

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043363**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.18

(21) Номер заявки
202090304

(22) Дата подачи заявки
2018.07.23

(51) Int. Cl. *A61K 31/416* (2006.01)
C07D 231/56 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(54) **ИНГИБИТОРЫ RHO-АССОЦИИРОВАННОЙ СУПЕРСПИРАЛЬСОДЕРЖАЩЕЙ ПРОТЕИНКИНАЗЫ**

(31) **62/535,603**

(32) **2017.07.21**

(33) **US**

(43) **2020.06.25**

(86) **PCT/US2018/043331**

(87) **WO 2019/018853 2019.01.24**

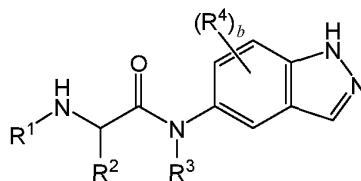
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КАДМОН КОРПОРЕЙШН, ЛЛК (US)

(72) Изобретатель:
**Скуцас Эдуардас, Лиу Кевин Жи.,
Ким Жи-Ин, Поюровски Маша В.,
Мо Риген, Жанг Джингиа (US)**

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

(56) US-B2-7041687
US-A1-20110038835
US-B2-7560467
US-B2-7429664
US-A1-20160237095
US-B2-6858638

(57) Данное изобретение относится к ингибиторам ROCK1 и/или ROCK2 представленной ниже формулы. Также предложены фармацевтическая композиция, содержащая ингибиторы ROCK1 и/или ROCK2, и её применение для лечения заболевания.

**B1****043363****043363****B1**

Область техники изобретения

Данное изобретение относится к ингибиторам ROCK1 и/или ROCK2. Также предложены способы ингибирования ROCK1 и/или ROCK2, применимые для лечения заболевания.

Уровень техники изобретения

Rho-ассоциированные содержащие суперспираль протеинкиназы (ROCK) являются представителями семейства сериновых/треониновых киназ. Были идентифицированы две изоформы - ROCK 1 и ROCK 2. Обе изоформы активируются ГТФ-связанными формами Rho-ГТФазы и при активации фосфорилируют ряд последующих субстратов. ROCK играют важные роли в многочисленных клеточных процессах, включая сокращение гладкомышечных клеток, пролиферацию, адгезию и миграцию клеток. Следовательно, ингибиторы ROCK потенциально терапевтически применимы при широком ряде патологических состояний, включая, например, астму, рак, эректильную дисфункцию, глаукому, инсулиновую резистентность, почечную недостаточность, легочную гипертензию, нейрональную дегенерацию и остеопороз.

ROCK является ключевым внутриклеточным регулятором цитоскелетной динамики и подвижности клеток. ROCK регулирует ряд последующих мишеней RhoA посредством фосфорилирования, включая например, легкую цепь миозина, связывающую субъединицу фосфатазы легкой цепи миозина и LIM-киназу 2. Эти субстраты регулируют организацию и сократимость актиновых филаментов. В гладкомышечных клетках ROCK опосредует повышение чувствительности к кальцию и сокращение гладкой мускулатуры. Ингибирование Rho-киназы блокирует 5-НТ и индуцированное адреналином сокращение мышц. При внесении в негладкомышечные клетки ROCK индуцирует образование стресс-волокон и необходима для клеточной трансформации, опосредованной RhoA. ROCK участвует в ряде клеточных процессов, включая, но не ограничиваясь этим, адгезию клеток, подвижность и миграцию клеток, регуляцию роста, сокращение клеток и цитокинез. ROCK также вовлечена в активацию транспортной системы с Na/H-обменом, образование стресс-волокон, активацию аддуктина и физиологические процессы, такие как сосудосужение, сокращение гладкой мускулатуры бронхов, пролиферацию клеток гладкой мускулатуры и эндотелия сосудов, агрегацию тромбоцитов и другие.

Ингибирование активности ROCK в животных моделях продемонстрировало ряд благоприятных эффектов ингибирования ROCK для лечения человеческих заболеваний. Они включают модели сердечно-сосудистых заболеваний, таких как гипертензия, атеросклероз, рестеноз, гипертрофия сердца, внутриглазная гипертензия, ишемия головного мозга, спазм сосудов головного мозга, пенильная эректильная дисфункция, нарушения центральной нервной системы, такие как нейрональная дегенерация и повреждение спинного мозга, и неоплазию. Было показано, что ингибирование активности ROCK ингибирует рост опухолевых клеток и метастазирование, ангиогенез, артериальные тромботические нарушения, такие как агрегация тромбоцитов и агрегация лейкоцитов, астму, регуляцию внутриглазного давления и резорбцию костей. Ингибирование активности ROCK у пациентов оказывает благоприятный эффект на спазмы сосудов и ишемию головного мозга после субарахноидального кровоизлияния, снижение внутриглазного давления, повышение оттока влаги из глаз за счет релаксации ткани трабекулярной сети, улучшение притока крови к главному нерву и защиты здоровых ганглионарных клеток.

Был создан значительный массив данных *in vivo*, сфокусированных на активности ROCK в ЦНС. Аномальная активация пути ROCK была зарегистрирована при многих нарушениях центральной нервной системы. Например, рост аксонов и синаптическая пластичность зависят от структурной регуляции актинового цитоскелета. Каскад Rho-ROCK играет ключевую роль в синаптической пластичности, в дендритном морфогенезе и стабильности, а также в подвижности и коллапсе конуса роста. Кроме того, множество молекул, ингибирующих рост аксонов, скапливаются на RhoA/ROCK в нейронах, что делает его привлекательным путем для вмешательства при нарушениях ЦНС.

Nogo-рецепторы (NgR) (наряду с другими представителями комплекса, включая LINGO-1) и их лиганды, возможно, являются наиболее хорошо изученными и эффективными ингибиторами роста нейритов. Некоторые из наиболее ранних событий после активации рецептора миелин-ассоциированными ингибиторами являются повышением регуляции RhoA и ROCK. Эти события приводят к повышению сократимости и оказывают сильный ингибирующий эффект на аксональный рост в зрелых нейронах. Таким образом, возможность ингибировать этот сигнальный каскад обеспечивает очень перспективную терапевтическую стратегию при повреждениях спинного мозга и оптического нерва. Нейродегенеративные патологические состояния, такие как болезнь Хантингтона и Альцгеймера (БА), также исследовали как восприимчивые к ингибированию сигнализации NgR. Представители семейства NgR не только связаны с процессингом APP, но также в пораженном БА мозге происходит изменение субклеточной локализации NgR и Nogo.

Болезнь Альцгеймера (БА), наиболее распространенная причина деменции у пожилых людей, является прогрессирующим нейродегенеративным нарушением, которое включает постепенное снижение многих когнитивных функций, включая нарушение памяти (Selkoe, 2001). Потеря синапсов обычно наблюдается при патологии БА и является показателем синаптической дисфункции при БА (Tanzi and Bergam, 2005). Олигомеризованные пептиды β -амилоида были связаны с потерей синаптической пластичности и дисфункцией нейронной сети. Синаптическая пластичность зависит от структурной регуляции ак-

тинового цитоскелета в дендритных шипиках. Каскад Rho-ROCK играет ключевую роль в синаптической пластичности, в дендритном морфогенезе и стабильности, а также в подвижности и коллапсе конуса роста (Govek et al., 2005; Linseman and Loucks, 2008). Несколько исследований продемонстрировали, что ROCK-киназы могут индуцировать генерацию токсического пептида β -амилоида и, кроме того, ингибирование ROCK может ингибировать процессинг токсического пептида. В механизме упреждающего нервного сигнала β -амилоид повышает активность Rho-ГТФазы, которая посредством активации ROCK ингибирует рост нейритов и образование синапсов (Petratos et al., 2008). Таким образом, ингибиторы ROCK могут иметь потенциал в отношении предотвращения синаптической и нейрональной деградации, а также в отношении стимуляции процессов регенерации при БА. В недавнем исследовании, проведенном Herskowitz et al., было показано, что нокдаун ROCK снижал уровни $\alpha\beta$. Эти эффекты демонстрируют, что необходимы высокоселективные ингибиторы ROCK, чтобы обеспечить эффективное лечение болезни Альцгеймера (БА). Модельное соединение SR3677 исследовали в модели БА на грызунах в попытке продемонстрировать применение ингибирования ROCK в случае БА путем изменения распределения BACE-1 и перемещения белка-предшественника амилоида (APP - от англ. "amyloid precursor protein") в лизосомы. После прямой в/б инъекции в гиппокамп, вследствие своих плохих пероральных ФК-свойств (5%F и время полужизни < 1 ч) и отсутствия проникновения в головной мозг, SR3677 имело перспективный эффект снижения sAPP β .

Болезнь Хантингтона (БХ) является изнуряющим, неизлечимым, преимущественно наследуемым нейродегенеративным заболеванием, характеризующимся психическим расстройством, нарушением двигательной функции и деменцией.

Неправильное сворачивание и агрегация белка Htt, продукта гена хантингтина, приводит к патологии БХ (Shao and Diamond, 2007). Было разработано очень мало терапевтических средств на основе механизма действия для лечения БХ. Хотя научные исследования до сих пор проводят, существует множество данных, позволяющих предположить, что ингибирование ROCK может стать эффективным лечением для БХ. В мышинных моделях БХ ингибирование ROCK существенно снижало уровни растворимого Htt, обращало образование агрегатов, ретракцию нейритов и защищало от гибели нейрональных клеток (Deyts et al., 2009; Li et al., 2009). Аналогичные результаты были получены в исследованиях на *Drosophila*, в которых ингибирование ROCK регулировало агрегацию Htt (Shao et al., 2008a; Shao et al., 2008b). Путь сигнализации ROCK является перспективной терапевтической мишенью в случае БХ.

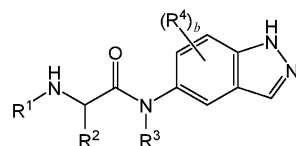
Сигнализация ROCK также была связана с болезнью Паркинсона и амиотрофическим боковым склерозом (АБС). Смотрите, например, Tonges, L. et al. (2012). "Inhibition of rho kinase enhances survival of dopaminergic neurons and attenuates axonal loss in a mouse model of Parkinson's disease." *Brain*. 135(11):3355-70.

ROCK фосфорилируют множество последующих субстратов, включая легкую цепь миозина (MLC, в треонине 18 и серине 19) и фосфатазу легкой цепи миозина (MYPT1, в треонине 853), для запуска полимеризации глобулярного G-актина в филаментный F-актин и сборки аппарата сокращения актомиозина. Было признано, что этот путь может быть связан с патогенезом нескольких нарушений ЦНС, таких как повреждение спинного мозга, инсульт и БА. В ЦНС взрослых поврежденные аксоны плохо регенерируют из-за присутствия миелин-ассоциированных ингибиторов аксонального роста. Миелин-ассоциированные ингибиторы, такие как миелин-ассоциированный гликопротеин (MAG), Nogo, олигодендроцитного-миелинового гликопротеина (OMgp) и отталкивающая направляющая молекула (RGM), ограничивают регенерацию аксонов в поврежденном головном мозге и спинном мозге. Обычный механизм различных миелин-ассоциированных ингибиторов состоит в том, что все они активируют Rho и ее последующие эффекторные ROCK-киназы для ингибирования роста нейритов.

Блокировка пути Rho/ROCK малой молекулой является необходимой стратегией при нарушениях центральной нервной системы (ЦНС). Однако гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), хотя и играет ключевую роль в гомеостазе головного мозга, также существенно препятствует проникновению большинства низкомолекулярных ингибиторов. С учетом растущего интереса к разработке селективных и эффективных ингибиторов для лечения заболеваний ЦНС существует насущная потребность в ингибиторах ROCK 1 и/или ROCK 2, в частности тех, которые пересекают гематоэнцефалический барьер.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к соединению, имеющему формулу



или его фармацевтически приемлемой соли, где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил, циклопропил или -(C₂₋₄алкил)-OCH₃;

R² представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть незамещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидроксильной, C₁-

C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR'-, RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-;

R³ выбран из H, C₁-C₄-алкила, замещенного C₁-C₄-алкила и RR'N-(C_{2,4}алкила)-;

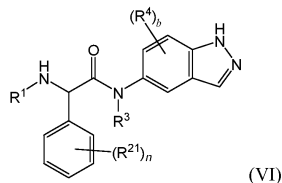
R⁴ выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксид, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR'-, RR'N-(C_{2,4}алкила)- и RR'N-(C_{2,4}алкила)-O-;

b равен от 0 до 2 и

каждый R и R' независимо выбран из H, C₁-C₄-алкила и C₃-C₆-циклоалкила; где арил представляет собой 6-членную однокольцевую ароматическую группу; гетероарил представляет собой 5- или 6-членную однокольцевую ароматическую группу, которая может включать от одного до четырех гетероатомов; гетероатом представляет собой азот, кислород или серу; замещенный C₁-C₄-алкил представляет собой C₁-C₄-алкил, имеющий от одного до трех заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, гидроксид, C₁-C₄-алкокси, амина, нитро, циано, перфтор C₁-C₄-алкила, перфтор C₁-C₄-алкокси и карбоксила.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил; R² представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть незамещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидроксид, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₃-перфторалкила и C₁-C₃-перфторалкокси; R³ выбран из H или RR'N-(C_{2,4}алкила)- и b равен 0.

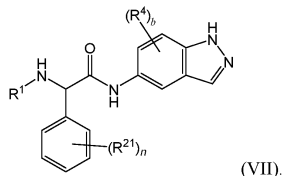
В ещё одном предпочтительном варианте настоящего изобретения указанное соединение имеет формулу VI



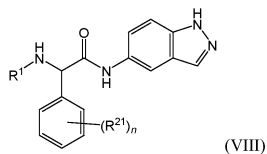
где

каждый R²¹ независимо выбран из группы, состоящей из H, галогена, гидроксид, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR'-, RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-; и n равен от 0 до 3.

В ещё одном предпочтительном варианте настоящего изобретения указанное соединение имеет формулу VII



В ещё одном предпочтительном варианте настоящего изобретения указанное соединение имеет формулу VIII



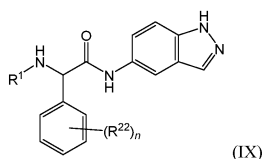
где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил;

каждый R²¹ независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксид, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR'-, RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-; и

n равен от 0 до 3.

В ещё одном предпочтительном варианте настоящего изобретения указанное соединение имеет формулу IX



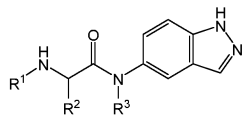
где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил;

каждый R²² независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидроксид, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-

алкокси, amino, C₁-C₃-перфторалкила и C₁-C₃-перфторалкокси; и n равен от 0 до 3.

В ещё одном аспекте настоящее изобретение относится к соединению, имеющему следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемой соли; где R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил, C₃-C₆-циклоалкил или R¹⁰O(CH₂)₆-; или альтернативно R¹ может означать R¹⁰R¹¹N(CH₂)₆-, когда R² представляет собой фенил, который может быть не замещен или замещен метокси;

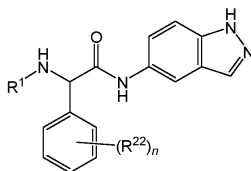
R¹⁰ и R¹¹ означают C₁-C₄-алкил;

R² представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть не замещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, арила и арил-О-, где арильный и -О-арильный заместитель, в свою очередь, может быть не замещен или замещен C₁-C₄-алкокси;

R³ выбран из H, C₁-C₄-алкила и RR'ⁿN-(C₂₋₄алкила)-;

каждый R и R' независимо выбраны из H, C₁-C₄-алкила и C₃-C₆-циклоалкила и с равен от 2 до 4; где арил представляет собой 6-членную однокольцевую ароматическую группу.

В предпочтительном варианте настоящего изобретения указанное соединение имеет следующую формулу:



где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил или циклопропил;

каждый R²² выбран из гало, C₁-C₄-алкила и C₁-C₄-алкокси;

n равен от 0 до 2.

В предпочтительном варианте R¹ означает C₁-C₄-алкил и n равен 1 или 2.

В ещё одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей одно из указанных выше соединений или его фармацевтически приемлемую соль, составленной с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями. Предпочтительно в виде твердой лекарственной формы для перорального введения.

В ещё одном аспекте настоящее изобретение относится к применению указанной выше композиции для получения лекарственного средства для лечения фиброзного нарушения у субъекта. При этом фиброзное нарушение может быть выбрано из группы, состоящей из фиброза легких, кистозного фиброза, идиопатического фиброза легких, вызванного радиоактивным облучением повреждения легких, фиброза печени, цирроза печени, миокардиального фиброза, артериального фиброза, эндомикардиального фиброза, миелофиброза, болезни Пейрони, нефрогенного системного фиброза, прогрессирующего массивного фиброза, забрюшинного фиброза, склеродермы или системного склероза, медиастинального фиброза, келоидных и гипертрофических рубцов, рубцевания глиальной ткани и почечного фиброза.

В ещё одном аспекте настоящее изобретение относится к применению указанной выше композиции для получения лекарственного средства для лечения аутоиммунного расстройства, сердечно-сосудистого расстройства или расстройства центральной нервной системы у субъекта. При этом аутоиммунное расстройство, сердечно-сосудистое расстройство или расстройство центральной нервной системы выбрано из болезни Крона, перенесенного инфаркта миокарда, артериальной ригидности, атеросклероза, рестеноза, церебрального вазоспазма, болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, амиотрофического бокового склероза (АБС), болезни Баттена, деменции, спинальной мышечной атрофии, заболевания двигательных нейронов, спиноцеребеллярной атаксии, острой или хронической боли, нейрональной дегенерации, повреждения спинного мозга и множественного склероза.

В ещё одном аспекте настоящее изобретение относится к применению указанной выше композиции для получения лекарственного средства для лечения глаукомы у субъекта.

В ещё одном аспекте настоящее изобретение относится к применению указанной выше композиции для получения лекарственного средства для лечения воспаления у субъекта.

Краткое описание фигур

Фиг. 1: Репрезентативные результаты анализа Z'-Lyte. Ингибиторы ROCK по данному изобретению демонстрируют всего лишь однозначную наномолярную эффективность в отношении обеих изоформ ROCK.

Фиг. 2: Соединения по данному изобретению ингибируют обе изоформы ROCK в клетках. Клетки

НСТ116 с нокаутом ROCK1 или ROCK2 (ROCK1KO и ROCK2KO соответственно) обрабатывали ингибитором в течение 90 мин и визуализировали уровни pMypt (T853) методом вестерн-блоттинга. Ингибитор ROCK эффективно блокировал фосфорилирование мишени ROCK MYPT1 при 110 нМ.

Фиг. 3: Человеческие клетки-предшественницы олигодендроцитов/нейронов культивировали *in vitro* с ингибитором ROCK или без него (соединение из примера 2) в течение 2 и 14 суток. Белки нестин и MAP2 визуализировали путем окрашивания коммерческими антителами, чтобы определить разные стадии дифференцировки нейрональных клеток. Ингибитор ROCK существенно облегчал экспрессию клеточного маркера зрелых нейронов MAP2 при улучшении роста нейритов, о чем свидетельствует сильное повышение сигнала MAP2 в клетках, дифференцированных в присутствии ингибитора ROCK.

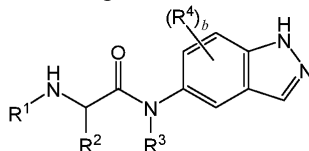
Фиг. 4: В условиях совместного культивирования крысиных олигодендроцитов с эксплантатами крысиных дорсальных корешковых ганглиев (ДКГ) обработка ингибитором ROCK (соединением из примера 2) меняла организацию цитоскелета с образованием большого количества более коротких упорядоченных миелиновых сегментов, которые идентифицировали по окрашиванию нейрофиламентов.

В то же время ингибитор ROCK также облегчал аксональную поддержку олигодендроцитов, демонстрируемую выравниванием олигодендроцитов (окрашенных в отношении MBP) вдоль направления длины аксонов (окрашенных в отношении нейрофиламентов).

Подробное описание изобретения

Ингибиторы ROCK.

Соединения в соответствии с данным изобретением включают те, которые имеют формулу I



или их фармацевтически приемлемые соли, где:

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил, циклопропил или -(C₂₋₄алкил)-OCH₃;

R² представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть незамещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR', RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-;

R³ выбран из H, C₁-C₄-алкила, замещенного C₁-C₄-алкила и RR'N-(C₂₋₄алкила)-; R⁴ выбран из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR', RR'N-(C₂₋₄алкила)- и RR'N-(C₂₋₄алкила)-O-;

b равен от 0 до 2; и каждый R и R' независимо выбран из H, C₁-C₄-алкила и C₃-C₆-циклоалкила; где арил представляет собой 6-членную однокольцевую ароматическую группу; гетероарил представляет собой 5- или 6-членную однокольцевую ароматическую группу, которая может включать от одного до четырех гетероатомов; гетероатом представляет собой азот, кислород или серу;

замещенный C₁-C₄-алкил представляет собой C₁-C₄-алкил, имеющий от одного до трех заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкокси, амина, нитро, циано, перфтор C₁-C₄-алкила, перфтор C₁-C₄-алкокси и карбоксила. В определенных вариантах воплощения указанных соединений:

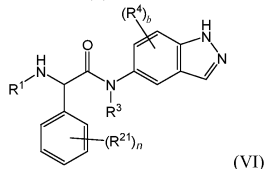
R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил;

R² представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть незамещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₃-перфторалкила, и C₁-C₃-перфторалкокси;

R³ выбран из H или RR'N-(C₂₋₄алкила)- и

b равен 0.

В определенных вариантах воплощения соединения настоящего изобретения имеют формулу VI



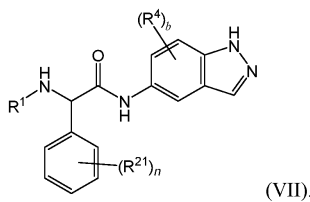
(VI)

где

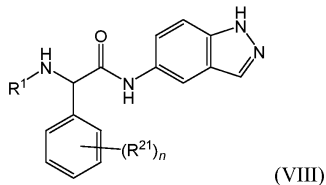
каждый R²¹ независимо выбран из группы, состоящей из H, галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR', RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-; и

n равен от 0 до 3.

В определенных вариантах воплощения соединения настоящего изобретения имеют формулу VII



В определенных вариантах воплощения соединения настоящего изобретения имеют формулу VIII

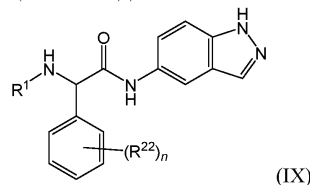


где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил;

каждый R²¹ независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR'-, RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-; и
n равен от 0 до 3.

В определенных вариантах воплощения соединения настоящего изобретения имеют формулу IX

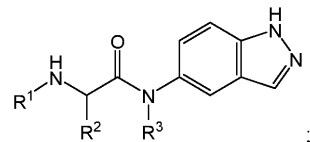


где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил;

каждый R²² независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, amino, C₁-C₃-перфторалкила и C₁-C₃-перфторалкокси; и
n равен от 0 до 3.

Кроме того, соединения в соответствии с данным изобретением включают те, которые имеют формулу



или их фармацевтически приемлемые соли, где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил, C₃-C₆-циклоалкил или R¹⁰O(CH₂)₆- или альтернативно R¹ может означать R¹⁰R¹¹N(CH₂)₆-, когда R² представляет собой фенил, который может быть не замещен или замещен метокси;

R¹⁰ и R¹¹ означают C₁-C₄-алкил;

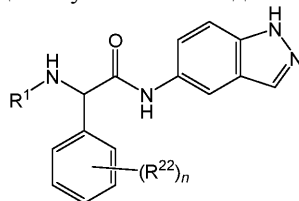
R² представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть не замещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, арила и арил-O-, где арильный и -O-арильный заместитель, в свою очередь, может быть не замещен или замещен C₁-C₄-алкокси;

R³ выбран из H, C₁-C₄-алкила и RR'N-(C₂-₄алкила)-;

каждый R и R' независимо выбраны из H, C₁-C₄-алкила и C₃-C₆-циклоалкила и
s равен от 2 до 4;

где арил представляет собой 6-членную однокольцевую ароматическую группу.

В определенных вариантах воплощения указанные соединения имеют формулу



где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил или циклопропил;

каждый R^{22} выбран из гало, C_1 - C_4 -алкила и C_1 - C_4 -алкокси;

n равен от 0 до 2. Предпочтительно R^1 означает C_1 - C_4 -алкил и n равен 1 или 2.

Термин "алкил" относится к радикалу насыщенных алифатических групп, включая неразветвленные алкильные группы, разветвленные алкильные группы, циклоалкильные (алициклические) группы, алкилзамещенные циклоалкильные группы и циклоалкилзамещенные алкильные группы. В предпочтительных вариантах реализации неразветвленный или разветвленный алкил имеет 8 или менее атомов углерода в своем остове (например, C_1 - C_8 в случае неразветвленной цепи, C_3 - C_8 в случае разветвленной цепи) и, более предпочтительно, 6 или менее. Аналогично предпочтительные циклоалкилы имеют 3-8 атомов углерода в своей кольцевой структуре и более предпочтительно имеют 3-6 атомов углерода кольцевой структуре.

Если число атомов углерода специально не указано, в контексте данного документа "низший алкил" означает алкильную группу по определению выше, но имеющую от одного до четырех атомов углерода и более предпочтительно от одного до трех атомов углерода. В предпочтительных вариантах реализации заместитель, обозначенный в данном документе как алкил, представляет собой низший алкил. Низшие алкильные группы включают метил, этил, пропил, изопропил, n -бутил, изобутил и трет-бутил.

Термин "циклоалкил" относится к насыщенным карбоциклическим группам, имеющим 3-6 атомов углерода в кольце. Циклоалкильные группы включают циклопропил, циклобутил, цикlopентил и циклогексил.

Термин "замещенный алкил" относится к алкильной группе по определению выше, имеющей от одного до трех заместителей. Заместители выбраны из группы, состоящей из галогена, гидроксид, низшего алкокси, амина, низшего алкиламина, нитро, циано, низшего перфторалкила, низшего перфторалкокси и карбоксила.

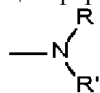
"Замещенный низший алкил" относится к низшей алкильной группе по определению выше, имеющей от одного до трех заместителей. Заместители выбраны из группы, состоящей из галогена, гидроксид, низшего алкокси, амина, нитро, циано, низшего перфторалкила, низшего перфторалкокси и карбоксила.

Термин "замещенный циклоалкил", такой как "замещенный C_3 - C_6 циклоалкил", относится к циклоалкильной группе по определению выше, имеющей от одного до трех заместителей. Заместители выбраны из группы, состоящей из галогена, гидроксид, низшего алкила, низшего алкокси, амина, нитро, циано, низшего перфторалкила, низшего перфторалкокси и карбоксила.

В контексте данного документа термин "галоген" или "гало" обозначает -F, -Cl, -Br или -I и предпочтительно F, Cl или Br.

В контексте данного документа термины "алкоксил" или "алкокси" относятся к алкильной группе по определению выше, которая присоединена посредством атома кислорода. Репрезентативные алкоксильные группы включают метокси, этокси, пропилокси, трет-бутокси и т.п. Термин "низший алкокси" относится к заместителю алкокси, в котором низший алкил связан посредством атома кислорода, где фрагмент "низшего алкила" соответствует определению выше.

Термины "амин" и "амино" относятся как к незамещенным, так и к замещенным аминам, например фрагменту, который может быть представлен общей формулой



где R и R', каждый независимо, выбраны из H и низшего алкила.

В контексте данного документа термин "арил" включает 5- и 6-членные однокольцевые ароматические группы, которые могут содержать от нуля до четырех гетероатомов, например бензен, пирен, пиррол, фуран, тиофен, имидазол, оксазол, тиазол, триазол, пиразол, пиридин, пиразин, пиридазин и пиримидин и т.п. Те арильные группы, которые содержат в кольцевой структуре гетероатомы, могут также называться "арильными гетероциклами" или "гетероарильными" группами. Ароматическое кольцо может быть замещено в одном или более положениях кольца заместителями, такими как описанные выше. Термин "арил" также включает полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических колец, в которых два или более атомов углерода являются общими для двух соединенных колец (кольца являются "конденсированными кольцами"), причем по меньшей мере одно из колец является ароматическим.

В контексте данного документа термин "аралкил" относится к алкильной группе, замещенной арильной группой. Предпочтительно алкильная группа представляет собой низший алкил, описанный выше.

Термин "гетероцикл" или "гетероциклил" относится к неароматическим гетероциклам, имеющим 4-7 кольцевых атомов и содержащим 1-3 кольцевых гетероатома.

В контексте данного документа термин "гетероатом" означает атом любого элемента, отличного от углерода или водорода. Предпочтительными гетероатомами являются азот, кислород и сера. Наиболее предпочтительными являются азот и кислород.

В контексте данного документа предполагается, что определение каждого выражения, например, алкил, m , n , R^1 , R^2 , и т.д., если оно появляется более одного раза в любой структуре, является независи-

мым от его определения в другом месте в такой же структуре.

Следует понимать, что "замена" или "замещенный" включает непрямую оговорку, что такая замена осуществлена в соответствии с допустимой валентностью замещаемого атома и заместителя и что замена приводит к получению стабильного соединения, например, которое не подвержено спонтанным трансформациям, например, за счет перестройки, циклизации, элиминации и т.д.

В контексте данного документа подразумевается, что термин "замещенный" включает 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. Иллюстративные заместители включают, например, описанные выше в данном документе. Допустимые заместители могут быть представлены одним или более и могут быть одинаковыми или разными для соответствующих органических соединений. В целях этого изобретения гетероатомы, такие как азот, могут содержать водородные заместители и/или любые допустимые заместители органических соединений, описанные в данном документе, которые удовлетворяют валентности гетероатомов. Подразумевается, что это изобретение не ограничено каким-либо образом допустимыми заместителями органических соединений.

В контексте данного документа выражение "защитная группа" означает временные заместители, которые защищают потенциально реакционноспособную функциональную группу от нежелательных химических трансформаций. Примеры таких защитных групп включают сложные эфиры карбоновых кислот, силильные эфиры спиртов, а также ацетали и кетали альдегидов и кетонов соответственно. Существует обзор области химии защитных групп (Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991).

Определенные соединения по данному изобретению могут существовать в конкретной геометрической или стереоизомерной формах. Данное изобретение полагает все такие соединения, включая цис- и транс-изомеры, R- и S-энантиомеры, диастереомеры, (D)-изомеры, (L)-изомеры, их рацемические смеси, а также другие их смеси, входящими в объем изобретения. В заместителе, таком как алкильная группа, могут присутствовать дополнительные симметрические атомы углерода. Все такие изомеры, а также их смеси, включены в данное изобретение. Данное изобретение также подразумевает замену изотопами атомов для соединений, например, замену дейтерием водорода и т.д.

Предложенные соединения являются ингибиторами ROCK. ROCK существует в двух формах, ROCK 1 (ROCK β ; p160-ROCK) и ROCK 2 (ROCK α). В некоторых вариантах реализации соединение формул I-IX селективно ингибирует ROCK1. В некоторых вариантах реализации соединение формул I-IX селективно ингибирует ROCK2. В некоторых вариантах реализации соединение формул I-IX является неселективным в отношении ингибирования ROCK1 и ROCK2. В контексте этого изобретения селективность означает, что ингибитор демонстрирует IC₅₀, которая по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 10 раз или по меньшей мере в 25 раз ниже для одной киназы по сравнению с IC₅₀ для другой киназы.

Способы определения ингибирования киназ известны в данной области техники. Например, киназную активность фермента и ингибирующую способность исследуемого соединения можно определить, измеряя фермент-специфическое фосфорилирование субстрата. Для этого доступны и могут быть использованы коммерческие анализы и наборы. Например, ингибирование киназ можно определять, используя анализ IMAP® (Molecular Devices). Этот аналитический способ включает применение флуоресцентно меченного пептидного субстрата. Фосфорилирование меченного пептида представляющей интерес киназой стимулирует связывание пептида с трехвалентной металлической наночастицей за счет специфического высокоаффинного взаимодействия между фосфогруппой и трехвалентным металлом. Близость к наночастице приводит к повышению флуоресцентной поляризации. Ингибирование киназы ингибитором киназы препятствует фосфорилированию субстрата и, таким образом, ограничивает связывание флуоресцентно-меченного субстрата с наночастицей. Такой анализ может быть совместимым с микролуночным аналитическим форматом, что позволяет проводить одновременное определение IC₅₀ множества соединений.

Способы лечения заболеваний

В одном аспекте данного изобретения предложенные соединения в составе фармацевтической композиции применяют для получения лекарственного средства для лечения заболеваний у субъекта, таких как фиброзное нарушение, аутоиммунное расстройство, сердечно-сосудистое расстройство или расстройство центральной нервной системы, глаукома и воспаление.

Нарушения ЦНС

Соединения по изобретению демонстрируют эффективное проникновение через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и распределение по тканям центральной нервной системы. Таким образом, соединения по изобретению применимы для лечения нарушений центральной нервной системы, а также нарушений, таких как определенные глазные нарушения, в случае которых полезна способность пересекать ГЭБ. Такие нарушения могут включать нейрональную дегенерацию или физическое повреждение нервной ткани, включая, без ограничений, болезнь Хантингтона, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера,

амиотрофический боковой склероз (АБС), болезнь Баттена, деменцию, спинальную мышечную атрофию, заболевания двигательных нейронов, спиноцеребеллярную атаксию, острую или хроническую боль, деменцию, нейрональную дегенерацию, повреждение спинного мозга, спазм сосудов головного мозга или множественный склероз.

Сердечно-сосудистые и другие заболевания

Соединения по изобретению, которые ингибируют ROCK и/или опосредованное ROCK фосфорилирование, применимы для лечения пациентов, страдающих от сердечно-сосудистых и не сердечно-сосудистых заболеваний, в которых играет роль функция Rho-киназы, таких как гипертензия, легочная гипертензия, атеросклероз, рестеноз, коронарная болезнь сердца, гипертрофия сердца, внутриглазная гипертензия, ретинопатия, ишемические заболевания, ишемия головного мозга, спазм сосудов головного мозга, пенильная эректильная дисфункция, нарушение периферического кровообращения, окклюзионное заболевание периферических артерий, глаукома (например, влияющая на внутриглазное давление), пневмофиброз, фиброз печени, фиброз почки, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), респираторный дистресс-синдром взрослых, нарушения центральной нервной системы, такие как нейрональная дегенерация и повреждение спинного мозга. Кроме того, ингибиторы ROCK по изобретению можно использовать для лечения артериальных тромботических нарушений, таких как агрегация тромбоцитов и агрегация лейкоцитов, а также резорбция костей.

В варианте реализации изобретения соединения применяют для лечения мальформации полостей головного мозга (МППМ). МППМ представляют собой сосудистые поражения, состоящие из кластеров пропотевающих, расширенных капилляров, и связаны с нарушениями центральной нервной системы (ЦНС), включая судороги и инсульт. Считается, что потеря сосудистой целостности связана с активацией RhoA и активацией ROCK, приводящими к изменениям в цитоскелетной стабильности и повышенной проницаемости сосудов. Соединения согласно изобретению ингибируют активацию ROCK и восстанавливают функцию сосудистого эндотелия.

Глаукома

В варианте реализации изобретения соединения по изобретению применяют для лечения глаукомы. Два наиболее распространенных варианта, первичная открытоугольная глаукома и острая закрытоугольная глаукома, характеризуются высоким внутриглазным давлением. Пигментная глаукома и врожденная глаукома также характеризуются сниженным оттоком жидкости и высоким внутриглазным давлением (ВГД). Считается, что глаукома с нормальным давлением связана с другим механизмом, в частности плохим притоком крови к зрительному нерву. Вторичная глаукома может быть результатом повреждения, инфекции, воспаления, опухоли или катаракты и также связана с длительным приемом стероидов, системной гипертензией, диабетической ретинопатией и окклюзией центральной вены сетчатки. При глаукомах, которые имеют неоваскулярный компонент, может быть польза от введения ингибитора ангиогенеза в дополнение к ингибитору ROCK.

Воспаление

Воспаление включает, без ограничений, астму, сердечно-сосудистое воспаление, почечное воспаление, атеросклероз и артериосклероз и сепсис. Другие воспалительные патологические состояния, которые можно лечить способами согласно изобретению, включают фиброзные состояния (включая, например, идиопатический фиброз легких, НАСГ, склеродерму, системный склероз и цирроз).

Аутоиммунные нарушения

Аутоиммунные нарушения включают, без ограничений, ревматоидный артрит, множественный склероз, системную красную волчанку (СКВ; волчанка), псориаз, болезнь Крона, атопический дерматит, экзему или болезнь "трансплантат против хозяина" (БТПХ), острый рассеянный энцефаломиелит (ОРЭМ), острый некротизирующий геморрагический лейкоэнцефалит, болезнь Аддисона, агаммаглобулинемию, круговую алопецию, амилоидоз, анкилозирующий спондилит, анти-БМК (базальная мембрана клубочков)/анти-БМК (базальная мембрана канальцев) нефрит, антифосфолипидный синдром (АФС), аутоиммунную ангиоэдему, аутоиммунную апластическую анемию, аутоиммунную вегетативную дистонию, аутоиммунный гепатит, аутоиммунную гиперлипидемию, аутоиммунный иммунодефицит, аутоиммунную болезнь внутреннего уха (АБВУ), аутоиммунный миокардит, аутоиммунный оофорит, аутоиммунный панкреатит, аутоиммунную ретинопатию, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру (АТП), аутоиммунный тиреоидит, аутоиммунную крапивницу, аксональные и нейрональные нейропатии, болезнь Бало, болезнь Бехчета, буллезный пемфигоид, кардиомиопатию, болезнь Кастлемана, глютенную болезнь, болезнь Шагаса, синдром хронической усталости, хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию (ХВДП), хронический рецидивирующий множественный остеомиелит (ХРМО), синдром Черджа - Стросс, рубцующийся пемфигоид/доброкачественный пемфигоид слизистой оболочки, болезнь Крона, синдром Когана, болезнь холодовых агглютининов, врожденную блокаду сердца, миокардит Коксаки, синдром CREST (кальциноз, болезнь Рейно, эзофагит, склеродактилия и телеангиэктазия), первичную криоглобулинемию смешанного типа, демиелинизирующие нейропатии, герпетиформный дерматит, дерматомиозит, болезнь Девика (нейромиелит зрительного нерва), дискоидную волчанку, синдром Дресслера, эндометриоз, эозинофильный эзофагит, эозинофильный фасциит, узловатую эритему, экспериментальный аллергический энцефаломиелит, синдром Эванса, фибромиалгию,

фиброзирующий альвеолит, гигантоклеточный артериит (височный артериит), гигантоклеточный миокардит, гломерулонефрит, синдром Гудпасчера, гранулематоз с полиангиитом (ГПА) (ранее называемый гранулематозом Вегенера), болезнь Грейвса, синдром Гийена-Барре, энцефалит Хашимото, тиреоидит Хашимото, гемолитическую анемию, пурпуру Шенлейна-Геноха, гестационный герпес, гипогаммаглобулинемию, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП), IgA-нефропатию, IgG4-связанное склерозирующее заболевание, иммунорегуляторные липопроотеины, миозит с тельцами-включениями, интерстициальный цистит, ювенильный артрит, ювенильный диабет (диабет 1 типа), ювенильный миозит, синдром Кавасаки, синдром Ламберта-Итона, лейкоцитокластический васкулит, плоский лишай, склерозирующий лишай, деревянистый конъюнктивит, IgA-зависимый линейный дерматоз (АЗЛД), волчанку (СКВ), болезнь Лайма, хроническую болезнь Меньера, микроскопический полиангиит, смешанное заболевание соединительной ткани (СЗСТ), язву Мурена, болезнь Мухи-Габерманна, множественный склероз, миастению гравис, миозит, нарколепсию, нейромиеелит зрительного нерва (Девика), нейтропению, глазной рубцующийся пемфигOID, неврит зрительного нерва, палиндромный ревматизм, PANDAS (детские аутоиммунные нервно-психические расстройства, ассоциированные со стрептококковыми инфекциями), паранеопластическую мозжечковую дегенерацию, пароксизмальную ночную гемоглобинурию (ПНГ), синдром Парри-Ромберга, синдром Персонейджа-Тернера, парспланит (периферический увеит), пемфигус, периферическую нейропатию, перивенозный энцефаломиеелит, пернициозную анемию, РОЕМС-синдром (полинейропатия, органомегалия, эндокринопатия, наличие М-протеина и поражения кожи), узелковый полиартериит, аутоиммунные полиглангулярные синдромы I, II и III типа, ревматическую полимиалгию, полимиозит, постинфарктный синдром, постперикардитомный синдром, прогестероновый дерматит, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит, псориаз, псориазический артрит, идиопатический легочный фиброз, гангренозную пиодермию, истинную эритроцитарную аплазию, феномен Рейно, реактивный артрит, рефлекторную симпатическую дистрофию, синдром Рейтера, рецидивирующий полихондрит, синдром беспокойных ног, забрюшинный фиброз, ревматическую лихорадку, ревматоидный артрит, саркоидоз, синдром Шмидта, склерит, склеродерму, синдром Шегрена, аутоиммунность к тестикулярным сперматозоидам, синдром мышечной скованности, подострый бактериальный эндокардит (ПБЭ), синдром Сусака, симпатическую офтальмию, артериит Такаясу, височный артериит/гигантоклеточный артериит, тромбоцитопеническую пурпуру (ТП), синдром Толоса-Ханта, поперечный миелит, диабет 1 типа, язвенный колит, недифференцированное заболевание соединительной ткани (НЗСТ), увеит, васкулит, везикулобуллезный дерматоз и витилиго.

В соответствии с изобретением нацеливание на клетки Th17 (IL-17-секретирующие) за счет ингибирования ROCK обеспечивает лечения опосредованных клетками Th17 заболеваний, включая, но не ограничиваясь этим, аутоиммунные заболевания, такие как РА, МС, СКВ, псориаз и болезнь Крона, и БТПХ у людей. В варианте реализации изобретения ингибитор ROCK представляет собой соединение формулы I.

Развитие и функция Treg зависит от активации специфических путей передачи сигнала. TGF- β и IL-2 активируют экспрессию транскрипционных факторов Foxp3 и STAT5, которые оба играют важную роль в регуляции супрессивной функции Treg. С другой стороны, провоспалительные цитокины ингибируют экспрессию Foxp3 посредством повышающей регуляции фосфорилирования STAT3. В соответствии с изобретением фармакологическое ингибирование ROCK2 может регулировать функцию Treg.

Фармацевтические композиции

В одном аспекте в данном изобретении предложены фармацевтически приемлемые композиции, которые содержат терапевтически эффективное количество одного или более соединений настоящего изобретения, приготовленных вместе с одним или более фармацевтическими эксципиентами. Как описано ниже, фармацевтические композиции по данному изобретению могут быть приготовлены, в частности, в твердой или жидкой форме, включая адаптированные для следующего: (1) перорального введения, например, жидкие лекарственные формы (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, например, предназначенные для буккального, подъязычного и системного всасывания, болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; (2) парентерального введения, например, путем подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции в виде, например, стерильного раствора или суспензии, или формы с замедленным высвобождением; (3) местного применения, например, в виде крема, мази или пластыря с контролируемым высвобождением или спрея, наносимого на кожу; (4) интравaginaльного или интаректального применения, например, в виде пессария, крема или пены; (5) подъязычного применения; (6) глазного применения; (7) трансдермального применения; или (8) назального применения.

Выражение "фармацевтически приемлемый" используется в данном документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые с медицинской точки зрения подходят для применения в контакте с тканями человека и животных и характеризуются токсичностью, раздражением, аллергическими реакциями или другими проблемами или осложнениями, соответствующими приемлемому соотношению польза/риск.

В контексте данного документа выражение "фармацевтически приемлемый носитель" означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или базовый раствор, такой как жидкий или твер-

дый наполнитель, разбавитель, эксципиент, вспомогательное вещество при производстве (например, лубрикант, тальк на основе силиката магния, стеарат кальция или цинка или стеариновая кислота) или инкапсулирующий растворитель материал, участвующий в переносе или транспорте данного соединения из одного органа или части тела в другой орган или другую часть тела. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в смысле совместимости с другими ингредиентами лекарственной формы и не приносить вреда пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, 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 карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетатцеллюлоза; (4) порошковый трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) эксципиенты, такие как кокосовое масло и воски для суппозитория; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, подсолнечное 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 солевой раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) pH-буферные растворы; (21) сложные полиэфиры, поликарбонаты и/или полиангидриды; и (22) другие нетоксичные совместимые вещества, применяемые в фармацевтических формах.

Как указано выше, некоторые варианты реализации представленных соединений могут содержать основную функциональную группу, такую как amino или алкиламино, и следовательно, способны образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемыми кислотами. В этом отношении термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к относительно нетоксичным, неорганическим и органическим солям присоединения кислот соединений по данному изобретению. Эти соли можно готовить *in situ* в процессе производства базового раствора для введения или дозированной формы или проводя отдельно реакцию очищенного соединения по изобретению в его свободной основной форме с подходящей органической или неорганической кислотой и выделяя полученную таким образом соль во время последующей очистки. Репрезентативные соли включают бромистоводородные, хлористоводородные, сульфатные, бисульфатные, фосфатные, нитратные, ацетатные, валератные, олеатные, пальмитатные, стеаратные, лауратные, бензоатные, лактатные, фосфатные, тозилатные, цитратные, малеатные, фумаратные, сукцинатные, тартратные, нафтилатные, мезилатные, глюкогептонатные, лактобионатные и лаурилсульфонатные соли и т.п. (см., например, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19).

Фармацевтически приемлемые соли рассматриваемых соединений включают традиционные нетоксичные соли или четвертичные аммониевые соли соединений, например, из нетоксичных органических или неорганических кислот. Например, такие традиционные нетоксичные соли включают полученные из неорганических кислот, таких как хлористоводородная, бромистоводородная, серная, сульфаминовая, фосфорная, азотная и т.п.; и соли, полученные из органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, янтарная, гликолевая, стеариновая, молочная, яблочная, винная, лимонная, аскорбиновая, пальмитиновая, малеиновая, гидроксималеиновая, фенилуксусная, глутаминовая, бензойная, салициловая, сульфаминовая, 2-ацетоксибензойная, фумаровая, толуолсульфоновая, метансульфоновая, этандисульфоновая, щавелевая, изотионовая и т.п.

В других случаях соединения по данному изобретению могут содержать одну или более кислотных функциональных групп и, следовательно, способны образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемыми основаниями. В этих случаях термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к относительно нетоксичным, неорганическим и органическим солям присоединения оснований соединений по данному изобретению. Эти соли аналогично можно готовить *in situ* в процессе производства базового раствора для введения или дозированной формы или проводя отдельно реакцию очищенного соединения по изобретению в его свободной кислой форме с подходящим основанием, таким как гидроксид, карбонат или бикарбонат фармацевтически приемлемого катиона металла, с аммонием или с фармацевтически приемлемым органическим первичным, вторичным или третичным амином. Репрезентативные соли щелочных или щелочно-земельных металлов включают соли лития, натрия, калия, кальция, магния и алюминия и т.п. Репрезентативные органические амины, пригодные для образования солей присоединения оснований, включают этиламин, диэтиламин, этилендиамин, этаноламин, диэтанолламин, пиперазин и т.п. (см., например, Berge et al., выше).

Также в композициях могут присутствовать смачивающие агенты, эмульсификаторы и лубриканты, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красители, разделительные агенты, агенты для покрытия, подсластители, ароматизаторы и отдушки, консерванты и антиоксиданты.

Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, цистеингидрохлорид, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т.п.; (2) маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (БГА), бутилированный гидрокситолуол (БГТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т. п.; и (3) металлохелаторы, такие как уксусная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТК), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т.п.

Лекарственные формы по данному изобретению включают подходящие для перорального, назального, местного (включая буккальное и подъязычное), ректального, вагинального и/или парентерального введения. Лекарственные формы могут быть удобным образом представлены в единичной дозированной форме и их можно готовить любыми способами, хорошо известными в области фармации. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом носителя для получения единичной дозированной формы, будет варьироваться в зависимости от хозяина, лечение которого проводят, конкретного режима введения. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом носителя для получения единичной дозированной формы, в общем случае будет тем количеством соединения, которое дает терапевтический эффект. В общем случае из ста процентов это количество будет находиться в диапазоне от около 0,1 до около 99% активного ингредиента, предпочтительно от около 5 до около 70%, наиболее предпочтительно от около 10 до около 30%.

В определенных вариантах реализации лекарственная форма по данному изобретению содержит эксципиент, выбранный из группы, состоящей из циклодекстринов, целлюлоз, липосом, образующих мицеллы агентов, например, желчных кислот, и полимерных носителей, например, сложных полиэфиров и полиангидридов; и соединение по данному изобретению. В определенных вариантах реализации вышеуказанная лекарственная форма делает соединение по данному изобретению перорально биодоступным.

Способы приготовления лекарственных форм или композиций включают этапы объединения соединения по данному изобретению с носителем и, необязательно, одним или более вспомогательными ингредиентами. В общем случае лекарственные формы готовят путем равномерного и аккуратного объединения соединения по данному изобретению с жидкими носителями или измельченными твердыми носителями, или и теми и другими, и затем, при необходимости, формования продукта.

Лекарственные формы по изобретению, подходящие для перорального введения, могут быть представлены в форме капсул, крахмальных капсул, пилюль, таблеток, леденцов, порошков, гранул или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии типа "масло в воде" или "вода в масле", или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с использованием инертной основы, такой как желатин или глицерин, или сахарозы и аравийской камеди) и/или в виде ополаскивателей для рта и т.п., которые все содержат заданное количество соединения по данному изобретению в качестве активного ингредиента. Соединение по данному изобретению также можно вводить в виде болуса, электуария или пасты.

В твердых дозированных формах по изобретению для перорального введения (капсулах, таблетках, пилюлях, драже, порошках, гранулах, таблетках для рассасывания и т.п.) активный ингредиент смешан с одним или более фармацевтически приемлемыми эксципиентами, включая фармацевтически приемлемый носитель, такой как цитрат натрия или дикальцийфосфат, и/или любым из следующего: (1) наполнители или расширители, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связующие вещества, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или аравийская камедь; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) разрыхляющие агенты, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, определенные силикаты и карбонат натрия; (5) замедлители застывания раствора, такие как парафин; (6) ускорители всасывания, такие как четвертичные соединения аммония, и поверхностно-активные вещества, такие как полоксамер и лаурилсульфат натрия; (7) смачивающие агенты, такие как, например, цетиловый спирт, глицеринмоностеарат и неионные поверхностно-активные вещества; (8) абсорбенты, такие как каолиновая и бентонитовая глина; (9) лубриканты, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия, стеарат цинка, стеарат натрия, стеариновая кислота и их смеси; (10) красители; и (11) агенты для контролируемого высвобождения, такие как кросповидон или этилцеллюлоза. В случае капсул, таблеток и пилюль фармацевтические композиции могут также содержать буферные агенты. Твердые композиции аналогичного типа также можно применять в качестве наполнителей в желатиновых капсулах с мягкой и твердой оболочкой, используя такие эксципиенты, как лактоза или молочные сахара, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и т.п.

Таблетку можно получать путем прессования или формования, необязательно, с одним или более вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки можно готовить, используя связующее вещество (например, желатин или гидроксипропилметилцеллюлозу), лубрикант, инертный разбавитель, консервант, разрыхлитель (например, натрия крахмалгликолят или сшитую карбоксиметилцеллюлозу натрия), поверхностно-активный или диспергирующий агент. Формованные таблетки можно получать путем формования в подходящем устройстве смеси порошкообразного соединения, увлажненного инертным жидким разбавителем.

На таблетки и другие твердые дозированные формы фармацевтических композиций по данному изобретению, такие как драже, капсулы, пилюли и гранулы, необязательно можно наносить бороздки или готовить их с покрытиями или оболочками, такими как кишечнорастворимые покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области приготовления фармацевтических лекарственных форм. Их также можно готовить так, чтобы обеспечить замедленное или контролируемое высвобождения активного

ингредиента, используя, например, гидроксипропилметилцеллюлозу в разных пропорциях, чтобы обеспечить необходимый профиль высвобождения, другие полимерные матрицы, липосомы и/или микрокапсулы. Их можно готовить для быстрого высвобождения, например, лиофилизировать. Их можно стерилизовать, например, путем фильтрации через задерживающий бактерии фильтр или путем включения стерилизующих агентов, в форме стерильных твердых композиций, которые можно растворять в стерильной воде или какой-либо другой стерильной среде для инъекций непосредственно перед применением. Эти композиции также могут необязательно содержать замутнители и могут иметь такой состав, что они высвобождают только активный(е) ингредиент(ы) или, предпочтительно, в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно, замедленным образом. Примеры капсулирующих композиций, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски. Активный ингредиент также может присутствовать в микроинкапсулированной форме, в случае необходимости, с одним или более из вышеописанных эксципиентов.

Жидкие дозированные формы для перорального введения соединений по изобретению включают фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Кроме активного ингредиента, жидкие дозированные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как, например, вода и другие растворители, 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, масло зародышей пшеницы, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбитана и их смеси.

Помимо разбавителей пероральные композиции могут также содержать дополнительные эксципиенты, такие как смачивающие агенты, эмульсифицирующие и суспендирующие агенты, подсластители, ароматизаторы, красители, отдушки и консерванты.

Суспензии помимо активных соединений могут содержать суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбит и сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, метакрилат алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант и их смеси.

Лекарственные формы фармацевтических композиций по изобретению для ректального или вагинального введения могут быть представлены в виде суппозитория, который можно готовить, смешивая одно или более соединений по изобретению с одним или более подходящими нераздражающими эксципиентами или носителями, содержащими, например, кокосовое масло, полиэтиленгликоль, воск для суппозитория или салицилат, и который является твердым при комнатной температуре, но жидким при температуре тела и, следовательно, тает в ректальной или вагинальной полости и высвобождает активное соединение.

Лекарственные формы по данному изобретению, которые подходят для вагинального введения, также включают pessaries, тампоны, кремы, гели, пасты, пены или спреи, содержащие такие носители, которые являются подходящими, как известно в данной области техники.

Дозированные формы для местного или трансдермального применения соединения по этому изобретению включают порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и ингаляторы. Активное соединение можно смешивать в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми консервантами, буферами или пропеллентами, которые могут быть необходимы.

Мази, пасты, кремы и гели могут содержать, помимо активного соединения по изобретению, эксципиенты, 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, помимо соединения по этому изобретению, эксципиенты, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамидный порошок, или смеси этих веществ. Спреи могут дополнительно содержать традиционные пропелленты, такие как хлорфторуглероды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

Трансдермальные пластыри имеют дополнительное преимущество обеспечения контролируемой доставки соединения по данному изобретению в организм. Такие дозированные формы можно получать путем растворения или диспергирования соединения в надлежащей среде. Также можно использовать усилители всасывания для повышения потока соединения через кожу. Скорость такого потока можно контролировать, устанавливая контролируемую скорость мембрану или диспергируя соединение в полимерной матрице или геле.

Офтальмологические лекарственные формы, глазные мази, порошки, растворы и т.п. также подразумеваются как входящие в объем этого изобретения.

Фармацевтические композиции по этому изобретению, подходящие для парентерального введения, содержат одно или более соединений по изобретению в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями, или стерильными порошками, которые можно восстанавливать в виде стериль-

ных растворов или дисперсий для инъекции непосредственно перед применением, которые могут содержать сахара, спирты, антиоксиданты, буферы, бактериостатические средства, растворенные вещества, которые придают лекарственной форме изотоничность с кровью предполагаемого реципиента, или суспендирующие или загущающие агенты.

Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые можно применять в фармацевтических композициях по изобретению, включают воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и инъекционные органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, используя материалы для покрытия, такие как лецитин, поддерживая необходимый размер частиц в случае дисперсий и используя поверхностно-активные вещества.

Эти композиции также могут содержать дополнительные эксципиенты, такие как консерванты, смачивающие агенты, эмульсифицирующие агенты и диспергирующие агенты. Предотвращение воздействия микроорганизмов на рассматриваемые соединения можно гарантировать включением различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например парабена, хлорбутанола, фенола, сорбиновой кислоты и т.п. Может возникнуть необходимость включения в композиции изотонических агентов, таких как сахара, хлорид натрия и т.п. Кроме того, продленное всасывание инъекционной фармацевтической формы можно обеспечивать путем включения агентов, которые замедляют всасывание, таких как моностеарат алюминия и желатин.

В некоторых случаях, чтобы продлить эффект лекарственного препарата, необходимо замедлить всасывание лекарственного препарата после подкожной или внутримышечной инъекции. Это можно осуществить, используя жидкую суспензию кристаллического или аморфного материала, имеющего плохую растворимость в воде. Следовательно, скорость всасывания лекарственного препарата зависит от скорости растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. В альтернативном варианте замедленное всасывание парентерально вводимого лекарственного препарата обеспечивают путем растворения или суспендирования лекарственного препарата в масляном носителе.

Инъекционные депо-формы получают путем формования микрокапсульных матриц рассматриваемых соединений в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения лекарственного препарата к полимеру и природы конкретного применяемого полимера можно контролировать скорость высвобождения лекарственного препарата. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают сложные поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды). Инъекционные депо-формы также готовят путем заключения лекарственного препарата в липосомах или микроэмульсиях, которые являются совместимыми с тканями организма.

Когда соединения по данному изобретению вводят в виде фармацевтических средств людям и животным, их можно использовать сами по себе или в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, от 0,1 до 99% (более предпочтительно от 10 до 30%) активного ингредиента в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем.

Пути введения и дозы

Препараты по данному изобретению можно применять перорально, парентерально, местно или ректально. Конечно, их применяют в формах, подходящих для каждого пути введения. Например, их вводят в форме таблеток или капсул, путем инъекции, ингаляции, в форме глазного лосьона, мази, суппозитория и т.д., введения путем инъекции, инфузии или ингаляции; местного введения посредством лосьона или мази; и ректального введения посредством суппозитория. Предпочтительным является пероральное введение.

В контексте данного документа выражения "парентеральное введение" и "вводимый парентерально" означают режимы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно посредством инъекции, и включают, без ограничений, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, интрадермальную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную и внутригрудинную инъекцию и инфузию.

В контексте данного документа выражения "системное введение", "вводимый системно", "периферическое введение" и "вводимый периферически" означают введение соединения, лекарственного препарата или другого материала иначе, чем непосредственно в центральную нервную систему, так, чтобы они попадали в систему пациента и, таким образом, становились объектом метаболизма и подобных процессов, например, как в случае подкожного введения.

Эти соединения можно вводить людям и другим животным для терапии любым подходящим путем введения, включая, пероральный, назальный, например, с помощью спрея, ректальный, интравагинальный, парентеральный, интракостеральный и местный, например, с помощью порошков, мазей или капель, в том числе буккальный и подъязычный.

Вне зависимости от выбранного пути введения соединения по данному изобретению, которые можно использовать в подходящей гидратированной форме, и/или фармацевтические композиции по данному изобретению готовят в виде фармацевтически приемлемых дозированных форм традиционными спо-

собами, известными специалистам в данной области техники.

Фактические уровни дозировок активных ингредиентов в фармацевтических композициях по этому изобретению можно варьировать так, чтобы получить количество активного ингредиента, которое является эффективным для достижения необходимого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и режима введения, без токсичности для пациента.

Выборный уровень дозировки будет зависеть от ряда факторов, включая активность конкретного применяемого соединения по данному изобретению или его сложного эфира, соли или амида, путь введения, время введения, скорость выведения или метаболизма конкретного применяемого соединения, скорость и степень всасывания, длительность лечения, другие лекарственные препараты, соединения и/или материалы, применяемые в комбинации с конкретным применяемым соединением, возраст, пол, массу, патологическое состояние, общее состояние здоровья и анамнез пациента, лечение которого проводят, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

Врач или ветеринар, имеющий соответствующую квалификацию в данной области техники, может легко определить и прописать необходимое эффективное количество фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начать с доз соединений по изобретению, используемых в фармацевтической композиции, на уровнях ниже необходимого, чтобы получить желаемый терапевтический эффект, и постепенно повышать дозировку до достижения желаемого эффекта.

В общем случае подходящая суточная доза соединения по изобретению будет таким количеством соединения, которое является самой низкой дозой, эффективной для оказания терапевтического эффекта. Такая эффективная доза в общем случае будет зависеть от факторов, описанных выше. В общем случае пероральные, внутривенные, интрацеребровентрикулярные и подкожные дозы соединений по этому изобретению для пациента, в случае применения для указанного анальгетического эффекта, будут находиться в диапазоне от около 0,0001 до около 100 мг на килограмм массы тела в сутки.

В определенных вариантах реализации дозу соединения или композиции вводят субъекту каждые сутки, через сутки, через двое суток, через трое суток, один раз в неделю, дважды в неделю, трижды в неделю или один раз каждые две недели. При необходимости эффективную суточную дозу активного соединения можно вводить в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более частей дозы, вводимых отдельно через соответствующие интервалы в течение суток, необязательно, в единичных дозированных формах. В некоторых вариантах реализации дозу(ы) соединения или композиции вводят в течение 2 суток, 3 суток, 5 суток, 7 суток, 14 суток или 21 суток. В определенных вариантах реализации дозу соединения или композиции вводят в течение 1 месяца, 1,5 месяца, 2 месяцев, 2,5 месяца, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев, 6 месяцев или более.

Вышеописанные схемы введения приведены исключительно в иллюстративных целях и не должны считаться ограничивающими. Специалисту в данной области техники понятно, что все дозы входят в объем данного изобретения.

Пациент, получающий такое лечение, представляет собой любое животное, нуждающееся в нем, включая приматов, в частности, людей, и других млекопитающих, таких как лошади, крупный рогатый скот, свиньи и овцы; а также домашняя птица и домашние животные в целом.

Соединения для применения в способах по данному изобретению можно вводить сами по себе или в виде смесей с фармацевтически приемлемыми носителями, и также можно вводить в сочетании с противомикробными агентами, такими как пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды и гликопептиды. Таким образом, комбинированная терапия включает последовательное, одновременное и отдельное введение активного соединения таким образом, чтобы терапевтический эффект первого вводимого компонента полностью не исчезал во время введения последующего.

Добавление активного соединения по изобретению в корм для животных предпочтительно осуществляют путем приготовления соответствующей предварительной кормовой смеси, содержащей активное соединение в эффективном количестве, и включения предварительной кормовой смеси в полный рацион.

В альтернативном варианте в корм можно подмешивать промежуточный концентрат или кормовую добавку, содержащие активный ингредиент. Способ, которым можно готовить и применять такие предварительные кормовые смеси и полные рационы, описан в книгах (таких как "Applied Animal Nutrition", W.H. Freedman and CO., San Francisco, U.S.A., 1969 или "Livestock Feeds and Feeding" O and B books, Corvallis, Ore., U.S.A., 1977).

Можно применять технологию микроэмульгации для улучшения биодоступности липофильных (нерастворимых в воде) фармацевтических агентов. Примеры включают Trimetrine (Dordunoo, S. K., et al., Drug Development and Industrial Pharmacy, 17(12), 1685-1713, 1991) и REV 5901 (Sheen, P. C., et al., J Pharm Sci 80(7), 712-714, 1991). Помимо прочего, микроэмульгация обеспечивает повышение биодоступности за счет преимущественного всасывания в лимфатической системе вместо системы кровообращения, что позволяет миновать печень и предотвращает разложение соединений в гепатобилиарной системе циркуляции.

Контролируемое высвобождение

Характеристики высвобождения лекарственной формы по данному изобретению зависят от инкапсулирующего материала, концентрации инкапсулированного лекарственного препарата и присутствия

веществ, модифицирующих высвобождение. Высвобождение можно сделать зависимым от pH, например, используя чувствительное к pH покрытие, которое обеспечивает высвобождение только при низком pH, таком как в желудке, или более высоком pH, таком как в кишечнике. Можно использовать кишечнорастворимое покрытие, чтобы предотвратить высвобождение ранее, чем после прохождения через желудок. Несколько типов покрытия или смеси цианамидов, инкапсулированного в разных материалах, можно использовать для обеспечения начального высвобождения в желудке с последующим высвобождением в кишечнике. Высвобождение также можно регулировать путем включения солей или порообразующих агентов, которые могут повышать поглощение воды или высвобождение лекарственного препарата посредством диффузии из капсулы. Также можно использовать в эксципиенты, которые модифицируют растворимость лекарственного препарата, чтобы контролировать скорость высвобождения. Также можно включать агенты, которые усиливают распад матрицы или высвобождение из матрицы. Их можно добавлять к лекарственному препарату, добавлять в виде отдельной фазы (т.е. в виде частиц) или совместно растворять в полимерной фазе в зависимости от соединения. Некоторые типы усилителей распада включают неорганические соли, такие как сульфат аммония и хлорид аммония, органические кислоты, такие как лимонная кислота, бензойная кислота и аскорбиновая кислота, неорганические основания, такие как карбонат натрия, карбонат калия, карбонат цинка и гидроксид цинка, и органические основания, такие как протаминсульфат, спермин, холин, этаноламин, диэтиламин и триэтиламин, а также поверхностно-активные вещества, такие как Твин® и Плурионик®. Порообразующие агенты, которые придают матрицам микроструктуру (т.е. водорастворимые соединения, такие как неорганические соли и сахара) добавляют в виде частиц. Их диапазон должен составлять от одного до тридцати процентов (мас./мас., полимера).

Поглощение также можно регулировать, изменяя время нахождения частиц в кишечнике. Это можно обеспечивать, например, путем покрытия частиц мукоадгезивным полимером или выбора его в качестве инкапсулирующего материала. Примеры включают большинство полимеров со свободными карбоксильными группами, такие как хитозан, целлюлозы и, в особенности, полиакрилаты (в контексте данного документа полиакрилаты относятся к полимерам, содержащим акрилатные группы и модифицированные акрилатные группы, таким как цианоакрилаты и метакрилаты).

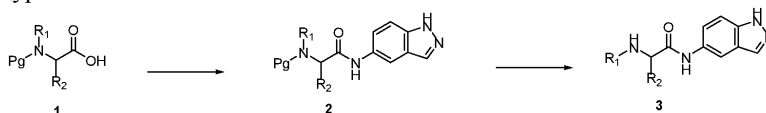
Следует понимать и ожидать, что специалист в данной области техники может осуществлять вариации принципов описанного в данном документе изобретения, и подразумевается, что такие модификации включены в объем данного изобретения. Следующие примеры дополнительно иллюстрируют данное изобретение, но их не следует воспринимать, как ограничивающие каким-либо образом объем данного изобретения. Все ссылки, цитируемые в данном документе, в полном объеме включены посредством ссылок.

Примеры

Пример 1.

Все растворители и реагенты получали на коммерческой основе и использовали в том виде, в котором они были получены. Спектры ^1H ЯМР записывали на приборе Bruker (300 МГц или 400 МГц) в указанных дейтерированных растворителях. Значения химического сдвига приведены в м. д., а константы взаимодействия приведены в герцах. Все конечные соединения очищали методом флэш-хроматографии, используя силикагель с номером сита 220-400, или обращенно-фазовой ВЭЖХ с CH_3CN /водой в качестве растворителей. Тонкослойную хроматографию проводили на силикагелевых планшетах 60 F-254 (толщиной 0,25 мм). Визуализацию осуществляли с помощью УФ-света и/или 10% фосфорномолибденовой кислоты в этаноле. Номинальные (низкого разрешения) масс-спектры снимали на масс-спектрометре Waters LCT или Applied Biosystems API 3000. Масс-спектры высокого разрешения (МСВР) снимали на масс-спектрометре Waters LCT или Agilent TOF. Все остальные ЖХ-МС эксперименты проводили на ВЭЖХ-системе Agilent 1100, сопряженной с одноквадропольным масс-спектрометром Agilent. Чистоту соединения определяли методом ЖХ-МС с длинами волн 230 и 254 нм. Все конечные соединения, приведенные в данном документе, имеют чистоту $\geq 95\%$.

Общая процедура А:



ЭДКИ-сопряжение: соединение общей структуры 1 (1 экв.), ЭДКИ (1 экв.), НОВт (0,2 экв.) и ДИЭА (2 экв.) растворяли в ДМФ, перемешиваемом при 25°C , в течение 5 мин. Затем к смеси добавляли амин (1 экв.). Смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч. Смесь вливали в воду и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Этот остаток очищали методом колоночной хроматографии с получением соединения общей структуры 2.

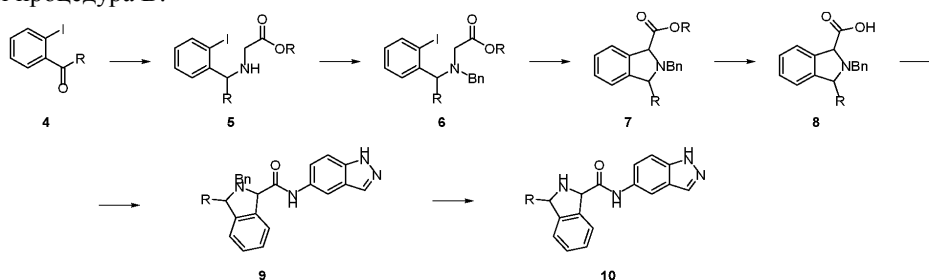
НАТУ-сопряжение: соединение общей структуры 1 (1 экв.), НАТУ (1,25 экв.) и ДИПЭА (1,5 экв.) растворяли в ДМФ, перемешиваемом при 23°C , в течение 15 мин. В реакционную смесь вносили 1Н-индазол-5-амин (1 экв.) и продолжали перемешивать раствор при 23°C еще в течение 16 ч. Реакционную

смесь разводили водой и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного материала, который очищали на силикагеле с получением необходимого соединения общей структуры 2.

Вос-удаление защиты: соединение общей структуры 2 растворяли в ДХМ и вносили в раствор 4 Н HCl в диоксане. Реакционную смесь перемешивали при 23°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенной реакционной смеси, которую очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением необходимого соединения общей структуры 3.

Удаление бензильной группы: соединение общей структуры 2 (1 экв.) и конц. HCl (1,2 экв.) растворяли в MeOH и добавляли 10% сухой Pd/C. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере H_2 (1 атм.) при 50°C в течение 5 ч. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением необходимого соединения общей структуры 3.

Общая процедура В:



Аминную соль HCl (2 экв.) растворяли в метаноле и добавляли триэтиламин (2 экв.). Реакционный раствор перемешивали в течение 15 мин после чего добавляли кетон или альдегид общей структуры 4 (1 экв.) вместе с HOAc (4 экв.). Перемешивание продолжали еще в течение 15 мин и добавляли NaBH_3CN . Температуру реакции поднимали до 60°C и продолжали перемешивание в течение 16 ч. Реакционную смесь разводили водой и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного материала, который очищали на силикагеле с получением необходимого соединения общей структуры 5.

K_2CO_3 (2 экв.), LiI (0,05 экв.) и бензилбромид добавляли в раствор соединения общей структуры 5 (1 экв.) в MeCN при комнатной температуре. Температуру реакции поднимали до 60°C и продолжали перемешивание в течение 16 ч. Реакционную смесь разводили водой и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного материала, который очищали на силикагеле с получением необходимого соединения общей структуры 6.

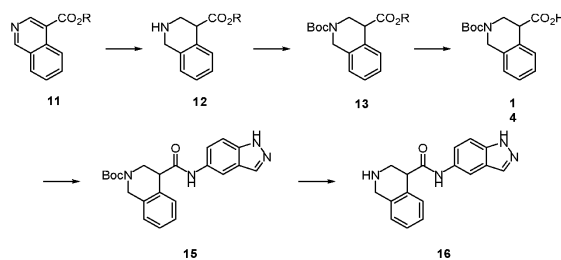
Раствор соединения общей структуры 6 (1 экв.), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,15 экв.), K_3PO_4 (3 экв.) в ТГФ продували азотом в течение 5 мин при комнатной температуре. Температуру реакции поднимали до 120°C и продолжали перемешивание в течение 48 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении и очищали остаток методом хроматографии на силикагеле с получением необходимого соединения общей структуры 7.

Соединение общей структуры 7 (1 экв.) растворяли в водной смеси метанола и добавляли NaOH (2 экв.). Реакционную смесь продолжали перемешивать при 30°C в течение 16 ч. Реакционный раствор подкисляли до pH = 5. Очистку неочищенного остатка осуществляли методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением необходимого соединения общей структуры 8.

Соединение общей структуры 8 (1 экв.), NATU (1,25 эквив.) и ДИПЭА (1,5 экв.) растворяли в ДМФ и перемешивали при 23°C в течение 15 мин. В реакционную смесь вносили 1Н-индазол-5-амин (1 экв.) и продолжали перемешивать раствор при 23°C еще в течение 16 ч. Реакционную смесь разводили водой и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного материала, который очищали на силикагеле с получением необходимого соединения общей структуры 9.

Соединение общей структуры 9 (1 экв.) и конц. HCl (1,2 экв.) растворяли в MeOH и добавляли 10% сухого Pd/C. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере H_2 (1 атм.) при 50°C в течение 5 ч. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением необходимого соединения общей структуры 10.

Общая процедура С:



Соединение общей структуры 11 (1 экв.) растворяли в уксусной кислоте и добавляли PtO₂ (0,1 экв.). Реакционный раствор перемешивали в атмосфере водорода (1 атм.) при комнатной температуре в течение 16 ч. Полученный в результате раствор отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток подщелачивали с помощью 2 Н NaOH до pH = 9 и экстрагировали смесь. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного материала, который очищали на силикагеле с получением необходимого соединения общей структуры 12.

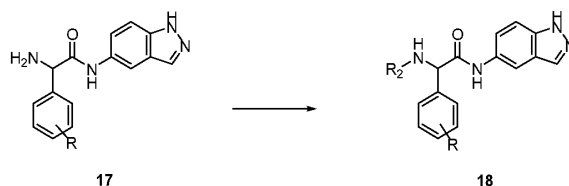
Соединение общей структуры 12 (1 экв.) растворяли в ДХМ и добавляли ВостО (1,5 экв.), ДИПЭА (2 экв.). Реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь разводили водой и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного материала, который очищали на силикагеле с получением необходимого соединения общей структуры 13.

Соединение общей структуры 13 (1 экв.) растворяли в водной смеси метанола и добавляли NaOH (2 экв.). Реакционную смесь продолжали перемешивать при 30°C в течение 16 ч. Реакционный раствор подкисляли до pH = 5. Очистку неочищенного остатка осуществляли методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением необходимого соединения общей структуры 14.

Соединение общей структуры 14 (1 экв.), НАТУ (1,25 экв.) и ДИПЭА (1,5 экв.) растворяли в ДМФ и перемешивали при 23°C в течение 15 мин. В реакционную смесь вносили 1Н-индазол-5-амин (1 экв.) и продолжали перемешивать раствор при 23°C еще в течение 16 ч. Реакционную смесь разводили водой и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного материала, который очищали на силикагеле с получением необходимого соединения общей структуры 15.

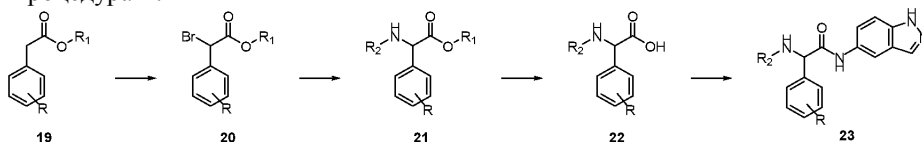
Соединение общей структуры 15 растворяли в ДХМ и вносили в раствор 4 н. HCl в диоксане. Реакционную смесь перемешивали при 23°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенной реакционной смеси, которую очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением необходимого соединения общей структуры 16.

Общая процедура D:



Раствор соединения общей структуры 17 (1 экв.) и альдегид или кетон (1 экв.) в MeOH (3,00 мл) перемешивали при 23°C в течение 16 ч. Через 16 ч добавляли NaBH₃CN (1,2 экв.) и перемешивали смесь в течение дополнительных 3 ч. Реакционную смесь гасили добавлением воды, а полученную в результате смесь экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный материал очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением соединения общей структуры 18.

Общая процедура E:



Соединение общей структуры 19 (1 экв.) растворяли в CCl₄ и добавляли AIBN (0,1 экв.), а затем NBS (1,2 экв.) при комнатной температуре. Температуру реакции поднимали до 60°C и продолжали перемешивание в течение 16 ч. Реакционную смесь отфильтровывали и удаляли растворитель при пониженном давлении. Неочищенный материал 20 использовали на следующем этапе без дополнительной очистки.

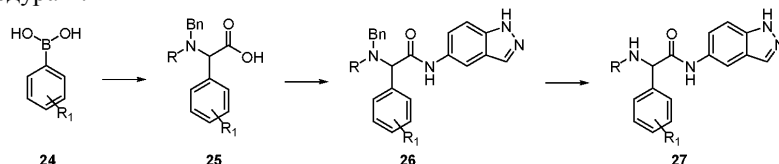
Соединение общей структуры 20 (1 экв.) и алкиламин (2 экв.) в ТГФ перемешивали при 70°C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и очищали материал мето-

дом хроматографии на силикагеле с получением соединения общей структуры 21.

NaOH (2 экв.) вносили в реакционный сосуд, содержащий соединение общей структуры 21 (1 экв.), растворенное в смеси MeOH/H₂O. Реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный остаток растворяли в воде (10 мл) и аккуратно нейтрализовали 6 Н HCl до pH = 8. Суспензию фильтровали, а твердые вещества собирали и сушили с получением соединения общей структуры 22.

Соединение общей структуры 22 (1 экв.), НАТУ (1,25 экв.) и ДИПЭА (2 экв.) растворяли в ДМФ и перемешивали при 20°C в течение 15 мин. В реакционную смесь вносили 1Н-индазол-5-амин (1 экв.) и перемешивали при 20°C в течение 15,8 ч. Реакционную смесь разводили водой и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором (15 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенную реакционную смесь очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением соединения общей структуры 23.

Общая процедура F:

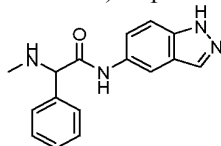


Бензиламин (1 экв.) растворяли в дихлорметане. В реакционную смесь добавляли соответствующую арилборную кислоту 24 (1 экв.), а затем глиоксиловую кислоту (1 экв.) в атмосфере азота. Реакционную смесь нагревали до 40°C и поддерживали температуру в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Неочищенную реакционную смесь очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением соединения общей структуры 25.

Соединение общей структуры 25 (1 экв.), НАТУ (1,25 экв.) и ДИПЭА (2 экв.) растворяли в ДМФ и перемешивали при 20°C в течение 15 мин. В реакционную смесь вносили 1Н-индазол-5-амин (1 экв.) и перемешивали при 20°C в течение 16 ч. Реакционную смесь разводили водой и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенную реакционную смесь очищали методом нормально-фазовой хроматографии на силикагеле с получением соединения общей структуры 26.

Соединение общей структуры 26 (1 экв.) и конц. HCl (1,2 экв.) растворяли в MeOH и добавляли 10% сухого Pd/C. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере H₂ (1 атм.) при 60°C в течение 3 ч. Реакционную смесь фильтровали, а фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением необходимого соединения общей структуры 27.

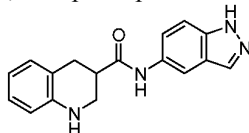
Пример 2. N-(1Н-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-фенилацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1Н-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-фенилацетамида в виде грязно-белого твердого вещества (80%).

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 8,34 (с, 1H), 8,27 (с, 1H), 7,68-7,65 (м, 2H), 7,60-7,53 (м, 5H), 5,1 (с, 1H), 2,69 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 281,1 (M+H).

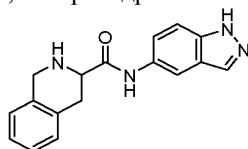
Пример 3. N-(1Н-индазол-5-ил)-1,2,3,4-тетрагидрохинолин-3-карбоксамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1Н-индазол-5-ил)-1,2,3,4-тетрагидрохинолин-3-карбоксамида в виде желтого твердого вещества (23%).

¹H ЯМР (400 МГц, MeOD-d₃) δ 13,75 (с, 1H), 10,84 (с, 1H), 8,94 (с, 1H), 8,80 (с, 1H), 8,26 (м, 2H), 7,71 (м, 2H), 7,28 (м, 2H), 6,63 (с, 1H), 4,21 (м, 1H), 3,97 (м, 1H), 3,65 (м, 3H). МС (ЭР+) m/e 293,1 (M+H)⁺.

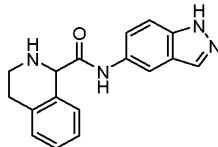
Пример 4. N-(1Н-индазол-5-ил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-3-карбоксамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-3-карбоксамид в виде желтого твердого вещества (51%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (шир. с, 1H), 9,96 (с, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,18 (с, 1H), 8,03 (с, 1H), 7,53-7,48 (м, 2H), 7,20-7,12 (м, 3H), 7,10-7,08 (м, 1H), 4,10-3,93 (м, 3H), 3,75-3,64 (м, 1H), 3,07-3,02 (м, 1H), 2,93-2,91 (м, 1H). МС (ЭР+) m/e 293,0 (M+H) $^+$.

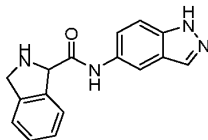
Пример 5. N-(1H-индазол-5-ил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-карбоксамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-карбоксамид в виде белого твердого вещества (18%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,97 (с, 1H), 10,16 (с, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,15 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,52-7,46 (м, 2H), 7,37-7,35 (м, 1H), 7,18-7,13 (м, 3H), 4,64 (д, J=4,0 Гц, 1H), 3,25-3,22 (м, 1H), 2,97-2,81 (м, 2H), 2,75-2,65 (м, 1H). МС (ЭР+) m/e 293,1 (M+H) $^+$.

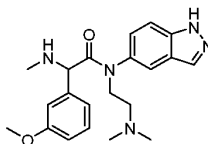
Пример 6. N-(1H-индазол-5-ил)изоиндолин-1-карбоксамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу В. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)изоиндолин-1-карбоксамид в виде белого твердого вещества (10%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (шир. с, 1H), 10,09 (с, 1H), 8,18 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,56-7,44 (м, 3H), 7,34-7,20 (м, 3H), 4,96 (шир. с, 1H), 4,40-4,26 (м, 2H), 3,79 (шир. с, 1H). МС (ЭР+) m/e 279,1 (M+H) $^+$.

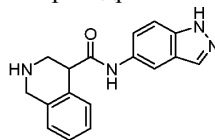
Пример 7. N-(2-(диметиламино)этил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(2-(диметиламино)этил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (50%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,28 (шир. с, 1H), 8,07 (шир. с, 1H), 7,78-6,91 (м, 5H), 6,54 (д, J=7,6 Гц, 1H), 6,48 (с, 1H), 4,01-3,67 (м, 3H), 3,61 (с, 3H), 2,32-2,11 (м, 3H), 2,11-2,10 (м, 9H). МС (ЭР+) m/e 382,1 (M+H) $^+$.

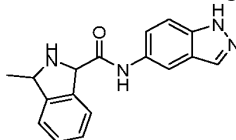
Пример 8. N-(1H-индазол-5-ил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-4-карбоксамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу С. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-4-карбоксамид в виде светло-коричневого твердого вещества (46%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,01 (шир. с, 1H), 10,59 (с, 1H), 8,23 (с, 1H), 8,11 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,50-7,48 (м, 1H), 7,44-7,42 (м, 1H), 7,29-7,22 (м, 1H), 7,20-7,13 (м, 3H), 4,05-4,00 (м, 1H), 3,95-3,85 (м, 1H), 3,79-3,75 (м, 1H), 3,37-3,33 (м, 1H), 3,22-3,19 (м, 1H). МС (ЭР+) m/e 293,0 (M+H) $^+$.

Пример 9. N-(1H-индазол-5-ил)-3-метилизиндолин-1-карбоксамид

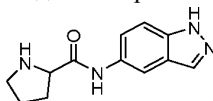


Реакцию проводили, следуя общему протоколу В. Конечный остаток очищали методом обращенно-

фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-3-метилизоиндолин-1-карбоксамида в виде белого твердого вещества (29%).

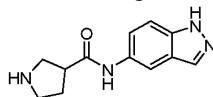
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,99 (шир. с, 1H), 10,04 (с, 1H), 8,15 (с, 1H), 8,02 (с, 1H), 7,53-7,42 (м, 3H), 7,35-7,21 (м, 3H), 4,89 (с, 1H), 4,58-4,57 (м, 1H), 4,01 (с, 1H), 1,47 (д, $J=6,4$ Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 293,0 (M+H) $^+$.

Пример 10. N-(1H-индазол-5-ил)пирролидин-2-карбоксамида



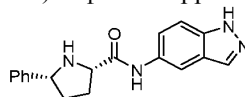
Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)пирролидин-2-карбоксамида в виде белого твердого вещества (33%). МС (ЭР+) m/e 231,1 (M+H) $^+$.

Пример 11. N-(1H-индазол-5-ил)пирролидин-3-карбоксамида



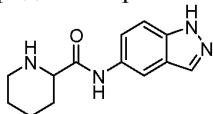
Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)пирролидин-3-карбоксамида в виде белого твердого вещества (41%). МС (ЭР+) m/e 231,1 (M+H) $^+$.

Пример 12. (2S,5R)-N-(1H-индазол-5-ил)-5-фенилпирролидин-2-карбоксамида



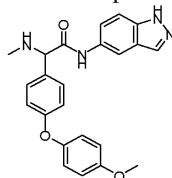
Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением (2S,5R)-N-(1H-индазол-5-ил)-5-фенилпирролидин-2-карбоксамида в виде белого твердого вещества (26%). МС (ЭР+) m/e 307,0 (M+H) $^+$.

Пример 13. N-(1H-индазол-5-ил)пиперидин-2-карбоксамида



Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)пиперидин-2-карбоксамида в виде белого твердого вещества (39%). МС (ЭР+) m/e 245,0 (M+H) $^+$.

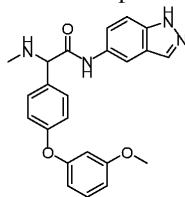
Пример 14. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-(4-метоксифенокси)фенил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-(4-метоксифенокси)фенил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (7%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,97 (с, 1H), 10,05 (с, 1H), 8,13 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,47 (с, 2H), 7,45 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 7,00-6,93 (м, 4H), 6,89 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 4,20 (д, $J=7,2$ Гц, 1H), 3,75 (с, 3H), 2,60 (м, 1H), 2,30 (д, $J=4,8$ Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 403,1 (M+H) $^+$.

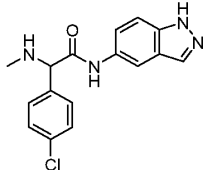
Пример 15. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-(3-метоксифенокси)фенил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу А. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-(3-метоксифенокси)фенил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (8%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,98 (с, 1H), 10,08 (с, 1H), 8,15 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,51-7,48 (м, 4H), 7,27 (т, $J=8,4$ Гц, 1H), 7,00 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,72 (дд, $J=8,4$, 2,0 Гц, 1H), 6,58 (т, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,53 (дд, $J=8,0$, 2,4 Гц, 1H), 4,23 (с, 1H), 3,73 (с, 3H), 2,31 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 403,1 (M+H) $^+$.

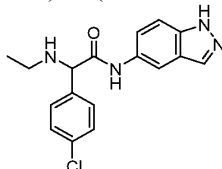
Пример 16. 2-(4-Хлорфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(4-хлорфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (7%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,98 (с, 1H), 10,10 (с, 1H), 8,11 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,52-7,40 (м, 6H), 4,24 (с, 1H), 2,72 (м, 1H), 2,28 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 315,0 (M+H) $^+$.

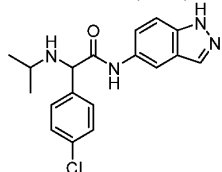
Пример 17. 2-(4-Хлорфенил)-2-(этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(4-хлорфенил)-2-(этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)ацетамида в виде белого твердого вещества (12%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,97 (с, 1H), 10,13 (с, 1H), 8,28 (с, 1H), 8,11 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,52 (д, J=8,4 Гц, 2H), 7,49-7,39 (м, 4H), 4,39 (с, 1H), 2,51-2,50 (м, 2H), 1,08 (т, J=6,4 Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 329,1 (M+H) $^+$.

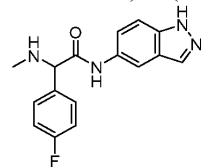
Пример 18. 2-(4-Хлорфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(4-хлорфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (49%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (с, 1H), 10,18 (с, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,09 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,00 (д, J=0,8 Гц, 1H), 7,52-7,45 (м, 3H), 7,44-7,39 (м, 3H), 4,51 (с, 1H), 2,70-2,66 (м, 1H), 1,03 (т, J=6,4 Гц, 1H). МС (ЭР+) m/e 343,1 (M+H) $^+$.

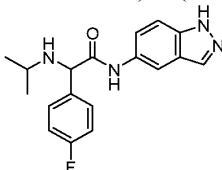
Пример 19. 2-(4-Фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(4-фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (11%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,08 (с, 1H), 10,64 (с, 1H), 9,59-9,31 (м, 2H), 8,07 (д, J=9,2 Гц, 2H), 7,67-7,64 (м, 2H), 7,52 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,41-7,34 (м, 3H), 5,04 (с, 1H), 2,52 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 299,0 (M+H) $^+$.

Пример 20. 2-(4-Фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)ацетамид

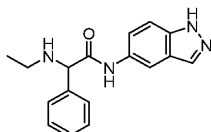


Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(4-фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (54%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (с, 1H), 10,17 (с, 1H), 8,20 (с, 1H), 8,10 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,00 (д, J=0,8 Гц, 1H), 7,52 (дд, J=8,4, 5,6 Гц, 2H), 7,49-7,39 (м, 2H), 7,17 (т, J=8,8 Гц, 2H), 4,51 (с, 1H), 2,72-2,66

(м, 1H), 1,04 (т, J=6,8 Гц, 6H). МС (ЭР+) m/e 327,1 (M+H)⁺.

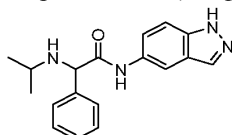
Пример 21. 2-(Этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-фенилацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-фенилацетамида в виде белого твердого вещества (39%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,00 (с, 1H), 10,17 (с, 1H), 8,23 (с, 1H), 8,11 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,52-7,45 (м, 4H), 7,35 (т, J=7,2 Гц, 2H), 7,30-7,28 (м, 1H), 4,43 (с, 1H), 2,63-2,52 (м, 2H), 1,09 (т, J=7,2 Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 295,0 (M+H)⁺.

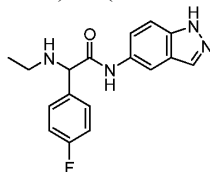
Пример 22. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)-2-фенилацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)-2-фенилацетамида в виде белого твердого вещества (63%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,99 (с, 1H), 10,17 (с, 1H), 8,20 (с, 1H), 8,11 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,00 (д, J=0,8 Гц, 1H), 7,52-7,41 (м, 4H), 7,34 (т, J=7,2 Гц, 2H), 7,30-7,27 (м, 1H), 4,51 (с, 1H), 2,72-2,69 (м, 1H), 1,04 (дд, J=7,6, 6,4 Гц, 6H). МС (ЭР+) m/e 309,1 (M+H)⁺.

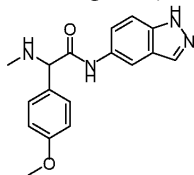
Пример 23. 2-(Этиламино)-2-(4-фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(этиламино)-2-(4-фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)ацетамида в виде белого твердого вещества (8%).

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 8,45 (с, 1H), 8,09 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,67-7,61 (м, 2H), 7,50 (д, J=8,8 Гц, 1H), 7,42 (дд, J=8,8, 1,6 Гц, 1H), 7,26-7,19 (м, 2H), 4,82 (с, 1H), 2,96-2,88 (м, 2H), 1,29 (т, J=7,2 Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 313,1 (M+H)⁺.

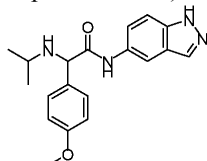
Пример 24. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (4%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,96 (с, 1H), 10,01 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 7,99 (с, 1H), 7,46 (с, 2H), 7,39 (д, J=8,8 Гц, 2H), 6,90 (д, J=8,8 Гц, 2H), 4,15 (с, 1H), 3,72 (с, 3H), 2,28 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 311,1 (M+H)⁺.

Пример 25. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)-2-(4-метоксифенил)ацетамид

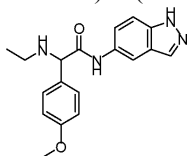


Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)-2-(4-метоксифенил)ацетамида в виде белого твердого вещества (52%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,98 (с, 1H), 10,11 (с, 1H), 8,19 (с, 1H), 8,10 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,48-7,39 (м, 4H), 6,90 (д, J=8,4 Гц, 2H), 4,45 (с, 1H), 3,72 (с, 3H), 2,72-2,68 (м, 1H), 1,05 (д, J=6,4 Гц, 3H),

1,02 (д, J=6,4 Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 339,1 (M+H)⁺.

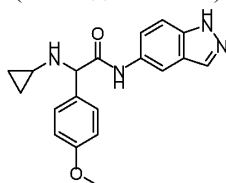
Пример 26. 2-(Этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-метоксифенил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-метоксифенил)ацетамида в виде белого твердого вещества (5%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,97 (с, 1H), 10,10 (с, 1H), 8,20 (с, 1H), 8,10 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,50-7,41 (м, 4H), 6,91 (д, J=8,8 Гц, 2H), 4,37 (с, 1H), 3,73 (с, 1H), 2,60-2,53 (м, 2H), 2,27 (с, 3H), 1,08 (т, J=7,2 Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 325,1 (M+H)⁺.

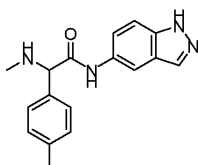
Пример 27. 2-(Циклопропиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-метоксифенил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(циклопропиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-метоксифенил)ацетамида в виде белого твердого вещества (10%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,95 (с, 1H), 10,07 (с, 1H), 8,26 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 7,99 (д, J=0,8 Гц, 1H), 7,49-7,41 (м, 2H), 7,39 (д, J=8,8 Гц, 2H), 6,89 (д, J=8,8 Гц, 2H), 4,39 (с, 1H), 3,72 (с, 3H), 2,05-2,00 (м, 1H), 0,42-0,33 (м, 4H). МС (ЭР+) m/e 337,0 (M+H)⁺.

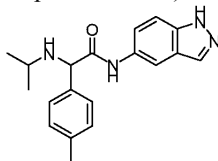
Пример 28. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(п-толил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(п-толил)ацетамида в виде белого твердого вещества (7%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,97 (с, 1H), 10,04 (с, 1H), 8,11 (с, 1H), 7,99 (с, 1H), 7,46 (с, 2H), 7,36 (д, J=8,0 Гц, 2H), 7,14 (д, J=8,0 Гц, 2H), 4,19 (с, 1H), 2,28 (д, J=7,2 Гц, 6H). МС (ЭР+) m/e 295,1 (M+H)⁺.

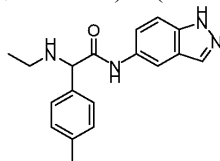
Пример 29. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)-2-(п-толил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(изопропиламино)-2-(п-толил)ацетамида в виде белого твердого вещества (44%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,98 (с, 1H), 10,17 (с, 1H), 8,17 (с, 1H), 8,10 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,48-7,37 (м, 4H), 7,16 (д, J=7,6 Гц, 2H), 4,51 (с, 1H), 2,76-2,70 (м, 1H), 2,27 (с, 3H), 1,05 (дд, J=8,4, 6,4 Гц, 6H). МС (ЭР+) m/e 323,1 (M+H)⁺.

Пример 30. 2-(Этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(п-толил)ацетамид

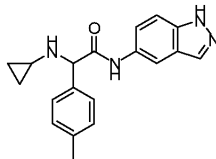


Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(п-толил)ацетамида в виде белого твердого вещества (13%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,97 (с, 1H), 10,08 (с, 1H), 8,24 (с, 1H), 8,10 (с, 1H), 7,99 (с, 1H),

7,48-7,44 (м, 2H), 7,37 (д, J=8,0 Гц, 2H), 7,15 (д, J=8,0 Гц, 2H), 4,34 (с, 1H), 2,59-2,51 (м, 2H), 2,27 (с, 3H), 1,07 (т, J=7,2 Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 309,1 (M+H)⁺.

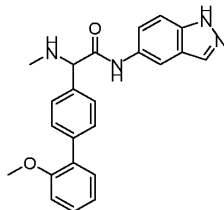
Пример 31. 2-(Циклопропиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(п-толил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(циклопропиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(п-толил)ацетамида в виде белого твердого вещества (23%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,96 (с, 1H), 10,07 (с, 1H), 8,22 (с, 1H), 8,11 (с, 1H), 7,99 (с, 1H), 7,48-7,42 (м, 2H), 7,35 (д, J=8,0 Гц, 2H), 7,13 (д, J=8,0 Гц, 2H), 4,40 (с, 1H), 2,26 (с, 3H), 2,07-1,99 (м, 1H), 0,42-0,29 (м, 4H). МС (ЭР+) m/e 321,1 (M+H)⁺.

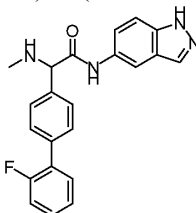
Пример 32. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(2'-метокси-[1,1'-бифенил]-4-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(2'-метокси-[1,1'-бифенил]-4-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде желтого твердого вещества (16%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,00 (шир. с, 1H), 10,13 (с, 2H), 8,28 (с, 1H), 8,16 (с, 1H), 8,02 (с, 1H), 7,53-7,43 (м, 6H), 7,33-7,30 (м, 1H), 7,27 (дд, J=7,6, 2,0 Гц, 1H), 7,09 (д, J=7,6 Гц, 1H), 7,01 (т, J=6,4 Гц, 1H), 4,27 (с, 1H), 2,34 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 387,1 (M+H)⁺.

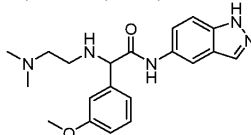
Пример 33. 2-(2'-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(2'-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (10%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,98 (с, 1H), 10,14 (с, 1H), 8,31 (с, 2H), 8,14 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,60 (д, J=8,4 Гц, 2H), 7,54-7,48 (м, 5H), 7,42-7,38 (м, 1H), 7,33-7,26 (м, 2H), 4,30 (с, 1H), 2,33 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 375,1 (M+H)⁺.

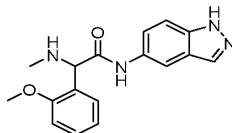
Пример 34. 2-((2-(Диметиламино)этил)амино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-((2-(диметиламино)этил)амино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)ацетамида в виде белого твердого вещества (27%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,01 (шир. с, 1H), 10,19 (с, 1H), 8,26 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,49-7,43 (м, 2H), 7,27 (т, J=7,8 Гц, 1H), 7,07-7,04 (м, 2H), 6,86 (дд, J=8,0, 2,0 Гц, 1H), 4,36 (с, 1H), 3,75 (с, 3H), 2,65-2,57 (м, 2H), 2,55-2,53 (м, 2H), 2,25 (с, 6H). МС (ЭР+) m/e 368,1 (M+H)⁺.

Пример 35. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(2-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамид

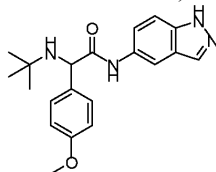


Реакцию проводили, следуя общему протоколу D. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(2-метоксифенил)-2-(метил-

амино)ацетамида в виде розового твердого вещества (10%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,03 (шир. с, 1H), 9,99 (шир. с, 1H), 8,20 (с, 2H), 8,13 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,52-7,46 (м, 2H), 7,40 (дд, $J=7,6, 1,6$ Гц, 1H), 7,32-7,27 (м, 1H), 7,03 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 6,96 (т, $J=7,2$ Гц, 1H), 4,59 (с, 1H), 3,83 (с, 3H), 2,34 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 311,0 (M+H) $^+$.

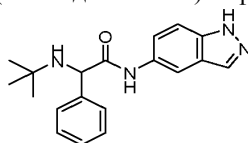
Пример 36. 2-(трет-Бутиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-метоксифенил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(трет-бутиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-метоксифенил)ацетамида в виде светло-коричневого твердого вещества (35%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 10,69 (с, 1H), 9,14 (м, 2H), 8,06 (с, 2H), 7,60 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 7,53 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,34 (дд, $J=8,8, 2,0$ Гц, 1H), 7,07 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 5,20-5,18 (м, 1H), 3,78 (с, 3H), 1,32 (с, 9H). МС (ЭР+) m/e 353,1 (M+H) $^+$.

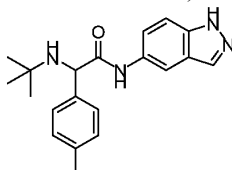
Пример 37. 2-(трет-Бутиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-фенилацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(трет-бутиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-фенилацетамида в виде пурпурного твердого вещества (4%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (с, 1H), 10,26 (с, 1H), 8,35 (с, 1H), 8,10 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,49-7,46 (м, 4H), 7,32 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,26-7,22 (м, 1H), 4,50 (с, 1H), 1,10 (с, 9H). МС (ЭР+) m/e 323,1 (M+H) $^+$.

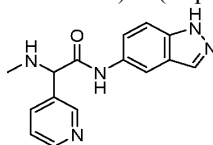
Пример 38. 2-(трет-Бутиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(п-толил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(трет-бутиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(п-толил)ацетамида в виде белого твердого вещества (12%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,98 (с, 1H), 10,20 (с, 1H), 8,09 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,49-7,43 (м, 2H), 7,34 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,12 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 4,44 (с, 1H), 2,26 (с, 3H), 1,09 (с, 9H). МС (ЭР+) m/e 337,1 (M+H) $^+$.

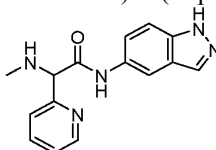
Пример 39. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(пиридин-3-ил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(пиридин-3-ил)ацетамида в виде белого твердого вещества (9%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,02 (шир. с, 1H), 10,21 (с, 1H), 8,69 (д, $J=1,6$ Гц, 1H), 8,50 (дд, $J=4,8, 1,6$ Гц, 1H), 8,24 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,90-7,88 (м, 1H), 7,50-7,45 (м, 2H), 7,41-7,39 (м, 1H), 4,34 (с, 1H), 2,32 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 282,0 (M+H) $^+$.

Пример 40. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(пиридин-2-ил)ацетамид

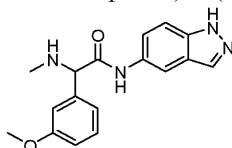


Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(пиридин-2-ил)ацетамида в виде белого твердого вещества (9%).

ил)ацетамида в виде грязно-белого твердого вещества (15%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,98 (шир. с, 1H), 10,19 (с, 1H), 8,54 (дд, $J=4,8, 0,8$ Гц, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,14 (д, $J=1,2$ Гц, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,84-7,79 (м, 1H), 7,60 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,48 (с, 2H), 7,34-7,30 (м, 1H), 4,44 (с, 1H), 2,36 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 282,0 ($M+H$) $^+$.

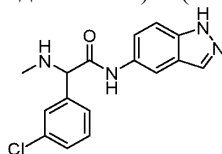
Пример 41. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамида в виде грязно-белого твердого вещества (42%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (с, 1H), 10,11 (с, 1H), 8,23 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,48-7,44 (м, 2H), 7,27 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,11-7,04 (м, 2H), 6,88-6,83 (м, 1H), 4,26 (с, 1H), 3,76 (с, 3H), 2,31 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 311,0 ($M+H$) $^+$.

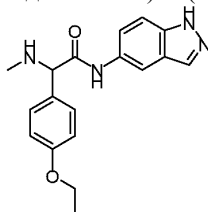
Пример 42. 2-(3-Хлорфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(3-хлорфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде грязно-белого твердого вещества (63%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,00 (шир. с, 1H), 10,16 (шир. с, 1H), 8,19 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,59 (с, 1H), 7,51-7,43 (м, 3H), 7,42-7,31 (м, 2H), 4,31 (с, 1H), 2,30 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 315,0 ($M+H$) $^+$.

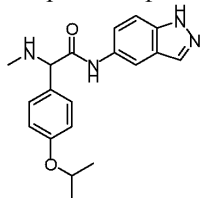
Пример 43. 2-(4-Этоксифенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(4-этоксифенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде грязно-белого твердого вещества (59%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,02 (шир. с, 1H), 10,11 (шир. с, 1H), 8,23 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,49-7,43 (м, 2H), 7,40 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 6,90 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 4,26 (с, 1H), 4,00 (кв, $J=6,8$ Гц, 2H), 2,31 (с, 3H), 1,31 (т, $J=6,8$ Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 324,1 ($M+H$) $^+$.

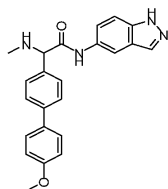
Пример 44. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-изопропоксифенил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4-изопропоксифенил)-2-(метиламино)ацетамида в виде грязно-белого твердого вещества (67%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (шир. с, 1H), 10,10 (с, 1H), 8,23 (с, 1H), 8,14-8,13 (м, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,47 (с, 2H), 7,38 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 6,89 (д, $J=8,8$ Гц, 2H), 4,61-4,54 (м, 1H), 4,23 (с, 1H), 2,31 (с, 3H), 1,24 (д, $J=6,0$ Гц, 6H). МС (ЭР+) m/e 339,1 ($M+H$) $^+$.

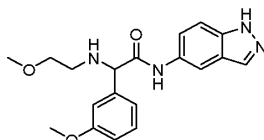
Пример 45. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4'-метокси-[1,1'-бифенил]-4-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(4'-метокси-[1,1'-бифенил]-4-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (34%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,99 (шир. с, 1H), 10,14 (с, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,14 (т, $J=1,6$ Гц, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,62-7,54 (м, 6H), 7,48-7,46 (м, 2H), 7,03-7,00 (м, 2H), 4,31 (с, 1H), 3,79 (с, 3H), 2,34 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 387,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

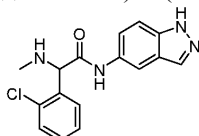
Пример 46. N-(1H-индазол-5-ил)-2-((2-метоксиэтил)амино)-2-(3-метоксифенил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-((2-метоксиэтил)амино)-2-(3-метоксифенил)ацетамида в виде грязно-белого твердого вещества (16%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,07 (с, 1H), 10,61 (с, 1H), 9,55 (с, 2H), 8,07 (д, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,52 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,45-7,36 (м, 2H), 7,25-7,21 (м, 2H), 7,07-7,04 (м, 1H), 5,07 (с, 1H), 3,80 (с, 3H), 3,78-3,59 (м, 2H), 3,31 (с, 3H), 3,11 (м, 1H), 2,99 (м, 1H). МС (ЭР+) m/e 355,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

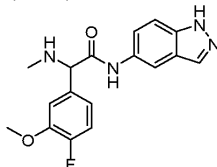
Пример 47. 2-(2-Хлорфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общему протоколу Е. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(2-хлорфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде грязно-белого твердого вещества (32%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,03 (шир. с, 1H), 10,14 (с, 1H), 8,17-8,14 (м, 2H), 8,02 (с, 1H), 7,61-7,58 (м, 1H), 7,50-7,46 (м, 3H), 7,37-7,30 (м, 2H), 4,67 (с, 1H), 2,35 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 315,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

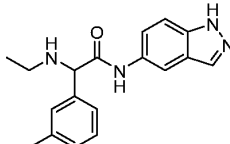
Пример 48. 2-(4-Фтор-3-метоксифенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(4-фтор-3-метоксифенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (49%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,00 (с, 1H), 10,15 (с, 1H), 8,19 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,50-7,44 (м, 2H), 7,34 (дд, $J=8,4$, 2,0 Гц, 1H), 7,21-7,16 (м, 1H), 7,07-7,03 (м, 1H), 4,31 (с, 1H), 3,86 (с, 3H), 2,32 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 329,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

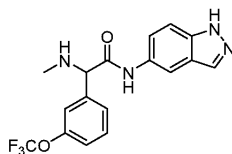
Пример 49. 2-(Этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(м-толил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(м-толил)ацетамида в виде желтого твердого вещества (30%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,08 (с, 1H), 10,66 (с, 1H), 9,44-9,37 (м, 2H), 8,10-8,06 (м, 2H), 7,52 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,47-7,36 (м, 4H), 7,31 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,04 (т, $J=6,0$ Гц, 1H), 2,98-2,84 (м, 2H), 2,36 (с, 3H), 1,23 (т, $J=7,2$ Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 309,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

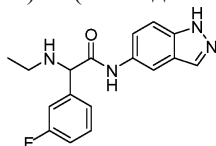
Пример 50. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(3-(трифторметокси)-фенил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(3-(трифторметокси)-фенил)ацетамида в виде белого твердого вещества (27%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,00 (шир. с, 1H), 10,18 (с, 1H), 8,18 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,54-7,44 (м, 5H), 7,30-7,28 (м, 1H), 4,34 (с, 1H), 2,30 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 365,0 (M+H) $^+$.

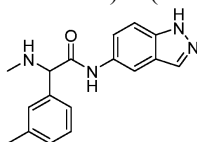
Пример 51. 2-(Этиламино)-2-(3-фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(этиламино)-2-(3-фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)ацетамида в виде белого твердого вещества (21%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (с, 1H), 10,16 (с, 1H), 8,18 (с, 1H), 8,11 (д, J=0,8 Гц, 1H), 8,01 (д, J=0,8 Гц, 1H), 7,50-7,33 (м, 5H), 7,14-7,09 (м, 1H), 4,43 (с, 1H), 2,60-2,53 (м, 2H), 1,09 (т, J=7,2 Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 313,1 (M+H) $^+$.

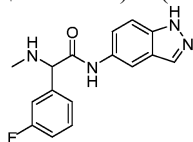
Пример 52. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(m-толил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(m-толил)ацетамида в виде белого твердого вещества (11%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (с, 1H), 10,11 (с, 1H), 8,20 (с, 2H), 8,13 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,49-7,45 (м, 2H), 7,32-7,23 (м, 3H), 7,11 (д, J=7,2 Гц, 1H), 4,25 (с, 1H), 2,31 (с, 6H). МС (ЭР+) m/e 295,1 (M+H) $^+$.

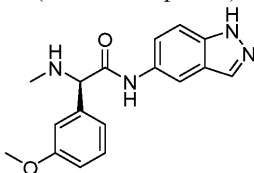
Пример 53. 2-(3-Фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(3-фторфенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (11%).

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,99 (с, 1H), 10,14 (с, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,50-7,32 (м, 5H), 7,14-7,10 (м, 1H), 4,30 (с, 1H), 2,30 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 299,1 (M+H) $^+$.

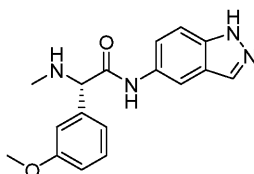
Пример 54. (R)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением (R)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (17%). Энантиомеры разделяли методом СФХ (колонка DAICEL CHIRALPAK AD). Подвижная фаза: 55% EtOH с 0,1% NH_4OH в CO_2 , скорость потока 70 г/мин с получением необходимого соединения с 99% энантиомерной чистоты.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,97 (с, 1H), 10,05 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,47 (с, 2H), 7,26 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,09-7,05 (м, 2H), 6,85 (дл, J=8,0, 2,0 Гц, 1H), 4,21 (с, 1H), 3,76 (с, 3H), 2,30 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 311,1 (M+H) $^+$. $[\alpha]^{25^\circ\text{C}}_{\text{D}} = +98,86$ (с = 0,2 в MeOH).

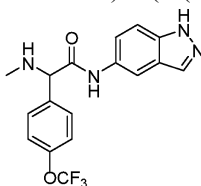
Пример 55. (S)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением (S)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(3-метоксифенил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (12%). Энантиомеры разделяли методом СФХ (колонка DAICEL CHIRALPAK AD). Подвижная фаза: 55% EtOH с 0,1% NH₄OH в CO₂, скорость потока 70 г/мин с получением необходимого соединения с 99% энантиомерной чистоты.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,97 (с, 1H), 10,05 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 8,00 (с, 1H), 7,47 (с, 2H), 7,26 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,09-7,05 (м, 2H), 6,85 (дд, J=8,0, 2,4 Гц, 1H), 4,20 (с, 1H), 3,75 (с, 3H), 2,30 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 311,1 (M+H)⁺. [α]_D^{25°C} = -96,44 (с = 0,2 в MeOH).

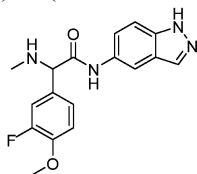
Пример 56. N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(4-(трифторметокси)фенил)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)-2-(4-(трифторметокси)фенил)ацетамида в виде коричневого твердого вещества (19%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,99 (с, 1H), 10,15 (с, 1H), 8,25 (с, 1H), 8,13 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,62 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,50-7,45 (м, 2H), 7,36 (д, J=8,4 Гц, 2H), 4,30 (с, 1H), 2,30 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 365,1 (M+H)⁺.

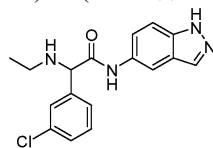
Пример 57. 2-(3-Фтор-4-метоксифенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамид



Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(3-фтор-4-метоксифенил)-N-(1H-индазол-5-ил)-2-(метиламино)ацетамида в виде белого твердого вещества (29%).

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,99 (с, 1H), 10,07 (с, 1H), 8,18 (с, 1H), 8,11 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 7,49-7,44 (м, 2H), 7,35 (дд, J=12,8, 1,2 Гц, 1H), 7,25 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,16-7,12 (м, 1H), 4,21 (с, 1H), 3,82 (с, 3H), 2,28 (с, 3H). МС (ЭР+) m/e 329,0 (M+H)⁺.

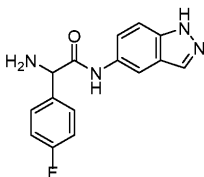
Пример 58. 2-(3-Хлорфени)-2-(этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)ацетамид



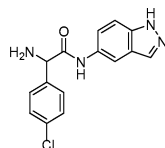
Реакцию проводили, следуя общей процедуре F. Конечный остаток очищали методом обращенно-фазовой препаративной ВЭЖХ с получением 2-(3-хлорфени)-2-(этиламино)-N-(1H-индазол-5-ил)ацетамида в виде коричневого твердого вещества (19%).

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 8,53 (с, 1H), 8,08 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,02 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 7,53-7,39 (м, 5H), 4,55 (с, 1H), 2,83-2,68 (м, 2H), 1,24 (т, J=7,2 Гц, 3H). МС (ЭР+) m/e 329,1 (M+H)⁺.

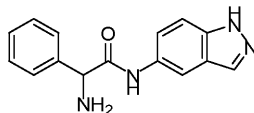
Сравнительный пример 1.



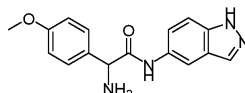
Сравнительный пример 2.



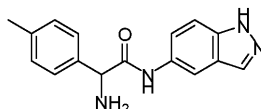
Сравнительный пример 3.



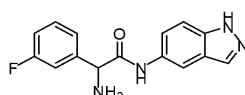
Сравнительный пример 4.



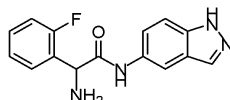
Сравнительный пример 5.



Сравнительный пример 6.



Сравнительный пример 7.



Пример 59.

Определение ингибирующей ROCK активности соединений *in vitro* (анализ Z'-lyte): рекомбинантные белки ROCK1 (аминокислоты 1-535) и ROCK2 (аминокислоты 1-552) приобретали у ThermoFisher Scientific. Активность соединений определяли с помощью набора киназ Z'-lyte (ThermoFisher Scientific) и рассчитывали IC50.

Определение ингибирующей ROCK активности соединений в клетках A7R5: клетки A7R5 линии клеток гладкой мускулатуры аорты крыс поддерживали в среде DMEM с 10% фетальной бычьей сыворотки. Клетки высевали при плотности 5000 клеток/лунка в 96-луночные планшеты на 24 часа и после этого обрабатывали 90 мин исследуемыми соединениями. Затем клетки фиксировали и обрабатывали в соответствии с руководством набора для внутриклеточного колориметрического определения методом ИФА (Thermo Scientific). Клеточные уровни легких цепей фосфо-миозина (ppMlc, Thr18/Ser19) определяли после обработки контрольным ДМСО или исследуемыми соединениями, используя набор для внутриклеточного ИФА-анализа. Процентный уровень ингибирования рассчитывали, подставляя данные, полученные для 1 мкМ (или 10 мкМ) соединения, в формулу $[1 - (\text{соединение} / \text{ДМСО})] \times 100\%$. Данные ppMlc, полученные при 9-точечном 2-кратном серийном разведении соединений, подставляли в подобранную функцию нелинейной регрессионной кривой программного обеспечения GraphPad Prism, чтобы рассчитать IC50 в клетках.

Анализ клеток NIH3T3 с помощью управляемого промотором Acta2 репортерного гена люциферазы: Создавали линию клеток NIH3T3, стабильно экспрессирующую репортерный ген люциферазы, управляемый промотором человеческого гена ACTA2 (-1000-1 п.о.) (NIH3T3-Acta2-люцифераза). Клетки высевали до конfluence и обрабатывали исследуемыми соединениями плюс TGFβ1 в течение 24 ч. Затем клетки лизировали и измеряли активность люциферазы, используя набор для люциферазы LightSwitch от Active Motif.

Ингибиторы ROCK эффективно ингибируют активность ROCK-киназы *in vitro* и в клетках. Как проиллюстрировано на фиг. 1, ингибиторы ROCK по изобретению в наномолярной концентрации менее 20 эффективно ингибировали активность обеих изоформ ROCK-киназ *in vitro* согласно измерениям с помощью набора Z'-Lyte.

Соединения по изобретению ингибировали ROCK в клетках согласно измерениям методом внутриклеточного ИФА-анализа для A7R5. Клетки A7R5 обрабатывали 9-точечным 2-кратным серийным разведением соединений и определяли уровни ppMlc (T18/S19), чтобы рассчитать клеточные значения IC50 соединений. Результаты приведены в табл. 1 ниже.

Таблица 1

Соединение	IC50 pMlc (нМ)
ПРИМЕР 2	304
ПРИМЕР 14	207
ПРИМЕР 15	124
ПРИМЕР 47	461

Ингибиторы ROCK по данному изобретению ингибируют обе изоформы ROCK. Использовали систему CRISPR/CAS9 для создания клеток HCT116 с нокаутом ROCK1 или ROCK2. Клетки ROCK1KO и ROCK2KO обрабатывали соединением из примера 2 в течение 90 мин и визуализировали уровни pMурт (T853) методом вестерн-блоттинга. Ингибитор ROCK эффективно блокировал фосфорилирование мишени ROCK MYPT1 при 110 нМ (см. фиг. 2).

В табл. 2 ниже приведены данные по *in vitro* и клеточному ингибированию ROCK соединениями по изобретению. Активность соединений определяли с помощью набора киназ Z'-lyte (ThermoFisher Scientific). Процентный уровень ингибирования рассчитывали путем нормализации значения киназной активности, полученного при обработке 1 мкМ соединения, относительно значения ДМСО-контроля. IC50 рассчитывали, используя программное обеспечение GraphPad Prism и данные по киназной активности, которые были получены при обработке соединениями с 9-точечным серийным разведением. Ингибирование ROCK в клетках A7R5 и клетках NIH3T3 (Acta2-Luc) осуществляли, как описано выше.

Два этапа измерений адаптировали для pMLC/A7R5 IC50. Процентные уровни ингибирования рассчитывали при обработке одной дозой (1 мкМ или 10 мкМ) соединений, чтобы провести скрининг в отношении активных соединений, а клеточные значения IC50 измеряли затем только для соединений, которые имели уровни ингибирования более 50%.

Таблица 2

Экс. №	% инг. РОСК2 (3 мкМ)*	IC ₅₀ РОСК2 (нМ)	% инг. РОСК1 (3 мкМ)*	IC ₅₀ РОСК1 (нМ)	% инг. pMLC или IC ₅₀ (нМ) A7R5	НИНЗТЗ, Аста2-лус, IC ₅₀ (нМ)
24	98,8	3,6	99	3,892	224	321
29	98,8	6,3	99	65,7	934	
25	98,8	9,7	99	10,6	633	
36	98,8	9,9	99	24,7	766	
15		10		13	124	219
26	98,8	12	99	24	261	845
30	98,8	13	99	16	502	960
16	99 @ 1 мкМ	15	93,2	3,8	252	915
42		16		8,8	454	882
41	99,5 @ 1 мкМ	17		3,2	304	539
2	98,7	21	98,8	25	304,0	885
50	93 @ 0,5 мкМ	21	93 @ 0,5 мкМ			
28	98,8	21,2	99	17,78	834	

38	100	27,4	100	61,44	1342	
23	95,3	43	94,3	495	1056	
27		66		79	2977	
48	76 @ 0,5 мкМ	71	87 @ 0,5 мкМ			
43	98 @ 1 мкМ	73			4% инг. @ 10 мкМ	
37	98,8	74,3	99	98,1	2601	
5		77		38	35810	
49	76 @ 0,5 мкМ	87	88 @ 0,5 мкМ			
47		135		8,3	461	659
20	94,6	152	18,4	561	2507	
19	96,6	160	21,4	173	1604	
39		213		250	4205	
17	96,3	248	93,3	< 10	556	

34		438			49% инг. @ 10 мкМ	
40		453		143	37% инг. @ 10 мкМ	
44		455			42% инг. @ 10 мкМ	
7	11 @ 1 мкМ	1628	16 @ 0,5 мкМ		2% инг. @ 1 мкМ	
4		> 1000		> 1000	18% инг. @ 10 мкМ	
31		> 1000		228	35% инг. @ 10 мкМ	
6		> 1000		421	1% инг. @ 10 мкМ	
32		> 1000		310	5% инг. @ 10 мкМ	
21	95,8		91,5		2386	
22	96,7		94,3		1802	
18	94,1		89,6		2507	
8	76,7 @ 1 мкМ				2620	
33	66,5 @ 1 мкМ				48% инг. @ 10 мкМ	

45	22 @ 1 мкМ				4% инг. @ 10 мкМ	
46	67 @ 1 мкМ				27% инг. @ 10 мкМ	
14	100 @ 0,5 мкМ			32,6	207	678
35	71 @ 1 мкМ				16% инг. @ 1 мкМ	
3	0		0		25% инг. @ 10 мкМ	
13					11% инг. @ 1 мкМ	
9					4% инг. @ 1 мкМ	
10					1% инг. @ 1 мкМ	
11					1% инг. @ 1 мкМ	
12					1% инг. @ 1 мкМ	
51		53			1660	5453
52		34			532	1512
53		41			914	1159

54		14			200	268
55		30			589	773
56		46			546	666
57	95% @ 0,5 мкМ	25			339	473
58	61% @ 0,5 мкМ	64	85% @ 0,5 мкМ		722	1090
Соедин. 1	85,7 @ 1 мкМ		10,6		34% инг. @ 10 мкМ	
Соедин. 2	97,5		92,2		4410	
Соедин. 3	97,4		91,5		10920	
Соедин. 4	96,5 @ 1 мкМ		95,8		6158	
Соедин. 5	96,2 @ 1 мкМ	33	99		1310	
Соедин. 6	98,8	41,76	99	41,32	6990	
Соедин. 7	100	303	100	166	18390	

* % ингибирования в анализе ROCK1/ROCK2 исследовали при 3 мкМ, если не указано иное.

В сравнительных примерах отсутствует алкильный заместитель в 2-аминогруппе (т.е. в сравнительных соединениях 2-аминогруппа представляет собой NH₂), который присутствует в соединениях по изобретению. Добавление 2-алкиламино (т.е. R¹ представляет собой алкил и т.д.) связано с повышением клеточной активностью ROCK, в частности, для низших алкильных аминов в 2-положении (т.е. R¹ представляет собой низший алкил). Сравните, например, сравнительный пример 2 (с первичным 2-амино) с примерами 16, 17 и 18, которые имеют вторичный 2-алкиламино и, в частности, в которых алкильная группа является небольшой. Все четыре соединения демонстрируют сильное ингибирование ROCK1 и ROCK 2 *in vitro*, но примеры 16, 17 и 18 характеризуются повышенным клеточным ингибированием ROCK согласно измерениям по фосфорилированию мишени ROCK pMLC в клетках A7R5. Например, пример 2 обеспечивает клеточное ингибирование ROCK с IC₅₀, более чем в 17 раз меньшей, чем сравнительный пример 1 (IC₅₀ 252 и 4410 соответственно). Аналогично, клеточные IC₅₀ для примеров 24, 25, 26, 27 и 36 ниже, чем для сравнительного примера 4, который имеет первичную 2-аминогруппу.

Пример 59.

Ингибиторы ROCK улучшают олигодендроцитный процесс в человеческих клетках-предшественниках олигодендроцитов/нейронов в культуре.

Человеческие клетки-предшественники олигодендроцитов/нейронов культивировали *in vitro* с ингибитором ROCK или без него в течение 2 и 14 суток. Белки нестин и MAP2 визуализировали путем окрашивания коммерческими антителами, чтобы определить разные стадии дифференцировки нейрональных клеток. Ингибиторы ROCK по данному изобретению существенно облегчали экспрессию клеточного маркера зрелых нейронов MAP2 при улучшении роста нейритов, о чем свидетельствует сильное повышение сигнала MAP2 в клетках, дифференцированных в присутствии ингибитора ROCK (соединения из примера 2). См. фиг. 3.

Пример 60.

Ингибитор ROCK улучшал удлинение нейритов и аксональную оболочку в олигодендроцитах в совместной культуральной системе с эксплантатами крысиных дорсальных корешковых ганглиев (ДКГ). В условиях совместного культивирования крысиных олигодендроцитов с эксплантатами крысиных дорсальных корешковых ганглиев (ДКГ) обработка ингибитором ROCK, как проиллюстрировано на фиг. 4, меняла организацию цитоскелета с образованием большого количества более коротких упорядоченных миелиновых сегментов, которые идентифицировали по окрашиванию нейрофиламентов. В то же время ингибитор ROCK также облегчал аксональную поддержку олигодендроцитов упорядоченным образом, что визуализировали путем окрашивания маркера зрелых олигодендроцитов MBP.

Пример 61.

Ингибиторы ROCK проникают через гематоэнцефалический барьер.

В исследованиях фармакокинетики на мышах через 2 часа после дозирования собирали ткани животных, чтобы определить распределение соединения. Как продемонстрировано в табл. 3, соединение из примера 2 имело превосходные свойства проникновения через ГЭБ.

Таблица 3

ID соединения	Путь	Доза (мг активного вещества/кг)	Концентрация в плазме [нг/мл]*	Концентрация в головном мозге [нг/г]*	Соотношение головной мозг/плазма
ПРИМЕР 2	в/в	10	211	699	3,31
	п/о	10	405	700	1,73
	п/о	30	1400	2856	2,04
	п/о	100	9288	19363	2,08

* Плазму и ткани головного мозга получали через 2 ч после введения дозы.

Концентрации выбранных ингибиторов ROCK в головном мозге и плазме также оценивали у мышей методом ВЭЖХ/МС/МС через 15 мин и 2 ч после в/в введения 2,5 мг/кг лекарственного препарата. Результаты приведены в табл. 4 ниже.

Таблица 4

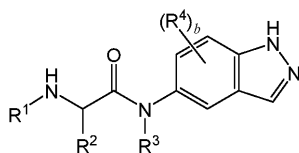
ID соединения	Уровень дозы	Путь	Место	Средняя конц. через 0,25 ч (нг/мл) или (нг/г)	Средняя конц. через 2 ч (нг/мл) или (нг/г)	Среднее соотношение головной мозг/плазма через 0,25 ч	Среднее соотношение головной мозг/плазма через 2 ч
ПРИМЕР 15	2,5	в/в	Плазма	394	41,4	2,17	6,99
			Головной мозг	853	288		
ПРИМЕР 41	2,5	в/в	Плазма	427	2,14	1,33	8,41
			Головной мозг	566	17,7		
			Головной мозг	541	76,6		

Список литературы

- Deyts, C., Galan-Rodriguez, B., Martin, E., Bouveyron, N., Roze, E., Charvin, D., Caboche, J., and Betuing, S. (2009). Dopamine D2 receptor stimulation potentiates PolyQ-Huntingtin-induced mouse striatal neuron dysfunctions via Rho/ROCK-II activation. *PLoS One* 4, e8287.
- Govek, E.E., Newey, S.E., and Van Aelst, L. (2005). The role of the Rho GTPases in neuronal development. *Genes Dev* 19, 1-49.
- Li, M., Huang, Y., Ma, A.A., Lin, E., and Diamond, M.I. (2009). Y-27632 improves rotarod performance and reduces huntingtin levels in R6/2 mice. *Neurobiol Dis* 36, 413-420.
- Linseman, D.A., and Loucks, F.A. (2008). Diverse roles of Rho family GTPases in neuronal development, survival, and death. *Front Biosci* 13, 657-676.
- Petratos, S., Li, Q.X., George, A.J., Hou, X., Kerr, M.L., Unabia, S.E., Hatzinisiriou, I., Maksel, D., Aguilar, M.I., and Small, D.H. (2008). The beta-amyloid protein of Alzheimer's disease increases neuronal CRMP-2 phosphorylation by a Rho-GTP mechanism. *Brain* 131, 90-108.
- Selkoe, D.J. (2001). Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 81, 741-766.
- Shao, J., and Diamond, M.I. (2007). Polyglutamine diseases: emerging concepts in pathogenesis and therapy. *Hum Mol Genet* 16 Spec No. 2, R115-123.
- Shao, J., Welch, W.J., and Diamond, M.I. (2008a). ROCK and PRK-2 mediate the inhibitory effect of Y-27632 on polyglutamine aggregation. *FEBS Lett* 582, 1637-1642.
- Shao, J., Welch, W.J., Diprospero, N.A., and Diamond, M.I. (2008b). Phosphorylation of profilin by ROCK1 regulates polyglutamine aggregation. *Mol Cell Biol* 28, 5196-5208.
- Tanzi, R.E., and Bertram, L. (2005). Twenty years of the Alzheimer's disease amyloid hypothesis: a genetic perspective. *Cell* 120, 545-555.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее формулу



или его фармацевтически приемлемая соль, где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил, циклопропил или -(C₂₋₄алкил)-OCH₃;

R² представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть незамещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR', RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-;

R³ выбран из H, C₁-C₄-алкила, замещенного C₁-C₄-алкила и RR'N-(C₂₋₄алкила)-;

R⁴ выбран из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'N-, RR'NCO-, RCONR', RR'N-(C₂₋₄алкила)- и RR'N-(C₂₋₄алкила)-O-;

b равен от 0 до 2 и

каждый R и R' независимо выбран из H, C₁-C₄-алкила и C₃-C₆-циклоалкила;

где

арил представляет собой 6-членную однокольцевую ароматическую группу;

гетероарил представляет собой 5- или 6-членную однокольцевую ароматическую группу, которая может включать от одного до четырех гетероатомов;

гетероатом представляет собой азот, кислород или серу;

замещенный C₁-C₄-алкил представляет собой C₁-C₄-алкил, имеющий от одного до трех заместите-

лей, выбранных из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкокси, amino, нитро, циано, перфтор C₁-C₄-алкила, перфтор C₁-C₄-алкокси и карбоксила.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где

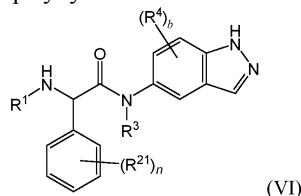
R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил;

R² представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть незамещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₃-перфторалкила и C₁-C₃-перфторалкокси;

R³ выбран из H или RR'^N-(C₂₋₄алкила)- и

b равен 0.

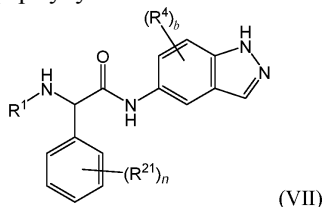
3. Соединение по п.1, имеющее формулу VI



(VI)

или его фармацевтически приемлемая соль, где
каждый R²¹ независимо выбран из группы, состоящей из H, галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'^N-, RR'^NCO-, RCONR'-, RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-; и
n равен от 0 до 3.

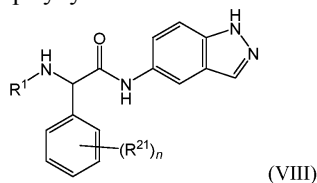
4. Соединение по п.3, имеющее формулу VII



(VII)

или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Соединение по п.1, имеющее формулу VIII



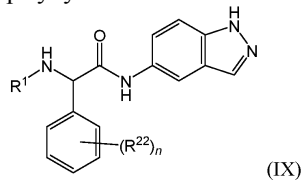
(VIII)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил;

каждый R²¹ независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, нитро, циано, C₁-C₃-перфторалкила, C₁-C₃-перфторалкокси, карбоксила, RR'^N-, RR'^NCO-, RCONR'-, RO₂C-, арила-O- и гетероарила-O-; и
n равен от 0 до 3.

6. Соединение по п.1, имеющее формулу IX



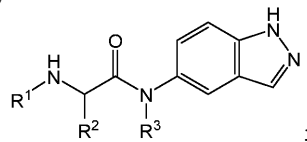
(IX)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил;

каждый R²² независимо выбран из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C₁-C₄-алкила, C₁-C₄-алкокси, amino, C₁-C₃-перфторалкила и C₁-C₃-перфторалкокси; и
n равен от 0 до 3.

7. Соединение, имеющее формулу



где R¹ представляет собой C₁-C₄-алкил, C₃-C₆-циклоалкил или R¹⁰O(CH₂)_c- или альтернативно R¹

может означать $R^{10}R^{11}N(CH_2)_c$ - когда R^2 представляет собой фенил, который может быть не замещен или замещен метокси;

R^{10} и R^{11} означают C_1 - C_4 -алкил;

R^2 представляет собой фенил или пиридил, каждый из которых может быть не замещенным или замещенным 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, гидрокси, C_1 - C_4 -алкила, C_1 - C_4 -алкокси, C_1 - C_3 -перфторалкила, C_1 - C_3 -перфторалкокси, арила и арил-О-, где арильный и -О-арильный заместитель, в свою очередь, может быть не замещен или замещен C_1 - C_4 -алкокси;

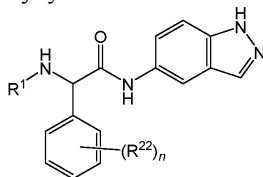
R^3 выбран из H, C_1 - C_4 -алкила и $RR'N-(C_{2-4} \text{ алкила})$;

каждый R и R' независимо выбраны из H, C_1 - C_4 -алкила и C_3 - C_6 -циклоалкила и с равен от 2 до 4;

или его фармацевтически приемлемая соль;

где арил представляет собой 6-членную однокольцевую ароматическую группу

8. Соединение по п.7, имеющее формулу



где

R^1 представляет собой C_1 - C_4 -алкил или циклопропил;

каждый R^{22} выбран из гало, C_1 - C_4 -алкила и C_1 - C_4 -алкокси;

n равен от 0 до 2;

или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Соединение по п.8, где R^1 означает C_1 - C_4 -алкил и n равен 1 или 2.

10. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-9 или его фармацевтически приемлемую соль, составленная с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

11. Фармацевтическая композиция по п.10, составленная в виде твердой лекарственной формы для перорального введения.

12. Применение композиции по п.10 или 11 для получения лекарственного средства для лечения фиброзного нарушения у субъекта.

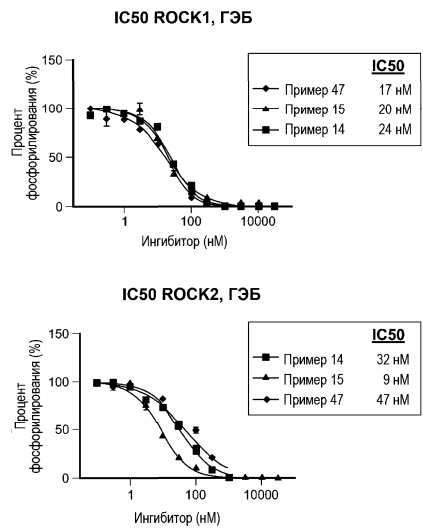
13. Применение по п.12, где фиброзное нарушение выбрано из группы, состоящей из фиброза легких, кистозного фиброза, идиопатического фиброза легких, вызванного радиоактивным облучением повреждения легких, фиброза печени, цирроза печени, миокардиального фиброза, артериального фиброза, эндомиокардиального фиброза, миелофиброза, болезни Пейрони, нефрогенного системного фиброза, прогрессирующего массивного фиброза, забрюшинного фиброза, склеродермы или системного склероза, медиастинального фиброза, келоидных и гипертрофических рубцов, рубцевания глиальной ткани и почечного фиброза.

14. Применение композиции по п.10 или 11 для получения лекарственного средства для лечения аутоиммунного расстройства, сердечно-сосудистого расстройства или расстройства центральной нервной системы у субъекта.

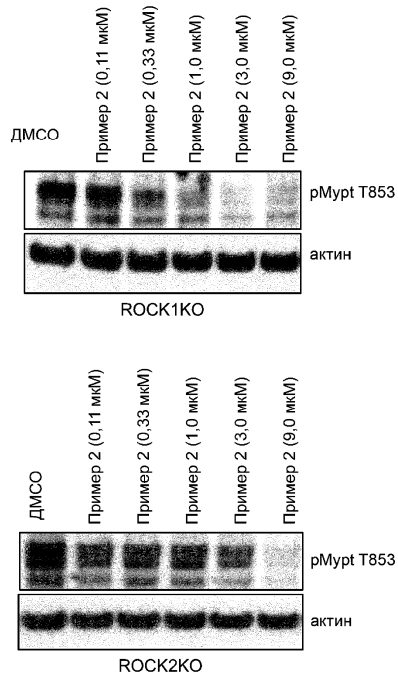
15. Применение по п.14, где аутоиммунное расстройство, сердечно-сосудистое расстройство или расстройство центральной нервной системы выбрано из болезни Крона, перенесенного инфаркта миокарда, артериальной ригидности, атеросклероза, рестеноза, церебрального вазоспазма, болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, амиотрофического бокового склероза (АБС), болезни Баттена, деменции, спинальной мышечной атрофии, заболевания двигательных нейронов, спиноцереbellарной атаксии, острой или хронической боли, нейрональной дегенерации, повреждения спинного мозга и множественного склероза.

16. Применение композиции по п.10 или 11 для получения лекарственного средства для лечения глаукомы у субъекта.

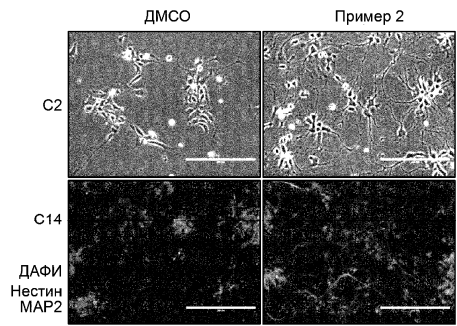
17. Применение композиции по п.10 или 11 для получения лекарственного средства для лечения воспаления у субъекта.



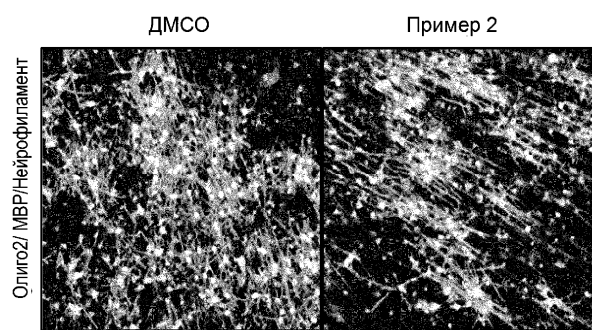
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

