



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122126** (13) **C2**
(51) МПК

C07D 403/12 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
A61K 31/4155 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

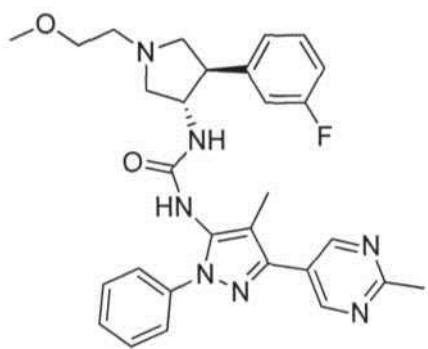
<p>(21) Номер заявки: а 2016 12765</p> <p>(22) Дата подання заявки: 14.05.2015</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 26.09.2020</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/993,426</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 15.05.2014</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 10.07.2017, Бюл.№ 13</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 25.09.2020, Бюл.№ 18</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2015/030795, 14.05.2015</p>	<p>(72) Винахідник(и): Ален Шеллі (US), Ендрюс Стівен В. (US), Баер Брайан (US), Крейн Зекері (US), Лю Вейдун (US), Уотсон Деніел Джон (US)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ЕРРЕЙ БІОФАРМА ІНК., 3200 Walnut Street, Boulder, CO 80301, United States of America (US)</p> <p>(74) Представник: Слободянюк Алла Василівна, реєстр. №25</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2012/158413 A2 (ARRAY BIOPHARMA INC [US]; ALLEN SHELLEY [US]; ANDREWS STEVEN [US]), 22.11.2012 WONG JASON C. ET AL., "Pharmacokinetic optimization of class-selective histone deacetylase inhibitors and identification of associated candidate predictive biomarkers of hepatocellular carcinoma tumor response.", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, (20121012), vol. 55, no. 20, pages 8903 - 8925 WANG T ET AL., "Trk kinase inhibitors as new treatments for cancer and pain", EXPERT OPINION ON THERAPEUTIC PATENTS, INFORMA HEALTHCARE, GB, (2009), vol. 19, no. 3, pages 305 - 319</p>
--	--

(54) 1-((3S,4R)-4-(3-ФТОРФЕНІЛ)-1-(2-МЕТОКСІЕТИЛ)ПІРОЛІДИН-3-ІЛ)-3-(4-МЕТИЛ-3-(2-МЕТИЛПІРИМІДИН-5-ІЛ)-1-ФЕНІЛ-1Н-ПІРАЗОЛ-5-ІЛ)СЕЧОВИНА ЯК ІНГІБІТОР TRKA-КІНАЗИ

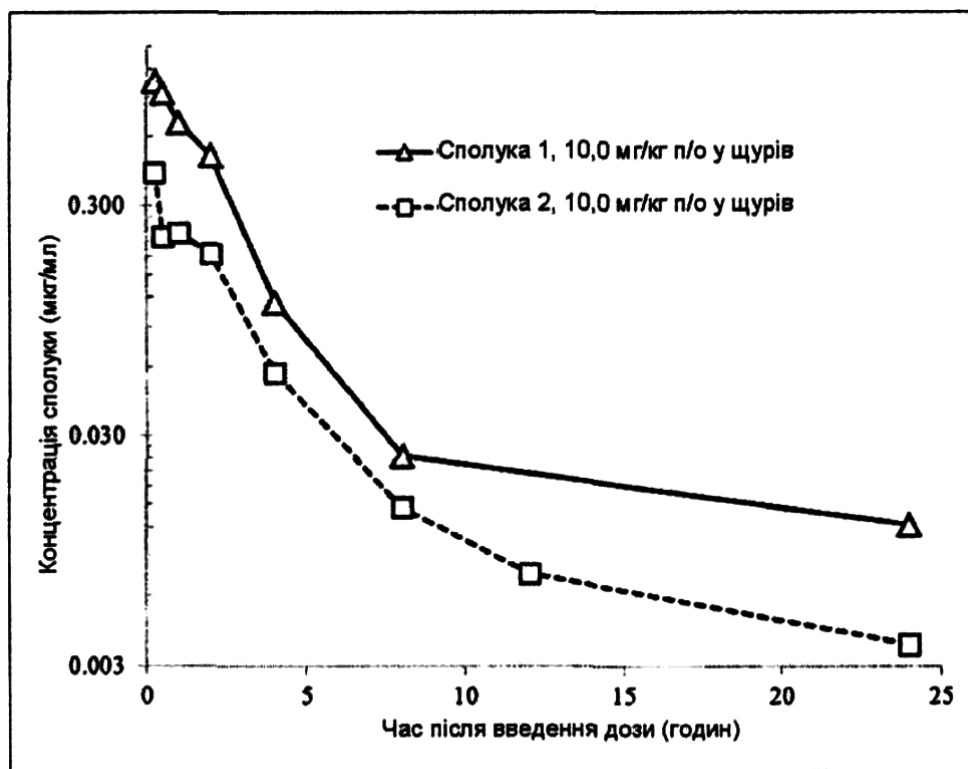
(57) Реферат:

Пропонується Сполука 1

UA 122126 C2



або її фармацевтично прийнятна сіль, яка є інгібітором TrkA-кінази і застосовна в лікуванні захворювань, що піддаються лікуванню інгібітором TrkA-кінази, таких як біль, рак, запалення і запальні захворювання, нейродегенеративні захворювання, деякі інфекційні захворювання, синдром Шегрена, ендометріоз, діабетична периферична нейропатія, простатит, синдром тазового болю, захворювання, пов'язані з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, а також захворювання, обумовлені аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.



Фіг. 1

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Цей винахід належить до нових сполук, до фармацевтичних композицій, що містять ці сполуки, до способів і проміжних сполук для отримання цих сполук, а також до застосування цих сполук в терапії. Конкретніше, він належить до 1-((3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовини або її фармацевтично прийнятної солі, що проявляє інгібування TrkA кінази і застосовується в лікуванні болю, раку, запалення/запальних захворювань, нейродегенеративних захворювань, деяких інфекційних захворювань, синдрому Шегрена, ендометріозу, діабетичної периферичної нейропатії, простатиту, синдрому тазового болю, захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, а також захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.

Існуючі схеми лікування больових станів використовують декілька класів сполук. Опіати (такі як морфін) мають декілька недоліків, зокрема викликають блювоту, закріп і побічні ефекти з боку дихальної системи, а також мають потенціал для наркотичної залежності. Нестероїдні протизапальні безпосередньо засоби (НПБЗ, такі як COX-1 або COX-2) також мають недоліки, зокрема мають недостатню ефективність в лікуванні сильного болю. Крім того, інгібітори COX-1 можуть привести до утворення виразок слизової оболонки. Відповідно, існує постійна необхідність в нових і ефективніших методах для полегшення болю, особливо хронічного болю.

Trk являють собою високоафінні рецепторні тирозинкінази, активовані групою розчинних факторів росту, що називаються нейротрофіни (NT). Сімейство рецепторів Trk складається з трьох представників: TrkA, TrkB і TrkC. До числа нейротрофінів належать (i) фактор росту нервів (NGF), який активує TrkA, (ii) нейротрофічний фактор головного мозку (BDNF) і NT-4/5, які активують TrkB, і (iii) NT3, який активує TrkC. Trk широко експресуються в нервовій тканині і беруть участь в підтримці, передачі сигналів і виживанні нейрональних клітин [Pataoutian, A. et al., *Current Opinion in Neurobiology*, 2001, 11, 272-280].

Інгібітори шляху Trk/нейротрофіни демонстрували ефективність в численних доклінічних моделях болю на тваринах. Наприклад, антагоністичні антитіла NGF і TrkA, такі як RN-624, продемонстрували ефективність в моделях запального і нейропатичного болю на тваринах [Woolf, C. J. et al. (1994) *Neuroscience* 62, 327–331; Zahn, P. K. et al. (2004) *J. Pain* 5, 157–163; McMahon, S. B. et al., (1995) *Nat. Med.* 1, 774–780; Ma, Q. P. i Woolf, C. J. (1997) *NeuroReport* 8, 807–810; Shelton, D. L. et al. (2005) *Pain* 116, 8–16; Delafoy, L. et al. (2003) *Pain* 105, 489–497; Lamb, K. et al. (2003) *Neurogastroenterol. Motil.* 15, 355–361; Jaggar, S. I. et al. (1999) *Br. J. Anaesth.* 83, 442–448] і моделях нейропатичного болю на тваринах (Ramer, M. S. i Bisby, M. A. (1999) *Eur. J. Neurosci.* 11, 837–846; Ro, L. S. et al. (1999) *Pain* 79, 265–274; Herzberg, U. et al., (1997) *Neuroreport* 8, 1613–1618; Theodosiou, M. et al. (1999) *Pain* 81, 245–255; Li, L. et al. (2003) *Mol. Cell. Neurosci.* 23, 232–250; Gwak, Y. S. et al. (2003) *Neurosci. Lett.* 336, 117–120].

Також було показано, що NGF, що секретується пухлинними клітинами і пухлинними інвазивними макрофагами, безпосередньо стимулює TrkA, розташовану на периферичних больових волокнах. За допомогою різних пухлинних моделей на мишах і щурах було показано, що нейтралізація NGF моноклональними антитілами інгібує пов'язаний з раковим захворюванням біль до міри, подібної або перевершуючої найвищу переносиму дозу морфіну. Оскільки TrkA кіназа може служити медіатором обумовлених NGF біологічних відповідей, інгібітори TrkA і/або інших Trk кіназ можуть забезпечувати ефективне лікування станів хронічного болю і обумовленого раковим захворюванням болю.

Останні публікації також показали, що надекспресія, активація, ампліфікація і/або мутація Trk кіназ обумовлені багатьма раковими захворюваннями, зокрема нейробластою [Brodeur, G. M., *Nat. Rev. Cancer* 2003, 3, 203-216], раком яєчників [Davidson, B., et al., *Clin. Cancer Res.* 2003, 9, 2248-2259], раком ободової і прямої кишки [Bardelli, A., *Science* 2003, 300, 949], меланомою [Truzzi, F., et al., *Dermato-Endocrinology* 2011, 3(1), pp. 32-36], раком голови і шиї [Yilmaz, T., et al., *Cancer Biology and Therapy* 2010, 10(6), pp. 644-653], карциномою шлунку [Du, J. et al., *World Journal of Gastroenterology* 2003, 9 (7), pp. 1431-1434], карциномою легенів [Ricci A., et al., *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 25 (4), pp. 439-446], раком молочної залози [Jin, W., et al., *Carcinogenesis* 2010, 31 (11), pp. 1939-1947], секреторним раком молочної залози [Euthus, D.M., et al., *Cancer Cell* 2002, 2 (5), pp. 347-348], гліобластою [Wadhwa, S., et al., *Journal of Biosciences* 2003, 28 (2), pp. 181-188], медулобластою [Gruber-Olipitz, M., et al., *Journal of Proteome Research* 2008, 7 (5), pp. 1932-1944], раком слизових залоз [Li, Y.-G., et al., *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment* 2009, 16 (6), pp. 428-430], папілярною карциномою щитовидної залози [Greco, A., et al., *Molecular and Cellular Endocrinology* 2010, 321 (1), pp. 44-49] і мієлоїдним лейкозом у дорослих [Eguchi, M., et al., *Blood* 1999, 93 (4), pp. 1355-1363]. В доклінічних моделях раку неселективні низькомолекулярні

інгібітори TrkA, B і C проявляли ефективність як в інгібуванні розвитку пухлини, так і в зупинці пухлинних метастазів [Nakagawara, A. (2001) *Cancer Letters* 169:107-114; Meyer, J., et al. (2007) *Leukemia*, 21(10):2171-2180; Pierottia, M.A. i Greco A., (2006) *Cancer Letters* 232:90–98; Eric Adriaenssens, E., et al. *Cancer Res* (2008) 68:(2) 346-351]. Ці дані підтверджують обґрунтованість застосування інгібіторів Trk в лікуванні раку.

Крім того, інгібування шляху нейротрофін/Trk продемонструвало ефективність в лікуванні доклінічних моделей запальних захворювань антитілами NGF або неселективними низькомолекулярними інгібіторами TrkA. Наприклад, інгібування шляху нейротрофін/Trk було задіяне в доклінічних моделях запальних захворювань легень, зокрема астми [Freund-Michel, V; Frossard, N., *Pharmacology & Therapeutics* (2008) 117(1), 52-76], інтерстиціального циститу [Hu, Vivian Y; et. al. *The Journal of Urology* (2005), 173(3), 1016-21], синдрому хворобливого сечового міхура [Liu, H.-T., et al., (2010) *BJU International*, 106 (11), pp. 1681-1685], запальних захворювань кишківника, зокрема виразкового коліту і хвороби Крона [Di Mola, F. F, et. al., *Gut* (2000) 46(5), 670-678], і запальних шкірних захворювань, таких як atopічний дерматит [Dou, Y.-C., et. al. *Archives of Dermatological Research* (2006) 298(1), 31-37], екзема і псоріаз [Raychaudhuri, S. P., et al., *J. Investigative Dermatology* (2004) 122(3), 812-819]. Ці дані підтверджують обґрунтованість застосування інгібіторів Trk в лікуванні запальних захворювань.

Вважається, що рецептор TrkA також має вирішальне значення в патогенезі захворювання паразитарною інфекцією *Trypanosoma cruzi* (хвороба Шагаса) у хазяїв-людей [de Melo-Jorge, M. et al., *Cell Host & Microbe* (2007) 1(4), 251-261].

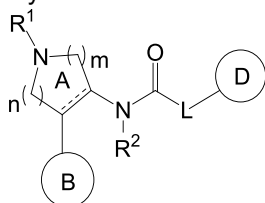
Інгібітори Trk також можуть знаходити застосування в лікуванні захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, таких як остеопороз, ревматоїдний артрит і кісткові метастази. Кісткові метастази є частим ускладненням раку, що зустрічається аж у 70 відсотків пацієнтів з раком молочної залози або передміхурової залози на пізній стадії і у близько 15-30 відсотків пацієнтів з карциномою легенів, товстої кишки, шлунку, сечового міхура, матки, прямої кишки, щитовидної залози або нирок. Остеолітичні метастази можуть викликати сильний біль, патологічні переломи, загрожуючи життю гіперкальціємію, здавлення спинного мозку і інші синдроми здавлення нервів. З цих причин кістковий метастаз є серйозним і дорогим ускладненням раку. В зв'язку з цим речовини, здатні індукувати апоптоз проліферуючих остеобластів, були б дуже корисними. Експресія рецепторів TrkA спостерігалася в області утворення кісткової тканини в моделях перелому кісток на мишах [K. Asaumi, et al., *Bone* (2000) 26(6) 625-633]. Крім того, локалізація NGF спостерігалася практично в усіх кісткоутворювальних клітинах [K. Asaumi, et al., *Bone* (2000) 26(6) 625-633]. Нещодавно було продемонстровано, що інгібітор Trk інгібує передачу сигналів, активовану нейротрофінами, що зв'язуються з усіма трьома рецепторами Trk в остеобластах hFOB людини [J. Pinski, et al., *Cancer Research* (2002) 62, 986-989]. Ці дані підтверджують обґрунтованість застосування інгібіторів Trk в лікуванні захворювань, пов'язаних з ремоделюванням кісткової тканини, таких як кісткові метастази у хворих на рак.

Інгібітори Trk також можуть знаходити застосування в лікуванні захворювань і розладів, таких як синдром Шергена [Fauchais, A.L., et al., (2009) *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 38(1), pp. 50-57], ендометриоз [Barcena De Arellano, M. L., et al., (2011) *Reproductive Sciences*, 18(12), pp. 1202-1210; Barcena De Arellano, et al., (2011) *Fertility and Sterility*, 95(3), pp. 1123-1126; Cattaneo, A., (2010) *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, 12(1), pp. 94-106], діабетична периферична нейропатія [Kim, H.C., et al., (2009) *Diabetic Medicine*, 26 (12), pp. 1228-1234; Siniscalco, D., et al., (2011) *Current Neuropharmacology*, 9(4), pp. 523-529; Ossipov, M. H., (2011) *Current Pain and Headache Reports*, 15(3), pp. 185-192], а також простатит і синдром тазового болю [Watanabe, T., et al., (2011) *BJU International*, 108(2), pp. 248-251; i Miller, L. J., et al., (2002) *Urology*, 59(4), pp. 603-608].

Інгібітори TrkA можуть також служити для лікування захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини (ФРСТ, також званого CCN2), наприклад, захворювань, що включають ремоделювання тканин і фіброз. ФРСТ є ключовим медіатором ремоделювання тканини і фіброзу [Lipson, K. E., et al., (2012), *Fibrogenesis & Tissue Repair* 2012, 5 (Suppl 1):S24], а методи лікування, які знижують передачу сигналів ФРСТ, довели свою ефективність в лікуванні фіброзу [Li, G., et al., *J. Gene Med.*, 2006, 8:889-900]. ФРСТ взаємодіє з TrkA і активує її [Wahab, N. A., (2005) *J. Am. Soc. Nephrol.* 16:340–351], а інгібування цього шляху інгібіторами TrkA може виявитися корисним в лікуванні різних фіброзних захворювань, таких як синдром Рейно, ідіопатичний фіброз легенів, рубцювання (гіпертрофічне, келоїдне і інше), цироз, ендоміокардіальний фіброз, передсердний фіброз, мієлофіброз, прогресуючий масивний фіброз (легенів), нефрогенний системний фіброз, склеродермія, системний склероз, артрофіброз і фіброз ока.

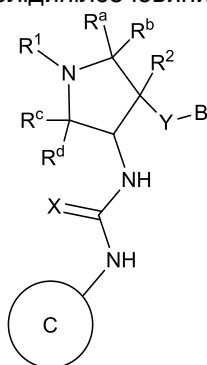
Відомо декілька класів низькомолекулярних інгібіторів Trk кіназ, які, як відомо, служать для лікування болю або раку [Wang, T et al., Expert Opin. Ther. Patents (2009) 19(3), 305-319; McCarthy C. і Walker E., Expert Opin. Ther. Patents 2014, 24(7):731-744].

В публікації міжнародної заявки № WO 2010/032856 описані сполуки, представлені формулою



де кільце В являє собою ароматичне кільце, кільце D являє собою ароматичне кільце, а L являє собою NR^3 , $NR^3C(R^{4a}R^{4b})$, O або $OC(R^{4a}R^{4b})$, які, як затверджується, є антагоністами рецепторів тахікінінів.

В публікації міжнародної заявки [WO 2012/158413] розкривається підгрупа сполук піролідинілсечовини в якості інгібіторів TrkA, що мають загальну формулу:



де:

Y являє собою зв'язок, -O- або $-OCH_2-$;

X являє собою O, S або NH;

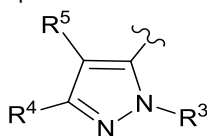
R¹ являє собою (1-3C алкокси)(1-6C)алкіл, (трифторметокси)(1-6C)алкіл, (1-3C сульфанил)(1-6C)алкіл, монофтор(1-6C)алкіл, дифтор(1-6C)алкіл, трифтор(1-6C)алкіл, тетрафтор(2-6C)алкіл, пентафтор(2-6C)алкіл, ціано(1-6C)алкіл, амінокарбоніл(1-6C)алкіл, гідрокси(1-6C)алкіл, дигідрокси(2-6C)алкіл, (1-6C)алкіл, (1-3C алкіламіно)(1-3C)алкіл, (1-4C алкоксикарбоніл) (1-6C)алкіл, аміно(1-6C)алкіл, гідрокси(1-3C алкокси)(1-6C)алкіл, ди(1-3C алкокси)(1-6C)алкіл, (1-3C алкокси)трифтор(1-6C)алкіл, гідрокситрифтор(1-6C)алкіл, (1-4C алкоксикарбоніл)(1-3C алкокси)(1-6C)алкіл, гідроксикарбоніл(1-3C алкокси)(1-6C)алкіл, гетAr⁵(CH₂)₀₋₁ або Ar⁵(CH₂)₀₋₁;

гетAr⁵ являє собою 5-6-членне гетероарильне кільце, що має 1-3 кільцеві гетероатоми, незалежно вибрані з N, O або S, при цьому це кільце необов'язково заміщене одним або більше замісниками, незалежно вибраними з галогену, (1-6C)алкілу, (1-6C)алкокси і CF₃;

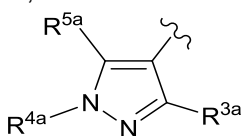
Ar⁵ являє собою феніл, необов'язково заміщений однією або більше групами, незалежно вибраними з галогену, (1-6C)алкілу, (1-6C)алкокси, CF₃O-, (1-4C)алкоксикарбонілу і амінокарбонілу;

В являє собою феніл, необов'язково заміщений одним або більше замісниками, незалежно вибраними з галогену, CF₃, CF₃O-, (1-4C)алкокси, гідрокси(1-4C)алкілу, (1-6C)алкілу і CN; 5-6-членний гетероарил, що має 1-3 кільцеві гетероатоми, незалежно вибрані з N, S і O, і необов'язково заміщений 1-2 групами, незалежно вибраними з (1-6C)алкілу, галогену, OH, CF₃, NH₂ і гідрокси(1-2C)алкілу; 1-6C-алкіл; або (1-6C)алкокси; і

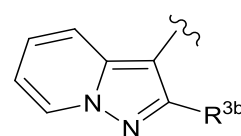
Кільце С являє собою формулу C-1, C-2 або C-3:



C-1

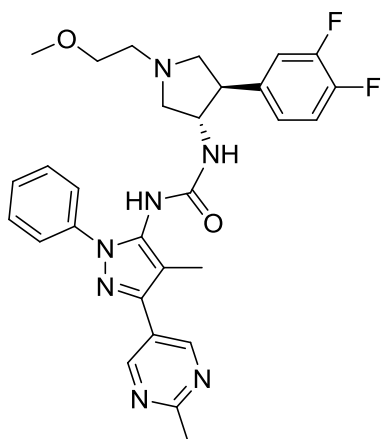


C-2

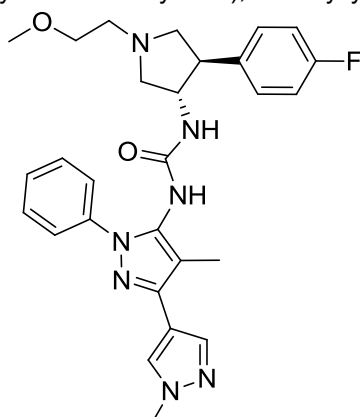


C-3

Приклади таких сполук в WO 2012/158413 включають сполуку Прикладу 511, що має структуру:



яка також відома як 1-((3S, 4R)-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовина (далі за текстом в цьому документі "Сполука 2"), і сполуку Прикладу 441, що має структуру:



5

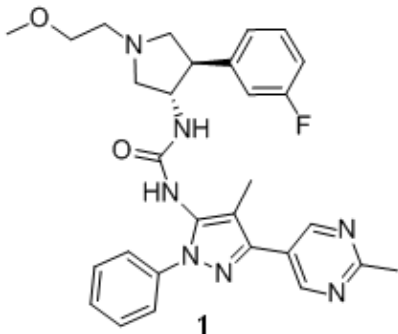
яка також відома як 1-(1',4'-диметил-1-феніл-1H, 1'H-[3,4'-біпіразол-5-іл)-3-((3S, 4R)-4-(4-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-іл)сечовина (далі за текстом в цьому документі "Сполука 3").

10

На даний момент виявлено, що сполука, що має несподівані і особливо бажані властивості, може бути отримана шляхом вибору 2-метилпіримідин-5-ілу в якості групи R⁴ і 3-фторфенілу в якості групи B.

СУТЬ ВИНАХОДУ

В цьому документі пропонується Сполука 1:



15

або її фармацевтично прийнятна сіль, яка є інгібітором TrkA. Цю сполуку також можна описати хімічною назвою 1-((3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовина.

20

Несподівано було виявлено, що Сполука 1 має значно нижчий розрахунковий властивий людині в/в (внутрішньовенний) кліренс у щурів в порівнянні зі Сполуками 2 і 3. Також несподівано було виявлено, що Сполука 1 забезпечує більш високу AUC при пероральному введенні (площа під кривою залежності концентрації лікарського засобу в плазмі крові від часу) після прийому пероральної дози, що становила 10 мг/кг, у щурів в порівнянні зі Сполуками 2 і 3. Також несподівано було виявлено, що Сполука 1 забезпечує більш високу C_{max} (максимальну концентрацію, досягнуту в кривій залежності концентрації лікарського засобу в плазмі крові від

часу) після прийому пероральної дози, що становила 10 мг/кг, у щурів в порівнянні зі Сполуками 2 і 3. Також несподівано було виявлено, що Сполука 1 забезпечує більш високу залишкову концентрацію (мінімальну концентрацію, досягнуту в кривій залежності концентрації лікарського засобу в плазмі крові від часу) після прийому пероральної дози, що становила 10 мг/кг, у щурів в порівнянні зі Сполуками 2 і 3. Також несподівано було виявлено, що Сполука 1 має більш високе оціночне інгібування TrkA в порівнянні зі Сполуками 2 і 3. Сполука 1 також має несподівано поліпшений розподіл від периферичної до центральної нервової системи в порівнянні зі Сполукою 2, про що свідчить більш високе відношення концентрації в головному мозку до концентрації в плазмі крові після перорального введення у щурів. Сполука 1 також має несподіване зниження інгібуючої активності каналу hERG (ген специфічних калієвих каналів серця людини) в порівнянні зі Сполукою 2.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування захворювання або розладу, модульованого TrkA, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування хронічного і гострого болю, зокрема, без обмеження ними, запального болю, нейропатичного болю і болю, обумовленого раком, хірургічним втручанням або переломом кістки, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування раку, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування запалення і запальних захворювань, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування нейродегенеративних захворювань, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування простатиту або синдрому тазового болю, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, таких як остеопороз, ревматоїдний артрит і кісткові метастази, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування захворювань і розладів, вибраних з деяких інфекційних захворювань, синдрому Шегрена, ендометріозу і діабетичної периферичної нейропатії, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

Також в цьому документі пропонуються способи лікування захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини, що включають введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

В одному варіанті реалізації винаходу будь-який з наданих вище способів лікування включає введення ссавцю, що потребує такого лікування, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з додатковим терапевтичним засобом.

Також в цьому документі пропонується фармацевтична композиція, що містить Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в терапії.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні хронічного і гострого болю, зокрема, без обмеження ними, запального болю, нейропатичного болю і болю, обумовленого раком, хірургічним втручанням або переломом кістки.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні раку.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні запалення або запальних захворювань.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні нейродегенеративних захворювань.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні простатиту або синдрому тазового болю.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, таких як остеопороз, ревматоїдний артрит і кісткові метастази.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні деяких інфекційних захворювань, синдрому Шегрена, ендометріозу і діабетичної периферичної нейропатії.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.

Також в цьому документі пропонується застосування Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі у виготовленні лікарського засобу для лікування захворювань і розладів, таких як хронічний і гострий біль, зокрема, без обмеження ними, запальний біль, нейропатичний біль і біль, обумовлений раком, хірургічним втручанням або переломом кістки.

Також в цьому документі пропонується застосування Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі у виготовленні лікарського засобу для лікування захворювань і розладів, вибраних з раку, запалення або запальних захворювань, нейродегенеративних захворювань, деяких інфекційних захворювань, синдрому Шегрена, ендометріозу, діабетичної периферичної нейропатії, простатиту, синдрому тазового болю і захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, таких як остеопороз, ревматоїдний артрит і кісткові метастази.

Також в цьому документі пропонується застосування Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі у виготовленні лікарського засобу для лікування захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.

Також в цьому документі пропонується проміжні сполуки, вживані в отриманні сполук, інгібуючих TrkA, таких як Сполука 1, а також способи отримання таких проміжних сполук.

Також в цьому документі пропонується способи отримання, способи розділення і способи очищення Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

На Фігурі 1 наданий графік порівняння концентрації лікарського засобу в плазмі крові (мкг/мл) залежно від часу (в годинах) у разі Сполуки 1 (трикутники) і Сполуки 2 (квадрати) після прийому пероральної дози, що становила 10 мг/кг, у щурів.

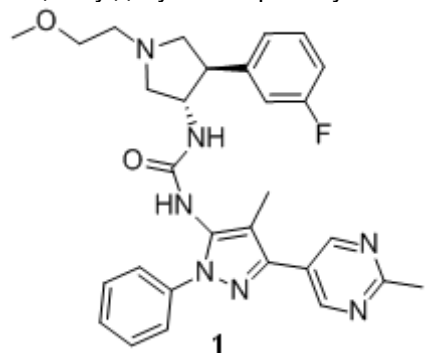
На Фігурі 2 наданий графік порівняння концентрації лікарського засобу в плазмі крові (мкг/мл) залежно від часу (в годинах) у разі Сполуки 1 (трикутники) і Сполуки 3 (кружки) після прийому пероральної дози, що становила 10 мг/кг, у щурів.

На Фігурі 3 надано порівняння оціночного відсотка інгібування TrkA залежно від часу (в годинах) у разі Сполуки 1 (трикутники) і Сполуки 2 (квадрати) після прийому пероральної дози, що становила 10 мг/кг, у щурів.

На Фігурі 4 надано порівняння оціночного відсотка інгібування TrkA залежно від часу (в годинах) у разі Сполуки 1 (трикутники) і Сполуки 3 (кружки) після прийому пероральної дози, що становила 10 мг/кг, у щурів.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС СУТІ ВИНАХОДУ

В цьому документі пропонується Сполука 1



або її фармацевтично прийнятна сіль, яка є інгібітором TrkA. Цю сполуку також можна описати хімічною назвою 1-((3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовина.

Було виявлено, що Сполука 1 має певні несподівані і бажані властивості. Однією з особливо корисних властивостей Сполуки 1 є її розрахунковий в/в кліренс у людини, який значно нижче в

порівнянні з розрахунковим в/в кліренсом у людини як у разі Сполуки 2, так і Сполуки 3, як показано в Таблиці 1.

Таблиця 1

Сполука	Вид	в/в кліренс (мл/хв/кг)	мікросомальний кліренс (мл/хв/кг)	in vivo/in vitro поправочний коефіцієнт
Сполука 1	Миша	НД *	50	НД *
	Щур	15	22	1,47
	Собака	7,6	24	3,16
	Мавпа	20	33	1,65
	Людина	5 (розрахунковий)**	9,8	2,09 ***
Сполука 2	Миша	42	57	1,36
	Щур	29	22	0,76
	Собака	25	26	1,04
	Мавпа	18	38	2,11
	Людина	12 (розрахунковий)**	14	1,32 ***
Сполука 3	Миша	71	60	0,85
	Щур	26	23	0,88
	Собака	18	23	1,28
	Мавпа	38	32	0,84
	Людина	10 (розрахунковий)**	10	0,96 ***

* Немає даних

** Спостережувану у доклінічних видів середню міру поправки використовували для розрахунку в/в кліренсу у людини.

*** Доклінічний середній поправочний коефіцієнт для усіх випробовуваних видів

- 5 В Таблиці 1 значення розрахункового в/в кліренсу у людини розраховували з даних концентрації сполуки в плазмі крові, зібраної у доклінічних видів (миші, щура, собаки і мавпи), залежно від часу після введення внутрішньовенних (в/в) доз, що становили 1 мг/кг. Концентрації сполуки в плазмі крові визначали з допомогою РХ-МС (рідинної хроматографії-мас-спектрометрії). Значення AUC_{inf} (площа під кривою залежності концентрації в плазмі крові від часу для інтервалу дозування від 0 часу, екстрапольована до нескінченності) для окремих кривих $C_{p/t}$ (концентрація лікарського засобу в плазмі крові у будь-який момент часу t) визначали за допомогою інтегрування лінійним методом трапецій і екстраполяції першого порядку від кінцевих точок кривих $C_{p/t}$, а кліренс (CL) розраховували за допомогою відношення доза/ AUC_{inf} .

- 10 Значення розрахункового печінкового кліренсу (CL_h) розраховували шляхом поправки періоду напіввиведення in vitro ($t_{1/2}$) на стабільність сполуки в мікросомах печінки (1 мг/мл; 20 хвилин) за допомогою фізичних і фізіологічних поправочних коефіцієнтів, вживаних для розрахунку власного кліренсу (CL_{int}) і печінкового кліренсу (CL_{hep}), наданих в Таблиці 2 і вживаних в наступних рівняннях:

$$CL_{int} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \left(\frac{D \cdot W}{C} \right) \quad CL_h = \frac{CL_{int} \cdot Q}{CL_{int} + Q}$$

- 20 де D являє собою відношення кількості цитохром Р450-подібного білку до маси печінки, W являє собою відношення середньої маси даної печінки до маси тварини, C являє собою концентрацію в мікросомах печінки і Q являє собою залежний від виду печінковий кровотік.

Таблиця 2

Вид	W _a	Q _b	D _c
Миша	87,0	90	50
Щур	45,0	70	45
Кролик	30,8	71	78
Собака	32,0	35	55
Мавпа	32,0	44	60
Людина	25,7	20	53

W = відношення середньої маси печінки (г) до маси тварини (кг).

Q = середній печінковий кровотік (мл/хв/кг).

D (мік.) = відношення кількості цитохром Р450-подібного білку (мг) до маси печінки (г).

Потім визначали поправочний коефіцієнт *in vivo/in vitro* шляхом ділення значення мікросомального CL_h на значення в/в CL. Для кожної сполуки застосовували середнє арифметичне доклінічних поправочних коефіцієнтів, щоб розрахувати в/в кліренс у людини, виходячи з виміряного мікросомального CL_h у людини (CL_h/ поправочний коефіцієнт).

Крім того, Сполука 1 несподівано забезпечує більш високу AUC при пероральному введенні (площа під кривою залежності концентрації лікарського засобу в плазмі крові від часу), більш високу C_{max} (максимальну концентрацію, досягнуту в кривій залежності концентрації лікарського засобу в плазмі крові від часу) і більш високу залишкову концентрацію (мінімальну концентрацію, досягнуту в кривій залежності концентрації лікарського засобу в плазмі крові від часу) після прийому пероральної дози (10 мг/кг), як продемонстровано на прикладі їх фармакокінетичних кривих у щурів, в порівнянні зі Сполуками 2 і 3, як показано на Фігурах 1 і 2 і резюмовано в Таблиці 3.

Таблиця 3

ФК параметр у щурів	Сполука 1	Сполука 2	Сполука 3
AUC (мкг-г/мл)	2,57	0,925	1,06
C _{max} (мкг/мл)	1,06	0,420	0,498
Залишкова концентрація (мкг/мл)	0,00134	0,000446	0,00044

На Фігурах 3 і 4 проілюстровано оціночне інгібування TrkA у разі Сполуки 1 після прийому пероральної дози, що становила 10 мг/кг, у щурів в порівнянні зі Сполукою 2 і у разі Сполуки 1 в порівнянні зі Сполукою 3, відповідно. Криві на Фігурах 3 і 4 розраховували за допомогою наступного рівняння:

$$\text{Інгібування}(\%) = I_{\min} + \frac{I_{\max} - I_{\min}}{1 + 10^{(\log(IC_{50}) - \log(C)) \cdot n}}$$

де I_{min} і I_{max} являють собою мінімальне і максимальне можливе інгібування мішені, відповідно, IC₅₀ являє собою концентрацію, при якій мішень інгібується на 50 %, C являє собою концентрацію інгібітору, а n являє собою кутовий коефіцієнт Хілла. Як показано на Фігурах 3 і 4, оціночне інгібування TrkA у разі Сполуки 1 вище, ніж у разі Сполуки 2 і Сполуки 3.

Нижчий кліренс, більш висока AUC, більш висока C_{max} і більш висока залишкова концентрація Сполуки 1 призводять до більшого інгібування рецептора TrkA впродовж дня після введення Сполуки 1 пацієнтові в порівнянні зі Сполуками 2 і 3. Це забезпечує більш високу терапевтичну ефективність у разі Сполуки 1 в порівнянні зі Сполуками 2 і 3. Можливість досягнення поліпшеної терапевтичної ефективності має важливе значення в лікуванні пацієнтів, що страждають, наприклад, від больового синдрому середньої і високої інтенсивності, деяких запальних станів або раку (зокрема ракових захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів TrkA).

Крім того, нижчий кліренс Сполуки 1 призводить до тривалішого періоду напіввиведення сполуки після введення в порівнянні зі Сполуками 2 і 3, призводячи до стійкішого інгібування рецептора TrkA після перорального, внутрішньовенного або підшкірного введення сполуки. Збільшений період напіввиведення має переваги з точки зору забезпечення стійкішої ефективності і/або зменшеної частоти прийому лікарського засобу. Крім того, нижчий кліренс у

людини і більш висока AUC при пероральному введенні Сполуки 1 мають перевагу в тому аспекті, що для ефективного інгібування рецептора TrkA і забезпечення заданої терапевтичної ефективності потрібна нижча доза Сполуки 1 в порівнянні зі Сполуками 2 і 3. Зниження дози сполуки, необхідної для ефективності, призводить до поліпшення переносимості лікарського засобу, вартості лікування, а також дотримання пацієнтами режиму і схеми лікування.

Сполука 1 також має несподівано поліпшений розподіл від периферичної до центральної нервової системи в порівнянні зі Сполукою 2, про що свідчить більш високе відношення концентрації в головному мозку до концентрації в плазмі крові після перорального введення у щурів, як показано в Таблиці 4. Підтримка низької концентрації в головному мозку має перевагу зниження ризику з боку центральної нервової системи, пов'язаного з побічними ефектами, такими як побічні ефекти, пов'язані з когнітивною або руховою недостатністю. Знижена концентрація в центральній нервовій системі є сприятливою в тому аспекті, що у пацієнта виникає менше побічних ефектів або вони менш виражені для заданого терапевтичного ефекту і/або досягається більший терапевтичний ефект, перш ніж почнуть спостерігатися які-небудь дозозалімітуючі побічні ефекти.

Сполука 1 також має несподівано знижену інгібуючу активність щодо каналу hERG (ген специфічних калієвих каналів серця людини) в порівнянні зі Сполукою 2, як показано в Таблиці 4. Інгібування функції каналу hERG може призвести до серйозного побічного медикаментозного (придбаного) синдрому подовженого інтервалу QT, який може створювати супутній ризик раптової смерті. Через серйозний характер цього побічного ефекту зниження інгібуючої активності щодо hERG є вельми бажаним.

Таблиця 4

	Сполука 1	Сполука 2
Відношення головний мозок:плазма крові (п/о 10 мг/кг у щурів)	21	11
hERG IC ₅₀ (мкМ)	20	6,9

Описані вище несподівані властивості Сполуки 1 в порівнянні зі Сполукою 2 не можна об'єктивно покладати на незначну структурну відмінність між цими сполуками. Єдиною структурною відмінністю між Сполукою 1 і Сполукою 2 є видалення одного атома фтору. Проте, в цій галузі техніки демонструвалося, що видалення одного атома фтору із сполуки зазвичай не призводить до отримання сполуки, що має поліпшену зміну розрахункового кліренсу у людини, як спостерігалось у разі Сполуки 1 в порівнянні зі Сполукою 2. По суті, в цій галузі техніки існує ряд прикладів з іншими фрагментами лікарських засобів, які демонструють, що аналоги, які мають більше атомів фтору зазвичай мають нижчий кліренс in vivo в порівнянні з їх аналогами, що мають менше атомів фтору [дивися, наприклад, Barker, A. J., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 1911-1914; Rosenblum, S. B. et al., J. Med. Chem., 41, (1998) 973-980; Brown, M. F. et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 14 (2004) 2175-2179]. В протилежність цьому, монофториста Сполука 1 має нижчий розрахунковий кліренс у людини в порівнянні з дифтористою Сполукою 2. Аналогічним чином, фармакокінетичні (ФК) переваги більш високої Стах, більш високої AUC, більш високої залишкової концентрації і більш високого нокдауну мішені TrkA у разі Сполуки 1 в порівнянні зі Сполукою 2, як показано на доклінічних ФК даних щура, є дуже значними і несподіваними для такої невеликої структурної зміни.

Крім того, порівняння ФК параметрів Сполуки 1 і Сполуки 3 демонструє, що поліпшена фармакокінетика Сполуки 1 не є загальним явищем для усіх монофтористих аналогів. По суті, Сполука 3 продемонструвала гірший прогностичний кліренс у людини і гірші ФК значення щодо Стах, AUC, залишкової концентрації і нокдауну мішені TrkA в порівнянні зі Сполукою 1, незважаючи на наявність монофтор-заміщеної фенільної групи. Унікальна комбінація метилпіримідинілу і монофтор-заміщених фенільних фрагментів в Сполучі 1 несподівано забезпечує кращі властивості, описані вище.

Також в цьому документі пропонуються фармацевтично прийнятні солі Сполуки 1. Конкретні солі включають гідрохлоридні солі. В одному варіанті реалізації винаходу в цьому документі пропонується моногідрохлоридна сіль Сполуки 1. В одному варіанті реалізації винаходу в цьому документі пропонується дигідрохлоридна сіль Сполуки 1.

В одному варіанті реалізації винаходу в цьому документі пропонується лужна форма Сполуки 1.

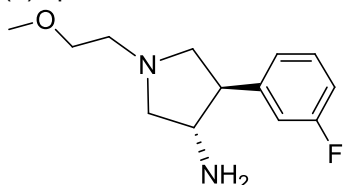
В одному варіанті реалізації винаходу Сполука 1 або її солі можна виділити у формі сольватів і, отже, будь-який такий сольват входить в обсяг цього винаходу. Наприклад, Сполука

1 або її солі можуть існувати як в несольватованій, так і в сольватованій формах з фармацевтично прийнятними розчинниками, такими як вода, етанол і тому подібне.

Термін "фармацевтично прийнятний" означає, що речовина або композиція є хімічно і/або токсикологічно сумісними з іншими компонентами, що містять цей препарат, і/або ссавцем, що підлягає лікуванню ними.

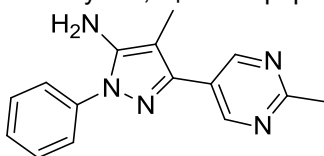
Також в цьому документі пропонується спосіб отримання Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі, який включає:

(а) приведення в контакт сполуки, що має формулу II-A



II-A

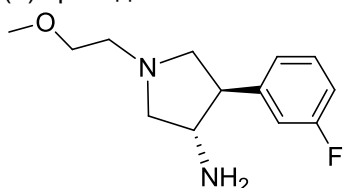
зі сполукою, що має формулу III



III

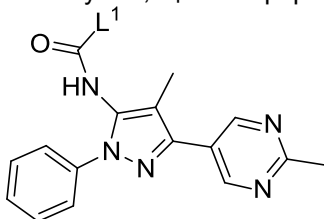
в присутності карбонілдіімідазолу або трифосгену і основи; або

(б) приведення в контакт сполуки, що має формулу II-A



II-A

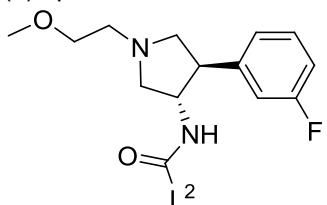
зі сполукою, що має формулу IV



IV

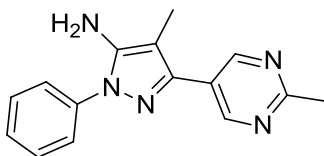
де L¹ являє собою групу, що відходить, в присутності основи; або

(в) приведення в контакт сполуки, що має формулу V



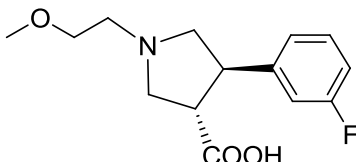
V

де L² являє собою групу, що відходить, зі сполукою, що має формулу III



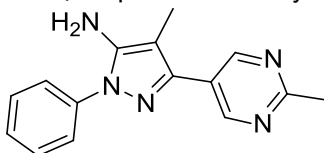
III

в присутності основи; або
(г) приведення в контакт сполуки, що має формулу VI



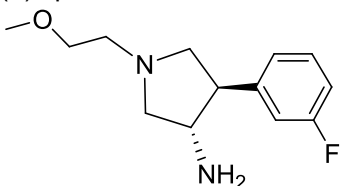
VI

- 5 з дифенілфосфорилазидом з утворенням проміжної сполуки, з подальшим приведенням в контакт цієї проміжної сполуки зі сполукою, що має формулу III



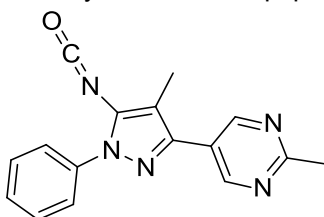
III

в присутності основи; або
(д) приведення в контакт сполуки, що має формулу II-A



II-A

- 10 зі сполукою, що має формулу VII



VII

в присутності основи; і
видалення захисних груп, у разі присутності, і необов'язкове отримання її фармацевтично прийнятної солі.

- 15 З посиланням на спосіб (а), основа може являти собою амінну основу, таку як триетиламін або діізопропіламін. Прийнятні розчинники включають дихлорметан, дихлоретан, ТГФ, ДМА і ДМФА. Реакцію зазвичай проводять при температурі доквілля.

- 20 З посиланням на спосіб (б), група, що заміщається, може являти собою, наприклад, фенокси або 4-нітрофенокси. Основа може являти собою амінну основу, таку як триетиламін або діізопропіламін. Прийнятні розчинники включають ДМА, ДМФА і ДХЕ. Реакцію зазвичай проводять при температурі доквілля.

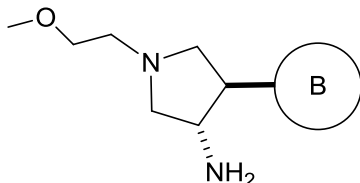
- 25 З посиланням на спосіб (в), група, що заміщається, може являти собою, наприклад, фенокси або 4-нітрофенокси. Основа може являти собою амінну основу, таку як триетиламін або діізопропіламін. Прийнятні розчинники включають ДХЕ, ДМА і ДМФА. Реакцію зазвичай

проводять при температурі доквілля.

З посиланням на спосіб (г), основа може являти собою амінну основу, таку як триетиламін або діізопропіламін. Прийнятні розчинники включають толуол і ДМФА. Реакцію зазвичай проводять при підвищених температурах, наприклад, при температурі кипіння розчинника.

5 З посиланням на спосіб (д), основа може являти собою амінну основу, таку як триетиламін або діізопропіламін. Прийнятні розчинники включають ДХМ, ДХЕ, ДМФА і ТГФ. Реакцію зазвичай проводять при температурі від близько 0 °С до температури доквілля.

Також в цьому документі пропонується спосіб отримання рацемічної суміші сполуки Формули II



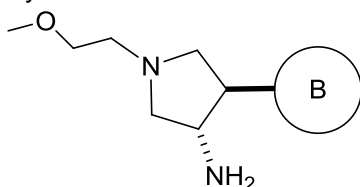
II

10

де кільце В і фрагмент NH₂ знаходяться в транс-конфігурації. Сполуки Формули II (такі як сполуки Формули II-A) можна застосовувати для отримання сполук, таких як сполуки, що інгібують TrkA, таких як Сполука 1.

Відповідно, в цьому документі пропонується спосіб отримання рацемічної суміші сполуки Формули II

15



II

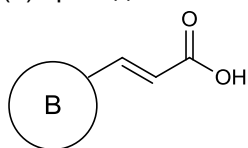
де:

Кільце В являє собою Ar¹ або гетAr¹;

20 Ar¹ являє собою феніл, необов'язково заміщений одним або більше замісниками, незалежно вибраними з галогену, CF₃, CF₃O-, (1-4C)алокси, гідрокси(1-4C)алкілу, (1-6C)алкілу і CN; і

гетAr¹ являє собою 5-6-членний гетероарил, що має 1-3 кільцеві гетероатоми, незалежно вибрані з N, S і O, і необов'язково заміщений 1-2 групами, незалежно вибраними з (1-6C)алкілу, галогену, OH, CF₃, NH₂ і гідрокси(1-2C)алкілу, при цьому вказаний спосіб включає:

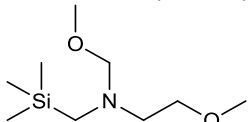
(а) приведення в контакт сполуки формули (а)



25

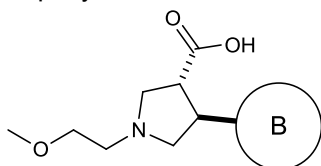
(а)

де кільце В є таким, як визначено для Формули II, з 2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанаміном, що має формулу



30

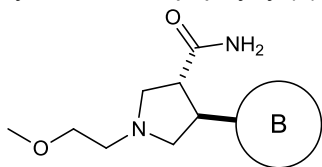
в присутності каталітичної кількості кислоти, з отриманням сполуки формули (б)



(б)

де кільце В є таким, як визначено для Формули II;

(б) приведення в контакт вказаної сполуки формули (б) з карбонілдіімідазолом в присутності каталітичної кількості гідрохлориду імідазолу, з подальшою обробкою аміаком, з отриманням сполуки, що має формулу (в)



5 (в)

де кільце В є таким, як визначено для Формули II; і

(в) приведення в контакт вказаної сполуки формули (в) з гіпохлоритом натрію, з подальшою обробкою KOH, з подальшою обробкою HCl, з отриманням вказаної сполуки Формули II у вигляді рацемічної суміші транс Формули II.

10 З посиланням на стадію (а), кислота може являти собою органічну кислоту, таку як трифтороцтова кислота.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу отримання рацемічної суміші сполуки Формули II кільце В являє собою феніл, необов'язково заміщений одним або більше замісниками, незалежно вибраними з галогену, CF₃, CF₃O-, (1-4C)алкокси, гідрокси(1-4C)алкілу, (1-6C)алкілу і CN.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу отримання рацемічної суміші сполуки Формули II кільце В являє собою феніл, необов'язково заміщений одним або більше замісниками, незалежно вибраними з галогену.

20 В одному варіанті реалізації вказаного вище способу отримання рацемічної суміші сполуки Формули II кільце В являє собою феніл, необов'язково заміщений одним або більше атомами фтору.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу отримання рацемічної суміші сполуки Формули II кільце В являє собою 3-фторфеніл

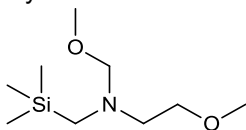
25 В одному варіанті реалізації вказаного вище способу отримання рацемічної суміші сполуки Формули II кільце В являє собою 3,4-дифторфеніл.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу отримання рацемічної суміші сполуки Формули II кільце В являє собою 5-6-членний гетероарил, що має 1-3 кільцеві гетероатоми, незалежно вибрані з N, S і O, і необов'язково заміщений 1-2 групами, незалежно вибраними з (1-6C)алкілу, галогену, OH, CF₃, NH₂ і гідрокси(1-2C)алкілу.

30 В одному варіанті реалізації вказаного вище способу кільце В являє собою піридиліне, тіофенільне, тіазолільне, оксазолільне або ізоксазолільне кільце, необов'язково заміщене 1-2 групами, незалежно вибраними з (1-6C)алкілу, галогену, OH, CF₃, NH₂ і гідрокси(1-2C)алкілу.

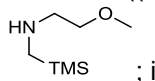
35 В одному варіанті реалізації вказаного вище способу отримання рацемічної суміші сполуки Формули II кільце В являє собою піридиліне, тіофенільне, тіазолільне, оксазолільне або ізоксазолільне кільце, необов'язково заміщене 1-2 групами, незалежно вибраними з галогену і (1-6C)алкілу.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу отримання рацемічної суміші сполуки Формули II 2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанамін, що має формулу



40 може бути отриманий способом, що включає:

(i) приведення в контакт (хлорметил)триметилсилану з 2-метоксиетанаміном з отриманням (2-метокси-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну, що має структуру



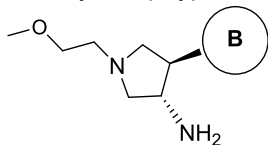
45 (ii) обробку вказаного (2-метокси-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну формальдегідом в метанолі з отриманням вказаного 2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну.

В цьому документі додатково пропонується спосіб виділення енантиомеру 1 транс Формули II, або у вигляді вільної основи, або у вигляді солі ди-п-толуоїл-D-винної кислоти, що включає:

50 обробку рацемічного транс Формули II ди-п-толуоїл-D-винною кислотою з отриманням солі ди-п-толуоїл-D-винної кислоти рацемічної транс II; перекристалізацію солі ди-п-толуоїл-D-винної кислоти транс II з отриманням солі ди-п-

толуоїл-D-винної кислоти енантіомеру 1 транс II; і

необов'язкову обробку солі ди-п-толуоїл-D-винної кислоти енантіомеру 1 транс II неорганічною основою з отриманням вільної основи енантіомеру 1 транс Формули II, що має абсолютну конфігурацію, зображену нижче:



II

5

В одному варіанті реалізації винаходу сіль ди-п-толуоїл-D-винної кислоти енантіомеру 1 транс II застосовують для отримання сполук, таких як сполуки, що інгібують TrkA, таких як Сполука 1. Наприклад, в одному варіанті реалізації винаходу сіль ди-п-толуоїл-D-винної кислоти енантіомеру 1 транс Формули II застосовують для отримання сполук, таких як сполуки, що інгібують TrkA, таких як Сполука 1, в умовах Шоттен-Баумана, при цьому вільну основу солі ди-п-толуоїл-D-винної кислоти енантіомеру 1 транс Формули II отримують із застосуванням двофазної системи розчинників, що складається з води і органічного розчинника (такого як дихлорметан), в присутності основи, такої як гідроксид натрію, і піддають реакції зі сполукою, що має формулу IV.

10

В одному варіанті реалізації винаходу вільну основу енантіомеру 1 транс Формули II застосовують для отримання сполук, таких як сполуки, що інгібують TrkA, таких як Сполука 1.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу виділення енантіомеру 1 транс Формули II кільце В являє собою феніл, необов'язково заміщений одним або більше замісниками, незалежно вибраними з галогену, CF₃, CF₃O-, (1-4C)алкокси, гідрокси(1-4C)алкілу, (1-6C)алкілу і CN.

20

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу виділення енантіомеру 1 транс Формули II кільце В являє собою феніл, необов'язково заміщений одним або більше замісниками, незалежно вибраними з галогену.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу виділення енантіомеру 1 транс Формули II кільце В являє собою феніл, необов'язково заміщений одним або більше атомами фтору.

25

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу виділення енантіомеру 1 транс Формули II кільце В являє собою 3-фторфеніл.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу виділення енантіомеру 1 транс Формули II кільце В являє собою 3,4-дифторфеніл.

30

В одному варіанті реалізації винаходу вказаний вище спосіб виділення енантіомеру 1 транс Формули II належить до способу отримання (3S, 4R)-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміну.

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу виділення енантіомеру 1 транс Формули II кільце В являє собою 5-6-членний гетероарил, що має 1-3 кільцеві гетероатоми, незалежно вибрані з N, S і O, і необов'язково заміщений 1-2 групами, незалежно вибраними з (1-6C)алкілу, галогену, OH, CF₃, NH₂ і гідрокси(1-2C)алкілу.

35

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу виділення енантіомеру 1 транс Формули II кільце В являє собою піридинське, тіофенільне, тіазолільне, оксазолільне або ізоксазолільне кільце, необов'язково заміщене 1-2 групами, незалежно вибраними з (1-6C)алкілу, галогену, OH, CF₃, NH₂ і гідрокси(1-2C)алкілу.

40

В одному варіанті реалізації вказаного вище способу виділення енантіомеру 1 транс Формули II кільце В являє собою піридинське, тіофенільне, тіазолільне, оксазолільне або ізоксазолільне кільце, необов'язково заміщене 1-2 групами, незалежно вибраними з галогену і (1-6C)алкілу.

45

Вказаний вище спосіб отримання рацемічної суміші сполуки Формули II має ряд переваг в порівнянні із способом, описаним в публікації міжнародної заявки № WO 2012/158413. Наприклад, спосіб, описаний в WO 2012/158413, включає нітроальдольну реакцію між реагентом бензальдегіду і нітродетаном. Потім отриманий в результаті проміжний 2-нітровінілбензол відновлюють гідруванням при високому тиску. Ці обидві стадії реакції не придатні для синтезу у великих масштабах, оскільки нітроальдольні реакції і отримані з їх допомогою проміжні нітросполуки є нестійкими і можуть бути небезпечні. В протилежність цьому, в описаному вище способі отримання рацемічної суміші сполуки Формули II не застосовуються особливо небезпечні хімічні сполуки, і він дозволяє уникнути застосування

50

проміжних нітросполук і гідрування. Крім того, усі умови, використовувані у вказаному вище способі отримання рацемічної суміші сполуки Формули II, знаходяться в межах стандартних робочих параметрів, типових для дослідних установок великомасштабного синтезу, наприклад, в цьому способі немає екстремальних температур і не потрібні посудини високого тиску.

5 Здатність Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі виступати в якості інгібітору TrkA може бути продемонстрована за допомогою аналізів, описаних в прикладах А і Б.

Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль застосовують в лікуванні захворювань і розладів, що включають, без обмеження ними, біль, рак, запалення/запальні захворювання, нейродегенеративні захворювання, деякі інфекційні захворювання, синдром Шегрена, ендометріоз, діабетичну периферичну нейропатію, простатит, синдром тазового болю, захворювання, пов'язані з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, а також захворювання, обумовлені аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.

10 При використанні за текстом цього документу, терміни "лікувати" або "лікування" стосуються терапевтичних або паліативних заходів. Сприятливі або бажані клінічні результати включають, без обмеження ними, послаблення, повністю або частково, симптомів, пов'язаних з розладом або станом, зниження міри захворювання, стабілізацію (тобто без погіршення) хворобливого стану, затримку або уповільнення розвитку захворювання, зменшення інтенсивності або тимчасове полегшення хворобливого стану і ремісію (часткову або повну), виявлювану або невиявлювану. Термін "лікування" може також означати продовження часу виживання в порівнянні з очікуваним виживанням за відсутності лікування.

20 У деяких варіантах реалізації винаходу Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль застосовують для профілактики захворювань і розладів, вказаних в цьому документі. Термін "профілактика", при використанні за текстом цього документу, означає запобігання появи, рецидиву або поширення, повністю або частково, захворювання або стану, описаного в цьому документі, або його симптомів, і включає введення Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі до появи симптомів.

Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль можуть застосовуватися в комбінації з одним або більше додатковими терапевтичними засобами, які мають такий самий або інший механізм дії.

30 Термін "фармацевтична комбінація", при використанні за текстом цього документу, стосується фармацевтичного препарату, отриманого в результаті змішування або комбінування більш ніж однієї діючої речовини, і включає як фіксовані, так і нефіксовані комбінації діючих речовин. Термін "фіксована комбінація" означає, що Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль і щонайменше один додатковий терапевтичний засіб вводять пацієнтові одночасно у вигляді одного препарату або дозованої форми. Термін "нефіксована комбінація" означає, що Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль і щонайменше один додатковий терапевтичний засіб вводять пацієнтові у вигляді окремих препаратів або одночасно, або послідовно без накладення спеціальних обмежень за часом, при цьому таке введення забезпечує ефективні рівні двох або більше сполук в організмі пацієнта. Останнє також стосується змішаних препаратів, наприклад, введення 3 або більше діючих речовин.

40 При використанні за текстом цього документу, термін "спільне введення" означає введення вибраних терапевтичних засобів одному пацієнтові, і призначений для включення схем лікування, при яких засоби вводять одним або різними способами введення або одночасно, або в різний час. Цей термін охоплює введення ссавцю двох або більше засобів так, щоб засоби і/або їх метаболіти потрапляли в організм ссавця одночасно. Він включає одночасне введення окремих композицій, введення в різний час окремих композицій і/або введення композиції, в якій присутні обидва засоби. В одному варіанті реалізації сполуку (сполуки) за цим винаходом і інший терапевтичний засіб (засоби) вводять в одній композиції. В одному варіанті реалізації винаходу Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль і інший засіб (засоби) змішують в композиції.

50 В одному варіанті реалізації винаходу Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль застосовують в лікуванні болю, зокрема хронічного і гострого болю. Наприклад, Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль застосовують в лікуванні декількох типів болю, зокрема запального болю, нейропатичного болю, хребетного болю і болю, обумовленого раком, хірургічним втручанням або переломом кістки.

55 В одному варіанті реалізації винаходу Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль застосовують в лікуванні гострого болю. Гострий біль, за визначенням Міжнародної асоціації з вивчення болю, є наслідком захворювання, запалення або ушкодження тканин. Цей тип болю зазвичай виникає несподівано, наприклад, після травми або хірургічного втручання, і може

супроводжуватися тривожним розладом або стресом, і обмежується певним періодом часу і ступенем тяжкості. В деяких випадках він може стати хронічним.

В одному варіанті реалізації винаходу Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль застосовують в лікуванні хронічного болю. Існує широко поширена думка, що хронічний біль, за визначенням Міжнародної асоціації з вивчення болю, являє собою захворювання як таке. Його можуть посилювати екологічні і психологічні чинники. Хронічний біль зберігається впродовж тривалішого періоду, ніж гострий біль і не піддається лікуванню більшістю способів лікування зазвичай впродовж 3 місяців або більше. Він може і часто викликає серйозні проблеми у пацієнтів.

Відповідно, в цьому документі пропонується спосіб лікування болю у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в кількості, ефективній для лікування вказаного болю. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою гострий біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою хронічний біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою хронічний хребетний біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою нейропатичний біль, такий як біль, обумовлений діабетичною периферичною нейропатією або недіабетичною (наприклад, обумовленою хіміотерапією) периферичною нейропатією. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою запальний біль, такий як біль, обумовлений остеоартритом. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою біль, обумовлений раком. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою біль, обумовлений хірургічним втручанням. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою біль, обумовлений переломом кістки.

Також в цьому документі пропонується спосіб профілактики болю у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в кількості, ефективній для запобігання вказаного болю. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою гострий біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою хронічний біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою хронічний хребетний біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою нейропатичний біль, такий як біль, обумовлений діабетичною периферичною нейропатією або недіабетичною (наприклад, обумовленою хіміотерапією) периферичною нейропатією. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою запальний біль, такий як біль, обумовлений остеоартритом. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою біль, обумовлений раком. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою біль, обумовлений хірургічним втручанням. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою біль, обумовлений переломом кістки.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування болю у ссавця, що включає спільне введення ссавцю, що потребує цього, ефективної кількості: (а) Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі; і (б) щонайменше одного додаткового терапевтичного засобу, вибраного з протизапальних сполук, стероїдів (наприклад, дексаметазон, кортизон і флутиказон), болезаспокійливих засобів, таких як НПБЗ (наприклад, аспірин, ібупрофен, індометацин і кетопрофен), опіатів (таких як морфін), антагоністів рецепторів кальцитонін ген-спорідненого пептиду, підтип-селективних модуляторів іонних каналів, протисудомних засобів (наприклад, прегабалін і габапентин), подвійних інгібіторів зворотного захоплення серотоніну-норадреналіну (наприклад, дулоксетин, венлафаксин і мілнаципран), інгібіторів кіназ сімейства JAK (наприклад, руксолітініб або тофацитініб) і трициклічних антидепресантів (наприклад, амітриптилін, нортриптилін і дезипрамін). Ці додаткові терапевтичні засоби можна вводити зі Сполукою 1 або її фармацевтично прийнятною сіллю в якості частини однієї або різних лікарських форм, одним або різними способами введення і з одним або різними режимами застосування відповідно до стандартної фармацевтичної практики, відомої фахівцям в цій галузі техніки.

Відповідно, також в цьому документі пропонується фармацевтична комбінація, що містить ефективну кількість: (а) Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі і (б) щонайменше одного додаткового терапевтичного засобу, вибраного з протизапальних сполук, стероїдів (наприклад, дексаметазон, кортизон і флутиказон), болезаспокійливих засобів, таких як НПБЗ (наприклад, аспірин, ібупрофен, індометацин і кетопрофен) і опіатів (таких як морфін), для застосування в лікуванні болю у ссавця, при цьому (а) і (б) можуть знаходитися в різній лікарській формі або в одній лікарській формі. В одному варіанті реалізації винаходу в цьому документі пропонується фармацевтична комбінація, що містить (а) ефективну кількість Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі і (б) ефективну кількість болезаспокійливого засобу, такого як НПБЗ (наприклад, аспірин, ібупрофен, індометацин і кетопрофен).

Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль також застосовують в лікуванні раку. Конкретні приклади включають нейробластоми, рак яєчників, підшлункової залози, ободової і прямої кишки, і передміхурової залози.

Відповідно, в цьому документі також пропонується спосіб лікування раку у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в кількості, ефективній для лікування вказаного раку.

Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль також застосовують в лікуванні раку, пов'язаного з дисрегуляцією TrkA.

Відповідно, також в цьому документі пропонується спосіб лікування пацієнта, у якого діагностований рак, пов'язаний з дисрегуляцією TrkA, що включає введення пацієнтові терапевтично ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі.

В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція TrkA включає надекспресію TrkA дикого типу (аутокринна/паракринна активація).

В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція TrkA включає ампліфікацію гена або одну або більше хромосомних транслокацій або інверсій, що призводять до злиття генів TrkA. В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція є результатом генетичних транслокацій, при цьому білок, що експресується, являє собою злитий білок, що містить залишки не-TrkA і TrkA білків, і у мінімальному ступені домен кінрази TrkA. В одному варіанті реалізації винаходу злитий білок TrkA являє собою LMNA-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, CD74-TrkA, NFASC-TrkA, MPRIP-TrkA, BCAN-TrkA або TPR-TrkA. В одному варіанті реалізації винаходу злитий білок TrkA являє собою LMNA-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, CD74-TrkA, NFASC-TrkA, MPRIP-TrkA, BCAN-TrkA, TP53-TrkA, RNF213-TrkA, RABGAP1L-TrkA, IRF2BP2-TrkA, SQSTM1-TrkA, SSBP2-TrkA або TPR-TrkA, де:

LMNA	=	Преламін-A/C;
TFG	=	Білок TRK-злитого гену;
TPM3	=	Тропоміозин альфа-3;
CD74	=	Гамма-ланцюг HLA-антигену гістосумісності II класу;
NFASC	=	Нейрофасцин;
MPRIP	=	Білок MPRIP;
BCAN	=	Коровий білок бревікан; і
TP53	=	Клітинний пухлинний антиген p53
RNF213	=	Е3 убіквітинпротеїніліаза RNF213
RABGAP1L	=	Активуючий ГТФазу RAB білок 1 подібний
IRF2BP2	=	Регуляторний фактор інтерферону 2-зв'язуючий білок 2
SQSTM1	=	Секвестосома-1
SSBP2	=	Одноланцюгову ДНК-зв'язуючий білок 2
TPR	=	Нуклеопротеїн TPR

В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція TrkA включає одну або більше делецій, інсерцій або мутацій у білці TrkA. В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція включає делецію одного або більше залишків білка TrkA, що призводить до конститутивної активності TrkA кінрази. В одному варіанті реалізації винаходу делеція включає делецію залишків 303-377 в Ізоформі 2 TrkA.

В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція TrkA включає сплайс-варіант, при цьому білок, що експресується, являє собою альтернативно сплайсований варіант TrkA з делецією одного або більше залишків, що призводить до конститутивної активності TrkA кінрази. В одному варіанті реалізації винаходу альтернативно сплайсована форма TrkA з конститутивною активністю має делеції екзонів 8, 9 і 11, що призводять до втрати залишків 192-284 і 393-398 в білці, що експресується, в порівнянні з Ізоформою 2 TrkA.

Ракові захворювання, які встановлені як пов'язані з дисрегуляцією TrkA [дивися приведені нижче бібліографічні джерела; дивися також www.cancer.gov і www.ncsp.org], включають:

(А) Ракові захворювання, при яких дисрегуляція TrkA включає ампліфікацію гена або одну або більше хромосомних транслокацій або інверсій, що призводять до злиття генів TrkA, що включають:

Рак	Бібліографічне джерело (джерела)	Стандарт надання медичної допомоги
Недрібноклітинний рак легень	Vaishnavi et al., Nature Medicine, 19, 1469-1472 (2013)	Променева терапія (наприклад, радіойодтерапія, дистанційна променева терапія, терапія радієм-223), хіміотерапевтичні засоби у вигляді окремих засобів (наприклад, дималеат афатінібу, бевацизумаб, карбоплатин, цетуксимаб, цисплатин, кризотиніб, ерлотиніб, гефітиніб, гемцитабін, метотрексат, паклітаксел, пеметрексед) або комбінацій (наприклад, карбоплатин-паклітаксел, гемцитабін-паклітаксел, хіміопроменева терапія)
Папілярна карцинома щитовидної залози	Caria P., et al., Cancer Genetics and Cytogenetics, 203:21-29 (2010)	Променева терапія (наприклад, радіойодтерапія, дистанційна променева терапія) і хіміотерапевтичні засоби (наприклад, сорафеніб, сунітиніб, пазопаніб)
Мультиформова гліобластома	Frattini, V. et al., Nature Genet., 45(10):1141-1149 (2013)	Хіміотерапевтичні засоби (наприклад, бевацизумаб, еверолімус, ломустин, темозоломід)
Карцинома ободової і прямої кишки	Martin-Zanca, D. et al., Nature, 319:743-748 (1986)	Хіміотерапевтичні засоби у вигляді окремих засобів (афліберцепт, бевацизумаб, капецитабін, цетуксимаб, фторурацил, іринотекан, лейковорин, оксалиплатин, панітумумаб, регорафеніб) або комбінацій (наприклад, FOLFOX, FOLFIRI, CAPOX, FOLFIRI-бевацизумаб, FOLFIRI-цетуксимаб, XELOX)
Меланома	WO 2013/059740 A1	Хіміотерапевтичні засоби (наприклад, альдеслейкін, дабрафеніб, дакарбазин, інтерферон альфа-2b, іпілімумаб, пегінтерферон альфа-2b, траметиніб, вемурафеніб)
Холангіокарцинома	Ross, J. S. et al., Oncologist, 19, 235–242 (2014)	Хіміотерапевтичні засоби (наприклад, гемцитабін/цисплатин, фторпіримідини)
Саркома	Stransky, N. et al., Nat. Comm., Sept. 2014, 1-10	Променева терапія, хіміотерапевтичні засоби (наприклад, доксорубіцин, іфосфамід, епірубіцин, гемцитабін, дакарбазин, темозоломід, вінорелбін, пазопаніб)

(Б) Ракові захворювання, при яких дисрегуляція TrkA включає одну або більше делецій, інсерцій або мутацій у білці TrkA, що включають:

5

Рак	Бібліографічне джерело (джерела)	Стандарт надання медичної допомоги
Гострий мієлоїдний лейкоз	Meyer, J. et al., Leukemia 21: 2171–2180 (2007); Reuther et al., Mol. Cell Biol. 20:8655-8666 (2000)	Хіміотерапевтичні засоби у вигляді окремих засобів (наприклад, триоксид миш'яку, циклофосфамід, цитарабін, даунорубіцин, доксорубіцин, вінкрестин) або комбінацій (наприклад, ADE)
Крупноклітинна нейроендокринна карцинома	Marchetti et al., Human Mutation 29(5): 609-616 (2008)	Променева терапія (наприклад, радіойодтерапія, дистанційна променева терапія, терапія радієм-223) і/або хіміотерапевтичні засоби (наприклад, цисплатин, карбоплатин, етопозид)
Нейробластома	Tacconelli et al., Cancer Cell 6: 347-360 (2004)	Хіміотерапевтичні засоби (наприклад, циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрестин)

(В) Ракові захворювання, обумовлені надекспресією TrkA дикого типу (аутокринна активація), що включають:

Рак	Бібліографічне джерело (джерела)	Стандарт надання медичної допомоги
Карцинома передміхурової залози	Walch, E.T., et al., Clinical & Experimental Metastasis 17: 307–314 (1999); Papatsoris, A. G., et al., Expert Opinion on Investigational Drugs 16(3): 303-309 (2007)	Променева терапія (наприклад, терапія радієм-223) або хіміотерапевтичні засоби (наприклад, абіратерон, кабазитаксел, дегарелікс, деносумаб, доцетаксел, ензалутамід, лейпролід, преднізон, сіпулейцел-Т)
Нейробластома	Van Noesel, M.M. et al., Gene 325: 1-15 (2004)	Хіміотерапевтичні засоби (наприклад, циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрестин)
Карцинома підшлункової залози	Zhang, Y., et al., Oncology Reports 14: 161-171 (2005)	Хіміотерапевтичні засоби у вигляді окремих засобів (наприклад, ерлотиніб, фторурацил, гемцитабін, мітоміцин С) або комбінацій (наприклад, гемцитабін-оксалиплатин)
Меланома	Truzzi, F., et al., Journal of Investigative Dermatology 128(8): 2031-2040 (2008)	Хіміотерапевтичні засоби (наприклад, альдеслейкін, дабрафеніб, дакарбазин, інтерферон альфа-2b, іпілімумаб, пегінтерферон альфа-2b, траметиніб, вемурафеніб)
Плоскоклітинна карцинома голови і шиї	Kolokythas, D., et al., Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 68(6):1290-1295 (2010)	Променева терапія і/або хіміотерапевтичні засоби (наприклад, блеоміцин, цетуксимаб, цисплатин, доцетаксел, фторурацил, метотрексат)
Карцинома шлунку	Ni, S-Z., et al., Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 13: 1511-1514 (2012)	Хіміотерапевтичні засоби (наприклад, доцетаксел, доксорубіцин, фторурацил, мітоміцин С, трастузумаб)

В одному варіанті реалізації винаходу в цьому документі пропонується спосіб лікування пацієнта, у якого діагностований рак, пов'язаний з дисрегуляцією TrkA, що включає введення пацієнтові Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в кількості, ефективній для лікування вказаного раку, при цьому рак вибраний з недрібноклітинного раку легень, папілярної карциноми щитовидної залози, мультиформової гліобластоми, гострого мієлоїдного лейкозу, карциноми ободової і прямої кишки, крупноклітинної нейроендокринної карциноми, раку передміхурової залози, нейробластоми, карциноми підшлункової залози, меланоми, плоскоклітинної карциноми голови і шиї і карциноми шлунку. В одному варіанті реалізації винаходу в цьому документі пропонується спосіб лікування пацієнта, у якого діагностований рак, пов'язаний з дисрегуляцією TrkA, що включає введення пацієнтові Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в кількості, ефективній для лікування вказаного раку, при цьому рак вибраний з недрібноклітинного раку легень, папілярної карциноми щитовидної залози, мультиформової гліобластоми, гострого мієлоїдного лейкозу, карциноми ободової і прямої кишки, крупноклітинної нейроендокринної карциноми, раку передміхурової залози, нейробластоми, карциноми підшлункової залози, меланоми, плоскоклітинної карциноми голови і шиї і карциноми шлунку.

Також пропонується спосіб лікування раку у ссавця, що потребує цього, що включає: (а) визначення того, чи обумовлений рак дисрегуляцією TrkA кінази; і (б) у разі, якщо було встановлено, що рак обумовлений дисрегуляцією TrkA кінази, введення ссавцю терапевтично ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі. В одному варіанті реалізації винаходу Сполука 1 являє собою дигідрохлоридну сіль.

В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція TrkA включає одну або більше хромосомних транслокацій або інверсій, що призводять до злиття генів TrkA. В одному варіанті реалізації винаходу злиття генів TrkA являє собою LMNA-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, CD74-TrkA, NFASC-TrkA, MPRIP-TrkA, BCAN-TrkA, TP53-TrkA, RNF213-TrkA, RABGAP1L-TrkA, IRF2BP2-TrkA, SQSTM1-TrkA, SSBP2-TrkA або TPR-TrkA. В одному варіанті реалізації винаходу рак являє собою недрібноклітинний рак легень, папілярну карциному щитовидної залози, мультиформову гліобластоми, карциному ободової і прямої кишки, меланому, холангіокарциному або саркому.

В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція TrkA включає одну або більше делецій, інсерцій або мутацій у білці TrkA. В одному варіанті реалізації винаходу рак являє собою гострий мієлоїдний лейкоз, крупноклітинну нейроендокринну карциному або нейробластоми.

В одному варіанті реалізації винаходу дисрегуляція TrkA являє собою надекспресію TrkA дикого типу (аутокринна активація). В одному варіанті реалізації винаходу рак являє собою карциному передміхурової залози, нейробластоми, карциному підшлункової залози, меланому, плоскоклітинну карциному голови і шиї або карциному шлунку.

5 В одному варіанті реалізації винаходу будь-який з вказаних вище способів лікування раку у ссавця, що потребує цього, додатково включає введення ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з ефективною кількістю щонайменше одного додаткового терапевтичного засобу, вибраного з однієї або більше додаткових терапій або хіміотерапевтичних засобів.

10 В одному варіанті реалізації винаходу будь-який з вказаних вище способів лікування раку у ссавця, що потребує цього, включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з одним або більше додатковими хіміотерапевтичними засобами.

15 В одному варіанті реалізації винаходу додатковий хіміотерапевтичний засіб (засоби) вибирають з терапевтичних засобів, спрямованих на рецепторну тирозинкіназу, що включають кабозантиніб, кризотиніб, ерлотиніб, гефітиніб, іматиніб, лапатиніб, нілотиніб, пазопаніб, пертузумаб, регорафеніб, сунітиніб і трастузумаб.

20 В одному варіанті реалізації винаходу додатковий хіміотерапевтичний засіб (засоби) вибирають з інгібіторів шляху сигнальної трансдукції, зокрема інгібіторів шляху Ras-Raf-MEK-ERK (наприклад, біниметиніб, селуметиніб, енкарафеніб, сорафеніб, траметиніб, вемурафеніб), інгібіторів шляху PI3K-Akt-mTOR-S6K (наприклад, еверолімус, рапаміцин, періфозин, темсиролімус) і модуляторів шляху апоптозу (наприклад, обатоклакс).

25 В одному варіанті реалізації винаходу додатковий хіміотерапевтичний засіб (засоби) вибирають з цитотоксичних хіміотерапевтичних засобів, що включають триоксид миш'яку, блеомицин, кабазитаксел, капецитабін, карбоплатин, цисплатин, циклофосфамід, цитарабін, дакарбазин, даунорубіцин, доцетаксел, доксорубіцин, етопозид, фторурацил, гемцитабін, іринотекан, ломустин, метотрексат, мітоміцин С, оксаліплатин, паклітаксел, пеметрексед, темозоломід і вінкрестин.

30 В одному варіанті реалізації винаходу додатковий хіміотерапевтичний засіб (засоби) вибирають зі спрямованих на ангіогенез препаратів, що включають афліберцепт і бевацизумаб.

В одному варіанті реалізації винаходу додатковий хіміотерапевтичний засіб (засоби) вибирають з імуноспрямованих засобів, що включають альдеслейкін, іпілілумаб, ламбролізумаб, ніволумаб, сіпулейцел-Т.

35 В одному варіанті реалізації винаходу додатковий хіміотерапевтичний засіб (засоби) вибирають із засобів, активних по відношенню до шляху TrkA, зокрема біофармацевтичних препаратів, спрямованих на NGF, таких як антитіла до NGF, а також неселективних інгібіторів Trk.

40 В одному варіанті реалізації винаходу додатковий хіміотерапевтичний засіб або терапія являє собою променеву терапію, зокрема радіоїодтерапію, дистанційну променеву терапію і терапію радієм-223.

В одному варіанті реалізації винаходу додатковий хіміотерапевтичний засіб (засоби) включає будь-яку з наданих вище терапій або терапевтичних засобів, які є стандартами надання медичної допомоги при ракових захворюваннях, що відрізняються тим, що рак пов'язаний з дисрегуляцією TrkA.

45 В одному варіанті реалізації винаходу в цьому документі пропонується спосіб лікування раку у пацієнта, що потребує цього, що включає введення вказаному пацієнтові Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації щонайменше з однією додатковою терапією або хіміотерапевтичним засобом, вибраними з променевої терапії (наприклад, радіоїодтерапія, дистанційна променева терапія, терапія радієм-223), цитотоксичних хіміотерапевтичних засобів
50 (наприклад, триоксид миш'яку, блеомицин, кабазитаксел, капецитабін, карбоплатин, цисплатин, циклофосфамід, цитарабін, дакарбазин, даунорубіцин, доцетаксел, доксорубіцин, етопозид, фторурацил, гемцитабін, іринотекан, ломустин, метотрексат, мітоміцин С, оксаліплатин, паклітаксел, пеметрексед, темозоломід, вінкрестин), терапевтичних засобів, спрямованих на тирозинкіназу (наприклад, афатиніб, кабозантиніб, цетуксимаб, кризотиніб, дабрафеніб, ерлотиніб, гефітиніб, іматиніб, лапатиніб, нілотиніб, пазопаніб, панітумумаб, пертузумаб, регорафеніб, сунітиніб, трастузумаб), модуляторів апоптозу і інгібіторів сигнальної трансдукції
55 (наприклад, еверолімус, періфозин, рапаміцин, біниметиніб, селуметиніб, енкарафеніб, сорафеніб, темсиролімус, траметиніб, вемурафеніб), імуноспрямованих препаратів (наприклад, альдеслейкін, інтерферон альфа-2b, іпілілумаб, ламбролізумаб, ніволумаб, преднізон, сіпулейцел-Т) і спрямованих на ангіогенез препаратів (наприклад, афліберцепт, бевацизумаб),
60

при цьому кількість Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі, в комбінації з додатковою терапією або терапевтичним засобом, є ефективною для лікування вказаного раку. Ці додаткові терапевтичні засоби можна вводити зі Сполукою 1 або її фармацевтично прийнятною сіллю в якості частини однієї або різних лікарських форм, одним або різними способами введення і з

одним або різними режимами застосування відповідно до стандартної фармацевтичної практики, відомої фахівцям в цій галузі техніки.

Також в цьому документі пропонується (i) фармацевтична комбінація для лікування раку у пацієнта, що потребує цього, що містить (а) Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль, (б) додатковий терапевтичний засіб і (в) необов'язково щонайменше один фармацевтично прийнятний носій для одночасного, роздільного або послідовного застосування в лікуванні раку, при цьому сукупна кількість Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі і додаткового терапевтичного засобу є ефективною для лікування вказаного раку; (ii) фармацевтична композиція, що містить таку комбінацію; (iii) застосування такої комбінації для отримання лікарського засобу, призначеного для лікування раку; і (iv) серійна упаковка або продукт, що містить таку комбінацію у вигляді комбінованого препарату для одночасного, роздільного або послідовного застосування; а також спосіб лікування раку у пацієнта, що потребує цього.

В одному варіанті реалізації винаходу комплексна терапія служить для лікування раку, вибраного з недрібноклітинного раку легень, папілярної карциноми щитовидної залози, мультиформової гліобластоми, гострого мієлоїдного лейкозу, карциноми ободової і прямої кишки, крупноклітинної нейроендокринної карциноми, раку передміхурової залози, нейробластоми, карциноми підшлункової залози, меланоми, плоскоклітинної карциноми голови і шиї і карциноми шлунку. В одному варіанті реалізації винаходу комплексна терапія служить для лікування раку, вибраного з недрібноклітинного раку легень, папілярної карциноми щитовидної залози, мультиформової гліобластоми, гострого мієлоїдного лейкозу, карциноми ободової і прямої кишки, крупноклітинної нейроендокринної карциноми, раку передміхурової залози, нейробластоми, карциноми підшлункової залози, меланоми, плоскоклітинної карциноми голови і шиї, карциноми шлунку, холангіокарциноми і саркоми.

Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль також застосовують в лікуванні запалення або запального захворювання або розладу.

Відповідно, в цьому документі пропонується спосіб лікування запалення або запального захворювання або розладу у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в кількості, ефективній для лікування вказаного запалення. В одному варіанті реалізації винаходу запальне захворювання вибране із запальних захворювань легень (таких як астма), інтерстиціального циститу (ІЦ), синдрому хворобливого сечового міхура (СХСМ), запальних захворювань кишківника (зокрема неспецифічного виразкового коліту і хвороби Крона), а також запальних шкірних захворювань, таких як atopічний дерматит і псоріаз.

В одному варіанті реалізації винаходу спосіб лікування запалення або запального захворювання або розладу включає введення ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з одним або більше додатковими агентами. Приклади додаткових агентів включають анти-ФНП агенти (наприклад, моноклональне антитіло, таке як інфліксимаб (Ремікейд), адалімумаб (Хуміра), цертолізумабу пегол (Цімзія) і голімумаб (Сімпоні), або злитий білок циркулюючих рецепторів, такий як етанерцепт (Енбрел)), антиметаболічні і антифолатні лікарські засоби (наприклад, Метотрексат) або специфічні інгібітори кіназ (наприклад, інгібітори сімейства JAK, такі як руксолітиніб, тофацитиніб, СҮТ387, лестауртиніб, пакритиніб і TG101348). Ці додаткові терапевтичні засоби можна вводити зі Сполукою 1 або її фармацевтично прийнятною сіллю в якості частини однієї або різних лікарських форм, одним або різними способами введення і з одним або різними режимами застосування відповідно до стандартної фармацевтичної практики, відомої фахівцям в цій галузі техніки.

Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль також застосовують в лікуванні нейродегенеративного захворювання у ссавця. В одному варіанті реалізації винаходу Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль також можна застосовувати в лікуванні демієлінізації і дисмієлінізації шляхом стимуляції мієлінізації, нейронального виживання і диференціювання олігодендроцитів шляхом блокування взаємодії Sp35-TrkA.

Відповідно, в цьому документі також пропонується спосіб лікування нейродегенеративного захворювання у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в кількості, ефективній для лікування вказаного нейродегенеративного захворювання. В одному варіанті реалізації винаходу нейродегенеративне захворювання являє собою розсіяний склероз. В одному варіанті

реалізації винаходу нейродегенеративне захворювання являє собою хворобу Паркінсона. В одному варіанті реалізації винаходу нейродегенеративне захворювання являє собою хворобу Альцгеймера.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування деяких інфекційних захворювань, таких як інфекція *Trypanosoma cruzi* у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в кількості, ефективній для лікування вказаної інфекції *Trypanosoma cruzi*.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування синдрому Шегрена у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в кількості, ефективній для лікування вказаного синдрому.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування ендометріозу у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в кількості, ефективній для лікування вказаного ендометріозу.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування діабетичної периферичної нейропатії у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в кількості, ефективній для лікування вказаної діабетичної периферичної нейропатії.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування простатиту у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в кількості, ефективній для лікування вказаного простатиту.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування синдрому тазового болю у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в кількості, ефективній для лікування вказаного синдрому тазового болю.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини у ссавця, що включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в кількості, ефективній для лікування вказаного захворювання. В одному варіанті реалізації винаходу це захворювання являє собою остеопороз, ревматоїдний артрит або кісткові метастази.

В одному варіанті реалізації винаходу спосіб лікування захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини у ссавця, що потребує цього, включає введення Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в комбінації з одним або більше додатковими терапевтичними засобами або препаратами. Приклади додаткових терапевтичних засобів або препаратів включають анти-ФНП засоби (наприклад, моноклональне антитіло, таке як інфліксимаб (Ремікейд), адаліумаб (Хуміра), цертолізумабу пегол (Цімзія) і голіумаб (Сімпоні), або злитий білок циркулюючих рецепторів, такий як етанерцепт (Енбрел)), антиметаболічні і антифолатні лікарські засоби (наприклад, Метотрексат) або специфічні інгібітори кіназ (наприклад, інгібітори сімейства JAK, такі як руксолітиніб, тофацитиніб, СҮТ387, лестауртиніб, пакритиніб і TG101348). Ці додаткові терапевтичні засоби можна вводити зі Сполучкою 1 або її фармацевтично прийнятною сіллю в якості частини однієї або різних лікарських форм, одним або різними способами введення і з одним або різними режимами застосування відповідно до стандартної фармацевтичної практики, відомої фахівцям в цій галузі техніки.

Також в цьому документі пропонується спосіб лікування захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини у ссавця, що потребує цього, що включає введення вказаному ссавцю Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятої солі в кількості, ефективній для лікування вказаного захворювання. В одному варіанті реалізації винаходу захворювання, обумовлене аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини являє собою синдром Рейно, ідіопатичний фіброз легенів, рубцювання (гіпертрофічне, келоїдне і інше), цироз, ендоміокардіальний фіброз, передсердний фіброз, мієлофіброз, прогресуючий масивний фіброз (легенів), нефрогенний системний фіброз, склеродермію, системний склероз, артрофіброз і фіброз ока.

При використанні за текстом цього документу, термін "ефективна кількість" означає кількість сполуки, яка при введенні ссавцю, що потребує такого лікування, є достатньою для (i) лікування конкретного захворювання, стану або розладу, що піддається лікуванню Сполучкою 1 або її фармацевтично прийнятною сіллю, або (ii) пригнічення, зменшення інтенсивності або усунення одного або більше симптомів конкретного захворювання, стану або розладу, описаного в цьому документі. Кількість Сполуки 1, яка відповідатиме такій кількості, варіюватиметься залежно від таких чинників, як хворобливий стан і його ступінь тяжкості, а також ідентифікаційні

характеристики (наприклад, вага) ссавця, що потребує лікування, але проте може бути рутинно визначена фахівцем в цій галузі техніки.

При використанні за текстом цього документу, термін "ссавець" стосується теплокровної тварини, яка хворіє або схильна до ризику розвитку захворювання, описаного в цьому документі, і включає, без обмеження ними, морських свинок, собак, кішок, щурів, мишей, хом'яків і приматів, зокрема людей.

Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль можна вводити будь-яким зручним способом, наприклад, в шлунково-кишковий тракт (наприклад, ректально або перорально), ніс, легень, м'язову або судинну систему, промиванням рани, черезшкірно або шляхом нанесення на шкіру. Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль можна вводити у будь-якій зручній для введення формі, наприклад, пігулки, порошки, капсули, розчини, дисперсії, суспензії, сиропи, спреї, супозиторії, гелі, емульсії, пластири і т.д. Такі композиції можуть містити компоненти, звичайні для фармацевтичних препаратів, наприклад, розчинники, носії, модифікатори рН, підсолоджувачі, об'ємоутворюючі препарати і інші активні речовини. Якщо потрібне парентеральне введення, композиції мають бути стерильними і у формі розчину або суспензії, прийнятній для ін'єкції або інфузії. Такі композиції утворюють додатковий аспект цього винаходу.

Інший препарат може бути отриманий шляхом змішування Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі з носієм або допоміжною речовиною. Прийнятні носії і допоміжні речовини добре відомі фахівцям в цій галузі техніки. Ці препарати можуть також включати один або більше буферних розчинів, стабілізуючих речовин, поверхнево-активних речовин, змочуючих речовин, змащуючих речовин, емульгаторів, суспендує речовин, консервантів, антиоксидантів, опакерів, глідантів, допоміжних технологічних добавок, барвників, підсолоджувачів, віддушок, ароматизаторів, розчинників і інших відомих добавок для забезпечення красивої форми випуску лікарського засобу (тобто сполуки, описаної в цьому документі, або її фармацевтичної композиції) або сприяння виробництву цього фармацевтичного препарату (тобто лікарського засобу).

Відповідно, також в цьому документі пропонується фармацевтична композиція, яка містить Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль разом з фармацевтично прийнятним розчинником або носієм. В одному варіанті реалізації винаходу фармацевтичну композицію, що містить Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль, готують для перорального введення. В одному варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція, що містить Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль, виготовлена для перорального введення, має форму пігулки або капсули.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні болю у ссавця. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою хронічний біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою гострий біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою хронічний хребетний біль, запальний біль, нейропатичний біль або біль, обумовлений раком, хірургічним втручанням або переломом кістки.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні раку у ссавця. В одному варіанті реалізації винаходу раку вибраний з недрібноклітинного раку легень, папілярної карциноми щитовидної залози, мультиформової гліобластоми, гострого мієлоїдного лейкозу, карциноми ободової і прямої кишки, крупноклітинної нейроендокринної карциноми, раку передміхурової залози, нейробластоми, карциноми підшлункової залози, меланоми, плоскоклітинної карциноми голови і шиї, карциноми шлунку, холангіокарциноми і саркоми.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні запалення або запального захворювання або розладу у ссавця. В одному варіанті реалізації винаходу запальне захворювання являє собою запальні захворювання легенів (такі як астма), інтерстиціальний цистит, синдром хворобливого сечового міхура, запальні захворювання кишківника (зокрема неспецифічний виразковий коліт і хвороба Крона), а також запальні шкірні захворювання, такі як atopічний дерматит.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні інфекційних захворювань, наприклад, інфекції *Trypanosoma cruzi*, у ссавця.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні синдрому Шегрена у ссавця.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні ендометріозу у ссавця.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні діабетичної периферичної нейропатії у ссавця.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні простатиту у ссавця.

5 Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні синдрому тазового болю у ссавця.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні нейродегенеративного захворювання у ссавця.

10 Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні захворювання, пов'язаного з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини.

Також в цьому документі пропонується Сполука 1 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.

15 Також в цьому документі пропонується застосування Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі у виготовленні лікарського засобу для лікування стану, вибраного з болю, раку, запалення, нейродегенеративного захворювання, інфекції *Trypanosoma cruzi*, а також захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою хронічний біль. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою гострий біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою хронічний хребетний біль. В одному варіанті реалізації винаходу біль являє собою запальний біль, нейропатичний біль або біль, обумовлений раком, хірургічним втручанням або переломом кістки. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою рак. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою запалення. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою нейродегенеративне захворювання. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою інфекцію *Trypanosoma cruzi*. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою синдром Шегрена. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою ендометріоз. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою діабетичну периферичну нейропатію. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою простатит. В одному варіанті реалізації винаходу стан являє собою синдром тазового болю. В одному варіанті реалізації винаходу захворювання являє собою захворювання, пов'язане з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини. В одному варіанті реалізації винаходу захворювання являє собою захворювання, обумовлене аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.

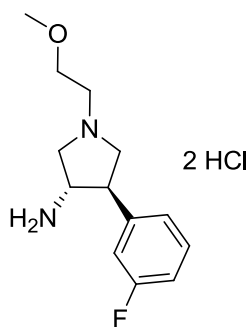
30 Також в цьому документі пропонується лікарський засіб, що містить Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль, для лікування болю у ссавця в комбінації з додатковим терапевтичним засобом, вибраним з протизапальних сполук, стероїдів (наприклад, дексаметазон, кортизон і флутиказон), болезаспокійливих засобів, таких як НПБЗ (наприклад, аспірин, ібупрофен, індометацин і кетопрофен), опіатів (таких як морфін), антагоністів рецепторів кальцитонін ген-спорідненого пептиду, підтип-селективних модуляторів іонних каналів, протисудомних засобів (наприклад, прегабалін і габапентин), подвійних інгібіторів зворотного захоплення серотоніну-норадреналіну (наприклад, дулоксетин, венлафаксин і мілнаципран), інгібіторів кіназ сімейства JAK (наприклад, руксолітініб або тофацитініб) і трициклічних антидепресантів (наприклад, амітриптилін, нортриптилін і дезипрамін). В одному варіанті реалізації винаходу в цьому документі пропонується лікарський засіб, що містить Сполуку 1 або її фармацевтично прийнятну сіль в комбінації з НПБЗ, для лікування болю у ссавця.

45 Також в цьому документі пропонується лікарський засіб, що містить терапевтичний засіб, вибраний з протизапальних сполук, стероїдів (наприклад, дексаметазон, кортизон і флутиказон), болезаспокійливих засобів, таких як НПБЗ (наприклад, аспірин, ібупрофен, індометацин і кетопрофен) і опіатів (таких як морфін), в комбінації зі Сполукою 1 або її фармацевтично прийнятною сіллю для лікування болю у ссавця.

Приклади

Отримання синтетичних проміжних сполук

Препарат А

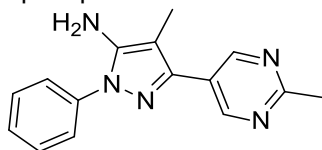


(3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-аміну дигідрохлорид

Стадія А: Отримання трет-бутил (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-ілкарбамату: Розчин трет-бутил (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)піролідин-3-ілкарбамату (250 мг, 0,89 ммоль, комерційно доступний), DIEA (0,48 мл, 2,68 ммоль) і 1-бром-2-метоксиетану (149 мг, 1,07 ммоль) в ДМФА (3 мл) перемішували при температурі доквілля впродовж 2 годин, потім нагрівали до 60 °C впродовж 4 годин, потім охолоджували до температури доквілля впродовж 16 годин. Після розподілу між EtOAc і насиченим розчином NaHCO₃ (10 мл кожного), органічний шар промивали водою і насиченим розчином хлориду натрію (2 × 10 мл кожного), сушили над Na₂SO₄, фільтрували і випаровували з утворенням трет-бутил (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-ілкарбамату (250 мг, вихід 83 %) у вигляді в'язкої олії помаранчевого кольору. РХМС (APCI) m/z=339,1 (M+H).

Стадія Б: Отримання (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-аміну дигідрохлориду: Розчин трет-бутил (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідин-3-ілкарбамату (250 мг, 0,74 ммоль) в 5-6 N HCl в ізопропіловому спирті (14,8 мл, 73,9 ммоль) перемішували при температурі доквілля впродовж 1 години. Суміш випаровували у вакуумі і розтирали з Et₂O з отриманням вказаної в заголовку сполуки (230 мг, вихід 100 %) у вигляді бежевої твердої речовини. РХМС (APCI) m/z=239,1 (M+H).

Препарат Б



4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-амін

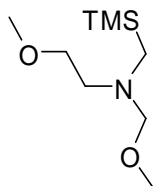
Стадія А: Отримання 5-аміно-4-метил-1-феніл-1H-піразол-3(2H)-ону: Суміш етил 2-ціанопропаноату (50,5 г, 397,2 ммоль) і фенілгідазину (39 мл, 397,2 ммоль) в діоксані (100 мл) нагрівали при 110 °C впродовж 5 днів. Охолоджену суміш випаровували до 1/2 об'єму, а потім охолоджували на льоду і розтирали в порошок з холодним Et₂O. Отримані тверді речовини фільтрували, ретельно промивали Et₂O і сушили у вакуумі з отриманням 5-аміно-4-метил-1-феніл-1H-піразол-3(2H)-ону (34,69 г, вихід 46 %) у вигляді розсипчастого білого порошку. МС (APCI) m/z=190,1 (M+H).

Стадія Б: Отримання 5-аміно-4-метил-1-феніл-1H-піразол-3-іл трифторметансульфонату: Суспензію 5-аміно-4-метил-1-феніл-1H-піразол-3(2H)-ону (13,72 г, 72,5 ммоль) і N-фенілбіс(трифторметилсульфонамід) (27,2 г, 76,1 ммоль) в ДМФА (100 мл) обробляли DIEA (37,9 мл, 217,5 ммоль), і отриману суміш перемішували при температурі доквілля впродовж 16 годин. Суміш розподіляли між насиченим розчином NaHCO₃ (400 мл) і EtOAc (200 мл), і водний шар екстрагували EtOAc (2 × 200 мл). Об'єднані органічні фази промивали водою (5 × 50 мл) і насиченим розчином хлориду натрію (50 мл), потім сушили над Na₂SO₄, фільтрували і випаровували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем, що елюється сумішшю 4:1 гексани/EtOAc, з отриманням 5-аміно-4-метил-1-феніл-1H-піразол-3-іл трифторметансульфонату (23,1 г, вихід 99 %) у вигляді блідо-жовтої твердої речовини. МС (APCI) m/z=322,0 (M+H).

Стадія В: Отримання 4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-аміну: 5-Аміно-4-метил-1-феніл-1H-піразол-3-іл трифторметансульфонат (900 мг, 2,8 ммоль), 2-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)піримідин (925 мг, 4,2 ммоль), K₂CO₃ (1,55 г, 11,2 ммоль) і Pd(PPh₃)₄ (324 мг, 0,28 ммоль) об'єднували в суміші толуолу (10 мл), води (5 мл) і EtOH (2,5 мл) і нагрівали до 95 °C в герметично закритій пробірці впродовж 16 годин. Охолоджену суміш фільтрували, і фільтрат розподіляли між водою (50 мл) і EtOAc (50 мл). Водний шар екстрагували EtOAc (2 × 30 мл), і об'єднані органічні фази промивали насиченим розчином хлориду натрію (30 мл), сушили над Na₂SO₄, фільтрували і випаровували у вакуумі. Залишок

очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем, що елюється сумішшю 2 % MeOH/ДХМ, з отриманням вказаної в заголовку сполуки (533 мг, вихід 72 %) у вигляді твердої речовини рожевого кольору. МС (APCI) $m/z=266,1$ (M+H).

Препарат В

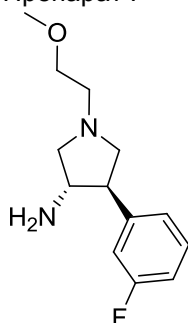


2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанамін

Стадія А: Отримання 2-метокси-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну: До ДМСО-розчину (15 мл) 2-метоксиетанаміну (14,2 мл, 163 ммоль) при 90 °C додавали ДМСО-розчин (10 мл) (хлорметил)триметилсилану (11,4 мл, 81,5 ммоль) за допомогою краплинної воронки впродовж 40 хвилин. Суміш нагрівали при 90 °C впродовж 3,5 годин, потім охолоджували до температури доквілля. Потім суміш розводили H₂O (150 мл) і екстрагували EtOAc (2 × 150 мл). Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію (150 мл), сушили за допомогою MgSO₄, фільтрували і випаровували з отриманням 2-метокси-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну (8,14 г, вихід 62 %) у вигляді жовтої олії. МС (APCI) $m/z=162,0$ (M+H).

Стадія Б: Отримання 2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну: MeOH-розчин (2,45 мл) формальдегіду (37 %-ий водний розчин, 4,91 г, 60,6 ммоль) охолоджували до 0 °C і обробляли додаванням по краплях 2-метокси-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну (8,14 г, 50,5 ммоль). Двофазну суміш перемішували при 0 °C впродовж 3 годин, потім додавали K₂CO₃ (6,97 г, 50,5 ммоль), і отриману суміш перемішували при 0 °C впродовж 1 години. Жовту олію декантували в K₂CO₃ (2,00 г, 14,4 ммоль), і отриману суміш перемішували при температурі доквілля впродовж 2 годин. Після декантування жовтої олії твердий K₂CO₃ промивали Et₂O (2 × 10 мл), і промитий Et₂O об'єднували з декантованою жовтою олією і випаровували на ротаційному випарнику з утворенням вказаної в заголовку сполуки (9,92 г, вихід 96 %) у вигляді жовтої олії. ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 4,00 (с, 2H), 3,37-3,43 (м, 2H), 3,29 (с, 3H), 3,19 (с, 3H), 2,77-2,82 (м, 2H), 2,18 (с, 2H), 0,00 (с, 9H) м.д.

Препарат Г



(3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін

Стадія А: Отримання (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбонової кислоти: (Е)-3-(3-фторфеніл)акрилову кислоту (25,20 г, 151,7 ммоль) послідовно обробляли EtOAc (75 мл) і гептаном (75 мл), а потім ТФОК (1,17 мл, 15,17 ммоль). Суміш поміщали в лазню з холодною водою (внутрішня температура 15 °C) і по краплях додавали 2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанамін [Препарат В] (69,82 г, 197,2 ммоль) з краплинної воронки впродовж 20 хвилин, додаючи у водяну лазню лід для підтримки внутрішньої температури в діапазоні 13-19 °C під час додавання. Лазню з льодом прибирали і перемішували суміш при температурі доквілля впродовж 18 годин, потім охолоджували (внутрішня температура 13 °C) і по краплях додавали додатковий об'єм 2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну (Препарат В; 34 г) з краплинної воронки впродовж 6 хвилин. Лазню прибирали і після перемішування впродовж ще 4 годин випаровували суміш при температурі доквілля до половини об'єму. Додавали гептан (100 мл) і суміш частково випаровували з видаленням близько 150 мл розчинника. Цю процедуру повторювали двічі з видаленням 100 мл розчинника кожного разу. Залишки суспензії змивали на дно колби гептаном (50 мл), потім герметично закривали і перемішували при температурі доквілля впродовж 64 годин. Тверді речовини фільтрували, промивали гептаном (2 × 50 мл) і сушили у вакуумі з отриманням (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-

карбонової кислоти (44,99 г, вихід 111 %) у вигляді блідо-жовтої твердої речовини, яку безпосередньо використовували на наступній стадії, передбачаючи 100 % вихід. МС (APCI) $m/z=268,1$ (M+H).

Стадія Б: Отримання (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбоксаміду: До суспензії (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбонової кислоти (40,54 г, 151,7 ммоль) в ТГФ (440 мл) додавали КДІ (31,97 г, 197,2 ммоль) з подальшим додаванням гідрохлориду імідазолу (3,171 г, 30,33 ммоль). Реакційну суміш перемішували при температурі доквілля впродовж 16 годин, а потім додавали аміак (135,0 мл, 2М в ізоPrOH, 270,0 ммоль) за допомогою краплинної воронки впродовж 30 хвилин. Після перемішування впродовж ще 3 годин отримані тверді речовини фільтрували, промивали EtOAc і фільтрат випаровували. Залишок розчиняли в EtOAc (200 мл) і промивали 25/75 співвідношенням вода:насичений розчин хлориду натрію (2 × 200 мл). Органічну фазу сушили над MgSO₄, фільтрували, випаровували і сушили у вакуумі з отриманням (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбоксаміду (54,97 г, вихід 136 %) у вигляді жовтої твердої речовини, яку використовували, передбачаючи 100 % вихід. МС (APCI) $m/z=267,2$ (M+H).

Стадія В: Отримання (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміну: До охолодженого на лязні з льодом розчину (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбоксаміду (29,33 г, 85,90 ммоль) в MeOH (345 мл) в 3-горлій круглодонній колбі місткістю 1 літр, забезпеченій температурним датчиком, додавали NaOCl (10-15 % активного Cl, водний розчин) (116,3 мл, 189,0 ммоль) з краплинної воронки впродовж 20 хвилин [внутрішня температура в межах 7-13 °C]. Лязню з льодом прибирали і гетерогенну суміш перемішували при температурі доквілля впродовж 90 хвилин, потім при 55 °C впродовж 3 годин. Додавали розчин КОН (67,48 г, 1203 ммоль) в H₂O (225,9 мл, 12542 ммоль) і розчин перемішували при 75 °C впродовж 19 годин. Суміш охолоджували до 0 °C і повільно додавали концентровану HCl (147,1 мл, 4802 ммоль) впродовж 30 хвилин. Значення рН доводили до 6 додаванням водного розчину K₃PO₄ (30 % мас., 155 мл), і суміш частково випаровували для видалення органічних розчинників. Додавали водний розчин K₃PO₄ (30 % мас., 280 мл) доти, поки значення рН не досягло 10, і суміш екстрагували EtOAc (2 × 450 мл). Об'єднані органічні екстракти випаровували і сушили у вакуумі з отриманням (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміну (28,08 г, вихід 91 %) у вигляді темно-бурштинового сиропу. МС (APCI) $m/z=239,2$ (M+H).

Стадія Г: Отримання (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін(2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)сукцинату: (транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін (125 мг, 0,52 ммоль) і (2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)бурштинову кислоту (222,9 мг, 0,58 ммоль) засипали в 4 мл віалу, потім обробляли MeOH (1,57 мл) з подальшим додаванням води (0,175 мл). Віалу закривали кришкою і реакційну суміш перемішували при 50 °C впродовж 5 хвилин, потім давали можливість повільно остигнути до температури доквілля впродовж 17 годин. Отримані тверді речовини фільтрували, промивали Et₂O (4 × 0,2 мл) і сушили у вакуумі з отриманням (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін(2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)сукцинату (131,6 мг, вихід 40 %) у вигляді білої твердої речовини. Хіральний СФХ аналіз вільної основи проби виявив > 95 % е.н. Цю речовину використовували в якості зародків кристалів на наступній стадії:

(Транс)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін (7,39 г, 18,61 ммоль) розчиняли в MeOH (52,7 мл) і обробляли (2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)бурштиною кислотою (10,78 г, 27,91 ммоль), а потім H₂O (9,3 мл). Суміш перемішували при 50 °C впродовж 5 хвилин. Зародки кристалів (90 мг) додавали до розчину, і давали можливість суміші повільно нагрітися до температури доквілля впродовж 16 годин. Отримані тверді речовини фільтрували, промивали Et₂O (4 × 5 мл) і сушили у вакуумі. Залишок суспендували в MeOH (15 мл) і H₂O (2,7 мл), перемішували при 50 °C впродовж 15 хвилин, потім давали можливість повільно остигнути до температури доквілля впродовж 19 годин. Тверді речовини фільтрували, промивали Et₂O (3 × 5 мл) і сушили у вакуумі з отриманням (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін(2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)сукцинату (3,12 мг, вихід 27 %) у вигляді білої твердої речовини. Хіральний аналіз вільної основи проби виявив > 99,7 % е.н.

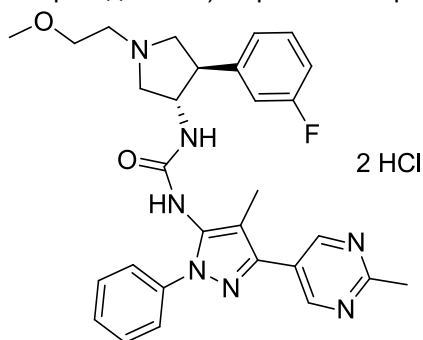
Стадія Д: Отримання (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміну: Суспензію (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін(2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)сукцинату (2,89 г, 4,63 ммоль) в ДХМ (25 мл) промивали 1 М водним розчином NaOH (2 × 15 мл). Об'єднані водні фази екстрагували ДХМ (25 мл), а об'єднані органічні екстракти промивали насиченим розчином хлориду натрію (30 мл), сушили над Na₂SO₄, фільтрували, випаровували і сушили у вакуумі з отриманням (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміну (998 мг, вихід 90 %) у вигляді ясно-бежевої

олії. МС (APCI) $m/z=239,2$ (M+H).

Приклади синтезу

Приклад 1

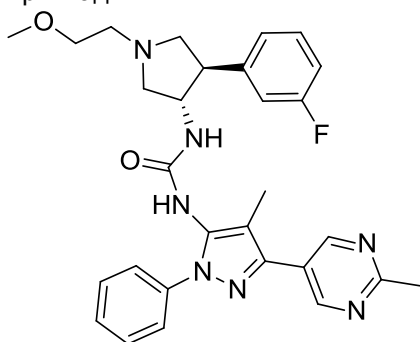
1-((3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовини дигідрохлорид



Стадія А: Отримання 1-((3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовини: До розчину 4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-аміну (Препарат Б; 61 мг, 0,16 ммоль) в ДХМ (2 мл) додавали трифосген (24 мг, 0,08 ммоль) з подальшим додаванням DIEA (84 мкл, 0,48 ммоль). Суміш перемішували при температурі доквілля впродовж 15 хвилин і потім обробляли (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміном (Препарат А; 50 мг, 0,16 ммоль) і DIEA (84 мкл, 0,48 ммоль). Реакційну суміш перемішували впродовж 16 годин. Суміш розподіляли між водою (10 мл) і ДХМ (10 мл), і водний шар екстрагували ДХМ (2 × 10 мл). Об'єднані органічні фази промивали насиченим розчином хлориду натрію (10 мл), сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і випаровували. Залишок очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем, що елюється 2,5-5 % $\text{MeOH}/\text{ДХМ}$. Фракції, що містять продукт, додатково очищали за допомогою обернено-фазової ВЕРХ (5-95 % $\text{NAK}/\text{вода}/0,1$ % ТФОК) з отриманням після основної водної обробки вказаної в заголовку сполуки (28 мг, вихід 33 %) у вигляді білої твердої речовини. МС (APCI) $m/z=530,3$ (M+H).

Стадія Б: Отримання 1-((3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовини дигідрохлориду: До охолодженого до 0°C розчину 4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-аміну (Препарат Б; 2,56 г, 9,64 ммоль) в ДХМ (96 мл) додавали трифосген (1,72 г, 5,78 ммоль) у вигляді однієї аліквоти з подальшим додаванням по краплях DIEA (8,40 мл, 48,20 ммоль). Суміш перемішували при 0°C впродовж 1 години. (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміну дигідрохлорид (Препарат А, 3,0 г, 9,64 ммоль) додавали до суміші невеликими аліквотами впродовж 10 хвилин. Реакційну суміш перемішували при температурі доквілля впродовж 40 хвилин і потім виливали у воду (100 мл). Після розділення фаз водний шар екстрагували ДХМ (2 × 100 мл). Об'єднані органічні фази промивали насиченим розчином хлориду натрію (100 мл), фільтрували і випаровували. Залишок очищали за допомогою обернено-фазової хроматографії (SNAP 120г C18, 5-75 % $\text{MeOH}/\text{вода}$ з 0,1 % HCl) і сушили у вакуумі з отриманням вказаної в заголовку сполуки (3,33 г, вихід 57 %) у вигляді піни кремового кольору. МС (APCI) $m/z=530,3$ (M+H).

Приклад 2



1-((3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовина

До суспензії 4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-аміну (Препарат Б; 800 мг, 3,02 ммоль) в ДХМ (15 мл) додавали триетиламін (2,1 мл, 15,1 ммоль) з подальшим

додаванням КДІ (587 мг, 3,62 ммоль). Суміш герметично закривали в атмосфері N_2 і перемішували при температурі доквілля впродовж 22 годин, потім обробляли (3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміном (Препарат Г; 826 мг, 3,47 ммоль) в ДХМ (4 мл). Перемішування продовжували впродовж 100 хвилин. Суміш розподіляли між ДХМ (60 мл) і водою (100 мл). Після розділення фаз шар ДХМ екстрагували 0,5 н HCl (50 мл) і потім 0,2 N HCl (2 × 25 мл). Кислотні витяжки об'єднували, декантували в чисту колбу, поміщали в лазню з водою кімнатної температури і підлужували 6 н NaOH (водн.) і потім 1 н NaOH (водн.) з доведенням значення pH до 9-10 при перемішуванні. Суспензію перемішували в лазні з льодом впродовж 5 хвилин. Отримані тверді речовини фільтрували, промивали водою і простим ефіром (3 × 20 мл кожного) і сушили у вакуумі з отриманням вказаної в заголовку сполуки (1,44 г, вихід 90 %) у вигляді білої твердої речовини. МС (APCI) $m/z=530,3$ (M+H).

Приклад 3

Отримання (3S, 4R)-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін(2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)сукцинату

Стадія А: Отримання (2-метокси-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну: В колбу завантажували (хлорметил)триметилсилан (3300,0 г, 1,0 екв.), ацетонітрил (5,28 л) і 2-метоксиетанамін (4041,0 г, 2,0 екв.). Реакційну суміш перемішували при 74 °C впродовж 16 годин, а потім давали можливість реакційній суміші остигнути до 25 °C. Додавали пентан (16 л), і реакційну суміш перемішували впродовж 1 хвилини. Шари розділяли. Нижній шар (шар ацетонітрилу) додавали назад в ділильну воронку і додавали в ділильну воронку пентан (16 л). Після перемішування шари розділяли. Повторювали екстракцію пентаном (16 л). Об'єднані шари пентану додавали в ділильну воронку і додавали воду (3,3 л). Після перемішування шари розділяли. MeOH (3,0 л) додавали в 22 л реактор, оснащений парою, механічною мішалкою, конденсатором, температурним датчиком J-Kem і краплинною воронкою. Атмосферну перегонку розчинника здійснювали при 25° - 45 °C. Під час перегонки розчин пентану додавали в перегінну колбу за допомогою краплинної воронки зі швидкістю, необхідною для підтримки об'єму на рівні близько 6,6 л, поки весь розчин пентану не опинявся в перегінній колбі. Перегонку продовжували доти, поки загальний об'єм в колбі не доходив до близько 6,6 л. Реакційну суміш охолоджували до 25 °C і перемішували при температурі доквілля в атмосфері азоту з утворенням (2-метокси-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну (вихід 72 %).

Стадія Б: Отримання 2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну: В колбу завантажували (2-метокси-N-((триметилсиліл)метил)етанамін (380,0 г, 1,0 екв.), метанол (332 мл) і пентан (193 мл). Реакційну суміш перемішували в лазні з льодо-водяною сумішшю температури нижче 5 °C. 37 %-ий водний розчин формальдегіду (97,9 мл, 1,2 екв.) додавали до реакційної суміші зі швидкістю, необхідною для підтримки внутрішньої температури нижче 10 °C, і реакційну суміш перемішували при температурі нижче 10 °C впродовж 2 годин. Трет-бутилметиловий ефір (700 мл, 5,2 екв.) і воду (300,0 мл) додавали до реакційної суміші, і отриману суміш перемішували при температурі доквілля впродовж близько 1 хвилини. Шари розділяли, і органічний шар додавали назад в ділильну воронку. Додавали в ділильну воронку насичений розчин хлориду натрію (300 мл). Суміш перемішували і шари розділяли. Карбонат калію K_2CO_3 (10,0 г) додавали до органічного шару, і після змішування фільтрували органічний шар через фільтрувальний папір. Осад на фільтрі промивали трет-бутилметиловим ефіром. Об'єднані органічні шари випаровували з отриманням 2-метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанаміну у вигляді олії (вихід 75 %).

Стадія В: Отримання транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбонової кислоти: В колбу завантажували (Е)-3-(3,4-дифторфеніл)акрилову кислоту (57,0 г, 1,0 екв.), етилацетат (143 мл) і гептан (143 мл), і отриману суміш перемішували. Додавали трифтороцтову кислоту (2,4 мл, 0,1 екв.) і реакційну суміш охолоджували до температури нижче 20 °C. 2-Метокси-N-(метоксиметил)-N-((триметилсиліл)метил)етанамін додавали за допомогою краплинної воронки зі швидкістю, необхідною для підтримки внутрішньої температури в межах 20 °C – 25 °C, і реакційну суміш перемішували при 20 °C впродовж 2 годин. Реакційну суміш випаровували при зниженому тиску при температурі від 10 °C до 27 °C. Додавали етилацетат (200 мл) до залишку, і отриману суміш випаровували при зниженому тиску. Залишок перемішували впродовж ночі при температурі 20 °C. Азеотропне видалення домішок здійснювали за допомогою вакуумної перегонки шляхом додавання гептану аліквотами (загальний об'єм: 1200 мл). Отриманій суспензії давали можливість осісти впродовж ночі при 20 °C, а потім фільтрували через фільтрувальний папір. Осад на фільтрі промивали гептаном і сушили у вакуумній печі при 45 °C впродовж близько 4 годин з отриманням транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбонової кислоти (вихід 90 %).

Стадія Г: Отримання транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбоксаміду:

В колбу завантажували транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбонову кислоту (98,3 г, 1,0 екв.), карбонілдіімідазол (69,8 г, 1,3 екв.), імідазол-НCl (7,2 г, 0,2 екв.) і тетрагідрофуран (1000 мл). Реакційну суміш перемішували впродовж 1 години при 25 °С з подальшим перемішуванням впродовж ночі при температурі доквілля (близько 20 °С) в атмосфері азоту. Впродовж 15 хвилин до реакційної суміші додавали аміак (2,0 М в ізопропіловому спирті) (307 мл, 1,8 екв.). Реакційну суміш перемішували при 25 °С впродовж близько 30 хвилин. Реакційну суміш фільтрували через фільтрувальний папір і промивали відфільтровані тверді речовини за допомогою EtOAc (200 мл). Об'єднані органічні шари випаровували при зниженому тиску при 37 °С. До отриманої неочищеної олії додавали етилацетат (200 мл) і отриману суміш випаровували при зниженому тиску при 37 °С. До залишку додавали етилацетат (200 мл), воду (500 мл) і NaCl (82,0 г, 4,1 екв.) і перемішували суміш впродовж близько 2 хвилин при температурі доквілля. Шари розділяли і випаровували об'єднані органічні шари при зниженому тиску при 37 °С з отриманням транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбоксаміду (вихід 99 %).

Стадія Д: Отримання транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміну: В колбу завантажували транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-карбоксамід (96,8 г, 1,0 екв.) і метанол (1450 мл) і охолоджували реакційну суміш до 5 °С. 10 %-й розчин гіпохлориту натрію (462,2 мл, 2,2 екв.) додавали за допомогою краплинної воронки зі швидкістю, необхідною для підтримки внутрішньої температури нижче 20 °С. Реакційну суміш перемішували впродовж 1 години при 20 °С, а потім при 55 °С впродовж 1 години. Впродовж 5 хвилин до реакційної суміші додавали гідроксид калію (314,6 г, 14,0 екв.) у вигляді розчину у воді (100 мл) і перемішували реакційну суміш при 72 °С – 75 °С впродовж 12 годин. Реакційну суміш охолоджували до 55 °С і впродовж 10 хвилин додавали 37 % мас. HCl (583,8 мл, 55,9 екв.) для доведення значення рН до нижче 2. Додавали триосновний K₃PO₄ (30 % мас., 100,0 мл) для доведення значення рН реакційної суміші до 6-7. Реакційну суміш випаровували при зниженому тиску при 37 °С. Отриману водну суміш переносили в ділильну воронку і додавали 30 % мас. триосновного K₃PO₄ (540,0 мл) і 37 % мас. триосновного K₃PO₄ (50,0 мл) для доведення значення рН до ≥ 10. Додавали EtOAc (1000 мл) і перемішували отриману суміш впродовж близько 2 хвилин при температурі доквілля. Шари розділяли, і водний шар додавали назад в ділильну воронку. Додавали EtOAc (500 мл) в ділильну воронку і суміш перемішували. Шари розділяли і випаровували об'єднані органічні шари при зниженому тиску з отриманням транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-аміну (вихід 99 %).

Стадія Д: Отримання (3S, 4R)-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін(2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)сукцинату: В колбу завантажували транс-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін (123,3 г, 1,0 екв.) і метанол (1603 мл). Отриману суміш перемішували при температурі доквілля. Додавали (2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)бурштинову кислоту (145,0 г, 1,5 екв.) і воду (295 мл), і нагрівали реакційну суміш до 65 °С. В реакційну суміш додавали зародки кристалів (3S, 4R)-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін(2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)сукцинату (0,5 г, 0,7 екв.) (зародки кристалів готували здійсненням реакції в невеликому масштабі, яка проходила з отриманням продукту у вигляді твердої речовини), і реакційну суміш повільно охолоджували до 25 °С впродовж 16 годин. Суспензію фільтрували через фільтрувальний папір. Осад на фільтрі промивали трет-бутилметилмовим ефіром (700 мл), а потім сушили у вакуумній печі при 45 °С впродовж близько 4 годин з отриманням (3S, 4R)-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-амін(2S, 3S)-2,3-біс((4-метилбензоїл)окси)сукцинату (вихід 35 % за 2 стадії).

Біологічні аналізи

В біологічних аналізах, Сполука 1 належить до 1-((3S, 4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовини; Сполука 2 належить до 1-((3S, 4R)-4-(3,4-дифторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовини (описаної в WO 2012/158413); і Сполука 3 належить до 1-(1',4'-диметил-1-феніл-1H, 1'H-[3,4'-біпіразол]-5-іл)-3-((3S, 4R)-4-(4-фторфеніл)-1-(2-метоксиетил)піролідін-3-іл)сечовини (описаної в WO 2012/158413).

Приклад А

Аналіз зв'язування TrkA кінази

TrkA зв'язуючу активність визначали за допомогою аналізу зв'язування TrkA кінази LanthaScreen™ Eu. 5 nM His-міченої рекомбінантної TrkA людини (6His мічений цитоплазматичний домен від Invitrogen, каталожний № PV3144) інкубували з 4 nM Alexa-Fluor® Tracer 236 (Invitrogen, каталожний № PV5592), 2 nM біотинільованого антитіла до His-мітки

(Invitrogen, каталожний № PV6090) і 2 нМ міченого європієм стрептавідину (Invitrogen, каталожний № PV5899) у буфері (25 мМ MOPS, pH 7,5, 5 мМ $MgCl_2$, 0,005 % Triton X-100). Триразові серійні розведення Сполуки 1, Сполуки 2 або Сполуки 3 в ДМСО додавали до доведення кінцевого відсоткового вмісту ДМСО до 2 %. Після 60-хвилинної інкубації при 22 °C реакційну суміш вимірювали із застосуванням багаторежимного скануючого спектрофотометру для прочитання планшетів EnVision (PerkinElmer) за допомогою двоххвильового детектування TR-FRET при 615 нМ і 665 нМ. Відсоток контролю розраховували за допомогою логотметричного коефіцієнта емісії. Значення IC_{50} визначали шляхом узгодження чотирьохпараметричної моделі з відсотком даних контролю.

У Сполуки 1 було усереднене значення IC_{50} , що становило 1,1 нМ при випробуванні в аналізі Прикладу А. У Сполуки 2 було усереднене значення IC_{50} , що становило 1,5 нМ при випробуванні в аналізі Прикладу А. У Сполуки 3 було усереднене значення IC_{50} , що становило 1,7 нМ при випробуванні в аналізі Прикладу А.

Приклад Б

Клітинний аналіз TrkA

Клітини CHO-K1, трансфіковані TrkA дикого типу людини, висівали в 96-лунковий плоскодонний планшет при концентрації 3×10^5 клітин/лунка в повному середовищі DMEM, що містить 10 % FBS, і давали можливість прикріпитися впродовж 24 годин при 37 °C, 5 % CO_2 . Потім середовище замінювали повним безсироватковим середовищем для аналізу і тримали клітини у безсироватковому середовищі впродовж 1 години при 37 °C, 5 % CO_2 . Клітини обробляли Спорукою 1, 2 або 3 при серійних розведеннях 1:3, при цьому кінцеві концентрації знаходилися в діапазоні від 1 мкМ до 152 пМ. Споруку інкубували на клітинах впродовж 1 години при 37 °C, 5 % CO_2 . Потім клітини стимулювали кінцевою концентрацією з 30 нг/мл NGF людини впродовж 7 хвилин при 37 °C, 5 % CO_2 . Середовище видаляли і лізували клітини буфером для лізису, що містив інгібітори фосфатази і протеази. Фосфо-TrkA вимірювали з допомогою ELISA (R&D, каталожний № DYC2578). ELISA охоплював усю TrkA і детектував увесь фосфо-тирозин. Оптичну щільність вимірювали для кожної лунки за допомогою рідера Versamax при довжині хвилі, що становила 450 нм. Значення IC_{50} визначали шляхом узгодження чотирьохпараметричної моделі з відсотком даних контролю.

У Сполуки 1 було усереднене значення IC_{50} , що становило 1,9 нМ при випробуванні в аналізі Прикладу Б. У Сполуки 2 було усереднене значення IC_{50} , що становило 1,3 нМ при випробуванні в аналізі Прикладу Б. У Сполуки 3 було усереднене значення IC_{50} , що становило 6,1 нМ при випробуванні в аналізі Прикладу Б.

Приклад В

Кліренс мікросом людини і гепатоцитів людини у Сполук 1, 2 і 3

Мікросомальна інкубація печінки

100 мМ розчину калій-фосфатного аналітичного буфера (КРВ) отримували наступним чином. KH_2PO_4 і K_2HPO_4 окремо розчиняли у воді чистій для аналізу з отриманням в результаті кінцевої концентрації, що становила 100 мМ. Готували 75:25 суміш об./об. з K_2HPO_4 : KH_2PO_4 і доводили значення pH розчину до 7,4 за допомогою розведеної HCl або розбавлених розчинів NaOH. Початкові розчини Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 готували в концентрації 10 мМ (активної сполуки) в ДМСО. Початковий розчин розводили до 2,5 мкМ безпосередньо перед застосуванням за допомогою розчину КРВ для створення робочого стандартного зразка. При візуальному огляді усі досліджувані сполуки були повністю розчинні в ДМСО при кімнатній температурі. НАДФ-відновлюючий розчин (НВР) отримували в день аналізу розведенням одного об'єму 17 мг/мл НАДФ⁺ одним об'ємом 78 мг/мл глюкозо-6-фосфату (обидва отримані в КРВ, pH 7,4) і 7,9 об'ємами 20 мМ $MgCl_2$. Кінцеві концентрації НАДФ⁺ і глюкозо-6-фосфату становили 1,7 мг/мл і 7,8 мг/мл, відповідно. Безпосередньо перед застосуванням, НВР активували за допомогою додавання 10 мкл глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (150 од/мл в КРВ, pH 7,4) на мл початкового розчину НВР. Мікросоми печінки розводили за допомогою КРВ до 2,5 мг білку/мл.

У разі Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3, а також кожного позитивного контролю (тобто декстрометорфану, діазепаму, дилтіазему, фенацетину, толбутаміду і верапамілу), 20 мкл 2,5 мкМ робочого стандартного зразка розчину досліджуваної сполуки і 20 мкл мікросом (2,5 мг білку/мл) додавали в кожну лунку поліпропіленового 96-лункового планшета (Costar, VWR, Вест Честер, штат Пенсильванія) в двох повторностях. Планшети поміщали в інкубатор при 37 °C впродовж 5 хвилин перед додаванням стартового розчину. 10-мкл аліквоту розчину НВР додавали в кожну початкову лунку для ініціації метаболізму. Концентрація досліджуваної сполуки на початку інкубації становила 1 мкМ. Один інкубаційний планшет готували для кожного моменту часу (тобто 0 і 20 хвилин). Інкубацію проводили при температурі 37 °C і 100 %

відносній вологості. В кожен момент часу відповідний інкубаційний планшет виймали з інкубатора і додавали в кожну лунку розчин, що містив внутрішній стандарт (150 мкл, 0,25 мкМ лабеталолу в 60 % ацетонітрилі). Планшет негайно центрифугували при 2,095 x g впродовж 7 хвилин при кімнатній температурі із застосуванням настільної центрифуги Allegra (Beckman Coulter, Фулerton, штат Каліфорнія). 200-мкл аліквоту надосадової рідини переносили з кожної лунки в 96-лунковий планшет з неглибокими лунками (Costar). Планшети герметично закривали за допомогою мату для закривання планшетів багатократного застосування.

Інкубація гепатоцитів

Початкові розчини Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 готували в концентрації 10 мМ (активної сполуки) в ДМСО. Стабільність Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 (1 мкМ) *in vitro* оцінювали у присутності гепатоцитів наступним чином. Кріоконсервовані гепатоцити розморожували, виділяли з транспортного середовища і розводили до щільності, що становила 1×10^6 життєздатних клітин/мл, згідно з рекомендаціями постачальника, із застосуванням модифікованого за способом Дульбеко середовища Ігла, 1X, з високим вмістом глюкози (DMEM, Invitrogen, Карлсбад, штат Каліфорнія). Життєздатність визначали за допомогою трипанового синього із застосуванням гемоцитометру (3500 Hausser, VWR, Вест Честер, штат Пенсильванія). 10 мМ початкові розчини Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 розводили до 2 мкМ із застосуванням DMEM з добавками для створення робочого стандартного зразка. 20-мкл аліквоту досліджуваної сполуки або контролю (тобто антипірину, діазепаму, дилтіазему, лоразепаму, пропранололу, верапамілу і 7-етил-10-гідроксикамптотецину [SN-38]) додавали в кожну досліджувану лунку 96-лункового поліпропіленового планшета (Costar, VWR, Вест Честер, штат Пенсильванія) з негайним додаванням 20 мкл суспензії гепатоцитів. Для кожного моменту часу (тобто 0, 60 і 120 хвилин) отримували один інкубаційний планшет з пробами, отриманими в двох повторностях. Інкубацію проводили при температурі 37 °C і 100 % відносній вологості. В кожен момент часу відповідний інкубаційний планшет виймали з інкубатора і додавали в кожну лунку розчин, що містив ВС (200 мкл, 0,25 мкМ лабеталолу в 60 % ацетонітрилі). Вміст планшета змішували при 700 об/хв впродовж 1 хвилини на планшетному шейкері (IKA MTS 2/4 Digital Microtiter Shaker, VWR) і негайно центрифугували при 2095 x g впродовж 10 хвилин при кімнатній температурі із застосуванням настільної центрифуги Allegra (Beckman Coulter, Фулerton, штат Каліфорнія). 200-мкл аліквоту надосадової рідини переносили з кожної лунки в 96-лунковий планшет з неглибокими лунками (Costar). Планшети герметично закривали за допомогою матів для закривання планшетів багатократного застосування.

Розрахунки

Всі розрахунки здійснювали із застосуванням BioAssay Enterprise. Середні коефіцієнти площі піку розраховували за допомогою усереднювання коефіцієнтів площі піку (n=2) Сполуки 1, Сполуки 2, Сполуки 3 і внутрішнього стандарту для кожної проби. Відсоток, що залишився, розраховували шляхом визначення відношення коефіцієнта площі піку в кожен момент часу до коефіцієнта площі піку проб в нульовий момент часу. Коефіцієнт втрат досліджуваної сполуки (k_m) визначали за допомогою лінійної регресії $-\ln(f(t))$ залежно від часу. В регресії використовувалася формула "y=mx", тому модель примусово задавала вільний член, що становив 100 % залишку, і припускала, що метаболізм відбувався згідно з кінетикою першого порядку. $t_{1/2}$ визначали діленням $\ln(2)$ на k_m . Розрахунковий власний кліренс (CL_{int}) розраховували шляхом поправки періоду напіввиведення *in vitro* на стабільність кожної із Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 за допомогою фізичних і фізіологічних поправочних коефіцієнтів, наданих в Таблиці 5 і вживаних в наступному рівнянні:

$$CL_{int} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \left(\frac{D \cdot W}{C} \right) \quad \text{Рівняння 1}$$

де D являє собою відношення кількості гепатоцитів до маси печінки для конкретного виду. W являє собою відношення середньої маси даної печінки до маси тварини, а C являє собою відношення кількості гепатоцитів, присутніх під час інкубації, до одиниці об'єму. Розрахунковий печінковий кліренс (CL_h) розраховували за допомогою фізичних і фізіологічних поправочних коефіцієнтів, наданих в Таблиці 5 і вживаних в наступному рівнянні:

$$CL_h = \frac{CL_{int} \cdot Q}{CL_{int} + Q}$$

де Q являє собою залежний від виду печінковий кровотік. Поправку на незв'язану фракцію досліджуваної сполуки (f_u) не робили. Розрахунковий коефіцієнт екстракції печінкою (КЕП) визначали за допомогою розрахунку відношення розрахункового CL_h до печінкового кровотоку. КЕП

$$ER = \frac{CL_h}{Q}$$

Таблиця 5

Вид	W ^a	Q ^b	D (мік.) ^c	D (геп.) ^d
Миша	87,0	90	50	1,20E+08
Щур	45,0	70	45	1,35E+08
Кролик	30,8	71	78	1,20E+08
Собака	32,0	35	55	1,20E+08
Мавпа	32,0	44	60	1,20E+08
Людина	25,7	20	53	1,20E+08

W = відношення середньої маси печінки (г) до маси тварини (кг).

Q = середній печінковий кровотік (мл/хв/кг).

D (мік.) = відношення кількості цитохром Р450-подібного білку (мг) до маси печінки (г).

D (геп.) = відношення кількості гепатоцитів до маси печінки (г).

Приклад Г

5 Фармакокінетика у самців щурів лінії Спрег-Дуолі

Кожну із Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 готували шляхом додавання сполуки (сухої) до 20 % Trappsol® (гідроксипропіл-бета-циклодекстрин, CDT, Inc.) (водн.) з рН 5,0 і перемішування на вортексі до отримання однорідної суспензії (п/о) або розчину (в/в).

10 У разі внутрішньовенного введення дози тварин анестезували 3 % ізофлураном, збалансованим О₂. 1 мг/кг Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 вводили в об'ємі дози, що становив 1 мл/кг, в латеральну хвостову вену. Поки тварина знаходилася під наркозом (3 % ізофлуран, збалансований О₂, 0,2 мл/момент часу) кров забирали з протилежної латеральної хвостової вени в пробірки з NaЕДТА (1,5 % об./об.) в наступні моменти часу: 1, 5, 15, 30 хвилин і 1, 2, 4, 8 і 24 години, і ретельно змішували.

15 У разі перорального введення дози щури отримували одну пероральну дозу після нічного голодування. Поки тварина знаходилася під наркозом 3 % ізофлураном, збалансованим О₂ (0,2 мл/момент часу) кров забирали з латеральної хвостової вени в пробірки з NaЕДТА (1,5 % об./об.) в наступні моменти часу: 5, 15 і 30 хвилин, а також 1, 2, 4, 8, 24 і 26 годин, і ретельно змішували. Через 24 години після забору крові тваринам вводили повторну пероральну дозу і
20 через 2 години після введення дози виконували забір плазми і головного мозку для аналізу сполуки. Перед видаленням головний мозок перфузували сольовим розчином, зважували і піддавали надшвидкому заморожуванню в рідкому азоті до проведення аналізу за допомогою РХМС/МС. Плазму відділяли центрифугуванням при 14000 об/хв впродовж 10 хвилин і переносили проби плазми в пробірки з гумовими кришками 96-лункового планшета і зберігали
25 при -20±5 °С до проведення аналізу.

Аналіз плазми

Єдину 12-точкову калібрувальну криву отримували в першу чергу шляхом серійного розведення (3-кратного) 40 мкг/мл початкового розчину Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 в ДМСО з отриманням стандартних розчинів. Потім додавали плазму (20 мкл) в планшет для екстракції і додавали 2,5 мкл кожного стандартного розчину до плазми, що раніше не піддавали експериментам. Початковий розчин внутрішнього стандарту (10,0 мкл 2,5 мкг/мл в ацетонітрилі) згодом додавали до кожного стандартного розчину і розчину проби. Білковий матеріал осаджували з 20 мкл плазми шляхом додавання 317,5 мкл ацетонітрилу при загальному об'ємі, що становив 350 мкл. Проби перемішували на вортекс-міксері впродовж 5 хвилин і
35 центрифугували в центрифугі Allegra X-12R (Beckman Coulter, Фулerton, штат Каліфорнія) впродовж 15 хвилин при близько 1500 x g при температурі 4 °С. 100-мкл аліквоту кожної надосадової рідини переносили за допомогою 550 мкл піпеткового дозатору Personal Pipettor (Apricot Designs, Монровія, штат Каліфорнія) в 96-лункові планшети і розбавляли 1:1 водою для ВЕРХ. Отримані планшети герметично закривали матами для закривання планшетів і
40 аналізували кількість Сполуки в плазмі за допомогою РХМС/МС.

45 Система РХМС/МС складалася з автоматичного дозатора HTC-PAL (Leap Technologies, Inc., Каррборо, штат Північна Кароліна), ВЕРХ HP1100 (Agilent Technologies Inc., Санта-Клара, штат Каліфорнія) і потрійного квадрупольного мас-спектрометра API4000 (Applied Biosystems, Фостер Сіті, штат Каліфорнія). Хроматографічне утримування аналізованої речовини і внутрішнього стандарту досягали за допомогою колонки Phenomenex® Synergi 4μ Hydro-RP 80A (2,1 × 30 мм,

- розмір часток 4 мкм; Phenomenex, Торренс, штат Каліфорнія) у поєднанні з градієнтними умовами із застосуванням рухомих фаз А (10 мМ ацетату амонія у водному розчині 0,1 % мурашиної кислоти і 1 % ізопропілового спирту) і Б (10 мМ ацетату амонія в 89,9 % ацетонітрилі, 10 % метанолі, 0,1 % мурашиній кислоті). Загальний час хроматографування, зокрема час зрівноважування, для однієї ін'єкції становив 3,5 хвилини, а швидкість потоку становила 0,8 мл/хвилину. Кількість розчинника Б збільшували з 5 до 95 % за 1,0 хвилину, витримували на рівні 95 % впродовж 1,0 хвилини, а потім знижували до 5 % за 0,1 хвилини.

Час (хв)	Рухома фаза А (%)	Рухома фаза Б (%)
0,00	95	5
0,25	95	5
1,25	5	95
2,25	5	95
2,35	95	5
3,50	95	5

10 Аналіз головного мозку

- Єдину 12-точкову калібрувальну криву отримували в першу чергу шляхом серійного розведення (3-кратного) 40 мкг/мл початкового розчину Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 в ДМСО. Гомогенат головного мозку отримували шляхом додавання 5,0 мл води в конічні 50 мл пробірки, що містили головний мозок. Вміст пробірки гомогенізували за допомогою багатомісного гомогенізатора Omni-Prep (Кеннесо, штат Джорджія) при 22000 об/хв впродовж 180 секунд. Гомогенат (100 мкл) додавали в планшет для екстракції і додавали 2,5 мкл кожного стандартного розчину до гомогенату головного мозку, що раніше не піддавали експериментам. Початковий розчин внутрішнього стандарту (10,0 мкл 2,5 мкг/мл в ацетонітрилі) згодом додавали до кожного стандартного розчину і розчину проби. Білковий матеріал осаджували з 100 мкл гомогенату пухлини миші шляхом додавання 237,5 мкл ацетонітрилу при загальному об'ємі, що становив 350 мкл. Проби перемішували на вортекс-міксері впродовж 5 хвилин і центрифугували в центрифугі Allegra X-12R (Beckman Coulter, Фулerton, штат Каліфорнія) впродовж 15 хвилин при близько 1500 x g при температурі 4 °C. 100-мкл аліквоту кожної надосадової рідини переносили за допомогою 550 мкл піпеткового дозатору Personal Pipettor (Apricot Designs, Монровія, штат Каліфорнія) в 96-лункові планшети і розбавляли 1:1 водою для ВЕРХ. Отримані планшети герметично закривали матами для закривання планшетів і аналізували кількість Сполуки в головному мозку за допомогою РХМС/МС.

- Система РХМС/МС складалася з автоматичного дозатора HTC-PAL (Leap Technologies, Inc., Каррборо, штат Північна Кароліна), ВЕРХ HP1100 (Agilent Technologies Inc., Санта-Клара, штат Каліфорнія) і потрібного квадрупольного мас-спектрометра API4000 (Applied Biosystems, Фостер Сіті, штат Каліфорнія). Хроматографічне утримування аналізованої речовини і внутрішнього стандарту досягали за допомогою колонки Phenomenex® Synergi 4μ Hydro-RP 80A (2,1 × 30 мм, розмір часток 4 мкм; Phenomenex, Торренс, штат Каліфорнія) у поєднанні з градієнтними умовами із застосуванням рухомих фаз А (10 мМ ацетату амонія у водному розчині 0,1 % мурашиної кислоти і 1 % ізопропілового спирту) і Б (10 мМ ацетату амонія в 89,9 % ацетонітрилі, 10 % метанолі, 0,1 % мурашиній кислоті).

Час (хв)	Рухома фаза А (%)	Рухома фаза Б (%)
0,00	95	5
0,25	95	5
1,25	5	95
2,25	5	95
2,35	95	5
3,50	95	5

- Загальний час хроматографування, зокрема час зрівноважування, для однієї ін'єкції становив 3,5 хвилини, а швидкість потоку становила 0,8 мл/хв. Кількість розчинника Б збільшували з 5 до 95 % за 1,0 хвилину, витримували на рівні 95 % впродовж 1,0 хвилини, а потім знижували до 5 % за 0,1 хвилини. Мас-спектрометричне детектування аналізованих речовин здійснювали із застосуванням режиму іонізації ESI+. Під час інфузії початкового розчину Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 оптимізували іонний струм. Реакцію аналізованих речовин вимірювали шляхом моніторингу множинних реакцій (MRM) переходів, унікальних для кожної сполуки. Фармакокінетичні параметри розраховували шляхом стандартного

некомпартментного моделювання із застосуванням проприетарного програмного забезпечення для внутрішнього користування (Sherlock версія 2.1). AUC розраховували за допомогою інтегрування лінійним методом трапецій.

Приклад Д

5 Фармакокінетика у собак

Препарат в/в введення для доставки 1 мг/кг в об'єм дози 1 мл/кг готували наступним чином. Несучим середовищем для препарату був 20 % Trappsol® (гідроксипропіл-бета-циклодекстрин, CDT, Inc.) (водн.) у воді. До кожної з Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 (у вигляді сухих сполук) додавали кінцевий об'єм несучого середовища і перемішували отриману суміш до отримання

10 однорідного розчину. Значення pH кінцевого розчину становило 7. Перед доставкою тварині розчин фільтрували із застосуванням 0,2 мкм фільтру.

Самці собак породи бігль отримували одноразову внутрішньовенну дозу після нічного голодування. Кров/плазму збирали (1,5 мл/момент часу) в пробірки для забору крові з K₂EDTA в наступні моменти часу після введення дози: 0, 1, 5, 15 і 30 хвилин, а також 1, 2, 4, 8, 12, 24 і 48

15 годин, і ретельно змішували. Робили забір проб крові з яремної, головної або підшкірної вени тварин, що знаходилися у свідомості. Проби крові тримали на льоду до проведення аналізу плазми. Проби крові центрифугували при 3200 об/хв впродовж 10 хвилин при температурі близько 5 °С. Проби плазми переносили безпосередньо в пробірки 96-лункового планшета (MatrixTech, 0,75 мл). На пробірках 96-лункового планшета розміщували гумові ін'єкційні

20 ковпачки. Проби плазми зберігали при -20±5 °С до проведення аналізу.

Аналіз плазми

Єдину 12-точкову калібрувальну криву отримували в першу чергу шляхом серійного розведення (3-кратного) 40 мкг/мл початкового розчину Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 в ДМСО з отриманням стандартних розчинів. Потім додавали плазму (20 мкл) в планшет для екстракції і додавали 2,5 мкл кожного стандартного розчину до плазми, що раніше не піддавали експериментам. Початковий розчин внутрішнього стандарту (10,0 мкл 2,5 мкг/мл в ацетонітрилі) згодом додавали до кожного стандартного розчину і розчину проби. Білковий матеріал осаджували з 20 мкл плазми шляхом додавання 317,5 мкл ацетонітрилу при загальному об'ємі, що становив 350 мкл. Проби перемішували на вортекс-міксері впродовж 5 хвилин і

30 центрифугували в центрифугі Allegra X-12R (Beckman Coulter, Фулerton, штат Каліфорнія) впродовж 15 хвилин при близько 1500 x g при температурі 4 °С. 100-мкл аліквоту кожної надосадової рідини переносили за допомогою 550 мкл піпеткового дозатору Personal Pipettor (Apricot Designs, Монровія, штат Каліфорнія) в 96-лункові планшети і розбавляли 1:1 водою для ВЕРХ. Отримані планшети герметично закривали матами для закривання планшетів і

35 аналізували кількість Сполуки в плазмі за допомогою РХМС/МС.

Система РХМС/МС складалася з автоматичного дозатора HTC-PAL (Leap Technologies, Inc., Каррборо, штат Північна Кароліна), ВЕРХ HP1100 (Agilent Technologies Inc., Санта-Клара, штат Каліфорнія) і потрійного квадрупольного мас-спектрометра API4000 (Applied Biosystems, Фостер Сіті, штат Каліфорнія). Хроматографічне утримування аналізованої речовини і внутрішнього стандарту досягали за допомогою колонки Phenomenex® Synergi 4μ Hydro-RP 80A (2,1 × 30 мм, розмір часток 4 мкм; Phenomenex, Торренс, штат Каліфорнія) у поєднанні з градієнтними умовами із застосуванням рухомих фаз А (10 мМ ацетату амонія у водному розчині 0,1 % мурашиної кислоти і 1 % ізопропілового спирту) і Б (10 мМ ацетату амонія в 89,9 % ацетонітрилі, 10 % метанолі, 0,1 % мурашиній кислоті). Загальний час хроматографування, зокрема час зрівноважування, для однієї ін'єкції становив 3,5 хвилини, а швидкість потоку становила 0,8

45 мл/хвилина. Кількість розчинника Б збільшували з 5 до 95 % за 1,0 хвилину, витримували на рівні 95 % впродовж 1,0 хвилини, а потім знижували до 5 % за 0,1 хвилини.

Час (хв)	Рухома фаза А (%)	Рухома фаза Б (%)
0,00	95	5
0,25	95	5
1,25	5	95
2,25	5	95
2,35	95	5
3,50	95	5

50 Мас-спектрометричне детектування аналізованих речовин здійснювали із застосуванням режиму іонізації ESI+. Під час інфузії початкового розчину Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 оптимізували іонний струм. Реакцію аналізованих речовин вимірювали шляхом моніторингу множинних реакцій (MRM) переходів, унікальних для кожної сполуки. Фармакокінетичні

параметри розраховували шляхом стандартного некомпартментного моделювання із застосуванням проприетарного програмного забезпечення для внутрішнього користування (Sherlock версія 2.1). AUC розраховували за допомогою інтегрування лінійним методом трапецій.

5 Приклад Е

Аналіз hERG FASTPatch®

Цей аналіз використовували для виміру впливу Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 на клоновані калієві канали hERG, що експресуються в клітинах ембріональної нирки людини (HEK293). In vitro вплив Сполуки 1, Сполуки 2 і Сполуки 3 на струм калієвих каналів (сурогат IKr, кардіальний калієвий струм затриманого випрямлення) hERG (ген специфічних калієвих каналів серця людини), що експресується в клітинах ссавців, оцінювали при кімнатній температурі за допомогою QPatch HT® (Sophion Bioscience A/S, Данія), системи автоматичної паралельної фіксації потенціалу. Досліджуваний препарат оцінювали при 0,3, 1, 3, 10, 30 і 100 мкМ, при цьому кожну концентрацію випробовували на трьох або більше клітинах ($n \geq 3$). Тривалість впливу кожної концентрації досліджуваного препарату становила 3 хвилини. Позитивний контроль підтвердив чутливість тест-системи до інгібування hERG.

15 Приклад Є

Аналіз зв'язування p38 кінази

p38 α зв'язуючу активність Сполуки 1 визначали за допомогою аналізу зв'язування p38 α кінази LanthaScreen™ Eu. 5 нМ неактивної, GST-міченої рекомбінантної p38 α людини (GST-мічений цитоплазматичний домен від Invitrogen, каталожний № PV3305) інкубували з 5 нМ Alexa-Fluor® Tracer 199 (Invitrogen, каталожний № PV5830) і 2 нМ міченого європієм антитіла до GST (Invitrogen, каталожний № PV5594) у буфері (25 мМ [Na⁺] ГЕПЕС pH 7,3, 10 мМ MgCl₂, 100 мкМ NaVO₄). Триразові серійні розведення Сполуки 1 в ДМСО додавали до доведення кінцевого відсоткового вмісту ДМСО до 2 %. Після 60-хвилинної інкубації при 22 °C реакційну суміш вимірювали із застосуванням багаторежимного скануючого спектрофотометру для прочитання планшетів EnVision (PerkinElmer) за допомогою двоххвильового детектування TR-FRET при 615 нМ і 665 нМ. Відсоток контролю розраховували за допомогою логотметричного коефіцієнта емісії. Значення IC₅₀ визначали шляхом узгодження чотирьохпараметричної моделі з відсотком даних контролю. Було встановлено, що Сполука 1 є в 1000 разів сильнішою щодо TrkA, ніж до p38 α .

30 Приклад Ж

Нецільовий аналіз профілю кіназ

Сполуку 1 випробовували на нецільову активність кіназ при концентрації, що становила 10 мкМ, за методом Millipore, Inc. в рамках їх послуги KinaseProfiler™ відносно усіх кіназ, наявних в їх єдиній панелі кіназ. Сполуку 1 хроматографували в двох повторностях при концентрації АТФ, близькій до Км (константи Міхаеліса) для кожної окремої кінази відповідно до специфікацій Millipore. Результати показані в наданій нижче Таблиці. Дані надані у вигляді відсотка від контролю (BBK) і являють собою середнє значення двох повторностей.

У KinaseProfiler™ Сполука 1 продемонструвала дивовижну і несподівану селективність щодо інгібування TrkA в порівнянні з іншими кіназами панелі. По суті, Сполука 1 була переважно неактивною щодо нецільових кіназ при концентрації, що становила 10 мкМ, і тому не очікувалося, що вона стане інгібувати нецільові кінази при терапевтичних дозах у ссавців. Здатність Сполуки 1 селективно інгібувати шлях Trk без інгібування інших нецільових кіназ могла б забезпечити профіль лікарського засобу, по суті, без побічних ефектів, пов'язаних з інгібуванням нецільових кіназ. Такий профіль лікарського засобу означатиме безпечніший підхід до лікування болю, запалення, раку і деяких шкірних захворювань, ніж повідомлялося раніше.

Кіназа	Сполука 1 Середн. ВВК
AKT1	104
AKT2	104,5
AKT3	113,5
DMPK	98,5
GRK5	100
GRK6	98
GRK7	101
MRCKальфа	90,5
MRCKбета	106,5
MSK1	129
MSK2	116,5
p70S6K	104
PDK1	104
PKAC-альфа	129,5
PKСальфа	98,5
PKСбетаI	102,5
PKСбетаII	99,5
PKСдельта	102
PKСепсилон	101,5
PKСета	100
PKСгамма	98
PKСйота	91
PKСтета	128,5
PKСдзета	97,5
PRK2	116
PRKG1альфа	109,5
PRKG1бета	95,5
PrKX	115,5
ROCK-I	98,5
ROCK-II	105,5
Rsk1	102
Rsk2	93
Rsk3	107,5
Rsk4	105,5
SGK1	105
SGK2	112
SGK3	112,5
eEF-2K	112,5
mTOR	97,5
mTOR/FKBP12	105,5
AMPK(A1/B1/G1)	102,5
ARK5	104,5
BrSK1	98
BrSK2	104
CAMK1	104,5
CAMK1d	130
CAMK2b	147,5
CAMK2d	97,5
CAMK2g	97
CAMK4	100
CHK1	109
CHK2	102,5
DAPK1	114
DAPK2	97
DAPK3	105,5

Кіназа	Сполука 1 Середн. ВВК
DCAMKL2	135
DRAK1	129,5
LKB1	104,5
МАРКАР-K2	115
МАРКАР-K3	99
МАРКАР-K5	89,5
MARK1	100
MARK2	109,5
MELK	105,5
MKNK2	111
MYLK	106,5
PASK	137,5
PhКгамма2	108
Pim-1	103,5
Pim-2	117,5
Pim-3	106,5
PKD1	94,5
PKD2	94,5
SIK	108
STK33	101
TSSK1	104
TSSK2	108,5
CK1_y	91,5
CK1дельта	104
CK1гамма1	78,5
CK1гамма2	61,5
CK1гамма3	104,5
VRK2	96
CDK1/циклінB	108
CDK2/циклінA	94,5
CDK2/циклінE	102
CDK3/циклінE	94,5
CDK5/p25	115
CDK5/p35	97
CDK6/циклінD3	99,5
CDK7/циклінH/MAT1	99
CDK9/циклінT1	112
CLK2	102
CLK3	94,5
DYRK2	102
ERK1	94,5
ERK2	100
GSK3альфа	109,5
GSK3бета	112
HIPK1	98,5
HIPK2	101,5
HIPK3	90
JNK1альфа1	95
JNK2альфа2	98,5
JNK3	114,5
MSSK1	127,5
NLK	94,5
p38альфа	107,5
p38бета	102
p38дельта	105
p38гамма	114,5

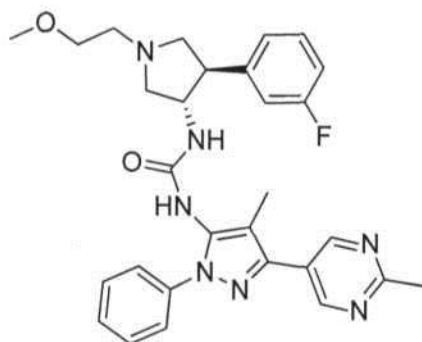
Кіназа	Сполука 1 Середн. ВВК
SRPK1	96
SRPK2	96,5
AURKA	115
CK2альфа2	106
Haspin	96,5
IKКальфа	101,5
IKКбета	104,5
NEK11	94
NEK2	95
NEK3	104,5
NEK6	96
NEK7	104
Plk1	99,5
Plk2	101
Plk3	100,5
TBK1	114,5
TLK2	101,5
ULK2	106
ULK3	107,5
WNK2	92,5
WNK3	115,5
LOK	125,5
MAP3K5	101
MAP4K2	101
MEK1	103,5
MINK	105
MKK4_m	125
MKK6	107,5
MKK7	125
MST1	107,5
MST2	102
MST3	103,5
PAK2	105,5
PAK4	97
PAK5	111
PAK6	114,5
TAO1	96
TAO2	100
TAO3	103
Abl2	110,5
Abl-P	110,5
ALK	89
Axl	115,5
BLK	82,5
Bmx	91,5
BTK	114
CSK	100
DDR2	121,5
EGFR	95,5
EphA1	94,5
EphA2	92,5
EphA3	95,5
EphA4	98
EphA5	109,5
EphA7	109
EphA8	110

Кіназа	Сполука 1 Середн. ВВК
EphB1	105,5
EphB2	98
EphB3	89,5
EphB4	102
ErbB4	107,5
FAK	100,5
FAK2	92,5
Fer	103,5
Fes	102,5
FGFR1	117
FGFR2	99
FGFR3	108
FGFR4	105
Fgr	106
Flt1	97
Flt3	102
Flt4	98,5
Fms	103
Fyn	96,5
Hck	108,5
IGF-1R	80,5
IGF-1R активований	105
IR	84,5
IR активований	105,5
IRR	104,5
ITK	104
JAK2	126
JAK3	95,5
KDR	102,5
KIT	97,5
Lck	94
Lyn	104,5
Mer	147,5
Met	124,5
MuSK	95
PDGFRальфа	96
PDGFRбета	96
PTK5	105
PTK6	106
Ret	111,5
Ron	100
Ros	112,5
Rse	102,5
Src	120
Syk	95,5
TEC активований	97
Tie2	82
TNK2	93,5
TrkA	2,5
TrkB	1,5
Txk	67
Yes	98,5
ZAP-70	104,5
ALK4	106,5
c-RAF	101
IRAK1	103

Кіназа	Сполука 1 Середн. ВВК
IRAK4	98
LIMK1	98
MLK1	109,5
RIPK2	90,5
TAK1-TAB1	101,5

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

5 1. Сполука 1



1-((3S,4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксіетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1Н-піразол-5-іл)сечовина або її фармацевтично прийнятна сіль.

10 2. Сполука 1 за п. 1, яка **відрізняється** тим, що являє собою дигідрохлоридну сіль 1-((3S,4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксіетил)піролідін-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1Н-піразол-5-іл)сечовини.

3. Фармацевтична композиція, яка містить Сполуку 1 за п. 1 або п. 2, а також фармацевтично прийнятний розчинник або носій.

15 4. Фармацевтична композиція за п. 3, яка **відрізняється** тим, що вказана фармацевтична композиція виготовлена для перорального введення.

5. Фармацевтична композиція за п. 4, яка **відрізняється** тим, що вказана фармацевтична композиція має форму пігулки або капсули.

20 6. Спосіб лікування захворювання або розладу у ссавця, в якому захворювання або розлад вибране з групи, що складається з болю, раку, запалення або запальних захворювань, нейродегенеративних захворювань, деяких інфекційних захворювань, синдрому Шегрена, ендометріозу, діабетичної периферичної нейропатії, простатиту, синдрому тазового болю, захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, а також захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини, який включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, терапевтично ефективної

25 кількості Сполуки 1 за п. 1 або п. 2.

7. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що призначений для лікування болю.

8. Спосіб за п. 7, який **відрізняється** тим, що вказаний біль являє собою хронічний біль.

9. Спосіб за п. 8, який **відрізняється** тим, що вказаний хронічний біль являє собою хронічний

30 хребетний біль.

10. Спосіб за п. 7, який **відрізняється** тим, що вказаний біль являє собою гострий біль.

11. Спосіб за п. 7, який **відрізняється** тим, що вказаний біль вибраний з групи, що складається з нейропатичного болю, запального болю, болю, обумовленого раком, болю, обумовленого переломом кістки, і болю, обумовленого хірургічним втручанням.

12. Спосіб за п. 11, який **відрізняється** тим, що вказаний біль являє собою нейропатичний біль.

35 13. Спосіб за п. 12, який **відрізняється** тим, що вказаний нейропатичний біль являє собою біль, обумовлений діабетичною периферичною нейропатією.

14. Спосіб за п. 11, який **відрізняється** тим, що вказаний біль являє собою запальний біль.

15. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що вказаний запальний біль являє собою біль, обумовлений остеоартритом.

40 16. Спосіб за п. 11, який **відрізняється** тим, що вказаний біль являє собою біль, обумовлений раком.

17. Спосіб за п. 11, який **відрізняється** тим, що вказаний біль являє собою біль, обумовлений переломом кістки.
18. Спосіб за п. 11, який **відрізняється** тим, що вказаний біль являє собою біль, обумовлений хірургічним втручанням.
- 5 19. Спосіб за будь-яким з пп. 7-18, який **відрізняється** тим, що додатково включає введення ефективною кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з ефективною кількістю щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, вибраного з групи, що складається з протизапальних сполук, стероїдів, болезаспокійливих засобів, опіатів, антагоністів рецепторів кальцитонін-ген-спорідненого пептиду, підтип-селективних модуляторів іонних каналів, протисудомних засобів, подвійних інгібіторів зворотного захоплення серотоніну-норадреналіну, інгібіторів кіназ сімейства JAK і трициклічних антидепресантів.
- 10 20. Спосіб за п. 19, який **відрізняється** тим, що болезаспокійливий засіб являє собою НПЗП (нестероїдний протизапальний засіб).
21. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що вказане захворювання являє собою запальне захворювання.
- 15 22. Спосіб за п. 21, який **відрізняється** тим, що запальне захворювання вибране з групи, що складається з запальних захворювань легень, інтерстиціального циститу, синдрому хворобливого сечового міхура, запальних захворювань кишечника і запальних шкірних захворювань.
- 20 23. Спосіб за п. 22, який **відрізняється** тим, що запальне захворювання являє собою інтерстиціальний цистит.
24. Спосіб за п. 22, який **відрізняється** тим, що запальне захворювання являє собою синдром хворобливого сечового міхура.
- 25 25. Спосіб за будь-яким з пп. 21-24, який **відрізняється** тим, що додатково включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, ефективною кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з ефективною кількістю одного або більше додаткових агентів, вибраних з групи, що складається з анти-ФНО агентів, антиметаболічних і антифолатних лікарських засобів, а також специфічних інгібіторів кіназ.
26. Спосіб за п. 25, який додатково включає введення вказаному ссавцю, що потребує цього, ефективною кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з ефективною кількістю одного або більше додаткових агентів, вибраних з групи, що складається з інфліксимабу, адалімумабу, цертолізумабу пеголу, голімумабу, етанерцепту, метотрексату, руксолітинібу, тофацитинібу, СҮТ387, лестауртинібу, пакритинібу і TG101348.
- 30 27. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що захворювання являє собою захворювання, обумовлене аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.
- 35 28. Спосіб за п. 27, який **відрізняється** тим, що захворювання вибране з групи, що складається з синдрому Рейно, ідіопатичного фіброзу легенів, рубцювання (гіпертрофічного, келоїдного і іншого), цирозу, ендоміокардіального фіброзу, передсердного фіброзу, мієлофіброзу, прогресуючого масивного фіброзу (легенів), нефрогенного системного фіброзу, склеродермії, системного склерозу, артрофіброзу і фіброзу ока.
- 40 29. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що вказане захворювання являє собою рак.
30. Спосіб за п. 29, який **відрізняється** тим, що вказаний рак являє собою рак, пов'язаний з дисрегуляцією TrkA.
31. Спосіб за п. 30, який **відрізняється** тим, що дисрегуляція TrkA включає одну або більше хромосомних транслокацій або інверсій, що призводять до злиття генів TrkA.
- 45 32. Спосіб за п. 31, який **відрізняється** тим, що злиття генів TrkA являє собою LMNA-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, CD74-TrkA, NFASC-TrkA, MPRIP-TrkA, BCAN-TrkA, TP53-TrkA, RNF213-TrkA, RABGAPIL-TrkA, IRF2BP2-TrkA, SQSTM1-TrkA, SSBP2-TrkA або TPR-TrkA.
33. Спосіб за п. 32, який **відрізняється** тим, що рак являє собою недрібноклітинний рак легень, папілярну карциному щитовидної залози, мультиформову гліобластому, карциному ободової і прямої кишок, меланому, холангіокарциному або саркому.
- 50 34. Спосіб за п. 30, який **відрізняється** тим, що дисрегуляція TrkA включає одну або більше делецій, інсерцій або мутацій у білку TrkA.
35. Спосіб за п. 34, який **відрізняється** тим, що вказаний рак являє собою гострий мієлоїдний лейкоз, крупноклітинну нейроендокринну карциному або нейробластому.
- 55 36. Спосіб за п. 30, який **відрізняється** тим, що дисрегуляція TrkA являє собою надекспресію TrkA дикого типу (аутокринна активація).
37. Спосіб за п. 36, який **відрізняється** тим, що рак являє собою карциному передміхурової залози, нейробластому, карциному підшлункової залози, меланому, плоскоклітинну карциному голови і шиї або карциному шлунка.
- 60

38. Спосіб за будь-яким з пп. 29-37, який додатково включає введення ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з ефективною кількістю щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, вибраного з однієї або більше додаткових терапій або хіміотерапевтичних засобів.

5 39. Спосіб за п. 38, який **відрізняється** тим, що вказану додаткову терапію або хіміотерапевтичний агент вибирають з променевої терапії, цитотоксичних хіміотерапевтичних засобів, терапевтичних засобів, спрямованих на тирозинкіназу, модуляторів апоптозу, інгібіторів сигнальної трансдукції, імуноспрямованих препаратів і спрямованих на ангіогенез препаратів.

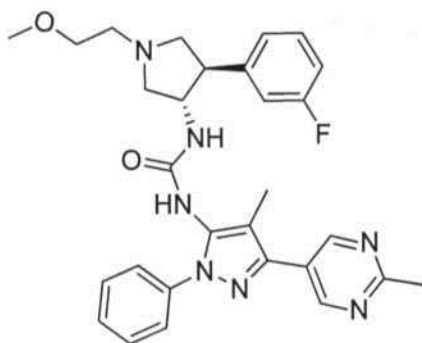
10 40. Спосіб за п. 39, який **відрізняється** тим, що вказаний хіміотерапевтичний засіб вибирають з терапевтичних засобів, спрямованих на тирозинкіназу.

41. Сполука 1 за п. 1 або п. 2 або її фармацевтично прийнятна сіль для застосування в лікуванні болю, раку, запалення/запальних захворювань, нейродегенеративних захворювань, деяких інфекційних захворювань, синдрому Шегрена, ендометріозу, діабетичної периферичної нейропатії, простатиту, синдрому тазового болю, захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, або захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.

42. Застосування Сполуки 1 за п. 1 або п. 2 або її фармацевтично прийнятної солі у виготовленні лікарського засобу для лікування болю, раку, запалення/запальних захворювань, нейродегенеративних захворювань, деяких інфекційних захворювань, синдрому Шегрена, ендометріозу, діабетичної периферичної нейропатії, простатиту, синдрому тазового болю, захворювань, пов'язаних з дисбалансом регуляції ремоделювання кісткової тканини, або захворювань, обумовлених аберантною передачею сигналів фактора росту сполучної тканини.

43. Спосіб лікування раку у ссавця, що потребує цього, який включає:

25 (а) визначення того, чи обумовлений рак дисрегуляцією TrkA-кінази; і
(б) у разі, якщо було встановлено, що рак обумовлений дисрегуляцією TrkA-кінази, введення ссавцю терапевтично ефективної кількості Сполуки 1



1-((3S,4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксіетил)піролідин-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовини або її фармацевтично прийнятної солі.

30 44. Спосіб за п. 43, який **відрізняється** тим, що Сполука 1 являє собою дигідрохлоридну сіль 1-((3S,4R)-4-(3-фторфеніл)-1-(2-метоксіетил)піролідин-3-іл)-3-(4-метил-3-(2-метилпіримідин-5-іл)-1-феніл-1H-піразол-5-іл)сечовини.

45. Спосіб за п. 43 або п. 44, який **відрізняється** тим, що дисрегуляція TrkA включає одну або більше хромосомних транслокацій або інверсій, що призводять до злиття генів TrkA.

35 46. Спосіб за п. 45, який **відрізняється** тим, що злиття генів TrkA являє собою LMNA-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, CD74-TrkA, NFASC-TrkA, MPRIP-TrkA, BCAN-TrkA, TP53-TrkA, RNF213-TrkA, RABGAPIL-TrkA, IRF2BP2-TrkA, SQSTM1-TrkA, SSBP2-TrkA або TPR-TrkA.

40 47. Спосіб за п. 46, який **відрізняється** тим, що рак являє собою недрібноклітинний рак легень, папілярну карциному щитовидної залози, мультиформову гліобластому, карциному ободової і прямої кишочки, меланому, холангіокарциному або саркому.

48. Спосіб за п. 43 або п. 44, який **відрізняється** тим, що дисрегуляція TrkA включає одну або більше делецій, інсерцій або мутацій у білку TrkA.

49. Спосіб за п. 48, який **відрізняється** тим, що вказаний рак являє собою гострий мієлоїдний лейкоз, крупноклітинну нейроендокринну карциному або нейробластому.

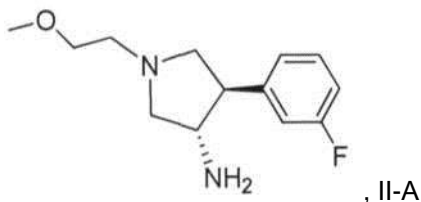
45 50. Спосіб за п. 43 або п. 44, який **відрізняється** тим, що дисрегуляція TrkA являє собою надекспресію TrkA дикого типу (аутокринна активація).

51. Спосіб за п. 50, який **відрізняється** тим, що рак являє собою карциному передміхурової залози, нейробластому, карциному підшлункової залози, меланому, плоскоклітинну карциному голови і шиї або карциному шлунка.

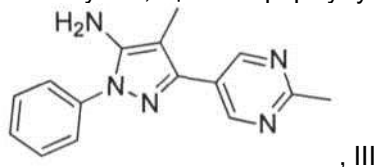
52. Спосіб за будь-яким з пп. 43-51, який додатково включає введення ефективної кількості Сполуки 1 або її фармацевтично прийнятної солі в комбінації з ефективною кількістю щонайменше одного додаткового терапевтичного агенту, вибраного з однієї або більше додаткових терапій або хіміотерапевтичних агентів.

5 53. Спосіб за п. 52, який **відрізняється** тим, що вказану додаткову терапію або хіміотерапевтичний агент вибирають з променевої терапії, цитотоксичних хіміотерапевтичних засобів, терапевтичних засобів, спрямованих на тирозинкіназу, модуляторів апоптозу, інгібіторів сигнальної трансдукції, імуноспрямованих препаратів і спрямованих на ангіогенез препаратів.

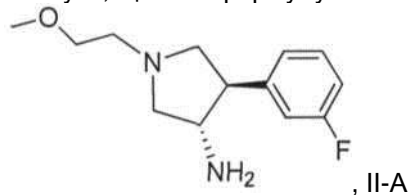
10 54. Спосіб отримання сполуки за п. 1 або п. 2, який включає: (а) приведення в контакт сполуки, що має формулу II-A:



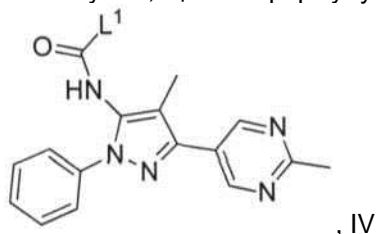
зі сполукою, що має формулу III:



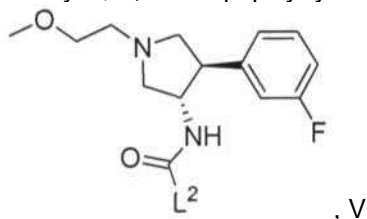
15 в присутності карбонілдіімідазолу або трифосгену і основи; або (б) приведення в контакт сполуки, що має формулу II-A:



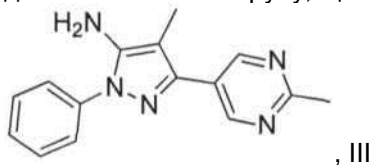
зі сполукою, що має формулу IV:



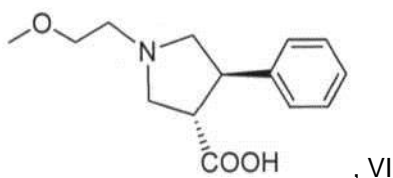
20 де L¹ являє собою групу, що відходить, в присутності основи; або (в) приведення в контакт сполуки, що має формулу V:



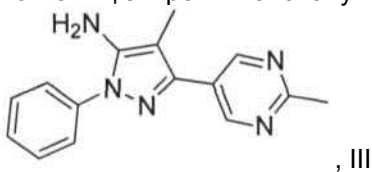
де L² являє собою групу, що відходить, зі сполукою, що має формулу III:



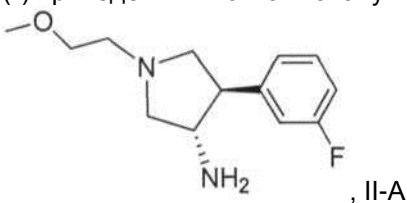
25 в присутності основи; або (в) приведення в контакт сполуки, що має формулу VI:



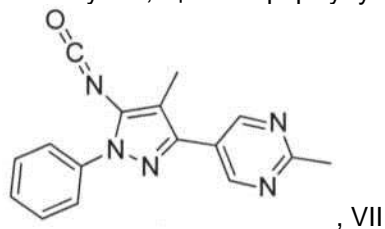
з дифенілфосфорилазидом з утворенням проміжної сполуки, з подальшим приведенням в контакт цієї проміжної сполуки зі сполукою, що має формулу III:



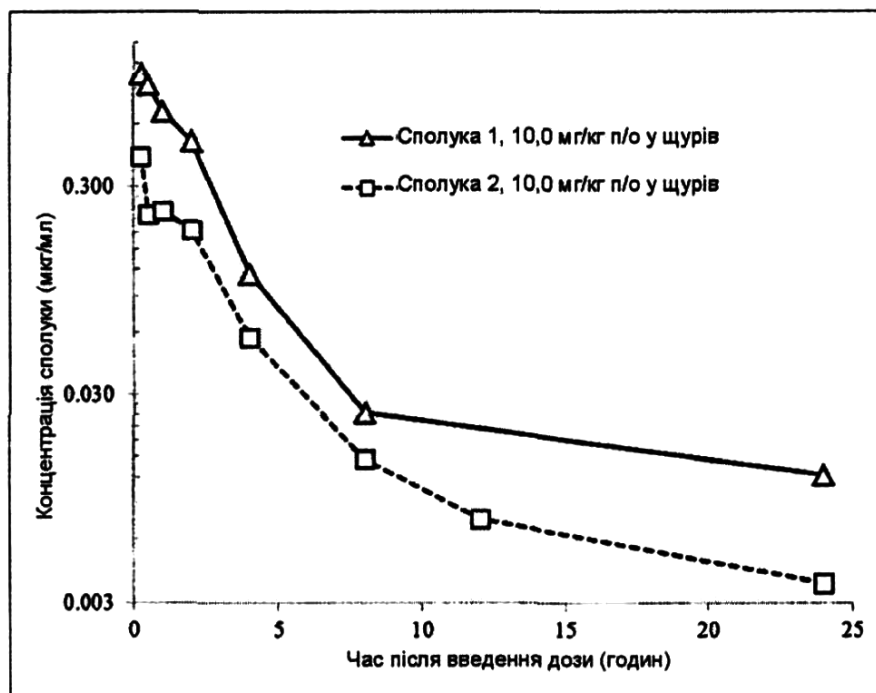
- 5 в присутності основи; або
(г) приведення в контакт сполуки, що має формулу II-A:



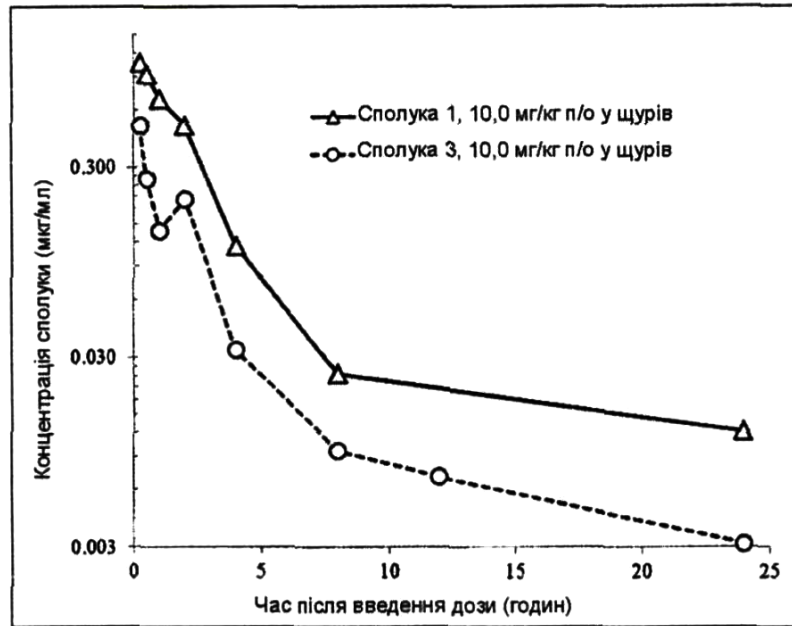
зі сполукою, що має формулу VII:



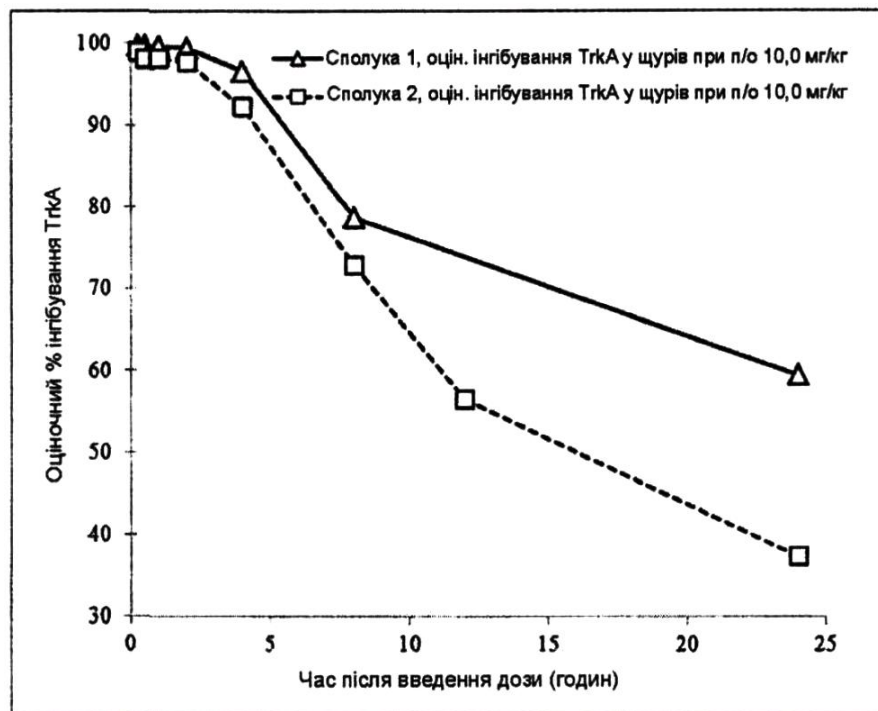
- 10 в присутності основи; і
видалення захисних груп, у разі присутності, і необов'язкове отримання її фармацевтично прийнятної солі.



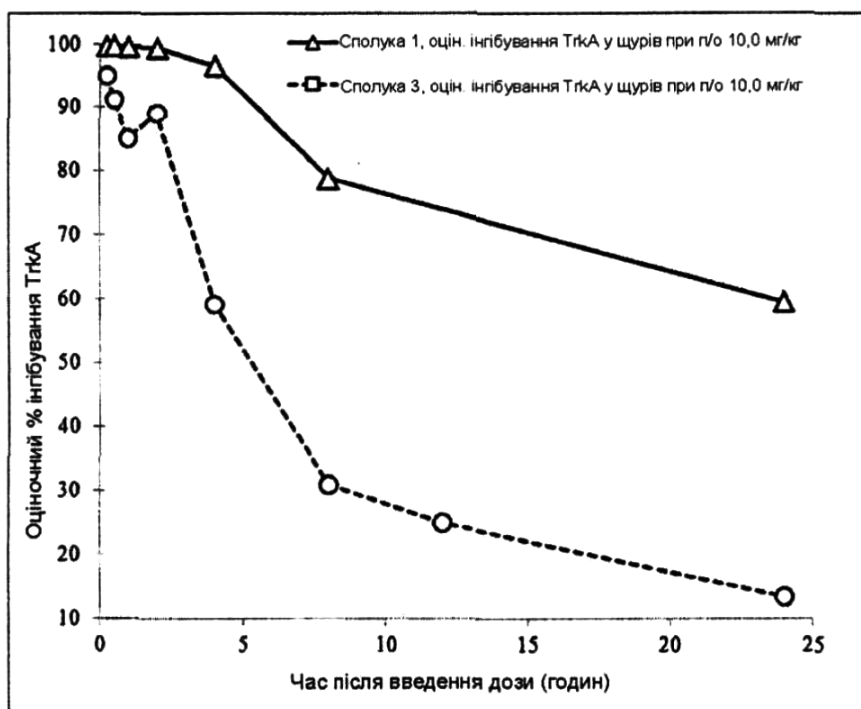
Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4

Комп'ютерна верстка В. Юкін

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
 вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601