

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291816** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2023.01.11

(22) Дата подачи заявки
2017.11.07

(51) Int. Cl. *A61K 31/437* (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(54) **ЛЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ С ПОМОЩЬЮ
СТИМУЛЯТОРОВ sGC**

(31) **62/419,059**

(32) **2016.11.08**

(33) **US**

(62) **201991147; 2017.11.07**

(71) Заявитель:

**САЙКЛЕРИОН ТЕРАПЬЮТИКС,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Дзунг Дзоон, Ли Томас Вай-Хо,
Ийенгар Раджеш Р., Перл Николас
Роберт, Джермано Питер, Рибаденейра
Мария Д., Танг Ким (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к применению стимуляторов растворимой гуанилатциклазы (sGC), их фармацевтически приемлемым солям и к фармацевтическим композициям или лекарственным формам, включающим эти стимуляторы, в виде монотерапии или в комбинации с одним или более дополнительными средствами, для лечения различных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС), при которых желательно повышать стимуляцию sGC или увеличивать концентрацию оксида азота (NO) или циклического гуанозин-3',5'-монофосфата (сGMP) или того и другого, или повышать регуляцию сигнального каскада NO.

202291816
A1

202291816

A1

**ЛЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ С ПОМОЩЬЮ
СТИМУЛЯТОРОВ SGC**

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Эта заявка в соответствии с разделом 35 119(e) Свода законов США испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 62/419059, зарегистрированной 8 ноября 2016 года, полное содержание которой включено в настоящее изобретение путем ссылки на нее.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Настоящее изобретение относится к применению стимуляторов растворимой гуанилатциклазы (sGC), их фармацевтически приемлемым солям и к фармацевтическим композициям или лекарственным формам, включающим эти стимуляторы, в виде монотерапии или в комбинации с одним или более дополнительными средствами, для лечения различных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС), при которых желательно повышать стимуляцию sGC или увеличивать концентрацию оксида азота (NO) или циклического гуанозин-3',5'-монофосфата (сGMP) или того и другого, или повышать регуляцию сигнального каскада NO.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Растворимая гуанилатциклаза (sGC) является первичным сенсорным рецептором оксида азота (NO) *in vivo*. sGC может быть активирована как по NO-зависимому механизму, так и по NO-независимому механизму. В результате этой активации, sGC превращает гуанозин-5'-трифосфат (GTP) во вторичный мессенджер, циклический GMP (сGMP). Повышенный уровень сGMP, в свою очередь, модулирует активность нижележащих эффекторов, включающих протеинкиназы, фосфодиэстеразы (PDEs) и ионные каналы.

[0004] В организме, NO образуется из аргинина и кислорода под воздействием различных ферментов синтаз оксида азота (NOS) и в результате последовательного восстановления неорганического нитрата. Были выявлены три четко различимые изоформы NOS: индуцибельная NOS (iNOS или NOS II), обнаруживаемая в

активированных макрофагах; конститутивная нейрональная NOS (nNOS или NOS I), принимающая участие в передаче нервных импульсов и в долговременной потенциации синаптической передачи; и конститутивная эндотелиальная NOS (eNOS или NOS III), которая регулирует расслабление гладких мышц и кровяное давление. Данные экспериментальных и клинических исследований указывают на то, что уменьшение концентраций, снижение биодоступности и/или ответной реакции организма на эндогенно продуцируемый NO способствует развитию заболевания.

[0005] NO-независимые, гем-зависимые стимуляторы sGC отличаются от других типов модуляторов sGC несколькими важными характеристиками, включающими чрезвычайно сильную зависимость их активности от присутствия восстановленного простетического фрагмента гема, сильную синергетическую активацию фермента в сочетании с NO и стимулирование синтеза cGMP в результате непосредственного стимулирования sGC, независимого от NO. Соединение бензилиндазола YC-1 было первым идентифицированным стимулятором sGC. С тех пор были созданы и другие стимуляторы sGC с повышенной активностью и специфичностью в отношении sGC.

[0006] Соединения, которые стимулируют sGC по NO-независимому механизму, обладают значительными преимуществами по сравнению с другими применяемыми в настоящее время альтернативными лекарственными средствами, которые или целенаправленно воздействуют на aberrантный сигнальный каскад NO, или которые применяют при заболеваниях, в случае которых достигается положительный эффект в результате повышения регуляции сигнального каскада NO. Существует необходимость в создании новых стимуляторов sGC. Эти соединения могут применяться для лечения различных заболеваний, где заболевания или расстройства представляют собой заболевания или расстройства, в случае которых может достигаться положительный эффект в результате стимуляции sGC или повышения концентрации оксида азота (NO) или циклического гуанозин-3',5'-монофосфата (cGMP), или повышения концентрации и того и другого, или в случае которых желательно повышение регуляции сигнального

каскада NO.

[0007] Стимулятора sGC, которые могут преодолевать гематоэнцефалический барьер и проникать в головной мозг, обеспечивают дополнительные преимущества при лечении заболеваний центральной нервной системы (ЦНС). Описанные в изобретении стимуляторы sGC могут применяться для лечения заболеваний ЦНС вследствие их способности преодолевать гематоэнцефалический барьер.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] Настоящее изобретение относится к способу лечения или предотвращения заболевания, болезненного состояния или расстройства центральной нервной системы (ЦНС) у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту в качестве монотерапии или комбинированной терапии терапевтически эффективного количества соединения или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение выбирают из соединений, представленных в таблице I.

[0009] Изобретение также относится к фармацевтической композиции, включающей соединение из таблицы I или его фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или носитель. Изобретение также относится к лекарственной форме, включающей указанную фармацевтическую композицию.

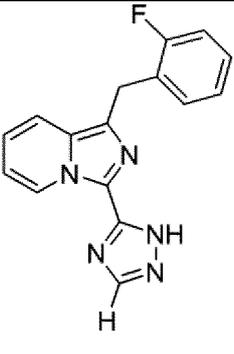
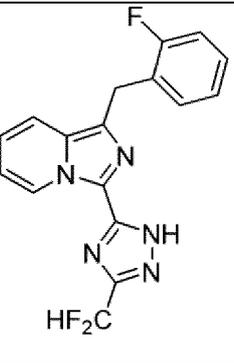
[0010] Изобретение также относится к способу лечения или предотвращения заболевания, болезненного состояния или расстройства центральной нервной системы (ЦНС) у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение в качестве монотерапии или комбинированной терапии фармацевтической композиции или лекарственной формы, включающей соединение, представленное в таблице I, или его фармацевтически приемлемую соль.

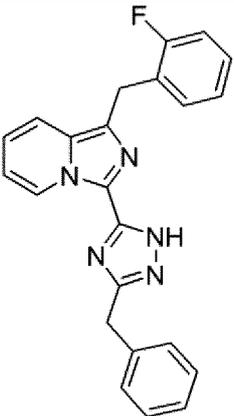
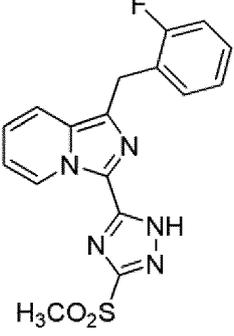
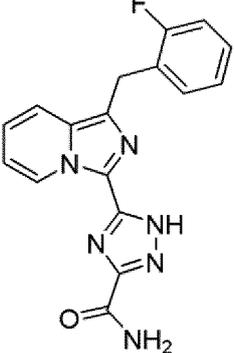
[0011] Кроме того, изобретение относится к применению стимулятора sGC, представленного в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции или лекарственной форме, включающей соединение, для лечения заболевания ЦНС.

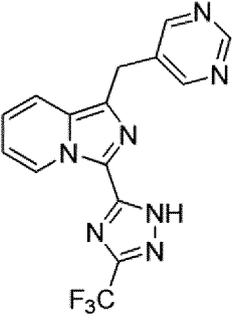
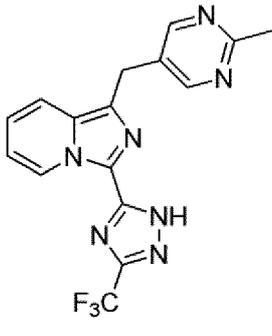
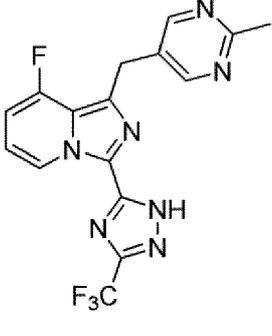
[0012] Кроме того, изобретение относится к стимулятору sGC

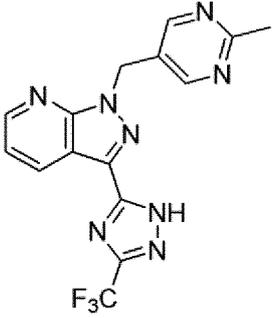
или фармацевтической композиции или лекарственной форме, включающей этот стимулятор, для применения при лечении заболевания ЦНС, где стимулятор sGC является стимулятором, представленным в таблице I, или его фармацевтически приемлемой солью.

Таблица I

| Структура | Номер соединения |
|---|------------------|
|  | I-8 |
|  | I-9 |
|  | I-3 |
|  | I-11 |

| | |
|---|------|
|  | I-12 |
|  | I-13 |
|  | I-14 |
|  | I-15 |
|  | I-7 |

| | |
|---|------|
|  | I-6 |
|  | I-10 |
|  | I-5 |
|  | I-4 |
|  | I-16 |

| | |
|---|-----|
|  | I-2 |
|  | I-1 |

[0013] В некоторых вариантах осуществления, заболевание, болезненное состояние и расстройство ЦНС выбирают из болезни Альцгеймера, амиотрофического бокового склероза (ALS или болезни Лу Герига), синдрома Дауна, деменции, сосудистой деменции, сосудистого когнитивного нарушения, смешанной деменции, деменции Бинсвангера (субкортикальной артериосклеротической энцефалопатии), церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL или синдрома CADASIL), лобно-височной лобарной дегенерации или деменции, ВИЧ-ассоциированной деменции (в том числе бессимптомного нейрокогнитивного нарушения (ANI), незначительного нейрокогнитивного нарушения (MND) и ВИЧ-ассоциированной деменции (HAD) (называемой также комплексом СПИД-деменция [ADC] или ВИЧ энцефалопатией), деменции с тельцами Леви, пресенильной деменции (умеренного когнитивного нарушения, MCI), глаукомы, болезни Хантингтона (или хорей, HD), или когнитивного нарушения, связанного с HD; множественного склероза (MS) (в том числе клинически изолированного синдрома (CIS), возвратно-ремитирующего MS (RRMS), первичного прогрессирующего MS (PPMS) и вторичного прогрессирующего MS (SPMS)), множественной системной атрофии (MSA), болезни Паркинсона, паркинсонизма плюс спинально-церебеллярной атаксии, болезни

Стила-Ричардсона-Ольшевского (прогрессирующего надъядерного паралича), синдрома дефицита внимания (ADD) и синдрома гиперактивности с дефицитом внимания (ADHD).

[0014] В других вариантах осуществления, заболевание, болезненное состояние и расстройство представляет собой расстройство или состояние ЦНС, выбранное из болезни Альцгеймера или состояния предболезни Альцгеймера, мягкой или умеренной формы болезни Альцгеймера или умеренной или тяжелой формы болезни Альцгеймера.

[0015] В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС выбирают или из травматического (закрытые или открытые, проникающие травмы головы) повреждения головного мозга (TBI), нетравматического повреждения головного мозга (например, инсульта (в частности, ишемического инсульта), аневризмы, гипоксии), или из когнитивного нарушения или дисфункции, являющегося результатом повреждений головного мозга или нейродегенеративных расстройств.

[0016] В других вариантах осуществления, заболевание или расстройство ЦНС выбирают из дистоний, включающих, например, генерализованную, фокальную, сегментарную, сексуальную, промежуточную, острую дистоническую реакцию, и генетическую/первичную дистонию; и дискинезий, включающих, например, острую, хроническую/медленную и неоторную и индуцированную леводопой дискинезию (LID).

[0017] В других вариантах осуществления, заболевание или расстройство ЦНС выбирают из расстройств, характеризующихся относительным снижением синаптической пластичности и синаптических процессов, включающих, например, синдром хрупкой X-хромосомы, синдром Ретта, синдром Вильямса, синдром Ренпеннинга, расстройства аутистического спектра, включающие аутизм, синдром Аспергера, общее расстройство психологического развития и дезинтегративное расстройство детского возраста.

[0018] В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС представляет собой нейропатическую боль.

[0019] В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС представляет собой психиатрическое, умственное, душевное или

аффективное расстройство, выбранное из биполярного расстройства, шизофрении, общего психоза, психоза, вызванного употреблением наркотических веществ, бредового расстройства, шизоаффективного расстройства, обсессивно-компульсивного расстройства (OCD), депрессивного расстройства, тревожного расстройства, панического расстройства, посттравматического стрессового расстройства (PTSD).

[0020] В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС выбирают из угнетения когнитивных способностей при проведении химиотерапии, аддиктивного поведения, вызванного применением леводопы, алкоголизма, наркотической зависимости (включая, но этим не ограничивая, амфетамин, опиаты или другие вещества) и злоупотребления различными веществами.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0021] На фигуре 1 графически представлены данные по долговременной потенциации синаптической передачи в гиппокампальных срезах немутантных (WT) мышей (средняя кривая), гиппокампальных срезах R6/2 мышей (нижняя кривая), и гиппокампальных срезах R6/2 мышей, подвергнутых лечению с помощью 855 нМ соединения I-5 (верхняя кривая).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0022] Далее будут подробно описаны конкретные варианты осуществления изобретения, примеры которых проиллюстрированы в прилагаемых структурах и формулах. Несмотря на то, что изобретение будет описано во взаимосвязи с перечисленными вариантами осуществления, тем не менее, следует иметь в виду, что изобретение не ограничивается этими вариантами осуществления. Напротив, предполагается, что изобретение охватывает все альтернативные варианты, модификации и эквиваленты, которые могут быть включены в объем настоящего изобретения, определяемый формулой изобретения. Настоящее изобретение не ограничивается способами и материалами, описанными в изобретении, и включает в себя любые способы и материалы, подобные или эквивалентные способам и материалам, описанным в настоящем изобретении, которые могут быть использованы при осуществлении настоящего изобретения. В случае,

если содержание одной или нескольких публикаций, патентов или аналогичных литературных источников, включенных в изобретение путем ссылки на них, отличается или находится в противоречии с содержанием этого изобретения, включая, но этим не ограничивая, определение терминов, использование терминов, описанные методики и другую подобную информацию, то содержание этого изобретения имеет преимущественную силу.

Определения и общая терминология

[0023] Применительно к этому изобретению, химические элементы указываются в соответствии с Периодической таблицей элементов в варианте реферативного журнала Chemical Abstract (CAS) и в соответствии со справочником Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. 1994. Кроме того, общие принципы органической химии описаны в монографиях "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, и "March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Smith, M. B. and March, J., eds. John Wiley & Sons, New York: 2001, содержание которых включено в настоящее изобретение путем ссылок на них.

[0024] Соединение, такое как соединение из таблицы I, или другие описанные в изобретении соединения, могут присутствовать в свободной форме (например, аморфной форме или кристаллической форме, или в форме полиморфа). При определенных условиях, соединения могут также образовывать коформы. Используемый в изобретении термин "коформа" является синонимом термина "многокомпонентная кристаллическая форма". Образование соли определяется тем, насколько большим является различие в величинах pK_a компонентов, образующих смесь. Применительно к этому изобретению, соединения включают их фармацевтически приемлемые соли, даже если термин "фармацевтически приемлемые соли" в явном виде в тексте не указывается.

[0025] За исключением тех случаев, когда конкретно изображен и указан только один из изомеров, подразумевается, что изображенные в изобретении структуры также включают все стереоизомерные (например, энантиомерные, диастереомерные, атропоизомерные и цис-транс-изомерные) формы структуры, например, R и S конфигурации для каждого центра асимметрии, Ra и

Са конфигурации для каждой оси асимметрии, (Z) и (E) конфигурации двойной связи, и цис- и транс- конформационные изомеры. Поэтому, индивидуальные стереохимические изомеры, а также рацематы, и смеси энантиомеров, диастереомеров и цис-транс-изомеров (по двойной связи или конформационных) описанных соединений входят в объем настоящего изобретения. Если не указано иначе, то все таутомерные формы соединений по настоящему изобретению также входят в объем изобретения.

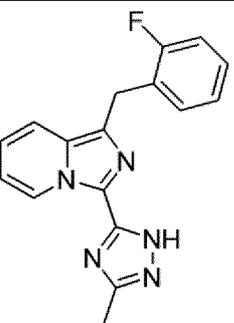
[0026] Настоящее изобретение также включает в себя изотопно-меченые соединения, которые идентичны описанным в изобретении соединениям, но в которых один или более атомов заменены на атом, имеющий атомную массу или массовое число, отличное от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе. Предполагается, что все изотопы любого указанного конкретно атома или элемента входят в состав соединений по изобретению и используются при применении этих соединений. Примеры изотопов, которые могут быть введены в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора, хлора и йода, такие как ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I и ^{125}I , соответственно. Конкретные изотопно-меченые соединения по настоящему изобретению (например, соединения, меченные ^3H и ^{14}C) могут применяться при исследовании распределения соединения и/или субстрата в тканях. Использование соединений, меченных тритием (то есть, ^3H) и углеродом-14 (то есть, ^{14}C), связано с легкостью их приготовления и возможности детектирования. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (например, ^2H), может давать определенные терапевтические преимущества, обусловленные более высокой метаболической стабильностью (например, увеличением периода полувыведения *in vivo* или уменьшением необходимого уровня дозирования) и, следовательно, может быть предпочтительным в некоторых обстоятельствах. Позитрон-излучающие изотопы, такие как ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C и ^{18}F , могут применяться при исследованиях с помощью позитронно-эмиссионная томография (PET) для определения степени занятости рецептора субстратом. Изотопно-меченые

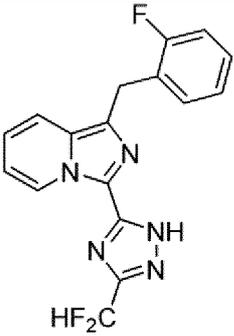
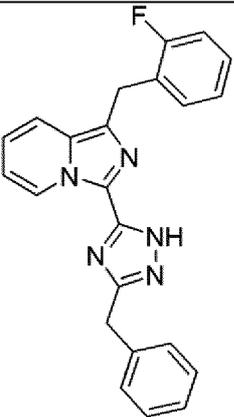
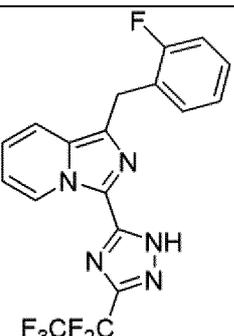
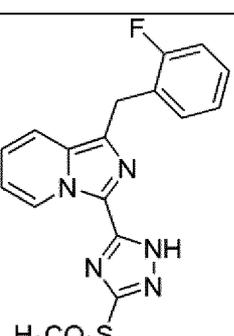
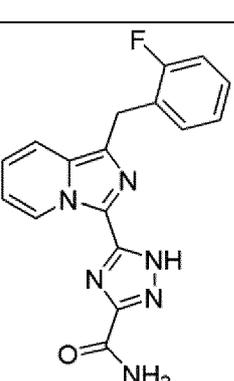
соединения по настоящему изобретению могут быть получены, в большинстве случаев, в соответствии с методиками, аналогичными методикам, описанным в схемах и/или примерах ниже, путем замены реагента, не меченого изотопом, на изотопно-меченый реагент.

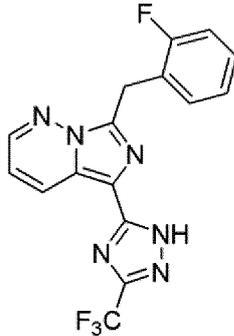
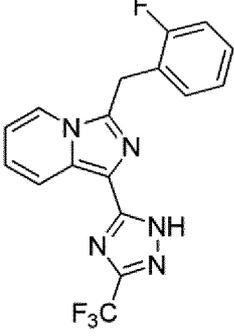
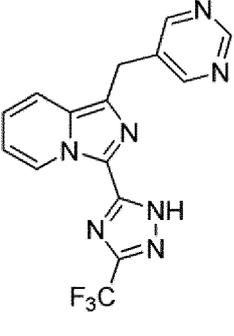
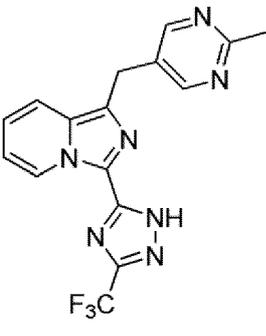
Соединения

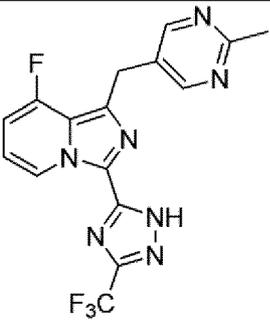
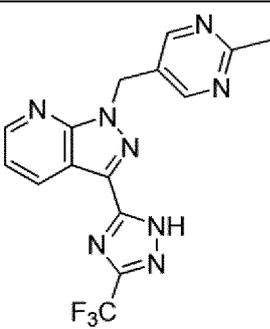
[0027] Настоящее изобретение относится к применению в медицине соединений из таблицы I, их фармацевтически приемлемых солей, фармацевтических композиций и лекарственных форм.

Таблица I

| Структура | Номер соединения |
|---|------------------|
|  | I-8 |
|  | I-9 |
|  | I-3 |

| | |
|--|------|
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=CC=CN3N2C4=NN=C(C(F)F)N4</chem> | I-11 |
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=CC=CN3N2C4=NN=C(Cc5ccccc5)N4</chem> | I-12 |
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=CC=CN3N2C4=NN=C(C(F)(F)F)N4</chem> | I-13 |
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=CC=CN3N2C4=NN=C(CS(=O)(=O)C)N4</chem> | I-14 |
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=CC=CN3N2C4=NN=C(NC=O)N4</chem> | I-15 |

| | |
|---|------|
|  | I-7 |
|  | I-6 |
|  | I-10 |
|  | I-5 |
|  | I-4 |

| | |
|--|------|
|  | I-16 |
|  | I-2 |
|  | I-1 |

Фармацевтически приемлемые соли

[0028] Используемый в изобретении термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к фармацевтически приемлемым органическим или неорганическим солям описанного в изобретении соединения (например, соединения из таблицы I). Фармацевтически приемлемые соли описанного в изобретении соединения применяют в медицине. Однако, соли, которые не являются фармацевтически приемлемыми, могут использоваться при получении описанного в изобретении соединения или его фармацевтически приемлемой соли. Фармацевтически приемлемая соль может включать в себя другую молекулу, такую как ацетат-ион, сукцинат-ион или другой противоион. Противоион может представлять собой любой органический или неорганический фрагмент, который нейтрализует заряд на исходном соединении. Кроме того, фармацевтически приемлемая соль может иметь в своей структуре более чем один несущий заряд атом. В случаях, когда многозарядные атомы входят

в состав фармацевтически приемлемой соли, такая соль может иметь несколько противоионов. Поэтому, фармацевтически приемлемая соль может иметь один или более заряженных атомов и/или один или более противоионов.

[0029] Фармацевтически приемлемые соли описанных в изобретении соединений включают соли, образованные соединениями с неорганическими кислотами, органическими кислотами, неорганическими основаниями или органическими основаниями. В некоторых вариантах осуществления, соли могут быть получены *in situ* в процессе выделения и очистки соединений. В других вариантах осуществления, соли могут быть приготовлены из свободной формы соединения на отдельной стадии синтеза.

[0030] Когда описанное в изобретении соединение обладает кислотными свойствами или содержит достаточное число биоизостерических заместителей, обладающих кислотными свойствами, подходящими "фармацевтически приемлемыми солями" называют соли, полученные из фармацевтически приемлемых нетоксичных оснований, включающих неорганические основания и органические основания. Соли, образованные с неорганическими основаниями, включают соли алюминия, аммония, кальция, меди, железа (III), железа (II), лития, магния, марганца (III), марганца (II), калия, натрия, цинка и другие подобные соли. Конкретные варианты осуществления включают соли аммония, кальция, магния, калия и натрия. Соли, образованные фармацевтически приемлемыми органическими нетоксичными основаниями, включают соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенных аминов, в том числе природных замещенных аминов, циклических аминов и ионообменных смол с основными группами, таких как аргинин, бетаин, кофеин, холин, N,N'-дибензилэтилендиамин, диэтиламин, 2-диэтиламиноэтанол, 2-диметиламиноэтанол, этаноламин, этилендиамин, N-этилморфолин, N-этилпиперидин, глюкамин, глюкозамин, гистидин, гидрабамин, изопропиламин, лизин, метилглюкамин, морфолин, пиперазин, пиперидин, полиаминные смолы, прокаин, пурины, теобромин, триэтиламин, триметиламин трипропиламин, трометамин и другие

подобные амины.

[0031] Когда описанное в изобретении соединение обладает основными свойствами или содержит достаточное число биоизостерических заместителей, обладающих основными свойствами, соли могут быть образованы из фармацевтически приемлемых нетоксичных кислот, включающих неорганические и органические кислоты. Такие кислоты включают уксусную, бензолсульфоновую, бензойную, камфорсульфоновую, лимонную, этансульфоновую, фумаровую, глюконовую, глутаминовую, бромистоводородную, хлористоводородную, изэтиновую, молочную, малеиновую, яблочную, миндальную, метансульфоновую, муциновую, азотную, памовую, пантотеновую, фосфорную, янтарную, серную, винную, п-толуолсульфоновую кислоту и другие подобные кислоты. Конкретные варианты осуществления включают лимонную, бромистоводородную, хлористоводородную, малеиновую, фосфорную, серную и винную кислоты. Другие примеры солей включают, но этим не ограничивая, сульфатные, цитратные, ацетатные, оксалатные, хлоридные, бромидные, йодидные, нитратные, бисульфатные, фосфатные, кислые фосфатные, изоникотинатные, лактатные, салицилатные, кислые цитратные, тартратные, олеатные, таннатные, пантотенатные, битартратные, аскорбатные, сукцинатные, малеатные, гентизинатные, фумаратные, глюконатные, глюкуронатные, сахаратные, формиатные, бензоатные, глутаматные, метансульфонатные, этансульфонатные, бензолсульфонатные, п-толуолсульфонатные и памоатные (то есть, 1,1'-метилден-би-(2-гидрокси-3-нафтаатные)) соли.

[0032] Приготовление описанных выше фармацевтически приемлемых солей и других типичных фармацевтически приемлемых солей более подробно описано в публикации Berg et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 1977:66:1-19, полное содержание которой включено в настоящее изобретение путем ссылки на нее.

[0033] Помимо описанных в изобретении соединений, их фармацевтически приемлемые соли могут быть также применяться в композициях для лечения или предотвращения указанных в изобретении заболеваний.

Фармацевтические композиции, лекарственные формы и способы введения.

[0034] Описанные в изобретении соединения и их фармацевтически приемлемые соли могут быть приготовлены в форме фармацевтических композиций или в виде "лекарственных форм".

[0035] Типичную лекарственную форму готовят путем смешения соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли с носителем, разбавителем или вспомогательным веществом. Специалистам в этой области хорошо известны подходящие носители, разбавители и вспомогательные вещества, и они включают такие материалы, как углеводы, воски, растворимые в воде и/или набухаемые в воде полимеры, гидрофильные или гидрофобные материалы, желатин, масла, растворители, воду и другие подобные материалы. Использование конкретного носителя, разбавителя или вспомогательного вещества будет зависеть от способов приготовления и цели, для которой готовят лекарственную форму соединения формулы I. Растворители обычно выбирают из растворителей, которые признаны специалистами в этой области в качестве безопасных (GRAS, то есть, признаны безопасными) для введения млекопитающему. Как правило, безопасные растворители представляют собой нетоксичные водные растворители, такие как вода и другие нетоксичные растворители, которые растворимы в воде или смешиваются с водой. Подходящие водные растворители включают воду, этанол, пропиленгликоль, полиэтиленгликоли (например, PEG400, PEG300), другие подобные растворители и их смеси. Лекарственные формы могут также включать другие типы вспомогательных веществ, такие как один или несколько буферов, стабилизаторы, антиадгезивы, поверхностно-активные вещества, смачивающие средства, смазывающие средства, эмульгаторы, связующие, суспендирующие средства, разрыхлители, наполнители, сорбенты, покрытия (например, кишечнорастворимое покрытие или покрытие для замедленного высвобождения), консерванты, антиоксиданты, средства для нанесения непрозрачного покрытия, скользкие вещества, вспомогательные вещества, используемые в процессе производства, окрашивающие вещества, подсластители, ароматизирующие добавки, вкусовые добавки и другие известные

добавки для получения привлекательного внешнего вида лекарственного средства (то есть, соединения формулы I или его фармацевтической композиции) или для облегчения производства фармацевтического продукта (то есть, лекарственного препарата).

[0036] Лекарственные формы могут быть приготовлены, используя традиционные методы растворения и смешения. Например, порошкообразное сыпучее лекарственное вещество (то есть, соединение формулы I, его фармацевтически приемлемую соль или стабилизированную форму соединения, такую как комплекс с производным циклодекстрина или с другим известным комплексообразователем) растворяют в подходящем растворителе в присутствии одного или более описанных выше вспомогательных веществ. Соединение, имеющее требуемую степень чистоты, необязательно смешивают с фармацевтически приемлемыми разбавителями, носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами в форме лиофилизированной композиции, измельченного порошка или водного раствора. Лекарственная форма может быть получена смешением при температуре окружающей среды при соответствующей величине pH и при соответствующей степени чистоты с физиологически приемлемыми носителями. Величина pH лекарственной формы зависит главным образом от конкретного применения и концентрации соединения, и может находиться в диапазоне от приблизительно 3 до приблизительно 8. В случае, когда описываемое в изобретении вспомогательное средство представляет собой твердую аморфную дисперсию, образовавшуюся в результате процесса растворения, добавки могут быть введены непосредственно в подвергаемый распылительной сушке раствор при образовании смеси, например, добавку растворяют или суспендируют в растворе в виде суспензии, которую затем подвергают распылительной сушке. В качестве варианта, добавки могут быть введены после процесса распылительной сушки для облегчения образования конечной лекарственной формы.

[0037] Описанное в изобретении соединение или его фармацевтически приемлемую обычно приготавливают в виде лекарственных форм, которые обеспечивают легкость регулирования дозы лекарственного средства и позволяют больному соблюдать

предписанный режим и схему лечения. Лекарственные формы описанного в изобретении соединения или его фармацевтически приемлемой соли могут быть приготовлены для различных способов и типов введения. Для одного и того же соединения могут существовать различные лекарственные формы, так как различные медицинские состояния могут требовать применение различных способов введения.

[0038] Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с материалом носителя с получением лекарственной формы с разовой дозой, может зависеть от субъекта, подвергаемого лечению, и конкретного способа введения. Например, лекарственная форма с высвобождением лекарственного средства в течение времени, предназначенная для перорального введения людям, может содержать приблизительно от 1 до 1000 мг активного вещества, смешанного с соответствующим и подходящим количеством материала носителя, которое может изменяться от приблизительно 5 до приблизительно 95 масс.% от суммарной массы композиций. Фармацевтическая композиция может быть приготовлена для легкого получения измеряемых количеств лекарственного средства для введения. Например, водный раствор, предназначенный для внутривенной инфузии, может содержать от приблизительно 3 до 500 мкг активного ингредиента на миллилитр раствора, для того чтобы можно было обеспечить инфузию подходящего объема со скоростью приблизительно 30 мл/час. В качестве общей нормы, начальное фармацевтически эффективное количество вводимого ингибитора может находиться в диапазоне 0,01-100 мг/кг на дозу, а именно, приблизительно от 0,1 до 20 мг/кг массы тела пациента в день, при этом используемый типичный начальный диапазон дозирования соединения составляет от 0,3 до 15 мг/кг/сутки.

[0039] Используемый в изобретении термин "терапевтически эффективное количество" обозначает такое количество активного соединения или фармацевтического вещества, при котором достигается биологический или лечебный ответ в ткани, системе, у животного или человека, которого добивается исследователь, ветеринар, лечащий врач или другой клинический врач. Терапевтически или фармацевтически эффективное количество

вводимого соединения будет определяться приведенными выше соображениями, и оно является минимальным количеством, которое необходимо для облегчения, излечения или лечения заболевания или расстройства, или одного или более из его симптомов.

[0040] Фармацевтические композиции соединений из таблицы I должны быть приготовлены, дозированы и введены соответствующим образом, то есть количества, концентрации, схемы, курсы, носители и способы введения должны находиться в соответствии с требованиями надлежащей медицинской практики. Факторы, которые следует принимать во внимание в связи с этим, включают конкретное заболевание, подлежащее лечению, конкретное вскармливаемое, подвергаемое лечению, клиническое состояние конкретного пациента, причину заболевания, место доставки лекарственного средства, способ введения, схему введения и другие факторы, известные лечащим врачам, например, возраст, масса тела и восприимчивость к лечению конкретного пациента.

[0041] Термин "профилактически эффективное количество" относится к количеству, которое является эффективным для предотвращения или существенного уменьшения вероятности возникновения заболевания или расстройства, или облегчения тяжести заболевания или расстройства до того, как оно возникло, или для облегчения тяжести одного или более из его симптомов до развития этих симптомов. В общих чертах, профилактические меры подразделяют на первичную профилактику (для предотвращения возникновения заболевания) и вторичную профилактику (когда заболевание уже находится в стадии развития, и пациента защищают от усугубления этого процесса развития заболевания).

[0042] Приемлемые разбавители, носители, вспомогательные вещества и стабилизаторы представляют собой вещества, которые являются нетоксичными для реципиентов в диапазоне используемых доз и концентраций, и включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецилдиметилбензиламмония хлорид, гексаметония хлорид, бензалкония хлорид, бензетония хлорид, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или

пропилпарабен, катехин, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие реагенты, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG). Активные лекарственные ингредиенты могут быть также заключены в микрокапсулы, полученные, например, методами образования коацерватов или путем межфазной полимеризации, например, в гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и полиметилметакрилатные микрокапсулы, соответственно, в коллоидные системы доставки лекарственных средств (например, в липосомы, микросферы из альбумина, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы) или в макроэмульсии. Такие методы описаны в монографии Remington's: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, University of the Sciences in Philadelphia, Eds., 2005 (далее обозначаемой в тексте как "Remington's").

[0043] "Системы контролируемой доставки лекарственных средств" позволяет доставлять лекарственное средство в организм таким способом, который дает возможность точно контролировать соответствие количества вводимого лекарственного средства подвергаемому лечению состоянию. Основной целью является достижение терапевтической концентрации лекарственного средства в месте его действия в течение требуемого периода времени. Термин "контролируемое высвобождение" часто используется для обозначения различных методов, которые позволяют модифицировать высвобождение лекарственного средства из лекарственной формы. Этот термин включает препараты, обозначаемые как препараты "с пролонгированным высвобождением", "с замедленным

высвобождением", "с модифицированным высвобождением" или "со стабильным высвобождением во времени". Как правило, можно обеспечить контролируемое высвобождение описанных в изобретении лекарственных средств путем использования большого разнообразия полимерных носителей и систем контролируемого высвобождения, включающих эродируемые и не эродируемые матрицы, осмотические регулирующие устройства, различные устройства в форме резервуаров, кишечнорастворимые оболочки и контролируемые устройства в форме множества частиц.

[0044] "Препараты со стабильным высвобождением во времени" являются наиболее распространенным применением метода контролируемого высвобождения. Подходящие примеры препаратов со стабильным высвобождением во времени включают содержащие соединение полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, причем матрицы представляют собой профилированные изделия, например, пленки или микрокапсулы. Примеры матриц со стабильным высвобождением во времени включают сложные полиэферы, гидрогели (например, полимер 2-гидроксиэтилметакрилата или поливинилового спирта), полилактиды (патент США № 3773919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата, небiorазлагаемые сополимеры этилена и винилацетата, бiorазлагаемые сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, и поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту.

[0045] Могут быть также приготовлены "препараты с быстрым высвобождением". Функцией этих лекарственных форм является осуществление, как можно быстрее, доставки лекарственного средства в кровотоки и к месту его действия. Например, с целью быстрого растворения, большинство таблеток изготавливают таким образом, чтобы они при введении быстро распались на гранулы и затем дезагрегировались до высокодисперсных частиц. Это обеспечивает большую площадь поверхности, подвергающейся воздействию растворяющей среды, что приводит к увеличению скорости растворения.

[0046] Описанные в изобретении лекарственные средства могут быть включены в эродируемую или не эродируемую полимерную матрицу устройства для контролируемого высвобождения. Под

эродируемой матрицей подразумевают эродируемые или набухающие в воде матрицы, или водорастворимые матрицы, в смысле их способности эродировать или набухать, или растворяться в чистой воде, или которые требуют присутствия кислоты или основания для их ионизации, достаточной для инициирования процесса эрозии или растворения. При контакте с водной средой, в которой применяется эродируемая полимерная матрица, она впитывает воду и образует набухший в воде гель или матрицу, которые содержат в себе описанное в изобретении лекарственное средство. Набухающая в воде матрица постепенно эродирует, увеличивается в размерах, распадается или растворяется в окружающей среде применения, в результате чего происходит контролируемое высвобождение описанного в изобретении соединения в окружающую среду применения. Один ингредиент этой набухающей в воде матрицы представляет собой способный к набуханию, к эрозии или к растворению в воде полимер, который обычно называют осмотическим полимером, гидрогелем или набухающим в воде полимером. Такие полимеры могут представлять собой линейные, разветвленные или сшитые полимеры. Полимеры могут представлять собой гомополимеры или сополимеры. В конкретных вариантах осуществления, они могут представлять собой синтетические полимеры, полученными из мономеров винила, акрилата, метакрилата, уретана, сложного эфира и оксидов. В других вариантах осуществления, они могут быть производными природных полимеров, таких как полисахариды (например, хитин, хитозан, декстран и пуллулан, камедь агар, гуммиарабик, камедь карайи, камедь бобов рожкового дерева, камедь трагакант, каррагенан, камедь гатти, гуаровая камедь, ксантановая камедь и склероглюкан), крахмалы (например, декстрин и мальтодекстрин), гидрофильные коллоиды (например, пектин), фосфатиды (например, лецитин), альгинаты (например, альгинат аммония, альгинат натрия, калия или кальция, альгинат пропиленгликоля), желатин, коллаген и целлюлозные полимеры. Целлюлозные полимеры представляют собой полимер целлюлозы, который был модифицирован путем взаимодействия, по меньшей мере, части гидроксильных групп на сахаридных повторяющихся звеньях с соединением с образованием сложноэфирной связи или связанного

через простой эфир заместителя.

[0047] Например, полимер этилцеллюлозы имеет связанный через эфир этильный заместитель, присоединенный к сахаридному повторяющемуся звену, а полимер ацетата целлюлозы имеет связанный через сложный эфир ацетатный заместитель. В конкретных вариантах осуществления, целлюлозные полимеры для эродируемой матрицы включают растворимые в воде и эродируемые в воде целлюлозы, которые могут включать, например, этилцеллюлозу (ЕС), метилэтилцеллюлозу (МЕС), карбоксиметилцеллюлозу (СМС), карбоксиметилэтилцеллюлозу (СМЕС), гидроксипропилцеллюлозу (НЕС), гидроксипропилцеллюлозу (НРС), ацетат целлюлозы (СА), пропионат целлюлозы (СР), бутират целлюлозы (СВ), ацетат бутират целлюлозы (СAB), САР, САТ, гидроксипропилметилцеллюлозу (НРМС), НРМСР, НРМСАС, ацетаттримеллитат гидроксипропилметилцеллюлозы (НРМСАТ) и этилгидроксиэтилцеллюлозу (ЕНЕС). В конкретных вариантах осуществления, целлюлозные полимеры включают различные сорта гидроксипропилметилцеллюлозы (НРМС) с низкой вязкостью (молекулярная масса меньше или равна 50000 дальтон, например, Dow Methocel™ серии E5, E15LV, E50LV и K100LY) и с высокой вязкостью (молекулярная масса больше 50000 дальтон, например, E4MCR, E10MCR, K4M, и K15M K100M и Methocel™ серии K). Другие коммерчески доступные типы гидроксипропилметилцеллюлозы (НРМС) включают Shin Etsu Metolose серии 90SH.

[0048] Другие вещества, используемые в качестве эродируемого материала матрицы, включают, но этим не ограничивая, пуллулан, поливинилпирролидон, поливиниловый спирт, поливинилацетат, эфиры глицерина и жирных кислот, полиакриламид, полиакриловую кислоту, сополимеры этакриловой кислоты или метакриловой кислоты (EUDRAGIT®, Rohm America, Inc., Piscataway, New Jersey) и другие производные акриловой кислоты, такие как гомополимеры и сополимеры бутилметакрилата, метилметакрилата, этилметакрилата, этилакрилата, (2-диметиламиноэтил)метакрилата и хлорида (триметиламиноэтил)метакрилата.

[0049] В качестве варианта, лекарственные средства по настоящему изобретению могут быть введены или включены в

устройства на основе неэродируемых матриц. В таких устройствах, описанное в изобретении лекарственное средство распределено в инертной матрице. Лекарственное средство высвобождается в результате диффузии через инертную матрицу. Примеры материалов, подходящих для инертной матрицы, включают нерастворимые пластмассы (например, сополимеры метилакрилат-метилметакрилат, поливинилхлорид, полиэтилен), гидрофильные полимеры (например, этилцеллюлоза, ацетат целлюлозы, сшитый поливинилпирролидон (известный также, как кросповидон)) и алифатические соединения жирного ряда (например, карнаубский воск, микрокристаллический воск и триглицериды). Такие устройства подробно описаны в монографии Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th edition (2000).

[0050] Как отмечалось выше, описанные в изобретении лекарственные средства могут быть также включены в осмотическое устройство для контролируемого высвобождения. Такие устройства обычно включают сердцевину, содержащую одно или более описанных в изобретении лекарственных средств, и окружающую сердцевину водопроницаемую, водонерастворимую и неэродируемую оболочку, которая регулирует поступление воды в сердцевину из окружающей водной среды, в которой применяется эта лекарственная форма, применения таким образом, в силу чего происходит высвобождение лекарственного средства в результате вытеснения некоторого количества или всего количества содержимого из сердцевины в окружающую среду, в которой применяется лекарственная форма. В конкретных вариантах осуществления, оболочка является полимерной, водопроницаемой и имеет, по меньшей мере, одно нагнетательное отверстие. Сердцевина осмотического устройства необязательно включает осмотический реагент, функцией которого является всасывание воды из окружающей среды через такую полупроницаемую мембрану. Осмотический реагент, содержащийся в сердцевине этого устройства, может представлять собой способный к набуханию в воде гидрофильный полимер, или он может представлять собой осмоген, также известный как осмореагент. Внутри устройства создается давление, которое заставляет лекарственное средство (средства) выделяться из устройства через

отверстие (размер которого должен быть выбран так, чтобы свести к минимуму диффузию растворенного вещества, предотвращая при этом увеличение гидростатического напора). Неограничивающие примеры осмотических устройств для контролируемого высвобождения лекарственного препарата описаны в патентном документе U.S. Patent Application Serial No. 09/495061.

[0051] Количество способного к набуханию в воде гидрофильного полимера, присутствующего в сердцевине, может находиться в диапазоне от приблизительно 5 до приблизительно 80 масс.% (в том числе, например, от 10 до 50 масс.%). Неограничивающие примеры материалов сердцевины включают гидрофильные виниловые и акриловые полимеры, полисахариды, такие как альгинат кальция, полиэтиленоксид (PEO), полиэтиленгликоль (PEG), полипропиленгликоль (PPG), полимер 2-гидроксиэтилметакрилата, полиакриловую кислоту, полиметакриловую кислоту, поливинилпирролидон (PVP) и сшитый PVP, поливиниловый спирт (PVA), сополимеры PVA/PVP и сополимеры PVA/PVP с гидрофобными мономерами, такими как метилметакрилат, винилацетат и другие подобные гидрофобные мономеры, гидрофильные полиуретаны, содержащие большие блоки PEO, кроскармеллозу натрия, каррагенан, гидроксиэтилцеллюлозу (HEC), гидроксипропилцеллюлозу (HPC), гидроксипропилметилцеллюлозу (HPMC), карбоксиметилцеллюлозу (CVC) и карбоксиэтилцеллюлозу (СЕС), альгинат натрия, поликарбофил, желатин, ксантановую камедь и натрия крахмалгликолят. Другие материалы включают гидрогели, содержащие взаимопроникающие сетки полимеров, которые могут быть образованы в результате проведения аддитивной полимеризации или конденсационной полимеризации, компоненты которых могут включать такие гидрофильные и гидрофобные мономеры, как указано выше. Способные к набуханию в воде гидрофильные полимеры включают, но этим не ограничивая, PEO, PEG, PVP, кроскармеллозу натрия, HPMC, натрия крахмалгликолят, полиакриловую кислоту и их поперечно-сшитые варианты или их смеси.

[0052] Сердцевина может также включать осмоген (или осмотический реагент). Количество осмогена, присутствующего в

сердцевине, может находиться в диапазоне от приблизительно 2 до приблизительно 70 масс.% (в том числе, например, от 10 до 50 масс.%). Типичными представителями подходящих осмогенов являются водорастворимые органические кислоты, соли и сахара, которые способны впитывать воду, в результате чего возникает градиент осмотического давления на границе окружающей сердцевину оболочки. Типичные примеры применяемых осмогенов включают, но этим не ограничивая, сульфат магния, хлорид магния, хлорид кальция, хлорид натрия, хлорид лития, сульфат калия, карбонат натрия, сульфит натрия, сульфат лития, хлорид калия, сульфат натрия, маннит, ксилит, мочевины, сорбит, инозит, раффинозу, сахарозу, глюкозу, фруктозу, лактозу, лимонную кислоту, янтарную кислоту, винную кислоту и их смеси. В конкретных вариантах осуществления, осмогеном является глюкоза, лактоза, сахароза, маннит, ксилит, хлорид натрия, и в том числе их комбинации.

[0053] Скорость доставки лекарственного средства контролируется такими факторами, как проницаемость и толщина оболочки, осмотическое давление содержащего лекарственное средство слоя, степень гидрофильности слоя гидрогеля и площадь поверхности устройства. Для специалистов в данной области является очевидным, что увеличение толщины оболочки будет уменьшать скорость высвобождения, в то время как любой из указанных далее факторов будет способствовать увеличению скорости высвобождения: повышение проницаемости оболочки, увеличение гидрофильности слоя гидрогеля, повышение осмотического давления содержащего лекарственное средство слоя или увеличение площади поверхности устройств.

[0054] В конкретных вариантах осуществления, является желательным унос частиц описанных в изобретении лекарственных средств вытесняемой жидкостью в процессе работы такого осмотического устройства. В случае частиц, которые хорошо уносятся вытесняемой жидкостью, форму лекарственного средства диспергируют в жидкости перед осаждением частиц в сердцевине таблетки. Одним из способов осуществления этого является добавление разрыхлителя, который предназначен для разрушения спрессованной сердцевины на частицы составляющих ее компонентов.

Неограничивающие примеры стандартных разрыхлителей включают такие вещества, как натрия крахмалгликолят (например, Explotab™ CLV), микрокристаллическая целлюлоза (например, Avicel™), микрокристаллическая кремниевая целлюлоза (например, ProSoIv™) и кроскармеллоза натрия (например, Ac-Di-Sol™), а также другие известные специалистам в этой области разрыхлители. В зависимости от конкретной лекарственной формы, некоторые разрыхлители работают лучше, чем другие. Некоторые разрыхлители склонны образовывать гели, так как они набухают в воде, что затрудняет высвобождение лекарственного средства из устройства. Негелеобразующие ненабухающие разрыхлители обеспечивают более быстрое диспергирование частиц лекарственного средства в сердцевине по мере поступления воды в сердцевину. В конкретных вариантах осуществления, негелеобразующие ненабухающие разрыхлители представляют собой смолы, например, ионообменные смолы. В одном варианте осуществления, используют смолу Amberlite™ IRP 88 (фирмы Rohm and Haas, Philadelphia, PA). В случае использования разрыхлителя, он присутствует в количествах приблизительно 1-25% от количества лекарственного средства в сердцевине.

[0055] Другим примером осмотического устройства является осмотическая капсула. Оболочка капсулы или часть оболочки капсулы может быть полупроницаемой. Капсула может быть заполнена либо порошком, либо жидкостью, состоящими из описанного в изобретении лекарственного средства, вспомогательных веществ, которые впитывают воду, для создания осмотического потенциала, и/или набухающего в воде полимера или, необязательно, солюбилизующих вспомогательных веществ. Сердцевина капсулы также может быть изготовлена таким образом, что она будет иметь два слоя или много слоев лекарственного средства, аналогично описанным выше двухслойным, трехслойным или концентрическим компоновкам.

[0056] Другой представитель осмотического устройства, используемого в этом изобретении, включает набухающие таблетки в оболочке, например, описанные в патентном документе EP378404.

Набухающие таблетки в оболочке включают сердцевину, содержащую описанное в изобретении лекарственное средство и набухающий материал, предпочтительно, гидрофильный полимер, с нанесенной на него мембраной, содержащей отверстия или поры, через которые в водной среде гидрофильный полимер может вытеснять и доставлять лекарственное средство. В качестве варианта, мембрана может содержать полимерные или низкомолекулярные водорастворимые порообразователи. Порообразователи растворяются в окружающей водной среде, в которой используют лекарственную форму, образуя поры, через которые могут вытесняться гидрофильный полимер и лекарственное средство. Примерами порообразователей являются водорастворимые полимеры, такие как НРМС, РЕG, и низкомолекулярные соединения, такие как глицерин, сахароза, глюкоза и хлорид натрия. Кроме того, поры могут быть образованы в оболочке путем сверления отверстий в оболочке с помощью лазера или другими механическими способами. В этом типе осмотических устройств, материал мембраны может включать любой пленкообразующий полимер, в том числе полимеры, которые являются водопроницаемыми или водонепроницаемыми, при условии, что мембрана, нанесенная на сердцевину таблетки, является пористой или содержит водорастворимые порообразователи, или имеет макроскопическое отверстие для доступа воды и высвобождения лекарственного средства. Варианты осуществления этого типа устройств со стабильным высвобождением во времени также могут включать многослойные устройства, описанные, например, в патентном документе EP378404.

[0057] Когда описанное в изобретении лекарственное средство является жидкостью или маслом, например, как в случае лекарственной формы с липидным носителем, описанной, например, в патентном документе W005/011634, устройство для осмотического контролируемого высвобождения может содержать мягкие желатиновые или желатиновые капсулы, имеющие композитные стенки, включающие жидкую композицию, при этом стенка содержит граничный слой, образованный на внешней поверхности капсулы, расширяющийся слой, образованный поверх граничного слоя, и полупроницаемый слой, образованный на расширяющемся слое. Нагнетательное отверстие

соединяет жидкую композицию с окружающей водной средой, в которой применяется данное устройство. Такие устройства описаны, например, в патентных документах US 6419952, US 6342249, US 5324280, US 4672850, US 4627850, US 4203440 и US 3995631.

[0058] Как уже было указано выше, описанные в изобретении лекарственные средства могут быть приготовлены в виде микрочастиц, обычно имеющих размер в диапазоне от приблизительно 10 мкм до приблизительно 2 мм (в том числе, например, от приблизительно 100 мкм до 1 мм в диаметре). Это множество микрочастиц может быть расфасовано, например, в капсулу, такую как желатиновая капсула, или капсулу, образованную из растворимого в воде полимера, такого как HPMCAS, HPMC или крахмал, дозированы в виде суспензии или эмульсии в жидкости, или они могут быть сформированы в таблетку, драже или пилюлю методом прессования или другими методами, известными в данной области. Это множество микрочастиц может быть получено любым известным способом, таким как мокрое и сухое гранулирование, экструзия/окатывание, вальцевание, отверждение из расплава, или путем нанесения распылением затравок кристаллов оболочки. Например, при использовании процессов мокрой и сухой грануляции, описанное в изобретении лекарственное средство и, необязательно, вспомогательные вещества могут быть гранулированы с образованием множества микрочастиц требуемого размера.

[0059] Лекарственные средства могут быть включены в микроэмульсии, которые обычно являются термодинамически стабильными, изотропно чистыми дисперсиями двух несмешивающихся жидкостей, таких как масло и вода, стабилизированными межфазной пленкой из молекул поверхностно-активного вещества (Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, New York: Marcel Dekker, 1992, volume 9). Для приготовления микроэмульсий необходимы поверхностно-активное вещество (эмульгатор), дополнительное поверхностно-активное вещество (вспомогательный эмульгатор), масляная фаза и водная фаза. Подходящие поверхностно-активные вещества включают любые поверхностно-активные вещества, которые могут применяться при изготовлении эмульсий, например, эмульгаторы, которые обычно используют при изготовлении кремов.

Дополнительное поверхностно-активное вещество (или "дополнительный эмульгатор") обычно выбирают из группы производных полиглицерина, производных глицерина и жирных спиртов. Предпочтительные комбинации эмульгатор/дополнительный эмульгатор, как правило, но необязательно, выбирают из группы, состоящей из моностеарата глицерина и полиоксиэтиленстеарата; полиэтиленгликоля и пальмитостеарата этиленгликоля; и триглицеридов каприловой и каприновой кислот и макроглицеридов олеиновой кислоты. Водная фаза включает не только воду, но и, обычно, буферы, глюкозу, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, предпочтительно, низкомолекулярные полиэтиленгликоли (например, PEG 300 и PEG 400), и/или глицерин, и другие подобные вещества, в то время как масляная фаза обычно содержит, например, сложные эфиры жирных кислот, модифицированные растительные масла, силиконовые масла, смеси моно-, ди- и триглицеридов, сложные моно- и диэфиры PEG (например, глицериды олеилмакрогола) и другие подобные вещества.

[0060] Описанные в изобретении соединения могут быть включены в фармацевтически приемлемые композиции наночастиц, наносфер и наночапул (Delie and Blanco-Prieto, 2005, Molecule 10:65-80). Наночапулы, как правило, могут захватывать соединения стабильным и воспроизводимым образом. Для предотвращения побочных эффектов, обусловленных внутриклеточной перегрузкой полимерными веществами, могут быть разработаны ультрадисперсные частицы (размером примерно 0,1 мкм) с использованием полимеров, способных разлагаться *in vivo* (например, биоразлагаемые полиалкилцианоакрилатные наночастицы). Такие частицы описаны в предшествующих патентных документах.

[0061] Имплантируемые устройства с нанесенным на них слоем соединения по настоящему изобретению являются еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения. Соединения также могут быть нанесены на имплантируемые медицинские устройства, такие как сферы, или совместно приготовлены с полимером или другой молекулой с целью получения "депо-препарата", который обеспечивает высвобождение лекарственного средства в течение

более длительного периода времени, чем в случае введения водного раствора лекарственного средства. Подходящие покрытия и общие способы получения имплантируемых устройств с нанесенным на них слоем лекарственного средства описаны в патентных документах US 6099562, 5886026 и 5304121. Покрытия обычно представляют собой биосовместимые полимерные вещества, такие как полимерный гидрогель, полиметилдисилоксан, поликапролактон, полиэтиленгликоль, полимолочная кислота, этиленвинилацетат и их смеси. На покрытие может быть необязательно дополнительно нанесен подходящий верхний слой фторсиликона, полисахаридов, полиэтиленгликоля, фосфолипидов или их комбинаций для придания композиции способности контролировать высвобождение лекарственного средства.

[0062] Лекарственные формы включают такие лекарственные формы, которые подходят для применения в описанных в изобретении способов введения. Лекарственные формы удобно приготавливать в виде лекарственной формы с разовой дозой, и их можно изготовить любым из хорошо известных в фармацевтике методов. Методы и лекарственные формы в целом описаны в монографии Remington's. Такие методы включают стадию смешения активного ингредиента с носителем, который состоит из одного или более вспомогательных ингредиентов. Как правило, лекарственные формы получают путем равномерного и тщательного смешивания активного ингредиента с жидкими носителями или тонко измельченными твердыми носителями, или и с теми и другими, а затем, в случае необходимости, профилирования продукта.

[0063] Термины "вводить" или "введение" в отношении соединения, композиции или лекарственной формы по изобретению означают введение соединения в организм животного, нуждающегося в лечении. Когда соединение по изобретению применяют в комбинации с одним или более другими активными средствами, то подразумевается, что термин "введение" и его варианты включают одновременное и/или последовательное введение соединения и других активных средств.

[0064] Описанные в изобретении композиции могут быть введены системно или местно, например, перорально (например, в

форме капсул, порошков, растворов, суспензий, таблеток, сублингвальных таблеток и других подобных лекарственных форм), ингаляционно (например, в форме аэрозоля, газа, с помощью ингалятора, небулайзера или другим подобным образом), в ухо (например, в форме ушных капель), местно (например, в форме кремов, гелей, линиментов, лосьонов, мазей, паст, пластырей и других подобных лекарственных форм), офтальмологически (например, в форме глазных капель, глазных гелей, глазных мазей), ректально (например, с помощью клизмы или в форме суппозитория), назально, буккально, вагинально (например, используя спринцевание, внутриматочные устройства, вагинальные суппозитории, вагинальные кольца или таблетки и другие подобные формы), с помощью имплантированного резервуара или других подобных устройств, или парентерально, в зависимости от степени тяжести и типа заболевания, подвергаемого лечению. Используемый в изобретении термин "парентеральный" включает, но этим не ограничивая, подкожную, внутривенную, внутримышечную, внутрисуставную, интрасиновиальную, интрастернальную, интратекальную, внутрипеченочную, внутриочаговую и интракраниальную инъекцию или инфузию. Предпочтительно вводить композиции перорально, внутривенно или внутримышечно.

[0065] Описанные в изобретении фармацевтические композиции могут быть введены перорально в любой перорально приемлемой лекарственной форме, включающей, но этим не ограничивая, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы. Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают, но этим не ограничивая, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Помимо активных соединений, жидкие лекарственные формы могут содержать обычно используемые в фармацевтике инертные разбавители, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизаторы и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное масла, масло из проросших зерен пшеницы, оливковое, касторовое и кунжутное

масла), глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбитана и их смеси. Помимо инертных разбавителей, пероральные композиции могут также содержать вспомогательные вещества, такие как смачивающие вещества, эмульгаторы и суспендирующие вещества, подсластители, вкусовые и ароматизирующие вещества.

[0066] Твердые лекарственные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых лекарственных формах, активное соединение смешивают, по меньшей мере, с одним инертным фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом или носителем, таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат, и/или а) наполнителями или разбавителями, такими как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота, б) связующими, такими как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидинон, сахароза и аравийская камедь, с) увлажнителями, такими как глицерин, d) разрыхлителями, такими как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или кукурузный крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия, e) реагентами, замедляющими растворение, такими как парафин, f) ускорителями всасывания, такими как четвертичные аммониевые соединения, g) смачивающими веществами, такими как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина, h) абсорбентами, такими как каолин и бентонитовая глина, и i) скользящими веществами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси. Таблетки могут не иметь покрытия или могут иметь покрытие, нанесенное известными способами, включая микрокапсулирование, для того чтобы замаскировать неприятный вкус или замедлить распад и всасывание в желудочно-кишечном тракте, обеспечивая тем самым стабильное действие в течение более длительного периода. Например, может быть использован материал для задержки по времени, такой как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, сам по себе или вместе с воском. Могут быть использованы водорастворимые вещества, маскирующие вкус, такие как гидроксипропилметилцеллюлоза или

гидроксипропилцеллюлоза.

[0067] Лекарственные формы описанного в изобретении соединения, которые применяются для перорального введения, могут быть приготовлены в виде дискретных единиц, таких как таблетки, драже, пастилки, леденцы, водные или масляные суспензии, диспергируемые порошки или гранулы, эмульсии, твердые или мягкие капсулы, например, желатиновые капсулы, сиропы или эликсиры. Лекарственные формы соединения, предназначенные для перорального применения, могут быть приготовлены любым известным методом получения фармацевтических композиций.

[0068] Прессованные таблетки могут быть изготовлены путем прессования на соответствующей установке активного ингредиента в сыпучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанного со связующим, скользящим веществом, инертным разбавителем, консервантом, поверхностно-активным или диспергирующим веществом. Формованные таблетки могут быть изготовлены формованием на соответствующей установке смеси порошкообразного активного ингредиента, увлажненного инертным жидким разбавителем.

[0069] Лекарственные формы для перорального применения могут быть также представлены твердыми желатиновыми капсулами, в которых активный ингредиент смешан с инертным твердым разбавителем, например, карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином, или мягкими желатиновыми капсулами, в которых активный ингредиент смешан с водорастворимым носителем, таким как полиэтиленгликоль, или с масляной средой, например, арахисовым маслом, жидким парафином или оливковым маслом.

[0070] Активные соединения могут также находиться в микрокапсулированной форме вместе с одним или более указанными выше вспомогательными веществами.

[0071] Когда для перорального применения требуется приготовить водные суспензии, активный ингредиент смешивают с эмульгаторами и суспендирующими средствами. При необходимости, могут быть добавлены конкретные подсластители и/или ароматизаторы. Сиропы и эликсиры могут быть приготовлены с подсластителями, например, с глицерином, пропиленгликолем,

сорбитом или сахарозой. Такие лекарственные формы могут также содержать средство, уменьшающее раздражение, консервант, вещество, корригирующее вкус и запах, краситель и антиоксидант.

[0072] Стерильные инъеклируемые формы описанных в изобретении композиций (например, для парентерального введения), могут представлять собой водную или масляную суспензию. Эти суспензии могут быть приготовлены известными в данной области методами с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих средств и суспендирующих средств. Стерильный инъеклируемый препарат может также представлять собой стерильный инъеклируемый раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, такой как раствор в 1,3-бутандиоле. Среди приемлемых носителей и растворителей, которые можно использовать, следует упомянуть воду, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели может быть использовано любое мягкое нелетучее масло, в том числе синтетические моно- или диглицериды. При приготовлении инъеклируемых препаратов могут применяться жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, а также фармацевтически приемлемые природные масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, в частности, их полиоксиэтилированные модификации. Эти масляные растворы или суспензии могут также содержать разбавитель или диспергирующее средство на основе длинноцепочечного спирта, такого как карбоксиметилцеллюлоза, или аналогичные диспергирующие средства, которые обычно используют в составе фармацевтически приемлемых лекарственных форм, включающих эмульсии и суспензии. В инъеклируемых препаратах могут также применяться другие широко используемые поверхностно-активные вещества, такие как Tweens, Spans, и другие эмульгаторы или вещества, повышающие биодоступность, которые обычно применяют при изготовлении фармацевтически приемлемых твердых, жидких или других лекарственных форм.

[0073] Масляные суспензии могут быть приготовлены путем

суспендирования соединения формулы I в растительном масле, например, арахисовом масле, оливковом масле, кунжутном масле или кокосовом масле, или в минеральном масле, таком как жидкий парафин. Масляные суспензии могут содержать загуститель, например, пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт. С целью придания пероральному препарату соответствующего вкуса, могут быть добавлены подсластители, такие как указанные выше, и ароматизаторы. Для обеспечения длительного хранения этих композиций, в них добавляют антиоксидант, такой как бутилированный гидроксианизол или альфа-токоферол.

[0074] Водные суспензии соединения формулы I содержат активные вещества в смеси с вспомогательными веществами, подходящими для использования при приготовлении водных суспензий. Такие вспомогательные вещества включают суспендирующее средство, такое как натрия карбоксиметилцеллюлоза, кроскармеллоза, повидон, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовая камедь и аравийская камедь, и диспергирующие или смачивающие средства, такие как природный фосфатид (например, лецитин), продукт конденсации алкиленоксида с жирной кислотой (например, полиоксиэтиленстеарат), продукт конденсации этиленоксида с длинноцепочечным алифатическим спиртом (например, гептадекаэтиленоксицетанол), продукт конденсации этиленоксида с неполным сложным эфиром жирной кислоты и гекситолового ангидрида (например, полиоксиэтиленсорбитан моноолеат). Водная суспензия может также содержать один или более консервантов, таких как этил- или n-пропил-p-гидроксibenзоат, один или более красителей, один или более ароматизаторов и один или более подсластителей, таких как сахароза или сахарин.

[0075] Инъекционные лекарственные формы могут быть стерилизованы, например, путем фильтрации через удерживающий бактерии фильтр или путем введения стерилизующих веществ в форме стерильных твердых композиций, которые могут быть растворены или диспергированы в стерильной воде или другой стерильной инъекционной среде перед применением.

[0076] Для того чтобы пролонгировать действие описанного в изобретении соединения, часто является желательным замедление всасывание из места подкожной или внутримышечной инъекции. Это может быть достигнуто путем использования жидкой суспензии кристаллического или аморфного вещества с низкой растворимостью в воде. В этом случае, скорость всасывания соединения зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. В качестве варианта, замедленное всасывание парентерально вводимой лекарственной формы соединения достигается путем растворения или суспендирования соединения в масляном носителе. Инъецируемые депо-формы изготавливают путем формирования микроинкапсулированных матриц соединения в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. Выбирая соотношение соединения и полимера и свойства конкретно используемого полимера, можно контролировать скорость высвобождения соединения. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают полиортоэферы и полиангидриды. Инъецируемые депо-формы также получают путем включения соединения в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканями организма.

[0077] Инъецируемые растворы или микроэмульсии могут быть введены в кровоток пациента путем местной болюсной инъекции. В качестве варианта, более эффективным может быть введение раствора или микроэмульсии таким образом, чтобы поддерживать постоянную циркулирующую концентрацию быстро растворимого соединения. Для того чтобы поддерживать такую постоянную концентрацию, могут быть использованы устройства непрерывной внутривенной доставки. Примером такого устройства является устройство для внутривенного струйного введения Deltac CADD-PLUS™ model 5400.

[0078] Предпочтительными композициями для ректального или вагинального введения являются суппозитории, которые могут быть получены путем смешения описанных в изобретении соединений с подходящими не вызывающими раздражения вспомогательными веществами или носителями, такими как масло какао, пчелиный воск, полиэтиленгликоль или воск для суппозиториев, которые

являются твердыми при температуре окружающей среды, но жидкими при температуре тела и, следовательно, расплавляются в ректальной или вагинальной полости и высвобождают активное соединение. Другие лекарственные формы, применяемые для вагинального введения, могут представлять собой pessaries, тампоны, кремы, гели, пасты, пены или спреи.

[0079] Описанные в изобретении фармацевтические композиции могут быть также введены местно, в частности, когда целенаправленно подвергаются лечению области или органы, легко доступные для местного введения, включая заболевания глаза, уха, кожи или нижнего отдела кишечника. Подходящие лекарственные формы для местного введения могут быть легко приготовлены для каждой из этих областей или органов.

[0080] Лекарственные формы для местного или трансдермального введения описанного в изобретении соединения включают мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, порошки, растворы, спреи, ингаляторы или пластыри. Активный компонент смешивают в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и, в зависимости от обстоятельств, с любыми необходимыми консервантами или буферами. Предполагается, что офтальмологическая лекарственная форма, ушные капли и глазные капли также входят в объем настоящего изобретения. Кроме того, настоящее изобретение предусматривает применение трансдермальных пластырей, которые имеют дополнительное преимущество, обусловленное их способностью обеспечивать контролируемую доставку соединения в организм. Такие лекарственные формы могут быть приготовлены путем растворения или диспергирования соединения в соответствующей среде. Для интенсификации прохождения соединения через кожу могут быть также использованы вещества, усиливающие всасывание. Скорость может контролироваться либо путем использования регулирующей скорости мембраны, либо путем диспергирования соединения в полимерной матрице или геле. Местное введение в случае нижних отделов кишечного тракта может быть осуществлено путем использования ректальных суппозиториях (описанных выше) или подходящей лекарственной формы в виде клизмы. Могут быть также использованы

трансдермальные пластыри для местного применения.

[0081] Фармацевтические композиции для местного применения могут быть приготовлены в виде подходящей мази, содержащей активный компонент, суспендированный или растворенный в одном или нескольких носителях. Носители для местного введения соединений по настоящему изобретению включают, но этим не ограничивая, минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен, полиоксипропилен, эмульгирующий воск и воду. В качестве варианта, фармацевтические композиции могут быть приготовлены в виде подходящего лосьона или крема, содержащего активные компоненты, суспендированные или растворенные в одном или нескольких фармацевтически приемлемых носителях. Подходящие носители включают, но этим не ограничивая, минеральное масло, сорбитанмоностеарат, полисорбат 60, воск из цетиловых эфиров, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду.

[0082] Фармацевтические композиции для офтальмологического применения могут быть приготовлены в виде микронизированных суспензий в изотоническом стерильном физиологическом растворе со скорректированной величиной pH или, предпочтительно, в виде растворов в изотоническом стерильном физиологическом растворе со скорректированной величиной pH, в присутствии или в отсутствии консерванта, такого как бензалкониума хлорид. В качестве варианта, фармацевтические композиции для офтальмологического применения могут быть приготовлены в виде мази, такой как вазелин. Для лечения глаз или других наружных тканей, например, рта и кожи, лекарственные формы могут быть нанесены в виде мази или крема для местного применения, содержащих активный ингредиент (ингредиенты) в количестве, например, от 0,075 до 20 масс.%. В случае изготовления в форме мази, активные ингредиенты могут быть использованы с любой мазевой основой из масляной мазевой основы, парафиновой мазевой основы или смешивающейся с водой мазевой основы.

[0083] В качестве варианта, активные ингредиенты могут быть приготовлены в виде крема с кремовой основой типа масло-в-воде. В случае необходимости, водная фаза кремовой основы может

включать многоатомный спирт, то есть спирт, имеющий две или более гидроксильных групп, такой как пропиленгликоль, бутан-1,3-диол, маннит, сорбит, глицерин и полиэтиленгликоль (включая PEG 400) и их смеси. Лекарственные формы для местного применения могут, если это целесообразно, включать соединение, которое усиливает всасывание или проникновение активного ингредиента через кожу или другие пораженные участки. Примеры таких веществ, усиливающих проникновения через кожу, включают диметилсульфоксид и его аналоги.

[0084] Масляная фаза эмульсий, приготовленных с использованием соединения формулы I, может быть образована из известных ингредиентов любым известным методом. Несмотря на то, что фаза может содержать только эмульгатор (называемый иначе эмульгентом), тем не менее, желательно, чтобы фаза содержала смесь, по меньшей мере, одного эмульгатора с жиром или маслом, или и с жиром, и с маслом. Гидрофильный эмульгатор может быть введен вместе с липофильным эмульгатором, который действует в качестве стабилизатора. В некоторых вариантах осуществления, эмульгатор включает как масло, так и жир. При совместном присутствии, эмульгатор (эмульгаторы) вместе или без стабилизатора (стабилизаторов) образует (образуют) так называемый эмульгирующий воск, а воск вместе с маслом и жиром образуют так называемую эмульгирующую основу мази, которая формирует масляную дисперсную фазу кремовых лекарственных форм. Эмульгенты и стабилизаторы эмульсии, пригодные для использования в лекарственной форме соединения формулы I, включают TweenTM-60, SpanTM-80, цетостеариловый спирт, бензиловый спирт, миристиловый спирт, глицерилмоностеарат и лаурилсульфат натрия.

[0085] Фармацевтические композиции могут быть также введены в форме назального аэрозоля или путем ингаляции. Такие композиции приготавливают хорошо известными в фармацевтике методами, и они могут быть приготовлены в виде растворов в физиологическом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, промоторов всасывания для повышения биодоступности, фторуглеродов и/или других

традиционных солюбилизирующих или диспергирующих средств. Лекарственные формы, применяемые для внутрилегочного или назального введения, имеют размер частиц, например, в диапазоне от 0,1 до 500 мкм (включая частицы с размерами в диапазоне от 0,1 до 500 мкм с шагом увеличения размера на 0,5, 1, 30, 35 микрон и так далее), и эти частицы вводят путем быстрой ингаляции через носовой ход или путем ингаляции через рот для достижения ими альвеолярных мешочков.

[0086] В зависимости от способа, применяемого для введения лекарственного средства, фармацевтическая композиция (или лекарственная форма) может быть расфасована различными методами. Как правило, поставляемое для продажи изделие включает контейнер, содержащий вложенную в него фармацевтическую композицию в соответствующей лекарственной форме. Подходящие для этой цели контейнеры хорошо известны специалистам в данной области, и они включают такие контейнеры, как бутылки (пластиковые и стеклянные), пакетики, ампулы, пластиковые мешки, металлические цилиндры и другие подобные контейнеры. Контейнер может также включать приспособление, исключающее случайной доступ к содержимому упаковки. Кроме того, на контейнере присутствует нанесенная на него этикетка, на которой описано содержимое контейнера. На этикетке могут быть также приведены соответствующие предостережения.

[0087] Лекарственные формы могут быть расфасованы в контейнеры с разовой или многократной дозой, например, в герметические ампулы и флаконы, и могут храниться в сублимированном (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого носителя, например, воды для инъекций, непосредственно перед применением. Приготовленные для немедленной инъекции растворы и суспензии приготавливают из стерильных порошков, гранул и таблеток, описанного выше типа. Предпочтительными лекарственными формами с разовой дозой являются лекарственные формы, содержащие суточную дозу активного ингредиента или его разовую суточную дозу, описанную выше, или соответствующую ее часть.

[0088] В еще одном аспекте, описанное в изобретении

соединение или его фармацевтически приемлемая соль могут быть приготовлены в форме ветеринарной композиции, содержащей ветеринарный носитель. Ветеринарными носителями являются вещества, используемые для введения композиции, и они могут быть твердыми, жидкими или газообразными веществами, которые являются также инертными, приемлемыми с точки зрения ветеринарии и совместимы с активным ингредиентом. Эти ветеринарные композиции могут быть введены парентерально, перорально или любым требуемым способом.

Способы лечения

[0089] Настоящее изобретение относится к способу лечения или предотвращения заболевания, болезненного состояния или расстройства ЦНС у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту, в виде монотерапии или комбинированной терапии, терапевтически эффективного количества соединения или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение выбирают из соединений, представленных в таблице I.

[0090] Изобретение также относится к фармацевтической композиции, включающей соединение из таблицы I или его фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или носитель. Изобретение также относится к лекарственной форме, включающей указанную фармацевтическую композицию.

[0091] Изобретение также относится к способу лечения или предотвращения заболевания, болезненного состояния или расстройства ЦНС у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту, в виде монотерапии или комбинированной терапии, фармацевтической композиции или лекарственной формы, включающей соединение, представленное в таблице I, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0092] Изобретение, кроме того, относится к стимулятору sGC, приведенному в таблице I, или к его фармацевтически приемлемой соли, или к содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной форме для лечения заболевания ЦНС.

[0093] Изобретение, кроме того, относится к стимулятору sGC или к содержащей его фармацевтической композиции или

лекарственной форме для применения при лечении заболевания ЦНС, где стимулятор sGC является стимулятором, представленным в таблице I, или его фармацевтически приемлемой солью.

[0094] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении заболеваний или расстройств, характеризующихся повышенным нейровоспалением. Одним вариантом осуществления изобретения является способ уменьшения нейровоспаления у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту любого одного из соединений, представленных в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной формы.

[0095] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении заболеваний или расстройств, характеризующихся повышенной нейротоксичностью. Одним вариантом осуществления изобретения является способ уменьшения нейротоксичности у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту любого одного из соединений, представленных в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной формы.

[0096] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении заболеваний или расстройств, характеризующихся нарушением нейрорегенерации. Одним вариантом осуществления изобретения является способ восстановления нейрорегенерации у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту любого одного из соединений, представленных в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной формы.

[0097] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении заболеваний или

расстройств, характеризующихся нарушением синаптической функции. Одним вариантом осуществления изобретения является способ восстановления синаптической функции у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту любого одного из соединений, представленных в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной формы.

[0098] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении заболеваний или расстройств, характеризующихся снижением уровня нейротрансмиттеров. Одним вариантом осуществления изобретения является способ нормализации уровня нейротрансмиттеров у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту любого одного из соединений, представленных в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной формы. Конкретно, заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера. Конкретно, заболевание представляет собой смешанную деменцию.

[0099] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении заболеваний или расстройств, характеризующихся нарушением мозгового кровообращения. Одним вариантом осуществления изобретения является способ восстановления мозгового кровообращения у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту любого одного из соединений, представленных в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной формы. Конкретно, заболевание представляет собой сосудистую деменцию или болезнь Альцгеймера. Конкретно, заболевание представляет собой смешанную деменцию. В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС выбирают или из травматических повреждений (закрытых или открытых, проникающих в голову), травматического повреждения головного мозга (ТВИ) или нетравматического повреждения головного мозга (инсульта, аневризмы, гипоксии), или из

когнитивного нарушения или когнитивной дисфункции, возникающих вследствие повреждений головного мозга или нейродегенеративных расстройств.

[00100] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении заболеваний или расстройств, характеризующихся повышенной нейродегенерацией. Одним вариантом осуществления изобретения является способ снижения нейродегенерации у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту любого одного из соединений, представленных в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной формы.

[00101] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, обладающие нейропротективным действием. В частности, соединения, представленные в таблице I, или их фармацевтически приемлемые соли, или содержащие их фармацевтические композиции или лекарственные формы могут применяться для защиты нейронов у субъекта, нуждающегося в этом.

[00102] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении редких болевых синдромов. Одним вариантом осуществления изобретения является способ лечение редкого болевого синдрома у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту любого одного из соединений, представленных в таблице I, или его фармацевтически приемлемой соли, или содержащей его фармацевтической композиции или лекарственной формы. В частности, редкий болевой синдром выбирают из ацетазоламид-чувствительной миотонии, синдрома аутоэритроцитарной сенсibilизации, аутосомно-доминантной наследственной невралной амиотрофии Шарко-Мари-Тута типа 2V, аутосомно-доминантной наследственной невралной амиотрофии Шарко-Мари-Тута промежуточного типа с невропатической болью, аутосомно-рецессивной конечностно-поясной мышечной дистрофии типа 2A, связанного с каналопатией врожденного отсутствия

чувствительности к боли, хронической боли, требующей спинальной анестезии, комплексного регионального болевого синдрома, комплексного регионального болевого синдрома типа 1, комплексного регионального болевого синдрома типа 2, врожденного отсутствия чувствительности к боли с гипергидрозом, врожденного отсутствия чувствительности к боли с тяжелой формой умственной отсталости, синдрома врожденного отсутствия чувствительности к боли с гипогидрозом, диффузной ладонно-подошвенной кератодермии с причиняющими боль трещинами, синдрома наследственной эпизодической боли, синдрома наследственной эпизодической боли с проявлением преимущественно в нижних конечностях, синдрома наследственной эпизодической боли с проявлением преимущественно в верхней части тела, наследственных болезненных келоидов, наследственной сенсорной и вегетативной невропатии типа 4, наследственной сенсорной и вегетативной невропатии типа 5, наследственной сенсорной и вегетативной невропатии типа 7, интерстициального цистита, болевого синдрома при орбитальных и системных нейрофибромах с марфаноидным внешним видом пациента, пароксизмального острого болевого расстройства, персистирующей идиопатической лицевой боли, качественных или количественных дефектов кальпаина и синдрома Толоса-Ханта.

[00103] В других вариантах осуществления, раскрытые в изобретении соединения являются стимуляторами sGC, которые могут применяться при предотвращении и/или лечении высотной (горной) болезни, заболевания малых сосудов головного мозга, церебрального васкулита, спазма сосудов головного мозга, гепатической энцефалопатии, болезни мойя-мойя, дисфагии Паркинсона, атаксии-телеангиоэктазии, расстройств аутистического спектра, хронического утомления, хронической травматической энцефалопатии (СТЕ), когнитивного нарушения, связанного с диабетом, когнитивного нарушение, связанного с множественным склерозом, когнитивного нарушения, связанное с обструктивным апноэ во сне, когнитивное нарушения, связанного с шизофренией (CIAS), когнитивного нарушения, связанного с серповидно-клеточной болезнью, сотрясения мозга, ретинопатии, диабетической ретинопатии (в том числе пролиферативной и непролиферативной),

дисфагии, фиброза глаза, болезни Фабри, болезни Гоше, глиобластомы, воспаления, вызванного церебральной малярией (SoC), воспаления, вызванного инфекционным заболеванием, умственной отсталости, миопической хориоидальной неоваскуляризации, нейромиеелита зрительного нерва, нейропатической боли при множественном склерозе, нейропатической боли при опоясывающем лишае (опоясывающем герпесе), нейропатической боли при хирургии позвоночника, деменций при болезни Паркинсона, периферических и вегетативных невропатий, периферической дегенерации сетчатки, синдрома посттравматического стрессового расстройства, постгерпетической невралгии, послеоперационной деменции, пролиферативной витреоретинопатии, вызванного радиоактивным облучением фиброза мозга, радикулопатии, рефрактерной эпилепсии, окклюзии вены сетчатки, повреждения спинного мозга, спинальной мышечной атрофии, спинального смещения, таупатий и влажной формы возрастной макулярной дегенерации.

[00104] Заболевания ЦНС, при которых может быть достигнут положительный эффект в результате лечения с помощью стимулятора sGC по изобретению, являются заболеваниями ЦНС, при которых может быть желательным повышение концентрации NO или повышение концентрации cGMP или повышение концентрации и того и другого, или повышение регуляции сигнального каскада NO.

[00105] Описанные в изобретении соединения, а также их фармацевтически приемлемые соли, в качестве стимуляторов sGC, которые способны преодолевать гематоэнцефалический барьер, могут применяться при предотвращении и/или лечении заболеваний, состояний расстройств ЦНС, при которых может достигаться положительный эффект в результате стимуляции sGC в головном мозге.

[00106] В некоторых вариантах осуществления, заболевание, болезненное состояние или расстройство ЦНС выбирают из болезни Альцгеймера, амиотрофического бокового склероза (ALS или болезни Лу Герига), синдрома Дауна, деменции, сосудистой деменции, сосудистого когнитивного нарушения, смешанной деменции, деменции Бинсвангера (субкортикальной артериосклеротической

энцефалопатии), церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL или синдрома CADASIL), лобно-височной лобарной дегенерации или деменции, ВИЧ-ассоциированной деменции (в том числе бессимптомного нейрокогнитивного нарушения (ANI), незначительного нейрокогнитивного нарушения (MND) и ВИЧ-ассоциированной деменции (HAD) (называемой также комплексом СПИД-деменция [ADC] или ВИЧ энцефалопатией), деменции с тельцами Леви, пресенильной деменции (умеренного когнитивного нарушения, MCI), глаукомы, болезни Хантингтона (или хорей, HD), или когнитивного нарушения, связанного с HD; множественного склероза (MS) (в том числе клинически изолированного синдрома (CIS), возвратно-ремитирующего MS (RRMS), первичного прогрессирующего MS (PPMS) и вторичного прогрессирующего MS (SPMS)), множественной системной атрофии (MSA), болезни Паркинсона, паркинсонизма плюс спинально-церебеллярной атаксии, болезни Стила-Ричардсона-Ольшевского (прогрессирующего надъядерного паралича), синдрома дефицита внимания (ADD) и синдрома гиперактивности с дефицитом внимания (ADHD).

[00107] В других вариантах осуществления, заболевание, болезненное состояние или расстройство представляет собой расстройство или состояние ЦНС, выбранное из болезни Альцгеймера или состояния предболезни Альцгеймера, мягкой или умеренной формы болезни Альцгеймера или умеренной или тяжелой формы болезни Альцгеймера.

[00108] В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС выбирают или из травматического (закрытые или открытые, проникающие травмы головы) повреждения головного мозга (ТБИ, включая, например, сотрясения мозга и хроническую травматическую энцефалопатию (СТЕ)), или из нетравматического (инсульт, включая ишемический инсульт, аневризма, гипоксия) повреждения головного мозга, или из когнитивного нарушения или дисфункции, являющегося результатом повреждений головного мозга или нейродегенеративных расстройств.

[00109] В других вариантах осуществления, заболевание или расстройство ЦНС выбирают из дистонии, включающей, например,

генерализованную, фокальную, сегментарную, сексуальную, промежуточную, острую дистоническую реакцию, и генетическую/первичную дистонию; и дискинезии, включающей, например, острую, хроническую/медленную и немоторную и индуцированную леводопой дискинезию (LID).

[00110] В других вариантах осуществления, заболевание или расстройство ЦНС выбирают из расстройств, характеризующихся относительным снижением синаптической пластичности и синаптических процессов, включающих, например, синдром хрупкой Х-хромосомы, синдром Ретта, синдром Вильямса, синдром Ренпеннинга, расстройства аутистического спектра, включающие аутизм, синдром Аспергера, общее расстройство психологического развития и дезинтегративное расстройство детского возраста.

[00111] В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС представляет собой нейропатическую боль.

[00112] В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС представляет собой психиатрическое, умственное, душевное или аффективное расстройство, выбранное из биполярного расстройства, шизофрении, общего психоза, психоза, вызванного употреблением наркотических веществ, бредового расстройства, шизоаффективного расстройства, обсессивно-компульсивного расстройства (OCD), депрессивного расстройства, тревожного расстройства, панического расстройства, посттравматического стрессового расстройства (PTSD).

[00113] В дополнительных вариантах осуществления, расстройство ЦНС выбирают из возрастного нарушения памяти, смешанной деменции, нарушений режима сна и бодрствования и синдрома Снеддона.

[00114] В дополнительных вариантах осуществления, заболевание или состояние выбирают острой боли, таламического синдрома, индуцированных химиотерапией нейропатии и нейропатической боли, диабетической нейропатии, фибромиалгии, воспалительной боли, нейропатической боли, нейропатической боли, связанной с заболеванием центральной нервной системы (ЦНС), болезненной диабетической периферической нейропатии, послеоперационной боли, тонической боли и висцеральной боли.

[00115] В других вариантах осуществления, расстройство ЦНС выбирают из угнетения когнитивных способностей при проведении химиотерапии, аддиктивного поведения, вызванного применением леводопы, алкоголизма, наркотической зависимости (включая, но этим не ограничивая, амфетамин, опиаты или другие вещества) и злоупотребления различными веществами.

[00116] Термины "заболевание", "расстройство", "болезненное состояние" и "состояние" могут использоваться в изобретении взаимозаменяемо для обозначения sGC, cGMP и/или NO опосредованного медицинского или патологического состояния ЦНС, или для обозначения заболевания ЦНС, при котором может достигаться положительный эффект в результате повышения регуляции сигнального каскада NO.

[00117] Используемые в изобретении термины "субъект" и "пациент" являются взаимозаменяемыми. Термины "субъект" и "пациент" относятся к животным (например, птицам, таким как курицы, перепела или индейки, или к млекопитающим), при этом, в частности, "млекопитающее" включает неприматов (например, коров, свиней, лошадей, овец, кроликов, морских свинок, крыс, кошек, собак и мышей) и приматов (например, обезьяну, шимпанзе и человека), и более конкретно, человека. В некоторых вариантах осуществления, субъектом является не принадлежащее к человеческому роду животное, такое как сельскохозяйственное животное (например, лошадь, корова, свинья и овца) или домашнее животное (например, собака, кошка, морская свинка или кролик). В некоторых вариантах осуществления, субъектом является человек.

[00118] В настоящем изобретении также предлагается способ лечения одного из упомянутых выше заболеваний, состояний и расстройств у пациента, включающий введение терапевтически эффективного количества описанного в изобретении соединения, или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в лечении. В качестве варианта, в изобретении предлагается применение описанного в изобретении соединения или его фармацевтически приемлемой соли при лечении одного из указанных заболеваний, состояний и расстройств у субъекта, нуждающегося в лечении.

[00119] Используемый в изобретении термин "биологический образец" относится к *in vitro* или *ex vivo* образцу и включает, но без ограничения, клеточные культуры или их экстракты, полученный от млекопитающего биоптат или его экстракты, кровь, слюну, мочу, кал, сперму, слезы, лимфатическую жидкость, глазную жидкость, жидкость стекловидного тела, спинномозговую жидкость (CSF) или другие жидкости организма или их экстракты.

[00120] Термины "лечить" или "лечение", используемые применительно к расстройству или заболеванию, обозначают облегчение или устранение причины и/или воздействий расстройства или заболевания. Используемые в изобретении термины "лечить" и "лечение" относятся к снижению или облегчению развития, тяжести и/или продолжительности sGC, cGMP и/или NO опосредованного состояния, или состояния, при котором может быть достигнут положительный эффект в результате повышения регуляции сигнального каскада NO, или к облегчению одного или более симптомов (предпочтительно одного или более явных симптомов) указанного состояния (то есть к "контролированию" состояния без его "излечения"), в результате применения одного или более терапевтических средств (например, одного или более терапевтических средств, таких как соединение из таблицы I или его композиция или лекарственная форма). В конкретных вариантах осуществления, термины "лечить" и "лечение" относятся к улучшению, по меньшей мере, одного измеряемого физического показателя sGC, cGMP и/или NO опосредованного состояния или состояния, при котором может быть достигнут положительный эффект в результате повышения регуляции сигнального каскада NO. В других вариантах осуществления, термины "лечить" и "лечение" относятся к замедлению прогрессирования sGC, cGMP и/или NO опосредованного состояния или состояния, при котором может быть достигнут положительный эффект в результате повышения регуляции сигнального каскада NO, или физически, например, путем стабилизации явного симптома, или физиологически, например, путем стабилизации физического показателя, или и того и другого.

[00121] Используемый в изобретении термин "предотвращение" относится к введению лекарственного препарата заблаговременно с

целью предотвратить или предупредить появление одного или более симптомов заболевания или расстройства. Для специалиста в области медицины является очевидным, что термин "предотвращать" не является абсолютным термином. Следует иметь в виду, что в области медицины этот термин обозначает профилактическое введение лекарственного средства для значительного снижения вероятности возникновения или степени тяжести состояния или симптома состояния, и именно в этом смысле этот термин используется в настоящем изобретении. В настольном справочнике врача по лекарственным препаратам, являющемся стандартным текстом в области медицины, термин "предотвращать" используется сотни раз. Используемые в изобретении термины "предотвращать" и "предотвращение" применительно к расстройству или заболеванию обозначают предотвращение причины, эффектов, симптомов или прогрессирования заболевания или расстройства до момента полного проявления заболевания или расстройства как такового.

[00122] В одном варианте осуществления, способы по настоящему изобретению представляют собой превентивную или "упреждающую" меру для пациента, в частности, для человека, имеющего предрасположенность (например, генетическую предрасположенность) к развитию заболевания, расстройства или симптома, связанных с sGC, cGMP и/или NO.

[00123] В других вариантах осуществления, способы по настоящему изобретению представляют собой превентивную или "упреждающую" меру для пациента, в частности, для человека, страдающего заболеванием, расстройством или состоянием, которое подвергает его риску развития заболевания, расстройства или симптома, связанных с sGC, cGMP и/или NO.

[00124] Описанные в изобретении соединения и композиции могут также применяться в ветеринарии для лечения домашних животных, экзотических животных и сельскохозяйственных животных, включая, но без ограничения, собак, кошек, мышей, крыс, хомяков, песчанок, морских свинок, кроликов, лошадей, свиней и крупной рогатый скот.

[00125] В других вариантах осуществления, в изобретении предлагается способ стимуляции sGC в биологическом образце,

включающий контактирование указанного биологического образца с соединением из таблицы I или с его фармацевтически приемлемой солью, с его композицией или лекарственной формой. Использование стимулятора sGC в биологическом образце может применяться с различными целями, известными специалистам в этой области. Примеры таких целей включают, но без ограничения, исследования биологической активности и хранение биологических образцов.

[00126] Описанные в изобретении соединения и фармацевтические композиции могут применяться в виде монотерапии или в виде комбинированной терапии для лечения или предотвращения заболевания или расстройства, которое является опосредованным, регулируемым sGC, cGMP и/или NO, или на которое sGC, cGMP и/или NO оказывают воздействие.

Комбинированные терапии

[00127] Описанные в изобретении соединения и фармацевтические композиции могут быть использованы при комбинированной терапии с одним или более дополнительными терапевтическими средствами. При комбинированном лечении с помощью более чем одного активного средства, в случае, когда активные средства находятся в отдельных лекарственных формах, активные средства могут быть введены отдельно или вместе. Кроме того, введение одного средства может быть осуществлено до, одновременно или после введения другого средства.

[00128] В случае совместного введения с другими средствами, например, в случае совместного введения с другим лекарственным препаратом, "эффективное количество" второго средства будет зависеть от типа используемого лекарственного средства. Допустимые дозы для разрешенных к применению лекарственных средств являются известными, и они могут быть скорректированы специалистом в данной области в зависимости от состояния субъекта, типа состояния (состояний), подвергаемого лечению, и количества используемого соединения, описанного в изобретении. В случаях, когда количество точно не указано, эффективное количество следует приблизительно оценить. Например, описанные в изобретении соединения могут быть введены субъекту в диапазоне доз от приблизительно 0,01 до приблизительно 10000 мг/кг массы

тела/день, от приблизительно 0,01 до приблизительно 5000 мг/кг массы тела/день, от приблизительно 0,01 до приблизительно 3000 мг/кг массы тела/день, от приблизительно 0,01 до приблизительно 1000 мг/кг массы тела/день, от приблизительно 0,01 до приблизительно до 500 мг/кг массы тела/день, от приблизительно 0,01 до приблизительно 300 мг/кг массы тела/день, от приблизительно 0,01 до приблизительно 100 мг/кг массы тела/день.

[00129] При использовании "комбинированной терапии", эффективное количество может быть достигнуто путем использования первого количества соединения из таблицы I или его фармацевтически приемлемой соли и второго количества дополнительного подходящего терапевтического средства.

[00130] В одном варианте осуществления этого изобретения, каждое из соединения из таблицы I или его фармацевтически приемлемой соли и дополнительного терапевтического средства вводят в эффективном количестве (то есть каждое в количестве, которое было бы терапевтически эффективным в случае его введения по отдельности). В другом варианте осуществления, каждое из соединения из таблицы I или его фармацевтически приемлемой соли и дополнительного терапевтического средства вводят в количестве, которое по отдельности не обеспечивает терапевтического эффекта (в субтерапевтической дозе). В еще одном варианте осуществления, соединение из таблицы I может быть введено в эффективном количестве, а дополнительное терапевтическое средство вводят в субтерапевтической дозе. В еще одном варианте осуществления, соединение из таблицы I может быть введено в субтерапевтической дозе, а дополнительное терапевтическое средство, например, подходящее противораковое средство, вводят в эффективном количестве.

[00131] Используемые в изобретении термины "в комбинации" или "совместное введение" могут применяться взаимозаменяемо и означать использование более чем одного вида терапевтического средства (например, одно или более профилактических и/или терапевтических средств). Использование этих терминов не накладывает ограничений на порядок, в котором терапевтические средства (например, профилактические и/или терапевтические

средства) вводят субъекту.

[00132] Совместное введение включает в себя введение первого и второго количества соединений практически одновременно, например, в одной фармацевтической композиции, например, в форме капсулы или таблетки, содержащей первое и второе количество при постоянном соотношении, или в нескольких отдельных капсулах или таблетках для каждого средства. Кроме того, такое совместное введение также включает в себя последовательное применение каждого соединения в любом порядке. В случае, когда совместное введение предусматривает отдельное введение первого количества соединения формулы I и второго количества дополнительного терапевтического средства, соединения вводят с достаточно малым промежутком во времени для достижения требуемого терапевтического эффекта. Например, промежуток времени между каждым введением, который позволяет достичь требуемого терапевтического эффекта, может находиться в диапазоне от нескольких минут до нескольких часов и может быть определен с учетом свойств каждого из соединений, таких как активность, растворимость, биодоступность, период полувыведения в плазме и кинетический профиль. Например, соединение формулы I и второе терапевтическое средство могут быть введены в любом порядке с промежутком времени приблизительно 24 часа друг от друга, с промежутком времени приблизительно 16 часов друг от друга, с промежутком времени приблизительно 8 часов друг от друга, с промежутком времени приблизительно 4 часа друг от друга, с промежутком времени приблизительно 1 час друг от друга или с промежутком времени приблизительно 30 минут друг от друга.

[00133] Более того, в частности, первое терапевтическое средство (например, профилактическое или терапевтическое средство, такое как описанное в изобретении соединение) может быть введено субъекту раньше (например, раньше на 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель), одновременно или после (например, после через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24

часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель) введения второго терапевтического средства (например, профилактического или терапевтического средства, такого как противораковое средство).

[00134] Примеры других терапевтических средств, которые могут применяться в комбинации с соединением из таблицы I или с его фармацевтически приемлемой солью путем отдельного введения или введения в одной и той же фармацевтической композиции, включают, но этим не ограничивая:

(1) Эндотелиальный фактор релаксации (EDRF) или газообразный NO.

(2) Доноры NO, такие как нитрозотиол, нитрит, сиднонимин, NONOate ($R^1R^2N-(NO^-)-N=O$), N-нитрозамин, N-гидроксиламин, нитрозимин, нитротирозин, диоксид диазетина, оксатриазол-5-имин, оксим, гидроксиламин, N-гидроксигуанидин, гидроксимочевина или фуроксан. Некоторые примеры этих типов соединений включают глицерил тринитрат (называемый также GTN, нитроглицерином и тринитроглицерином), сложный эфир глицерина и азотной кислоты; нитропруссид натрия (SNP), в котором молекула оксида азота координирована с железом, образуя квадратный бипирамидальный комплекс; 3-морфолиносиднонимин (SIN-1), цвиттерионное соединение, образованное морфолином и сиднониминном; S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин (SNAP), N-ацетилированное производное аминокислоты с нитрозотоловой функциональной группой; диэтилентриамин/NO (DETA/NO), соединение оксида азота, ковалентно связанного с диэтилентриамином; м-нитроксиметилфениловый эфир ацетилсалициловой кислоты. Более конкретные примеры некоторых из этих классов доноров NO включают классические нитровазодилататоры, такие как органические сложные нитратные и нитритные эфиры, в том числе нитроглицерин, амилнитрит, динитрат изосорбида, изосорбид-5-мононитрат и никорандил; изосорбид (Dilatrate®-SR, Imdur®, Ismo®, Isordil®, Isordil®, Titradosе®, Monoket®), 3-морфолиносиднонимин; линсидомина хлоргидрат ("SIN-1"); S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин

("SNAP"); S-нитрозоглутатион (GSNO), нитропруссид натрия, S-нитрозоглутатиона моноэтиловый эфир (GSNO-эфир), 6-(2-гидрокси-1-метил-нитрозогидразино)-N-метил-1-гексанамин или диэтиламин NONOate.

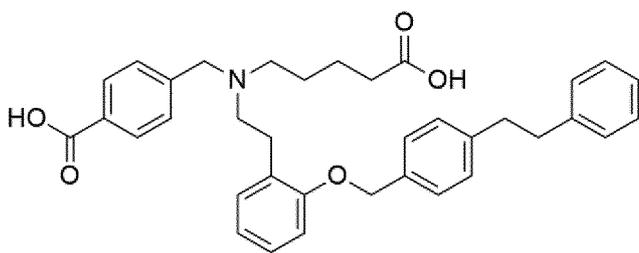
(3) Другие вещества, которые повышают концентрацию cGMP, такие как протопорфирин IX, арахидоновая кислота и производные фенилгидразина.

(4) Субстраты синтаз оксида азота: например, аналоги на основе n-гидроксигуанидина, такие как N[G]-гидрокси-L-аргинин (NOHA), 1-(3,4-диметокси-2-хлорбензилиденамино)-3-гидроксигуанидин и PR5 (1-(3,4-диметокси-2-хлорбензилиденамино)-3-гидроксигуанидин); производные L-аргинина (такие как гомо-Arg, гомо-NOHA, N-трет-бутилокси- и N-(3-метил-2-бутенил)окси-L-аргинин, канаванин, эпсилон гуанидинкапроевая кислота, агматин, гидроксил-агматин и L-тирозил-L-аргинин); N-алкил-N'-гидроксигуанидины (такие как N-циклопропил-N'-гидроксигуанидин и N-бутил-N'-гидроксигуанидин), N-арил-N'-гидроксигуанидины (такие как N-фенил-N'-гидроксигуанидин и пара-замещенные производные, которые несут заместители -F, -Cl, -метил, -OH, соответственно); производные гуанидина, такие как 3-(трифторметил)пропилгуанидин.

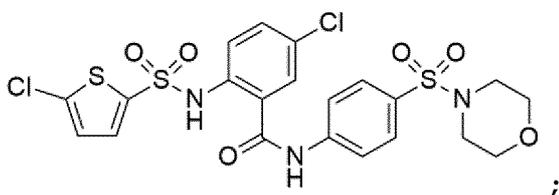
(5) Соединения, которые усиливают транскрипцию eNOS.

(6) NO-независимые гем-независимые активаторы sGC, включая, но этим не ограничивая:

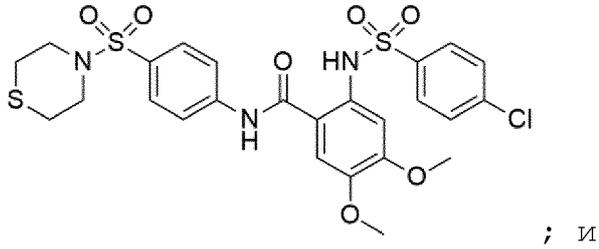
BAU 58-2667 (описанный в патентной публикации DE19943635)



HMR-1766 (натрия атацигуат, описанный в патентном документе WO2000002851)



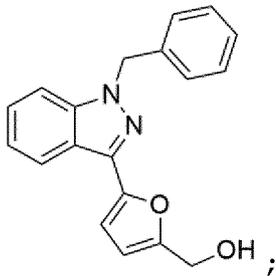
S 3448 (2-(4-хлорфенилсульфониламино)-4,5-диметокси-N-(4-(тиоморфолин-4-сульфонил)фенил)бензамид (описанный в патентных документах DE19830430 и WO2000002851)



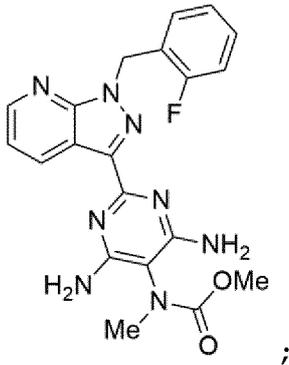
HMR-1069 (Sanofi-Aventis).

(7) Гем-зависимые, NO-независимые стимуляторы sGC, включающие, но этим не ограничивая:

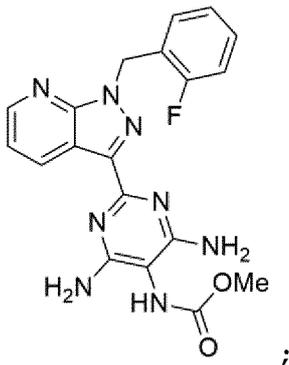
YC-1 (смотрите патентные документы EP667345 и DE19744026)



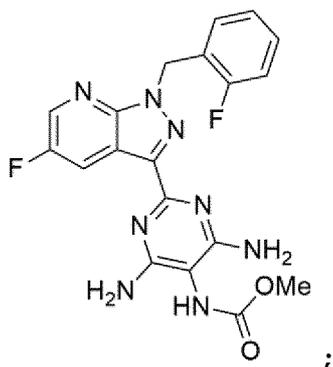
риоцигуат (BAY 63- 2521, Adempas®, описанный в патентном документе DE19834044)



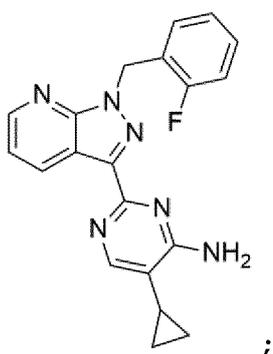
нелицигуат (BAY 60-4552, описанный в патентном документе WO 2003095451)



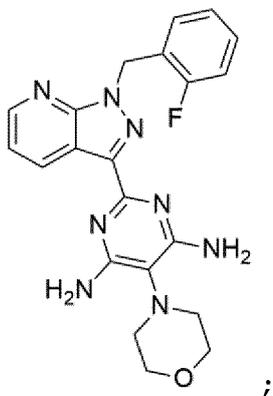
верицигуат (BAY 1021189)



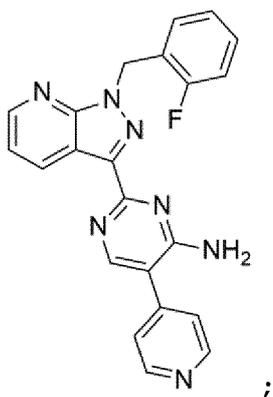
BAY 41-2272 (описанный в патентных документах DE19834047 и DE19942809)



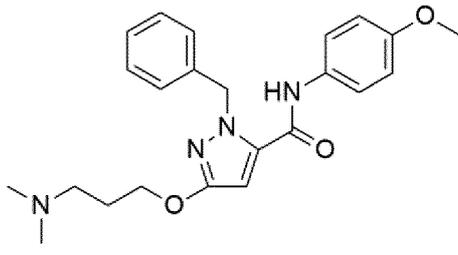
BAY 41-8543 (описанный в патентном документе DE19834044)



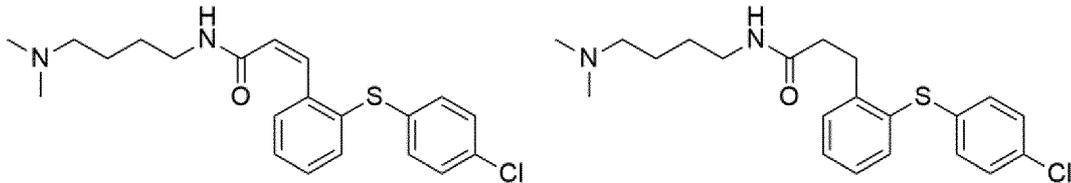
этрицигуат (описанный в патентном документе WO 2003086407)



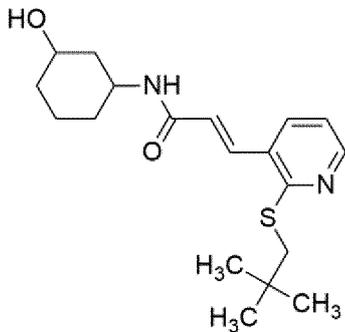
CFM-1571 (описанный в патентном документе WO2000027394)



A-344905, его акриламидный аналог A-350619 и аминопиримидиновый аналог A-778935



A350619; A-344905;



A-778935;

и другие стимуляторы sGC, описанные в одном из патентных документов US20090209556, US8455638, US20110118282 (WO2009032249), US20100292192, US20110201621, US7947664, US8053455 (WO2009094242), US20100216764, US8507512, (WO2010099054) US20110218202 (WO2010065275), US20130012511 (WO2011119518), US20130072492 (WO2011149921), US20130210798 (WO2012058132), и другие соединения, описанные в публикации Tetrahedron Letters (2003), 44(48): 8661-8663.

(8) Соединения, которые ингибируют деградацию cGMP, такие как:

ингибиторы PDE5, такие как, например, силденафил (Viagra®) и родственные препараты, такие как аванафил, лоденафил, мироденафил, силденафила цитрат (Revatio®), тадалафил (Cialis® или Adcirca®), варденафил (Levitra®) и уденафил; аллпростадил; дипиридамо́л и PF-00489791; и

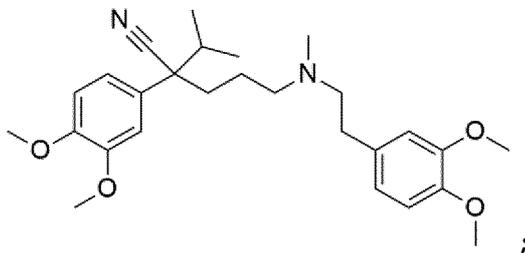
ингибиторы PDE9, такие как, например, PF-04447943, и

ингибиторы PDE10, такие как, например, PF-02545920 (PF-10).

(9) Блокаторы кальциевых каналов следующих типов:

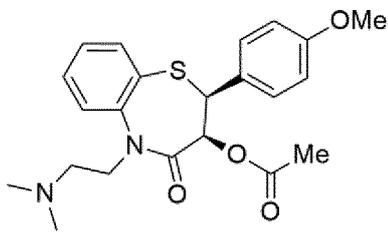
дигидропиридиновые блокаторы кальциевых каналов, такие как амлодипин (Norvasc®), аранидипин (Sapresta®), азелнидипин (Calblock®), барнидипин (НуроСа®), бенидипин (Coniel®), цилнидипин (Atelec®, Cinalong®, Siscard®), клеvidипин (Cleviprex®), дилтиазем, эфонидипин (Landel®), фелодипин (Plendil®), лацидипин (Motens®, Lacipil®), лерканидипин (Zanidip®), манидипин (Calslot®, Madipine®), никардипин (Cardene®, Carden SR®), нифедипин (Procardia®, Adalat®), нилвадипин (Nivadil®), нимодипин (Nimotop ®), нисолдипин (Baymycard ®, Sular ®, Syscor ®), нитрендипин (Cardif ®, Nitrepin®, Baylotensin®), пранидипин (Acalas®), исрадипин (Lomir®);

фенилалкиламинные блокаторы кальциевых каналов, такие как верапамил (Calan®, Isoptin®)



и галлопамил (Procorum®, D600);

бензотиазепины, такие как дилтиазем (Cardizem ®)



; и

неселективные ингибиторы кальциевых каналов, такие как мибефрадил, бепридил, флуспирилен и фендилин.

(10) Антагонисты рецептора эндотелина (ERA): например, двойной (ET_A и ET_B) антагонист рецептора эндотелина бозентан (Tracleer®), ситаксентан (Thelin®) или амбрисентан (Letairis®).

(11) Производные или аналоги простаглицина, такие как

простациклин (простагландин I₂), эпопростенол (синтетический простациклин, Flolan®), трепростинил (Remodulin®), илопрост (Ilomedin®), илопрост (Ventavis®); и находящиеся в процессе разработки пероральные и ингаляционные формы Remodulin®.

(12) Антигиперлипидемические средства, такие как следующие типы:

секвестранты желчных кислот, такие как холестирамин, колестипол, колесевелам или севеламер;

статины, такие как аторвастатин, симвастатин, ловастатин, флувастатин, питаваастатин, розувастатин и правастатин;

ингибиторы абсорбции холестерина, такие как эзетимиб;

другие гиполипидемические средства, такие как этиловый эфир эйкозапена, этиловые эфиры омега-3-кислоты, редукол;

производные фиброевой кислоты, такие как клофибрат, беафибрат, клинофибрат, гемфиброзил, ронифибрат, бинифибрат, фенофибрат, ципрофибрат, холина фенофибрат;

производные никотиновой кислоты, такие как аципимокс и ниацин;

комбинации статинов, ниацина и ингибирующих абсорбцию интестинального холестерина добавок (эзетимиб и другие) и фибратов; и

антиагрегантные средства, такие как клопидогрель бисульфат.

(13) Антикоагулянты, такие как следующие типы:

кумарины (антагонисты витамина К), такие как варфарин (Coumadin®), аценокумарол, фенпрокоумон и фениндион;

гепарин и производные, такие как низкомолекулярный гепарин, фондапаринукс и индрапаринукс;

прямые ингибиторы тромбина, такие как аргатробан, лепирудин, бивалирудин, дабигатран и ксимелатран (Exanta®); и

тканевые активаторы плазминогена, используемые для растворения тромбов и разблокирования артерий, такие как альтеплаза.

(14) Антиагрегантные средства, такие как, например, топидогрел, тиклопидин, дипиридамол и аспирин.

(15) Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ),

например, следующих типов:

сульфгидрилсодержащие средства, такие как каптоприл (Capoten®) и зофеноприл;

дикарбоксилатсодержащие средства, такие как эналаприл (Vasotec/Renitec®), рамиприл (Altace®/Tritace®/Ramace®/Ramiwin®), хинаприл (Accupril®), периндоприл (Coversyl®/Aceon®), лизиноприл (Lisodur®/Lopril®/Novatec®/Prinivil®/Zestril®) и беназеприл (Lotensin®);

фосфонатсодержащие средства, такие как фозиноприл;

природные ингибиторы АСЕ, такие как казокинины и лактокинины, которые являются продуктами распада казеина и молочной сыворотки, возникающие естественным путем после попадания в организм молочных продуктов, особенно, кисломолочного продукта;

лактотрипептиды Val-Pro-Pro и Ile-Pro-Pro, продуцируемые пробиотиком *Lactobacillus helveticus* и образованные из казеина, также обладающие АСЕ-ингибирующим и гипотензивным действием;

другие ингибиторы АСЕ, такие как алацеприл, делаприл, цилазаприл, имидаприл, трандолаприл, темокаприл, моэксиприл и пираприл.

(16) Дополнительная кислородная терапия.

(17) Бета-блокаторы, такие как следующие типы:

Неселективные средства, такие как алпренолол, буциндолол, картеолол, карведилол, лабеталол, надолол, пенбутолол, пиндолол, окспренолол, ацебутолол, соталол, мепиндолол, целипролол, аротинолол, тертатолол, амосулалол, нипрадилол, пропранолол и тимолол;

β_1 -Селективные средства, такие как цебутолол, атенолол, бетаксоллол, бисопролол, целипролол, добутамина гидрохлорид, ирсогладин малеат, карведилол, талинолол, эсмолол, метопролол и небиволол; и

β_2 -Селективные средства, такие как бутаксамин.

(18) Антиаритмические средства, такие как следующие типы:

тип I (блокаторы натриевых каналов), такие как хинидин,

лидокаин, фенитоин, пропафенон;

тип III (блокаторы калиевых каналов), такие как амиодарон, дофетилид и соталол; и

тип V, такие как аденозин и дигоксин.

(19) Диуретики, такие как тиазидные диуретики, например, хлортиазид, хлорталидон и гидрохлоротиазид, бендрофлуметиазид, циклопентиазид, метиклотиазид, политиазид, хинетазон, ксипамид, металозон, индапамид, циклетанин; петлевые диуретики, такие как фуросемид и торесамид; калийсберегающие диуретики, такие как амилорид, спиронолактон, канреноат калия, эплеренон и триамтерен; комбинации этих средств; другие диуретики, такие как ацетазоламид и карперитид.

(20) Вазодилататоры прямого действия, такие как гидралазина гидрохлорид, диазоксид, нитропруссид натрия, кадралазин; другие вазодилататоры, такие как изосорбида динитрат и изосорбид-5-мононитрат.

(21) Экзогенные вазодилататоры, такие как Adenocard® и альфа блокаторы.

(22) Антагонисты альфа-1-адренорецептора, такие как празозин, индорамин, урапидил, буназозин, теразозин и доксазозин; атриальный натрийуретический пептид (ANP), этанол, гистамин-индукторы, тетрагидроканнабинол (THC) и папаверин.

(23) Бронходилататоры следующих типов:

β_2 агонисты короткого действия, такие как альбутамол или альбутерол (Ventolin®) и тербуталин; β_2 агонисты длительного действия (LABAs), такие как салметерол и формотерол; антихолинергические средства, такие как пратропий и тиотропий; и теофиллин, бронходилататор и ингибитор фосфодиэстеразы.

(24) Кортикостероиды, такие как беклометазон, метилпреднизолон, бетаметазон, преднизон, преднизолон, триамцинолон, дексаметазон, флутиказон, флунизолид, гидрокортизон, и аналоги кортикостероида, такие как будесонид.

(25) Биологически-активные добавки к пище, такие как, например, омега-3 масла; фолиевая кислота, ниацин, цинк, медь, корень корейского красного женьшеня, гинкго, сосновая кора,

Tribulus terrestris (якорцы стелющиеся), аргинин, *Avena sativa* (овес обыкновенный), горянка крупноцветковая, корень маки перуанской, муира-пуама, пальма сереноа и пыльца шведских цветов; витамин С, витамин Е, витамин К₂; добавки с тестостероном, трансдермальный пластырь с тестостероном; зораксел, налтрексон, бремеланотид и меланотан II.

(26) Антагонисты рецептора PGD₂.

(27) Иммунодепрессанты, такие как циклоспорин (циклоспорин А, Sandimmune®, Neoral®), такролимус (FK-506, Prograf®), рапамицин (Sirolimus®, Rapamune®) и другие иммунодепрессанты типа FK-506, микофенолат, например, микофенолата мофетил (CellCept®).

(28) Нестероидные противоастматические средства, такие как β₂-агонисты, например, тербуталин, метапротеренол, фенотерол, изоэтарин, альбутерол, сальметерол, битолтерол и пирбутерол; комбинации β₂-агонист-кортикостероид, такие как сальметерол-флутиказон (Advair®), формотерол-будесонид (Symbicort®), теofilлин, кромолин, кромолин-натрий, недокромил, атропин, ипратропий, бромид ипратропия, ингибиторы биосинтеза лейкотриенов (зилеутон, BAY1005).

(29) Нестероидные противовоспалительные средства (NSAID), такие как производные пропионовой кислоты, например, алминопрофен, беноксапрофен, буклоксовая кислота, карпрофен, фенбуфен, фенопрофен, флупрофен, флурбипрофен, ибупрофен, индопрофен, кетопрофен, миропрофен, напроксен, оксапрозин, пирпрофен, пранопрофен, супрофен, тиапрофеновая кислота и тиоксапрофен; производные уксусной кислоты, такие как, индометацин, ацетаметацин, альклофенак, клиданак, диклофенак, фенклофенак, фенклозовая кислота, фентиазак, фуурофенак, ибуфенак, изоксепак, окспинак, сулиндак, тиопинак, толметин, зидометацин и зомепирак; производные фенамовой кислоты, такие как флуфенамовая кислота, меклофенамовая кислота, мефенамовая кислота, нифлумовая кислота и толфенамовая кислота; производные бифенилкарбоновой кислоты, такие как дифлунизал и флуфенизал; оксикамы, такие как изоксикам, пироксикам, судоксикам и

теноксикам; салицилаты, такие как ацетилсалициловая кислота и сульфасалазин; и пиразолоны, такие как апазон, бензпиперилон, фепразон, мофебутазон, оксифенбутазон и фенилбутазон.

30) Ингибиторы циклооксигеназы-2 (COX-2), такие как целекоксиб (Celebrex®), рофекоксиб (Vioxx®), валдекоксиб, эторикоксиб, парекоксиб и лумиракоксиб; опиоидные анальгетики, такие как кодеин, фентанил, гидроморфон, леворфанол, меперидин, метадон, морфин, оксикодон, оксиморфон, пропоксифен, бупренорфин, буторфанол, дезоцин, нальбуфин и пентазоцин.

(31) Противодиабетические средства, такие как инсулин и миметики инсулина; сульфонилмочевины, такие как глибурид, глибенкламид, глипизид, гликлазид, гликвидон, глимепирид, меглинатид, толбутамид, хлорпропамид, ацетогексамид и олазамид; бигуаниды, такие как метформин (Glucophage®); ингибиторы α -глюкозидазы, такие как акарбоза, эпалрестат, воглибоза, миглитол; соединения тиазолидинона, такие как росиглитазон (Avandia®), троглитазон (Rezulin®), циглитазон, пиоглитазон (Actos®) и эглитазон; усилители чувствительности рецепторов к инсулину, такие как пиоглитазон и розиглитазон; стимуляторы секреции инсулина, такие как репаглинид, натеглинид и митиглинид; миметики инкретина, такие как эксанатид и лираглутид; аналоги амилина, такие как прамлинтид; средства для снижения содержания глюкозы в крови, такие как пиколинат хрома, необязательно, в комбинации с биотином; ингибиторы дипептидилпептидазы IV, такие как ситаглиптин, вилдаглиптин, саксаглиптин, алоглиптин и линаглиптин.

(32) Средства для повышения содержания холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL) такие как анацетрапиб и далцетрапиб.

(33) Лекарственные средства против ожирения, такие как метамфетамина гидрохлорид, амфепрамона гидрохлорид (Tenuate®), фентермин (Ionamin®), бензфетамина гидрохлорид (Didrex®), фендиметразин тартрат (Bontril®, Prelu-2®, Plegine®), mazindol (Sanorex®), орлистат (Xenical®), сибутрамина гидрохлорида

моногидрат (Meridia®), Reductil®), римонабант (Acomplia®), амфепрамон, пиколинат хрома; комбинация, такая как фентермин/топирамат, бупропион/налтрексон, сибутрамин/метформин, бупропион SR/зонисамид SR, салметерол, ксинафоат/флутиказона пропионат; лоркасерина гидрохлорид, фентермин/топирамат, цетилистат, эксенатид, лираглутид, метформина гидрохлорид, сибутрамин/метформин, бупропион SR/зонисамид SR, CORT-108297, канаглифлозин, пиколинат хрома, GSK-1521498, LY-377604, метрелептин, обинепитид, P-57AS3, PSN-821, салметерол ксинафоат/флутиказона пропионат, вольфрамат натрия, соматропин (рекомбинантный), тезаморелин, тезофензин, велнеперит, зонисамид, белораниба полуоксалат, инсулинотропин, ресвератрол, собетиром, терагидроканнабиварин и бета-лапахон.

(34) Блокаторы ангиотензиновых рецепторов, такие как лозартан, валсартан, кандесартан, цилексетил, эпросаран, ирбесартан, телмисартан, олмесартран, медоксомил, азилсартан и медоксомил.

(35) Ингибиторы ренина, такие как алискирен полуфумарат.

(36) Агонисты альфа-2-адренорецептора центрального действия, такие как метилдопа, клонидин и гуанфацин.

(37) Блокаторы адренергических нейронов, такие как гуанетидин и гуанадрел.

(38) Агонисты имидазолиновых I-1 рецепторов, такие как рименидина дигидрофосфат и моксицидина гидрохлорида гидрат.

(39) Антагонисты альдостерона, такие как спиронолактон и эплеренон.

(40) Активаторы калиевых каналов, такие как пинацидил.

(41) Агонисты допамина D1, такие как фенолдопама мезилат; другие агонисты допамина, такие как ибопамин, допексамин и докарпамин.

(42) Антагонисты 5-HT2, такие кетансерин.

(43) Антагонисты вазопрессина, такие как толваптан.

(44) Сенсibilизаторы кальциевых каналов, такие как левосимендан, или активаторы, такие как никорандил.

(45) Ингибиторы PDE-3, такие как амринон, милринон,

эноксимон, веснаринон, пимобендан и олпринон.

(46) Активаторы аденилциклазы, такие как колфорсин даропата гидрохлорид.

(47) Средства с положительным инотропным действием, такие как дигоксин и метилдигоксин; метаболические кардиотонические средства, такие как убидекаренон; натрийуретические пептиды головного мозга, такие как несиритид.

(48) Лекарственные средства, используемые для лечения эректильной дисфункции, такие как алпростадил, авиптадил и фентоламина мезилат.

(49) Лекарственные средства, используемые для лечения ожирения, включающие, но этим не ограничивая, метамфетамина гидрохлорид (Desoxyn®), амфепрамона гидрохлорид (Tenuate®), фентермин (Ionamin®), бензфетамина гидрохлорид (Didrex®), фендиметразина гидрохлорид (Bontril®, Prelu-2®, Plegine®), мазиндол (Sanorex®) и орлистат (Xenical®).

(50) Лекарственные средства, используемые для лечения болезни Альцгеймера и деменций, такие как следующие типы:

ингибиторы ацетилхолинстеразы, включающие галантамин (Razadyne®), ривастигмин (Exelon®), донепезил (Aricept®) и такрин (Cognex®);

антагонисты NMDA рецептора, такие как мемантин (Namenda®);

и

ингибиторы оксидоредуктазы, такие как идебенон.

(51) Психиатрические лекарственные препараты, такие как следующие типы:

зипрасидон (Geodon™), рисперидон (Risperdal™), оланзапин (Zyprexa™), вальпроат;

антагонисты дофаминового рецептора D4, такие как клозапин;

антагонисты дофаминового рецептора D2, такие как немонаприд;

смешанные антагонисты дофаминового рецептора D1/D2, такие как зуклопентиксол;

модуляторы GABA A рецептора, такие как карбамазепин;

ингибиторы натриевых каналов, такие как ламотригин;
ингибиторы моноаминоксидазы, такие как моклобемид и
инделоксазин;

примавансерин, пероспирон; и
ингибиторы PDE4, такие как ролумиласт.

(52) Лекарственные средства, используемые для лечения
двигательных расстройств или симптомов, такие как следующие
типы:

ингибиторы катехол-О-метилтрансферазы, такие как энтакапон;
ингибиторы моноаминоксидазы В, такие как селегилин;
модуляторы дофаминавого рецептора, такие как леводопа;
агонисты дофаминавого рецептора D3, такие как прамипексол;
ингибиторы декарбоксилазы, такие как карбидопа;
агонисты других дофаминовых рецепторов, такие как перголид,
ропинирол, каберголин;

ритигонид, истрадефиллин, талипексол; зонисамид и
сафинамид; и

ингибиторы синаптического везикулярного аминного
переносчика, такие как тетрабеназин.

(53) Лекарственные средства, используемые для лечения
расстройств настроения или аффективных расстройств, или
обсессивно-компульсивное расстройства личности (OCD), такие как
следующие типы:

трициклические антидепрессанты, такие как амитриптилин
(Elavil®), десипрамин (Norpramin®), имипрамин (Tofranil®),
амоксапин (Asendin®), нортриптилин и кломипрамин;

селективные ингибиторы обратного захвата серотонина
(SSRIs), такие как пароксетин (Paxil®), флуоксетин (Prozac®),
сертралин (Zoloft®) и цитралопрам (Celexa®);

доксепин (Sinequan®), тразодон (Desyrel®) и агомелатин;

селективные ингибиторы обратного захвата норэпинефрина
(SNRIs), такие как венлафаксин, ребоксетин и атомоксетин;
дофаминергические антидепрессанты, такие как бупропион и
аминптин.

(54) Лекарственные средства для усиления синаптической

пластичности, такие как следующие типы:

антагонисты никотинового рецептора, такие как мекамиламин;
и

смешанные агонисты 5-НТ, дофаминовых и норэпинефриновых рецепторов, такие лурасидон.

(55) Лекарственные средства, используемые для лечения синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (ADHD), такие как амфетамин; модуляторы 5-НТ рецептора, такие как вортиоксетин, и агонисты альфа-2 адренорецептора, такие как клонидин.

(56) Ингибиторы нейтральной эндопептидазы (NEP), такие как сакубитрил, омапатрилат; и

(57) Метиленовый голубой (МВ).

Лекарственные наборы

[00135] Описанные в изобретении соединения и фармацевтические композиции могут входить в лекарственный набор. Этот лекарственный набор может включать разовую дозу или многоразовые дозы двух или более лекарственных средств, каждое из которых расфасовано или приготовлено по отдельности, или разовую дозу или многоразовые дозы двух или более лекарственных средств, которые расфасованы или приготовлены в комбинированной форме. Соответственно, одно или более лекарственных средств могут находиться в первом контейнере, и лекарственный набор может необязательно включать одно или более лекарственных средств во втором контейнере. Контейнер или контейнеры помещают в упаковку, и упаковка может необязательно включать инструкции по применению или по дозированию. Лекарственный набор может включать дополнительные компоненты, такие как шприцы или другие устройства для введения лекарственных средств, а также разбавители или другие средства для приготовления лекарственной формы. Соответственно, лекарственные наборы могут включать: а) фармацевтическую композицию, содержащую описанное в изобретении соединение и фармацевтически приемлемые носитель, вспомогательное вещество или разбавитель, и б) контейнер или упаковку. Лекарственные наборы могут необязательно включать инструкции, описывающие способ применения фармацевтической композиции в одном или более из описанных в изобретении способов

(например, для предупреждения или лечения одного или более из описанных в изобретении заболеваний и расстройств). Лекарственный набор может необязательно включать вторую фармацевтическую композицию, содержащую одно или более дополнительных лекарственных средств, описанных в изобретении для использования при комбинированной терапии, фармацевтически приемлемый носитель, лекарственную среду или разбавитель. Фармацевтическая композиция, включающая описанное в изобретении соединение, и вторая фармацевтическая композиция, содержащиеся в наборе, могут быть необязательно объединены в одну и ту же фармацевтическую композицию.

[00136] Лекарственный набор включает контейнер или упаковку, в которых содержатся фармацевтические композиции, а также может включать разделенные на части контейнеры, такие как разделенный на части флакон или разделенная на части упаковка из фольги. Контейнер может представлять собой, например, бумажную или картонную упаковку, стеклянный или пластиковый флакон или сосуд, повторно герметизируемую упаковку (например, для того чтобы "заполнять" таблетками другой контейнер) или блистерную упаковку с индивидуальными дозами для выдавливания из упаковки в соответствии со схемой лечения. При реализации на рынке лекарственной формы с разовой дозой, целесообразно, чтобы одна упаковка содержала более чем один контейнер. Например, таблетки могут содержаться во флаконе, который, в свою очередь, содержится в коробке.

[00137] Примером лекарственного набора является так называемая блистерная упаковка. Блистерные упаковки хорошо известны специалистам по производству упаковок, и они широко используются для упаковки лекарственных форм с разовой дозой (таблеток, капсул и других подобных форм). Блистерные упаковки обычно состоят из листа относительно жесткого материала, покрытого фольгой из преимущественно прозрачного пластичного материала. В процессе упаковки, в пластичной фольге формируют углубления. Углубления имеют размер и форму, присущую отдельным таблеткам или капсулам, подвергаемым упаковке, или могут иметь размер и форму для размещения множества таблеток и/или капсул,

подвергаемым упаковке. Затем таблетки или капсулы соответствующим образом помещают в углубления, и на пластиковой фольге с противоположной углублениям стороны герметически прикрепляют лист относительно жесткого материала. В результате, таблетки или капсулы герметически упаковываются в углублениях между пластичной фольгой и листом, каждая в отдельности или все вместе, по желанию. Предпочтительно, чтобы прочность листа была таковой, что таблетки или капсулы можно было извлекать из блистерной упаковки путем надавливания пальцем руки на углубления, в результате чего образуется отверстие в листе в месте углубления. Таблетка или капсула могут быть извлечены через указанное отверстие.

[00138] Может быть желательным вложение в лекарственный набор письменной памятки, содержащей информацию и/или инструкции для врача, фармацевта или субъекта относительно того, когда применять препарат. "Суточная доза" может содержаться в одной таблетке или капсуле, или в нескольких таблетках или капсулах, которые должны быть приняты в данный день. В случае, когда набор содержит отдельные композиции, суточная доза одной или более композиций набора может состоять из одной таблетки или капсулы, в то время как суточная доза другой или более композиций набора может состоять из нескольких таблеток или капсул. Лекарственный набор может иметь форму дозатора, предназначенного для выдачи каждой в отдельности суточных доз в порядке их предполагаемого применения. Дозатор может быть оснащен памяткой, для того чтобы дополнительно облегчить пациенту соблюдение режима лечения. Примером такой памятки является механический счетчик, который указывает количество суточных доз, которые были выданы. Другим примером такой памятки является микросхема памяти с питанием от аккумуляторной батареи в сочетании с жидкокристаллическим считывающим устройством или звуковым сигналом напоминания, который, например, считывает дату принятия последней суточной дозы и/или напоминает, когда следует принять очередную дозу.

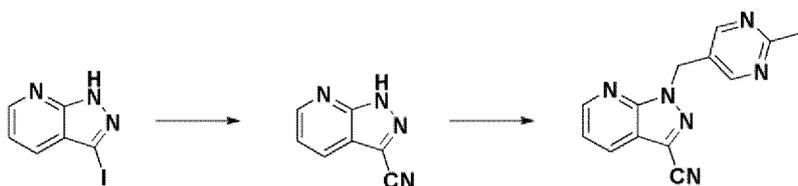
ПРИМЕРЫ

[00139] Содержание всех цитируемых в примерах публикаций включено в настоящее изобретение путем ссылки на них. Все

используемые в изобретении сокращения, символы и обозначения соответствуют тем, которые применяются в современной научной литературе. Смотрите, например, руководство Janet S. Dodd, ed., *The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors*, 2nd Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997, содержание которого включено в настоящее изобретение путем ссылки на него. Описанные в изобретении соединения синтезировали в соответствии с публикацией Roberts et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21, 6515–6518 (2011).

Пример 1. Синтезы соединений

Промежуточное соединение 1. 1-((2-Метилпиримидин-5-ил)метил)-1H-пиразоло[3,4-b]пиридин-3-карбонитрил:



Промежуточное соединение 1

Названное соединение синтезировали в 2 стадии.

[00140] Стадия 1. Синтез 1H-пиразоло[3,4-b]пиридин-3-карбонитрила

Цианид цинка (II) (1,0 г, 8,6 ммоль) и 2-йод-1H-пиразоло[3,4-b]пиридин (1,4 г, 5,7 ммоль) смешивали в DMF (40 мл) при температуре окружающей среды, и через раствор барботировали азот в течение 5 минут. Добавляли комплекс [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия (II) с дихлорметаном ($\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$) (0,33 г, 0,40 ммоль), и раствор дегазировали в течение еще 10 минут. Реакцию проводили при повышенном давлении азота и нагревали при 130°C в течение 48 часов. Смесь охлаждали до температуры окружающей среды, фильтровали, и остаток промывали этилацетатом. Объединенные фильтраты концентрировали под вакуумом на целите® и очищали колоночной хроматографией (gradient 20–70% EtOAc/гексаны) с получением названного соединения в виде светло-желтого твердого вещества (0,51 г, 62% выход).

^1H ЯМР (500 МГц, метанол- d_4) δ (ppm) 8,67 (дд, 1 Н), 8,34 (дд, 1 Н), 7,44 (дд, 1 Н).

[00141] Стадия 2. Синтез 1-((2-метилпиримидин-5-ил)метил)-1Н-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-3-карбонитрила

Раствор трифенилфосфина (0,19 г, 0,72 ммоль) в DCM/THF (1:1, 4,0 мл) охлаждали до 0°C и добавляли по каплям диизопропилазодикарбоксилат (DIAD) (0,14 мл, 0,72 ммоль) в течение 2 минут. Через 30 минут, реакционную смесь добавляли к раствору (2-метилпиримидин-5-ил)метанола (0,09 г, 0,72 ммоль) и 1Н-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-3-карбонитрила (0,08 г, 0,56 ммоль) в THF (4,0 мл) при 0°C. Полученную смесь подогревали до температуры окружающей среды в течение 3 часов. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (100 мл) и промывали водой (3×10 мл) и солевым раствором. Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали под вакуумом. Очистка колоночной хроматографией (градиент 25-100% EtOAc/гексаны) давала названное соединение в виде белого твердого вещества (89 мг, 64% выход).

^1H ЯМР (500 МГц, хлороформ- d) δ (ppm) 8,81 (с, 2 Н), 8,72 (дд, 1 Н), 8,23 (дд, 1 Н), 7,41 (дд, 1 Н), 5,77 (с, 2 Н), 2,74 (с, 3 Н).

[00142] Приведенные ниже родственные промежуточные соединения или производились промышленностью, или были синтезированы в соответствии с описанными в литературе методами (Roberts, L. R. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 21, 6515-6518).

1-(2-Фторбензил)-1Н-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-3-карбонитрил;

8-(2-Фторбензил)имидазо[1,5-*a*]пиримидин-6-карбонитрил;

7-(2-Фторбензил)имидазо[1,5-*b*]пиридазин-5-карбонитрил;

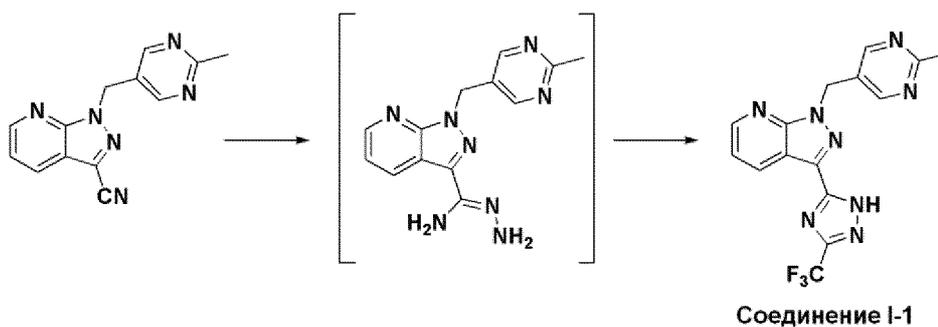
1-((2-Метилпиримидин-5-ил)метил)имидазо[1,5-*a*]пиридин-3-карбонитрил;

1-(Пиримидин-5-илметил)имидазо[1,5-*a*]пиридин-3-карбонитрил;

и

1-(2-Фторбензил)имидазо[1,5-*a*]пиридин-3-карбонитрил.

Соединение I-1



[00143] Это соединение синтезировали в соответствии с общей методикой А.

[00144] К раствору 1-((2-метилпиримидин-5-ил)метил)-1H-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-3-карбонитрила (промежуточного соединения 1, 85 мг, 0,34 ммоль) в абсолютном метаноле (3,0 мл) (примечание: безводный метанол может быть также использован в качестве растворителя) добавляли безводный гидразин (0,10 г, 3,2 ммоль). После перемешивания при температуре окружающей среды в течение 3 дней и затем при 60°C в течение 1 дня, наблюдали полное израсходование исходного материала. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, и остаток сушили под вакуумом в течение ночи. Остаток переносили в DCM (5,0 мл) и добавляли по каплям 2,2,2-трифторуксусный ангидрид (0,05 мл, 0,34 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды до полного расходования промежуточного соединения амидразона. Добавляли толуол (5,0 мл), затем добавляли по каплям фосфорилтрихлорид (0,10 мл, 1,0 ммоль).

[00145] Полученную смесь нагревали при 65°C в течение 30 минут в герметизированной пробирке. Реакционную смесь выливали в EtOAc (100 мл) и промывали 10% водным раствором NaHCO₃ (2×10 мл) и соевым раствором (10 мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Очистка колоночной хроматографией (градиент 30-100% EtOAc/гексаны) давала названное соединение в виде белого твердого вещества (74 мг, 60% выход).

¹H ЯМР (500 МГц, хлороформ-*d*) δ (ppm) 14,5 (уш.с, 1 H), 9,03 (с, 2 H), 8,83 (дд, 1 H), 8,72 (дд, 1 H), 7,40 (дд, 1 H), 5,84 (с, 2 H), 2,87 (с, 3 H).

Соединение I-2

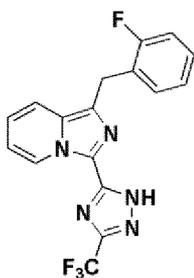


Соединение I-2

[00146] Синтезировали в соответствии с общей методикой А в виде белого твердого вещества (54 мг, 40% выход). Условия реакции (такие как соотношение реагентов, температура и время проведения реакции) в случае необходимости модифицировали.

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm) 15,7 (уш.с, 1 Н), 8,76 (дд, 1 Н), 8,67 (дд, 1 Н), 7,50 (дд, 1 Н), 7,37 (м, 1 Н), 7,24 (м, 1 Н), 7,21 (м, 1 Н), 7,16 (каж. т, 1 Н), 5,90 (с, 2 Н).

Соединение I-3

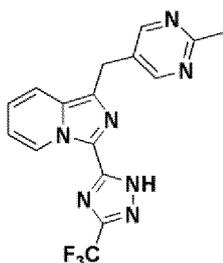


Соединение I-3

[00147] Синтезировали в соответствии с общей методикой А в виде белого твердого вещества (85 мг, 58% выход). Условия реакции (такие как соотношение реагентов, температура и время проведения реакции) в случае необходимости модифицировали.

^1H ЯМР (500 МГц, метанол- d_4) δ (ppm) 9,29–9,35 (м, 1 Н), 7,63–7,69 (м, 1 Н), 7,29–7,35 (м, 1 Н), 7,19–7,26 (м, 1 Н), 6,92–7,11 (м, 4 Н), 4,35 (д, 2 Н).

Соединение I-4

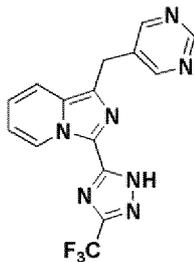


Соединение I-4

[00148] Синтезировали в соответствии с общей методикой А в виде белого твердого вещества (34 мг, 58% выход). Условия реакции (такие как соотношение реагентов, температура и время проведения реакции) в случае необходимости модифицировали.

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm) 15,6 (уш.с, 1 Н), 9,22 (д, 1 Н), 8,67 (с, 2 Н), 7,96 (д, 1 Н), 7,10 (м, 2 Н), 4,33 (с, 2 Н), 2,56 (с, 3 Н).

Соединение I-5



Соединение I-5

[00149] Синтезировали в соответствии с методами, описанными в литературе (Roberts, L. R. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 21, 6515-6518) в виде желтовато-коричневого твердого вещества (800 мг). Условия реакции (такие как соотношение реагентов, температура и время проведения реакции) в случае необходимости модифицировали.

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm) 15,60 (с, 1 Н), 9,22 (д, 1 Н), 9,05 (с, 1 Н), 8,80 (с, 2 Н) 7,99 (д, 1 Н), 7,08-7,14 (м, 2 Н), 4,40 (с, 2 Н).

Соединение I-6

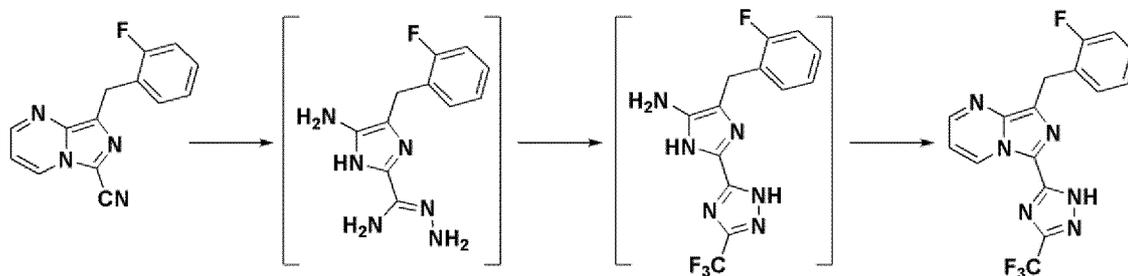


Соединение I-6

[00150] Синтезировали в соответствии с общей методикой А в виде желтого твердого вещества (12 мг, 24% выход). Условия реакции (такие как соотношение реагентов, температура и время проведения реакции) в случае необходимости модифицировали.

^1H ЯМР (500 МГц, метанол- d_4) δ (ppm) 8,58 (дд, 1 H), 8,36 (дд, 1 H), 7,25-7,33 (м, 2 H), 7,07-7,13 (м, 2 H), 6,99 (дд, 1 H), 4,58 (с, 2 H).

Соединение I-7



Соединение I-7

[00151] К раствору 8-(2-фторбензил)имидазо[1,5-а]-пиримидин-6-карбонитрила (110 мг, 0,44 ммоль) в безводном метаноле (3,0 мл) добавляли безводный гидразин (0,08 мл, 2,7 ммоль). После перемешивания при температуре окружающей среды в течение 46 часов, наблюдали полное исчезновение исходного материала. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, и остаток сушили под вакуумом в течение ночи. Остаток (5-амино-4-(2-фторбензил)-1-имидазол-2-карбоксимидгидразид) переносили в THF (3,0 мл) и добавляли по каплям 2,2,2-трифторуксусный ангидрид (0,07 мл, 0,54 ммоль). Добавляли дополнительное количество 2,2,2-трифторуксусного ангидрида (0,05 мл, 0,36 ммоль) для достижения полного расходования промежуточного соединения амидразона. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, и остаток растворяли в DCM/толуол (1:1 соотношение, 6,0 мл), затем добавляли по каплям фосфорилтрихлорид (0,13 мл, 1,3 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 75°C в течение ночи в герметизированной пробирке. После охлаждения до температуры окружающей среды, добавляли водный раствор NaOH (1,0 N, 15 мл) и DCM (20 мл). После перемешивания в течение 3 дней, полученную смесь нейтрализовывали до pH ~6-7 с помощью 6,0 N раствора HCl и экстрагировали смесью DCM/изопропанол (5:1 соотношение, 4×30 мл). Объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением коричневого масла. Остаток (4-(2-фторбензил)-2-(3-(трифторметил)-1H-1,2,4-триазол-5-ил)-1H-

имидазол-5-амин) переносили в абсолютный этанол (4,0 мл) и обрабатывали с помощью 1,1,3,3-тетраметоксипропана (0,37 мл, 2,2 ммоль). После нагревания в течение 5 часов в микроволновой печи, добавляли дополнительное количество 1,1,3,3-тетраметоксипропана (0,18 мл, 1,1 ммоль), и смесь нагревали в микроволновой печи в течение еще 6 часов. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, и остаток очищали методом препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой (градиент 30-80% ацетонитрил/вода с добавкой 0,1% муравьиной кислоты) с получением названного соединения (6,4 мг, 4,0% выход) в виде желтовато-коричневого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm) 15,8 (уш.с, 1 H), 9,42 (дд, 1 H), 8,45 (дд, 1 H), 7,31-7,23 (м, 2 H), 7,19-7,14 (м, 2 H), 7,09 (каж. т, 1 H), 4,38 (с, 2 H).

[00152] Синтезы соединений I-8 - I-16 описаны в публикации Roberts, L. R. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 21, 6515-6518.

Пример 2: Определение биологической активности методом клеточного анализа cGMP GloSensor в 384-луночном формате

[00153] Для оценки активности испытуемых соединений использовали человеческие эмбриональные клетки почек (HEK293), экспрессирующие биосенсор GloSensor™ 40F cGMP (Part No: CS182801, Promega). Люминесцентные биосенсоры (сконструированная люцифераза), которые вводили в эти клетки, детектируют cGMP, образованный соединениями, стимулирующими фермент sGC, и излучают люминесценцию.

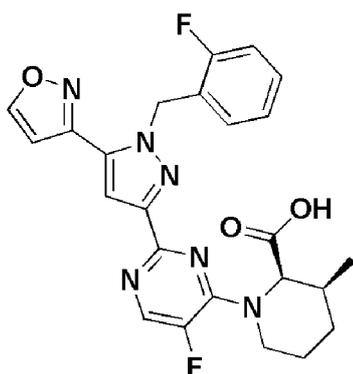
[00154] cGMP GloSensor клетки хранили в среде Игла, модифицированной по способу Дульбекко (DMEM), дополненной фетальной бычьей сывороткой (FBS, конечная концентрация 10%) и гидромицином (200 мкг/мл). За сутки до проведения исследования, клетки высевали в DMEM с 10% FBS в объеме 50 мкл при плотности $1,5 \times 10^4$ клеток/лунка в 384-луночном планшете с плоским белым дном с нанесенным слоем поли-D-лизина (Corning Cat No 35661). Клетки инкубировали в течение ночи при 37°C в увлажненной камере с 5% CO_2 . На следующий день, среду удаляли, и клетки заменяли на 40 мкг/лунка GloSensor™, 2 mM (Promega Cat No E1291). Клетки

обрабатывали в течение 90 минут при 25°C для приведения субстрата в клетках в равновесное состояние. Испытуемые соединения и диэтиленetriамин NONOate (DETA-NONOate или DETA-NO) разбавляли до 3 мМ (20x) в бессывороточной CO₂ независимой среде и последовательно разбавляли при 4-кратных разбавлениях для получения 5X дозовой кривой, из которой 10 мкл добавляли в лунки (концентрация x мкМ для раствора испытуемого соединения и концентрация 10 мкМ для раствора DETA-NONOate; где x представляет собой одну из следующих конечных концентраций: 30 мкМ, 7,5 мкМ, 1,9 мкМ, 469 нМ, 117 нМ, 29,3 нМ, 7,3 нМ, 1,83 нМ, 0,46 нМ, 0,11 нМ, 0,03 нМ)

[00155] В случае проведения кинетических исследований, люминесценции измеряли незамедлительно в течение 0,2 секунд на лунку с помощью планшет-ридера Envision (Perkin Elmer). Для итогового скрининга зависимости активности лекарственного средства от структуры (SAR), данные собирали после 55 минут инкубации при комнатной температуре.

[00156] Данные нормировали относительно контрольного образца с высокой активностью, используя следующее уравнение: $100 \cdot (\text{образец} - \text{контрольный образец с низкой активностью}) / (\text{контрольный образец с высокой активностью} - \text{контрольный образец с низкой активностью})$, где контрольный образец с низкой активностью представляет собой среднее значения для 16 образцов, обработанных с помощью 1% DMSO, и контрольный образец с высокой активностью представляет собой среднее значения для 16 образцов, обработанных с помощью 30 мкМ соединения Y, изображенного ниже. Данные аппроксимировали с помощью 4-х параметрической аппроксимирующей кривой ($\log(\text{агонист})$ против терапевтического эффекта - кривая с переменным углом наклона), используя программное обеспечение GraphPad Prism Software v.5. Для всех соединений n=2. Абсолютную величину (Abs) EC₅₀ получали из аппроксимирующей кривой путем интерполяции, и определяли ее как концентрацию, при которой данное соединение вызывает 50% терапевтического эффекта контрольного образца с высокой активностью после нормализации данных, как указано выше.

Соединения, которые были неспособны обеспечивать 50% минимального терапевтического эффекта, регистрируются как >30 мкМ или ND. Для соединений, которые испытывали в двух экземплярах или для которых n выше 2, приводимый результат представляет собой среднее геометрическое значение для нескольких полученных результатов. В таблице 2а приведены результаты, полученные для выбранных соединений по настоящему изобретению в этом исследовании.



Соединение Y

Таблица 2. Цельноклеточная активность в GloSensor клеточном анализе, 384-луночный формат (пример 2) для соединений из таблицы I.

| Соединение | Glo sensor Abs EC ₅₀ (нМ) |
|------------|--------------------------------------|
| I-5 | B |
| I-2 | A |
| I-6 | B |
| I-4 | B |
| I-3 | B |
| I-7 | B |
| I-1 | B |

Величины ферментативной активности sGC в клетках HEK, определенные анализом GloSensor. (~) Расшифровки условных обозначений для величин ферментативной активности sGC, выраженных абсолютной величиной EC₅₀, которую определяют как концентрацию, при которой данное соединение вызывает 50% терапевтического эффекта контрольного образца с высокой активностью (соединение Y) после нормализации данных: Abs EC₅₀ ≤

10 нМ=A; 10 нМ <Abs EC₅₀ ≤ 100 нМ=B; 100 нМ <Abs EC₅₀=C. Соединения, которые были неспособны обеспечивать 50% минимального терапевтического эффекта, регистрируются как > 30 мкМ или ND.

Пример 3. Определение биологической активности методом анализа cGMP в нейронных клетках

[00157] Из эмбрионов самок крыс линии Sprague-Dawley на 18 дне беременности извлекали первичные нейроны. Эмбрионы собирали в сбалансированном солевом растворе Хенкса (HBSS), и быстро извлекали из них головной мозг. Выделяли церебральные гиппокампы и механически их измельчали. Затем проводили расщепление ткани с помощью 0,25% (масса/объем) раствор трипсина в HBSS без Ca²⁺ и Mg²⁺ в течение 15 минут при 37°C. После трипсинации, клетки промывали и ресуспендировали в нейробазальной среде, дополненной 0,5 мМ L-глутамин, 12,5 мкМ глутаминовой кислоты, 2% B-27 и 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина. Клетки высевали при плотности 4×10⁴ клеток/лунка в 384-луночном планшете с плоским белым дном с нанесенным слоем поли-D-лизина (Corning Cat No 35661). Клетки инкубировали 6-7 дней при 37°C в увлажненной камере с 5% CO₂. Среду удаляли, и клетки промывали 1X с помощью HBSS, содержащего Ca²⁺ и Mg²⁺, и заменяли на 40 мкл HBSS, содержащего 0,5 мМ IBMX, и инкубировали в течение 15 минут при 37°C. Добавляли 10 мкл 5X исходного раствора испытуемых соединений с диэтилентриамин NONOate (DETA-NO). Конечная концентрация DETA-NO составляла 30 мкМ. Клетки инкубировали в течение 20 мин при 37°C. Среду удаляли, добавляли 50 мкл охлажденной льдом 10% уксусной кислоты и инкубировали в течение 60 минут при 4°C. После центрифугирования при 4°C в течение 5 минут при 1000 x g для осаждения клеточного дебриса, отсасывали надосадочную жидкость в чистый планшет, и образцы анализировали на содержание cGMP. Концентрации cGMP определяли в каждом образце, используя метод жидкостная хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (LC-MS/MS).

[00158] Данные нормировали относительно контрольного образца с высокой активностью, используя следующее уравнение:

100*(образец - контрольный образец с низкой активностью)/ (контрольный образец с высокой активностью - контрольный образец с низкой активностью), где контрольный образец с низкой активностью представляет собой среднее значения для 15 образцов, обработанных с помощью 1% DMSO, и контрольный образец с высокой активностью представляет собой среднее значения для 15 образцов, обработанных с помощью 10 μM известного стимулятора sGC соединения Y. Данные аппроксимировали с помощью 4-х параметрической аппроксимирующей кривой ($\log(\text{агонист})$ против терапевтического эффекта - кривая с переменным углом наклона), используя программное обеспечение GraphPad Prism Software v.5. Для всех соединений $n=2$. Абсолютную величину (Abs) EC_{50} получали из аппроксимирующей кривой путем интерполяции, и определяли ее как концентрацию, при которой данное соединение вызывает 50% терапевтического эффекта контрольного образца с высокой активностью. Соединения, которые были неспособны обеспечивать 50% минимального терапевтического эффекта, регистрируются как >30 мкМ или ND. Для соединений, которые испытывали в двух экземплярах или для которых n выше 2, приводимый результат представляет собой среднее геометрическое значение для нескольких полученных результатов. В таблице 3 приведены результаты, полученные для выбранных соединений по настоящему изобретению в этом исследовании.

Таблица 3. Биологическая активность, определенная методом анализа cGMP в нейронных клетках (пример 3), для соединений из таблицы I.

| Соединение | sGC-нейрон Abs EC_{50} (нМ) |
|------------|--------------------------------------|
| I-5 | A |
| I-2 | A |
| I-3 | A |

Анализ cGMP в нейронных клетках. $\text{AbsEC}_{50} \leq 100$ нМ=A; 100 нМ $< \text{AbsEC}_{50} \leq 1000$ нМ=B; 1000 нМ $< \text{AbsEC}_{50}$ =C. Соединения, которые были неспособны обеспечивать 50% минимального терапевтического эффекта, регистрируются как > 30 мкМ или ND.

Пример 4. Исследование фармакокинетических свойств соединений в спинномозговой жидкости (CSF) крысы

Протокол

[00159] Фармакокинетику (PK) на крысах изучали после перорального дозирования. Для экспериментов по пероральному (PO) дозированию, использовали группу из 6 самцов крыс линии Sprague-Dawley с постоянным катетером, установленным в мозжечково-мозговой цистерне. Группе крыс вводили перорально дозу 3 мг/кг или 10 мг/кг соединения, приготовленную в виде раствора раствор в PEG400. Пероральные дозы вводили путем перорального принудительного введения, и доставляли дозы в желудок, используя шприц и трубку для принудительного введения. После введения пероральной дозы, трубку для принудительного введения промывали с помощью приблизительно 0,5 мл воды для обеспечения полной доставки всей дозы.

[00160] Образцы плазмы собирали следующим образом: образцы CSF и крови собирали через 1 час, 2 часа и, необязательно, через 4 часа после дозирования. Образцы CSF (0,05 мл) отбирали через интрацистернальный катетер. Образцы крови (0,25 мл) отбирали из ретроорбитального синуса. Эти образцы хранили на льду до тех пор, пока их не подвергали обработки для получения плазмы. Образцы крови центрифугировали при 3200 об/мин в течение 5 минут при приблизительно 5°C не позднее чем через 1 час после отбора образцов. Плазму переносили непосредственно в 96-луночный планшет с пробирками (0,125 мл). Пробирки закрывали крышками, и пробирки замораживали при приблизительно -70°C и хранили до тех пор, пока не начинали проводить анализ.

[00161] Собирали плазму и анализировали ее на присутствие соединения.

Количественное определение соединений

[00162] Испытуемое соединение и внутренний стандарт извлекали из плазмы и CSF путем осаждения. Образцы анализировали методом жидкостной хроматографии (LC) с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (MS/MS), используя электрораспылительную ионизацию. Диапазон концентраций на

стандартной кривой составлял от 1 до 1000 нг/мл. Результаты для описанных в изобретении соединений, полученные в этом исследовании, приведены в таблице 4 ниже.

[00163] Величина K_p, u определяется как отношение концентрации несвязанного лекарственного средства в CSF к концентрации несвязанного лекарственного средства в плазме. Несвязанное лекарственное средство в плазме (или свободную концентрацию в плазме) рассчитывают путем умножения суммарной концентрации в плазме на несвязанную долю, определяемую путем связывания с белками плазмы. Затем, для определения величины K_p, u , концентрацию в CSF делят на свободную концентрацию в плазме (смотрите, например, публикацию Di et al., J. Med. Chem., 56, 2-12 (2013)).

Таблица 4. Фармакокинетические свойства выбранных описанных в изобретении соединений в CSF (пример 4) для соединений из таблицы I (при дозе 10 мг/кг)

| Соединение | Концентрация в CSF (нМ через 1 час) | K_p, u (через 1 час) |
|------------|--|---------------------------|
| I-5 | 446 | 3,26 |
| I-2 | 62,9 | 3,16 |
| I-6 | 0,78 | <0,01 |
| I-4 | 180 | 0,96 |

Пример 5. Оценка действия соединений по настоящему изобретению при нарушениях синаптической передачи и пластичности в гиппокампальных срезах мышей R6/2

[00164] Считается, что улучшения синаптической передачи и пластичности, измеренные путем долговременной потенциации (LTP), указывают на способность соединения улучшать память. Долговременная потенциация (LTP) представляет собой электрофизиологическое явление, которое обычно относят к клеточному явлению, стимулирующему обучение и память.

[00165] Протокол.

[00166] Приготовление тонких мышинных гиппокампальных срезов. Эксперименты проводили с мышами R6/2 и немутантными (WT) мышами в возрасте 11-12 недель, поставленных фирмой Jackson Laboratory (USA). Гиппокампальные срезы (толщиной 350 мкм)

получали с помощью прибора для получения срезов тканей MacIlwain в охлаждаемом льдом насыщенном кислородом растворе сахарозы (сахароза 250 нМ, глюкоза 11 нМ, NaHCO_3 26 нМ, KCl 2 нМ, NaH_2PO_4 1,2 нМ, MgCl_2 7 нМ и CaCl_2 0,5 нМ). Срезы инкубировали 1 час при комнатной температуре в оксигенированной искусственной спинномозговой жидкости (ACSF) следующего состава: глюкоза 11 нМ, NaHCO_3 25 нМ, NaCl 126 нМ, KCl 3,5 нМ, NaH_2PO_4 1,2 нМ, MgCl_2 1,3 нМ и CaCl_2 2 нМ. Затем, срезам давали возможность достичь исходного состояния в течение, по меньшей мере, 1 часа.

[00167] Перфузия среза и контроль температуры. В ходе экспериментов, срезы непрерывно перфузировали с помощью ACSF (барботировали с 95% O_2 -5% CO_2) со скоростью 3 мл/мин с помощью перистальтического насоса (объем камеры главного электронного блока (MEA): ~ 1 мл). Полная замена раствора в камере MEA достигалась через 20 секунд после смены растворов. Перфузионную жидкость предварительно непрерывно нагревали при 37°C непосредственно перед достижением камеры MEA с помощью подогреваемого перфузионного катетера (PH01, MultiChannel Systems, Reutlingen, Germany). Температуру камеры MEA поддерживали на уровне $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ с помощью нагревательного элемента, расположенного в головной части усилителя MEA.

[00168] Протоколы стимуляции/применения соединения.

[00169] Кривая входящего/исходящего (I/O) сигнала: от 100 до 800 мкА, с шагом 100 мкА. Затем устанавливали интенсивность стимула на фиксированную величину 250 мкА для измерений кратковременной и долговременной синаптической пластичности.

[00170] Свойства кратковременной пластичности: применяли два импульса с уменьшающимся интервалом между стимулами (например, 300 миллисекунд, 200 миллисекунд, 100 миллисекунд, 50 миллисекунд, 25 миллисекунд). Применение соединения: регистрировали полевой возбуждающий постсинаптический потенциал (fEPSP) в течение 10 минут при контрольных условиях (для проверки стабильности фона), затем подвергали воздействию соединения в течение 15 минут (или воздействию только плацебо в течение 25 минут в случае контрольных срезов). Применяли

описанные выше второй I/O протокол и протокол парного импульса при непрерывном присутствии соединения.

[00171] Долговременная потенция синаптической передачи (LTP): после контрольного периода в течение 10 минут (в присутствии соединения или плацебо в случае контрольных срезов), индуцировали LTP с помощью 10X TBS. Затем проводили мониторинг потенции синаптической передачи в течение еще 60 минут (при непрерывном присутствии соединения или плацебо в случае контрольных срезов).

[00172] Результаты

[00173] I/O характеристики были значимо выше в случае гиппокампальных срезов R6/2 мышей (p -величина=0,0146, двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA) после воздействия 855 нМ соединения I-5. Свойства при парном импульсе были значимо повышены в случае гиппокампальных срезов R6/2 мышей (p -величина < 0,001, двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA) после воздействия 855 нМ соединения I-5. Воздействие 855 нМ соединения I-5 в течение 15 минут не изменяло амплитуду полевого возбуждающего постсинаптического потенциала (fEPSP).

[00174] В гиппокампальных срезах WT мышей (контрольные условия), высокочастотная стимуляция (HFS) инициировала потенцию амплитуды вызванной ответной реакции, которая стабилизировалась около 35% (fEPSP увеличивалась на $36 \pm 3\%$ в конечной точке). В гиппокампальных срезах R6/2 мышей (контрольные условия), высокочастотная стимуляция (HFS) инициировала потенцию амплитуды вызванной ответной реакции, которая стабилизировалась около 15% (fEPSP увеличивалась на $15 \pm 2\%$ в конечной точке). После воздействия 855 нМ соединения I-5, высокочастотная стимуляция (HFS) инициировала потенцию амплитуды вызванной ответной реакции около 40% (fEPSP увеличивалась на $40 \pm 6\%$ в конечной точке) (фигура 1). Следовательно, потенция в гиппокампальных срезах R6/2 мышей значимо повышалась (p -значение=0,0002, двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA) по сравнению с контрольными гиппокампальными срезами R6/2 мышей.

[00175] Выводы.

[00176] I/O характеристики и свойства при парном импульсе повышались после воздействия 855 нМ соединения I-5 на гиппокампальные срезы R6/2 мышей. Соединение I-5 при концентрации 855 нМ при воздействии в течение 15 минут не оказывало влияния на базальную синаптическую передачу в гиппокампальных срезах R6/2 мышей. После воздействия 855 нМ соединения I-5, восстанавливалась нарушенная долговременная потенция синаптической передачи (LTP) в гиппокампальных срезах R6/2 мышей до уровня амплитуды долговременной потенции синаптической передачи (LTP) в гиппокампальных срезах WT мышей.

Пример 6. Циклический гуанозинмонофосфат (сGMP), индуцируемый соединением в головном мозге мыши

[00177] Цель. Определение воздействия соединения по изобретению на ответную реакцию сGMP в различных областях головного мозга мыши (кортикальном слое, гиппокампе, мозжечке и стриатуме).

[00178] Протокол. Мышам (n=9-10 на каждое экспериментальное условие) вводили перорально среду-носитель (1% гидроксипропилметилцеллюлозы, 0,2% Tween80, 0,5% метилцеллюлозы)) с 10 мг/кг соединения I-2. Через тридцать минут после дозирования, под анестезией изофлураном, мышь обезглавливали, и мозг удаляли и помещали в охлаждаемую льдом чашку Петри, содержащую жидкий раствор для диссекции (насыщенный смесью 95% O₂ и 5% CO₂). Используя охлажденную льдом палочку, на мозг мыши наносили фронтальную разметку с интервалом через 1 мм для разрезания на ломтики, как схематически показано ниже (не в масштабе, просто в качестве схемы).



[00179] Разрезанный на ломтики мозг переносили обратно в чашку Петри, содержащую жидкий раствор для диссекции с изобутилметилксантином 0,5 мМ (насыщенный смесью 95% O₂ и 5% CO₂). Первым иссекают задний стриатум, вторым иссекают гиппокамп,

третьим иссекают префронтальную кору головного мозга и, наконец, четвертым иссекают мозжечок. После иссечения каждой области, иссеченную ткань немедленно помещали в пробирку Эппендорфа, которая перед этим хранилась в течение 30 минут на сухом льду. Маленькие кусочки ткани очень быстро замораживали приблизительно в течение 10 секунд. После того, как все области были помещены в пробирки Эппендорфа, эти пробирки затем быстро замораживали путем погружения в жидкий азот. Образцы тканей хранили при -80°C . Уровни cGMP определяли методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (LC/MS). Образцы головного мозга гомогенизировали в водном буфере, состоящем из смеси 80:20 (по объему) вода:уксусная кислота, используя ультразвуковой зонд. Из ткани головного мозга извлекали гомогенаты головного мозга, содержащие соединения sGC и/или cGMP, путем осаждения белка с помощью органического растворителя, содержащего внутренние стандарты (IS), затем фильтровали и удаляли фосфолипид, используя планшет для удаления фосфолипидов Phenomenex® Phree™. Образцы анализировали методом жидкостной хроматографии (LC) с детектированием методом tandemной масс-спектрометрии (MS/MS), используя электрораспылительную ионизацию. Для количественного определения cGMP и/или соединения (соединений) sGC использовали кривую стандартных концентраций в диапазоне от 0,2 до 400 нг/мл. Количественное содержание белка в образцах мозга определяли, используя набор для анализа белка с помощью бицинхониновой кислоты (BCA protein assay kit).

[00180] Вывод. Разовая пероральная доза 10 мг/кг соединения I-2 индуцирует у мышей значимое повышение уровня cGMP в гиппокампе (ANOVA $p=0,0022$; плацебо (среда-носитель) в сравнении с соединением I-2 $p=0,0035$), в мозжечке (ANOVA $p<0,0001$; плацебо (среда-носитель) в сравнении с соединением I-2 $p=0,0001$) и в кортикальном слое (ANOVA $p=0,012$; плацебо (среда-носитель) в сравнении с соединением I-2 $p=0,017$).

Таблица ба. Концентрация cGMP в гиппокампе мыши, нормализованная к концентрации белка в образцах.

| |
|------------------------------|
| Гиппокамп: нМ cGMP/мкг белка |
|------------------------------|

| | |
|-----------------------|---|
| Плацебо перорально | Соединение I-2 перорально (10 мг/кг) |
| 0,033 | 0,072 |

Таблица 6б. Концентрация cGMP в стриатуме мьши, нормализованная к концентрации белка в образцах.

| | |
|-----------------------------|---|
| Стриатум: нМ cGMP/мкг белка | |
| Плацебо перорально | Соединение I-2 перорально (10 мг/кг) |
| 0,062 | 0,104 |

Таблица 6с. Концентрация cGMP в мозжечке мьши, нормализованная к концентрации белка в образцах.

| | |
|-----------------------------|---|
| Мозжечок: нМ cGMP/мкг белка | |
| Плацебо перорально | Соединение I-2 перорально (10 мг/кг) |
| 0,364 | 0,681 |

Таблица 6д. Концентрация cGMP в кортикальном слое мьши, нормализованная к концентрации белка в образцах.

| | |
|---|---|
| Префронтальная кора головного мозга: нМ cGMP/мкг белка | |
| Плацебо перорально | Соединение I-2 перорально (10 мг/кг) |
| 0,075 | 0,124 |

Пример 7. Тест на распознавание нового объекта (NOR)

[00181] Цель. Оценка эффективности соединений по настоящему изобретению по улучшению состояния при нарушении памяти, вызванном МК-801, путем использования теста на распознавание нового объекта (NOR) у самцов крыс линии Long Evans. NOR является тестом на распознавание объекта в результате использования животным информации, полученной в результате обучения или находящейся в памяти, который основан на спонтанном предпочтении грызунов исследовать новый объект по сравнению со знакомым объектом (Ennaceur and Delacour, 1988). Исследования показали, что методика NOR задействует различные области мозга, включающие околоносовый кортикальный слой (Ennaceur et al. 1996,

1997 and Aggleton et al. 1997) и гиппокамп (Wood et al. 1993 and Clark et al. 2000). Тест NOR уже давно широко используется для оценки исследуемых новых соединений, потенциально усиливающих когнитивную функцию. В силу того, что модель NOR не подразумевает использование поощрительных или болевых стимулов, она дает меньше искажающих факторов при преобразовании ее в аналогичные тесты, проводимые при клинических испытаниях на людях. В настоящем исследовании, модель сохранения памяти использовали для тестирования нового соединения -- МК-801 (дизоцилпина), неконкурентного антагониста NMDA рецептора, который использовали для инициирования дефицита опознающей памяти. Соединения по настоящему изобретению оценивали по их эффективности восстанавливать память при ее нарушении.

[00182] Материалы и методы.

[00183] Животные. В этом исследовании использовали взрослых самцов крыс линии Long-Evans (массой 275-299 грамм, поставленных фирмой Envigo, Indianapolis, IN). Крыс помещали в экспериментальные комнаты и присваивали им уникальные номера идентификации (маркировки на хвосте). Крыс размещали по 2 особи в клетке в поликарбонатных клетках с фильтрующим верхом и давали возможность акклиматизироваться в течение, по меньшей мере, 7 дней перед тестированием. В клетке для животного поддерживали цикл дня и ночи 12/12 часов (свет включали в 07.00 по восточному стандартному поясному времени), температуру $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ и относительную влажность приблизительно 50%. Корм и воду предоставляли без ограничения. Всех животных подвергали медицинскому осмотру, контролировали и взвешивали перед исследованием, для того чтобы гарантировать их соответствующее состояние здоровья и минимизировать неспецифический стресс, связанный с тестированием. Каждое животное случайным образом распределялось в ту или иную группу, подвергаемую обработки. Эксперименты проводили во время фазы дневного цикла для животного.

[00184] Испытуемые соединения. В этом исследовании использовали следующие соединения:

[00185] МК-801 (0,1 мг/кг; Sigma-Aldrich) растворяли в физиологическом растворе и инъекировали интраперитонеально за 15 минут перед началом тренировки NOR.

[00186] Галантамин (1 мг/кг; Tocris) растворяли в физиологическом растворе и инъекировали интраперитонеально за 15 минут перед началом тренировки.

[00187] Соединение I-2 (0,1, 1 и 10 мг/кг) перорально вводили за 60 минут до тренировки. Плацебо (среда-носитель) представляло собой 0,5% метилцеллюлозы, 0,2% Tween и 1% НРМС в отфильтрованной воде. Объемная доза составляла 4 мл/кг.

[00188] Экспериментальные методики. Тест NOR проводили на арене с открытым пространством (40×40 см), помещенной в звуконепропускаемой комнате с приглушенным освещением. Каждую крысу подвергали тестированию отдельно, и предпринимались меры для удаления запахов/вкусовых раздражителей путем очистки арены и тестируемых объектов с помощью 70% спирта между экспериментами и крысами. Все эксперименты по тренировке и тестированию записывали на видеопленку и оценивались наблюдателем, который не был посвящен в проводимые над крысами обработки.

[00189] В дни 1 и 2, крысам позволяли свободно исследовать арену (при отсутствии на ней объектов) в течение 5-минутного периода привыкания. На день 3 (день тренировки и тестирования), крысам вводили плацебо (физиологический раствор), растворы галантамина или соединения, затем МК-801 или плацебо (физиологический раствор). После периода времени предварительной обработки, каждое животное помещали на арену для тестирования, на которой присутствовали два одинаковых объекта. Каждую крысу помещали на арену с обращенной мордочкой в одном и том же направлении в одну и ту же позицию, и регистрировали время, затраченное на активное исследование объектов в течение 3-минутного периода тренировки (T1). После тренировки, крыс возвращали в их клетки. Тест NOR (T2) проводили через 1 час после T1. Каждую крысу помещали обратно помещали на арену для тестирования в присутствии одного знакомого объекта и одного нового объекта на время 5 минут, и регистрировали время,

затраченное на исследование обоих объектов в течение промежутков времени 0-1, 0-3 и 0-5 минут. Порядок демонстрации и положение объектов (лево/право) при T2 рандомизировали между крысами для предотвращения появления у них предпочтения определенному порядку или месту расположения объектов.

[00190] Статистический анализ. Данные теста NOR (T2) выражали через коэффициент предпочтения, который определяют, как отношение времени, затраченного на исследование нового объекта, к суммарному времени, затраченному на исследование обоих объектов (новый объект/(знакомый объект+новый объект) × 100%) во время проведения теста. Данные анализировали путем использования однофакторного дисперсионного анализа, затем путем использования апостериорного теста Фишера на минимальное значимое различие отдельно в диапазоне времени 0-1, 0-3 и 0-5 минут при значимости, установленный при $P < 0,05$. Животные с суммарным временем исследования объекта меньшим, чем 10 секунд, в течение 5 минутной сессии тестирования из статистического анализа исключали; крысы с коэффициентом предпочтения выше 90% или ниже 30% также исключались из статистического анализа, так как они предполагали наличие сильной (не основанной на памяти) взаимной связи двумя объектами. И затем статистически резко отклоняющиеся значения, которые были выше или ниже на два средних квадратичных отклонений от среднего значения, удаляли из окончательного анализа.

[00191] Результаты. Ни у одной из крыс в этом исследовании не было обнаружено проявления выраженных побочных явлений при любой дозе. Крысы сохраняли нормальный тонус центральной нервной системы, активность и уровень интереса к объектам. Дисперсионный анализ показал значимые основные воздействия обработки на коэффициент предпочтения в процессе временного диапазона 0-1 минута [$F(5,79)=1,305$, $P>0,05$], что было обусловлено, в основном, тем, что обработанные с помощью МК-крысы сохраняли относительно хорошую опознающую память при этом временном диапазоне. Этот результат при диапазоне 0-1 минута не является редким в этой версии теста NOR, так как в начале теста "новизна"

и "знакомство" объектов определяются относительно четко. Обычно, крысы прогрессируют хуже в группе, обработанной с помощью МК-801, если не применяется стимулятор памяти. В течение временного диапазона 0-3 минуты, дисперсионный анализ обнаруживал значимый основной эффект обработки [$F(5,79)=4,237$, $P<0,01$]. Апостериорный тест показал, что МК-801 0,1 мг/кг вызывал сильное нарушение памяти, при этом индекс предпочтения достигает уровня случайности (50%). Галантамин (1 мг/кг) и соединение I-2 при 0,1 мг/кг значимо восстанавливали нарушения памяти, индуцированные с помощью МК-801 ($P<0,001$ и $P<0,05$, соответственно, по сравнению с группой плацебо/МК-801). Аналогично, дисперсионный анализ показал значимое основное воздействие обработки в течение временного диапазона 0-5 минут [$F(5,79)=3,851$, $P<0,01$]. Апостериорный тест показал, что МК-801 при 0,1 мг/кг вызывал сильное нарушение памяти, при этом индекс предпочтения достигает уровня случайности (50%). Галантамин (1 мг/кг) и соединение I-2 при 0,1 мг/кг значимо восстанавливали нарушения памяти, индуцированные с помощью МК-801, ($P<0,001$ и $P<0,05$, соответственно, по сравнению с группой плацебо/МК-801).

Таблица 10. Данные по определению коэффициента предпочтения (временной диапазон 0 и 3 минуты)

| Обработка | n число | Среднее значение | Стандартное отклонение | Стандарт ная ошибка среднего значения | Статистический анализ (p- значение) |
|--|------------|---------------------|---------------------------|---|---|
| Контроль плацебо + физиологический раствор | 13 | 73,78 | 9,95 | 2,761 | <0,001 |
| Плацебо + МК-801 | 13 | 56,92 | 13,93 | 3,86 | N/A |
| Галантамин + МК-801 | 14 | 73,33 | 9,34 | 2,50 | <0,001 |
| I-2 (0,1 | 13 | 68,21 | 11,99 | 3,33 | 0,017 |

| | | | | | |
|----------------------------------|----|-------|-------|------|-------|
| мг/кг) + МК-801 | | | | | |
| I-2 (1 мг/кг) + МК-801 | 14 | 63,98 | 10,41 | 2,78 | 0,125 |
| I-2 (10 мг/кг) + МК-801 | 13 | 6,76 | 14,54 | 4,03 | 0,299 |

Статистические сравнения выполнены относительно группы с обработкой "плацебо+МК-801". Статистическая значимость подразумевает значение p меньше, чем 0,005.

[00192] Выводы. Эталонное соединение галантамин 1 мг/кг значимо восстанавливал когнитивное нарушение, индуцированное с помощью МК-801 0,1 мг/кг, что позволяет сделать вывод о достоверности результатов, полученных при проведении теста. Испытуемое соединение I-2 при 0,1 мг/кг также продемонстрировало эффективность при сохранении памяти в тесте на распознавание нового объекта (NOR) после обработки с помощью МК-801, что позволяет сделать вывод о том, что это соединение обладает свойствами по улучшению памяти.

Пример 8. Фосфорилирование pCREB в первичных нейронах крысы

[00193] Цель. Оценка способности соединения I-5 активировать белок, связывающий cAMP-чувствительный элемент (CREB), в первичных нейронах крысы. CREB представляет собой фактор транскрипции клеток. Он связывает последовательности ДНК, называемые cAMP-чувствительными элементами (CRE), и регулирует транскрипцию генов, регулирующих последующие звенья сигнальных каскадов (смотрите публикацию Bourtchuladze R, et al., Cell 1994; 79 (1): 59-68). CREB играет убедительно подтвержденную документальными доказательствами роль в нейрональной пластичности и формировании долговременной памяти в мозге, и, как было показано, он является неотъемлемой частью при

формировании пространственной памяти (смотрите публикацию Silva AJ, et al., Annual Review of Neuroscience 1998; 21: 127-148). Белки CREB активируются в результате фосфорилирования серина 133 различными киназами, включающими cAMP-зависимую протеинкиназу или протеинкиназу A (PKA), cGMP-зависимую протеинкиназу или протеинкиназу G (PKG) и Ca²⁺/кальмодулин-зависимые протеинкиназы. (смотрите публикации Shaywitz AJ and Greenberg ME, Annual Review of Biochemistry 1999; 68 (1): 821-861 and Wong JC, et al., J Cell Biochem 2012: 113(11):3587-98). Стимуляция CREB могла бы давать положительные терапевтические результаты в случае заболеваний, при которых нарушаются когнитивная деятельность, нейрональная пластичность и/или нейрональная функция.

[00194] Материалы и методы.

[00195] Соединения. Соединение I-5 растворяли в DMSO с получением 10 мМ раствора и хранили при -20°C. Для получения требуемых испытуемых концентраций, исходные концентрации последовательно разбавляли в DMSO и затем разбавляли до соответствующей концентрации в буфере для анализа.

[00196] Культивирование первичных нейронов крысы. Нейроны выделяли из эмбрионов крысы линии Sprague Dawley на 18-ом дне беременности 18 (E18). От каждой крысы получали приблизительно 10 эмбрионов, и из эмбрионов выделяли цельный мозг. Из мозга иссекали гиппокамп и кортекс под контролем стереоскопического микроскопа, используя две пары тонких микропинцетов. Осторожно удаляли мягкие мозговые оболочки. После диссекции, ткани измельчали и аккуратно промывали один раз с помощью 10 мл не содержащего Ca²⁺ и Mg²⁺ раствора Хенкса (HBSS, Corning cat #21-022-СМ) в конической пробирке объемом 15 мл. После промывки, к тканям в пробирке добавляли 5 мл раствора 0,25% трипсина (Invitrogen cat #15090-046) и 0,1% дезоксирибонуклеазы I (DNase I, Sigma cat #DN-25) и затем инкубировали при 37°C в течение 15 минут. После инкубации и расщепления с помощью ферментов, ткани промывали три раза охлажденным льдом HBSS. После промывки, в пробирку добавляли 3 мл раствора 0,1% DNase I, и ткани медленно отбирали пипеткой, используя стеклянную пипетку Пастера, 12 раз,

и затем центрифугировали при $500 \times g$ в течение 10 минут. Осадок клеток ресуспендировали в культуральной среде (Neurobasal medium, Gibco cat #21103-049) с добавки 2% B27 (Gibco Cat #17504-044), 0,5 мМ L-глутамин (Corning cat #25-005-C1), 25 мкМ L-глутаминовой кислоты (Sigma cat #G1251) и 1% пенициллин/стрептомицин (Gibco cat #15070-063)). Затем, суспензию клеток высевали в 96-луночных планшетах с нанесенным покрытием из поли-L-лизина с плотностью 100000 клеток/лунка. Через двадцать четыре часа после посева, половину культуральной среды удаляли и заменяли на описанную выше культуральную среду, но без глутаминовой кислоты. Клетки выдерживали при 37°C в увлажняемом инкубаторе с 5% CO_2 и использовали в течение 6-10 дней.

[00197] Условия проведения анализа. Для каждой испытуемой концентрации, соединение I-5 разбавляли в 100% DMSO в 100 раз до его конечной концентрации. Немедленно перед проведением анализа, соединение I-5 разбавляли в 10 раз в HBSS (содержащим кальций и магний) (10x конечная концентрация для анализа) содержащим 100 мкМ DETA-NONOate (10x конечная концентрация для анализа). Среду удаляли, и клетки промывали один раз с помощью 90 мкл HBSS (Corning cat # 21-023-CV). Клетки затем инкубировали с 90 мкл HBSS в течение 30 минут при 37°C . К клеткам добавляли 10 мкл из планшета с испытуемым соединением/HBSS/DETA-NONOate, которые инкубировали в течение еще 30 минут при 37°C . Конечные концентрации DMSO составляли 1%, конечная концентрация DETA-NONOate составляла 10 мкМ, и конечные концентрации соединения I-1 составляли 10000 нМ, 1000 нМ, 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 0,1 нМ, 0,01 нМ и 0,0 нМ. Среду удаляли, и клетки лизировали, и проводили анализ в соответствии с протоколом Cisbio (phospho-CREB (Ser133) catalog # 64CREPEG), и планшет считывали с помощью планшет-ридера Envision (PerkinElmer).

[00198] Анализ данных. Данные анализировали путем аппроксимации 4-параметрической кривой ($\log(\text{агонист})$ относительно ответной реакции - с изменяющимся углом наклона), используя программное обеспечение GraphPad Prism Software v.7.

Величину EC_{50} получали интерполированием из аппроксимационной кривой и определяли ее как концентрацию, при которой соединение I-5 вызывает 50% максимальной ответной реакции.

[00199] Результаты. Фосфорилирование CREB при Ser133, стимулированное соединением I-5, зависело от концентрации, при этом величина EC_{50} составляла 0,55 нМ. Интервал с 95% достоверностью составлял от 0,07 нМ до 4,44 нМ.

Пример 9. Оценка соединений по настоящему изобретению при испытаниях с использованием экспериментальных моделей боли

[00200] Цель. Оценка эффективности действия соединений по настоящему изобретению при острой и тонической боли, нейропатической боли, воспалительной боли, послеоперационной боли и висцеральной боли.

[00201] Материалы и методы.

[00202] Тест давления на лапу. Определяют статическую механическую гипералгезию. Этот тест требует приложения возрастающего давления на задние лапы между плоской поверхностью и затупленным наконечником. Для оценки обезболивающего действия соединения, в одной задней лапе животного вызывали воспаление путем инъекции или повреждали ее в результате наложения лигатуры, в то время как другую заднюю лапу оставляли неповрежденной или невоспаленной. Прибор оказывал стабильно увеличивающееся усилие на задние лапы. Порог чувствительности к внешнему воздействию определяли, как давление (в граммах), требующееся для проявления эффекта отдергивания лапы и/или подачи голосового сигнала. Животных осторожно удерживал в руках экспериментатор, и статическую механическую гипералгезию оценивали два раза для обеих задних лап.

[00203] Тест на подергивание хвостом. Тепловое излучение направляли на хвост. Когда крыса чувствовала дискомфорт, она реагировала путем внезапного движения хвостом (подергивания хвостом), после чего автоматически прекращалась стимуляция и останавливался таймер для измерения времени реакции животного или латентного периода ноцицептивной реакции (периода от начала стимуляции до обнаружения ответной реакции животного). Заранее устанавливали предельное время отключения, равное 10 секундам,

для предотвращения повреждения ткани животного.

[00204] Тест на ответную реакцию при воздействии уксусной кислоты. Вызывали абдоминальное сокращение путем интраперитонеальной инъекции крысам 0,6% раствора уксусной кислоты (10 мл/кг). Регистрировали число скорчиваний (извиваний или изгибаний тела в результате боли) в течение времени с пятой по пятнадцатую минуту после инъекции.

[00205] Тест на ответную реакцию при воздействии формалина. Инъецировали субплантарным способом 2,5% раствор формалина в правую заднюю лапу. Проводили оценивание в баллах болевое поведение крыс в течение 36 минут через каждые 3 минуты в соответствии со следующей системой балльной оценки:

0=нормальное поведение инъецируемой задней конечности при поддержке тела

1=легкое прикосновение инъецируемой лапы к полу для некоторой поддержки или при отсутствии поддержки тела

2=полное отдергивание инъецируемой лапы

3=вылизывание, покусывание или встряхивание инъецируемой лапы.

[00206] Модель Беннетта. Периферическую мононевропатию вызывали путем наложения нетугой лигатуры на седалищный нерв крыс под анестезией (ксилазин 10 мг/кг интраперитонеально, кетамин 60 мг/кг интраперитонеально) за 14 дней до проведения тестирования (D-14). Вкратце, обычный седалищный нерв обнажали на уровне середины бедра путем отслаивания бицепса бедра. Поблизости от трифуркации седалищного нерва, вокруг него были свободно наложены четыре лигатуры с интервалом около 1 мм. Большое внимание было уделено завязыванию лигатур, для того чтобы диаметр нерва был только слегка сужен. После хирургической операции животные восстанавливались в течение 4 дней, тестирование проводили через 10 дней после периода восстановления (то есть через 14 дней после хирургической операции).

[00207] Оксалиплатин. Индуцирование: острую периферическую нейропатию вызывали путем однократной интраперитонеальной инъекцией оксалиплатина (6 мг/кг, интраперитонеально) за 30

часов до тестирования. Ацетоновый тест: измеряли холодовую аллодинию путем проведения ацетонового теста. В этом тесте, измеряли время задержки отдергивания задней лапы после нанесения капли ацетона (50 мкл) на подошвенная поверхность обеих задних лап три раза для обеих задних лап, в качестве варианта, с интервалами приблизительно 2-3 минуты.

[00208] Индуцирование каррагенаном. За три часа перед оценкой пороговой величины ноцицептивной боли путем проведения теста давления на лапу, в подушечку правой задней лапы инъецировали 100 мкл 2% суспензии каррагенана. Затем проводили тест давления на лапу, как описано выше.

[00209] Индуцирование каолином. У крыс индуцировали односторонний артрит путем внутрисуставной инъекции 10% суспензии каолина в коленный сустав правой задней лапы под газовой анестезией (3,5% изофлуран/3 л/мин). Оценка походки в баллах: оценка походки в баллах будет проводиться через 3 часа 30 минут после введения каолина следующим образом:

- 0: неизменная походка
- 1: небольшое затруднение
- 2: кратковременное поднятие вверх лапы
- 3: поднятая лапа.

[00210] Модель Бреннана. Хирургическое вмешательство: хирургическое вмешательство при газовой анестезии (3,5% изофлуран/3 л/мин). У всех крыс обнажали подошвенный аспект левой задней лапы и с помощью лезвия скальпеля делали продольный разрез длиной 1 см через кожу и фасцию подошвенного отдела стопы, начиная с 0,5 см от проксимального края пятки и в направлении пальцев ноги. Подошвенную мышцу приподнимали и разрезали в продольном направлении, оставляя при этом прикрепление мышцы нетронутыми. После гемостаза при легком надавливании, кожу зашивали путем накладывания двух швов. После операции, животные восстанавливались в своих клетках.

[00211] Электронный тест фон Фрея. Тактильную аллодинию оценивали с помощью электронного теста фон Фрея через 24 часа после хирургического вмешательства. Тест требует приложение увеличивающегося давления на подошвенный аспект задних лап.

Прибор оказывал стабильно увеличивающееся усилие на задние лапы. Порог чувствительности к внешнему воздействию определяли, как давление (в граммах), требующееся для проявления эффекта отдергивания лапы. Каждое измерение порога чувствительности ответной реакции повторяли три раза для обеих задних лап с интервалами приблизительно от 2 до 3 минут.

[00212] TNBS (тринитробензолсульфоновая кислота). Хирургическое вмешательство: повышенную чувствительность толстой кишки вызвали путем хирургического введения TNBS за семь дней до проведения поведенческого теста (D-7). Животных, которым не давали корм в течение ночи, подвергали хирургической операции. Вкратце, под анестезией (ксилазин 10 мг/кг интраперитонеально, кетамин 60 мг/кг интраперитонеально), осуществляли инъекцию TNBS (50 мг/кг, 1 мл/кг) в проксимальную часть толстой кишки (1 см от слепой кишки). После хирургического вмешательства, животных возвращали в их клетки с регулируемой средой и кормили без ограничения до D-1 (животных переставали кормить за 24 часа до вдувания). Колоректальное вдувание: через семь дней (D₀) после инъекции TNBS, оценивали чувствительность толстой кишки у животных, которым не давали корм в течение ночи, путем измерения внутритолстокишечного давления, требующегося для индуцирования поведенческого ответа при вдувании в толстую кишку. Для проведения вдувания, осторожно вводили надувной баллон размером 5 см в толстую кишку бодрствующих животных на расстоянии 10 см от ануса, и катетер фиксировали липкой лентой к основанию хвоста. После 30 минут периода акклиматизации с вставленным внутрь баллоном, постепенно повышали давление внутри толстой кишки с шагом 5 мм.рт.ст. каждые 30 секунд от 5 до 75 мм.рт.ст. (граничное значение) до тех пор, пока не подтверждалось болевое поведение. Болевое поведение характеризовалось поднятием задней части тела животных и хорошо видимым абдоминальным сокращением, соответствующим судороге в тяжелой форме. Проводили два определения.

[00213] Результаты для моделей острой и тонической боли, нейропатической боли, воспалительной боли, послеоперационной боли и висцеральной боли и тестирования животных, которым

вводили перорально 10 мг/кг соединения I-1, были статистически значимыми и представлены ниже.

Результаты.

| Модель боли | Модель-тест | Соединение I-2, перорально, 10 мг/кг | Внутренний стандарт | |
|--------------------------|---|--------------------------------------|--|-----------------------------------|
| | | | референсное лекарственное средство внутривенно | % активности относительно плацебо |
| Острая и тоническая боль | Здоровые крысы - тест давления на лапу | -10% | Морфин 4 мг/кг подкожно | 69% |
| | Здоровые крысы - тест на подергивание хвостом | 15% | Морфин 4 мг/кг подкожно | 66% |
| | Тест на уксусную кислоту - абдоминальные сокращения | 59% | (-) U50, 488 Н 3 мг/кг подкожно | 100% |
| | Тест на формалин - баллы (ранняя фаза) | 61% | Морфин 4 мг/кг подкожно | 57% |
| | Тест на | 11% | Морфин | 38% |

| | | | | |
|-------------------------------|--|------|--|------|
| | формалин - баллы (поздняя фаза) | | 4 мг/кг подкожно | |
| Нейро- патическая боль | Модель Беннетта - Тест давления на лапу | 65% | Морфин 3 мг/кг подкожно | 191% |
| | Оксали- платин - Тест с ацетоном (время реагирования) | 127% | Габалентин 100 мг/кг, перорально | 82% |
| Воспалител ьная боль | Каррагенан - тест давления на лапу | 75% | Индометацин 30 мг/кг, перорально | 100% |
| | Каолин - оценка артрита в баллах | 88% | Индометацин 10 мг/кг, перорально | 58% |
| Послеопера ционная боль | Модель Бреннана - Электронный тест фон Фрея | 16% | Морфин 4 мг/кг подкожно | 88% |
| Висцеральн ая боль | TNBS - коло- ректальное вдувание | 43% | (-) U50, 488 Н 3 мг/кг подкожно | 103% |

Тестирование. Через 120 минут после проведения обработки.
N=4/модель/тест. Результаты приведены для каждой группы в виде

процента активности, рассчитанного относительно средней величины для обработанных с помощью плацебо животных и сравниваемой с животными, не использовавшимися ранее в опытах, с контрольным значением в тесте для давления на лапу или пороговым значением, в зависимости от теста.

[00214] Выводы. Соединение I-2 обнаруживало эффекты в тестах для острой боли с уксусной кислотой и формалином. Соединение I-2 обнаруживало эффекты в модели Беннетта/тесте давления на лапу и в тесте оксалиплатин-ацетон моделях нейропатической боли. Соединение I-2 обнаруживало эффекты в тесте каррагенан-давление на лапу и каолин-оценка артрита в баллах в моделях воспалительной боли. Соединение I-2 обнаруживало эффекты в модели Бреннана-электронном тесте фон Фрея в модели для послеоперационной боли. Соединение I-2 обнаруживало эффекты в тесте TNBS-колоректальное вдувание в модели висцеральной боли.

Пример 10. Воздействию различных доз соединения на индуцирование cGMP в мозге мыши (полушариях головного мозга)

[00215] Цель. Определения влияния различных доз соединения по изобретению на ответную реакцию cGMP в головном мозге мыши

[00216] Протокол. День эксперимента 1: мышам не давали корма в течение ночи, но обеспечивали неограниченный доступ к воде. День эксперимента 2: мышам (n=10 на экспериментальное условие) перорально вводили дозу среды-носителя (1% гидроксипропилметилцеллюлоза, 0,2% Tween80, 0,5% метилцеллюлоза), 3 или 10 мг/кг соединения I-2, приготовленного в среде-носителе. Через тридцать минут после введения дозы, каждую мышь обезглавливали под анестезией изофлураном и извлекали ее мозг. Отделяли полушарии из каждого мозга и помещали их в отдельные пробирки фирмы Falcon объемом 15 мл и мгновенно замораживали путем погружения в жидкий азот. Образцы ткани хранили при -80° C. Уровни cGMP определяли методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (LC/MS). Образцы головного мозга гомогенизировали в водном буфере, состоящем из смеси 80:20 (по объему) вода:уксусная кислота, используя

ультразвуковой зонд. Из ткани головного мозга извлекали гомогенаты головного мозга, содержащие соединения sGC и/или cGMP, путем осаждения белка с помощью органического растворителя, содержащего внутренние стандарты (IS), затем фильтровали и удаляли фосфолипид, используя планшет для удаления фосфолипидов Phenomenex® Phree™. Образцы анализировали методом жидкостной хроматографии (LC) с детектированием методом тандемной масс-спектрометрии (MS/MS), используя электрораспылительную ионизацию. Для количественного определения cGMP и/или соединения (соединений) sGC использовали кривую стандартных концентраций в диапазоне от 0,2 до 400 нг/мл. Количественное содержание белка в образцах мозга определяли, используя набор для анализа белка с помощью бицинхониновой кислоты (BCA protein assay kit).

[00217] Вывод. Разовое пероральное дозирование соединения I-2 при 10 и 3 мг/кг увеличивает cGMP в мозге мыши по сравнению с животными, которым вводили среду-носитель (плацебо) ($p < 0,0001$ и $p < 0,0031$, дисперсионный анализ ANOVA с последующими анализами контрастов).

Пример 11. Воздействие на белок нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) в дорсальном стриатуме крысы.

[00218] Цель. Определение воздействия соединения I-2 на экспрессию BDNF в дорсальном стриатуме крысы в модели поражения головного мозга, вызванного хинолиновой кислотой (QA).

[00219] Протокол. День эксперимента 1: крыс подвергали глубокой анестезии изофлураном, и каждой крысе односторонне инфузирвали 0,25 мкл 50 мМ хинолиновой кислоты (QA) в дорсальный стриатум (12,5 нмоль QA в левое или правое полушарие). В дорсальный стриатум каждой крысы, находящийся контралатерально к месту инфузии QA, инфузирвали контрольное вещество 0,25 мкл PBS (контрольная сторона). Некоторым животным вводили подкожно среду-носитель (n=5) или 10 мг/кг соединения I-2 (n=6) приблизительно через 30 минут после инфузии QA. Дни эксперимента 2-8: крысам перорально вводили каждые 24 часа среду носитель (плацебо) или 10 мг/кг соединение I-2. Приблизительно

через 24 часа после последнего введения среды-носителя или соединения I-2, крыс анестезировали, перфузировали с помощью PBS с последующей перфузией 4% раствора параформальдегида в PBS; ткань головного мозга собирали и помещали в пробирку фирмы Falcon, заливали 4% раствором параформальдегида (PAF) в PBS и выдерживали в течение приблизительно 14 часов при 40°C, и затем заменяли PBS на 30% раствор сахарозы и выдерживали в течение приблизительно 48 часов. Из ткани мозга приготавливали коронарные срезы размером 40 мкм и хранили их в PBS при 4°C. Срезы, содержащие дорсальный стриатум, окрашивали путем инкубации с первичными мышинными антителами против NeuN и первичными кроличьими антителами против BDNF с последующей инкубацией с вторичными кроличьими антителами, конъюгированными с Alexa Fluor 594, и вторичными мышинными антителами, конъюгированными с Alexa Fluor 488. Получали изображения из дорсомедиальной области вокруг поражения QA или эквивалентной области на контрольном полушарии с помощью конфокальной флуоресцентной микроскопии. Для определения средней интенсивности BDNF в NeuN-положительных клетках, изображения анализировали с использованием программного обеспечения imageJ.

[00220] Вывод. Средняя интенсивность окрашивания BDNF в NeuN-позитивных клетках вокруг поражения QA (сторона QA) значительно снижается по сравнению с NeuN-позитивными клетками в контрольном полушарии (контрольная сторона); $p < 0,0001$, дисперсионный анализ ANOVA с последующим многократным сравнением. Введение соединения I-2 в дозе 10 мг/кг один раз в сутки в течение 7 дней приводит к увеличению средней интенсивности BDNF в NeuN-позитивных клетках вокруг повреждения QA по сравнению с введением среды-носителя (плацебо); $p < 0,01$, дисперсионный анализ ANOVA с последующим многократным сравнением. Введение соединения I-2 в дозе 10 мг/кг один раз в сутки в течение 7 дней приводит к увеличению средней интенсивности BDNF в NeuN-положительных клетках в дорсомедиальном стриатуме без повреждения (контрольная сторона) по сравнению с введением среды-носителя; $p < 0,0001$,

дисперсионный анализ ANOVA с последующим многократным сравнением.

[00221] Различные варианты осуществления изобретения могут быть описаны ниже.

[1]. Соединение, представленное в таблице I, или его фармацевтически приемлемая соль.

[2]. Фармацевтическая композиция, включающая, по меньшей мере, одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или носитель и соединение или его фармацевтически приемлемую соль по приведенному выше пункту [1] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения.

[3]. Лекарственная форма, включающая фармацевтическую композицию по приведенному выше пункту [2] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения.

[4]. Способ лечения заболевания, болезненного состояния или расстройства ЦНС у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение, в виде монотерапии или в виде комбинированной терапии, терапевтически эффективного количества по приведенным выше пунктам [1], [2] или [3] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения.

[5]. Способ по приведенному выше пункту [4] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС выбирают из болезни Альцгеймера, амиотрофического бокового склероза (ALS или болезни Лу Герига), синдрома Дауна, деменции, сосудистой деменции (VD), сосудистого когнитивного нарушения, смешанной деменции, деменции Бинсвангера (субкортикальной артериосклеротической энцефалопатии), церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL или синдрома CADASIL), лобно-височной лобарной дегенерации или деменции, ВИЧ-ассоциированной деменции (в том числе бессимптомного нейрокогнитивного нарушения (ANI), незначительного нейрокогнитивного нарушения (MND) и ВИЧ-ассоциированной деменции (HAD) (называемой также комплексом СПИД-деменция [ADC] или ВИЧ энцефалопатией), деменции с тельцами Леви, пресенильной деменции (умеренного когнитивного нарушения, MCI), глаукомы, болезни

Хантингтона (или хорей Хантингтона, HD), множественного склероза (MS), множественной системной атрофии (MSA), болезни Паркинсона (PD), паркинсонизма плюс спинально-церебеллярной атаксии, болезни Стила-Ричардсона-Ольшевского (прогрессирующего надъядерного паралича), синдрома дефицита внимания (ADD) и синдрома гиперактивности с дефицитом внимания (ADHD).

[6]. Способ по приведенному выше пункту [5] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС представляет собой болезнь Альцгеймера.

[7]. Способ по приведенному выше пункту [6] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где болезнь Альцгеймера представляет собой мягкую или умеренную форму болезни Альцгеймера, или умеренную или тяжелую форму болезни Альцгеймера.

[8]. Способ по приведенному выше пункту [5] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС представляет собой сосудистую деменцию. Способ по приведенному выше пункту [5] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС представляет собой смешанную деменцию.

[9]. Способ по приведенному выше пункту [5] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС представляет собой болезнь Хантингтона.

[10]. Способ по приведенному выше пункту [5] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС представляет собой болезнь Паркинсона.

[11]. Способ по приведенному выше пункту [5] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС представляет собой CADASIL.

[12]. Способ по приведенному выше пункту [5] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС представляет собой умеренное когнитивное нарушение.

[13]. Способ по приведенному выше пункту [4] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС выбирают из травматических повреждений (закрытых

или открытых, проникающих в голову), травматического повреждения головного мозга (ТВИ), нетравматического повреждения головного мозга (инсульта, в частности ишемического инсульта, аневризмы, гипоксии), когнитивного нарушения или когнитивной дисфункции, возникающих вследствие повреждений головного мозга или нейродегенеративных расстройств.

[14]. Способ по приведенному выше пункту [4] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС выбирают из дистонии, включающей генерализованную, фокальную, сегментарную, сексуальную, промежуточную, генетическую/первичную дистонию или острую дистоническую реакцию; или из дискинезии, включающей острую, хроническую/медленную или неоторную и индуцированную леводопой дискинезию (LID).

[15]. Способ по приведенному выше пункту [4] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС представляет собой психиатрическое, умственное, душевное или аффективное расстройство, выбранное из биполярного расстройства, шизофрении, общего психоза, психоза, вызванного употреблением наркотических веществ, бредового расстройства, шизоаффективного расстройства, обсессивно-компульсивного расстройства (OCD), депрессивного расстройства, тревожного расстройства, панического расстройства, посттравматического стрессового расстройства (PTSD).

[16]. Способ по приведенному выше пункту [4] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где заболевание ЦНС выбирают из расстройств, характеризующихся относительным снижением синаптической пластичности и синаптических процессов, включающих синдром хрупкой Х-хромосомы, синдром Ретта, синдром Вильямса, синдром Ренпеннинга, расстройства аутистического спектра (ASD), аутизм, синдром Аспергера, общее расстройство психологического развития и дезинтегративное расстройство детского возраста.

[17]. Способ по приведенному выше пункту [4] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения, где расстройство ЦНС выбирают из угнетения когнитивных способностей

при проведении химиотерапии, аддиктивного поведения, вызванного применением леводопы, алкоголизма, наркотической зависимости, включающей амфетамин, опиаты или другие вещества, или злоупотребления различными веществами.

[18]. Соединение, фармацевтическая композиция или лекарственная форма по приведенным выше пунктам [1], [2] или [3] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения для применения при лечении заболевания ЦНС.

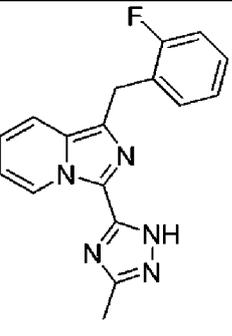
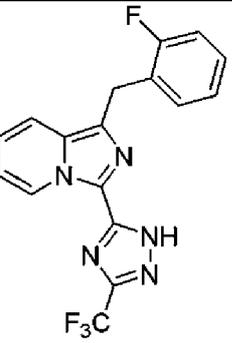
[19]. Применение соединения, фармацевтической композиции или лекарственной формы по приведенным выше пунктам [1], [2] или [3] или в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения для лечения заболевания ЦНС.

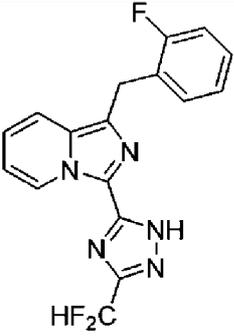
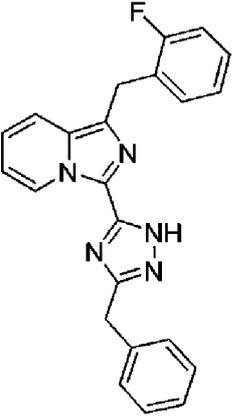
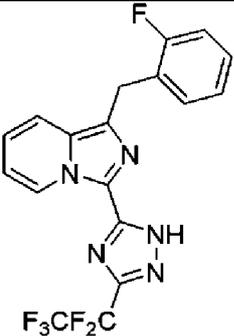
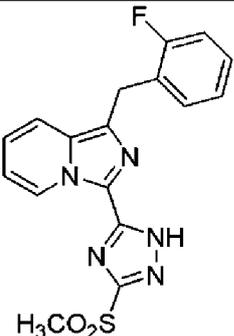
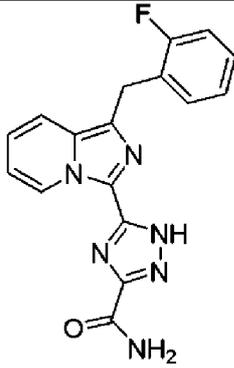
[00222] Несмотря на то, что в целях иллюстрации были описаны типичные варианты осуществления, тем не менее, предшествующие описания и примеры не следует рассматривать в качестве ограничений объема изобретения. Соответственно, для любого специалиста в этой области является очевидным, что возможны различные модификации, адаптации и альтернативы без отклонения от сущности и объема настоящего изобретения.

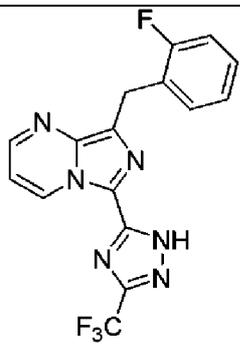
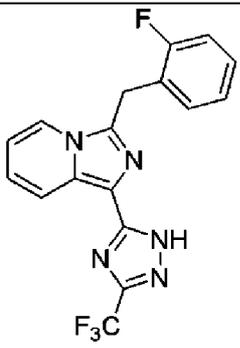
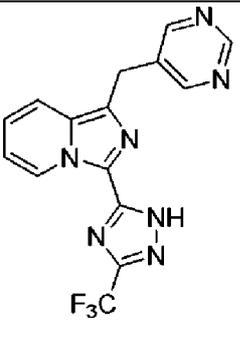
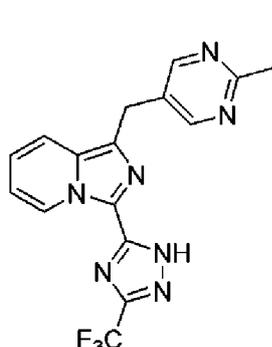
ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

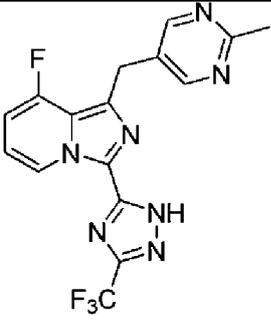
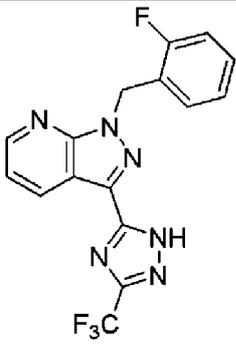
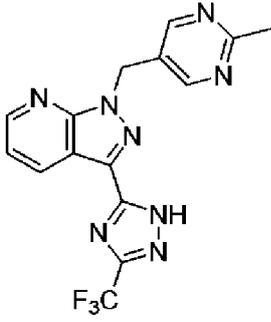
1. Способ лечения заболевания, болезненного состояния или расстройства центральной нервной системы (ЦНС) у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту в качестве монотерапии или комбинированной терапии терапевтически эффективного количества соединения или его фармацевтически приемлемой соли, где соединение выбирают из представленных в таблице I, или их фармацевтически приемлемых солей:

Таблица I

| Структура | Номер соединения |
|---|------------------|
|  | I-8 |
|  | I-9 |
|  | I-3 |

| | |
|--|------|
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=NC(=N3)N2C(F)F</chem> | I-11 |
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=NC(=N3)N2Cc4ccccc4</chem> | I-12 |
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=NC(=N3)N2C(F)(F)F</chem> | I-13 |
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=NC(=N3)N2S(=O)(=O)C</chem> | I-14 |
|  <chem>Cc1ccc(F)cc1C2=C3C=NC(=N3)N2C(=O)N</chem> | I-15 |

| | |
|---|------|
|  | I-7 |
|  | I-6 |
|  | I-10 |
|  | I-5 |
|  | I-4 |

| | |
|--|------|
|  | I-16 |
|  | I-2 |
|  | I-1 |

2. Способ по п.1, где заболевание, болезненное состояние или расстройство ЦНС выбирают из болезни Альцгеймера, амиотрофического бокового склероза (ALS или болезни Лу Герига), синдрома Дауна, деменции, сосудистой деменции, сосудистого когнитивного нарушения, деменции Бинсвангера (субкортикальной артериосклеротической энцефалопатии), церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL или синдрома CADASIL), лобно-височной лобарной дегенерации или деменции, ВИЧ-ассоциированной деменции, деменции с тельцами Леви, пресенильной деменции (умеренного когнитивного нарушения, MCI), глаукомы, болезни Хантингтона (или хорей, HD), рассеянного склероза (MS), множественной системной атрофии (MSA), болезни Паркинсона, паркинсонизма плюс спинально-церебеллярной атаксии, болезни Стила-Ричардсона-Ольшевского (прогрессирующего надъядерного

паралича), синдрома дефицита внимания (ADD) и синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (ADHD).

3. Способ по п.1, где заболевание, болезненное состояние или расстройство ЦНС представляет собой:

а) психиатрическое, умственное, душевное или аффективное расстройство, выбранное из биполярного расстройства, шизофрении, общего психоза, психоза, вызванного употреблением наркотических веществ, бредового расстройства, шизоаффективного расстройства, обсессивно-компульсивного расстройства (OCD), депрессивного расстройства, тревожного расстройства, панического расстройства или посттравматического стрессового расстройства (PTSD);

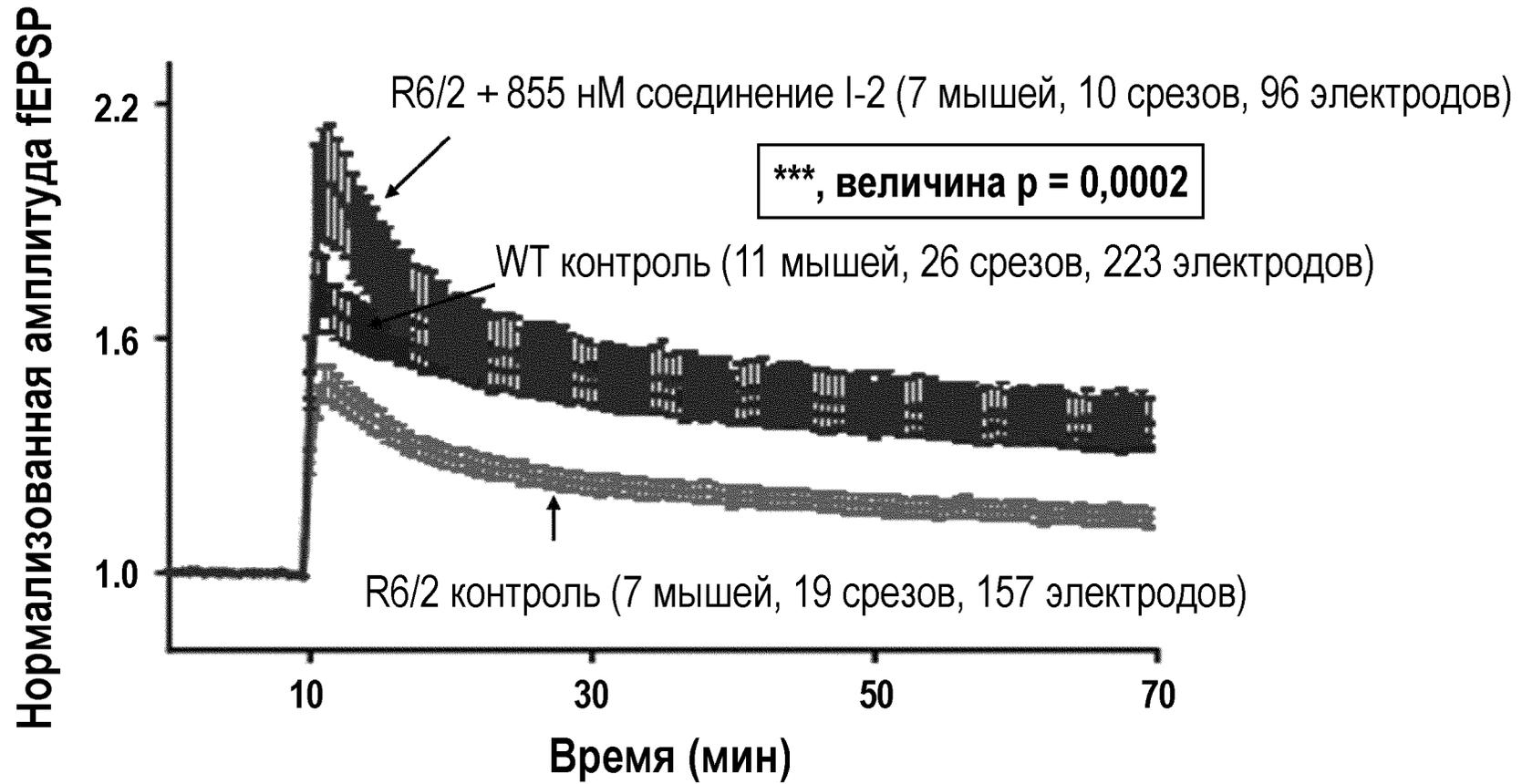
б) расстройство, характеризующееся относительным снижением синаптической пластичности и синаптических процессов, включающее синдром фрагильной X-хромосомы, синдром Ретта, синдром Вильямса, синдром Ренпеннинга, расстройства аутического спектра, аутизм, синдром Аспергера, общее расстройство психологического развития и дезинтегративное расстройство детского возраста;

с) нейропатическую боль;

d) глаукому.

По доверенности

ФИГ.1



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

| | | |
|---|---|--|
| Applicant's or agent's file reference 127553-04320 | FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below. | |
| International application No. PCT/US2017/060299 | International filing date (<i>day/month/year</i>) 7 November 2017 (07-11-2017) | (Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 8 November 2016 (08-11-2016) |
| Applicant IRONWOOD PHARMACEUTICALS, INC | | |

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- the international application in the language in which it was filed
- a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).

c. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- the text is approved as submitted by the applicant
- the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- the text is approved as submitted by the applicant
- the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
 - as suggested by the applicant
 - as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
 - as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/060299

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/437 A61K31/5025 A61K31/506 A61K31/519 A61P25/00
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X | LEE R ROBERTS ET AL: "Acidic triazoles as soluble guanylate cyclase stimulators", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, AMSTERDAM, NL, vol. 21, no. 21, 13 August 2011 (2011-08-13), pages 6515-6518, XP028308807, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/J.BMCL.2011.08.071 [retrieved on 2011-08-28] | 1-3 |
| Y | the whole document | 4-19 |
| Y | WO 2007/124854 A1 (BAYER HEALTHCARE AG [DE]; SCHIROK HARTMUT [DE]; GRIEBENOW NILS [DE]; F) 8 November 2007 (2007-11-08) page 2, line 26 - line 28 page 28, line 3 - line 24; examples 4-6,12-24 | 4-19 |
| | ----- -/-- | |

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

| | |
|---|---|
| Date of the actual completion of the international search 17 January 2018 | Date of mailing of the international search report 23/01/2018 |
|---|---|

| | |
|--|---|
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016 | Authorized officer Hoff, Philippe |
|--|---|

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/060299

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|---|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | <p>RAHUL PUROHIT ET AL: "YC-1 Binding to the [beta] Subunit of Soluble Guanylyl Cyclase Overcomes Allosteric Inhibition by the [alpha] Subunit", BIOCHEMISTRY, vol. 53, no. 1, 30 December 2013 (2013-12-30), pages 101-114, XP55441188, US ISSN: 0006-2960, DOI: 10.1021/bi4015133 abstract; figure 1; compounds PF-25 -----</p> | 1-19 |
| X,P | <p>WO 2017/106175 A2 (IRONWOOD PHARMACEUTICALS INC [US]) 22 June 2017 (2017-06-22) paragraph [0317]; table IZC page 154, paragraph 336 - page 164, paragraph 380 -----</p> | 1-3 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/060299

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date | |
|--|------------------|-------------------------|--------------------|------------|
| WO 2007124854 | A1 | 08-11-2007 | CA 2650393 A1 | 08-11-2007 |
| | | | DE 102006020327 A1 | 27-12-2007 |
| | | | EP 2013205 A1 | 14-01-2009 |
| | | | JP 2009534435 A | 24-09-2009 |
| | | | US 2010004235 A1 | 07-01-2010 |
| | | | WO 2007124854 A1 | 08-11-2007 |
| ----- | | | | |
| WO 2017106175 | A2 | 22-06-2017 | NONE | |
| ----- | | | | |