент распределения, равный ему или ниже его. Например, уровень биомаркера выше 75-ого перцентиля в популяции относится к уровню биомаркера, который присутствует при концентрации, превышающей его значение у нижних 75% популяции. В контексте настоящего изобретения «популяция» представляет собой группу или когорту субъектов (например, млекопитающих, кошачьих, псовых, приматов или людей), например, согласно некоторым вариантам осуществления предварительно определенный пороговый уровень устанавливают путем определения диапазона уровней в моче выбранного биомаркера в популяции здоровых людей (т.е., в группе или когорте здоровых людей) и установления предварительно определенного порогового уровня для выбранного биомаркера при уровне выше 75-ого перцентиля в популяции.

Согласно некоторым вариантам осуществления предварительно определенный пороговый уровень находится при уровне выше 90-ого перцентиля в популяции. Согласно некоторым вариантам осуществления предварительно определенный пороговый уровень находится при уровне выше 95-ого перцентиля в популяции.

Согласно некоторым вариантам осуществления предварительно определенный пороговый уровень для Rac1 в моче составляет между 100-500 пг/мл.

Способы определения эффективности лечения

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу определения эффективности терапии ингибитором TRPC5 у субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, где перед началом терапии у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения, причем способ предусматривает:

- a. получение уровня в моче выбранного биомаркера у субъекта-человека в момент времени после начала лечения TRPC5,
- b. сравнение уровня выбранного биомаркера со стадии а. с уровнем в моче до лечения выбранного биомаркера,
- c. определение, что терапия TRPC5 является эффективной, если уровень выбранного биомаркера на стадии а. ниже уровня в моче до лечения выбранного биомаркера.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу определения эффективности терапии ингибитором TRPC5 у субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, где перед началом терапии у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения, причем способ предусматривает:

- a. получение уровня в моче выбранного биомаркера у субъекта-человека в момент времени после начала лечения TRPC5 и
- b. определение, что терапия TRPC5 является эффективной, если уровень выбранного биомаркера на стадии а. ниже предварительно определенного порогового значения для выбранного биомаркера.

Примеры

Настоящее изобретение далее описано посредством следующих примеров, которые не ограничивают объем настоящего изобретения, раскрытый в формуле изобретения.

Пример 1. Анализ активности TRPC5

Клетки ICLN-1633 (HEK-TREx hTRPC5), экспрессирующие TRPC5, получали следующим образом. Имеющиеся в продаже клетки НекТrex-293 высевали в количестве $0,7 \times 10^6$ клеток/лунка в 1×6-луночный культуральный планшет за 24 часа до трансфекции с использованием 2 мл среды для выращивания клеток, не содержащей антибиотиков (1×DMEM/высокое содержание глюкозы (Hyclone #SH30022.02), 10% эмбриональная бычья сыворотка (Sigma), 2 mM пируват натрия, 10 mM HEPES). Кодирующую последовательность TRPC5 человека (NM_012471 с молчащей мутацией T478C) клонировали в pcDNA5/TO (Invitrogen, кат. № V103320) с использованием гигромицина в качестве гена устойчивости и плазмиды (SEQ ID NO:2), размноженной с использованием T-Rex-293 клеток (Invitrogen, № по каталогу R71007) в соответствии с указаниями производителя. На 2-й день готовили 2 мкг плазмидной ДНК плюс 6 мкл реагента Xtreme-GENE HP в OptiMem (общий объем 200 мкл) и инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре. Этот плазмидный раствор затем осторожно, по каплям, вносили в каждую лунку и осторожно вращали культуральный планшет для смешивания комплекса со средой в течение, приблизительно, 30 секунд. Трансфицированные клетки

инкубировали при 37°C в инкубаторе с 10% CO₂ в течение 24 часов. Трансфицированные клетки собирали и переносили в чашки размером 2 × 150 мм, содержащие среду для роста клеток без антибиотиков, при 37 °C.

На следующий день начинали селекцию для создания стабильного пула путем добавления среды для роста клеток, содержащей 150 мкг/мл гигромицина и 5 мкг/мл бластицидина, и давали клеткам расти. Среду с селекционным агентом меняли каждые 1-2 дня по мере необходимости для удаления мертвых клеток. Через 7 дней концентрацию гигромицина снижали до 75 мкг/мл и продолжали рост клеток.

Отдельные клоны отбирали следующим образом. Стабильный пул разбавляли до 10 клеток/мл и высевали (100 мкл/лунка) в 24 × 96-луночные планшеты (~1 клетка/лунка) и оставляли для роста в течение 7 дней в среде для роста клеток. Добавляли свежую среду (100 мкл) и позволяли клеткам расти еще 1-2 недели, а затем хранили в замороженном виде или использовали немедленно.

Соединения готовили или поставляли в виде 10 мМ стокового раствора, обычно с использованием диметилсульфоксида (ДМСО) в качестве носителя. 10-точечные кривые доза-эффект строили с использованием акустического дозатора Echo-550. Планшеты с исходными соединениями готовили путем серийного разбавления стокового соединения с получением растворов 10 мМ, 1 мМ и 0,1 мМ в ДМСО в сертифицированных Echo LDV планшетах. Затем в акустическом дозаторе Echo последовательно раскапывали 100% стоковый раствор ДМСО в реакционные планшеты с исходной дозой для создания схемы 4-кратного разведения. 100% ДМСО добавляли в реакционные планшеты с нанесенными дозами, чтобы довести конечный объем до 5 мкл. Затем 300 нл дозы из стокового реакционного планшета раскапывали в планшеты для преинкубации и анализа стимуляции. Затем в планшеты добавляли 50 мкл буфера для преинкубации и 100 мкл буфера для стимуляции, в результате чего конечный тестируемый диапазон концентраций в анализе составлял от 30 мкМ до 0,0001 мкМ с конечной концентрацией ДМСО 0,3%.

Экспрессирующие ICLN-1633 клетки человека высевали в 384-луночные микропланшеты с черным PDL покрытием и выдерживали в ростовой среде TRPC5 за день до использования в экспериментах. Экспрессию TRPC5 индуцировали применением 1 мкг/мл тетрациклина во время посева. Из планшетов удаляли среду и к клеткам добавляли 10 мкл 4 мкМ Fluo-4 AM (смешанного с равным объемом Pluronic F-127) в EBSS. Клетки инкубировали при комнатной температуре в защищенном от света месте в течение 60-90 минут. После периода инкубации краситель удаляли и заменяли 10 мкл EBSS. Планшеты с клетками для предварительной инкубации и стимуляции загружали в FLIPR-II, после чего начинали анализ. В приборе FLIPR измеряли 10-секундную базовую линию, а затем добавляли 10 мкл 2X соединений (или контролей). Изменения флуоресценции отслеживали в течение дополнительных 5 минут. После 5-минутной предварительной инкубации в лунки планшета добавляли 20 мкл 2X рилузола (с 1X соединением или контролями). Конечная концентрация рилузола для стимуляции в анализе составляла 30 мкМ. После добавления рилузола наблюдали за изменениями флуоресценции в течение дополнительных 5 минут.

Модуляцию соединениями кальциевого ответа TRPC5 определяли следующим образом. После введения Энглерина А флуоресценцию контролировали в течение 5-минутного периода. Максимальную относительную реакцию флуоресценции (минус контрольная реакция 1 мкМ внутреннего контрольного соединения, которое, как известно, максимально блокирует кальциевую реакцию TRPC5, «REF INHIB» в приведенной ниже формуле) фиксировали и экспортировали из FLIPR.

Эффект влияния соединения вычисляли как % ингибирования по следующей формуле:

$$\% \text{ ингибирования} = \frac{RFU \text{ тестируемого агента} - \text{среднее значение } RFU \text{ REF INHIB}}{\text{среднее значение } RFU \text{ контроля} - \text{среднее значение } RFU \text{ REF INHIB}} \times 100$$

где «RFU» – это относительные единицы флуоресценции.

Результаты этих анализов представлены в Таблице 2 ниже, где «А» означает IC50, меньшую или равную 50 нМ, «В» - IC50 больше 50 нМ и меньше или равно 500 нМ, «С» - IC50 больше 500 нМ и меньше 1 мкМ, «D» - IC50 1 мкМ или больше, и «NT» указывает на то, что соединение не тестировалось.

Пример 2. Анализ мочи на Rac1 у здоровых добровольцев, больных DN, FSGS, PKD и наследственным геморрагическим нефритом

Целью данного исследования было измерение количества белка Rac1 в моче здоровых добровольцев и пациентов с диабетической нефропатией («DN»), FSGS, поликистозной болезнью почек («PKD») и наследственным геморрагическим нефритом.

Образцы мочи получали у здоровых добровольцев, а также у пациентов с DN, FSGS, PKD и наследственным геморрагическим нефритом. Образцы концентрировали с использованием белкового концентратора Pierce с 10 кДа MWCO (кат. № 88516, Thermo Scientific, США) и центрифугировали при 6000 × g в течение 30 мин при 4 °C с использованием ротора JA 14.50 (Beckman Coulter, США) в центрифуге AVANTI-JE (Beckman Coulter). Второе центрифугирование при 6000 × g в течение 30 минут при 4 °C проводили для образцов, которые были сконцентрированы до объема >1 мл, чтобы получить объем <1 мл для всех образцов. Концентрированную мочу собирали и хранили при температуре -80°C. Затем образцы анализировали на наличие Rac1 в моче с помощью ELISA (кат. № abx253084, Abnova Ltd, Великобритания), следуя стандартным процедурам в соответствии с инструкциями производителей.

Как показано на фиг. 1А, уровень Rac1 в моче здоровых людей составил 56,4 ± 15,7 пг/мл, уровень Rac1 в моче пациентов с DN составил 6600,0 ± 3677,1 пг/мл, уровень Rac1 в моче пациентов с FSGS составил 19610,4 ± 30 070,6 пг/мл, а уровень Rac1 в моче пациентов с наследственным геморрагическим нефритом составил 20,6 ± 71,4 пг/мл (все результаты являются средними ± стандартное отклонение). Нижний предел количественного определения для анализа составляет приблизительно 10 пг/мл при начальном объеме мочи (до концентрирования) >3 мл. Были доступны ограниченные начальные объемы образцов мочи пациентов с наследственным геморрагическим нефритом, в результате чего нижний предел количественного определения составлял примерно 100 пг/мл, большинство образцов были ниже предела количественного определения (BLQ). С поправкой на вводимый объем пациенты с наследственным геморрагическим нефритом имели уровни Rac1, сравнимые со значениями здоровых субъектов.

Когда в анализ были включены уровни Rac1 у дополнительных здоровых пациентов, пациентов с DN и FSGS, а также пациентов с PKD, уровень Rac1 в моче здоровых людей определяли как 107,0 ± 44,6 пг/мл, уровень Rac1 в моче пациентов с DN составил 1692,9 ± 3365,8 пг/мл, уровень Rac1 в моче пациентов с FSGS составил 24525,9 ± 39369,2 пг/мл, а уровень Rac1 в моче пациентов с PKD составил 2379,0 ± 654,4 пг/мл (см. фиг. 1В).

Пример 3. Анализ мочи на Rac1 у интактных крыс после лечения Соединением 1

Целью данного исследования было измерение количества белка Ras1 в моче здоровых крыс, получавших Соединение 1.

Крыс Sprague Dawley в возрасте от шести до семи недель помещали в метаболическую клетку для сбора мочи. После двух 24-часовых периодов предварительного сбора мочи получали одну дневную дозу Соединения 1, вводимую перорально через желудочный зонд при дозе 10 мг/кг в течение 7 дней, контрольным животным вводили носитель. Мочу собирали в течение 24-часовых периодов, начиная со дня начала введения дозы и в дни 3 и 6 введения дозы. Никаких нежелательных явлений у животных, которым вводили Соединение 1, не наблюдали.

Образцы мочи концентрировали следующим образом: 20 мл мочи центрифугировали при $1500 \times g$ в течение 5 минут для удаления клеточного дебриса. Образцы концентрировали с использованием белкового концентратора Pierce с 10 кДа MWCO (кат. № 88516, Thermo Scientific, США) и центрифугировали при $6000 \times g$ в течение 30 мин при $4^\circ C$ с использованием ротора JA 14.50 (Beckman Coulter, США) в центрифуге AVANTI-JE (Beckman Coulter). Второе центрифугирование при $6000 \times g$ в течение 30 минут при $4^\circ C$ проводили для образцов, которые были сконцентрированы до объема >1 мл, чтобы получить объем <1 мл для всех образцов. Концентрированную мочу собирали и хранили при температуре $-80^\circ C$. Затем образцы анализировали на содержание Ras1 в моче с помощью ELISA (кат. № abx253084, Abnova Ltd, Великобритания) и на содержание креатинина в моче с помощью ELISA (кат. № ab65340, Abcam, США), следуя стандартным процедурам в соответствии с инструкциями производителя. Количество Ras1 в моче нормализовали по количеству креатинина в моче для контроля объема выделяемой мочи.

Как показано на фиг. 2, Соединение 1 снижало уровни Ras1 в моче, и это снижение достигло значимости на 4-й день, по сравнению с уровнями Ras1 в моче до введения дозы (значение $p < 0,01$).

Пример 4. Анализ мочи на Ras1 у гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль, после лечения Соединением 1

Цель этого исследования заключалась в измерении количества белка Ras1 в моче гипертензивных крыс, получивших DOCA-соль, которые получали Соединение 1.

Модель гипертензии крыс, вызванной DOCA-солью, представляет собой хорошо зарекомендовавшую себя модель минералокортикоидной гипертензии с почечной дисфункцией, приводящей к фенотипу FSGS, характеризующемуся повышенным уровнем экскреции белка и альбумина в моче [Schenk et al., «The pathogenesis of DOCA-salt hypertension,» *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* (May 1992) 27(3):161-170, Gomez-Sanchez et al., «Mineralocorticoids, salt and high blood pressure,» *Steroids* (1996) 61:184-188.]

Крыс Sprague Dawley в возрасте от шести до семи недель подвергали односторонней нефрэктомии. После недельного выздоровления крысам имплантировали гранулу DOCA (45 мг) и давали водопроводную воду, содержащую 0,9% NaCl и 0,2% KCl (День 1), в течение 4 недель лечения. На 21-й День крысы получали одну дневную дозу Соединения 1, вводимую через желудочный зонд в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней. Массу тела регистрировали ежедневно на протяжении всего исследования. Нежелательные явления у животных, которым вводили Соединение 1, не наблюдали. Мочу собирали в течение 24-часовых периодов, начиная с 17-го, 20-го, 24-го и 27-го Дня, и измеряли белок и альбумин в моче с использованием стандартных способов.

Для анализа на Ras1 образцы мочи концентрировали следующим образом: 20 мл мочи центрифугировали при $1500 \times g$ в течение 5 минут для удаления клеточного дебриса. Образцы концентрировали с использованием белкового концентратора Pierce с 10 кДа MWCO (кат. № 88516, Thermo Scientific, США) и центрифугировали при $6000 \times g$ в течение 30 мин при $4^\circ C$ с использованием ротора JA 14.50 (Beckman Coulter, США) в центрифуге AVANTI-JE (Beckman Coulter). Второе центрифугирование при $6000 \times g$ в течение 30 мин при $4^\circ C$ проводили для образцов, которые были сконцентрированы до объема >1 мл, чтобы получить объем <1 мл для всех образцов. Концентрированную мочу собирали и хранили при температуре $-80^\circ C$. Затем образцы анализировали на содержание Ras1 в моче с помощью ELISA (кат. № abx253084, Abbeexa Ltd, Великобритания) и на содержание креатинина в моче с помощью ELISA (кат. № ab65340, Abcam, США), следуя стандартным процедурам в соответствии с инструкциями производителя. Количество Ras1 в моче нормализовали по количеству креатинина в моче для контроля объема выделяемой мочи.

Как показано на фиг. 3, после начала введения дозы на 21-й День Соединение 1 снижало уровни Ras1 в моче, и это снижение достигло значимости на 25-й день, по сравнению с уровнями Ras1 в моче до введения дозы (значение $p < 0,01$).

Пример 5. Анализ мочи на Ras1 у здоровых людей после лечения Соединением 1

Целью данного исследования было измерение количества белка Ras1 в моче субъектов - здоровых людей, получавших Соединение 1.

Субъектам-здоровым людям, включенным в Фазу I клинического испытания «Первое плацебо-контролируемое исследование Фазы I на людях для оценки безопасности, переносимости и фармакокинетики Соединения 1, ингибитора канала TRPC5, у здоровых субъектов и субъектов с почечной недостаточностью» (NCT03970122), вводили перорально однократно либо плацебо, либо 20 мг Соединения 1 в виде таблетки. Образец мочи собирали до введения лекарственного средства, а затем собирали пулы мочи через 0-4 часа, 4-8 часов, 8-12 часов, 12-24 часа, 24-48 часов и 48-72 часа после введения дозы.

Для анализа Ras1 образцы мочи концентрировали следующим образом: 20 мл мочи центрифугировали при $1500 \times g$ в течение 5 минут для удаления клеточного дебриса. Образцы концентрировали с использованием белкового концентратора Pierce с 10 кДа MWCO (кат. № 88516, Thermo Scientific, США) и центрифугировали при $6000 \times g$ в течение 30 мин при $4^\circ C$ с использованием ротора JA 14.50 (Beckman Coulter, США) в центрифуге AVANTI-JE (Beckman Coulter). Второе центрифугирование при $6000 \times g$ в течение 30 минут при $4^\circ C$ проводили для образцов, которые были сконцентрированы до объема >1 мл, чтобы получить объем <1 мл для всех образцов. Концентрированную мочу собирали и хранили при температуре $-80^\circ C$. Затем образцы анализировали на содержание Ras1 в моче с помощью ELISA (кат. № abx253084, Abbeexa Ltd, Великобритания) и на содержание креатинина в моче с помощью ELISA (кат. № ab65340, Abcam, США), следуя стандартным процедурам в соответствии с инструкциями производителя. Количество Ras1 в моче нормализовали по количеству креатинина в моче для контроля объема выделяемой мочи.

Как показано на фиг. 4, Соединение 1 снижало уровни Ras1 в моче, и это снижение достигло значимости через 8-12 часов после введения дозы, по сравнению с уровнями Ras1 в моче до введения дозы (значение $p < 0,05$).

Дополнительные данные были получены от субъектов-людей, которым вводили однократную пероральную дозу либо плацебо, либо 5 мг Соединения 1 в виде жидкой суспензии, либо 20, 40 или 80 мг

Соединения 1 в виде таблеток. Образец мочи собирали до введения лекарственного средства, а затем собирали пулы мочи с 0–4 часов, 4–8 часов, 8–12 часов, 12–24 часов и каждые 24 часа со 2-го по 7-й день после дозирования. Каждый уровень дозы включал 2 плацебо и 8 субъектов, получавших лечение. Эти результаты показаны на фиг. 4В.

Как показано на фиг. 4В, Соединение 1 снижало уровни Rac1 в моче, и это снижение достигло значимости через 8-12 часов после введения доз 40 мг и 80 мг, по сравнению с уровнями Rac1 в моче до введения дозы (значение $p < 0,05$). Уровни Rac1 в моче оставались сниженными в течение 4 дней при однократном приеме дозы 40 мг и не менее 7 дней при однократном приеме дозы 80 мг, что согласуется с поддерживаемыми концентрациями в плазме на основании фармакокинетического анализа.

Пример 6. Rac1 обнаруживают во внеклеточных везикулах в моче субъектов - здоровых людей.

Целью этого исследования было определить, обнаруживается ли белок Rac1 в виде растворимого белка в моче или содержится во внеклеточных везикулах.

Внеклеточные везикулы представляют собой связанные с мембраной частицы клеточного происхождения, которые играют важную роль в межклеточной коммуникации [Ståhl *et al.*, «Exosomes and microvesicles in normal physiology, pathophysiology, and renal diseases,» *Pediatr. Nephrol.* (2019) 34: 11-30].

Субъектам - здоровым людям, включенным в Фазу 1 клинического испытания «Первое плацебо-контролируемое исследование Фазы 1 на людях для оценки безопасности, переносимости и фармакокинетики Соединения 1, ингибитора канала TRPC5, у здоровых субъектов и субъектов с почечной недостаточностью» (NCT03970122), вводили перорально однократно либо плацебо, либо 20 мг Соединения 1 в виде таблетки. Образец мочи собирали до введения лекарственного средства, а затем собирали пулы мочи через 0-4 часа, 4-8 часов, 8-12 часов, 12-24 часа, 24-48 часов и 48-72 часа после введения дозы.

Для анализа Rac1 образцы мочи концентрировали следующим образом: 20 мл мочи центрифугировали при $1500 \times g$ в течение 5 минут для удаления клеточного дебриса. Образцы концентрировали с использованием белкового концентратора Pierce с 10 кДа MWCO (кат. № 88516, Thermo Scientific, США) и центрифугировали при $6000 \times g$ в течение 30 мин при $4^\circ C$ с использованием ротора JA 14.50 (Beckman Coulter, США) в центрифуге AVANTI-JE (Beckman Coulter) для достижения объема 1-1,5 мл для всех образцов. 1 мл концентрированной мочи центрифугировали при $120000 \times g$ в течение 16 часов при $4^\circ C$ (ультрацентрифуга Sorvall mx120+, ротор типа S120-AT2, ThermoFisher, США) для осаждения внеклеточных везикул. Ротор с фиксированным углом был выбран для лучшей эффективности гранулирования из-за его более низкого К-фактора. Супернатант и осадок собирали и анализировали на наличие Rac1 с помощью ELISA (кат. № abx253084, Abbeexa Ltd, Великобритания), следуя стандартным процедурам в соответствии с инструкциями производителя.

Как показано на фиг. 5, большая часть Rac1 в моче обнаруживается в осадке внеклеточных везикул, при этом уровни Rac1 значительно выше, чем в супернатанте (значение $p < 0,005$).

Пример 7. Анализ мочи на Rac1-GTP у субъектов - людей

Целью данного исследования является измерение количества активного белка Rac1 (Rac1-GTP) в моче субъектов - здоровых людей и пациентов с заболеваниями почек.

Rac1-GTP является активной формой Rac1, и при активации Rac1 локализуется на клеточной мембране [Garcia-Mata *et al.*, «The invisible hand: regulation of RHO GTPases by RHO GDI», *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* (2011) 12: 493-504]. Мембранная локализация Rac1 согласуется с присутствием Rac1 во внеклеточных везикулах.

Образцы мочи концентрировали следующим образом: 20 мл мочи центрифугировали при $1500 \times g$ в течение 5 мин для удаления клеточного дебриса. Образцы концентрировали с использованием белкового концентратора Pierce с 10 кДа MWCO (кат. № 88516, Thermo Scientific, США) и центрифугировали при $6000 \times g$ в течение 30 мин при 4°C с использованием ротора JA 14.50 (Beckman Coulter, США) в центрифуге AVANTI-JE (Beckman Coulter). Второе центрифугирование при $6000 \times g$ в течение 30 мин при 4°C проводили для образцов, которые были сконцентрированы до объема >1 мл, чтобы получить объем <1 мл для всех образцов. Концентрированную мочу собирали и хранили при температуре -80°C . Затем образцы анализировали на содержание Rac1-GTP в моче с помощью G-LISA (кат. № BK128, Cytoskeleton, США) и содержание креатинина в моче с помощью ELISA (кат. № ab65340, Abcam, США), следуя стандартным процедурам в соответствии с инструкциями производителя. Количество Rac1-GTP в моче нормализовали по количеству креатинина в моче для контроля объема выделяемой мочи.

Пример 8. Анализ мочи на фосфо-LIMK1 у субъектов - людей

Целью данного исследования является измерение количества фосфо-LIMK1 в моче субъектов - здоровых людей и пациентов с заболеваниями почек.

Образцы мочи концентрировали следующим образом: 20 мл мочи центрифугировали при $1500 \times g$ в течение 5 мин для удаления клеточного дебриса. Образцы концентрировали с использованием белкового концентратора Pierce с 10 кДа MWCO (кат. № 88516, Thermo Scientific, США) и центрифугировали при $6000 \times g$ в течение 30 мин при 4°C с использованием ротора JA 14.50 (Beckman Coulter, США) в центрифуге AVANTI-JE (Beckman Coulter). Второе центрифугирование при $6000 \times g$ в течение 30 мин при 4°C проводили для образцов, которые были сконцентрированы до объема >1 мл, чтобы получить объем <1 мл для всех образцов. Концентрированную мочу собирали и хранили при температуре -80°C . Затем образцы анализировали на содержание фосфо-LIMK1 в моче с помощью ELISA (кат. № 3842S, Cell Signaling Technologies) и на содержание креатинина в моче с помощью ELISA (кат. № ab65340, Abcam, США), следуя стандартным процедурам в соответствии с инструкциями производителя. Количество фосфо-LIMK1 в моче нормализовали по количеству креатинина в моче для контроля объема выделяемой мочи.

Фосфо-LIMK1 также оценивали с помощью иммуноблоттинга. Лизис концентрированной мочи проводили с помощью буфера для лизиса $1 \times$ RIPA (кат. № 20-188, EMD Millipore, США) с коктейлем ингибиторов протеаз (кат. № P8340, Sigma, США) и пропускали через SDS-полиакриламидный гель, переносили на поливинилдендифторидную мембрану и проводили иммуноблоттинг с первичным антителом к фосфо-LIMK1 (кат. № 3842S, Cell Signaling Technologies) в соответствии со стандартными процедурами.

Пример 9. Анализ мочи на фосфокофлин у субъектов - людей

Целью данного исследования является измерение количества фосфокофлина в моче у субъектов - здоровых людей и пациентов с заболеваниями почек.

Образцы мочи концентрировали следующим образом: 20 мл мочи центрифугировали при $1500 \times g$ в течение 5 мин для удаления клеточного дебриса. Образцы концентрировали с использованием белкового концентратора Pierce с 10 кДа MWCO (кат. № 88516, Thermo Scientific, США) и центрифугировали при $6000 \times g$ в течение 30 мин при $4^\circ C$ с использованием ротора JA 14.50 (Beckman Coulter, США) в центрифуге AVANTI-JE (Beckman Coulter). Второе центрифугирование при $6000 \times g$ в течение 30 мин при $4^\circ C$ проводили для образцов, которые были сконцентрированы до объема >1 мл, чтобы получить объем <1 мл для всех образцов. Концентрированную мочу собирали и хранили при температуре $-80^\circ C$. Затем образцы анализировали на содержание фосфокофилина в моче с помощью ELISA (кат. № 3318S, Cell Signaling Technologies) и на содержание креатинина мочи с помощью ELISA (кат. № ab65340, Abcam, США), следуя стандартным процедурам в соответствии с инструкциями производителя. Количество фосфокофилина в моче нормализовали по количеству креатинина в моче для контроля объема выделяемой мочи.

Фосфокофилин также оценивали с помощью иммуноблоттинга. Лизис концентрированной мочи проводили с помощью буфера для лизиса $1 \times$ RIPA (кат. № 20-188, EMD Millipore, США) с коктейлем ингибиторов протеаз (кат. № P8340, Sigma, США) и пропускали через SDS-полиакриламидный гель, переносили на поливинилидендифторидную мембрану и проводили иммуноблоттинг с первичным антителом к фосфокофину (кат. № 3318S, Cell Signaling Technologies) в соответствии со стандартными процедурами.

Пример 10. Влияние Соединения 1 на ZDSD-модель диабетической нефропатии

Цель этого исследования заключалась в оценке влияния ингибитора TRCP5, Соединения 1, на ослабление развития и/или прогрессирования альбуминурии у ZDSD-модели диабетической нефропатии (DN).

Модель ZDSD — это признанная модель, которая объединяет основные признаки диабета, включая нарушение метаболизма глюкозы, невропатию, ретинопатию и нефропатию [Peterson *et al.*, «Characterization of the ZDSD Rat: A Translational Model for the Study of Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes,» *J. Diabetes. Res.* (2015), Article ID 487816, 10 pages, Peterson *et al.*, «The ZDSD rat: a novel model of diabetic nephropathy,» *Am. J. Transl. Res.* (2017) 9: 4236-4249].

Самцов крыс ZDSD (Crown Bioscience, Индианаполис, Индиана, $n = 79$) содержали на стандартном корме для грызунов (Purina 5008) с момента отъема до 15-недельного возраста. Диабетогенную диету (Research Diet D124668) начинали и поддерживали в течение трех недель, чтобы синхронизировать развитие гипергликемии. Диабетогенную диету заменяли на Purina 5008 до конца исследования. Животных помещали по двое в клетку и поддерживали 12-часовой световой цикл (06:00-18:00). Комнатную температуру контролировали ежедневно и поддерживали на уровне $70-74^\circ F$. Пищу и воду предоставляли свободно на протяжении всего исследования.

Крыс ZDSD с гипергликемией отбирали для исследования, рандомизировали по массе тела на группы по десять особей и распределяли для получения носителя или Соединения 1 (3 или 10 мг/кг/сутки). Все соединения вводили перорально через желудочный зонд ежедневно (6-8 утра) в течение 12 недель. Объем дозы поддерживали на уровне 5 мл/кг.

Массу тела регистрировали еженедельно. Потребление пищи регистрировали еженедельно в течение фазы лечения с 0 по 12 неделю. Образцы крови брали из хвостовой вены через три часа после введения дозы и каждые две недели до 6 недели, затем еженедельно с 8 по 11 неделю. Цельную кровь подвергали обработке для получения сыворотки для измерения азота мочевины, креатинина, альбумина, общего белка (AU480).

Образцы 24-часовой мочи собирали в начале исследования, затем каждые две недели до шестой недели, а затем еженедельно. Образцы отбирали при комнатной температуре и без добавок. Пищу и воду предоставляли свободно во время периода сбора. Анализировали общий белок мочи (AU480) и альбумин (набор ICL # E-25AL). Животных умерщвляли после 12 недель лечения с помощью асфиксии CO₂ и смещения шейных позвонков.

Животные, получавшие Соединение 1 в дозе 3 мг/кг и 10 мг/кг, продемонстрировали увеличение массы тела, по сравнению с животными, получавшими носитель, в течение последних двух недель исследования.

Как показано на фиг. 6, Соединение 1 ослабляло экскрецию альбумина в моче с 6 по 12 неделю, и снижение достигло значимости на 10-12 неделе, по сравнению с контрольными крысами, получавшими носитель (значение $p < 0,001$).

Пример 11. Влияние Соединения 1 на гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль

Цель этого исследования состояла в том, чтобы оценить влияние ингибитора TRCP5, Соединения 1, на ослабление развития и/или прогрессирования альбуминурии у крыс с гипертонической болезнью, получавших ацетат дезоксикортикостерона (DOCA).

Модель гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль, представляет собой хорошо зарекомендовавшую себя модель минералокортикоидной гипертензии с почечной дисфункцией, приводящей к фенотипу FSGS, характеризующемуся повышенным уровнем экскреции белка и альбумина в моче [Schenk et al., «The pathogenesis of DOCA-salt hypertension,» *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* (May 1992) 27(3):161-170, Gomez-Sanchez et al., «Mineralocorticoids, salt and high blood pressure,» *Steroids* (1996) 61:184-188.]

Крысам Sprague Dawley в возрасте от шести до семи недель проводили одностороннюю нефрэктомию, после недельного выздоровления крысам имплантировали гранулу DOCA (45 мг) и давали водопроводную воду, содержащую 0,9% NaCl и 0,2% KCl (День 1), в течение 4 недель лечения. В День 1 крысы, получившие соль DOCA, получали одну дневную дозу Соединения 1, вводимую перорально через желудочный зонд в дозе 3 мг/кг или 10 мг/кг в течение 4 недель, контрольным животным, получившим DOCA-соль, для лечения вводили носитель. Имитационным животным, которым имплантировали силиконовый шарик с водой, давали водопроводную воду и перорально вводили носитель. Массу тела регистрировали ежедневно, а протеинурию, альбуминурию и артериальное давление регистрировали каждую неделю.

У животных, получавших Соединение 1, нежелательных явлений не наблюдали. Не было существенной разницы в массе тела и экскреции креатинина в моче у крыс, получавших DOCA-соль или DOCA-соль и Соединение 1. У животных, получавших DOCA-соль или DOCA-соль и Соединение 1, было повышенное среднее артериальное кровяное давление (АД), диастолическое и систолическое АД, по сравнению с фиктивными животными с 1 по 4 неделю.

Потребление воды и объем выделяемой мочи за день увеличились у животных, получивших DOCA-соль и лечение с последующим введением носителя или Соединения 1.

Как показано на фиг. 7, Соединение 1 при дозе 10 мг/кг ослабляло экскрецию альбумина в моче со 2-й по 4-ю неделю, и снижение достигло значимости на 2-й неделе, по сравнению с контрольными крысами, получавшими DOCA-соль и носитель (значение $p < 0,05$), и через 3 и 4 недели (значение $p < 0,001$). Соединение 1 в дозе 3 мг/кг ослабляло экскрецию альбумина в моче со 2-й по 4-ю неделю, и снижение было значимым на 3-й неделе, по сравнению с контрольными крысами, получавшими DOCA-соль и носитель (значение $p < 0,05$).

Пример 12. Влияние Соединения 1 на мышей с выключенным COL4A4 геном

Цель этого исследования заключалась в оценке влияния ингибитора TRCP5, Соединения 1, на ослабление развития и/или прогрессирования альбуминурии у мышей с выключенным COL4A3 геном.

Модель мышей с выключенным COL4A4 геном представляет собой хорошо зарекомендовавшую себя модель наследственного геморрагического нефрита, характеризующуюся повышенным уровнем экскреции белка и альбумина в моче [Korstanje et al., «A mouse *Col4a4* mutation causing Alport glomerulosclerosis with abnormal collagen $\alpha3\alpha4\alpha5$ (IV) trimers.» *Kidney Int.* (2014) 85:1461-1468].

Мышам с выключенным COL4A4 геном в возрасте от четырех до пяти недель давали одну дневную дозу Соединения 1, которую вводили перорально через желудочный зонд в дозе 3 мг/кг или 10 мг/кг в течение 4 недель, контрольным животным вводили носитель. Массу тела регистрировали ежедневно, белок и креатинин в моче регистрировали каждую неделю, и рассчитывали отношение белка в моче к креатинину в моче (UPCR).

Как показано на фиг.8, Соединение 1 в дозе 3 мг/кг или 10 мг/кг не влияло на отношение белка в моче к креатинину в моче.

Пример 13. Влияние Соединения 2 на гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль

Цель этого исследования заключалась в оценке влияния ингибитора TRCP5, Соединения 2, на ослабление развития и/или прогрессирования альбуминурии у крыс с гипертонзией, получавших ацетат дезоксикортикостерона (DOCA-соль).

Модель гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль, представляет собой хорошо зарекомендовавшую себя модель минералокортикоидной гипертонзии с почечной дисфункцией, приводящей к фенотипу FSGS, характеризующемуся повышенным уровнем экскреции белка и альбумина в моче [Schenk et al., «The pathogenesis of DOCA-salt hypertension.» *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* (May 1992) 27(3):161-170, Gomez-Sanchez et al., «Mineralocorticoids, salt and high blood pressure.» *Steroids* (1996) 61:184-188.]

Крысам Sprague Dawley в возрасте от шести до семи недель проводили одностороннюю нефрэктомия, после недельного выздоровления крысам имплантировали гранулы DOCA (45 мг) и давали водопроводную воду, содержащую 0,9% NaCl и 0,2% KCl (День 1), в течение 4 недель лечения. В День 1 крысы, получившие DOCA-соль, получали одну дневную дозу Соединения 2, вводимую подкожной (п/к) инъекцией в дозе 10 мг/кг в течение 4 недель или в дозе 60 мг/кг в течение одной недели, а затем в дозе 100 мг/кг в течение трех недель, контрольным животным, получившим DOCA-соль, для лечения вводили носитель. Фиктивным животным, которым имплантировали силиконовый шарик с водой, давали водопроводную воду и подкожно вводили носитель. Массу тела регистрировали ежедневно, а протеинурию, альбуминурию и артериальное давление регистрировали каждую неделю.

Никаких нежелательных явлений не наблюдали у животных, которым вводили Соединение 2. Не было существенной разницы в массе тела и экскреции креатинина в моче у крыс, получавших DOCA-соль или DOCA-соль и Соединение 2. Животные, получавшие DOCA-соль или DOCA-соль и Соединение 2, имели повышенное среднее артериальное кровяное давление (АД), диастолическое и систолическое АД, по сравнению с фиктивными животными с 1 по 4 неделю.

Потребление воды и объем выделяемой за день мочи также увеличились у животных, получивших DOCA-соль и лечение носителем или соединением 2.

Как показано на фиг. 9, Соединение 2 в дозах 10 мг/кг и 60/100 мг/кг ослабляло экскрецию альбумина в моче со 2-й по 4-ю неделю, и снижение достигло значимости на 4-й неделе, по сравнению с контрольными крысами, получавшими DOCA-соль и носитель (значение $p < 0,05$).

Пример 14. Влияние Соединения 3 на гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль.

Цель этого исследования состояла в том, чтобы оценить влияние ингибитора TRCP5, Соединения 3, на ослабление развития и/или прогрессирования альбуминурии у крыс с гипертензией, получавших ацетат дезоксикортикостерона (DOCA-соль).

Модель гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль, представляет собой хорошо зарекомендовавшую себя модель минералокортикоидной гипертензии с почечной дисфункцией, приводящей к фенотипу FSGS, характеризующемуся повышенным уровнем экскреции белка и альбумина в моче [Schenk et al., «The pathogenesis of DOCA-salt hypertension,» *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* (May 1992) 27(3):161-170, Gomez-Sanchez et al., «Mineralocorticoids, salt and high blood pressure,» *Steroids* (1996) 61:184-188.]

Крысам Sprague Dawley в возрасте от шести до семи недель проводили одностороннюю нефрэктомию, после недельного выздоровления крысам имплантировали гранулу DOCA (45 мг) и давали водопроводную воду, содержащую 0,9% NaCl и 0,2% KCl (день 1), в течение 4 недель лечения. В День 1 крысы, получившие DOCA-соль, получали одну дневную дозу Соединения 3, вводимую перорально через желудочный зонд в дозе 30 мг/кг в течение 4 недель, контрольным животным, получившим DOCA-соль, для лечения вводили носитель или антагонист минералокортикоидных рецепторов (MCRA) эплеренон перорально два раза в день в дозе 50 мг/кг. Фиктивным животным, которым имплантировали силиконовый шарик с водой, давали водопроводную воду и подкожно вводили носитель. Массу тела регистрировали ежедневно, а протеинурию, альбуминурию и артериальное давление регистрировали каждую неделю.

Никаких нежелательных явлений не наблюдали у животных, которым вводили Соединение 3. Не было существенной разницы в массе тела и экскреции креатинина в моче у крыс, получавших DOCA-соль или DOCA-соль плюс Соединение 3 или эплеренон. Животные, получившие DOCA-соль, DOCA-соль и Соединение 3 или DOCA-соль и эплеренон, имели повышенное среднее артериальное кровяное давление АД), диастолическое и систолическое АД, по сравнению с фиктивными животными с 1 по 4 неделю. Потребление воды и объем мочи, вырабатываемый за день, увеличились у животных, получивших DOCA-соль и лечение с последующим введением носителя, Соединения 3 или эплеренона.

Как показано на фиг. 10, Соединение 3 в дозе 30 мг/кг значительно ослабляло экскрецию альбумина в моче на 4-й неделе, по сравнению с контрольными крысами, получившими DOCA-соль и носитель (значение $p < 0,05$). Эплеренон также значительно ослаблял экскрецию альбумина в моче на 4-й неделе, по сравнению с контрольными крысами, получившими DOCA-соль и носитель (значение $p < 0,05$).

Пример 15. Влияние Соединения 4 на гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль.

Цель этого исследования состояла в том, чтобы оценить влияние ингибитора TRCP5, Соединения 4, на ослабление развития и/или прогрессирования альбуминурии у крыс с гипертензией, получавших ацетат дезоксикортикостерона (DOCA-соль).

Модель гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль, представляет собой хорошо зарекомендовавшую себя модель минералокортикоидной гипертензии с почечной дисфункцией, приводящей к фенотипу FSGS, характеризующемуся повышенным уровнем экскреции белка и альбумина в моче [Schenk et al., «The pathogenesis of DOCA-salt hypertension,» *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* (May 1992) 27(3):161-170, Gomez-Sanchez et al., «Mineralocorticoids, salt and high blood pressure,» *Steroids* (1996) 61:184-188.]

Крысам Sprague Dawley в возрасте от шести до семи недель проводили одностороннюю нефрэктомию, после недельного выздоровления крысам имплантировали гранулу DOCA (45 мг) и давали водопроводную воду, содержащую 0,9% NaCl и 0,2% KCl (день 1), в течение 2 недель лечения. В День 1 крысы, получившие DOCA-соль, получали одну дневную дозу Соединения 4, вводимую внутрибрюшинной (IP) инъекцией в дозе 20 мг/кг, 50 мг/кг или 100 мг/кг в течение 2 недель, контрольным животным, получившим DOCA-соль, для лечения вводили носитель. Фиктивным животным, которым имплантировали силиконовый шарик с водой, давали водопроводную воду и внутрибрюшинно вводили носитель. Массу тела регистрировали ежедневно, а протеинурию, альбуминурию и артериальное давление регистрировали каждую неделю.

Никаких нежелательных явлений не наблюдали у животных, которым вводили Соединение 4. Не было существенной разницы в массе тела и экскреции креатинина в моче у крыс, получивших DOCA-соль или DOCA-соль и Соединение 4. Животные, получившие DOCA-соль или DOCA-соль и Соединение 4, имели повышенное среднее артериальное кровяное давление (АД), диастолическое и систолическое АД, по сравнению с фиктивными животными с 1 по 2 неделю.

Потребление воды и объем выделяемой за день мочи также увеличились у животных, получивших DOCA-соль и лечение носителем или Соединением 4.

Как показано на фиг. 11, Соединение 4 при дозах 20 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг значительно ослабляло экскрецию белка в моче на 2 неделе, по сравнению с контрольными крысами, получавшими DOCA-соль и носитель (значение $p < 0,05$).

Пример 16. Влияние циклоспорина А и такролимуса на гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль

Цель этого исследования состояла в том, чтобы оценить влияние ингибиторов кальциневрина, циклоспорина А и такролимуса, на ослабление развития и/или прогрессирования альбуминурии у крыс с гипертензией, получавших ацетат дезоксикортикостерона (DOCA-соль).

Модель гипертензивных крыс, получавших DOCA-соль, представляет собой хорошо зарекомендовавшую себя модель минералокортикоидной гипертензии с почечной дисфункцией, приводящей к фенотипу FSGS, характеризующемуся повышенным уровнем экскреции белка и альбумина в моче [Schenk et al., «The pathogenesis of DOCA-salt hypertension,» *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* (May 1992) 27(3):161-170, Gomez-Sanchez et al., «Mineralocorticoids, salt and high blood pressure,» *Steroids* (1996) 61:184-188.]

Крысам Sprague Dawley в возрасте от шести до семи недель проводили одностороннюю нефрэктомию, после недельного выздоровления крысам имплантировали гранулу DOCA (45 мг) и давали водопроводную воду,

содержащую 0,9% NaCl и 0,2% KCl (день 1), в течение 3 недель лечения. В 1-й день крысы, получившие DOCA-соль, получали одну дневную дозу циклоспорина А через желудочный зонд в дозе 3 мг/кг в течение 3 недель или одну дневную дозу такролимуса через желудочный зонд в дозе 0,3 мг/кг в течение 2 недель с последующим введением 0,1 мг/кг в течение одной недели, контрольным животным, получившим DOCA-соль, для лечения вводили носитель. Фиктивным животным, которым имплантировали силиконовый шарик с водой, давали водопроводную воду и вводили носитель. Каждую неделю регистрировали протеинурию и альбуминурию, ежедневно регистрировали массу тела.

Никаких нежелательных явлений не наблюдали у животных, которым вводили DOCA-соль или DOCA-соль и циклоспорин А. У крыс, получавших DOCA-соль и такролимус, наблюдали значительную потерю массы тела, и доза такролимуса была скорректирована с 0,3 мг/кг до 0,1 мг/кг после двух недель приема, что обратило потерю веса вспять.

Потребление воды и объем выделяемой за день мочи также увеличились у животных, получивших DOCA-соль и лечение носителем, циклоспорином А или такролимусом.

Как показано на фиг. 12, циклоспорин А в дозе 3 мг/кг значительно ослаблял экскрецию альбумина в моче на 3-й неделе, по сравнению с контрольными крысами, получившими DOCA-соль и носитель (значение $p < 0,05$), а такролимус в дозе 0,3/0,1 мг/кг значительно снижал экскрецию альбумина в моче на 2-й и 3-й неделе, по сравнению с контрольными крысами, получившими DOCA-соль и носитель (значение $p < 0,05$).

Пример 17. Анализ мочи на Rac1 у COVID-19-позитивных пациентов с острым повреждением почек

Цель этого исследования состояла в том, чтобы измерить количество белка Rac1 в моче пациентов с острым повреждением почек («АКИ»), которые дали положительный результат на COVID-19 с помощью ПЦР-тестирования.

Образцы мочи шести пациентов с активным АКИ после положительного теста на COVID-19 были получены, обработаны и проанализированы, как описано в Примере 2. Среднее значение Rac1 для шести пациентов составило $4221,13 \pm 5825,17$ пг/мл (по сравнению с $107,0 \pm 44,6$ пг/мл для нормальных пациентов). На фиг. 13 показано, что у трех из шести пациентов уровни Rac1 были повышены, по меньшей мере, в 8 раз, по сравнению с верхним пределом ~ 300 пг/мл у нормальных пациентов. Это говорит о том, что подгруппа пациентов с COVID-19 с АКИ будет иметь достаточно высокие концентрации Rac1 в моче (например, выше заранее определенного порога), чтобы их можно было лечить способами согласно настоящему изобретению.

Включение посредством ссылки

Все патенты США и опубликованные заявки на патенты США и РСТ, цитируемые в настоящем документе, настоящим включены посредством ссылки.

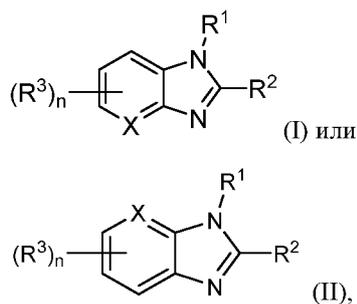
Эквиваленты

Приведенного выше описания достаточно для того, чтобы специалист в данной области техники мог использовать настоящее изобретение на практике. Объем настоящего изобретения не должен ограничиваться представленными примерами, поскольку примеры предназначены в качестве единственной иллюстрации одного

аспекта изобретения, а другие функционально эквивалентные варианты осуществления входят в объем настоящего изобретения. Различные модификации настоящего изобретения в дополнение к тем, которые показаны и описаны в настоящем документе, станут очевидными для специалистов в данной области техники из предшествующего описания и подпадают под объем прилагаемой формулы изобретения. Преимущества и задачи настоящего изобретения не обязательно охватываются каждым вариантом осуществления настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ отбора и лечения субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, включающий стадии:
- а. отбора субъекта, если уровень в моче одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, у субъекта выше предварительно определенного порогового значения, и
- б. введения отобранному субъекту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор TRPC5 или ингибитор кальциневрина и фармацевтически приемлемый носитель.
2. Способ лечения субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, включающий стадию введения субъекту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор TRPC5 или ингибитор кальциневрина и фармацевтически приемлемый носитель, только если у субъекта в моче до лечения определен уровень одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения.
3. Способ по п. 1 или 2, где ингибитор TRPC5 представляет собой:
- а. соединение Формулы (I) или Формулы (II):



или фармацевтически приемлемую соль любого из вышеуказанных, где:

X представляет собой CH, C(R³) или N,

R¹ выбран из группы, состоящей из H; алкила; циклоалкила; гетероциклоалкила; алкенила; арила; гетероарила; алкиленарила; алкиленгетероарила; -CH₂(O)N(R)-гетероарила; -CH₂(O)N(R)-алкила; алкилен-N(алкила)₂; гетероциклоалкила; алкилен-O-алкила; алкилен-O-арила; алкилен-N(R)-C(O)-арила; алкилен-N(R)-C(O)-алкила; алкилен-C(O)-N(R)-алкила; алкилен-C(O)-N(R)-арила; алкилен-C(O)-циклоалкила и алкилен-C(O)-N(R)-гетероарила;

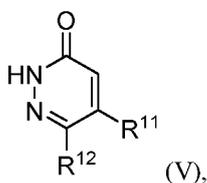
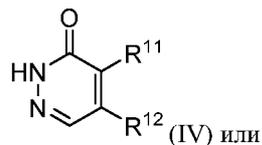
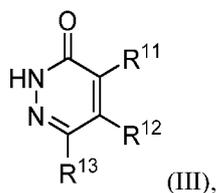
R² выбран из группы, состоящей из H; NH₂, алкила; циклоалкила; арила; гетероарила; алкиленарила; алкилен-N(алкила)₂; алкиленгетероциклоалкила; алкиленциклоалкила; -N(R)-алкила; -N(R)-арила; -N(R)-алкиленарила; -N(R)-циклоалкила; -N(R)-гетероциклоалкила; -O-арила; алкилен-O-арила; гетероциклоалкила; -N=C(R)-арила; -N(R)-алкиленгетероарила; -N(R)-алкилен-OH; -S-алкилен-C(O)N(R)-арила; -S-алкилен-C(O)N(R)-гетероарила; алкилен-C(O)-гетероциклоалкила; алкилен-N(R)-алкила; алкилен-N(R)-арила и -S-алкила;

R³ независимо выбран из алкила, галогена, -CN, -OMe, -OH, -NO₂, -NH₂, -N(Me)₂, -CF₃, -OCF₃, -CHF₂, -OCHF₂ и -O-алкилен-OH;

R представляет собой H или Me; и

n представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4;

b. соединение Формулы (III), (IV) или (V):



или таутомер или фармацевтически приемлемую соль любого из вышеуказанных, где:

R¹¹ и R¹³ независимо выбраны из группы, состоящей из H, алкила, алкенила, алкинила, арила, гетероцикла, гетероарила, галогена, -OH, -CN, -циклоалкила, -О-алкила, -О-циклоалкила, -О-арила, -арил-О-арил -CF₃, -C(H)F₂, алкилен-CF₃, алкилен-C(H)F₂, -SO₂-алкила и -О-алкилен-О-алкила, -гетероцикл-Л-R⁴ и -гетероарил-Л-R⁴,

R¹² представляет собой -гетероцикл-Л-R¹⁴,

R¹⁴ отсутствует или выбран из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, арила, алкиленарила, алкиленгетероарила, гетероарила, гетероцикла, -C(O)N(R¹⁵)₂ и CF₃,

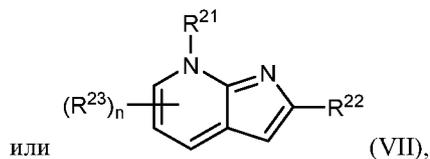
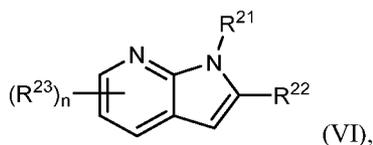
R¹⁵ независимо представляет собой H или алкил,

R¹⁶ выбран из группы, состоящей из алкила, циклоалкила, арила, гетероцикла, гетероарила, алкиленарила, -C(O)N(R¹⁵)₂ и CF₃,

L отсутствует или выбран из группы, состоящей из метилена, -C(O)-, -SO₂-, -CH₂N(Me)-, -N(R¹⁵)(R¹⁶)-, -C(R¹⁵)(R¹⁶)- и -O-R¹⁶, и

один и только один из R¹¹, R¹² и R¹³ представляет собой -гетероцикл-Л-R¹⁴ или гетероарил-Л-R¹⁴,

c. соединение Формулы (VI) или (VII):



или их фармацевтически приемлемую соль, где:

R²¹ выбран из группы, состоящей из алкила; циклоалкила; гетероциклоалкила; арила; гетероарила; алкиленарила; алкиленгетероарила; алкилен-О-арила; алкилен-N(алкила)₂; алкиленгетероциклоалкила; алкиленциклоалкила; -N(алкила)₂ и -C(O)-арила;

R²² выбран из группы, состоящей из алкила; циклоалкила; гетероциклоалкила; арила; гетероарила; алкилен-N(алкила)₂; алкиленгетероциклоалкила; алкиленциклоалкила; алкиленгетероциклоалкила и алкилен-OR';

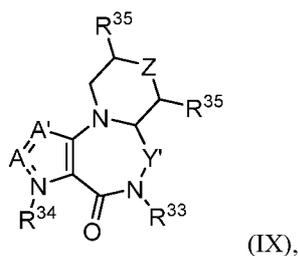
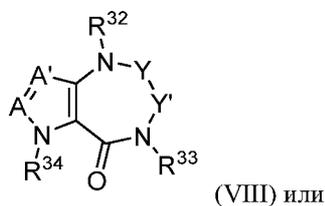
R²³ независимо выбран из алкила, галогена, OMe, OH, N(Me)₂, CF₃ или OCF₃, -O- и алкилен-OH;

R представляет собой H или Me;

R' представляет собой H, метил, этил или изопропил; и

n представляет собой 0, 1, 2, 3 или 4; или

d. соединение Формулы (VIII) или (IX):



или фармацевтически приемлемую соль любого из вышеуказанных, где:

A и A' независимо выбраны из CR^a и N,

R^a представляет собой L-R³¹,

L отсутствует или представляет собой CH₂, O, SO₂ или NR³²,

R³¹ выбран из необязательно замещенного алкила, необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила,

каждый R³² независимо представляет собой H или алкил,

R³³ выбран из необязательно замещенного алкила, необязательно замещенного алкилен-OR³², необязательно замещенного циклоалкилен-OR³², необязательно замещенного алкилен-N(R³⁷)₂, необязательно замещенного циклоалкилен-N(R³⁷)₂, необязательно замещенного алкилен-C(O)N(R³²)₂, необязательно замещенного циклоалкилен-C(O)N(R³²)₂, необязательно замещенного алкилен-S(O)₂N(R³²)₂ и необязательно замещенного циклоалкилен-S(O)₂N(R³²)₂,

R³⁴ выбран из алкила, необязательно замещенного алкиленарила и необязательно замещенного алкиленгетероарила,

каждый R³⁵ независимо выбран из H, N(R³²)₂, OR³²,

каждый R³⁷ независимо выбран из H, алкила, (алкил)C(O)-, (арил)C(O)-, (алкил)S(O)₂- и (арил)S(O)₂-,

Y представляет собой -C(O)-, CH₂, CHR³⁶, C(R³⁶)₂,

каждый R³⁶ независимо выбран из H, алкила и необязательно замещенного алкилен-OH,

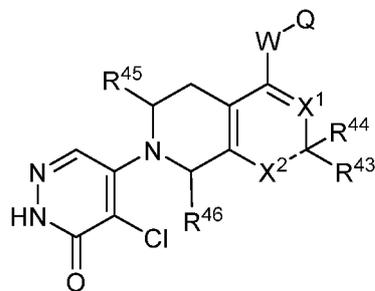
Y' представляет собой -C(O)-, CH₂, CHR^{33'}, C(R^{33'})₂, или Y' взят вместе с R³³ с образованием 5- или 6-ти членного кольца,

каждый R^{33'} независимо выбран из необязательно замещенного алкила, необязательно замещенного алкилен-OR³², необязательно замещенного циклоалкилен-OR³², необязательно замещенного алкилен-N(R³⁷)₂, необязательно замещенного циклоалкилен-N(R³⁷)₂, необязательно замещенного алкилен-C(O)N(R³²)₂, необязательно замещенного циклоалкилен-C(O)N(R³²)₂, необязательно замещенного алкилен-S(O)₂N(R³²)₂ и необязательно замещенного циклоалкилен-S(O)₂N(R³²)₂, и

Z отсутствует или представляет собой CH₂, CHR³⁵, O, -NR³²- или -SO₂-,

при условии, что Y и Y' не представляют собой -C(O)- одновременно.

4. Способ по п. 3, где ингибитор TRPC5 представляет собой соединение структурной формулы X:



(X) или его фармацевтически приемлемую соль, где:

«---» представляет собой простую связь или двойную связь,

X¹ представляет собой CH или N,

когда «---» представляет собой двойную связь, X² представляет собой CH или N,

когда «---» представляет собой простую связь, X² представляет собой N(CH₃),

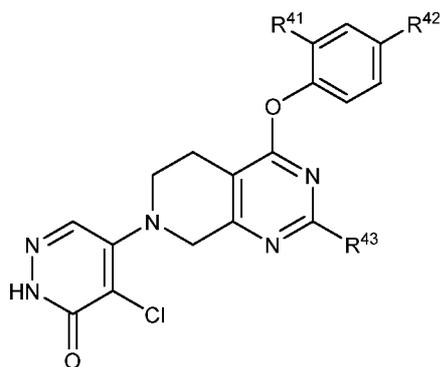
когда X¹ представляет собой CH, X² представляет собой N или N(CH₃),

W представляет собой -O-, -N(CH₃)-, -N(CH₂CH₂OH)-, циклопропан-1,1-диил или -CH(CH₃)-

Q представляет собой 2-трифторметил-4-фторфенил, 2-дифторметил-4-фторфенил, 2-трифторметилфенил, 2-метил-4-фторфенил, 2-хлор-4-фторфенил, 2-хлорфенил, 1-(бензил)-4-метилпиперидин-3-ил, 4-трифторметилпиперидин-3-ил, 2-трифторметил-6-фторфенил, 2-трифторметил-3-цианофенил, 2-этил-3-фторфенил, 2-хлор-3-цианофенил, 2-трифторметил-5-фторфенил или 2-дифторметилфенил,

R⁴³ представляет собой водород, -CH₂OH, -CH(OH)-CH₂OH, -NH₂, -CH(OH)CH₃, -OCH₃ или -NH-(CH₂)₂OH, и когда «---» представляет собой двойную связь, R⁴⁴ отсутствует, и когда «---» представляет собой простую связь, R⁴³ и R⁴⁴ взяты вместе с образованием =O, и каждый из R⁴⁵ и R⁴⁶ независимо представляет собой водород или -CH₃.

5. Способ по п. 4, где ингибитор TRPC5 представляет собой соединение Формулы XI:



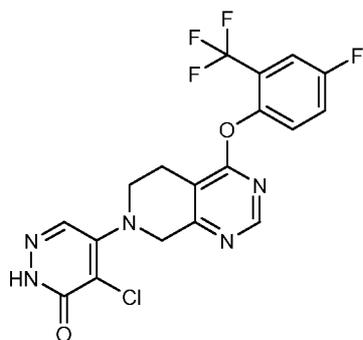
(XI) или его фармацевтически приемлемую соль, где:

R⁴¹ представляет собой хлор, -CF₃, -CHF₂ или -CH₃,

R⁴² представляет собой водород или фтор, и

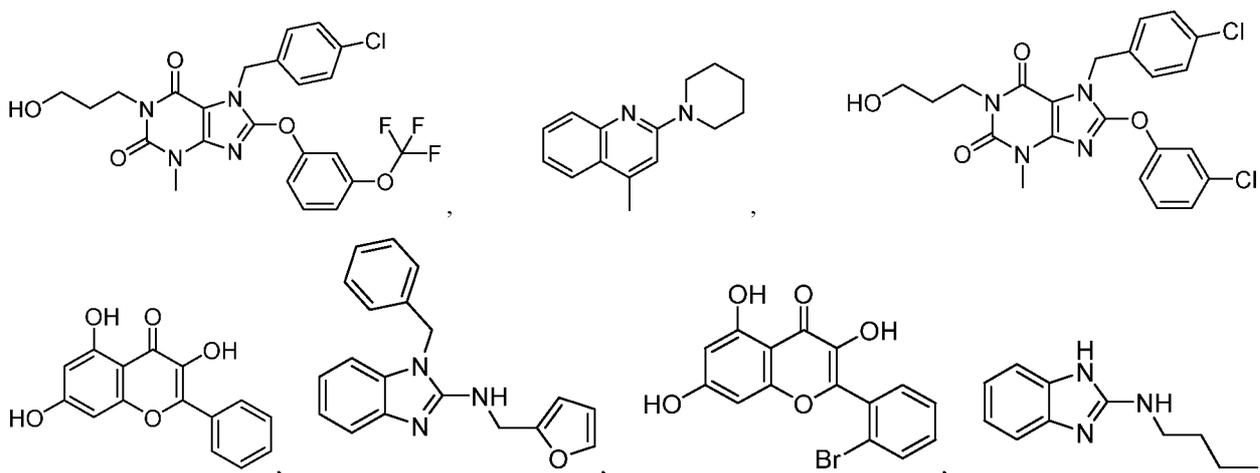
R⁴³ представляет собой водород, -NH₂, -CH₂OH или CH(OH)-CH₂OH.

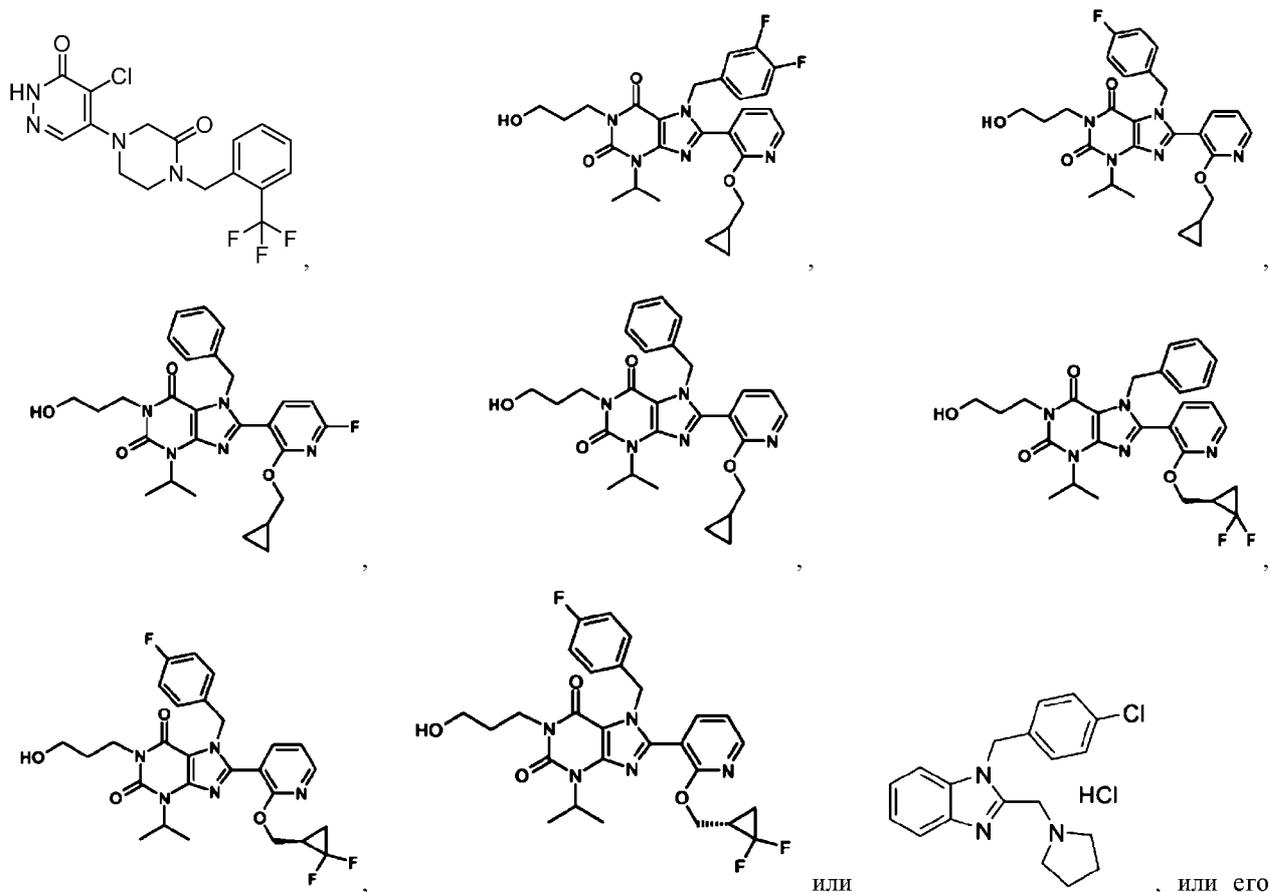
6. Способ по п. 5, где ингибитор TRPC5 представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

7. Способ по п. 1 или 2, где ингибитор TRPC5 представляет собой:





фармацевтически приемлемую соль.

8. Способ по п. 1 или 2, где ингибитор кальциневрина представляет собой циклоспорин А, такролимус или воклоспорин, или их фармацевтически приемлемую соль.

9. Способ по любому из пп. 1-8, где заболеванием почек является диабетическая нефропатия, фокально-сегментарный гломерулосклероз, нефропатия минимальных изменений, мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит (включая постстрептококковый гломерулонефрит и бактериальный эндокардит-ассоциированный гломерулонефрит), мембранозная нефропатия, другие вирус гепатита С-ассоциированные гломерулопатии, ВИЧ-ассоциированные гломерулопатии, COVID-19-ассоциированное острое почечное повреждение, наследственный геморрагический нефрит, поликистозная болезнь почек (как аутосомно-доминантная, так и аутосомно-рецессивная), нефропатия IgA-типа, другие генетические нефропатии и цилиопатии (например, HNF1бета, нефронофтиз, аутосомно-доминантная кистозная/тубулярная болезнь почек), волчаночный нефрит, синдром Гудпасчера (анти-БМК-нефрит) и другое комплемент- или иммуноопосредованное заболевание почек.

10. Способ по п. 9, где заболеванием почек является диабетическая нефропатия или фокально-сегментарный гломерулосклероз.

11. Способ по п. 9, где заболеванием почек является аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек или аутосомно-рецессивная поликистозная болезнь почек.

12. Способ по любому из пп. 1-11, где субъект отобран на основе уровня в моче Rac1 выше предварительно определенного порогового значения.

13. Способ по п. 12, где уровень в моче Rac1 у субъекта измеряют во фракции мочи, содержащей внеклеточные везикулы.

14. Способ по п. 12 или 13, где предварительно определенный пороговый уровень устанавливают путем определения диапазона уровней в моче выбранного биомаркера в популяции здоровых людей и установления предварительно определенного порогового уровня для выбранного биомаркера при уровне выше 75-ого перцентиля в популяции.

15. Способ по п. 14, где предварительно определенный пороговый уровень находится на уровне выше 90-ого перцентиля в популяции.

16. Способ по п. 15, где предварительно определенный пороговый уровень находится на уровне выше 95-ого перцентиля в популяции.

17. Способ по п. 12 или 13, где предварительно определенный пороговый уровень для Rac1 в моче составляет между 100-500 пг/мл.

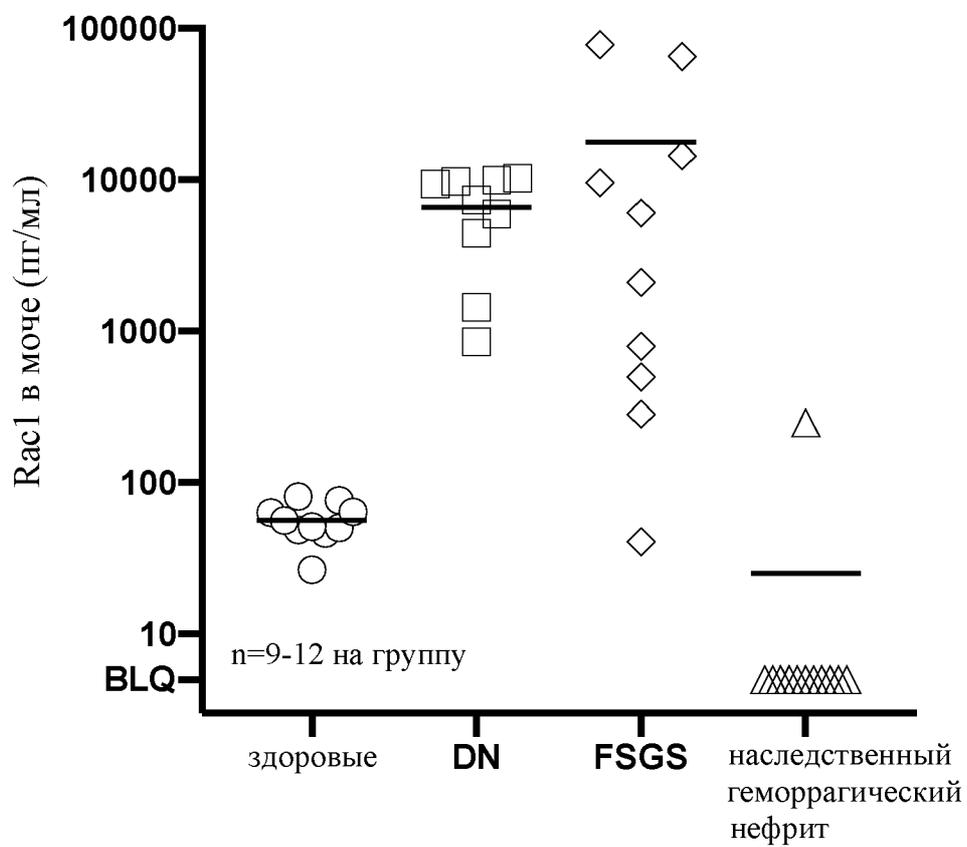
18. Способ определения эффективности терапии ингибитором TRPC5 у субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, где перед началом терапии у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения, причем способ включает:

- a. получение уровня в моче выбранного биомаркера у субъекта-человека в момент времени после начала лечения TRPC5,
- b. сравнение уровня выбранного биомаркера со стадии a. с уровнем в моче до лечения выбранного биомаркера,
- c. определение, что терапия TRPC5 является эффективной, если уровень выбранного биомаркера на стадии a. ниже уровня в моче до лечения выбранного биомаркера.

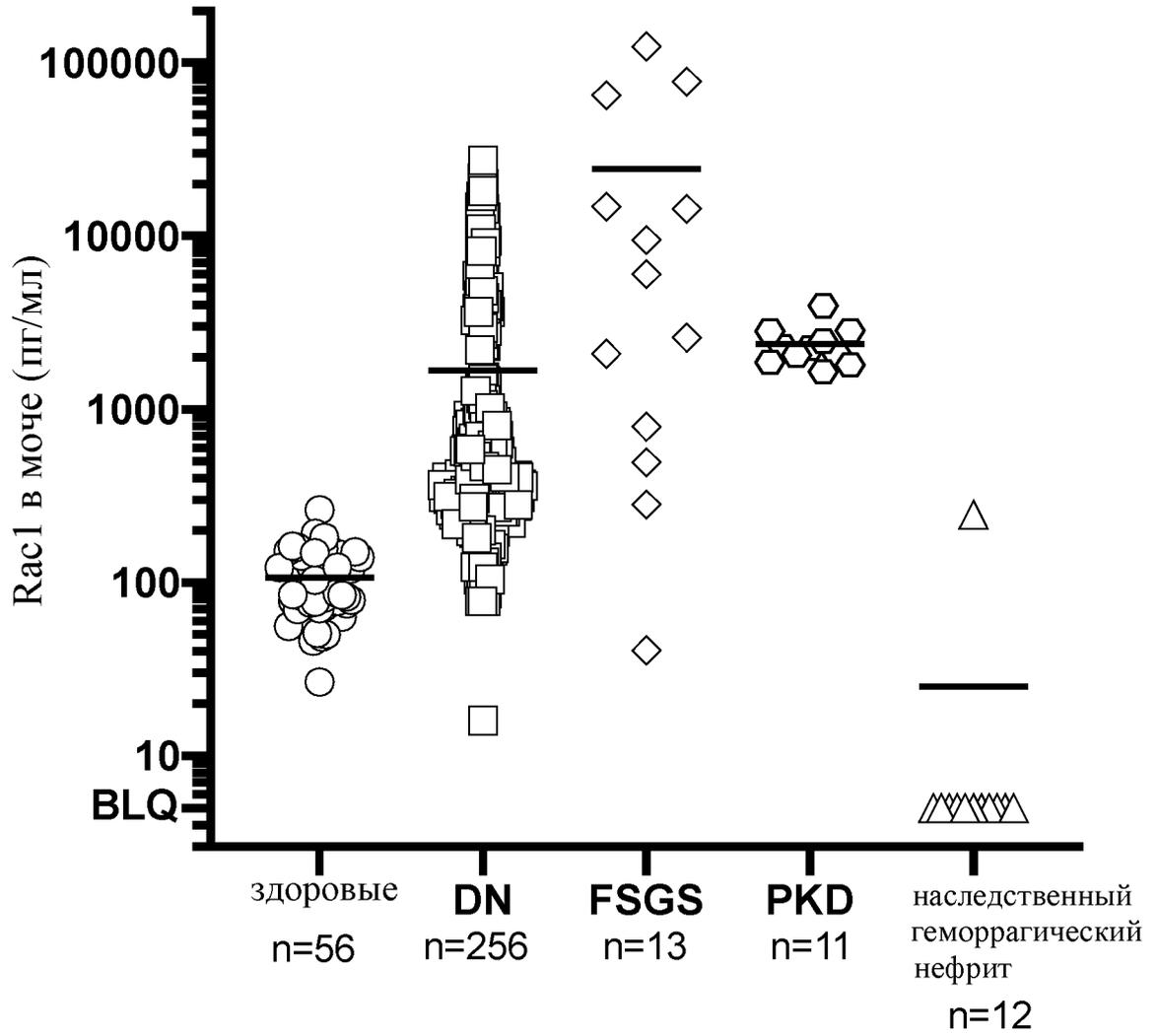
19. Способ определения эффективности терапии ингибитором TRPC5 у субъекта-человека, страдающего заболеванием почек, где перед началом терапии у субъекта определен уровень в моче до лечения одного или более биомаркеров, выбранных из Rac1, Rac1-GTP, фосфо-LIM киназы 1 и фосфокофилина, который выше предварительно определенного порогового значения, причем способ включает:

- a. получение уровня в моче выбранного биомаркера у субъекта-человека в момент времени после начала лечения TRPC5 и
- b. определение, что терапия TRPC5 является эффективной, если уровень выбранного биомаркера на стадии a. ниже предварительно определенного порогового значения для выбранного биомаркера.

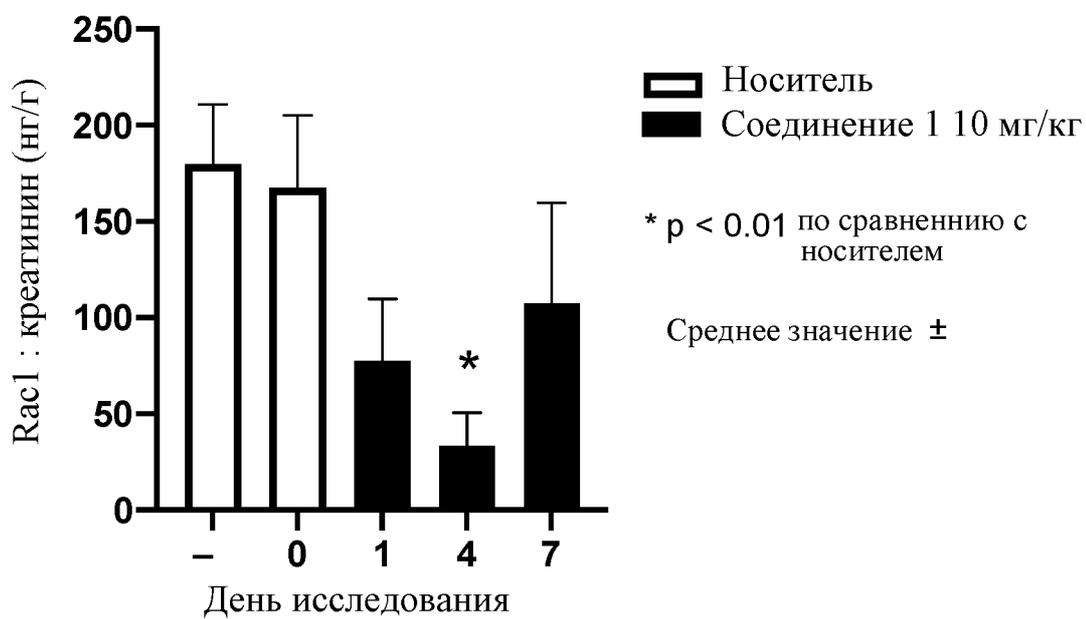
ФИГ. 1А



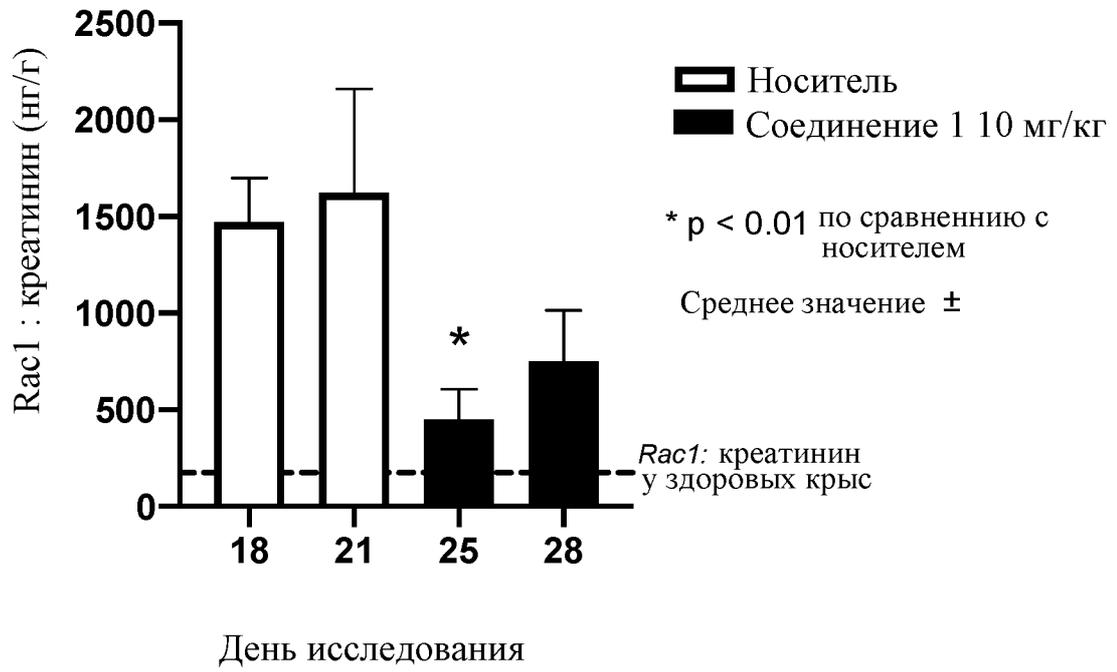
ФИГ 1В



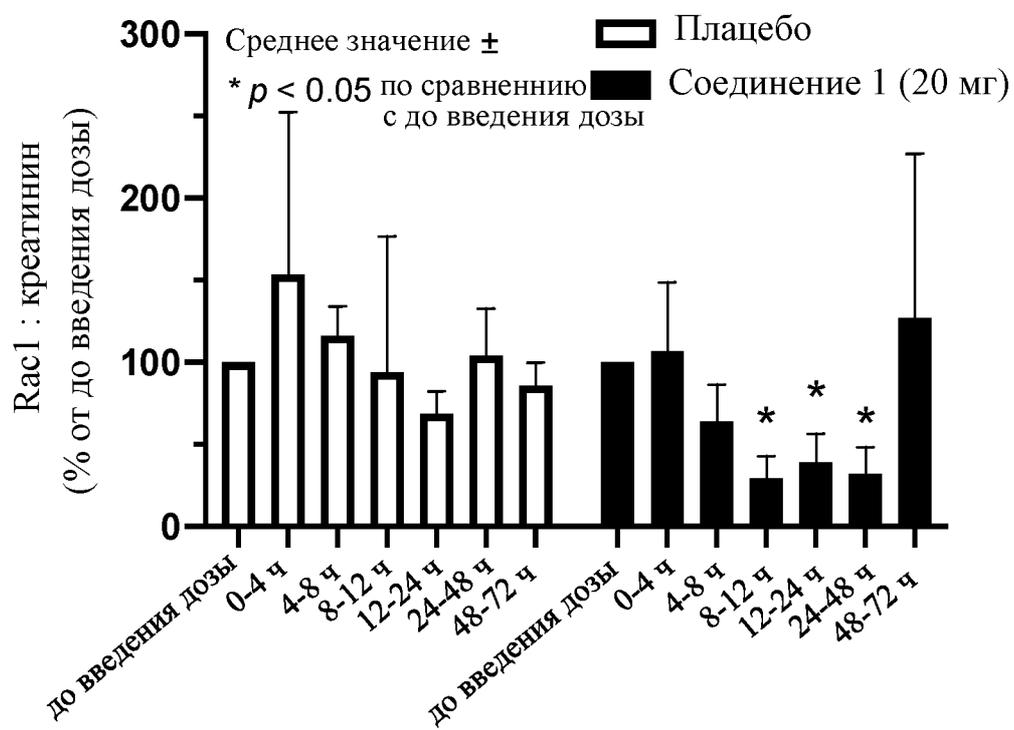
ФИГ. 2

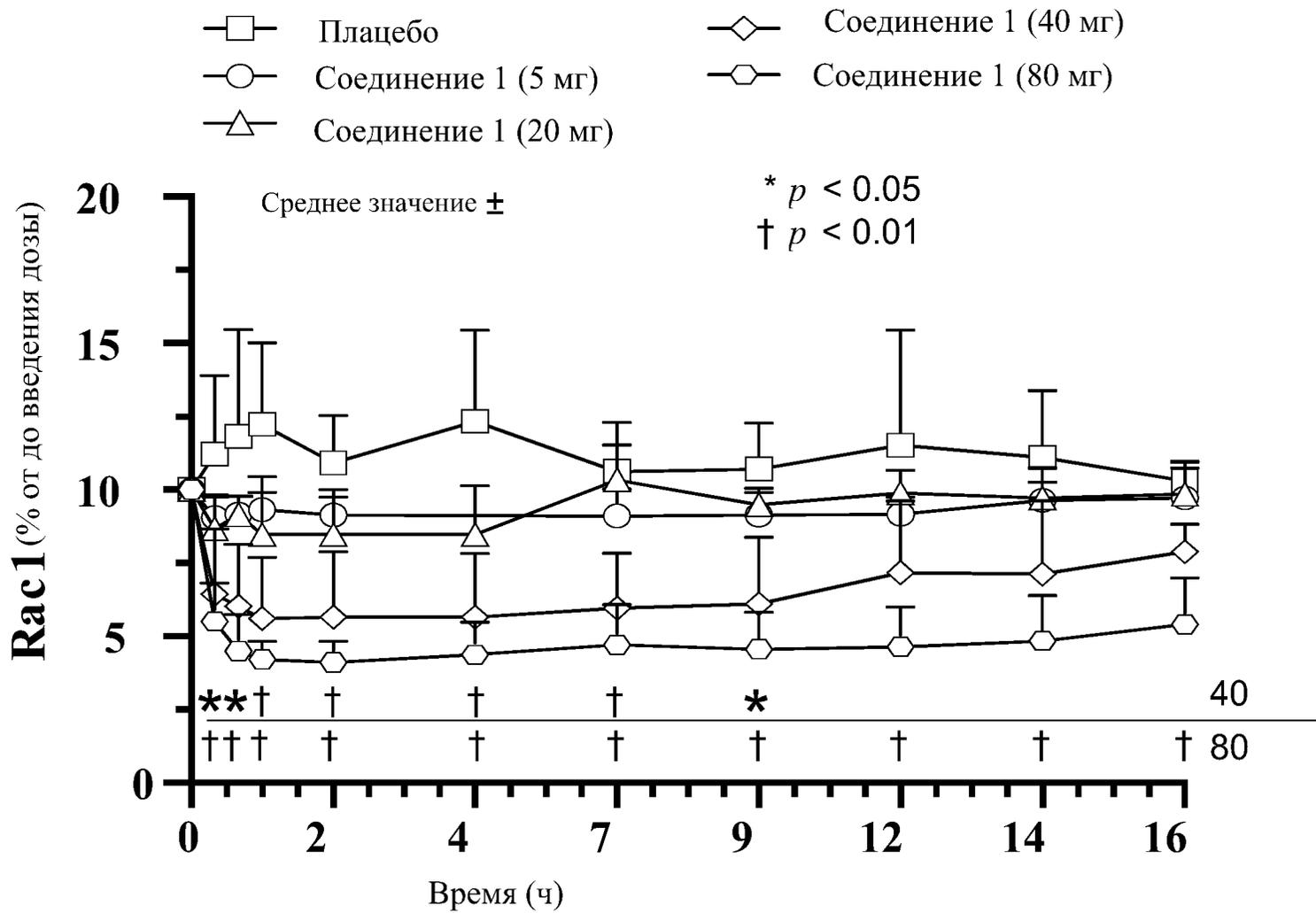


ФИГ. 3



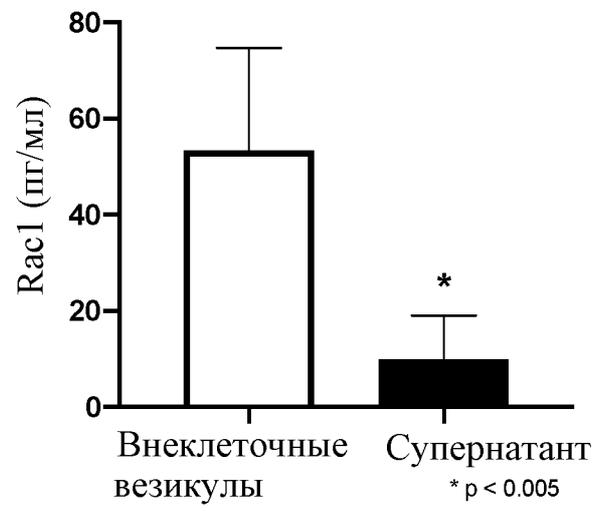
ФИГ. 4А



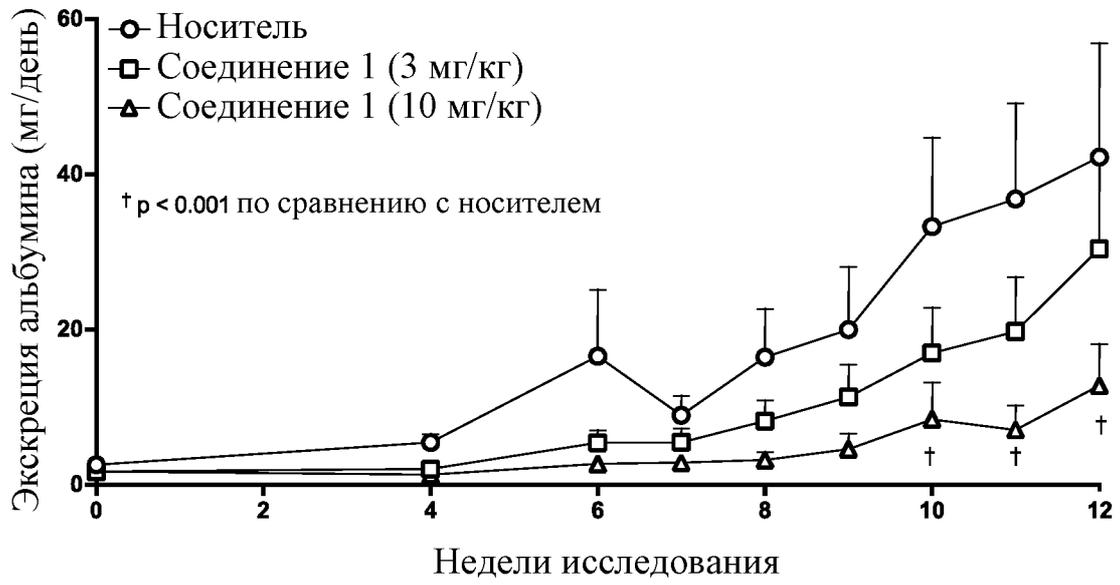


ФИГ. 4В

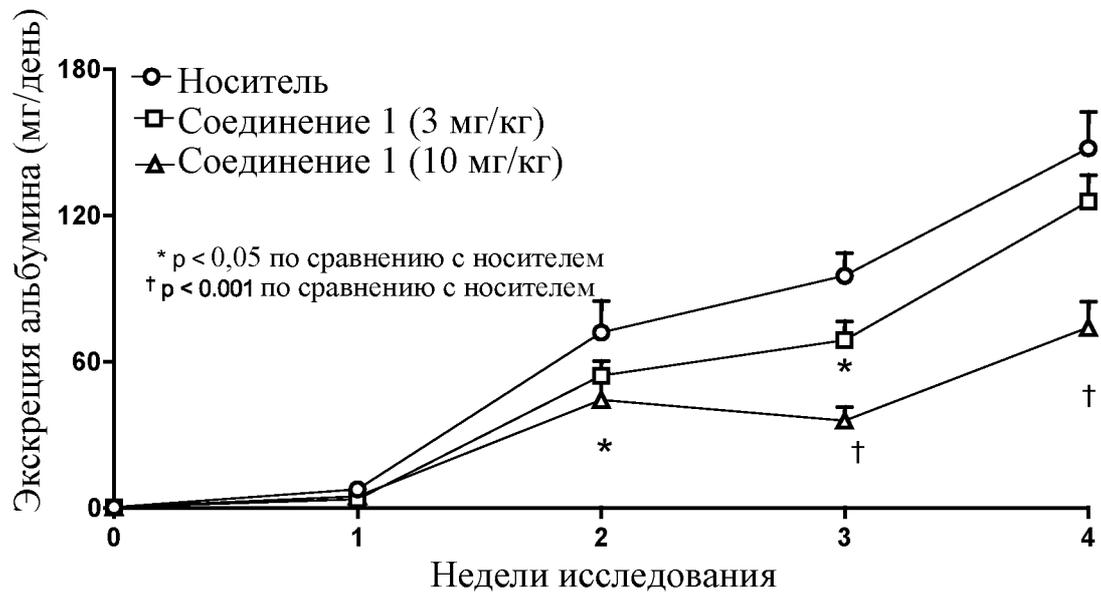
ФИГ. 5



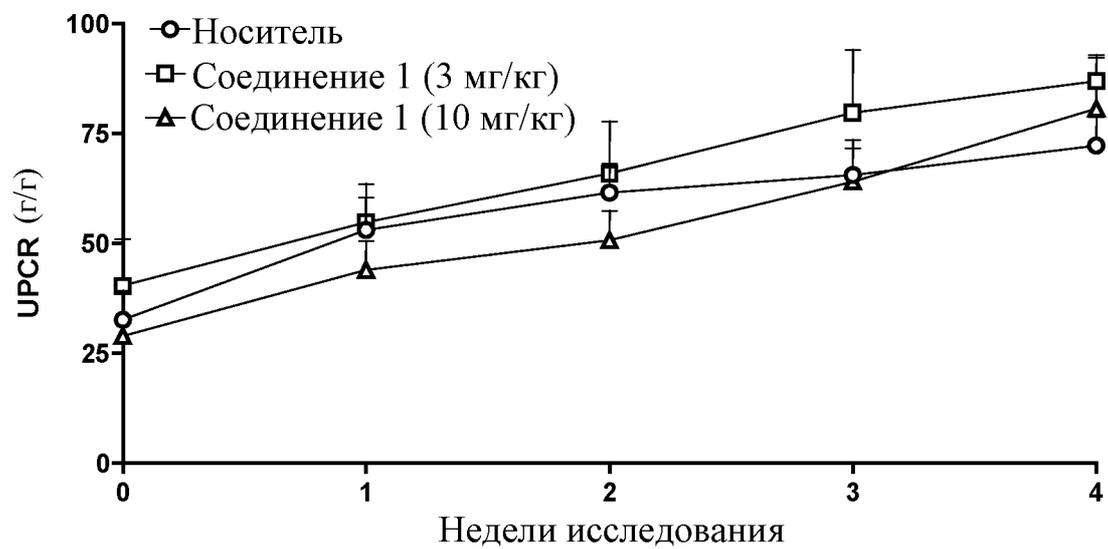
ФИГ. 6



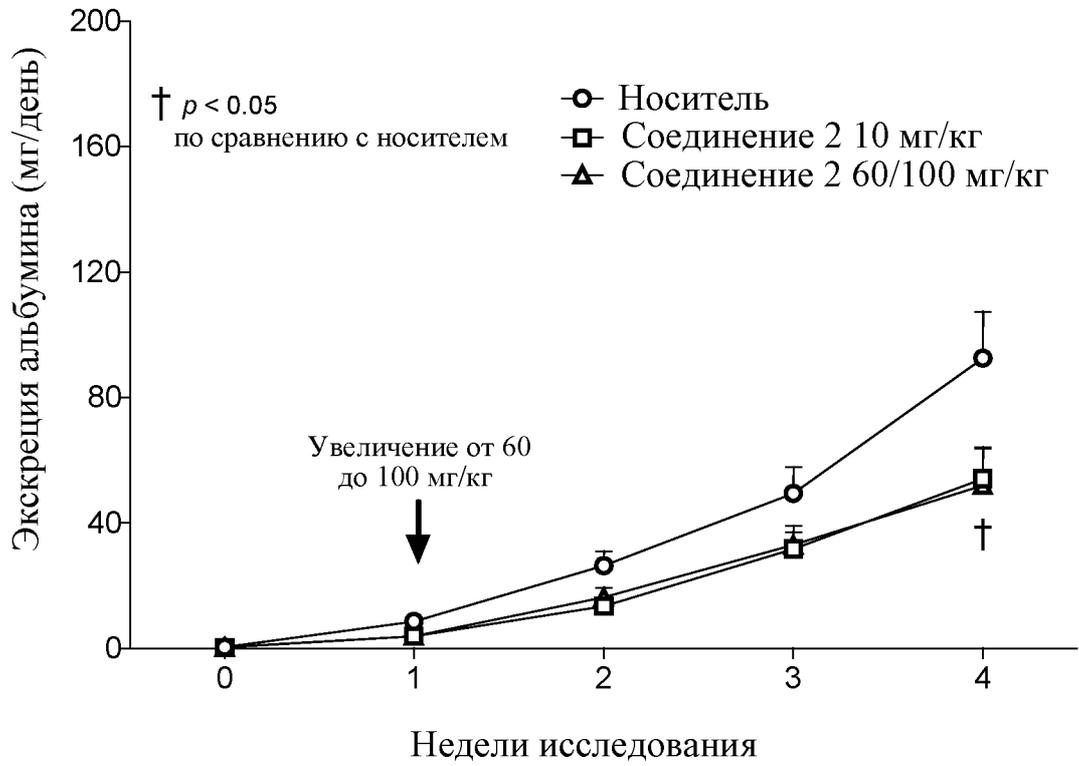
ФИГ. 7



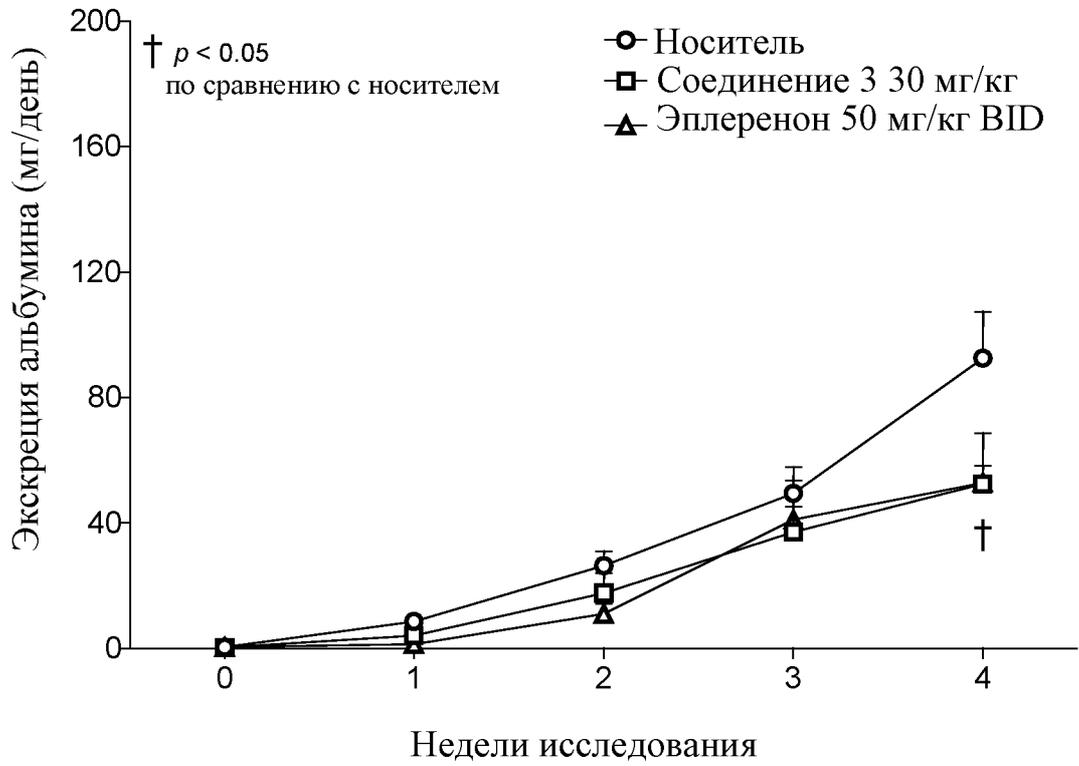
ФИГ. 8



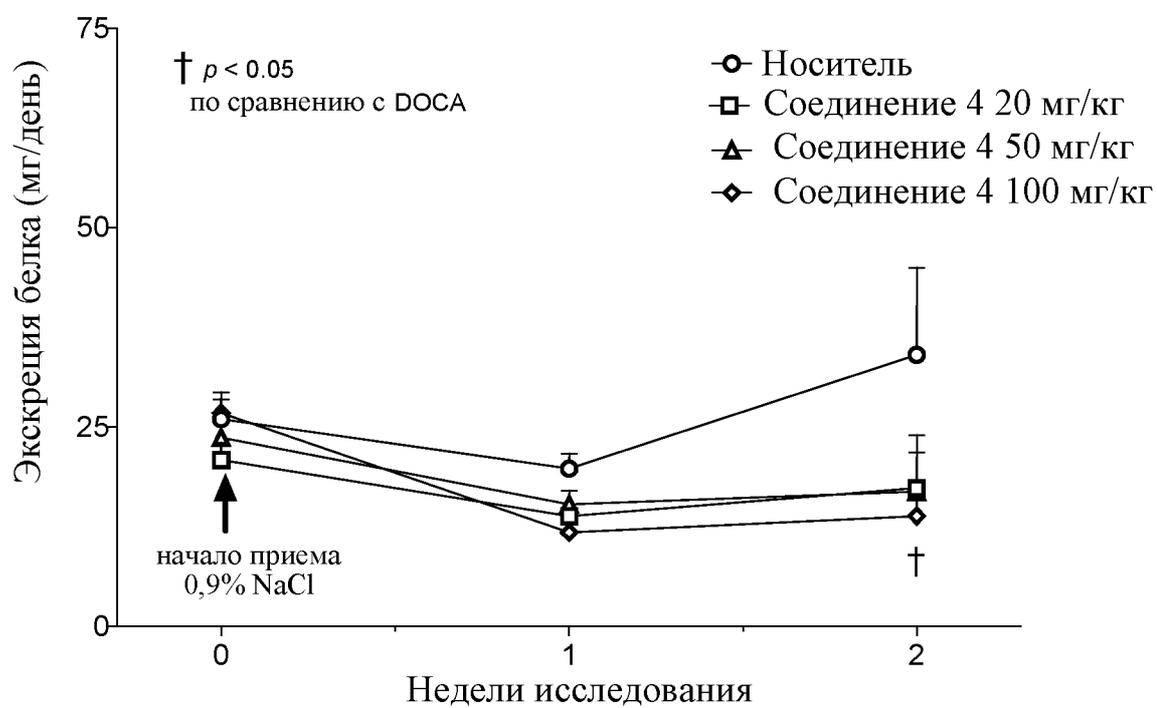
ФИГ. 9



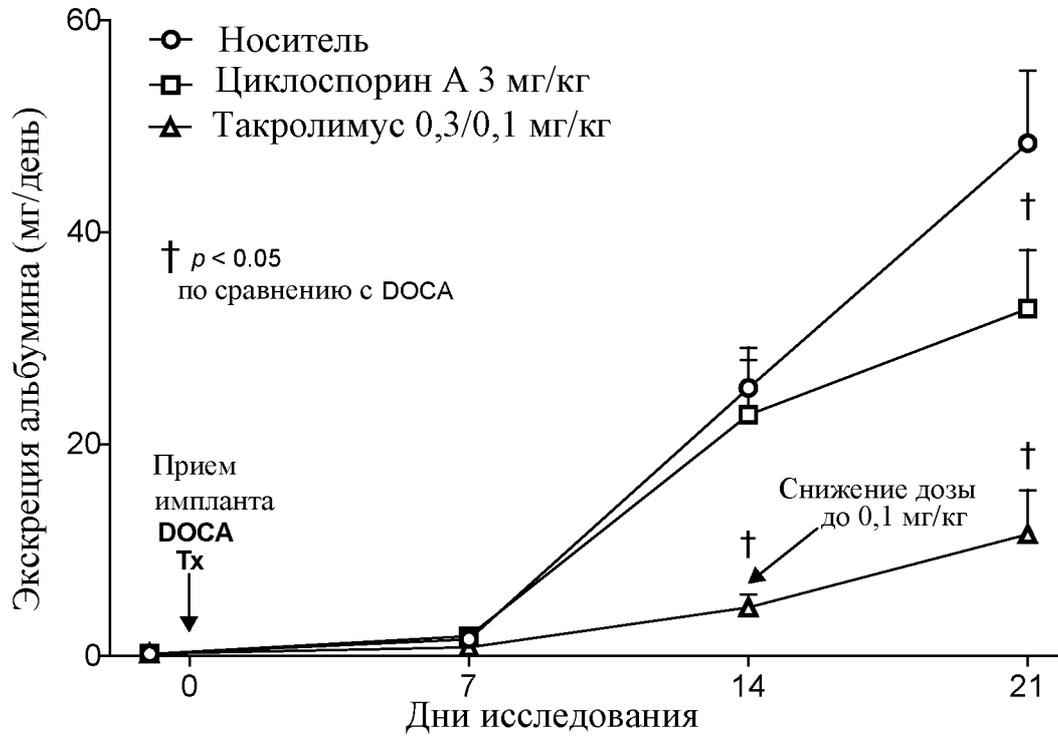
ФИГ. 10



ФИГ. 11



ФИГ. 12





ФИГ. 13

ФИГ. 13 (продолжение)

