

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

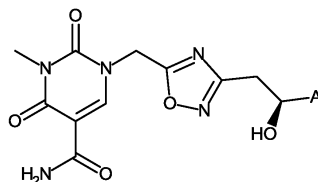
(11) **047941**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- | | |
|---|--|
| <p>(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.09.30</p> <p>(21) Номер заявки
202392821</p> <p>(22) Дата подачи заявки
2022.04.13</p> | <p>(51) Int. Cl. C07D 409/14 (2006.01)
C07D 413/06 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
A61P 11/14 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)</p> |
|---|--|

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ УРАЦИЛА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ TRPA1

- | | |
|---|---|
| <p>(31) 21168433.7</p> <p>(32) 2021.04.14</p> <p>(33) EP</p> <p>(43) 2023.12.08</p> <p>(86) PCT/EP2022/059816</p> <p>(87) WO 2022/219013 2022.10.20</p> <p>(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)</p> <p>(72) Изобретатель:
Биндер Флориан Пауль Кристиан,
Флек Мартин Томас, Вилльвахер
Йенс (DE)</p> <p>(74) Представитель:
Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)</p> | <p>(56) WO-A1-2017060488
LAURIE B. SCHENKEL ET AL.:
"Optimization of a Novel Quinazolinone-Based.
Series of Transient Receptor Potential A1 (TRPA1)
Antagonists Demonstrating Potent in Vivo Activity",
JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol.
59, no. 6, 24 March 2016 (2016-03-24), pages
2794-2809, XP055373392, ISSN: 0022-2623, DOI:
10.1021/acs.jmedchem.6b00039, compound 31
EP-A1-1896434</p> |
|---|---|

- (57) В настоящем описании предложены определенные производные урацила формулы (I), которые являются ингибиторами транзитного рецепторного потенциала анкирина 1 (TRPA1) и поэтому пригодны для лечения заболеваний, поддающихся лечению ингибированием TRPA1. Также предложены содержащие их фармацевтические композиции и способы получения указанных соединений.



(I)

B1**047941****047941****B1**

Область, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к определенным производным урацила, которые являются ингибиторами транзиторного рецепторного потенциала анкирина 1 (TRPA1) и поэтому применимы для лечения заболеваний, поддающихся лечению путем ингибирования TRPA1. Также предложены содержащие их фармацевтические композиции и способы получения указанных соединений.

Предпосылки создания изобретения

Каналы транзиторного рецепторного потенциала (каналы TRP) представляют собой группу потенциалзависимых ионных каналов, расположенных в основном на плазматической мембране многих типов клеток млекопитающих. Существует примерно 30 структурно связанных каналов TRP, отсортированных по группам: TRPA, TRPC, TRPM, TRPML, TRPN, TRPP и TRPV. Катионный канал транзиторного рецепторного потенциала, подсемейство А, член 1 (TRPA1), также известный как транзиторный рецепторный потенциал анкирина 1, является единственным членом подсемейства генов TRPA. Структурно каналы TRPA характеризуются множественными N-концевыми анкириновыми повторами (~14 на N-конце TRPA1 человека), что дает начало букве "А" для обозначения анкирина (Montell, 2005).

TRPA1 в высокой степени экспрессируется в плазматической мембране сенсорных нейронов задних корешков и узловых ганглиев, которые обслуживают как кожу, так и легкие, а также в тонком кишечнике, толстой кишке, поджелудочной железе, скелетных мышцах, сердце, головном мозге, мочевом пузыре и лимфоцитах (<https://www.proteinatlas.org/>), а также в фибробластах легких человека.

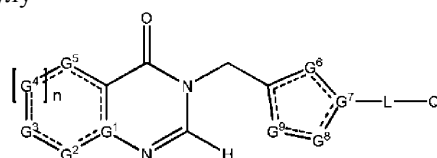
TRPA1 наиболее известен как сенсор для раздражителей окружающей среды, вызывающих сомато-сенсорные модальности, такие как боль, холод и зуд. TRPA1 активируется рядом реакционноспособных электрофильных стимулов (например, аллилизотиоцианатом, активной формой кислорода), а также не-реакционноспособными соединениями (например, ицилином), вызывая кашель, связанный с астмой, хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), идиопатическим легочным фиброзом (ИЛФ) или поствирусный кашель, или хронический идиопатический кашель, а также кашель у чувствительных пациентов (Song and Chang, 2015; Grace and Belvisi, 2011). Ингибиторы TRPA1 пригодны при лечении ИЛФ, при котором кашель широко распространен из-за связи между кашлем и повреждением легких, на основании исследований, показывающих вызванное кашлем повышение TGF- β (Xie и соавт., 2009; Froese и соавт., 2016; Tschumperlin и соавт., 2003; Yamamoto и соавт., 2002; Ahamed и соавт., 2008). Острое повреждение легких в результате инфекции SARS-Cov-2 опосредовано, по меньшей мере частично, активными формами кислорода (АФК). АФК являются прямым активатором TRPA1. Кроме того, предполагают, что десенсибилизация TRPA1 посредством потребления острой пищи регулирует путь Nrf2 и снижает окислительный стресс (Bousquet et al., 2020, Bousquet et al., 2021). Таким образом, ингибиторы TRPA1 имеют потенциал в лечении поражений легких, вызванных Covid-19/SARS-Cov-2. Антагонисты TRPA1 ингибируют передачу сигналов кальция, запускаемую триггерами кашля, такими как окислительный стресс от экстракта сигаретного дыма (ЭСД), высвобождение медиатора воспаления и снижение экспрессии генов антиоксидантов (Lin и соавт., 2015; Wang и соавт., 2019). Антагонисты TRPA1 эффективны в исследованиях атопического дерматита (Oh и соавт., 2013; Wilson и соавт., 2013), контактного дерматита (Liu и соавт., 2013), зуда, связанного с псориазом (Wilson и соавт., 2013) и IL-31-зависимого зуда (Cevikbas и соавт., 2014). Увеличение функции TRPA1 у человека было связано с семейным эпизодическим болевым синдромом (Kremeyer и соавт., 2010). Антагонист TRPA1 был эффективен в поведенческой модели аллодинии, связанной с мигренью (Edelmayer и соавт., 2012). TRPA1 селективно увеличивается в ганглиях тройничного нерва, иннервирующих поврежденные зубы, по сравнению с экспрессией TRPA1 в ганглиях тройничного нерва, иннервирующих здоровые зубы (Haas и соавт., 2011). Известно, что несколько анестетиков являются агонистами TRPA1, в том числе изофлуран (Matta и соавт., 2008), что обосновывает применение ингибиторов TRPA1 для облегчения послеоперационной боли. Мыши с нокаутом TRPA1 и мыши дикого типа, получавшие лечение антагонистом TRPA1, демонстрировали фенотипы, подобные анксиолитикам и антидепрессантам (de Moura и соавт., 2014). Ожидается, что ингибиторы TRPA1 будут пригодны для лечения диабетической невропатии на основании исследований, показывающих механистическую связь обратной регуляции между AMPK и TRPA1 (Hiyama и соавт., 2018; Koivisto and Pertovaara, 2013; Wang и соавт., 2018). Мыши с нокаутом TRPA1 демонстрируют меньшие размеры инфаркта миокарда по сравнению с мышами дикого типа (Conklin и соавт., 2019). Нокаут TRPA1 и фармакологическое вмешательство ингибировали TNBS-индуцированный колит у мышей (Engel и соавт., 2011). В модели ишемии головного мозга у мышей нокаут TRPA1 и антагонисты TRPA1 уменьшают повреждение миелина (Hamilton и соавт., 2016). Кристаллы уратов и воспаление суставов уменьшаются у мышей с нокаутом TRPA1 в мышинной модели подагры с моносодиевым уратом (Moilanen и соавт., 2015). Делеция TRPA1 у крыс уменьшала воспаление суставов и гипералгезию в крысиной модели острых приступов подагры (Trevisan и соавт., 2014). Активация TRPA1 вызывает воспалительную реакцию в остеоартритных хондроцитах (Nummenmaa и соавт., 2016). Ингибирование TRPA1 и генетическая делеция уменьшают медиаторы воспаления в хондроцитах мышей с остеоартритом и мышечном хряще (Nummenmaa и соавт., 2016). Наконец, мыши с нокаутом TRPA1 продемонстрировали улучшение переносимости массы на конечность с остеоартритом в модели отека колена, вызванного посредством MIA (Horvath и соавт., 2016). TRPA1 по-разному экспрессируется в эпителии мочевого пузыря

крыс (Du и соавт., 2007) и у пациентов с инфравезикальной обструкцией (Du и соавт., 2008). Модуляция рецептора TRPA1 ослабляет гиперактивность мочевого пузыря в крысиной модели повреждения спинного мозга (Andrade и соавт., 2011), а интратекальное введение антагонистов TRPA1 ослабляет вызванный циклофосфамидом цистит у крыс с гиперрефлексией мочеиспускания (Chen и соавт., 2016).

Поэтому желательно предоставить сильнодействующие ингибиторы TRPA1.

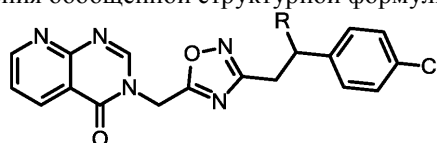
Обзор ингибиторов TRPA1 различных структурных классов представлен в S. Skerratt, *Progress in Medicinal Chemistry*, 2017, том 56, 81-115, в D. Preti, G. Saponaro, A. Szallasi, *Pharm. Pat. Anal.* (2015) 4 (2), 75-94 и в H. Chen, *Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) antagonists: a patent review (2015-2019)*, *Expert Opin Ther Pat.*, 2020.

В заявке WO 2017/060488 раскрыты соединения, являющиеся антагонистами TRPA1, имеющие обобщенную структурную формулу



Активности TRPA1 в примерах 53, 72, 73, 86 и 90 раскрыты там как имеющие IC_{50} менее 100 нМ в анализе потока кальция.

У L. Schenkel и соавт., *J. Med. Chem.* 2016, 59, 2794-2809 описаны антагонисты TRPA1 на основе хиназолинонов, включая соединения обобщенной структурной формулы:



из которых соединение 31, где R представляет собой OH, раскрыто как имеющее антагонистическую активность TRPA1 IC_{50} 58 нМ в анализе FLIPR и имеющее внутренний клиренс в микросомах печени человека <14 мкл/мин/кг.

Подробное описание изобретения

В настоящем изобретении раскрыты новые производные урацила, которые являются ингибиторами транзитного рецепторного потенциала анкирина 1 (TRPA1), обладающие соответствующими фармакологическими и фармакокинетическими свойствами, позволяющими использовать их в качестве лекарственных средств для лечения состояний и/или заболеваний, поддающихся лечению путем ингибирования TRPA1.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут иметь несколько преимуществ, таких как повышенная эффективность, высокая метаболическая и/или химическая стабильность, высокая селективность, безопасность и переносимость, повышенная растворимость, повышенная проницаемость, хорошее связывание с белками плазмы, повышенная биодоступность, подходящие фармакокинетические профили и возможность образования стабильных солей.

Соединения в соответствии с изобретением

В настоящем изобретении предложены новые производные урацила, которые неожиданным образом являются сильнодействующими ингибиторами TRPA1 (анализ А), дополнительно характеризующиеся:

улучшенной стабильностью в микросомах печени человека (анализ В) улучшенной стабильностью в гепатоцитах человека (анализ С).

Соединения в соответствии с настоящим изобретением структурно отличаются от примеров 53, 72, 73, 86 и 90 в WO 2017/060488 и от примера 31 в L. Schenkel, и соавт., *J. Med. Chem.* 2016, 59, 2794-2809, тем, что они содержат замещенное урациловое ядро, а также заместители, смежные со вторичным алифатическим спиртом. Эти структурные различия неожиданно приводят к благоприятному сочетанию (i) ингибирования TRPA1, (ii) стабильности в микросомах печени человека и (iii) стабильности в гепатоцитах человека.

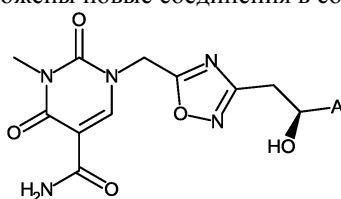
Стабильность в микросомах печени человека относится к восприимчивости соединений к биотрансформации в контексте выбора и/или разработки лекарственных средств с благоприятными фармакокинетическими свойствами в качестве первой стадии скрининга. Основным местом метаболизма многих лекарственных средств является печень. Микросомы печени человека содержат цитохромы P450s (CYP), и таким образом, представляют собой модельную систему для изучения метаболизма лекарственных средств в фазе I *in vitro*. Повышенная стабильность в микросомах печени человека связана с рядом преимуществ, включая повышенную биодоступность и адекватный период полувыведения, что позволяет снизить дозировку и реже вводить пациентам. Таким образом, повышенная стабильность в микросомах печени человека является благоприятной характеристикой соединений, которые предполагают использовать в качестве лекарственных средств. Поэтому ожидают, что соединения в соответствии с настоящим изобретением помимо способности ингибировать TRPA1 будут иметь благоприятный клиренс

in vivo и, таким образом, желаемую продолжительность действия у людей.

Стабильность в гепатоцитах человека относится к восприимчивости соединений к биотрансформации в контексте выбора и/или разработки лекарственных средств с благоприятными фармакокинетическими свойствами.

Основным местом метаболизма многих лекарственных средств является печень. Гепатоциты человека содержат цитохромы P450s (CYP) и другие ферменты, метаболизирующие лекарственные средства, и, таким образом, представляют собой модельную систему для изучения метаболизма лекарственных средств in vitro. (Важно, что в отличие от анализа микросом печени, анализ гепатоцитов охватывает также биотрансформацию фазы II, а также процессы, опосредованные специфическими транспортерами печени, и, следовательно, представляет собой более полную систему для исследований метаболизма лекарственных средств). Повышенная стабильность в гепатоцитах человека имеет ряд преимуществ, в том числе повышенную биодоступность и адекватный период полувыведения, что позволяет снизить дозировку и реже вводить её пациентам. Таким образом, повышенная стабильность в гепатоцитах человека является благоприятной характеристикой для соединений, которые предполагается использовать в качестве лекарственных средств.

В настоящем изобретении предложены новые соединения в соответствии с формулой (I)



(I)

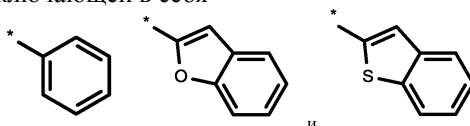
в которой А выбирают из группы, включающей в себя фенил, тиофенил, бензофуранил и бензотиофенил, и где А незамещен или замещен одним или двумя членами группы R¹, включающей в себя галоген и C₁₋₄алкил.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к соединению формулы (I), в которой А выбирают из группы, включающей в себя фенил, тиофенил, бензофуранил и бензотиофенил, и где А незамещен или замещен одним или двумя членами группы R¹, включающей в себя F, Cl, I и CH₃.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к соединению формулы (I), в которой А выбирают из группы, включающей в себя фенил, бензофуранил и бензотиофенил, и где А незамещен или замещен одним или двумя членами группы R¹, включающей в себя галоген и C₁₋₄алкил.

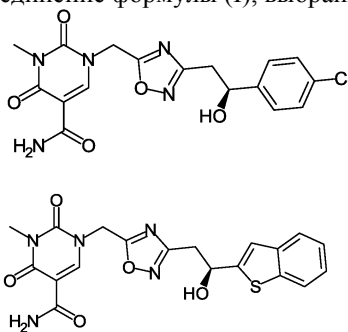
Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к соединению формулы (I), в которой А выбирают из группы, включающей в себя фенил, бензофуранил и бензотиофенил, и где А незамещен или замещен одним или двумя членами группы R¹, включающей в себя F, Cl, I и CH₃.

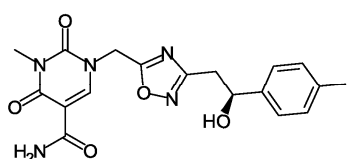
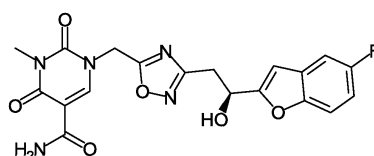
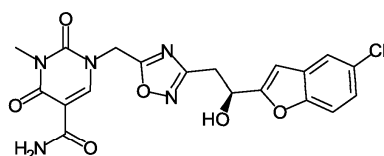
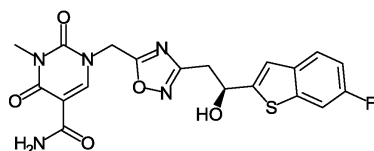
Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к соединению формулы (I), в которой А выбирают из группы, включающей в себя



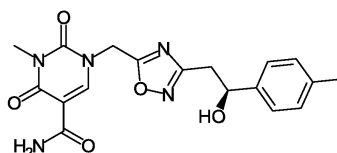
и где А незамещен или замещен одним или двумя членами группы R¹, и R¹ имеет определение как в любом из предыдущих вариантов осуществления.

Предпочтительным является соединение формулы (I), выбранное из группы, включающей в себя





и



Используемые термины и определения

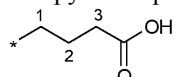
Терминам, не определенным в настоящей заявке конкретно, следует придавать значения, которые им придавал бы специалист в данной области техники в свете раскрытия и контекста. Однако при использовании в описании, если не указано иное, следующие термины имеют указанное значение, и соблюдаются следующие соглашения.

В определенных ниже группах, радикалах или фрагментах количество атомов углерода часто указано перед группой, например, C₁₋₆алкил означает алкильную группу или радикал, имеющий от 1 до 6 атомов углерода. Как правило, в таких группах, как HO, H₂N, (O)S, (O)₂S, NC (циано), HOOC, F₃C или т.п., специалист в данной области техники может увидеть точку (точки) присоединения радикала к молекуле по свободным валентностям самой группы. Для объединенных групп, состоящих из двух и большего количества подгрупп, последняя названная подгруппа представляет собой точку присоединения радикала, например, заместитель "арил-C₁₋₃алкил" означает арильную группу, которая связана с C₁₋₃алкильной группой, последняя из которых связана с ядром или с группой, к которой присоединен заместитель.

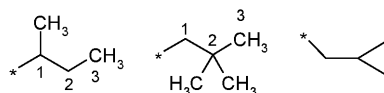
В случае, если соединение в соответствии с настоящим изобретением представлено в форме химического названия и в виде формулы, в случае любого расхождения преимущественную силу имеет формула. Звездочка может быть использована в подформулах для обозначения связи, которая связана с основной молекулой, как определено.

Нумерация атомов заместителя начинается с атома, ближайшего к ядру или группе, к которой присоединен заместитель.

Например, термин "3-карбоксыпропильная группа" представляет собой следующий заместитель:



где карбокси-группа присоединена к третьему атому углерода пропильной группы. Термины "1-метилпропильная", "2,2-диметилпропильная" или "циклопропилметильная" группа представляют собой следующие группы:



Звездочка может быть использована в подформулах для обозначения связи, которая связана с ос-

новой молекулой, как определено.

Термин "С_{1-n}алкил", где n представляет собой целое число, выбранное из 2, 3, 4 или 5, либо отдельно, либо в сочетании с другим радикалом означает ациклический, насыщенный, разветвленный или линейный углеводородный радикал с от 1 до n атомов С. Например, термин С₁₋₅алкил включает в себя радикалы Н₃С-, Н₃С-СН₂-, Н₃С-СН₂-СН₂-, Н₃С-СН(СН₃)-, Н₃С-СН₂-СН₂-СН₂-, Н₃С-СН₂-СН(СН₃)-, Н₃С-СН(СН₃)-СН₂-, Н₃С-С(СН₃)₂-, Н₃С-СН₂-СН₂-СН₂-СН₂-, Н₃С-СН₂-СН₂-СН(СН₃)-, Н₃С-СН₂-СН(СН₃)-СН₂-, Н₃С-СН(СН₃)-СН₂-СН₂-, Н₃С-СН₂-С(СН₃)₂-, Н₃С-С(СН₃)₂-СН₂-, Н₃С-СН(СН₃)-СН(СН₃)- и Н₃С-СН₂-СН(СН₂СН₃)-.

Термин "фтор", добавленный к "алкильной", "алкиленовой" или "циклоалкильной" группе (насыщенной или ненасыщенной), означает такую алкильную или циклоалкильную группу, в которой один или несколько атомов водорода заменены атомом фтора. Примеры включают в себя, но не ограничиваются: Н₂FC-, HF₂C- и F₃C-.

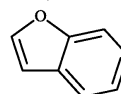
Термин фенил относится к радикалу следующего кольца



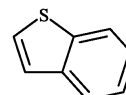
Термин тиофенил относится к радикалу следующего кольца



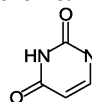
Термин бензофуранил относится к радикалу следующего кольца



Термин бензотиофенил относится к радикалу следующего кольца



Термин урацил относится к радикалу следующего ядра



Используемый в настоящей заявке термин "замещенный" означает, что любой один или большее количество атомов водорода в обозначенном атоме замещены атомом, выбранным из указанной группы, при условии, что нормальная валентность обозначенного атома не превышена, и что замещение приводит к стабильному соединению.

Если не указано конкретно, то в описании и прилагаемой формуле изобретения, приведенная химическая формула или название должны охватывать таутомеры и все стерео-, оптические и геометрические изомеры (например, энантиомеры, диастереомеры, E/Z-изомеры и т.д.) и их рацематы, а также их смеси в различных пропорциях отдельных энантиомеров, смеси диастереомеров или смеси любых из вышеуказанных форм, где такие изомеры и энантиомеры существуют, а также соли, включая их фармацевтически приемлемые соли и их сольваты, такие как, например, гидраты, включая сольваты свободных соединений или сольваты соли соединения.

Как правило, практически чистые стереоизомеры могут быть получены в соответствии с принципами синтеза, известными специалисту в данной области, например, разделением соответствующих смесей, используя стереохимически чистые исходные вещества и/или путем стереоселективного синтеза. Из уровня техники известно, как получить оптически активные формы, например, путем разделения рацемических форм или путем синтеза, например, исходя из оптически активных исходных веществ и/или с использованием хиральных реагентов.

Энантиомерно чистые соединения в соответствии с настоящим изобретением или промежуточные соединения могут быть получены посредством асимметричного синтеза, например, путем получения и последующего разделения соответствующих диастереомерных соединений или промежуточных соединений, которые могут быть разделены известными способами (например, хроматографическим разделением или кристаллизацией) и/или путем использования хиральных реагентов, таких как хиральные исходные вещества, хиральные катализаторы или хиральные вспомогательные вещества.

Кроме того, специалисту в данной области известно, как получить энантиомерно чистые соединения из соответствующих рацемических смесей, например, путем хроматографического разделения соответствующих рацемических смесей на хиральных неподвижных фазах; или путем разделения рацемической смеси с использованием подходящего разделяющего агента, например, посредством образования диастереомерной соли рацемического соединения с оптически активными кислотами или основаниями, последующим разделением солей и высвобождением желаемого соединения из соли; или путем дериватизации соответствующих рацемических соединений оптически активными хиральными вспомогательными реагентами с последующим разделением диастереомеров и удалением хиральной вспомогательной группы; или путем кинетического разделения рацемата (например, путем ферментативного разделения); энантиоселективной кристаллизацией из конгломерата энантиоморфных кристаллов в подходящих усло-

виях; или путем (фракционной) кристаллизации из подходящего растворителя в присутствии оптически активного хирального вспомогательного вещества.

Фразу "фармацевтически приемлемый" используют в настоящей заявке для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые, в рамках здорового медицинского заключения, подходят для использования при контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений и соизмеримы с разумным соотношением польза/риск.

Используемое в настоящей заявке понятие "фармацевтически приемлемая соль" относится к производным описанных соединений, в которых исходное соединение образует соль или комплекс с кислотой или основанием.

Примеры кислот, образующих фармацевтически приемлемую соль с исходным соединением, содержащим основную группу, включают в себя минеральные или органические кислоты, такие как бензолсульфоновая кислота, бензойная кислота, лимонная кислота, этансульфоновая кислота, фумаровая кислота, гентициновая кислота, бромистоводородная кислота, соляная кислота, малеиновая кислота, яблочная кислота, малоновая кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, 4-метилбензолсульфоновая кислота, фосфорная кислота, салициловая кислота, янтарная кислота, серная кислота и винная кислота.

Примеры катионов и оснований, образующих фармацевтически приемлемую соль с исходным соединением, содержащим кислотный фрагмент, включают в себя Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ , L-аргинин, 2,2'-иминобисэтанол, L-лизин, N-метил-D-глюкамин или трис(гидроскиметил)аминометан.

Фармацевтически приемлемые соли в соответствии с настоящим изобретением можно синтезировать из исходного соединения, которое содержит основной или кислотный фрагмент, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены взаимодействием свободных кислотных или основных форм этих соединений с достаточным количеством подходящего основания или кислоты в воде или в органическом разбавителе, таком как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, или их смесь.

Соли других кислот, кроме приведенных выше, которые, например, применимы для очистки или выделения соединений в соответствии с настоящим изобретением (например, трифторацетатных солей), также являются частью настоящего изобретения.

Биологические анализы

Оценка активности TRPA1.

Анализ А: анализ TRPA1.

Активность соединений в соответствии с изобретением можно продемонстрировать с помощью следующего анализа клеток TRPA1 *in vitro*.

Метод.

Линию клеток НЕК293 человека, сверхэкспрессирующих ионный канал TRPA1 человека (Perkin Elmer, № продукта AX-004-PCL), используют в качестве тестовой системы для определения эффективности и действенности соединения. Активность соединений определяют путем измерения влияния соединений на внутриклеточную концентрацию кальция, индуцированную агонизмом АИТС (аллилизотиоцианат) в системе FLIPRtetra (Molecular Devices).

Клеточная культура.

Клетки получают в виде замороженных клеток в криопробирках и хранят до использования при -150°C .

Клетки выращивают в культуральной среде (среда MEM/EBSS с 10% FCS и 0,4 мг/мл генетицина). Важно, чтобы плотность не превышала 90% слияния. Для пересева клетки отсоединяют от колб от Versene. За день до анализа клетки отделяют, дважды промывают средой (среда MEM/EBSS с 10% FCS) и 20000 клеток в 20 мкл/лунку высевают в биопокрытые поли-D-лизином 384-луночные планшеты (черные, с прозрачным дном, кат. 356697) от Corning. Планшеты инкубируют в течение 24 часов при $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ перед использованием в анализе.

Получение соединения.

Тестируемые соединения растворяют в 100% ДМСО в концентрации 10 мМ и на первой стадии разбавляют в ДМСО до концентрации 5 мМ, после чего следуют стадии последовательного разведения в 100% ДМСО. Коэффициент разбавления и количество стадий разбавления могут варьироваться в зависимости от потребностей. Обычно готовят 8 различных концентраций при разведении 1:5, дальнейшие промежуточные разведения (1:20) веществ осуществляют с буфером HBSS/HEPES (1xHEPES, кат. 14065 от Gibco, 20 мМ HEPES, кат. 83264 от SIGMA, 0,1% BSA кат. 11926 от Invitrogen, pH 7,4).

Анализ FLIPR.

В день анализа клетки 3 раза промывают с помощью буфера для анализа, после промывки в лунках оставалось 20 мкл буфера. К клеткам добавляют 10 мкл загрузочного буфера из набора CaB (кат. R8191 MolecularDevices) в HBSS/HEPES, и планшеты инкубируют под крышкой в течение 120 минут при $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. В лунки осторожно добавляют 10 мкл соединения или контролей в буфере HBSS/HEPES/5% ДМСО из планшета для промежуточного разведения. Люминесценцию (указывающую

на приток или высвобождение кальция) считывают на устройстве FLIPRtetra в течение 10 минут для мониторинга эффектов, вызываемых соединением (например, агонизма). Наконец, в лунки добавляют 10 мкл агониста АІТС 50 мкМ, растворенного в буфере HBSS/HEPES/0,05% ДМСО (конечная концентрация 10 мкМ), с последующим дополнительным считыванием на устройстве FLIPRtetra в течение 10 минут. Площадь под кривой сигнала (AUC) после добавления АІТС используют для расчетов IC₅₀/% ингибирования.

Оценка данных и расчет.

Каждый микротитрационный планшет для анализа содержит лунки с контрольными лекарственными основами (1% ДМСО) вместо соединения в качестве контроля для индуцированной АІТС люминесценции (100% СТЛ; высокие контроли) и лунки с контрольными лекарственными основами без АІТС в качестве контроля неспецифических изменений люминесценции (0% СТЛ; низкий контроль).

Анализ данных осуществляют путем расчета площади под кривой сигнала отдельных лунок. На основе этих значений вычисляют процентное значение для измерения концентрации каждого вещества (AUC(образец) - AUC(низкий))×100/(AUC(высокий) - AUC(низкий)) с использованием программного обеспечения MegaLab (собственной разработки). Значения IC₅₀ рассчитывают из % контрольных значений с использованием программного обеспечения MegaLab. Расчет: $[y=(a-d)/(1+(x/c)^b)+d]$, a = низкое значение, d = высокое значение; x = конц М; c=IC₅₀ М; b = возвышение; y = % контроль.

Таблица 1

Биологические данные для соединений в соответствии с изобретением, полученные в анализе А.

Пример	hTRPA1 IC ₅₀ [нМ]
1	38
2	6
3	8
4	15
5	33
6	57
7	84

Таблица 2

Биологические данные для соединений предшествующего уровня техники (примеры 53, 72, 73, 86, 90 в WO 2017/060488), полученные в анализе А

Пример в WO 2017/060488	hTRPA1 IC ₅₀ [нМ]
53	36
72	14
73	28
86	67
90	41

Таблица 3

Биологические данные для соединений предшествующего уровня техники (пример 31 в L. Schenkel, и соавт., J. Med. Chem. 2016, 59, 2794-2809), полученные в анализе А

Пример в Med. Chem. 2016, 59, 2794–2809	hTRPA1 IC ₅₀ [нМ]
31	52

Оценка микросомального клиренса.

Анализ В: Микросомальный клиренс.

Метаболическую деградацию тестируемого соединения анализируют при 37°C с объединенными микросомами печени. Конечный инкубационный объем 100 мкл на момент времени содержит буфер TRIS с pH 7,6 при КТ (0,1 М), хлорид магния (5 мм), микросомальный белок (1 мг/мл) и тестируемое соединение в конечной концентрации 1 мкМ.

После короткого периода предварительной инкубации при 37°C реакции инициируют путем добавления восстановленной формы бета-никотинамид адениндинуклеотидфосфата (NADPH, 1 мм) и заканчивают путем переноса аликвоты в растворитель через различные моменты времени (0, 5, 15, 30, 60 мин). Кроме того, независимую от NADPH деградацию отслеживают в инкубациях без NADPH, завершаемых в последний момент времени. [%] оставшегося испытуемого соединения после инкубации независимо от NADPH отражается параметром с(контрольной) (метаболической стабильности). Погашенные инкубации осаждают центрифугированием (10000 g, 5 мин).

Аликвоту супернатанта анализируют с помощью ЖХ-МС/МС на количество исходного соединения. Период полувыведения (t_{1/2} INVITRO) определяют наклоном полулогарифмического графика зависимости концентрации от времени.

Внутренний клиренс (CLINTRINSIC) рассчитывают с учетом количества белка в инкубации:

$$CL_INTRINSIC \text{ [мкл/мин/мг белка]} = (\text{Ln } 2 / (\text{период полувыведения [мин]} \times \text{содержание белка [мг/мл]})) \times 1000$$

$$CL_INTRINSIC_INVIVO \text{ [мл/мин/кг]} = (CL_INTRINSIC \text{ [мкл/мин/мг белка]} \times MPPGL \text{ [мг белка/г печени]} \times \text{печеночный фактор [г/кг массы тела]}) / 1000$$

$$Qh \text{ [%]} = CL \text{ [мл/мин/кг]} / \text{печеночный кровоток [мл/мин/кг]}$$

Гепатоцеллюлярность, человек: 120×10^6 клеток/г печени.

Фактор печени, человек: 25,7 г/кг массы тела.

Кровоток, человек: 21 мл/(мин x кг).

Таблица 4

Биологические данные для соединений в соответствии с изобретением, полученные в анализе В

Пример	LM человека [%Qh]
1	<23
2	<23
3	43
4	<23
5	<23
6	24
7	<23

Таблица 5

Биологические данные для соединений предшествующего уровня техники (примеры 53, 72, 73, 86, 90 в WO 2017/060488), полученные в анализе В

Пример в WO 2017/060488	LM человека [% Qh]
53	<23
72	30
73	38
86	<23
90	39

Таблица 6

Биологические данные для соединений предшествующего уровня техники (пример 31 в L. Schenkel, и соавт., J. Med. Chem. 2016, 59, 2794-2809), полученные в анализе В

Пример в Med. Chem. 2016, 59, 2794-2809	LM человека [% Qh]
31	<23

Оценка клиренса гепатоцитов.

Анализ С: Клиренс гепатоцитов.

Метаболическую деградацию тестируемого соединения анализируют в суспензии гепатоцитов. Гепатоциты (криоконсервированные) инкубируют в модифицированной по Дульбекко среде Игла (с добавлением 3,5 мкг глюкагона/500 мл, 2,5 мг инсулина/500 мл и 3,75 мг/500 мл гидрокортизона), содержащей 5% или 50% видовой сыворотки.

После 30-минутной предварительной инкубации в инкубаторе (37°C, 10% CO₂) 5 мкл раствора испытуемого соединения (80 мкМ; из 2 мМ в исходном растворе ДМСО, разбавленном 1:25 со средой) добавляют в 395 мкл суспензии гепатоцитов (плотность клеток в диапазоне 0,25-5 млн. клеток/мл в зависимости от вида, обычно 1 млн. клеток/мл; конечная концентрация тестируемого соединения 1 мкМ, конечная концентрация ДМСО 0,05%).

Клетки инкубируют в течение шести часов (инкубатор, орбитальный шейкер) и образцы (25 мкл) берут через 0, 0,5, 1, 2, 4 и 6 часов. Образцы переносят в ацетонитрил и осаждают центрифугированием (5 мин). Супернатант переносят в новый 96-луночный планшет, выпаривают в атмосфере азота и ресуспендируют.

Снижение исходного соединения анализируют с помощью ВЭЖХ-МС/МС.

CL_{int} рассчитывают следующим образом: $CL_INTRINSIC = \text{доза} / AUC = (C_0/CD) / (AUD + \text{класт}/k) \times 1000/60$. C₀: начальная концентрация при инкубации [мкМ], CD: плотность жизнеспособных клеток [10⁶ клеток/мл], AUD: площадь под данными [мкМ × ч], класт: концентрация последней точки данных [мкМ], k: наклон кривой линии регрессии для родительского снижения [ч.⁻¹].

Рассчитанный внутренний печеночный клиренс *in vitro* можно масштабировать до внутреннего печеночного клиренса *in vivo* и использовать для прогнозирования печеночного клиренса крови *in vivo* (CL) с использованием модели печени (модель с хорошим перемешиванием).

$$CL_INTRINSIC_INVIVO \text{ [мл/мин/кг]} = (CL_INTRINSIC \text{ [мкл/мин/10}^6 \text{ клеток]} \times \text{гепатоцеллюлярность [10}^6 \text{ клеток/г печени]} \times \text{печеночный фактор [г/кг массы тела]}) / 1000$$

$$CL \text{ [мл/мин/кг]} = CL_INTRINSIC_INVIVO \text{ [мл/мин/кг]} \times \text{печеночный кровоток [мл/мин/кг]} / (CL_INTRINSIC_INVIVO \text{ [мл/мин/кг]} + \text{печеночный кровоток [мл/мин/кг]})$$

$$Qh \text{ [%]} = CL \text{ [мл/мин/кг]} / \text{печеночный кровоток [мл/мин/кг]}$$

Гепатоцеллюлярность, человек: 120×10^6 клеток/г печени.

Печеночный фактор, человек: 25,7 г/кг массы тела.

Кровоток, человек: 21 мл/(мин × кг).

Таблица 7

Биологические данные для соединений в соответствии с изобретением, полученные в анализе С

Пример	Гепатоциты человека [% Qh]
1	15
2	24
3	17
4	21
5	15
6	17
7	8

Таблица 8

Биологические данные для соединений предшествующего уровня техники (примеры 53, 72, 73, 86, 90 в WO 2017/060488), полученные в анализе С

Пример в WO 2017/060488	Гепатоциты человека [% Qh]
53	25
72	50
73	36
86	12
90	61

Таблица 9

Биологические данные для соединений предшествующего уровня техники (пример 31 в L. Schenkel, и соавт., J. Med. Chem. 2016, 59, 2794-2809), полученные в анализе С

Пример в Med. Chem. 2016, 59, 2794-2809	Гепатоциты человека [% Qh]
31	73

Оценка проницаемости.

Клетки Сасо-2 ($1-2 \times 10^5$ клеток/1 см² площади) высевают на фильтрующие вставки (поликарбонатные или ПЭТ-фильтры Costar Transwell, размер пор 0,4 мкм) и культивируют (DMEM) в течение 10-25 дней.

Соединения растворяют в соответствующем растворителе (например, ДМСО, 1-20 мМ маточные растворы). Маточные растворы разбавляют буфером НТР-4 (128,13 мМ NaCl, 5,36 мМ KCl, 1 мМ MgSO₄, 1,8 мМ CaCl₂, 4,17 мМ NaHCO₃, 1,19 мМ Na₂HPO₄×7H₂O, 0,41 мМ NaH₂PO₄×H₂O, 15 мМ HEPES, 20 мМ глюкозы, 0,25% BSA, pH 7,2) для приготовления транспортных растворов (0,1 - 300 мкМ соединения, конечный ДМСО ≤ 0,5%). Транспортный раствор (TL) наносят на апикальную или базолатеральную донорскую сторону для измерения проницаемости А-В или В-А (3 повторения фильтра) соответственно. Образцы отбирают в начале и в конце эксперимента у донора и через различные промежутки времени до 2 часов, а также у получателя для измерения концентрации с помощью ВЭЖХ-МС/МС или сцинтилляционного счета. Отобранные для образца объемы получателя заменяют свежим раствором получателя.

Оценка связывания с белками плазмы.

Данный метод равновесного диализа (РД) используют для определения приблизительного фракционного связывания *in vitro* тестируемых соединений с белками плазмы. Используют диализные ячейки Dianorm Teflon (микро 0,2). Каждая клетка состоит из донорской и акцепторной камер, разделенных ультратонкой полупроницаемой мембраной с порогом молекулярной массы 5 кДа. Маточные растворы для каждого тестируемого соединения готовят в ДМСО с концентрацией 1 мМ и разбавляют до конечной концентрации 1,0 мкМ. Последующие диализные растворы готовят из объединенной плазмы человека или крысы (с NaEDTA) от доноров мужского и женского пола. Аликвоты по 200 мкл диализного буфера (100 мМ фосфата калия, pH 7,4) распределяют в буферную камеру. Аликвоты по 200 мкл диализного раствора тестируемого соединения распределяют в камеры для плазмы. Инкубацию осуществляют в течение 2 часов при вращении при 37°C.

В конце периода диализа диализат переносят в реакционные пробирки. Пробирки для буферной фракции содержат 0,2 мл ACN/вода (80/20). Аликвоты по 25 мкл диализата плазмы переносят в планшеты с глубокими лунками и смешивают с 25 мкл ACN/вода (80/20), 25 мкл буфера, 25 мкл калибровочного раствора и 25 мкл раствора внутреннего стандарта. Преципитацию белка осуществляют путем добавления 200 мкл ACN. Аликвоты по 50 мкл буферного диализата переносят в планшеты с глубокими лунками и смешивают с 25 мкл пустой плазмы, 25 мкл раствора внутреннего стандарта и 200 мкл ACN. Образцы измеряют в системах ВЭЖХ-МС/МС и оценивают с помощью Analyst-Software. Процент связывания рассчитывают по формуле: % связывания = (концентрация в плазме - концентрация буфера/концентрация в плазме 30)×100.

Оценка растворимости.

Насыщенные растворы готовят в луночных планшетах (формат зависит от робота) путем добавления соответствующего объема выбранной водной среды (обычно в диапазоне 0,25 - 1,5 мл) в каждую лунку, содержащую известное количество твердого лекарственного вещества (обычно в пределах 0,5 - 5,0 мг). Лунки встряхивают или перемешивают в течение заданного периода времени (обычно в диапазоне от 2 до 24 часов), а затем фильтруют с использованием соответствующих фильтрующих мембран (обычно фильтров PTFE с размером пор 0,45 мкм). Абсорбцию фильтром избегают, удаляя первые несколько капель фильтрата. Количество растворенного лекарственного вещества определяют с помощью УФ спектроскопии. Кроме того, pH насыщенного водного раствора измеряют с помощью pH-метра со стеклянным электродом.

Оценка фармакокинетических характеристик.

Тестируемое соединение вводят либо внутривенно, либо перорально соответствующим тестируемым видам. Образцы крови берут в несколько моментов времени после нанесения тестируемого соединения, обрабатывают антикоагулянтом и центрифугируют.

Концентрацию аналитов - введенного соединения и/или метаболитов - количественно определяют в образцах плазмы. ФК параметры рассчитывают с использованием некомпартментных методов. AUC и C_{\max} нормированы на дозу 1 мкмоль/кг.

Оценка метаболизма в гепатоцитах человека *in vitro*.

Метаболический путь тестируемого соединения исследуют с использованием первичных гепатоцитов человека в суспензии. После восстановления после криоконсервации гепатоциты человека инкубируют в модифицированной по Дульбекко среде Игла, содержащей 5% человеческой сыворотки и дополненной 3,5 мкг глюкогона/500 мл, 2,5 мг инсулина/500 мл и 3,75 мг/500 мл гидрокортизона.

После 30-минутной предварительной инкубации в инкубаторе для клеточных культур (37°C, 10% CO₂) раствор тестируемого соединения добавляют в суспензию гепатоцитов для получения конечной плотности клеток от $1,0 \times 10^6$ до $4,0 \times 10^6$ клеток/мл (в зависимости от скорости метаболического оборота соединения, наблюдаемой с первичными гепатоцитами человека), конечной концентрации тестируемого соединения 10 мкМ и конечной концентрации ДМСО 0,05%.

Клетки инкубируют в течение шести часов в инкубаторе для клеточных культур на горизонтальном шейкере, и образцы удаляют из инкубации через 0, 0,5, 1, 2, 4 или 6 часов, в зависимости от скорости метаболического оборота. Образцы гасят ацетонитрилом и осаждают центрифугированием. Супернатант переносят в 96-луночный планшет, выпаривают в атмосфере азота и ресуспендируют перед биоанализом с помощью жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии высокого разрешения для идентификации предполагаемых метаболитов.

Структуры определены ориентировочно на основе данных преобразования Фурье-MSⁿ. Метаболиты представлены в виде процентного содержания исходного вещества при инкубации гепатоцитов человека с пороговым значением $\geq 4\%$.

Способ лечения

Настоящее изобретение относится к соединению общей формулы 1, которые применимы для профилактики и/или лечения заболевания и/или состояния, связанного с активностью TRPA1 или модулируемого ею, включая, но не ограничиваясь этим, лечение и/или профилактику фиброзных заболеваний, воспалительных и иммунорегуляторных нарушений, респираторных или желудочно-кишечных заболеваний или недугов, офтальмологических заболеваний, воспалительных заболеваний суставов и воспалительных заболеваний носоглотки, глаз и кожи, а также боли и неврологических расстройств. Указанные нарушения, заболевания и недуги включают в себя кашель, идиопатический легочный фиброз, другие легочные интерстициальные заболевания и другие фиброзные, астматические или аллергические заболевания, эозинофильные заболевания, хроническую обструктивную болезнь легких, а также воспалительные и иммунорегуляторные нарушения, такие как ревматоидный артрит и атеросклероз, а также боль и неврологические расстройства, такие как острая боль, хирургическая боль, хроническая боль и депрессия и расстройства мочевого пузыря.

Соединения общей формулы 1 пригодны для профилактики и/или лечения.

(1) Кашля, такого как хронический идиопатический кашель или хронический рефрактерный кашель, кашель, связанный с астмой, ХОБЛ, раком легких, поствирусной инфекцией и идиопатическим легочным фиброзом, и другими легочными интерстициальными заболеваниями.

(2) Легочных фиброзных заболеваний, таких как пневмонит или интерстициальный пневмонит, связанные с коллагенозом, например, красная волчанка, системная склеродермия, ревматоидный артрит, полимиозит и дерматомиозит, идиопатические интерстициальные пневмонии, такие как идиопатический фиброз легких (ИФЛ), неспецифическая интерстициальная пневмония, интерстициальное заболевание легких, связанное с респираторным бронхитом, десквамативная интерстициальная пневмония, криптогенная организующая пневмония, острая интерстициальная пневмония и лимфоцитарная интерстициальная пневмония, лимангиолейомиоматоз, легочный альвеолярный протеиноз, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, плевральный паренхиматозный фиброэластоз, интерстициальные заболевания легких из-

вестной этиологии, такие как интерстициальный пневмонит в результате профессиональных воздействий, таких как асбестоз, силикоз, легкие шахтеров (угольная пыль), легкие фермеров (сено и плесень), легкие любителей голубей (птиц) или другие профессиональные летучие факторы, такие как металлическая пыль или микобактерии, или в результате лечения, такого как облучение, метотрексат, амиодарон, нитрофурантоин или химиотерапевтические средства, или при гранулематозной болезни, такой как гранулематоз с полиангитом, синдром Чарга-Стросса, саркоидоз, гиперчувствительный пневмонит или интерстициальный пневмонит различного генеза, например, аспирация, вдыхание токсичных газов, паров, бронхит или пневмонит или интерстициальный пневмонит, вызванный сердечной недостаточностью, рентген, лучевая терапия, химиотерапия, болезнь Бека или саркоидоз, гранулематоз, кистозный фиброз или муковисцидоз, дефицит альфа-1-антитрипсина, острое повреждение легких в результате инфекции Covid-19/SARS-Cov-2 или легочный фиброз, вторичный по отношению к инфекции Covid-19/SARS-Cov-2.

(3) Других фиброзных заболеваний, таких как мостовидный фиброз печени, цирроз печени, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз предсердий, эндомикардиальный фиброз, перенесенный инфаркт миокарда, глиальный рубец, артериальная жесткость, артрофиброз, контрактура Дюпюитрена, келоид, склеродермия/системный склероз, медиастинальный фиброз, миелофиброз, болезнь Пейрони, нефрогенный системный фиброз, ретроперитонеальный фиброз, адгезивный капсулит.

(4) Воспалительных, аутоиммунных или аллергических заболеваний и состояний, таких как аллергический или неаллергический ринит или синусит, хронический синусит или ринит, полипоз носа, хронический риносинусит, острый риносинусит, астма, детская астма, аллергический бронхит, альвеолит, гиперреактивность дыхательных путей, аллергический конъюнктивит, бронхоэктазы, респираторный дистресс-синдром взрослых, бронхиальный и легочный отек, бронхит или пневмонит, эозинофильный целлюлит (например, синдром Уэллса), эозинофильная пневмония (например, синдром Леффлера, хроническая эозинофильная пневмония), эозинофильный фасциит (например, синдром Шульмана), гиперчувствительность замедленного типа, неаллергическая астма; бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой; хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), острый бронхит, хронический бронхит, кашель, эмфизема легких; системная анафилаксия или реакции гиперчувствительности, лекарственная аллергия (например, на пенициллин, цефалоспорины), синдром эозинофилии-миалгии вследствие приема внутрь загрязненного триптофана, аллергии на укусы насекомых; аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, болезнь Грейвса, синдром Шегрена, псориатический артрит, рассеянный склероз, системная красная волчанка, тяжелая миастения, иммунная тромбоцитопения (ИТП взрослых, неонатальная тромбоцитопения, педиатрическая ИТП), иммунная гемолитическая анемия (аутоиммунная и вызванная лекарственными средствами), синдром Эванса (тромбоцитарная и эритроцитарная иммунная цитопения), резус-конфликт новорожденных, синдром Гудпасчера (анти-ГБМ болезнь), целиакия, аутоиммунная кардиомиопатия, юношеский диабет; гломерулонефрит, аутоиммунный тиреоидит, болезнь Бехчета; отторжения трансплантата (например, при трансплантации), включая отторжение аллотрансплантата или болезнь "трансплантат против хозяина"; воспалительных заболеваний кишечника, таких как болезнь Крона и язвенный колит; спондилоартропатии; склеродермия; псориаза (включая псориаз, опосредованный Т-клетками) и воспалительных дерматозов, такие как дерматит, экзема, атопический дерматит, аллергический контактный дерматит, крапивница; васкулит (например, некротизирующий, кожный и гиперчувствительный васкулит); узловатая эритема; эозинофильный миозит, эозинофильный фасциит, рак с лейкоцитарной инфильтрацией кожи или органов; офтальмологические заболевания, такие как возрастная дегенерация желтого пятна, диабетическая ретинопатия и диабетический макулярный отек, кератит, эозинофильный кератит, кератоконъюнктивит, весенний кератоконъюнктивит, рубцевание, рубцевание переднего сегмента, блефарит, блефароконъюнктивит, буллезные расстройства, рубцовый пемфигоид, меланома конъюнктивы, папиллярный конъюнктивит, сухость глаз, эписклерит, глаукома, глиоз, кольцевая гранулема, офтальмопатия Грейвса, внутриглазная меланома, пингвекула, пролиферативная витреоретинопатия, птеригиум, склерит, увеит, острые приступы подагры, подагра или остеоартрит.

(5) Боли, такой как хронический идиопатический болевой синдром, невропатическая боль, дисестезия, аллодиния, мигрень, зубная боль и послеоперационная боль.

(6) Депрессии, тревоги, диабетической невропатии и расстройств мочевого пузыря, таких как обструкция выходного отверстия мочевого пузыря, гиперактивный мочевой пузырь, цистит; реперфузионного повреждения миокарда или ишемического повреждения головного мозга.

Соответственно, настоящее изобретение относится к соединению общей формулы 1 для применения в качестве лекарственного средства.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению соединения общей формулы 1 для лечения и/или профилактики заболевания и/или состояния, связанного с активностью TRPA1 или модулируемой ею.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению соединения общей формулы 1 для лечения и/или профилактики фиброзного заболевания, воспалительных и иммунорегуляторных нарушений, респираторных или желудочно-кишечных заболеваний или недугов, офтальмологических заболева-

ний, воспалительных заболеваний суставов и воспалительных заболеваний носоглотки, глаз и кожи, боли и неврологических расстройств. Указанные нарушения, заболевания и недуги включают в себя кашель, идиопатический легочный фиброз, другие легочные интерстициальные заболевания и другие фиброзные, астматические или аллергические заболевания, эозинофильные заболевания, хроническую обструктивную болезнь легких, а также воспалительные и иммунорегуляторные нарушения, такие как ревматоидный артрит и атеросклероз, а также боль и неврологические расстройства, такие как острая боль, хирургическая боль, хроническая боль и депрессия и расстройства мочевого пузыря.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению соединения общей формулы 1 для лечения и/или профилактики.

(1) Кашля, такого как хронический идиопатический кашель или хронический рефрактерный кашель, кашель, связанный с астмой, ХОБЛ и раком легких, поствирусной инфекцией и идиопатическим легочным фиброзом, и другими легочными интерстициальными заболеваниями.

(2) Легочных фиброзных заболеваний, таких как пневмонит или интерстициальный пневмонит, связанные с коллагенозом, например, красная волчанка, системная склеродермия, ревматоидный артрит, полимиозит и дерматомиозит, идиопатические интерстициальные пневмонии, такие как идиопатический фиброз легких (ИЛФ), неспецифическая интерстициальная пневмония, интерстициальное заболевание легких, связанное с респираторным бронхитом, десквамативная интерстициальная пневмония, криптогенная организующая пневмония, острая интерстициальная пневмония и лимфоцитарная интерстициальная пневмония, лимангиолейомиоматоз, легочный альвеолярный протеиноз, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, плевральный паренхиматозный фиброэластоз, интерстициальные заболевания легких известной этиологии, такие как интерстициальный пневмонит в результате профессиональных воздействий, таких как асбестоз, силикоз, легкие шахтеров (угольная пыль), легкие фермеров (сено и плесень), легкие любителей голубей (птиц) или другие профессиональные летучие факторы, такие как металлическая пыль или микобактерии, или в результате лечения, такого как облучение, метотрексат, амиодарон, нитрофурантоин или химиотерапевтические средства, или при гранулематозной болезни, такой как гранулематоз с полиангитом, синдром Чарга-Стросса, саркоидоз, гиперчувствительный пневмонит или интерстициальный пневмонит различного генеза, например, аспирация, вдыхание токсичных газов, паров, бронхит или пневмонит или интерстициальный пневмонит, вызванный сердечной недостаточностью, рентген, лучевая терапия, химиотерапия, болезнь Бека или саркоидоз, гранулематоз, кистозный фиброз или муковисцидоз или дефицит альфа-1-антитрипсина, острое повреждение легких в результате инфекции Covid-19/SARS-Cov-2 или легочный фиброз, вторичный по отношению к инфекции Covid-19/SARS-Cov-2.

(3) Других фиброзных заболеваний, таких как мостовидный фиброз печени, цирроз печени, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз предсердий, эндомиокардиальный фиброз, перенесенный инфаркт миокарда, глиальный рубец, артериальная жесткость, артрофиброз, контрактура Дюпюитрена, келоид, склеродермия/системный склероз, медиастиальный фиброз, миелофиброз, болезнь Пейрони, нефрогенный системный фиброз, ретроперитонеальный фиброз, адгезивный капсулит.

(4) Воспалительных, аутоиммунных или аллергических заболеваний и состояний, таких как аллергический или неаллергический ринит или синусит, хронический синусит или ринит, полипоз носа, хронический риносинусит, острый риносинусит, астма, детская астма, аллергический бронхит, альвеолит, гиперреактивность дыхательных путей, аллергический конъюнктивит, бронхоэктазы, респираторный дистресс-синдром взрослых, бронхиальный и легочный отек, бронхит или пневмонит, эозинофильный целлюлит (например, синдром Уэллса), эозинофильная пневмония (например, синдром Леффлера, хроническая эозинофильная пневмония), эозинофильный фасциит (например, синдром Шульмана), гиперчувствительность замедленного типа, неаллергическая астма; бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой; хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), острый бронхит, хронический бронхит, кашель, эмфизема легких; системная анафилаксия или реакции гиперчувствительности, лекарственная аллергия (например, на пенициллин, цефалоспорины), синдром эозинофилии-миалгии вследствие приема внутрь загрязненного триптофана, аллергии на укусы насекомых; аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, болезнь Грейвса, синдром Шегрена, псориатический артрит, рассеянный склероз, системная красная волчанка, тяжелая миастения, иммунная тромбоцитопения (ИТП взрослых, неонатальная тромбоцитопения, педиатрическая ИТП), иммунная гемолитическая анемия (аутоиммунная и вызванная лекарственными средствами), Синдром Эванса (тромбоцитарная и эритроцитарная иммунная цитопения), резус-конфликт новорожденных, синдром Гудпасчера (анти-ГБМ болезнь), целиакия, аутоиммунная кардиомиопатия, юношеский диабет; гломерулонефрит, аутоиммунный тиреоидит, болезнь Бехчета; отторжения трансплантата (например, при трансплантации), включая отторжение аллотрансплантата или болезнь "трансплантат против хозяина"; воспалительных заболеваний кишечника, таких как болезнь Крона и язвенный колит; спондилоартропатии; склеродермия; псориаза (включая псориаз, опосредованный Т-клетками) и воспалительных дерматозов, такие как дерматит, экзема, атопический дерматит, аллергический контактный дерматит, крапивница; васкулит (например, некротизирующий, кожный и гиперчувствительный васкулит); узловатая эритема; эозинофильный миозит, эозинофильный фасциит, рак с лейкоцитарной инфильтрацией кожи или органов; офтальмологические заболевания, та-

кие как возрастная дегенерация желтого пятна, диабетическая ретинопатия и диабетический макулярный отек, кератит, эозинофильный кератит, кератоконъюнктивит, весенний кератоконъюнктивит, рубцевание, рубцевание переднего сегмента, блефарит, блефароконъюнктивит, буллезные расстройства, рубцовый пемфигоид, меланома конъюнктивы, папиллярный конъюнктивит, сухость глаз, эписклерит, глаукома, глиоз, кольцевая гранулема, офтальмопатия Грейвса, внутриглазная меланома, пингвекула, пролиферативная витреоретинопатия, птеригиум, склерит, увеит, острые приступы подагры, подагра или остеоартрит.

(5) Боли, такой как хронический идиопатический болевой синдром, невропатическая боль, дизестезия, аллодиния, мигрень, зубная боль и послеоперационная боль.

(6) Депрессии, тревоги, диабетической невропатии и расстройств мочевого пузыря, таких как обструкция выходного отверстия мочевого пузыря, гиперактивный мочевой пузырь, цистит; реперфузионного повреждения миокарда или ишемического повреждения головного мозга.

В еще одном аспекте настоящего изобретения относится к соединению общей формулы 1 для применения при лечении и/или профилактике вышеупомянутых заболеваний и состояний.

В дополнительном аспекте настоящего изобретения относится к применению соединения общей формулы 1 для приготовления лекарственного средства для лечения и/или профилактики указанных выше заболеваний и состояний.

В другом аспекте настоящего изобретения данное изобретение относится к способам лечения или профилактики вышеупомянутых заболеваний и состояний, которые включают введение человеку эффективного количества соединения общей формулы 1.

Комбинированная терапия

Соединения в соответствии с изобретением можно дополнительно комбинировать с одним или несколькими, предпочтительно с одним дополнительным терапевтическим средством. В соответствии с одним вариантом осуществления дополнительное терапевтическое средство выбирают из группы терапевтических средств, пригодных при лечении заболеваний или состояний, описанных выше, в частности, связанных с фиброзными заболеваниями, воспалительными и иммунорегуляторными нарушениями, респираторными или желудочно-кишечными заболеваниями или недугами, воспалительными заболеваниями суставов или носоглотки, глаз и кожи или состояний, таких как, например, кашель, идиопатический легочный фиброз, другие легочные интерстициальные заболевания, астма или аллергические заболевания, эозинофильные заболевания, хроническая обструктивная болезнь легких, атопический дерматит, а также аутоиммунных патологий, таких как ревматоидный артрит и атеросклероз, или терапевтических средств, применимых для лечения офтальмологических заболеваний, боли и депрессии.

Дополнительные терапевтические средства, подходящие для таких комбинаций, включают, в частности, те, которые, например, усиливают терапевтический эффект одного или нескольких активных веществ в отношении одного из упомянутых показаний и/или позволяют уменьшить дозировку одного или нескольких активных веществ.

Таким образом, соединение в соответствии с изобретением можно комбинировать с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, выбранными из группы, состоящей из противофиброзных средств, противокашлевых средств, противовоспалительных средств, средств против атопического дерматита, анальгетиков, противосудорожных средств, анксиолитиков, седативных средств, релаксантов скелетных мышц или антидепрессантов.

Противофиброзные средства представляют собой, например, нинтеданиб, пирфенидон, ингибиторы фосфодиэстеразы-IV (PDE4), такие как рофлумиласт, ингибиторы аутоаксина, такие как GLPG-1690 или BBT-877; антитела, блокирующие фактор роста соединительной ткани (CTGF), такие как памревлумаб; антитела, блокирующие рецептор фактора активации В-клеток (BAFF-R), такие как ланалумаб; блокирующие ингибиторы альфа-V/бета-6, такие как BG-00011/STX-100, рекомбинантный пентраксин-2 (PTX-2), такой как PRM-151; ингибиторы N-концевой киназы c-Jun (JNK), такие как CC-90001; ингибиторы галектина-3, такие как TD-139; ингибиторы рецептора 84, связанного с G-белком (GPR84), такие как GLPG-1205; двойные ингибиторы рецептора 84, сопряженного с G-белком/рецептора 40, сопряженного с G-белком, такие как PBI-4050; ингибиторы Rho-ассоциированной протеинкиназы 2 (ROCK2), содержащие суперспираль, такие как KD-025; малая интерферирующая РНК белка теплового шока 47 (HSP47), такая как BMS-986263/ND-L02-s0201; ингибитор пути Wnt, такой как SM-04646; ингибиторы LD4/PDE3/4, такие как типелукаст; рекомбинантные иммуномодулирующие домены гистидил-тРНК-синтетазы (HARS), такие как ATYR-1923; ингибиторы простагландинсинтазы, такие как ZL-2102/SAR-191801; 15-гидроксиэйкозапентаеновая кислота (15-HEPE, например, DS-102); ингибиторы лизилоксидазы-подобного 2 (LOXL2), такие как PAT-1251, PXS-5382/PXS-5338; двойные ингибиторы фосфоинозитид-3-киназы (PI3K)/мишени рапамицина (mTOR) млекопитающих, такие как HEC-68498; ингибиторы кальпаина, такие как BLD-2660; ингибиторы киназы митоген-активируемой протеинкиназы (MAP3K19), такие как MT-S-2525; ингибиторы хитиназы, такие как OATD-01; ингибиторы митоген-активируемой протеинкиназы-активируемой протеинкиназы 2 (MAPKAPK2), такие как MMI-0100; малая интерферирующая РНК трансформирующего фактора роста бета 1 (TGF-beta1), такая как TRK250/BNC-1021; или антагонисты рецептора лизофосфатидной кислоты, такие как BMS-986278.

Противокашлевые средства представляют собой, например, антагонисты рецептора пуринорецептора 3 (P2X3), такие как гефапиксант, S-600918, BAY-1817080 или BLU-5937; антагонист рецептора нейрокинина 1 (NK-1), такой как орвепитант, апрепитант; стимулятор субъединицы альфа 7 никотинового ацетилхолинового рецептора, такой как АГА-101/браданиклин; кодеин, габапентин, прегаблин или азитромицин.

Противовоспалительные средства представляют собой, например, кортикостероиды, такие как преднизолон или дексаметазон; ингибиторы циклооксигеназы-2 (COX2), такие как целекоксиб, рофекоксиб, парекоксиб, вальдекоксиб, деракоксиб, эторикоксиб или лумиракоксиб; антагонисты простагландина E2; антагонисты лейкотриена B4; антагонисты лейкотриена D4, такие как монтелеукаст; ингибиторы 5-липooксигеназы; или другие нестероидные противовоспалительные средства (НПВП), такие как аспирин, диклофенак, дифлунисал, этодолак, ибупрофен или индометацин.

Средствами против атопического дерматита являются, например, циклоспорин, метотрексат, микофенолата мофетил, азатиоприн, ингибиторы фосфодиэстеразы (например, апремиласт, кризаборол), ингибиторы Янус-ассоциированной киназы (JAK) (например, тофацитиниб), нейтрализующие антитела против IL-4/IL-13 (например, дупиламаб), IL-13 (например, лебрикизумаб, тралокинумаб) и IL-31 (немолизумаб).

Анальгетики относятся, например, к опиоидным типам, таким как морфин, оксиморфин, левопанол, оксикодон, пропоксифен, налмефен, фентанил, гидрокондон, гидроморфон, мерипидин, метадон, налорфин, налоксон, налтрексон, бупренорфин, буторфанол, налбуфин, пентазоцин; или неопиоидному типу, такому как ацетофенамин.

Антидепрессантами являются, например, трициклические антидепрессанты, такие как амитриптилин, кломипрамин, дезпрамин, доксепин, дезипрамин, имипрамин, нортриптилин; антидепрессанты-селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (SSRI), такие как флуоксетин, пароксетин, сертралин, циталопрам, эсциталопрам; антидепрессанты-ингибиторы обратного захвата норадреналина (SNRI), такие как мапротилин, лофепрамин, мirtазапин, оксапротилин, фезоламин, томоксетин, миансерин, бупропион, гидроксипропион, номифензин, виллоксазин; антидепрессанты-двойные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (SNRI), такие как дулоксетин, венлафаксин, десвенлафаксин, левомилнаципран; атипичные антидепрессанты, такие как тразодон, мirtазапин, вортиоксетин, вилазодон, бупропион; или антидепрессанты-ингибиторы моноаминоксидазы (MAOI), такие как транилципромин, фенелзин или изокарбоксазид.

Анксиолитиками являются, например, бензодиазепины, такие как алпразолам, бромазепам, хлордиазепоксид, клоназепам, клоразепат, диазепам, флуразепам, лоразепам, оксазепам, темазепам, триазолам или тофизопам; или они представляют собой небензодиазепиновые снотворные, такие как эзопиклон, залеплон, золпидем или зопиклон; или они являются карбаматами, например, мепробамат, каризопродол, тибамат или лорбамат; они представляют собой антигистаминные препараты, такие как гидрохизин, хлорфенирамин или дифенгидрамин.

Седативные средства представляют собой, например, барбитуратовые седативные средства, такие как амобарбитал, апробарбитал, бутабарбитал, бутабитал, мефобарбитал, метарбитал, метогексигал, пентобарбитал, секобарбитал, галбутал, теамилал или тиопентал; или они являются седативными средствами, не содержащими барбитуратов, такими как глутетимид, мепробамат, метаквалон или дихлоалфензон.

Релаксантами скелетных мышц являются, например, баклофен, мепробамат, каризопродол, циклобензапирин, метаксалон, метокарбамол, тизанидин, хлорзоксазон или орфенадрин.

Другими пригодными компонентами по комбинации являются ингибиторы ацетилхолинэстеразы, такие как донепезил; антагонисты 5-HT-3, такие как ондансетрон; антагонисты метаботропных рецепторов глутамата; антиаритмические средства, такие как мексилетин или фенитоин; или антагонисты рецептора NMDA.

Другими подходящими компонентами по комбинации являются лекарственные средства от недержания, например антихолинергические средства, такие как оксибутинин, толтеродин, дарифенацин, фезотеродин, солифенацин или троспиум; или они являются релаксантами мышц мочевого пузыря, такими как мирабегрон; или они представляют собой альфа-блокаторы, такие как тамсулозин, альфузозин, силодозин, доксазозин или теразозин.

Дозировка для компонентов по комбинации, упомянутых выше, обычно составляет от 1/5 наименьшей дозы, обычно рекомендуемой до 1/1 обычно рекомендуемой дозы.

Следовательно, в другом аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения в соответствии с изобретением в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, описанными выше и далее, для лечения заболеваний или состояний, которые могут быть затронуты или опосредованы TRPA1, в частности, заболевания или состояния, описанные выше и в дальнейшем.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания или состояния, на которое может влиять ингибирование TRPA1 у пациента, который включает в себя стадию введения пациенту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения

формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в сочетании с терапевтически эффективным количеством одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в сочетании с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами для лечения заболеваний или состояний, на которые можно воздействовать путем ингибирования TRPA1 у нуждающегося в этом пациента.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания или состояния, опосредованного активностью TRPA1, у пациента, который включает в себя стадию введения пациенту, предпочтительно человеку, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения в соответствии с настоящим изобретением в сочетании с терапевтически эффективным количеством одного или нескольких дополнительных терапевтических средств, описанных выше и в дальнейшем.

Применение соединения в соответствии с изобретением в сочетании с дополнительным терапевтическим средством может происходить одновременно или в разное время.

Предлагаемое в изобретении соединение и одно или несколько дополнительных терапевтических средств могут оба присутствовать вместе в одном составе, например, в таблетке или капсуле, или по отдельности в двух идентичных или разных составах, например, в виде так называемого набора частей.

Поэтому в другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, которая содержит соединение в соответствии с изобретением и одно или несколько дополнительных терапевтических средств, описанных выше и в дальнейшем, необязательно вместе с одним или несколькими инертными носителями и/или разбавителями.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения в соответствии с изобретением в устройстве для измерения кашля.

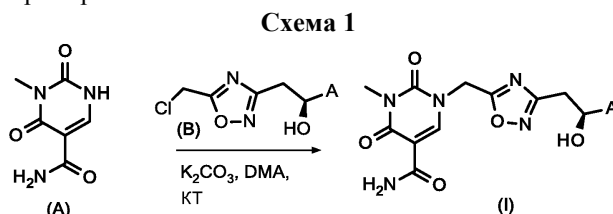
Другие признаки и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из следующих более подробных примеров, иллюстрирующих в качестве примера принципы изобретения.

Получение

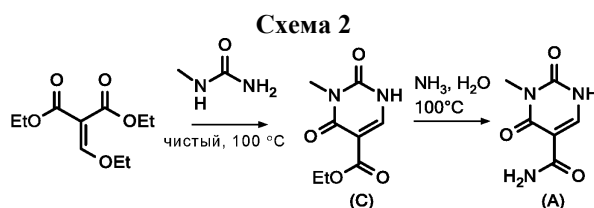
Соединения в соответствии с настоящим изобретением и их промежуточные соединения могут быть получены с использованием способов синтеза, которые известны специалистам в данной области техники и описаны в литературных источниках по органическому синтезу. Предпочтительно соединения получают аналогично способам получения, более подробно описанным ниже, в частности, как описано в экспериментальной части. В некоторых случаях порядок проведения стадий реакции может варьироваться. Также могут быть использованы варианты реакционных способов, которые известны специалисту в данной области, но подробно не описаны в настоящей заявке.

Общие способы получения соединений в соответствии с изобретением станут очевидными специалисту в данной области техники при изучении следующих схем. Исходные материалы могут быть получены способами, описанными в литературных источниках или в настоящем описании, или могут быть получены аналогичным или подобным способом. Любые функциональные группы в исходных материалах или промежуточных соединениях могут быть защищены с использованием обычных защитных групп. Эти защитные группы могут быть снова отщеплены на подходящей стадии последовательности реакций с использованием методов, известных специалистам в данной области техники.

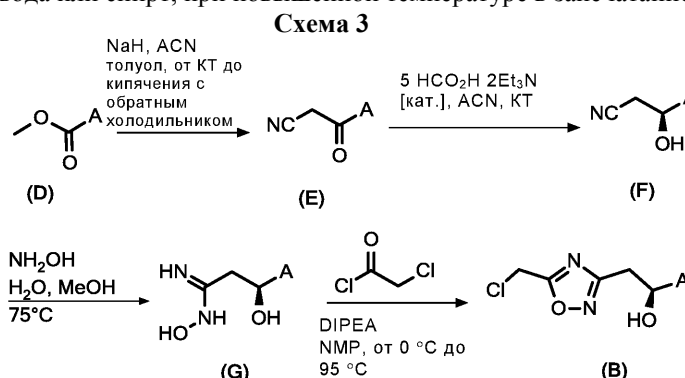
Соединения в соответствии с изобретением получают описанными ниже способами синтеза, в которых заместители в общих формулах имеют указанные выше значения. Эти способы предназначены для иллюстрации изобретения без ограничения его объекта и объема заявленных соединений этими примерами. Если получение исходных соединений не описано, они коммерчески доступны или могут быть получены аналогично известным соединениям или способам, описанным в настоящей заявке. Вещества, описанные в литературных источниках, получают согласно опубликованным методам синтеза. Сокращения приведены в разделе "Примеры".



На схеме 1 соединения формулы I можно синтезировать путем N-алкилирования промежуточного соединения (A) хлорметиленоксидазолами (B) в присутствии основания, такого как карбонат калия.



На схеме 2 производное урацила (С), CAS: 154942-22-0, может быть синтезировано из метилмочевины и 1,3-диэтил-2-(этоксиметилиден)пропандиоата в чистых условиях при повышенной температуре. Первичный амид (А) можно синтезировать из сложного эфира (С) путем перемешивания с аммиаком в растворителе, таком как вода или спирт, при повышенной температуре в запечатанном сосуде.



На схеме 3 альфа-цианокетоны (Е), синтезированные из сложных эфиров карбоновых кислот (D), энантиоселективно восстанавливаются с использованием соответствующих каталитических систем с использованием комплекса переходных металлов (например, Ru или Ir) в сочетании с хиральным лигандом (например, [(1S,2S)-2-амино-1,2-дифенилэтил](4-толуолсульфонил) амидо) и источника водорода, такого как комплекс триэтиламина и муравьиной кислоты, с получением спиртов (F). К этим спиртам (F) добавляют гидроксиламин с образованием дигидроксипропанамидов (G). Замыкание цикла до хлорметил-оксадиазолов (B) может быть достигнуто путем перемешивания реакционной смеси вместе с хлор-ацетилхлоридом в присутствии основания, такого как DIPEA.

Примеры Получение

Соединения в соответствии с изобретением и их промежуточные соединения могут быть получены с использованием способов синтеза, которые известны специалистам в данной области и описаны в литературных источниках по органическому синтезу, например, с использованием способов, описанных в "Comprehensive Organic Transformations", 2-е издание, Richard C. Larock, John Wiley & Sons, 2010, и "March's Advanced Organic Chemistry", 7-е издание, Michael B. Smith, John Wiley & Sons, 2013. Предпочтительно соединения получают аналогично способам получения, более подробно описанным ниже, в частности, как описано в экспериментальной части. В ряде случаев последовательность проведения схем реакции может варьироваться. Также можно использовать варианты этих реакций, которые известны специалисту в данной области техники, но подробно не описаны в настоящей заявке. Общие способы получения соединений в соответствии с изобретением станут очевидны специалисту в данной области при изучении нижеследующих схем. Исходные соединения имеются в продаже или могут быть получены способами, которые описаны в литературных источниках или в настоящей заявке, или могут быть получены аналогичным или сходным способом. Перед проведением реакции любые соответствующие функциональные группы в исходных соединениях могут быть защищены с использованием обычных защитных групп. Эти защитные группы могут быть снова отщеплены на подходящей стадии последовательности реакций с использованием методов, известных специалисту в данной области и описанных в литературных источниках, например, в "Protecting Groups", 3-е издание, Philip J. Kocienski, Thieme, 2005 и "Protective Groups in Organic Synthesis", 4-е издание, Peter G. M. Wuts, Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, 2006. Термины "температура окружающей среды" и "комнатная температура" используют взаимозаменяемо и обозначают температуру около 20 °C, например от 19 до 24 °C.

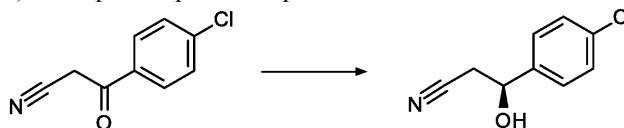
Сокращения:

ACN	ацетонитрил
водн.	водный
°С	градус Цельсия
С ₆ Н/СН	циклогексан
коцн.	концентрированный
DCM	дихлорметан
DCE	1,2-Дихлорэтан
DIPEA	<i>N,N</i> -диизопропилэтиламин
DMA	<i>N,N</i> -диметилацетамид
DMF	<i>N,N</i> -диметилформаид
ДМСО	диметилсульфоксид
ЭРИ-МС	масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол
Пр.	пример
экв.	эквивалент
FA	муравьиная кислота
ч.	час
HATU	1-[Бис(диметиламино)метилеи]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5- <i>b</i>]пиримидиния 3-оксид гексафторфосфат
HCl	соляная кислота
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
K ₂ CO ₃	карбонат калия
л	литр
М	молярный
MeOH	метанол
MgSO ₄	сульфат магния
мин.	минута
мл	миллилитр
MTBE	<i>трет</i> -бутилметиловый эфир
NH ₃	аммоний
NMP	<i>N</i> -метил-2-пирролидон
PE	петролейный эфир
КТ	комнатная температура (примерно 20 °С)
нас.	насыщенный
TBTU	бензотриазолил тетраметилурония тетрафторборат
TEA	триэтиламин
TFA	трифторуксусная кислота
THF	тетрагидрофуран

Получение промежуточных соединений.

Промежуточное соединение I.

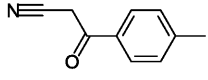
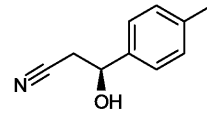
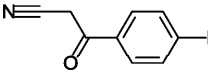
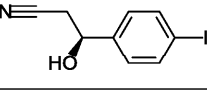
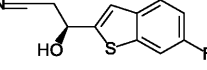
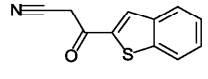
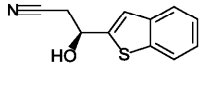
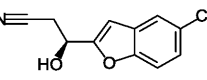
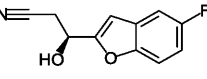
Промежуточное соединение I.1 (общий способ).

(3*S*)-3-(4-Хлорфенил)-3-гидроксипропаннитрил

10,0 г (55,7 ммоль) 4-хлорбензоилацетонитрила добавляют к 100 мл ACN в инертной атмосфере. Добавляют 142 мг (0,23 ммоль) хлор([(1*S*,2*S*)-2-амино-1,2-дифенилэтил](4-толуолсульфонил)амидо)(мезитилеи)рутения (II) (CAS 174813-81-1), с последующим добавлением по каплям 8,30 мл (19,8 ммоль) комплекса триэтиламина и муравьиной кислоты. (5:2). После перемешивания при КТ в течение 3 ч, растворитель удаляют в вакууме. К оставшейся сырой смеси добавляют воду и эту смесь дважды экстрагируют посредством EtOAc. Органические слои объединяют, сушат над MgSO₄, фильтруют и растворитель удаляют в вакууме с получением промежуточного соединения I.1.

C₉H₈ClNO (M = 181,6 г/моль).ЭРИ-МС: 226 [M+HCOO]⁺.V_у (ВЭЖХ): 0,81 мин (метод В).

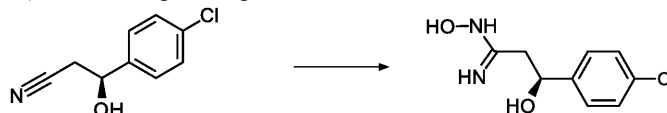
Следующие соединения получают с использованием процедур, аналогичных процедурам, описанным для промежуточного соединения I.1, с применением исходных веществ. Как понятно специалистам в данной области техники, эти аналогичные примеры могут включать вариации общих условий реакции.

Пром. соед.	Исходные вещества	Структура	ЭРИ-МС	Время удерживания ВЭЖХ [мин] (метод), или 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d6) δ част. на млн.
1.2			184 [M+Na] ⁺	0.76 (B)
1.3			256 [M+H-H ₂ O] ⁺	0.84 (B)
1.4	IV.1		266 [M+HCOO] ⁻	3.03 (D)
1.5			--	δ 7.98 – 7.91 (m, 1 H), 7.82 – 7.77 (m, 1 H), 7.37 – 7.31 (m, 3 H), 6.56 (d, J = 5.0 Гц, 1 H), 5.28 – 5.20 (m, 1 H), 3.14 – 2.94 (m, 2 H)
1.6	IV.2		266 [M+HCOO] ⁻	3.12 (D)
1.7	IV.3		--	δ 7.63 – 7.56 (m, 1 H), 7.46 (dd, J = 8.9, 2.7 Гц, 1 H), 7.14 (td, J = 9.2, 2.7 Гц, 1 H), 6.88 (s, 1 H), 6.41 (d, J = 5.5 Гц, 1 H), 5.10 – 5.01 (m, 1 H), 3.16 – 2.98 (m, 2 H)

Промежуточное соединение II.

Промежуточное соединение II.1 (общий способ).

(3S)-3-(4-хлорфенил)-N,3-дигидроксипропанамидил



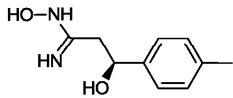
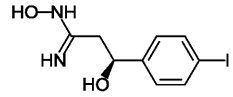
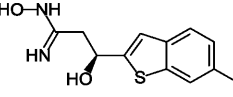
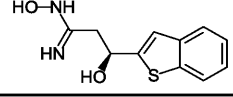
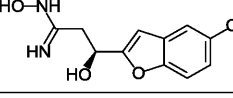
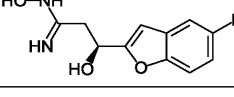
К 9,82 г (54.1 ммоль) (3S)-3-(4-хлорфенил)-3-гидроксипропаннитрила (промежуточное соединение 1.1) в 100 мл MeOH добавляют 8,00 мл (136 ммоль) гидросиламина (50% в воде) и смесь перемешивают при 75°C в течение 1,5 ч. После охлаждения до КТ все летучие вещества удаляют в вакууме с получением сырого продукта, который используют без дополнительной очистки.

C₉H₁₁ClN₂O₂ (M = 214,6 г/моль).

ЭРИ-МС: 215 [M+H]⁺.

Ву (ВЭЖХ): 0,60 мин (метод В).

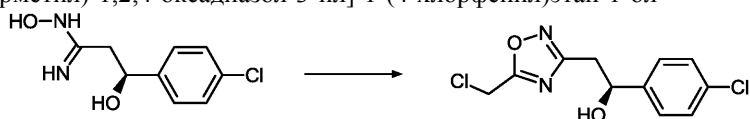
Следующие соединения получают с использованием процедур, аналогичных процедурам, описанным для промежуточного соединения II.1, с применением исходных веществ. Как понятно специалистам в данной области техники, эти аналогичные примеры могут включать вариации общих условий реакции.

Пром. соед.	Исходные вещества	Структура	ЭРИ-МС	Время удерживания ВЭЖХ [мин.] (метод)
II.2	I.2		195 [M+H] ⁺	0.57 (B)
II.3	1.3		307 [M+H] ⁺	0.71 (B)
II.4	1.4		255 [M+H] ⁺	2.07 (D)
II.5	1.5		237 [M+H] ⁺	1.93 (D)
II.6	1.6		255 [M+H] ⁺	2.18 (D)
II.7	1.7		239 [M+H] ⁺	1.90 (D)

Промежуточное соединение III.

Промежуточное соединение III.1 (общий способ).

(1S)-2-[5-(Хлорметил)-1,2,4-оксадиазол-3-ил]-1-(4-хлорфенил)этан-1-ол



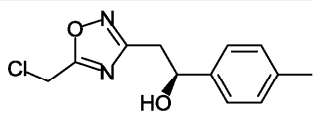
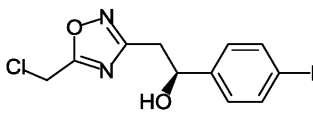
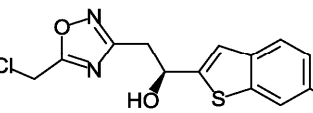
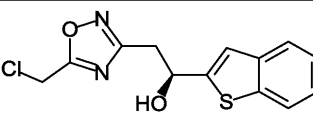
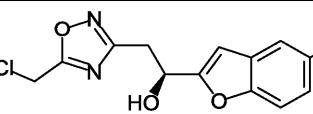
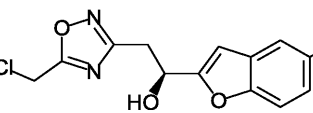
К 11,2 г (52,4 ммоль) промежуточного соединения II.1 в 55 мл NMP добавляют 10,0 мл (57,8 ммоль) DIPEA. Смесь охлаждают до 0°C, затем медленно добавляют 4,60 мл (57,7 ммоль) хлорацетилхлорида, растворенного в 5 мл NMP, и смесь перемешивают при 0°C в течение 45 мин. Затем смесь нагревают до 95°C и продолжают перемешивание в течение 4 часов. После охлаждения до комнатной температуры добавляют 200 мл воды и полученную смесь трижды экстрагируют посредством EtOAc. Органические слои объединяют, сушат над MgSO₄, фильтруют и растворитель удаляют в вакууме. Остаток очищают колоночной хроматографией (силикагель; PE/EtOAc, 7/3).

C₁₁H₁₀Cl₂N₂O₂ (M = 273,1 г/моль).

ЭРИ-МС: 271 [M-H]⁻.

V_y (ВЭЖХ): 0,93 мин (метод В).

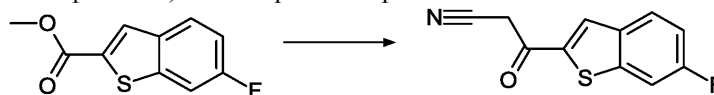
Следующие соединения получают с использованием процедур, аналогичных процедурам, описанным для промежуточного соединения III.1, с применением исходных веществ. Как понятно специалистам в данной области техники, эти аналогичные примеры могут включать вариации общих условий реакции.

Пром. соед.	Исходные вещества	Структура	ЭРИ-МС	Время удерживания ВЭЖХ [мин] (метод)
III.2	II.2		251 [M-H] ⁻	0.92 (C)
III.3	II.3		387 [M+Na] ⁺	1.01 (B)
III.4	II.4		311 [M-H] ⁻	6.02 (E)
III.5	II.5		295 [M+H] ⁺	5.88 (E)
III.6	II.6		311 [M-H] ⁻	6.12 (E)
III.7	II.7		295 [M-H] ⁻	5.67 (E)

Промежуточное соединение IV.

Промежуточное соединение IV.1 (общий способ).

3-(6-Фтор-1-бензотиофен-2-ил)-3-оксoproпаннитрил



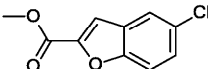
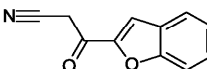
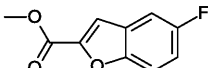
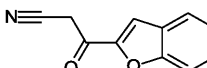
К 0,63 г (3,00 ммоль) метил-6-фтор-1-бензотиофен-2-карбоксилата в 9,0 мл сухого толуола и 0,78 мл сухого ACN добавляют 0,36 г (9,00 ммоль) NaH (60% в масле) в инертной атмосфере при КТ. Смесь кипятят с обратным холодильником и перемешивают в течение 16 ч, охлаждают до комнатной температуры, выливают в смесь лед/вода (30 мл) и обрабатывают посредством 2М HCl до достижения pH = 1. Добавляют EtOAc (20 мл) и фазы разделяют. Водную фазу еще раз экстрагируют посредством EtOAc (20 мл), объединенные органические фазы промывают рассолом (20 мл) и растворитель удаляют при пониженном давлении. Сырой продукт очищают хроматографией на колонке с силикагелем, используя градиент EtOAc/гексан (от 30% до 40%).

C₁₁H₆FNOS (M = 219,23 г/моль).

ЭРИ-МС: 218 [M-H]⁻.

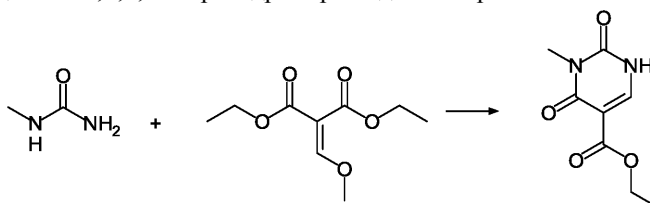
V_y (ВЭЖХ): 3,31 мин (D).

Следующие соединения получают с использованием процедур, аналогичных процедурам, описанным для промежуточного соединения IV.1, с применением исходных веществ. Как понятно специалистам в данной области техники, эти аналогичные примеры могут включать вариации общих условий реакции.

Пром. соед.	Исходные вещества	Структура	ЭРИ-МС	Время удерживания ВЭЖХ [мин] (метод)
IV.2			218 [M-H] ⁻	3.33 (D)
IV.3			202 [M-H] ⁻	3.08 (D)

Промежуточное соединение V.

Этил-3-метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-карбоксилат



500 мг (6,75 ммоль) метилмочевины и 1,36 г (6,75 ммоль) 1,3-диэтил-2-(метоксиметилден)пропандиоата перемешивают в чистых условиях при 120°C в течение 2 ч, при КТ в течение 17 ч, при 100°C в течение 66 ч, при 150°C в течение 17 ч, и при 120°C в течение 17 ч. Затем смесь разбавляют с EtOAc и кипятят с обратным холодильником. Смесь медленно охлаждают до КТ и выпавшее в осадок промежуточное соединение отфильтровывают.

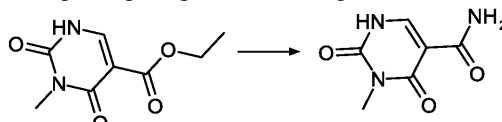
$C_8H_{10}N_2O_4$ (M = 198,2 г/моль).

ЭРИ-МС: 199 [M+H]⁺.

Ву (ВЭЖХ): 0,24 мин. (способ А).

Промежуточное соединение VI.

3-Метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-карбоксамид



10,0 г (50,46 ммоль) этил-3-метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-карбоксилата (CAS: 154942-22-0, промежуточное соединение V) в 33 % водн. аммиак (120 мл) перемешивают в герметично закрытом сосуде при 100°C в течение 10 ч. Реакционную смесь охлаждают до КТ и концентрируют при пониженном давлении. Остаток растирают с ACN, отфильтровывают и сушат при 50°C с получением промежуточного соединения VI.

$C_6H_7N_3O_3$ (M = 169,1 г/моль).

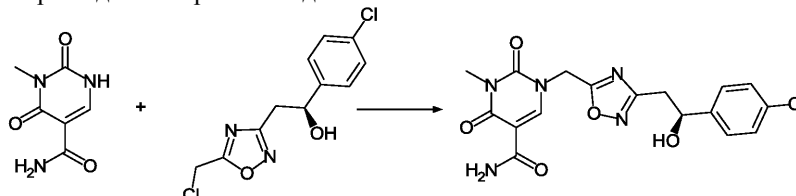
ЭРИ-МС: 170 [M+H]⁺.

Ву (ВЭЖХ): 0,48 мин (метод В).

Получение конечных соединений.

Пример 1 (общая методика).

1-(3-[(2S)-2-(4-Хлорфенил)-2-гидроксиэтил]-1,2,4-оксадиазол-5-ил)метил-3-метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-карбоксамид



Смесь 19 мг (0,11 ммоль) промежуточного соединения VI, 30 мг (0,11 ммоль) промежуточного соединения III.1, и 30 мг (0,22 ммоль) K_2CO_3 в 1,0 мл DMF перемешивают при КТ в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтруют и фильтрат очищают обращенно-фазовой ВЭЖХ (градиент ACN/H₂O, 0,1% TFA) с получением желаемого продукта.

$C_{17}H_{16}ClN_5O_5$ (M = 405,79 г/моль).

ЭРИ-МС: 406 [M+H]⁺.

Ву (ВЭЖХ): 0,44 мин (метод А).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ част. на млн: 2.92-3.07 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 4.96 (dd, J=7.9, 5.8 Гц,

1H), 5.48 (d, J=1.9 Гц, 2H), 7.31-7.40 (m, 4H), 7.65 (d, J=3.3 Гц, 1H), 8.19 (d, J=3.3 Гц, 1H), 8.80 (s, 1H).

Следующие соединения получают с использованием процедур, аналогичных описанным для примера 1 общей методики, с применением исходных веществ. Как понятно специалистам в данной области техники, эти аналогичные примеры могут включать вариации общих условий реакции.

Пр.	Исходные вещества	Структура	Условия реакции
2	VI + III.5		1.05 экв. III.5, 2 экв. K ₂ CO ₃ , DMF, КТ, 2 ч
3	VI + III.4		1,05 экв. III.4, 2 экв. K ₂ CO ₃ , DMF, КТ, 2 ч
4	VI + III.6		1,05 экв. III.6, 2 экв. K ₂ CO ₃ , DMF, КТ, 2 ч
5	VI + III.7		1.05 экв. III.7, 2 экв. K ₂ CO ₃ , DMF, КТ, 3 ч
6	VI + III.3		1.0 экв. III.3, 2 экв. K ₂ CO ₃ , DMF, КТ, 18 ч
7	VI + III.2		1.0 экв. III.2, 2 экв. K ₂ CO ₃ , DMF, КТ, 18 ч

Аналитические данные для соединений, описанных в таблице выше:

Пр.	ЭРИ-МС	Время удерживания ВЭЖХ [мин] (метод)	¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ част. на млн.
2	428 [M+H] ⁺	0.47 (A)	3.14 - 3.20 (m, 2 H), 3.23 (s, 3 H), 5.31 (t, J=6.7 Гц, 1 H), 5.50 (d, J=1.7 Гц, 2 H), 7.25 (s, 1 H), 7.32 (quind, J=7.4, 1.4 Гц, 2 H), 7.66 (br d, J=3.4 Гц, 1 H), 7.74 (dd, J=7.0, 1.6 Гц, 1 H), 7.85 - 7.94 (m, 1 H), 8.19 (br d, J=3.4 Гц, 1 H), 8.81 (s, 1 H)
3	446 [M+H] ⁺	0.48 (A)	3.15 - 3.19 (m, 2 H), 3.23 (s, 3 H), 5.25 - 5.33 (m, 1 H), 5.50 (d, J=1.9 Гц, 2 H), 6.16 (d, J=5.2 Гц, 1 H), 7.20 (td, J=9.1, 2.4 Гц, 1 H), 7.25 (s, 1 H), 7.66 (d, J=3.3 Гц, 1 H), 7.76 (dd, J=8.7, 5.3 Гц, 1 H), 7.82 (dd, J=9.4, 2.4 Гц, 1 H), 8.18 (d, J=3.3 Гц, 1 H), 8.80 (s, 1 H)
4	446 [M+H] ⁺	0.49 (A)	3.15 - 3.29 (m, 5 H), 5.11 (dt, J=7.8, 5.7 Гц, 1 H), 5.48 (s, 2 H), 6.00 (d, J=5.7 Гц, 1 H), 6.77 (s, 1 H), 7.29 (dd, J=8.7, 2.3 Гц, 1 H), 7.57 (d, J=8.7 Гц, 1 H), 7.64 - 7.67 (m, 2 H), 8.18 (d, J=3.4 Гц, 1 H), 8.78 (s, 1 H)

5	430 [M+H] ⁺	0.44 (A)	3.13 - 3.31 (m, 5 H), 5.10 (dd, J=7.9, 5.6 Гц, 1 H), 5.48 (s, 2 H), 6.77 (s, 1 H), 7.09 (td, J=9.2, 2.7 Гц, 1 H), 7.38 (dd, J=8.9, 2.7 Гц, 1 H), 7.55 (dd, J=9.0, 4.2 Гц, 1 H), 7.65 (br d, J=3.2 Гц, 1 H), 8.18 (br d, J=3.3 Гц, 1 H), 8.78 (s, 1 H)
6	498 [M+H] ⁺	0.49 (A)	2.95 - 3.01 (m, 2 H), 3.23 (s, 3 H), 4.86 - 4.95 (m, 1 H), 5.48 (d, J=1.9 Гц, 2 H), 7.13 - 7.20 (m, 2 H), 7.59 - 7.70 (m, 3 H), 8.19 (d, J=3.4 Гц, 1 H), 8.80 (s, 1 H)
7	386 [M+H] ⁺	0.44 (A)	2.26 (s, 3 H), 2.89 - 3.05 (m, 2 H), 3.23 (s, 3 H), 4.91 (dd, J=8.2, 5.5 Гц, 1 H), 5.48 (d, J=1.3 Гц, 2 H), 7.07 - 7.12 (m, 2 H), 7.18 - 7.24 (m, 2 H), 7.65 (br d, J=3.2 Гц, 1 H), 8.19 (br d, J=3.3 Гц, 1 H), 8.80 (s, 1 H)

Аналитические методы ВЭЖХ.

Метод А.

Время (мин)	Об. % воды (вкл. 0,1 % TFA)	Об. % ACN	Поток [мл/мин]
0.00	99	1	1.6
0.02	99	1	1.6
1.00	0	100	1.6
1.10	0	100	1.6

Аналитическая колонка: XBridge BEH C18_2,1×30 мм, 1,7 мкм; температура колонки: 60°C.

Метод В.

Время (мин)	Об. % воды (вкл. 0,1 % TFA)	Об. % ACN	Поток [мл/мин]
0.00	97	3	2.2
0.20	97	3	2.2
1.20	0	100	2.2
1.25	0	100	3.0
1.40	0	100	3.0

Аналитическая колонка: Stable Bond (Agilent) 1,8 мкм; 3,0×30 мм; температура колонки: 60°C.

Метод С.

Время (мин)	Об. % воды (вкл. 0,1 % TFA)	Об. % ACN	Поток [мл/мин]
0.00	97	3	2.2
0.20	97	3	2.2
1.20	0	100	2.2
1.25	0	100	3.0
1.40	0	100	3.0

Аналитическая колонка: Sunfire (Waters) 2,5 мкм; 3,0×30 мм; температура колонки: 60°C.

Метод D.

Градиент/Растворитель Время [мин]	Об. % воды (вкл. 0,1 % FA)	Об. % CAN (вкл. 0,1 % FA)	Поток [мл/мин]
0.01	95	5	0.5
4.00	5	95	0.5
5.00	5	95	0.5
5.20	95	5	0.5
6.00	95	5	0.5

Аналитическая колонка: AQUITY UPLC C18_2.1×50 мм_1.8 мкм_100 Å; температура колонки: 25°C.

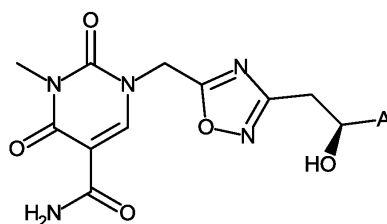
Метод E.

Градиент/Растворитель Время [мин]	Об. % воды (вкл. 0,1 % FA)	Об. % CAN (вкл. 0,1 % FA)	Поток [мл/мин]
0.00	95	5	0.5
10.00	5	95	0.5
10.50	5	95	0.5
11.00	95	5	0.5
12.00	95	5	0.5

Аналитическая колонка: AQUITY UPLC C18_2,1×50 мм_1,8 мкм. 100 Å; температура колонки: 25°C.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



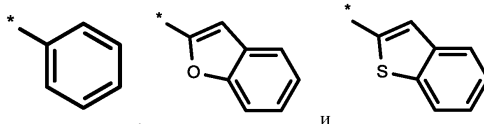
(I)

в которой А выбирают из группы, включающей в себя фенил, тиофенил, бензофуранил и бензотиофенил, и где А незамещен или замещен одним или двумя членами группы R¹, включающей в себя галоген и C₁₋₄алкил,

или его фармацевтически приемлемая соль.

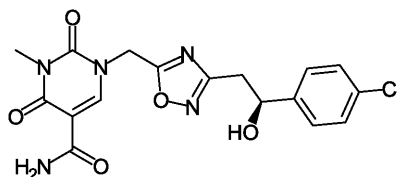
2. Соединение формулы (I) по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R¹ выбирают из F, Cl, I и CH₃.

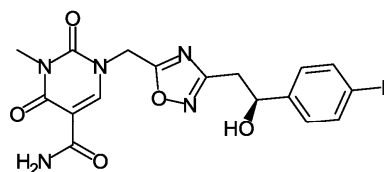
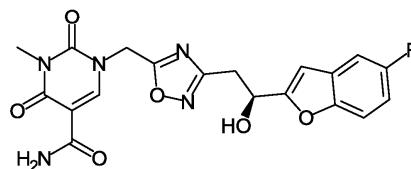
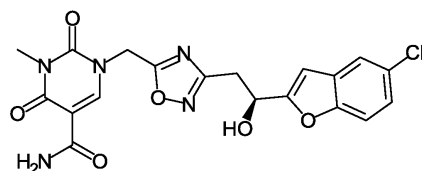
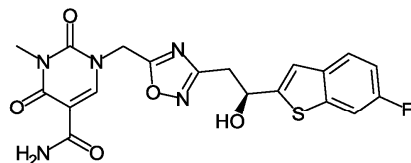
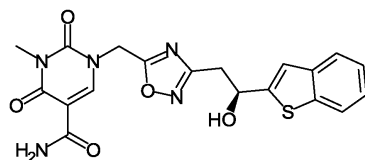
3. Соединение формулы (I) по любому из пп.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где А выбирают из группы, включающей в себя



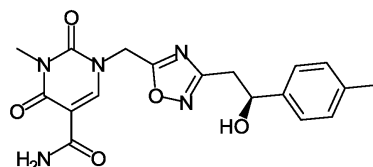
и где А незамещен или замещен одним или двумя членами группы R¹.

4. Соединение формулы (I) по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранное из группы, включающей в себя





и



5. Фармацевтически приемлемая соль соединения по любому из пп.1-4, где указанное соединение образует соль с приемлемой кислотой или основанием.

6. Фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение формулы I по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемую соль и одно или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

7. Применение соединения формулы (I) по одному или нескольким пп.1-4 или его фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного средства.

8. Применение соединения по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или профилактики заболеваний, поддающихся лечению путем ингибирования транзитного рецепторного потенциала анкирина 1 (TRPA1), выбранных из воспалительных заболеваний дыхательных путей или фиброзных заболеваний или кашля.

9. Применение соединения по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или профилактики заболеваний, поддающихся лечению путем ингибирования транзитного рецепторного потенциала анкирина 1 (TRPA1), выбранных из идиопатического заболевания легких (ИЗЛ) или кашля.

