

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 201792604 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2018.04.30

(51) Int. Cl. *A61K 31/56* (2006.01)  
*A61P 9/10* (2006.01)  
*C07D 401/14* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2016.05.24

(54) ИНГИБИТОРЫ АУТОТАКСИНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/167,216

(32) 2015.05.27

(33) US

(86) PCT/US2016/033933

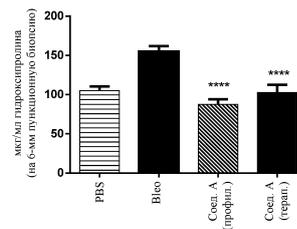
(87) WO 2016/191427 2016.12.01

(71) Заявитель:  
ФАРМАКЕА, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Бэйн Грегхен, Эванс Джулиан  
Фрэнсис, Хатчинсон Джон Говард,  
Лонерган Дэвид (US)

(74) Представитель:  
Строкова О.В. (RU)

(57) В настоящем документе описываются способы и композиции для лечения состояний, заболеваний и нарушений, ассоциированных с активностью аутотаксина. Способы и композиции, раскрытые в настоящем документе, включают применение по меньшей мере одного соединения ингибитора аутотаксина.



\*\*\*\* p < 0,0001 по сравнению с Vleo  
Однофакторный ANOVA (критерий Даннетта)

201792604  
A1

201792604

A1

# **ИНГИБИТОРЫ АУТОТАКСИНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

## **Описание**

### **Ссылка на родственные заявки**

Согласно настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США с серийным № 62/167216, поданной 27 мая 2015 года, которая тем самым включена в настоящий документ во всей своей полноте посредством отсылки.

### **Область техники, к которой относится настоящее изобретение**

В настоящем документе описываются способы применения ингибиторов аутоаксина и их фармацевтических композиций и лекарственных препаратов в лечении состояний, заболеваний и нарушений, ассоциированных с активностью аутоаксина.

### **Предшествующий уровень техники настоящего изобретения**

Аутоаксин (АТХ), также известный как представитель 2 или ENNP2 семейства эктонуклеотидпирофосфатазы/фосфодиэстеразы, представляет собой секретируемую адипоцитами лизофосфолипазу D, которая катализирует образование липидного медиатора - лизофосфатидной кислоты (LPA). Экспрессия аутоаксина усиливается у индивидуумов с некоторыми состояниями или заболеваниями.

### **Сущность изобретения**

Путь передачи сигнала аутоаксин-лизофосфатидная кислота участвует в ряде путей передачи сигнала, вовлеченных в миграцию, пролиферацию и выживаемость клеток. Благодаря своей роли в этих путях аутоаксин исследуется в качестве цели поиска лекарственных средств для лечения хронического воспаления, невропатической боли, фиброзного заболевания и различных злокачественных опухолей. Интенсивные усилия были сосредоточены на выявлении ингибиторов аутоаксина при лечении этих нарушений.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены способы применения одного или нескольких ингибиторов аутоаксина для лечения или

предупреждения заболеваний или состояний, в которых участвует аутоаксин и/или LPA, вовлеченные в этиологию или патологию заболевания или иным образом ассоциированные по меньшей мере с одним симптомом или осложнением заболевания. Ингибирование физиологической активности аутоаксина и/или LPA применимо в ряде заболеваний или состояний. Путь передачи сигнала аутоаксин-LPA вовлекается в фиброзные заболевания, колит, злокачественную опухоль, зуд, ангиогенез, воспаление, аутоиммунные заболевания, заболевания репродуктивных органов, неврологические заболевания и прогрессирование опухоли.

Согласно одному аспекту способы, описываемые в настоящем документе, включают применение одного или нескольких соединений ингибитора аутоаксина для лечения заболеваний или состояний, при которых активность аутоаксина способствует симптомологии или прогрессированию заболевания, нарушения или состояния. Такие заболевания, нарушения или состояния могут иметь одну или несколько из генетической, ятрогенной, иммунологической, инфекционной, метаболической, онкологической, токсической, хирургической и/или травматической этиологии. Согласно одному аспекту способы, соединения, фармацевтические композиции и лекарственные препараты, описываемые в настоящем документе, содержат ингибиторы аутоаксина.

Согласно одному аспекту ингибиторы аутоаксина применимы для лечения заболеваний или состояний, таких как без ограничения фиброз, колит, клеточное пролиферативное заболевание, воспалительное заболевание, аутоиммунные заболевания, заболевания репродуктивных органов, ассоциированное с патологическим ангиогенезом заболевание, склеродермия, реперфузионное повреждение головного мозга или сердца, нейродегенеративное заболевание, невропатическая боль, периферическая невропатия, глазное заболевание, диабетическая ретинопатия, пролиферативная витреоретинопатия, рубцующийся пемфигоид, метаболическое нарушение и глаукома.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены фармацевтические композиции, содержащие один или несколько ингибиторов аутоаксина, их фармацевтически приемлемых солей или сольватов, применимых для лечения или предупреждения одного или нескольких заболеваний или состояний. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтическая композиция ослабляет или обращает один или несколько признаков или симптомов, ассоциированных с одним или несколькими заболеваниями или состояниями. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции предупреждает возникновение одного или нескольких осложнений, ассоциированных с одним или несколькими заболеваниями или состояниями. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические

композиция содержит ингибитор аутоаксина А. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат ингибитор аутоаксина В. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат ингибитор аутоаксина С. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат ингибитор аутоаксина D. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат ингибитор аутоаксина Е. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат ингибитор аутоаксина F. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат ингибитор аутоаксина G. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат ингибитор аутоаксина H. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат ингибитор аутоаксина I. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции дополнительно содержат дополнительное терапевтическое средство. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтическую композицию вводят в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами против заболевания, нарушения или состояния. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное средство. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтическую композицию составляют для введения млекопитающему путем внутривенного введения, подкожного введения, перорального введения, ингаляционного, назального введения, внутрикожного введения или глазного введения. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции имеют форму таблетки, пилюли, капсулы, жидкости, суспензии, геля, дисперсии, раствора, эмульсии, мази или лосьона.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения какого-либо из заболеваний или состояний, описываемых в настоящем документе, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему при необходимости этого.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения какого-либо из заболеваний или состояний, описываемых в настоящем документе, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему при необходимости этого; при этом ингибитор аутоаксина или его фармацевтически

приемлемая соль или сольват не вызывает гепатобилиарное повреждение у млекопитающего.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения какого-либо из заболеваний или состояний, описываемых в настоящем документе, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему при необходимости этого; при этом один или несколько печеночных белков повышаются не значительно у субъекта после введения ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата. Согласно некоторым вариантам осуществления значительное повышение концентрации печеночного белка представляет собой повышение по меньшей мере на 50%, 100%, 200% или 500% концентрации печеночного белка. Согласно некоторым вариантам осуществления печеночным белком является аспрататтрансаминаза. Согласно некоторым вариантам осуществления печеночным белком является щелочная фосфатаза. Согласно некоторым вариантам осуществления печеночным белком является билирубин.

Согласно другому аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения фиброза, зуда, колита, злокачественной опухоли, воспалительного заболевания или состояния, заболевания или состояния дыхательных путей, аутоиммунного заболевания или состояния, неврологического заболевания или состояния, ожирения, внутриглазного давления, невропатической боли или их комбинаций у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата ослабляет по меньшей мере один симптом из фиброза, зуда, колита, злокачественной опухоли, воспалительного заболевания или состояния, заболевания или состояния дыхательных путей, аутоиммунного заболевания или состояния, неврологического заболевания или состояния, ожирения, внутриглазного давления, невропатической боли или их комбинаций.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, описываемого в настоящем документе, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина млекопитающему при необходимости этого; при этом после введения ингибитора аутоаксина содержание лизофосфатидной кислоты в крови у млекопитающего снижается по меньшей мере на приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40% или 50%.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, описываемого в настоящем документе, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина млекопитающему при необходимости этого; при этом после введения ингибитора аутоаксина содержание аутоаксина в крови у млекопитающего снижается по меньшей мере на приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40% или 50%.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, описываемого в настоящем документе, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, при этом ингибитор аутоаксина составляют для введения млекопитающему при необходимости этого путем внутривенного введения, подкожного введения, перорального введения, ингаляционного, назального введения, внутрикожного введения или глазного введения.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения заболевания, нарушения или состояния, описываемого в настоящем документе, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, при этом ингибитор аутоаксина находится в фармацевтической композиции, имеющей форму таблетки, пилюли, капсулы, жидкости, суспензии, геля, дисперсии, раствора, эмульсии, мази или лосьона.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения фиброза у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления накопление внеклеточного матрикса или скорость накопления внеклеточного матрикса в ткани с фиброзом снижается после введения ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброз включает в себя перитонеальный фиброз, легочный фиброз, печеночный фиброз, почечный фиброз, глазной фиброз или кожный фиброз. В качестве примера, способ включает введение ингибитора аутоаксина млекопитающему с печеночным фиброзом. В некоторых случаях проявление цирроза или печеночной недостаточности откладывается или предупреждается после введения ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата. В некоторых случаях накопление фиброгенных клеток и/или отложение белков внеклеточного матрикса в печени ослабляется или предупреждается после введения ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата. Согласно одному

примеру способ включает введение ингибитора аутоаксина млекопитающему с почечным фиброзом. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина млекопитающему предупреждает почечную недостаточность. Согласно другому примеру способ включает введение ингибитора аутоаксина млекопитающему с перитонеальным фиброзом. Согласно следующему примеру способ включает введение ингибитора аутоаксина млекопитающему с кожным фиброзом. В некоторых случаях толщина кожи образца кожи с фиброзом уменьшается по меньшей мере на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% после введения ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения фиброза у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и второго терапевтического средства. Согласно некоторым вариантам осуществления второе терапевтическое средство содержит ингибитор ангиотензина, колхицин, кортикостероид, ингибитор эндотелина, интерферон-альфа, интерлейкин 10, антиоксидант, ингибитор звездчатых клеток печени (HSC), ингибитор ACE, ингибитор ADAM, металлофермент, пирфенидон, траниласт, фторфенидон, противовоспалительное средство, иммуносупрессант или их комбинацию.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения колита у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения воспалительного заболевания кишечника у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. В некоторых случаях колитом является острый колит. В некоторых случаях колитом является хронический колит. Согласно некоторым вариантам осуществления колитом является аутоиммунный колит, идиопатический колит, ятрогенный колит, сосудистое заболевание или инфекционный колит.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения язвенного колита у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата уменьшает размер язвы при язвенном колите по меньшей

мере на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% после введения.

Согласно некоторым вариантам осуществления один или несколько признаков или симптомов колита уменьшаются у млекопитающего после введения ингибитора аутоаксина. Признаки или симптомы включают в себя без ограничения абдоминальную боль, диарею, слизь в стуле, спазмы, чувствительность в области живота, лихорадку, кровавый стул, вздутие живота, эритема слизистой оболочки толстой кишки и язвы.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения колита у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и второго терапевтического средства. Согласно некоторым вариантам осуществления второе терапевтическое средство включает в себя стероид, противовоспалительное средство, иммуносупрессант или их комбинацию. Согласно одному аспекту в настоящем документе представлен способ лечения или предупреждения колита у млекопитающего, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина и циклоспорина А. Согласно одному аспекту в настоящем документе представлен способ лечения или предупреждения колита у млекопитающего, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина и сульфасалазина.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения неврологического заболевания или нарушения у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения рассеянного склероза у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему с рассеянным склерозом снижает частоту, тяжесть и/или продолжительность рецидивных симптомов рассеянного склероза у млекопитающего. Симптомы рассеянного склероза включают в себя без ограничения онемение или слабость в конечности, частичную или полную потерю зрения, двойное зрение, неясность зрения, ощущение покалывания, тремор,

отсутствие координации, неустойчивую походку, невнятную речь, усталость и головокружение.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения неврологического заболевания у млекопитающего, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и второго терапевтического средства. Согласно некоторым вариантам осуществления второе терапевтическое средство содержит кортикостероид, интерферон-бета, глатирамера ацетат, диметилфумарат, финголимод, терифлуномид, натализумаб, митоксантрон, мышечный релаксант или их комбинацию. В некоторых случаях неврологическим заболеванием является рассеянный склероз.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения зуда у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления зуд ассоциируется с герпетиформным дерматитом, дерматомиозитом, пемфигоидом, синдромом Шегрена, болезнью Дарье, болезнью Хейли-Хейли, ихтиозом, синдромом Шегрена-Ларссона, дерматофитией, фолликулитом, импетиго и другими бактериальными инфекциями, укусами насекомых, педикулезом, чесоткой, вирусной инфекцией, астеатозом, атопической экземой, контактным дерматитом, реакцией на лекарственное средство, красным плоским лишаем, простым хроническим лишаем, мастоцитозом (пигментной крапивницей), малярией, псориазом, рубцом(ами), крапивницей, кожной Т-клеточной лимфомой или фунгоидным микозом, кожной В-клеточной лимфомой, поражением кожи при лейкозе, пемфигоидом беременных, полиморфным дерматозом беременных или почесухой беременных. Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения холестатического зуда у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему при необходимости этого. Согласно некоторым вариантам осуществления после введения ингибитора аутоаксина число почесывающих движений, наблюдающихся у млекопитающего с зудом, снижается по меньшей мере на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%. Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения зуда у млекопитающего, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой

соли или сольвата и второго терапевтического средства. Согласно некоторым вариантам осуществления второе терапевтическое средство содержит местный капсаицин.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения злокачественной опухоли у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления злокачественной опухолью является солидная опухоль. Согласно некоторым вариантам осуществления злокачественной опухолью является злокачественная опухоль мочевого пузыря, злокачественная опухоль толстой кишки, злокачественная опухоль головного мозга, злокачественная опухоль молочной железы, злокачественная опухоль эндометрия, злокачественная опухоль сердца, злокачественная опухоль почки, злокачественная опухоль легкого, злокачественная опухоль печени, злокачественная опухоль матки, злокачественная опухоль кровеносной и лимфатической систем, злокачественная опухоль яичника, злокачественная опухоль поджелудочной железы, злокачественная опухоль предстательной железы, злокачественная опухоль щитовидной железы или злокачественная опухоль кожи. Согласно некоторым вариантам осуществления злокачественной опухолью является саркома, карцинома или лимфома. Согласно некоторым вариантам осуществления злокачественная опухоль является восприимчивой к лечению ингибитором аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления способ дополнительно включает введение второго терапевтического средства млекопитающему в дополнение к ингибитору аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвату. Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения злокачественной опухоли у млекопитающего, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и второго противоракового средства или терапии.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ снижения или ингибирования ангиогенеза у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления снижение или ингибирование ангиогенеза у млекопитающего лечит атеросклероз, гипертензию, рост опухоли, воспаление, ревматоидный артрит, влажную форму дегенерации желтого пятна, хориоидальную неоваскуляризацию, ретиальную неоваскуляризацию или диабетическую ретинопатию. Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ снижения или ингибирования

ангиогенеза у млекопитающего, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества ингибитора аутоксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и второго терапевтического средства или терапии. В некоторых случаях второе терапевтическое средство содержит ингибитор ангиогенеза, например, ингибитора VEGF (бевацизумаб), сорафениб, сунитиниб, пазопаниб, эверолимус или их комбинацию.

Согласно другому аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения воспалительного заболевания или состояния у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления воспалительным заболеванием или состоянием является псориаз, ревматоидный артрит, васкулит, воспалительное заболевание кишечника, дерматит, остеоартрит, астма, воспалительное заболевание мышц, аллергический ринит, вагинит, интерстициальный цистит, склеродермия, экзема, красная волчанка, дерматомиозит, синдром Шегрена, тиреоидит, миастения гравис, аутоиммунный гемолитическая анемия, рассеянный склероз, кистозный фиброз, хронический рецидивирующий гепатит, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит, аллергический конъюнктивит или атопический дерматит. Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения воспалительного заболевания или состояния у млекопитающего, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества ингибитора аутоксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и противовоспалительного лекарственного средства. Согласно некоторым вариантам осуществления противовоспалительное лекарственное включает в себя нестероидное противовоспалительное лекарственное средство.

Согласно другому аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения аутоиммунного заболевания или состояния у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения аутоиммунного заболевания или состояния у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества ингибитора аутоксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата и иммуносупрессанта. Согласно некоторым вариантам осуществления иммуносупрессант включает в себя глюкокортикоид, цитостатик, антитело, лекарственное средство или их комбинацию.

Согласно другому аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения заболевания или состояния дыхательных путей у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления заболеванием дыхательных путей является хроническое обструктивное легочное заболевание, кистозный фиброз или астма.

Согласно другому аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения внутриглазного давления у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления внутриглазное давление ассоциируется с глаукомой.

Согласно другому аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения невропатической боли у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему. Согласно некоторым вариантам осуществления невропатическая боль является результатом повреждения нерва.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения метаболического нарушения и/или одного или нескольких состояний, ассоциированных с метаболическим нарушением, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина млекопитающему при необходимости этого. Согласно другому аспекту в настоящем документе описывается способ предупреждения или замедления проявления по меньшей мере одного метаболического нарушения у млекопитающего с риском развития метаболического нарушения, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение лечат путем снижения содержания глюкозы в крови. В некоторых случаях содержание глюкозы в крови снижается у субъекта по меньшей мере на приблизительно 10% после введения ингибитора аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение лечат путем снижения содержания лизофосфатидной кислоты в плазме. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение лечат путем улучшения чувствительности к инсулину. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение лечат путем усиления секреции инсулина. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение лечат путем улучшения толерантности к глюкозе. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение лечат путем снижения

разрастания жировой ткани. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение не индуцирует гипогликемию. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение выбрано из группы, состоящей из метаболического синдрома, повышенного содержания глюкозы в крови, резистентности к инсулину, нарушения толерантности к глюкозе, сахарного диабета 2 типа, сахарного диабета 1 типа, предиабета, неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH), ожирения или их комбинации. Согласно некоторым вариантам осуществления млекопитающее имеет индекс массы тела по меньшей мере  $25 \text{ кг/м}^2$  и по меньшей мере один или несколько факторов риска сахарного диабета, выбранных из группы, состоящей из физической инертности, наличия родственника первой степени родства с сахарным диабетом, принадлежности к расе или этнической группе высокого риска, рождения у женщины ребенка массой более 9 фунтов, предварительного диагностирования у женщины диабета беременных, гипертензии, содержания холестерина HDL ниже по меньшей мере  $0,9 \text{ ммоль/л}$  ( $35 \text{ мг/дл}$ ), содержания триглицерида по меньшей мере  $2,82 \text{ ммоль/л}$  ( $250 \text{ мг/дл}$ ) или выше, синдрома поликистоза яичника у женщины, тяжелого ожирения, acanthosis nigricans и сердечно-сосудистого заболевания.

Согласно другому аспекту в настоящем документе описывается способ лечения или предупреждения ожирения у млекопитающего, включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата млекопитающему.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ снижения содержания глюкозы в крови млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутотаксина со снижением тем самым содержания глюкозы в крови млекопитающего. Кроме того, представлен способ предупреждения или замедления проявления повышенного содержания глюкозы в крови у млекопитающего с риском развития повышенного содержания глюкозы, при этом способ включает введение млекопитающему ингибитора аутотаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления млекопитающее имеет повышенное содержание глюкозы в крови. Согласно некоторым вариантам осуществления способ включает измерение содержания глюкозы в крови млекопитающего. Согласно некоторым вариантам осуществления способ включает отбор млекопитающего, имеющего повышенное содержание глюкозы в крови. Измеренное содержание глюкозы в крови предусматривает содержание глюкозы в крови натощак, содержание глюкозы в крови после еды, содержание глюкозы в цельной крови и содержание глюкозы в плазме крови. Согласно некоторым вариантам осуществления

содержание глюкозы в крови снижается ниже 200 мг/дл, 175 мг/дл, 150 мг/дл, 125 мг/дл, 120 мг/дл, 115 мг/дл, 110 мг/дл, 105 мг/дл или 100 мг/дл после лечения ингибитором аутоаксина.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ снижения содержания лизофосфатидной кислоты в плазме млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоаксина и снижение тем самым содержания лизофосфатидной кислоты в плазме млекопитающего. Согласно некоторым вариантам осуществления млекопитающее имеет повышенное содержание глюкозы в крови. Согласно некоторым вариантам осуществления млекопитающее является резистентным к инсулину.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ улучшения чувствительности к инсулину, замедления проявления резистентности к инсулину и/или усиления секреции инсулина у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоаксина и улучшение тем самым резистентности к инсулину у млекопитающего.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ улучшения толерантности к глюкозе у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоаксина и улучшение тем самым толерантности к глюкозе.

Согласно одному аспекту в настоящем документе описывается способ уменьшения разрастания жировой ткани у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоаксина и уменьшение тем самым разрастания жировой ткани у млекопитающего. Согласно некоторым вариантам осуществления млекопитающее имеет повышенное содержание глюкозы в крови. Согласно некоторым вариантам осуществления млекопитающее является резистентным к инсулину.

Согласно какому-либо из вышеупомянутых представлены дополнительные варианты осуществления, в которых эффективное количество ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли (a) вводят млекопитающему системно; и/или (b) вводят млекопитающему перорально; и/или (c) вводят млекопитающему внутривенно; и/или (d) вводят ингаляцией; и/или (e) вводят путем назального введения; и/или (f) вводят млекопитающему инъекцией; и/или (g) вводят млекопитающему местным путем; и/или (h) вводят путем глазного введения; и/или (i) вводят млекопитающему ректально; и/или (j) вводят млекопитающему несистемно или локально.

Согласно какому-либо из вышеупомянутых аспектов представлены дополнительные варианты осуществления, предусматривающие однократные введения эффективного количества ингибитора аутоаксина, в том числе дополнительные варианты

осуществления, при которых ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему один раз в сутки или ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему несколько раз в течение одних суток. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина вводят по схеме непрерывного введения дозы. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина вводят по схеме непрерывного ежесуточного введения дозы.

Согласно любому из вышеупомянутых аспектов, включающих в себя лечение зависимых от аутоаксина заболеваний или состояний, дополнительные варианты осуществления включают введение по меньшей мере одного дополнительного средства в дополнение к введению ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли. Согласно различным вариантам осуществления каждое средство вводят в любом порядке, в том числе одновременно.

Согласно любому из раскрываемых в настоящем документе вариантов осуществления млекопитающим является человек.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибиторы аутоаксина, представленные в настоящем документе, вводят человеку.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибиторы аутоаксина, представленные в настоящем документе, вводят перорально.

Представлены изделия, которые включают в себя упаковочный материал, ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль в упаковочном материале и этикетку, на которой указывается, что ингибитор аутоаксина или его композицию, или фармацевтически приемлемую соль, таутомеры, фармацевтически приемлемый N-оксид, фармацевтически активный метаболит, фармацевтически приемлемое пролекарство или фармацевтически приемлемый сольват используют для ингибирования активности аутоаксина или для лечения, предупреждения или ослабления одного или нескольких симптомов заболевания или состояния, при которых будет полезно ингибирование активности аутоаксина.

Другие цели, признаки и преимущества ингибиторов аутоаксина, способов и композиций, описываемых в настоящем документе, станут очевидными из следующего подробного описания. Однако следует учитывать, что подробное описание и конкретные примеры с указанием конкретных вариантов осуществления приводятся исключения с иллюстративной целью, поскольку различные изменения и модификации в предмете и объеме настоящего раскрытия станут понятными специалисту в данной области из подробного описания.

### **Краткое описание графических материалов**

На **фиг. 1** представлено содержание гидроксипролина в кожных биоптатах от инъекцированных PBS или инъекцированных блеомицином мышей, обработанных ингибитором аутотаксина. Соединение А ослабляет кожный фиброз при введении дозы профилактически (проф.) или терапевтически (тер.) на мышинной модели подкожного блеомицина.

На **фиг. 2** представлено содержание гидроксипролина в нелигированных и лигированных почках мышей UUO после профилактической (А) или терапевтической (В) обработки ингибитором аутотаксина. Соединение А ослабляет почечный фиброз при введении дозы профилактически (А) или терапевтически (В) на мышинной модели UUO.

На **фиг. 3** представлено содержание гидроксипролина в мышинной брюшине от инъекцированных средой-носителем или хлоргексидина глюконатом мышей, обработанных ингибитором аутотаксина. Соединение А ослабляет перитонеальный фиброз при введении дозы профилактически на мышинной модели хлоргексидина глюконата.

На **фиг. 4** представлен процент площади положительного окрашивания PSR в печени получавших CDAA/HFD мышей, обработанных терапевтически средой-носителем или ингибиторами аутотаксина. Соединение А и соединение В ослабляют печеночный фиброз при введении дозы терапевтически на мышинной модели CDAA/HFD.

### **Подробное раскрытие настоящего изобретения**

#### **Аутотаксин и LPA**

Аутотаксин (АТХ, NPP2 или ENPP2), гликопротеин приблизительно 120 кДа, представляет собой секретируемую нуклеотидпирофосфатазу/фосфодиэстеразу (NPP) с активностью лизофосфолипазы D, которая превращает внеклеточный лизофосфатидилхолин (LPC) и другие лизофосфолипиды в лизофосфатидную кислоту (LPA). Считают, что аутотаксин отвечает за большую часть продуцирования циркулирующей LPA.

LPA действует через ряды специфических соединений с белком G рецепторов (GPCR), таких как LPA1, LPA2, LPA3, LPA4, LPA5, LPA6, LPA7, LPA8, аутокринным и паракринным образом с получением ряда биологических ответов. Например, лизофосфолипиды, такие как LPA, как известно, нарушают такие биологические функции как пролиферация, дифференцировка, выживаемость, миграция, адгезия, инвазия и морфогенез клеток. Кроме того, известно, что LPA, играет роль в таких процессах как

активация тромбоцитов, сокращение гладких мышц, образование актинового стрессорного волокна и миграция клеток.

Аутотаксин и LPA были выявлены в различных биологических жидкостях, таких как сыворотка крови, плазма, цереброспинальная жидкость, семенная жидкость, моча и слюна, как у животных, так и у людей, что подтверждает то, что они являются потенциальными биомаркерами для прогнозирования определенных заболеваний. Например, концентрация и активность аутотаксина в сыворотке крови повышаются у больных хроническими заболеваниями печени и у беременных женщин. Согласно другому примеру активность аутотаксина повышается в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных рецидивирующим/ремиттирующим рассеянным склерозом по сравнению с больными другими неврологическими заболеваниями. Кроме того, аутотаксин, как известно, важен для нормального развития. Например, мышцы с дефицитом аутотаксина умирают на 9,5 сутки эмбриональной стадии с глубокими сосудистыми дефектами как в желточном мешке, так и в эмбрионе. Кроме того, выяснили, что на 9,5 сутки эмбриональной стадии эмбрионы с дефицитом аутотаксина имеют деформированный аллантаис, дефекты нервной трубки и асимметричные головные складки.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены способы применения ингибиторов аутотаксина и фармацевтических композиций, содержащих ингибиторы аутотаксина, для предупреждения и/или лечения состояния, заболевания или нарушения, ассоциированного с активностью аутотаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления способы, раскрываемые в настоящем документе, включают введение ингибитора аутотаксина субъекту с заболеванием, состоянием или нарушением, описываемым в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления способы, раскрываемые в настоящем документе, включают введение ингибитора аутотаксина субъекту, у которого предполагается или развивается заболевание, состояние или нарушение, описываемое в настоящем документе.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены способы лечения или предупреждения одного или нескольких признаков, симптомов или осложнений у субъекта в результате заболевания, состояния или нарушения, описываемых в настоящем документе, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены способы предупреждения состояния, заболевания или нарушения, ассоциированного с активностью аутотаксина, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина в комбинации с другим профилактическим терапевтическим средством.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены способы лечения состояния, заболевания или нарушения, ассоциированного с активностью аутотаксина, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина в комбинации с другим методом лечения.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены способы ослабления, обращения и/или ингибирования признака, симптома или осложнения состояния, заболевания или нарушения, ассоциированного с активностью аутотаксина, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина.

Согласно одному аспекту в настоящем документе представлены способы ослабления, обращения и/или прекращения признака, симптома или осложнения состояния, заболевания или нарушения, ассоциированного с активностью аутотаксина, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутотаксина или введение фармацевтической композиции, содержащей ингибитор аутотаксина, описываемый в настоящем документе, включает введение ингибитора аутотаксина при терапевтически эффективной дозе. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтически эффективная доза составляет от приблизительно 0,01 мг до 5000 мг. Например, терапевтическая доза составляет от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 5000 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 1000 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 1000 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 10 мг или равняется любому целому числу между вышеупомянутыми значениями. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтически эффективную дозу вводят постоянно. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтически эффективную дозу вводят 4 раза в сутки, 3 раза в сутки, 2 раза в сутки, один раз в сутки, 6 раз в неделю, 5 раз в неделю, 4 раза в неделю, 3 раза в неделю, два раза в неделю, один раз в неделю или реже. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина вводят в течение терапевтически эффективного промежутка времени в любом из способов, описываемых в настоящем документе, включающих введение ингибитора аутотаксина или фармацевтической композиции, содержащей ингибитор аутотаксина. В некоторых случаях терапевтически эффективный промежуток времени представляет собой время, затрачиваемое на снижение или устранение одного или нескольких признаков или симптомов заболевания, состояния или нарушения, описываемого в настоящем

документе. Например, терапевтически эффективный промежуток времени составляет от 1 суток до 1 года. Примеры вышеупомянутой терапевтической дозировки не являются ограничивающими. Дополнительные терапевтические режимы дополнительно описываются в других разделах настоящего документа.

### **Фиброз**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения фиброза ингибитором аутотаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы предупреждения фиброза ингибитором аутотаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы ослабления, обращения или ингибирования признака или симптома фиброза.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутотаксина субъекту с фиброзом. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутотаксина субъекту, восприимчивому к фиброзу.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы уменьшения фиброза в ткани, включающие введение в контакт фиброзной клетки или ткани с ингибитором аутотаксина в количестве, достаточном для снижения и/или ингибирования фиброза. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброз включает в себя фиброзное состояние. В некоторых случаях количество, достаточное для снижения и/или ингибирования фиброза, является терапевтически эффективным количеством.

Согласно некоторым вариантам осуществления уменьшение фиброза или лечение фиброзного состояния включает в себя снижение или ингибирование одного или нескольких из образования или отложения белков внеклеточного матрикса; числа типов профиброзных клеток (например, числа фибробластов или иммунных клеток); содержания клеточного коллагена или гидроксипролина в фиброзном очаге; экспрессии или активности фиброгенного белка; уменьшения фиброза, ассоциированного с воспалительным ответом или их комбинации.

Используемый в настоящем документе термин «фиброз» относится к накоплению компонентов внеклеточного матрикса, которые появляются после травмы, воспаления, регенерации ткани, иммунологических реакций, клеточной гиперплазии и/или неоплазии. Примеры фиброза ткани включают в себя без ограничения легочный фиброз, почечный

фиброз, фиброз сердца, цирроз и фиброз печени, глазной фиброз, кожные рубцы и келоиды, почечный фиброз, перитонеальный фиброз, спайки, фиброматоз, атеросклероз и амилоидоз.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние является первичным фиброзом. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние является идиопатическим. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние ассоциируется (например, является вторичным по отношению к заболеванию) с заболеванием (например, инфекционным заболеванием, воспалительным заболеванием, аутоиммунным заболеванием, злокачественным или раковым заболеванием и/или заболеванием соединительной ткани); токсином; повреждающим фактором (например, вредным воздействием окружающей среды (например, асбест, угольная пыль, полициклические ароматические углеводороды), курением сигарет, ранением); медицинским лечением (например, хирургическим разрезом, химиотерапией или облучением) или их комбинацией.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние легкого, фиброзное состояние печени, фиброзное состояние сердца или сосудистой сети, фиброзное состояние почки, фиброзное состояние кожи, фиброзное состояние желудочно-кишечного тракта, фиброзное состояние глаза, фиброзное состояние костного мозга или кроветворной ткани, фиброзное состояние нервной системы, фиброзное состояние брюшины или их комбинация.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние поражает ткань, выбранную из одной или нескольких из мышцы, сухожилия, хряща, кожи (например, кожного эпидермиса или эндодермиса), ткани сердца, ткани сосудов (например, артерий, вен), ткани поджелудочной железы, легочной ткани, ткани печени, ткани почки, ткани матки, ткани яичника, нервной ткани, ткани яичка, перитонеальной ткани, толстой кишки, тонкого кишечника, желчных путей, кишечника, костного мозга или кроветворной ткани.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние печени. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние печени выбрано из одного или нескольких из жировой болезни печени, стеатоза (например, неалкогольного стеатогепатита (NASH)), холестатического заболевания печени (например, первичного билиарного цирроза (PBC)), цирроза, вызванного алкоголем печеночного фиброза, повреждения желчных протоков, фиброза желчных протоков, холестаза или холангиопатий. Согласно некоторым вариантам осуществления гепатический или печеночный фиброз включает в себя без ограничения гепатический

фиброз, ассоциированный с алкоголизмом, вирусной инфекцией, например, гепатитом (например, гепатитом С, В или D), аутоиммунным гепатитом, неалкогольной жировой болезнью печени (NAFLD), прогрессирующим массивным фиброзом и воздействием токсинов или раздражителей (например, спирта, фармацевтических лекарственных средств и окружающих токсинов).

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения или предупреждения фиброза печени у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту. В некоторых случаях фиброз является хроническим или острым. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина приводит к ослаблению, задерживанию или предупреждению признака, симптома и/или осложнения печеночного фиброза. Например, способ ослабляет, задерживает или предупреждает проявление цирроза, печеночной недостаточности, портальной гипертензии и/или их осложнений. Типичные осложнения цирроза включают в себя асцит, почечную недостаточность, печеночную энцефалопатию и варикозное кровотечение. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина ингибирует накопление фиброгенных клеток и/или предупреждает отложение белков внеклеточного матрикса (например, коллагена) в печени. Ингибиторы аутоаксина, используемые в способе, представленном в настоящем документе, применимы для лечения печеночного фиброза, вызванного любой причиной повреждения печени. Примеры причин печеночного фиброза включают в себя без ограничения вирусную инфекцию (например, гепатит С), аутоиммунный гепатит, наследственный гепатический фиброз, бактериальную инфекцию (например, бруцеллез), паразитарную инфекцию (например, эхинококкоз), злоупотребление алкоголем, первичный склерозирующий холангит, лекарственные средства (например, амиодарон, хлорпромаксин, изониазид, метотрексат, метилдопа, оксифенисатин, толбутамид), механическое препятствие (например, хирургическое вмешательство), неалкогольный стеатогепатит (NASH) и их комбинации.

В некоторых случаях в настоящем документе описываются способы обращения фиброза или регрессию фиброза печени у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту.

Согласно некоторым вариантам осуществления любой способ, представленный в настоящем документе, включающий введение ингибитора аутоаксина, кроме того, включает введение одного или нескольких дополнительных противофиброзных терапевтических средств. Дополнительные противофиброзные терапевтические средства включают в себя, например, введение ингибитора ангиотензина, колхицина,

кортикостероида, ингибитора эндотелина, интерферона-альфа, интерлейкина 10, антиоксиданта, ингибитора звездчатых клеток печени (HSC) или их комбинации.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние почки. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние почки выбрано из одного или нескольких из почечного фиброза (например, хронического почечного фиброза), нефропатий, ассоциированных с повреждением/фиброзом (например, хронических нефропатий, ассоциированных с сахарным диабетом (например, диабетическая нефропатия)), волчанки, склеродермии почки, гломерулярного нефрита, фокально-сегментарного гломерулосклероза, почечного фиброза при нефропатии IgA-типа, ассоциированной с хроническим почечным заболеванием (СКД) человека, хронической прогрессирующей нефропатии (CPN), тубулоинтерстициального фиброза, закупорки мочеточника, хронической уремии, хронического интерстициального нефрита, радиационной нефропатии, гломерулосклероза, прогрессирующего гломерулонефроза (PGN), эндотелиального/тромботического микроангиопатического поражения, HIV-ассоциированной нефропатии или фиброза, ассоциированного с воздействием токсина, раздражителя или химиотерапевтического средства.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения или предупреждения фиброза почки у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоксина субъекту. В некоторых случаях введение ингибитора аутоксина субъекту ослабляет, замедляет или ингибирует прогрессирование почечного фиброза. В некоторых случаях введение ингибитора аутоксина приводит к ослаблению, замедлению или предупреждению признака, симптома и/или осложнения почечного фиброза. В некоторых случаях введение ингибитора аутоксина снижает накопление внеклеточного матрикса или скорость накопления внеклеточного матрикса в почке. В некоторых случаях почечный фиброз является результатом острого или хронического, устойчивого поражения ткани почки. В некоторых случаях почечный фиброз характеризуется гломерулосклерозом. В некоторых случаях почечный фиброз характеризуется тубулоинтерстициальным фиброзом.

В некоторых случаях в настоящем документе описываются способы обращения фиброза или регрессии фиброза почки у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоксина субъекту.

Согласно некоторым вариантам осуществления любой способ, представленный в настоящем документе, включающий введение ингибитора аутоксина, кроме того, включает введение одного или нескольких дополнительных терапевтических средств

против фиброза и/или почечного заболевания. Дополнительное терапевтическое средство предусматривает, например, ингибирование передачи сигнала профиброзного TGF- $\beta$ /Smad. Согласно другому примеру дополнительное терапевтическое средство предусматривает повышение концентрации противофиброзных факторов в почке, например, фактора роста гепатоцитов (HGF) и костного морфогенетического белка-7 (BMP-7), которые могут антагонизировать фиброгенное действие TGF- $\beta$ . Типичные противофиброзные терапевтические средства также включают в себя без ограничения введение одного или нескольких из пирфенидона (5-метил-N-фенил-2-(1H)-пиридона), траниласта, фторфенидона, блокады ренин-ангиотензин-альдостерона, ингибиторов ACE, ингибиторов ADAM и моноклонального антитела против CTGF.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние кожи. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние кожи выбрано из одного или нескольких из кожного фиброза, склеродермии, нефрогенного системного фиброза (например, в результате воздействия гадолиния, который часто используют в качестве контрастного вещества для MRI у больных тяжелой почечной недостаточностью), рубцевания и келоида.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения или предупреждения фиброза кожи у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина субъекту ослабляет, замедляет или ингибирует прогрессирование фиброза кожи. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина приводит к ослаблению, замедлению или предупреждению признака, симптома и/или осложнения фиброза кожи. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина снижает накопление внеклеточного матрикса или скорость накопления внеклеточного матрикса в коже. В некоторых случаях фиброз кожи является результатом острого или хронического, устойчивого поражения ткани кожи.

Согласно некоторым вариантам осуществления после введения ингибитора аутоаксина субъекту с фиброзом кожи толщина фиброзной кожи уменьшается. Например, введение ингибитора аутоаксина уменьшает толщину фиброзной кожи по меньшей мере на приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40% или 50% по сравнению с толщиной кожи до введения ингибитора аутоаксина.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы обращения фиброза или регрессию фиброза кожи субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту.

Согласно некоторым вариантам осуществления любой способ, представленный в настоящем документе, включающий введение ингибитора аутоаксина, кроме того, включает введение одного или нескольких дополнительных терапевтических средств против фиброза и/или кожного заболевания. Терапевтические средства против фиброза кожи включают в себя без ограничения введение D-пенициллина, бычьего коллагена, метотрексата, микофенолата мофетила, человеческого релаксина, интерферона-альфа, антител против трансформирующего ростового фактора бета или их комбинации.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние глаза. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние глаза выбрано из одного или нескольких из глаукомы, субретинального фиброза, возрастной дегенерации желтого пятна (ARMD), диабетической ретинопатии (DR), ретинопатии недоношенных (ROP), фиброза после офтальмологического хирургического вмешательства (хирургического вмешательства по поводу глаукомы, хирургического вмешательства по поводу катаракты, хирургического вмешательства LASIK).

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения или предупреждения фиброза глаза у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина субъекту ослабляет, замедляет или ингибирует прогрессирование глазного фиброза. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина приводит к ослаблению, замедлению или предупреждению признака, симптома и/или осложнения глазного фиброза. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина снижает накопление внеклеточного матрикса или скорость накопления внеклеточного матрикса в глазу. В некоторых случаях глазной фиброз является результатом острого или хронического, устойчивого повреждения ткани глаза.

Согласно некоторым вариантам осуществления после введения ингибитора аутоаксина субъекту с глазным фиброзом, степень фиброза глаза снижается. Например, введение ингибитора аутоаксина уменьшает фиброз фильтрационной подушки после трабекулэктомического хирургического вмешательства и снижает частоту неэффективности фильтрационной подушки из-за фиброза на приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40% или 50% по сравнению с больными, не получавшими лечения ингибитором аутоаксина.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы обращения фиброза или регрессии фиброза глаза у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту.

Согласно некоторым вариантам осуществления любой способ, представленный в настоящем документе, включающий введение ингибитора аутоаксина, кроме того, включает введение одного или нескольких дополнительных терапевтических средств против фиброза и/или глазного заболевания. Терапевтические средства против глазного фиброза включают в себя без ограничения введение митомицина, 5-фторурацила, кортикостероидов, антибиотиков, антител против трансформирующего ростового фактора бета или их комбинации.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние брюшины. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения или предупреждения фиброза брюшины у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина субъекту ослабляет, замедляет или ингибирует прогрессирование перитонеального фиброза. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина приводит к ослаблению, замедлению или предупреждению признака, симптома и/или осложнения перитонеального фиброза. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина снижает накопление внеклеточного матрикса или скорость накопления внеклеточного матрикса в брюшине.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброз брюшины вызывается длительным перитонеальным диализом. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина вводят субъекту с перитонитом. Согласно некоторым вариантам осуществления перитонеальный фиброз вызывается одним или несколькими из следующих повреждающих факторов: бионесовместимые диализаты, перитонит, уремия и/или хроническое воспаление.

В некоторых случаях в настоящем документе описываются способы обращения фиброза или регрессии фиброза брюшины у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту.

Согласно некоторым вариантам осуществления любой способ, представленный в настоящем документе, включающий введение ингибитора аутоаксина, кроме того, включает введение противовоспалительного средства или иммуносупрессанта.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние желудочно-кишечного тракта. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние выбрано из одного или нескольких из фиброза, ассоциированного со склеродермией; индуцированного облучением фиброза кишки; фиброза, ассоциированного с воспалительным нарушением передней части пищеварительного тракта, таким как пищевод Барретта и хронический гастрит, и/или

фиброза, ассоциированного с воспалительным нарушением нижней части кишечника, таким как воспалительное заболевание кишечника (IBD), язвенный колит и болезнь Крона.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние легкого. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние легкого выбрано из одного или нескольких из легочного фиброза, идиопатического легочного фиброза (IPF), обычного интерстициального пневмонита (UIP), интерстициального легочного заболевания, криптогенного фиброзирующего альвеолита (CFA), облитерирующего бронхиолита или бронхоэктаза. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброз легкого является вторичным по отношению к заболеванию, токсину, повреждающему фактору, терапевтическому лечению или их комбинации. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброз легкого ассоциируется с одним или несколькими из патологического процесса, такого как асбестоз и силикоз; вредного фактора на производстве; загрязнения окружающей среды; курения сигарет; аутоиммунных нарушений соединительной ткани (например, ревматоидный артрит, склеродермия и системная красная волчанка (SLE)); нарушения соединительной ткани, такого как саркоидоз; инфекционного заболевания, например, инфекции, в частности, хронической инфекции; терапевтического лечения, в том числе без ограничения лучевой терапии и лекарственной терапии, например, химиотерапии (например, лечение блеомицином, метотрексатом, амиодароном, бусульфаном и/или нитрофурантоином). Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние легкого, которое лечат способами в соответствии с настоящим изобретением, ассоциируется (например, является вторичным по отношению к лечению) с противораковым лечением, например, лечением злокачественной опухоли (например, плоскоклеточной карциномы, злокачественной опухоли яичка, болезни Ходжкина блеомицином).

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние сердца. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием сердца является миокардиальный фиброз (например, миокардиальный фиброз, ассоциированный с радиационным миокардитом, осложнением после хирургической процедуры (например, миокардиальный послеоперационный фиброз), инфекционными заболеваниями (например, болезнь Шагаса, бактериальный, трихинеллезный или грибковый миокардит)); гранулематозные нарушения, нарушения метаболического накопления (например, кардиомиопатия, гемохроматоз); нарушения развития (например, субэндокардиальный фиброэластоз); артериосклеротическое заболевание или воздействие

токсинов или раздражителей (например, индуцированная лекарственным средством кардиомиопатия, индуцированная лекарственным средством кардиотоксичность, алкогольная кардиомиопатия, отравление кобальтом или воздействие такового). Согласно некоторым вариантам осуществления миокардиальный фиброз ассоциируется с воспалительным нарушением ткани сердца (например, миокардиальный саркоидоз).

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием являются спайки. Согласно некоторым вариантам осуществления спайки выбраны из одного или нескольких из абдоминальных спаек, перитонеальных спаек, тазовых спаек, перикардиальных спаек, перидуральных спаек, околосужильных спаек или адгезивного капсулита.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние глаза. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние глаза включает в себя заболевания переднего сегмента глаза, такие как глаукома и помутнение роговицы; согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние глаза включает в себя заболевание заднего сегмента глаза, такое как возрастная дегенерация желтого пятна, диабетическая ретинопатия, ретинопатия недоношенных и неоваскулярная глаукома; согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние глаза является следствием фиброза после глазного хирургического вмешательства.

Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзным состоянием является фиброзное состояние костного мозга или кроветворной ткани. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброзное состояние костного мозга является неотъемлемым признаком хронической миелопролиферативной неоплазии костного мозга, такой как первичный миелофиброз (также называемый в настоящем документе агногенной миелоидной метаплазией или хроническим идиопатическим миелофиброзом). Согласно некоторым вариантам осуществления фиброз костного мозга ассоциируется (например, является вторичным по отношению к) со злокачественным состоянием или состоянием, вызванным клональным пролиферативным заболеванием. Согласно некоторым вариантам осуществления фиброз костного мозга ассоциируется с гематологическим нарушением (например, гематологическим нарушением, выбранным из одного или нескольких из истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии, миелодисплазии, волосатоклеточного лейкоза, лимфомы (например, лимфомы Ходжкина или неходжкинской лимфомы), множественной миеломы или хронического миелогенного лейкоза (СМЛ)). Согласно некоторым вариантам осуществления фиброз костного мозга ассоциируется (например, является вторичным по отношению к) с негематологическим

нарушением (например, негематологическим нарушением, выбранным из метастазиса солидной опухоли в костный мозг), аутоиммунным нарушением (например, системной красной волчанкой, склеродермией, смешанным нарушением соединительной ткани или полимиозитом), инфекцией (например, туберкулезом) или вторичным гиперпаратиреоидизмом, ассоциированным с дефицитом витамина D.

### **Колит**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения колита ингибитором аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы предупреждения колита ингибитором аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы ослабления, обращения или ингибирования признака или симптома колита.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутоаксина субъекту с колитом. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутоаксина субъекту, восприимчивому к колиту.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы уменьшения колита в ткани, при этом способы включают введение в контакт ткани с ингибитором аутоаксина в количестве, достаточном для снижения или ингибирования колита. В некоторых случаях количество, достаточное для снижения и/или ингибирования колита, является терапевтически эффективным количеством.

Используемый в настоящем документе термин «колит» относится к воспалению ткани толстой кишки. Колит включает в себя острый, самокупирующийся и хронический колит. Колит включает в себя аутоиммунный колит, идиопатический колит, ятрогенный колит, сосудистое заболевание и инфекционный колит. Аутоиммунные типы колита включают в себя воспалительное заболевание кишечника и язвенный колит. Идиопатические типы колита включают в себя микроскопический колит, лимфоцитарный колит и коллагенозный колит. Ятрогенные типы колита включают в себя колит отключенной кишки и химический колит. Колит, вызываемый сосудистым заболеванием, включает в себя ишемический колит. Инфекционный колит включает в себя колит, вызванный *Clostridium difficile*, *Shigella dysenteriae* или шига-токсигенной группой *Escherichia coli*. Согласно некоторым вариантам осуществления колит включает в себя язвенный колит.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения колита у субъекта путем введения ингибитора аутотаксина субъекту. Согласно некоторым вариантам осуществления один или несколько признаков или симптомов колита уменьшаются у субъекта после введения ингибитора аутотаксина. Признаки или симптомы колита включают в себя без ограничения абдоминальную боль, потерю аппетита, усталость, диарею, слизь в стуле, спазмы, императивный позыв к мочеиспусканию, вздутие, чувствительность в области живота, потерю веса, изменения ритма опорожнения кишечника, такие как повышение частоты, лихорадку, кровотечение, кровянистый стул, вздутие живота, эритему слизистой оболочки толстой кишки и язвы.

Согласно некоторым вариантам осуществления после введения ингибитора аутотаксина субъекту с колитом у субъекта наблюдается улучшение клинических признаков, симптомов или гистопатологии колита. Согласно одному примеру после введения ингибитора аутотаксина воспаление толстой кишки уменьшается. Согласно другому примеру после введения ингибитора аутотаксина поражение ткани обращается. Согласно другому примеру после введения ингибитора аутотаксина прогрессирование поражения ткани ослабляется. Согласно следующему примеру после введения ингибитора аутотаксина поражение ткани ингибируется. Поражение ткани может быть визуализировано, например, с помощью гистологии с использованием красителя, такого как трехцветный краситель (по Массону).

Согласно некоторым вариантам осуществления после введения ингибитора аутотаксина субъекту с язвенным колитом, площадь язвы уменьшается, например, по меньшей мере на приблизительно 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 50%, 90%, 99% своего размера до введения ингибитора аутотаксина. Согласно другому примеру после введения ингибитора аутотаксина площадь язвы по меньшей мере приблизительно в 2 раза, 3 раза или 5 раз меньше по размеру, чем до введения ингибитора аутотаксина или по сравнению с введением контроля.

Согласно некоторым вариантам осуществления после введения ингибитора аутотаксина субъекту с колитом масса тела субъекта не повышается или не снижается более чем на приблизительно 2%, 5% или 10%.

Согласно некоторым вариантам осуществления после введения ингибитора аутотаксина субъекту с колитом у субъекта улучшается консистенция стула.

Согласно некоторым вариантам осуществления субъекта с колитом лечат путем введения ингибитора аутотаксина и одного или нескольких дополнительных терапевтических средств. Дополнительные терапевтические средства включают в себя

гидратационную терапию и введение стероида, противовоспалительного средства и/или иммуносупрессанта. Согласно одному примеру дополнительным лечением является циклоспорин А (CsA). Согласно другому примеру дополнительным лечением является сульфасалазин.

Согласно некоторым вариантам осуществления животной модели с индуцированным колитом (например, DSS-индуцированным колитом или DNBS-индуцированным колитом) вводят (профилактически или терапевтически) ингибитор аутоаксина; при этом после введения ингибитора аутоаксина у животного наблюдают повышение длины толстой кишки, повышение массы толстой кишки или повышение как длины, так и массы толстой кишки. Например, после введения ингибитора аутоаксина мыши или крысе с индуцированным колитом длина толстой кишки повышается по меньшей мере на приблизительно 0,1 см, 0,2 см, 0,3 см, 0,4 см, 0,5 см, 1 см, 2 см или 3 см по сравнению с введением среды-носителя или контроля. Согласно другому примеру после введения ингибитора аутоаксина мыши или крысе с индуцированным колитом масса толстой кишки повышается по меньшей мере на приблизительно 0,05 г по сравнению с введением среды-носителя или контроля. Согласно некоторым вариантам осуществления после обработки ингибитором аутоаксина мыши или крысы с индуцированным колитом у мыши или крысы наблюдают снижение площади язвы по меньшей мере на приблизительно 10%, 20%, 50% или 90% по сравнению с площадью язвы до введения. Согласно некоторым вариантам осуществления после обработки ингибитором аутоаксина мыши или крысы с индуцированным колитом у мыши или крысы наблюдают снижение площади язвы на приблизительно 90%, 80%, 70%, 50%, 20% или 10% по сравнению с площадью язвы у необработанной или контрольной мыши или крысы с индуцированным колитом.

### **Зуд**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения зуда ингибитором аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы предупреждения зуда ингибитором аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы ослабления, обращения или ингибирования по меньшей мере одного признака или симптома зуда.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутоаксина субъекту с зудом. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются

способы, включающие введение ингибитора аутоаксина субъекту, восприимчивому к зуду.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы снижения зуда в ткани, при этом способы включают введение в контакт ткани с ингибитором аутоаксина в количестве, достаточном для уменьшения или ингибирования зуда.

Зуд представляет собой состояние, включающее в себя локализованное или общее чесывание, которое является общим и стрессогенным симптомом при ряде заболеваний. Хотя обычно возникает в коже, зуд также может возникать на отличных от кожи участках, таких как слизистые оболочки. Зуд является частым проявлением локализованного кожного нарушения, вызванного реакциями гиперчувствительности, такими как аллергические реакции на укусы насекомых или на окружающие аллергены, крапивницей, дерматозом грибкового и бактериального происхождения, эктопаразитарными инфекциями и геморроидальными узлами. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрывается способ лечения зуда, вызванного системными заболеваниями, в том числе, например, гипотиреозом, тиреотоксикозом, мукокандиозом при сахарном диабете и болезнью Ходжкина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения приступов постоянного или рецидивного зуда, ассоциированного со многими системными заболеваниями и кожными нарушениями. Зуд включает в себя без ограничения почечный зуд, холестатический зуд, гематологический зуд и эндокринный зуд.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения зуда, ассоциированного с заболеваниями печени и внутрипеченочным или постгепатитным холестазом. Печеночные заболевания, приводящие к зуду, включают в себя первичный билиарный цирроз, вирусный гепатит В и С, первичный склерозирующий холангит, карциному желчных протоков, алкогольный цирроз, аутоиммунный гепатит и другие.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения зуда, возникающего по ряду причин, таких как ксероз, кожные состояния (такие как псориаз, экзема, солнечный ожог, атлетическая стопа), укусы насекомых, ядовитые растения (такие как ядовитый плющ, ядовитый дуб, сумах ядовитый), болезнь Ходжкина, желтуха, полицитемия, чесотка, вши, гельминты, болезнь щитовидной железы, сахарный диабет, перхоть, анемия, вызванная недостаточностью железа, паразитарные инфекции, медикаменты, холестаза, зуд, связанный с беременностью, инфекция HIV, другие причины чесывания или зуда или их комбинации.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения или предупреждения зуда у субъекта при необходимости этого, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутотаксина снижает зуд по меньшей мере на приблизительно 10%, 20%, 30%, 50% или 90%.

Согласно некоторым вариантам осуществления после введения ингибитора аутотаксина субъекту с зудом у субъекта сокращается общее число почесывающих движений по сравнению с числом почесываний до введения ингибитора аутотаксина. Например, почесывающие движения сокращаются по меньшей мере на приблизительно 10%, 20%, 50% или 90%. Согласно некоторым вариантам осуществления зуд предупреждают или лечат путем введения ингибитора аутотаксина и одного или нескольких дополнительных противозудных терапевтических средств или терапевтических средств. Противозудные терапевтические средства включают в себя без ограничения применение кремов и лосьонов для кожи с целью предупреждения сухости кожи и применение антигистамина, стероида или антибиотика. Противозудные терапевтические средства включают в себя доксепин, митразапин, габапентин, апрепитант, капсаицин, такролимус, гамма-линоленовую кислоту, холестирамин, рифампин, опиоидный антагонист, ондансетрон и активированный уголь.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы предупреждения или лечения почечного зуда у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы предупреждения или лечения холестатического зуда у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы предупреждения или лечения гематологического зуда у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы предупреждения или лечения эндокринного зуда у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту.

### **Неврологические заболевания**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения неврологического заболевания, состояния или нарушения ингибитором аутотаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы предупреждения неврологического заболевания,

состояния или нарушения ингибитором аутотаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы ослабления, обращения или ингибирования признака или симптома неврологического заболевания, состояния или нарушения.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутотаксина субъекту с неврологическим заболеванием, состоянием или нарушением. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутотаксина субъекту, восприимчивому к неврологическому заболеванию, состоянию или нарушению.

Согласно некоторым вариантам осуществления неврологическим заболеванием является рассеянный склероз. В некоторых случаях неврологическое заболевание вызвано генетическим нарушением. В некоторых случаях неврологическое заболевание связано с развитием, например, спина бифида. В некоторых случаях неврологическим заболеванием является дегенеративное заболевание, например, болезнь Паркинсона или болезнь Альцгеймера. В некоторых случаях неврологическое заболевание является результатом инсульта. Неврологические заболевания, состояния и нарушения или характерные особенности неврологических заболеваний, состояний и нарушений, для которых подходит лечение ингибитором АТХ, включают в себя без ограничения боковой амиотрофический склероз (ALS), артериовенозные мальформации (AVM), аневризму головного мозга, опухоль головного мозга, дуральную артериовенозную фистулу, эпилепсию, головную боль, нарушения памяти, болезнь Паркинсона, периферическую невропатию, постгерпетическую невралгию, опухоль спинного мозга и инсульт. В некоторых случаях активность аутотаксина повышается в CSF (цереброспинальной жидкости) и сыворотке крови у больных рецидивным/ремиттирующим рассеянным склерозом по сравнению с больными другими неврологическими заболеваниями.

Согласно некоторым вариантам осуществления рассеянным склерозом является рецидивный-ремиттирующий рассеянный склероз, рецидивный рассеянный склероз, первично-прогрессирующий рассеянный склероз или вторично-прогрессирующий рассеянный склероз.

Согласно некоторым вариантам осуществления рассеянным склерозом является рецидивный-ремиттирующий рассеянный склероз (RRMS). Люди с таким типом MS имеют четко определяемые приступы ухудшения неврологической функции. За такими приступами следуют периоды частичного или полного восстановления, называемые ремиссиями. Во время ремиссии симптомы часто улучшаются, и не наблюдается

очевидное ухудшение или прогрессирование заболевания. У приблизительно 85% людей с MS сначала диагностируют RRMS.

Согласно некоторым вариантам осуществления рассеянным склерозом является рецидивный рассеянный склероз (RMS). RMS включает в себя несколько форм MS, которые характеризуются рецидивными признаками, в том числе рецидивный-ремиттирующий MS, прогрессирующий-рецидивный MS и вторично-прогрессирующий MS.

Согласно некоторым вариантам осуществления рассеянным склерозом является первично-прогрессирующий рассеянный склероз (PPMS). Эта форма характеризуется постоянным ухудшением неврологического функционирования, но без каких-либо явных рецидивов или периодов ремиссии. Скорость прогрессирования у индивидуума может варьировать со временем, с эпизодическими плато или временными улучшениями, но прогрессирование является непрерывным. У 10% людей диагностируют этот тип MS.

Согласно некоторым вариантам осуществления рассеянным склерозом является вторично-прогрессирующий рассеянный склероз (SPMS). После начального периода рецидивного-ремиттирующего MS (RRMS) у многих людей начинается SPMS. Заболевание начинает ухудшаться более устойчиво с эпизодическими рецидивами, ремиссиями, или плато, или без таковых.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения повреждения нервной системы у субъекта, например, повреждения головного мозга, спинного мозга и/или нервной ткани, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения злокачественной опухоли, поражающей нервную систему субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту. Согласно некоторым примерам злокачественной опухолью является злокачественная опухоль головного мозга.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения индуцированной повреждением демиелинизации у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения инфекции нервной системы у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутотаксина субъекту. Согласно некоторым примерам инфекция нервной системы включает в себя менингит.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения неврологического заболевания, нарушения или состояния у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту при необходимости этого. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения рассеянного склероза у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту. Согласно некоторым вариантам осуществления лечение включает в себя ингибирование или обращение демиелинизации. Ингибирование демиелинизации включает в себя снижение степени демиелинизации по сравнению с отсутствием лечения ингибитором аутоаксина, при этом снижением степени является снижение демиелинизации по меньшей мере на 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 80% или 90%. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина предупреждает, замедляет и и/или ослабляет демиелинизацию.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы предупреждения или лечения признака, симптома и/или осложнения неврологического заболевания, нарушения или состояния, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы предупреждения или лечения признака, симптома и/или осложнения рассеянного склероза у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту. Признаки и симптомы рассеянного склероза включают в себя без ограничения онемение или ослабление одной или нескольких конечностей, частичную или полную потерю зрения, двойное зрение, неясность зрения, ощущение покалывания, ощущения прохождения электрического тока, тремор, отсутствие координации, неустойчивую походку, невнятную речь, усталость, головокружение и изменения функции кишечника и/или мочевого пузыря. Примеры осложнений рассеянного склероза включают в себя без ограничения ригидность мышц, мышечные спазмы, паралич, изменения психического состояния, такие как забывчивость и перепады настроения, депрессию и эпилепсию.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы снижения частоты, тяжести и/или продолжительности рецидива неврологического заболевания, нарушения или состояния, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы снижения частоты, тяжести и/или продолжительности рецидива рассеянного склероза, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина. В некоторых случаях введение ингибитора аутоаксина снижает или останавливает прогрессирование одного или нескольких симптомов у

большого рассеянным склерозом. В некоторых случаях введение ингибитора аутоактина предупреждает или замедляет проявление симптомов рассеянного склероза.

В некоторых случаях неврологическое нарушение, такое как рассеянный склероз, лечат комбинацией ингибитора аутоактина и одного или нескольких дополнительных терапевтических средств. Дополнительные терапевтические средства включают в себя без ограничения плазмообмен, физическую терапию, мышечные релаксанты, физические упражнения, отдых и введение одного или нескольких из следующих: кортикостероиды, интерфероны-бета, глатирамера ацетат, диметилфумарат, финголимод, терифлуномид, натализумаб, митоксантрон; и их комбинации.

Неврологические заболевания, состояния и нарушения или характерные особенности неврологических заболеваний, состояний и нарушений, для которых подходит лечение ингибитором аутоактина, включают в себя без ограничения отсутствие прозрачной перегородки, связанное с кислой липазой заболевание, дефицит кислой мальтазы, приобретенную эпилептиформную афазию, острый рассеянный энцефаломиелит, ADHD, тонический зрачок Эйди, синдром Эйди, аденолейкодистрофию, агенез мозолистого тела, агнозию, синдром Экарди, неврологические осложнения после AIDS, болезнь Александра, болезнь Альперса, альтернирующую гемиплегию, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз (ALS), анэнцефалию, аневризму, синдром Ангельмана, ангиоматоз, аноксию, антифосфолипидный синдром, афазию, апраксию, арахноидальные кисты, арахноидит, мальформацию Арнольда-Киари, артериовенозную мальформацию, синдром Аспергера, атаксию, инсульт, синдром Барта, болезнь Баттена, миотонию Беккера, болезнь Бехчета, паралич Белла, доброкачественный эссенциальный блефароспазм, доброкачественную фокальную амиотрофию, доброкачественную внутричерепную гипертензию, синдром Бернгардта-Рота, болезнь Бинсвангера, блефароспазм, синдром Блоха-Сульцбергера, повреждения плечевого сплетения, синдром Бредбери-Эгглстона, аневризму головного мозга, повреждение головного мозга, синдром Броун-Секара, CADASIL, болезнь Канавана, каузалгию, каверномы, кавернозную ангиому, кавернозную мальформацию, синдром центрального паралича, центральный болевой синдром, центральный понтинный миелинолиз, цефалические расстройства, дефицит церамидазы, церебеллярную дегенерацию, церебеллярную гипоплазию, аневризмы сосудов головного мозга, церебральный артериосклероз, церебральную атрофию, церебральный авитаминоз, церебральную кавернозную мальформацию, церебральный гигантизм, церебральную гипоксию, церебральный паралич, цереброокулофациоскелетный синдром, мальформацию Киари, хорею, хореоакантоцитоз, хроническую воспалительную

демиелинизирующую полиневропатию (CIDP), хроническую ортостатическую неустойчивость, синдром Коккейна II типа, синдром Коффина-Лоури, колпоцефалию, кому, комплексный региональный болевой синдром, врожденную лицевую диплегию, врожденную миастению, врожденную миопатию, врожденные сосудистые кавернозные мальформации, кортикобазальную дегенерацию, височный артериит, краниосиностоз, энцефалит Кри, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, кумулятивные травматические расстройства, синдром Кушинга, инклюзионную цитомегалию, цитомегаловирусную инфекцию, синдром Денди-Уокера, болезнь Доусона, синдром Де Морсье, паралич Дежерин-Клюмпке, деменцию, прогрессирующуюocerebellярную атаксию, дентаторубральную атрофию, дерматомиозит, диспраксию развития, синдром Девика, диабетическую невропатию, диффузный склероз, синдром Драве, вегетативную дистонию, дисграфию, дисфагию, диспраксию, мозжечковую диссинергию, дистонии, бульбарную спинномозговую мышечную атрофию, энцефалопатию, синдром пустого турецкого седла, энцефалит, энцефалоцеле, энцефалотригеминальный ангиоматоз, эпилепсию, параличи Эрба-Дюшена и Дежерин-Клюмпке, паралич Эрба, экстрапонтинный миелинолиз, болезнь Фабри, синдром Фара, семейную вегетативную дистонию, семейную гемангиому, семейную идиопатическую кальцификацию базальных ганглиев, семейные периодические параличи, семейный спастический паралич, болезнь Фарбера, фебрильные судороги, фиброзно-мышечную дисплазию, синдром Фишера, атаксию Фридрейха и лобно-височную деменцию.

### **Воспаление и воспалительные нарушения**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения воспалительного состояния, заболевания или нарушения ингибитором аутотаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы снижения воспаления в ткани субъекта, при этом способ включает введение субъекту ингибитора аутотаксина. В некоторых случаях тканью является ткань толстой кишки.

Используемый в настоящем раскрытии термин «воспаление» относится к хорошо известному локализованному ответу на различные типы повреждения или инфекции, которые характеризуется покраснением, жаром, припухлостью и болью, а зачастую также включают в себя дисфункцию или сниженную подвижность.

Способы, описываемые в настоящем документе, согласно некоторым вариантам осуществления включают в себя способы лечения, снижения риска и замедления проявления других воспалительных состояний или заболеваний ингибитором аутотаксина,

таких как (а) глазное воспаление, ассоциированное с язвой роговицы, гигантским папиллярным конъюнктивитом, блефаритом, халазионом, увеитом, сухостью глаз, постхирургическим воспалением, а также ассоциированное с контактными линзами воспаление; (b) аллергические заболевания, такие как сенная лихорадка, ринит, сезонный аллергический конъюнктивит, весенний конъюнктивит и другие опосредованные эозинофилами состояния; (с) кожные заболевания, такие как псориаз, контактный дерматит, экзема, инфекционные язвы кожи, открытые раны и целлюлит; (d) инфекционные заболевания, в том числе сепсис, септический шок, энцефалит, инфекционный артрит, эндотоксический шок, грамотрицательный шок, реакция Яриша-Герксхаймера, шигеллез, токсический шок, церебральная малярия, бактериальный менингит, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS), болезнь Лайма и инфекция HIV; (е) болезни истощения, такие как кахексия, вторичная по отношению к злокачественной опухоли и HIV; (f) воспаление, связанное с трансплантацией органа, ткани или клеток (например, костного мозга, роговицы, почки, легкого, печени, сердца, кожи, островков поджелудочной железы), в том числе отторжение трансплантата и заболевание «трансплантат против хозяина»; (g) неблагоприятные эффекты лекарственной терапии, в том числе неблагоприятные эффекты лечения амфотерицином В, неблагоприятные эффекты иммуносупрессивной терапии, например, лечения интерлейкином-2, неблагоприятные эффекты лечения ОКТЗ, неблагоприятные эффекты лечения GM-CSF, неблагоприятные эффекты лечения циклоспорином и неблагоприятные эффекты лечения аминогликозидом, стоматит и воспаление слизистой оболочки из-за иммуносупрессии; (h) сердечно-сосудистые состояния, в том числе заболевания кровообращения, индуцированные или усиленные воспалительным ответом, такие как ишемия, атеросклероз, заболевание периферических сосудов, рестеноз после пластической операции на сосудах, воспалительная аневризма аорты, васкулит, инсульт, повреждение спинного мозга, застойная сердечная недостаточность, геморрагический шок, ишемическое/реперфузионное повреждение, вазоспазм после субарахноидального кровоизлияния, вазоспазм после нарушения мозгового кровообращения, плеврит, перикардит и сердечно-сосудистые осложнения сахарного диабета; (i) диализ, в том числе перикардит вследствие перитонеального диализа; (j) подагра и (k) химически- или термически-индуцированное воспаление, вызванное ожогом, кислотой, щелочью и т.п.

### **Аутоиммунные заболевания**

Способы, описываемые в настоящем документе, согласно некоторым вариантам осуществления включают в себя способы лечения, снижения риска и замедления

проявления аутоиммунного заболевания или нарушения ингибитором аутотаксина. Примеры аутоиммунных заболеваний включают в себя без ограничения очаговую алопецию, волчанку, анкилозирующий спондилит, болезнь Меньера, антифосфолипидный синдром, смешанное заболевание соединительной ткани, аутоиммунную болезнь Аддисона, аутоиммунную гемолитическую анемию, миастению гравис, аутоиммунный гепатит, обыкновенную пузырчатку, болезнь Бехчета, пернициозную анемию, буллезный пемфигоид, нодозный полиартериит, кардиомиопатию, полихондрию, целиакия-спру-дерматит, полигландулярные синдромы, синдром хронической усталости (CFIDS), ревматическую полимиалгию, хроническую воспалительную демиелинизацию, полимиозит и дерматомиозит, хроническую воспалительную полиневропатию, первичную агаммаглобулинемию, синдром Чарга-Стросс, первичный билиарный цирроз, рубцующийся пемфигоид, псориаз, синдром CREST, феномен Рейно, болезнь холодовой агглютинации, синдром Рейтера, болезнь Крона, ревматическую лихорадку, дискоидную волчанку, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, первичную криоглобулинемию смешанного типа, саркоидоз, фибромиалгию, склеродермию, болезнь Грейвса, синдромом Шегрена, синдром Гийена-Барре, синдром Стиффа-Мана, тиреоидит Хашимото, болезнь Такаясу, идиопатический легочный Фиброз, темпоральный артериит/гигантоклеточный артериит, идиопатическую тромбопеническую пурпура (ITP), язвенный колит, нефропатию IgA-типа, увеит, инсулинозависимый сахарный диабет (I типа), сахарный диабет (II типа), васкулит, красный плоский лишай и витилиго.

Согласно некоторым вариантам осуществления способы лечения, снижения риска и замедления проявления аутоиммунного заболевания или нарушения дополнительно включают введение иммуносупрессанта. Иммуносупрессанты включают в себя без ограничения глюкокортикоиды, цитостатики, антитела и лекарственные средства, которые действуют на иммунофилины. Примеры глюкокортикоидов включают в себя кортизол, кортизон, преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, бетаметазон, триамцинолон, беклометазон, флудрокортизон, дезоксикортикостерон и альдостерон. Примеры цитостатиков включают в себя алкилирующие средства (например, азотистые иприты, такие как циклофосфамид, нитрозомочевины, соединения платины) и антиметаболиты (например, аналоги фолиевой кислоты, такие как метотрексат, аналоги пурина, такие как азатиоприн и мрекаптопурин, аналоги пиримидина, такие как фторурацил, ингибиторы синтеза белка). Примеры лекарственных средств для применения в описываемых способах включают в себя циклоспорин, такролимус, сиролимус, интерфероны, опиоиды, связывающие TNF белки, микофенолат и финголимод. Примеры антител, применимых для совместного введения с ингибитором

аутоаксина в способе, описываемом в настоящем документе, включают в себя антитимоцитарный глобулин, 1D09C3, адалимумаб/D2E7 (Humira; Trudexa), афелимомаб, афутузумаб/GA101 (II типа), алемтузумаб/кампат-1H (MabCampath), аполизумаб/Hu1D10, аселизумаб, атлизумаб, базиликсимаб (Simulect), бектумомаб/IMMU-LL2, белимумаб (Benlysta, LymphoStat-B), бертилимумаб, BL22/CAT-3888, брентуксимаб/cAC10/SGN-35, бриакинумаб/ABT-874, канакинумаб/ACZ885 (Paris), цертолизумаб пегол/CDP870 (Cimzia), клетоликсимаб, дацетузумаб/SGN-40, даклизумаб (Zenarax), экулизумаб/5G1,1 (Soliris), эфализумаб (Raptiva, ранее Xanelim), эпратузумаб/hLL2/IMMU-102 (Lymphocyte©), фонтолизумаб, фрезолимумаб/GC-1008, галиксимаб/IDEC-114, гавилимомаб/ABX-CBL, гемтузумаб, голимумаб/CNTO148 (Simponi), HL2434P (IMMU-114), ибритутумаб тиуксетан (MXDPTA)/IDEC Y2B8 (Zevalin), инфликсимаб/химерный A2 (сA2) (Remicade), инолимумаб/BT563, инотузумаб, келиксимаб/IDEC CE9.1, лерделимумаб/CAT-152, линтизумаб/HuM195 (Zamyl), LMB-2, лорвотузумаб мертанзин, лумиликсимаб/IDEC-152, Lym-1 (Oncolym), MDX-060, меполизумаб/SB-240563, метелимумаб/CAT-192, могамулизумаб/KW-0761/AMG-761, моксетумомаб пасудотокс/CAT-8015/HA22, муромонаб-CD3 (Orthoclone OKT3), натализумаб (Tysabri, Antegren), нерелимомаб/CDP571, окрелизумаб/PRO70769 (I типа), одулимумаб, офатумумаб/2F2/HuMax-CD20 (Arzerra) (I типа), омализумаб (Xolair), отеликсизумаб/TRX4, пасколизумаб/SB 240683, реслизумаб/SCH 55700 (Cinquil), ритуксимаб/химерный 2B8 (IDEC-C2B8) (Rituxan, MabThera) (I типа), руплизумаб (Antova), SAR-3419, секукинумаб/AIN-457, SGN30, сиплизумаб/MEDI-507, теплизумаб/MGA031/hOKT3γ1 (Ala-Ala), тоцилизумаб (Actemra), тозитумомаб (II типа), устекинумаб/CNTO 1275 (Stelara), ведолизумаб/MNL-0002, велтузумаб/IMMU-106/hA20 (I типа), визилизумаб (Nuvion), занолимумаб/HuMax-CD4, золимумаб аритокс/H65, абатацепт/CTLA4-Ig/BMS-188667 (Orencia), белатацепт/LEA29Y, атацицепт/BLyS/APRIL-Ig, этанерцепт/TNFR-Ig (Enbrel), пегсунерцепт/пегилированный TNFR-Ig, алефацепт (Amevive) и рилонацепт (Arcalyst). Иммуносупрессивные антитела включают в себя антитела, которые нацелены на комплемент-зависимые белки и интерлейкины.

### **Ангиогенез**

Согласно некоторым вариантам осуществления описываемые в настоящем документе способы лечения или предупреждения ангиогенеза у субъекта включают введение ингибитора аутоаксина субъекту. Ангиогенез включает в себя разрастающийся ангиогенез и интуссусцепционный ангиогенез. В некоторых случаях способы дополнительно включают введение ингибитора ангиогенеза, например, ингибитора VEGF (бевацизумаба), сорафениба сунитиниба, пазопаниба, эверолимуса или их комбинации.

### **Злокачественная опухоль**

Продемонстрировали, что аутоаксин усиливает подвижность клеток, неоваскуляризацию, пролиферацию и агрессивность опухолей. Он активируется во многих опухолевых линиях, таких как злокачественная опухоль молочной железы, почки, печени, глиобластома, яичника и предстательной железы.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения злокачественной опухоли ингибитором аутоаксина.

Аутоаксин представляет собой прометастатический фермент, изначально выделенный из кондиционированной среды клеток меланомы человека. Кроме того, надэкспрессию аутоаксина часто наблюдают в тканях злокачественной опухоли, такой как злокачественная опухоль молочной железы, злокачественная опухоль почки, лимфома Ходжкина, печеночноклеточная карцинома, злокачественная опухоль поджелудочной железы и глиобластома. LPA также способствует онкогенезу за счет усиления подвижности и инвазивности клеток.

Используемый в настоящем документе термин «злокачественная опухоль» относится к аномальному росту клеток, которые проявляют тенденцию к пролиферации неконтролируемым образом и в некоторых случаях к метастазированию (распространению). Типы злокачественной опухоли включают в себя без ограничения солидные опухоли (такие как, опухоли мочевого пузыря, кишечника, головного мозга, молочной железы, эндометрия, сердца, почки, легкого, печени, матки, лимфатической ткани (лимфомы), яичника, поджелудочной железы или другого эндокринного органа (щитовидной железы), предстательной железы, кожи (меланому или базальноклеточную злокачественную опухоль) или гематологические опухоли (такие как лейкозы и лимфомы) на любой стадии заболевания с метастазами или без таковых.

Неограничивающие примеры злокачественных опухолей включают в себя острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, аденокарциному, анальную злокачественную опухоль, злокачественную опухоль аппендикса, астроцитомы, атипичную тератоидно-рабдоидную опухоль, базальноклеточную карциному, злокачественную опухоль желчных протоков, злокачественную опухоль мочевого пузыря, злокачественную опухоль кости (остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому), глиому ствола головного мозга, опухоли головного мозга, опухоли головного мозга и спинного мозга, злокачественную опухоль молочной железы, бронхиальные опухоли, лимфому Беркитта, цервикальную злокачественную опухоль, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз, злокачественную

опухоль толстой кишки, злокачественную опухоль толстой и прямой кишок, краниофарингеому, кожную Т-клеточную лимфому, десмоидные опухоли, эмбриональные опухоли, злокачественную опухоль эндометрия, эпендимобластому, эпендимому, злокачественную опухоль пищевода, семейство опухолей саркомы Юинга, злокачественную опухоль глаза, ретинобластому, злокачественную опухоль желчного пузыря, желудочную злокачественную опухоль (желудка), желудочно-кишечную карциноидную опухоль, желудочно-кишечную стромальную опухоль (GIST), опухоль стромальных клеток желудочно-кишечного тракта, эмбрионально-клеточную опухоль, глиому, волосатоклеточный лейкоз, злокачественную опухоль головы и шеи, печеночноклеточную злокачественную опухоль (печени), лимфому Ходжкина, гипофарингеальную злокачественную опухоль, интраокулярную меланому, опухоли островковых клеток (эндокринной части поджелудочной железы), саркому Капоши, злокачественную опухоль почки, лангергансоклеточный гистиоцитоз, злокачественную опухоль гортани, лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз, волосатоклеточный лейкоз, злокачественную опухоль печени, немелкоклеточную злокачественную опухоль легкого, мелкоклеточную злокачественную опухоль легкого, лимфому Беркитта, кожную Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, лимфому, макроглобулинемию Вальденстрема, медуллобластому, медуллоэпителиому, меланому, мезотелиому, злокачественную опухоль ротовой полости, хронический миелогенный лейкоз, миелоидный лейкоз, множественную миелому, носоглоточную злокачественную опухоль, нейробластому, неходжкинскую лимфому, немелкоклеточную злокачественную опухоль легкого, злокачественную опухоль ротовой полости, ротоглоточную злокачественную опухоль, остеосаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому кости, злокачественную опухоль яичника, злокачественную опухоль эпителия яичника, эмбрионально-клеточную опухоль яичника, опухоль яичника с низким потенциалом злокачественности, злокачественную опухоль поджелудочной железы, папилломатоз, злокачественную опухоль параситовидной железы, злокачественную опухоль полового члена, фарингеальную злокачественную опухоль, опухоли паренхимы шишковидной железы промежуточной дифференцировки, пинеобластому и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, опухоль гипофиза, плазмноклеточную неоплазию/множественную миелому, плеврорлегочную бластому, первичную лимфому центральной нервной системы, злокачественную опухоль предстательной железы, злокачественную опухоль прямой кишки, почечноклеточную злокачественную опухоль (почки), ретинобластому,

рабдомиосаркому, злокачественную опухоль слюнной железы, саркому, синдром Сезари, злокачественную опухоль кожи, мелкоклеточную злокачественную опухоль легкого, злокачественную опухоль тонкого кишечника, саркому мягких тканей, плоскоклеточную карциному, желудочную злокачественную опухоль (желудка), супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, Т-клеточную лимфому, злокачественную опухоль яичка, злокачественную опухоль горла, тимому и тимусную карциному, злокачественную опухоль щитовидной железы, уретральную злокачественную опухоль, злокачественную опухоль матки, саркому матки, вагинальную злокачественную опухоль, злокачественную опухоль вульвы, макроглобулинемию Вальденстрема и опухоль Вильмса.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль используют в лечении злокачественной опухоли яичника, злокачественной опухоли предстательной железы, злокачественной опухоли молочной железы, злокачественной опухоли легкого, меланомы, злокачественной опухоли головы и шеи, злокачественной опухоли кишечника (злокачественной опухоли толстой и прямой кишок), злокачественной опухоли щитовидной железы, глиобластомы, фолликулярной лимфомы, почечной злокачественной опухоли, лимфомы Ходжкина, печеночноклеточной карциномы, злокачественной опухоли поджелудочной железы или меланомы.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина, раскрываемый в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль используют в лечении метастаз в кости.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина, раскрываемый в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль используют в лечении злокачественной опухоли ротовой полости, злокачественной опухоли предстательной железы, злокачественной опухоли прямой кишки, немелкоклеточной злокачественной опухоли легкого, злокачественной опухоли губ и ротовой полости, злокачественной опухоли печени, злокачественной опухоли легкого, анальной злокачественной опухоли, злокачественной опухоли почки, злокачественной опухоли вульвы, злокачественной опухоли молочной железы, ротоглоточной злокачественной опухоли, злокачественной опухоли назальной полости и околоносовых пазух, носоглоточной злокачественной опухоли, злокачественной опухоли уретры, злокачественной опухоли тонкого кишечника, злокачественной опухоли желчных протоков, злокачественной опухоли мочевого пузыря, злокачественной опухоли яичника, злокачественной опухоли гортани, гипофарингеальной злокачественной опухоли,

злокачественной опухоли желчного пузыря, злокачественной опухоли толстой кишки, злокачественной опухоли толстой и прямой кишок, злокачественной опухоли головы и шеи, злокачественной опухоли паращитовидной железы, злокачественной опухоли полового члена, вагинальной злокачественной опухоли, злокачественной опухоли щитовидной железы, злокачественной опухоли поджелудочной железы, злокачественной опухоли пищевода, лимфомы Ходжкина, связанных с лейкозом нарушений, фунгоидного микоза или миелодиспластического синдрома.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина, раскрываемый в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль используют в лечении немелкоклеточной злокачественной опухоли легкого, злокачественной опухоли поджелудочной железы, злокачественной опухоли молочной железы, злокачественной опухоли яичника, злокачественной опухоли толстой и прямой кишок или злокачественной опухоли головы и шеи.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль используют в лечении карциномы, опухоли, неоплазии, лимфомы, меланомы, глиомы, саркомы или бластомы.

Согласно некоторым вариантам осуществления карцинома выбрана из группы, состоящей из карциномы, аденокарциномы, аденоидо-кистозной карциномы, аденосквамозной карциномы, аденокортикальной карциномы, хорошо дифференцированной карциномы, плоскоклеточной карциномы, серозной карциномы, мелкоклеточной карциномы, инвазивной плоскоклеточной карциномы, крупноклеточной карциномы, карциномы островковых клеток, овсяноклеточной карциномы, сквамозной карциномы, недифференцированной карциномы, веррукозной карциномы, почечноклеточной карциномы, папиллярной серозной аденокарциномы, карциномы клеток Меркеля, печеночноклеточной карциномы, карцином мягких тканей, карцином бронхиальной железы, капиллярной карциномы, карциномы бартолиниевой железы, базальноклеточной карциномы, карциносаркомы, папилломы/карциномы, светлоклеточной карциномы, эндометриоидной аденокарциномы, мезотелиальной, метастатической карциномы, мукоэпидермоидной карциномы, холангиокарциномы, актинического кератоза, цистаденомы и печеночного аденоматоза.

Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль выбрана из группы, состоящей из астроцитарных опухолей, злокачественных мезотелиальных опухолей, эмбрионально-клеточной опухоли яичника, супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, опухоли Вильма, опухолей гипофиза, внегонадной эмбрионально-клеточной опухоли, гастриномы, эмбрионально-клеточных опухолей,

гестационной трофобластической опухоли, опухолей головного мозга, пинеальных и супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, опухоли гипофиза, секретирующей соматостатин опухоли, опухоли эндодермального синуса, карциноидов, центральной церебральной астроцитомы, глюкономы, аденомы печени, инсулиномы, медуллоэпителиомы, плазмоцитомы, виомы и феохромоцитомы.

Согласно некоторым вариантам осуществления неоплазия выбрана из группы, состоящей из внутриэпителиальной неоплазии, множественной миеломы/плазмноклеточной неоплазии, плазмноклеточной неоплазии, межэпителиальной плоскоклеточной неоплазии, эндометриальной гиперплазии, фокальной нодулярной гиперплазии, гемангиоэндотелиомы, лимфангиолейомиоматоза и злокачественной тимомы.

Согласно некоторым вариантам осуществления лимфома выбрана из группы, состоящей из лимфомы нервной системы, связанной с AIDS лимфомы, кожной Т-клеточной лимфомы, неходжкинской лимфомы, лимфомы из клеток мантийной зоны, фолликулярной лимфомы и макроглобулинемии Вальденстрема.

Согласно некоторым вариантам осуществления меланома выбрана из группы, состоящей из акральной лентигозной меланомы, поверхностной распространяющейся меланомы, увеальной меланомы, меланом типа злокачественного лентиго, меланомы, интраокулярной меланомы, аденокарциномы, нодулярной меланомы и гемангиомы.

Согласно некоторым вариантам осуществления саркома выбрана из группы, состоящей из аденом, аденосаркомы, хондросаркомы, стромальной саркомы матки, саркомы Юинга, саркомы Капоши, лейомиосаркомы, рабдомиосаркомы, саркомы, саркомы матки, остеосаркомы и псевдосаркомы.

Согласно некоторым вариантам осуществления глиома выбрана из группы, состоящей из глиомы, глиомы ствола головного мозга, а также гипоталамической и глиомы зрительного пути.

Согласно некоторым вариантам осуществления бластома выбрана из группы, состоящей из легочной бластомы, плеврорегочной бластомы, ретинобластомы, нейробластомы, медуллобластомы, глиобластомы и гемангиобластом.

### **Заболевания дыхательных путей**

Воспалительные состояния, заболевания и нарушения, которые можно лечить ингибитором аутоаксина, включают в себя заболевания дыхательных путей, в том числе воспаление легких, такое как хроническое обструктивное легочное заболевание (COPD), кистозный фиброз и астма. COPD главным образом представляет собой два родственных

заболевания: хронический бронхит и эмфизема. При обоих заболеваниях наблюдается хроническая обструкция потока воздуха через дыхательные пути и из легких, и обструкция, как правило, является постоянной и прогрессирующей со временем.

Астма является хроническим заболеванием дыхательных путей легких, характеризуемым воспалением и парадоксальным сужением бронхов. Астма включает в себя астматические состояния, опосредуемые действием Т-клеток, в том числе вызванную внешними факторами астму (аллергическую астму), вызванную внутренними факторами астму (неаллергическую астму), смешанную астму (вызванную внешними факторами и вызванную внутренними факторами астму), вызванную профессиональной деятельностью астму, индуцированную средствами, такими как толуолдиизоцианат, поливинилхлорид, фталевый ангидрид, тримеллитовый ангидрид, пликатовая кислота (туевые деревья) или соли металлов, такие как платина или никель, индуцированную лекарственным средством астму (в том числе индуцированную аспирином астму или астму, индуцированную нестероидными противовоспалительными лекарственными средствами (NSAID)), индуцированную физической нагрузкой астму и кашлевую астму. Согласно некоторым вариантам осуществления астмой является аллергическое или неаллергическое астматическое состояние, опосредованное функцией Т-клеток.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения астмы ингибитором аутоаксина. У астматического индивидуума высвобождение нормальных медиаторов репарации, в том числе LPA, ненормально увеличено, или действия медиаторов репарации неуместно пролонгируются, что приводит к неправильному ремоделированию дыхательных путей. Основные структурные признаки ремоделированного дыхательного пути, наблюдаемые при астме, включают в себя утолщенную ретикулярную пластинку (подобную базальной мембране структуру непосредственно под эпителиальными клетками дыхательных путей), повышенные количества и активацию миофибробластов, утолщение слоя гладких мышц, повышение количества слизистых желез и секреции слизи, а также изменения соединительной ткани и капиллярного слоя по всей стенке дыхательных путей. Согласно некоторым вариантам осуществления аутоаксин и/или LPA способствуют этим структурным изменениям в дыхательном пути. Согласно некоторым вариантам осуществления аутоаксин и/или LPA вовлекаются в острую гиперреактивность дыхательных путей при астме. Просвет ремоделированного астматического дыхательного пути является более узким вследствие утолщения стенки дыхательных путей, что уменьшает поток воздуха. Согласно некоторым вариантам осуществления LPA способствует долгосрочному структурному ремоделированию и острой

гиперреактивности астматического дыхательного пути. Согласно некоторым вариантам осуществления LPA способствует гиперреактивности, которая является основным признаком острых обострений астмы.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения или предупреждения COPD ингибитором аутотаксина. Термин «хроническое обструктивное легочное заболевание (COPD)» относится к группе заболеваний легкого, в том числе к хроническому бронхиту, эмфиземе и облитерирующему бронхиолиту. Наиболее распространенным из этих заболеваний являются хронический бронхит и эмфизема. Хотя индивидуум с COPD может иметь либо хронический бронхит, либо эмфизему, у него или нее зачастую будет наблюдаться смесь симптомов этих двух состояний. Хотя эмфизема обычно является результатом повреждения легких, вызванного повреждающим фактором окружающей среды, как правило, результатом длительного курения, эмфизема также может быть вызвана врожденным отсутствием  $\alpha$ 1-антитрипсина в легких; при этом данный тип эмфиземы, как правило, наследуется.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения хронического бронхита ингибитором аутотаксина. Хронический бронхит (CB) представляет собой воспаление одного или нескольких бронхов, как правило, вторичное по отношению к инфекции, и характеризуется избыточным продуцированием слизи в бронхах, сопровождающимся рецидивным кашлем, который сохраняется по меньшей мере на протяжении трех месяцев в году в течение по меньшей мере двух последовательных лет. CB является основным неастматическим заболеванием легкого. CB инициируют многочисленные различные факторы, в том числе курение сигарет, загрязнение окружающей среды, хронические инфекции и различные генетические аномалии. Из этих факторов курение сигарет является наиболее распространенным. Патологические изменения в легком включают в себя (1) гипертрофию и гиперплазии секреторирующих слизь желез в бронхах, (2) увеличение бокаловидных клеток, (3) исчезновение или повреждение ресничек и (4) хронические воспалительные изменения, а также сужение мелких дыхательных путей.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения эмфиземы ингибитором аутотаксина. Эмфизема представляет собой легочное состояние, которое является результатом повреждения альвеолярных мешочков в легких, как правило, вызванного длительным курением. Такое повреждение приводит к патологическому накоплению воздуха в тканях.

Введение LPA *in vivo* индуцирует гиперреактивность дыхательных путей, реакции почесывания при зуде, инфильтрацию и активацию эозинофилов и нейтрофилов, сосудистое ремоделирование и ноцицептивные флексорные рефлекссы. LPA также индуцирует высвобождение гистамина из тучных клеток мыши или крысы. При острой аллергической реакции гистамин индуцирует различные ответы, такие как сокращение гладкой мускулатуры, экссудацию плазмы и продуцирование слизи. Экссудация плазмы важна в дыхательном пути, поскольку истечение и последующий отек стенки дыхательных путей способствуют развитию гиперреактивности дыхательных путей. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы уменьшения экссудации плазмы вследствие острой аллергической реакции ингибитором аутоаксина.

### **Ожирение**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения ожирения и/или сахарного диабета ингибитором аутоаксина.

Аутоаксин отвечает за активность *lys*oPLD, высвобождаемой адипоцитами, и осуществляет паракринный контроль роста преадипоцитов посредством зависимого от LPA механизма. Кроме того, аутоаксин активируется при дифференцировке адипоцитов и при генетическом ожирении. В некоторых случаях mRNA аутоаксина активируется в адипоцитах мышей *db/db*, подтверждая, что активация аутоаксина связана с фенотипом тяжелого сахарного диабета 2 типа и адипоцитарной резистентностью к инсулину. В некоторых случаях активация аутоаксина в адипоцитах ассоциируется с сахарным диабетом 2 типа.

Используемый в настоящем документе термин «ожирение» относится к медицинскому состоянию, при котором избыточный жир в организме накопился до такой степени, что он может оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье, что усугубляет проблемы со здоровьем. Согласно некоторым вариантам осуществления термин «ожирение» относится к увеличению массы, что составляет по меньшей мере 5% массы всего организма. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения постменопаузального ожирения и/или висцерального ожирения ингибитором аутоаксина.

### **Метаболические нарушения**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения метаболических нарушений и состояний,

ассоциированных с метаболическими нарушениями, включающие введение ингибитора аутотаксина. Используемый в настоящем документе термин «метаболическое нарушение» относится к любому патологическому состоянию, являющемуся результатом изменения метаболизма у субъекта. Такие нарушения включают в себя являющиеся результатом изменения гомеостаза глюкозы и/или инсулиновой дисфункции. Метаболические нарушения включают в себя без ограничения метаболический синдром, повышенное содержание глюкозы в крови, резистентность к инсулину, нарушение толерантности к глюкозе, сахарный диабет 2 типа, сахарный диабет 1 типа, предиабет, неалкогольную жировую болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит и ожирение.

Метаболические нарушения связаны между собой и могут приводить к нарушениям различных систем. Устранение основного метаболического нарушения может снизить тяжесть родственных состояний у больного, в том числе, например, сердечно-сосудистых нарушений (в том числе, например, ишемического заболевания сердца, стенокардии и инфаркта миокарда, застойной сердечной недостаточности, высокого кровяного давления, аномального содержания холестерина, тромбоза глубоких вен и легочное эмболии), неврологических нарушений (в том числе, например, инсульта, парестетической мералгии, мигрени, идиопатической и внутричерепной гипертензии, депрессии и социального стигматизма), ревматологических и ортопедических нарушений (в том числе, например, подагры, слабой подвижности, остеоартрита и боли в нижней части спины), дерматологических нарушений (в том числе, например, растяжек, чернеющего акантоза, лимфедемы, целлюлита), желудочно-кишечных нарушений (в том числе, например, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (GERD) и холелитиаза (желчных камней)), респираторных нарушений (в том числе, например, синдрома обструктивного апноэ во сне, синдрома гиповентиляции вследствие ожирения, астмы и увеличенных осложнений во время общей анестезии), урологических и нефрологических нарушений (в том числе, например, эректильной дисфункции, недержания мочи, хронической почечной недостаточности и гипогонадизма).

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения метаболических нарушений. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутотаксина индивидууму с метаболическим нарушением имеет ряд желаемых результатов, которые включают в себя без ограничения снижение содержания глюкозы в крови, снижения содержания лизофосфатидной кислоты в плазме, улучшение чувствительности к инсулину, повышение секреции инсулина, улучшение толерантности к глюкозе и снижение разрастания жировой ткани. Любой из этих результатов может лечить, замедлять или

предупреждать проявление метаболического нарушения, при этом такие метаболические нарушения включают в себя без ограничения метаболический синдром, повышенное содержание глюкозы в крови, резистентность к инсулину, нарушение толерантности к глюкозе, сахарный диабет 2 типа, сахарный диабет 1 типа, предиабет, неалкогольную жировую болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит и ожирение.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы введения ингибитора аутоаксина для снижения содержания глюкозы в крови натощак у мыши, содержащейся на диете с высоким содержанием жира. Мышь, содержащаяся на диете с высоким содержанием жира, как показано в настоящем документе, имеет более высокое содержание глюкозы в крови натощак, чем мышь, принимающая нормальное питание. Введение ингибитора аутоаксина мыши, содержащейся на диете с высоким содержанием жира, понижало содержание глюкозы в крови натощак с обеспечением тем самым приближения содержания глюкозы в крови натощак к такому содержанию, которое наблюдали у мыши, принимающей нормальное питание.

Согласно некоторым вариантам осуществления способы, раскрываемые в настоящем документе, включают введение ингибитора аутоаксина субъекту с повышенным содержанием глюкозы в крови. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина используют для лечения первопричинного метаболического нарушения. Согласно некоторым вариантам осуществления метаболическое нарушение лечат путем снижения содержания глюкозы в крови. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект имеет лишний вес или ожирение. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект имеет сахарный диабет 2 типа. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект имеет неалкогольную жировую болезнь печени и/или неалкогольный стеатогепатит. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект не имеет метаболического нарушения. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина замедляет или предупреждает проявление метаболического нарушения путем снижения повышенного содержания глюкозы в крови.

Согласно некоторым вариантам осуществления способы, раскрываемые в настоящем документе, включают снижение содержания лизофосфатидной кислоты в плазме у индивидуума путем введения ингибитора аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления содержание лизофосфатидной кислоты в плазме у индивидуума является повышенным относительно контроля. Согласно некоторым вариантам осуществления контролем является индивидуум без метаболического нарушения.

Согласно некоторым вариантам осуществления повышенное содержание лизофосфатидной кислоты в плазме у индивидуума способствует риску или повышает риск развития метаболического нарушения.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутоксина субъекту с повышенным содержанием лизофосфатидной кислоты в плазме относительно контроля. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы улучшения чувствительности к инсулину, включающие введение ингибитора аутоксина индивидууму, чувствительному к инсулину. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутоксина субъекту с резистентностью к инсулину. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутоксина для улучшения секреции инсулина у индивидуума. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы, включающие введение ингибитора аутоксина для улучшения толерантности к глюкозе у индивидуума с ухудшенной толерантностью к глюкозе. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы снижения разрастания жировой ткани у субъекта, включающие введение субъекту ингибитора аутоксина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения метаболического нарушения у субъекта, который имеет лишний вес или ожирение, включающие введение субъекту ингибитора аутоксина.

### **Индуцированная лекарственным средством гипергликемия**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения индуцированной лекарственным средством гипергликемии у субъекта, включающие введение субъекту ингибитора аутоксина. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутоксина субъекту лечит, предупреждает, или облегчает симптомы индуцированной лекарственным средством гипергликемии. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутоксина субъекту лечит, предупреждает или облегчает симптомы индуцированной лекарственным средством гипергликемии путем снижения содержания глюкозы в крови. Фармакологические средства могут влиять на гомеостаз глюкозы, что может приводить к гипергликемии. Согласно некоторым вариантам осуществления гипергликемия наблюдается при отсутствии диагноза сахарного диабета. Без лечения повышенное содержание глюкозы в крови может привести к необходимости оказания

срочной медицинской помощи. Симптомы включают в себя без ограничения усталость, ослабление, фруктовый запах дыхания, спутанность, отсутствие концентрации, затруднение дыхания, тошноту, рвоту, сухость кожи и покраснение кожи. Распространенные категории лекарственных средств, которые ассоциируются со способствованием гипергликемии включают в себя без ограничения антибиотики, такие как фторхинолоны, в том числе гатифлоксацин; бета-блокаторы, такие как пропранолол, метопролол или атенолол; тиазид, такой как гидрохлортиазид, а также подобные тиазиду диуретики и подобные тиазиду лекарственные средства (метолазон); антипсихотические средства второго поколения (SGA) или «атипичные антипсихотические средства», такие как оланзапин или клозапин; кортикостероиды; ингибиторы кальциневрина, такие как циклоспорин, сиролимус или такролимус; а также ингибиторы протеазы, такие как ритонавир.

### **Индукцированная стрессом гипергликемия**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения индуцированной стрессом гипергликемии у субъекта, включающие введение субъекту ингибитора аутотаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутотаксина субъекту лечит, или предупреждает, или замедляет проявление индуцированной стрессом гипергликемии. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутотаксина субъекту лечит, или предупреждает, или замедляет проявление индуцированной стрессом гипергликемии путем снижения содержания глюкозы в крови. Индуцированная стрессом гипергликемия (SIH) представляет собой временное повышение содержания глюкозы в плазме выше 200 мг/дл, что происходит при острой фазе болезни или повреждения. Согласно некоторым вариантам осуществления гипергликемия наблюдается при отсутствии диагноза сахарного диабета. SIH является результатом превышения продуцированием глюкозы клиренса глюкозы. SIH ассоциируется с состояниями, включающими в себя без ограничения инфаркт миокарда, инсульт и травму. SIH ассоциируется с повышением смертности и более высокой заболеваемостью застойной сердечной недостаточностью и кардиогенным шоком у больных после инфаркта миокарда. Среди перенесших инсульт наблюдаются более высокая смертность, ассоциированная с SIH, и худшие шансы желаемых неврологических исходов, поскольку содержание глюкозы повышается при SIH. Также показали, что гипергликемия является прогностическим фактором инфекционных осложнений в форме пневмонии, инфекций мочевых путей, раневых инфекций и бактерий. В целом, опубликованные исследования постоянно демонстрируют более

высокую заболеваемость и более высокую смертность среди больных, у которых имеется СИИ.

### **Внутриглазное давление**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения повышенного внутриглазного давления, ассоциированного с глаукомой, у субъекта, при этом способы включают введение ингибитора аутоаксина субъекту.

Глаукома является одной из основных причин слепоты и характеризуется повышенным внутриглазным давлением (IOP). IOP представляет собой основной фактор риска для развития глаукомы, и риск развития глаукома снижается при снижении IOP. Глазная гипотензивная терапия является основой лечения глаукомы. Повышенное IOP возникает в результате пониженного оттока внутриглазной жидкости (АН) через трабекулярный путь и активности аутоаксина, приводящей к избытку белка в АН человека. Аутоаксин секретируется клетками трабекулярной сети человека, и активность аутоаксина существенно повышается у больных глаукомой. Ингибирование активности аутоаксина в АН путем местной и интракамеральной доставки низкомолекулярного ингибитора приводит к снижению IOP у кроликов.

### **Невропатическая боль**

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе раскрываются способы лечения невропатической боли ингибитором аутоаксина.

LPA индуцирует невропатическую боль, а также демиелинизацию и связанные с болью изменения экспрессии белков через LPA1. В некоторых случаях гетерозиготные нокаутные по аутоаксину мыши демонстрируют приблизительно 50% восстановление индуцированной повреждением нерва невропатической боли по сравнению с мышами дикого типа. Известно, что лизофосфатидилхолин (LPC) индуцирует невропатическую боль. В некоторых случаях индуцированная LPC невропатическая боль частично уменьшается у гетерозиготных нокаутных по аутоаксину мышей.

Невропатическая боль является результатом повреждения нерва. В отличие от непосредственной боли, вызванной повреждением ткани согласно некоторым вариантам осуществления невропатическая боль развивается через сутки или месяцы после травматического повреждения. Кроме того, невропатическая боль зачастую является длительной или хронической и может возникать спонтанно или в результате раздражения, которое в норме не является болезненным.

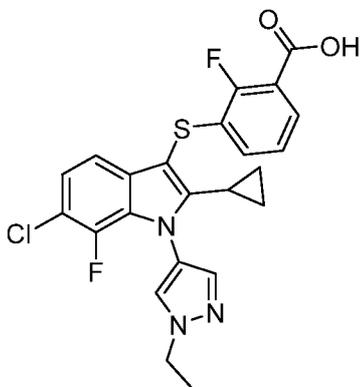
### Соединения ингибитора аутоаксина

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина, предусмотримый для применения согласно любому из вариантов осуществления, описываемых в настоящем документе, представляет собой низкомолекулярный ингибитор.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитором аутоаксина является низкомолекулярный ингибитор, который характеризуется наличием одного или нескольких из следующих свойств:

- молекулярная масса не более 700;
- способность по меньшей мере 50% ингибирования (при 1 микромоле) превращения аутоаксином лизофосфатидилхолина в лизофосфатидную кислоту в подходящем *in vitro* анализе, при котором измеряют такую активность;
- селективное ингибирование активности аутоаксина;
- подходит для введения человеку при терапевтически релевантных дозах по меньшей мере с 50% ингибированием аутоаксина при остаточной концентрации.

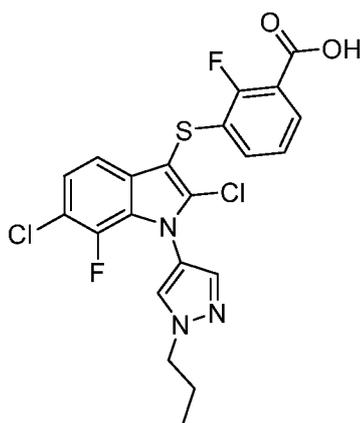
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина характеризуется структурой соединения А:



Соединение А.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение А используют как свободную кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение А используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение А используют как соль натрия.

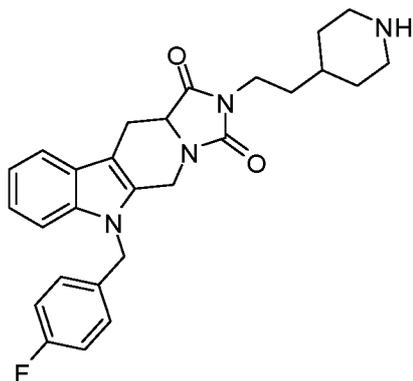
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина характеризуется структурой соединения В:



Соединение В.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение В используют как свободную кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение В используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения В используют как соль натрия.

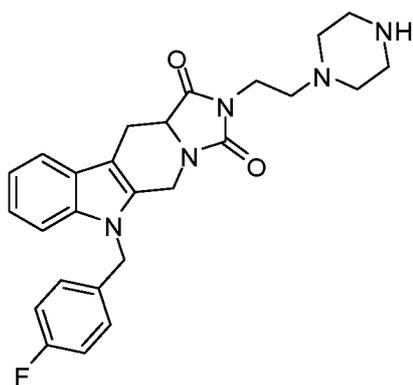
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоксина характеризуется структурой соединения С:



Соединение С.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединения С используют как свободный амин. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения С используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения С используют как хлористоводородную соль.

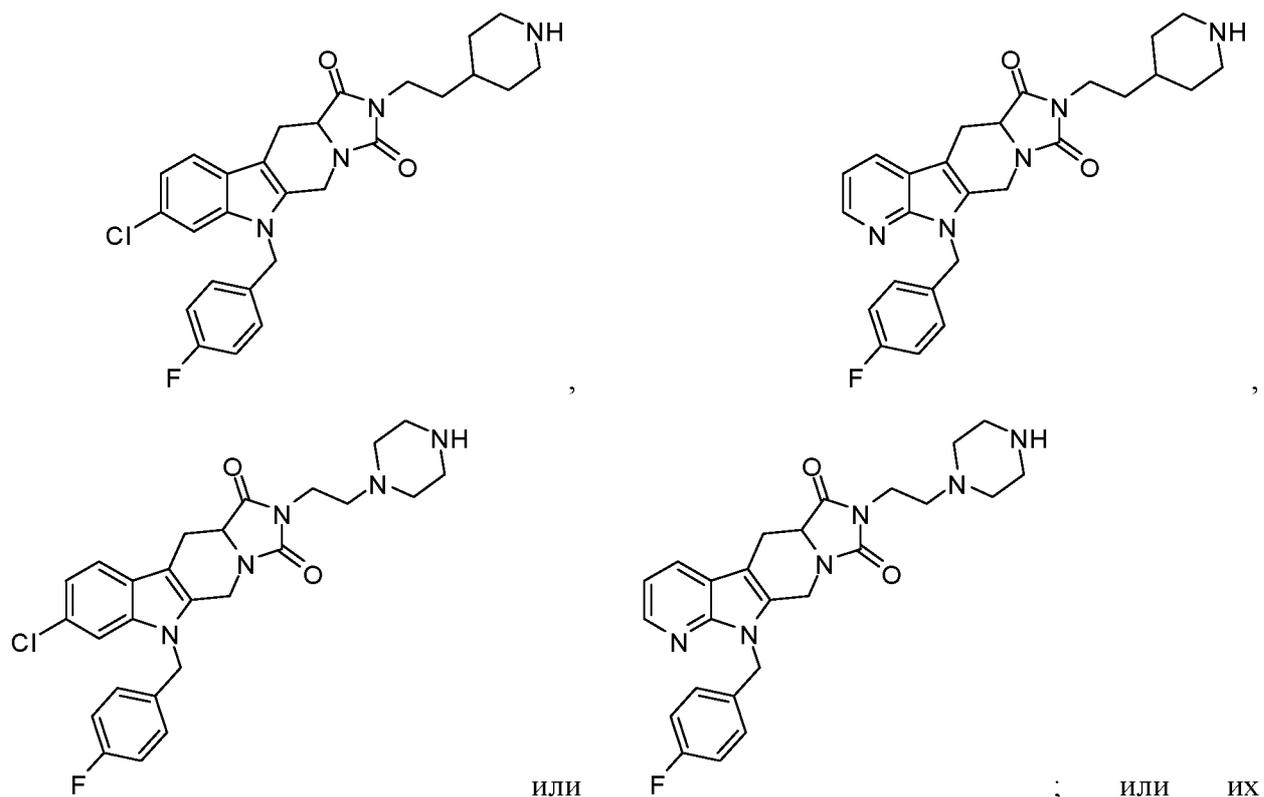
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоксина характеризуется структурой соединения D:



Соединение D.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение D используют как свободный амин. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение D используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения D используют как хлористоводородную соль.

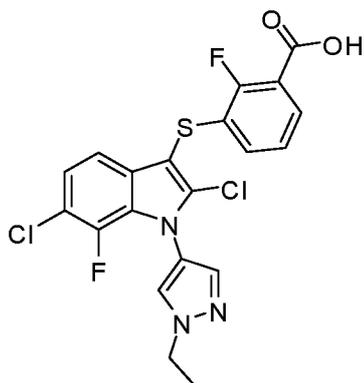
Дополнительные ингибиторы аутоаксина включают в себя соединения следующей структуры:



фармацевтически приемлемую соль.

Согласно некоторым вариантам осуществления 4-фторбензильная группа любого из предыдущих соединений заменяется на 4-хлорбензил; 3-хлорбензил; 3-фторбензил; 3,5-дифторбензил; 2,4-дифторбензил; 3,5-дихлорбензил; 2-хлорпиридин-5-илметил; 2-метоксипиридин-5-илметил; 2-трифторметилтиазол-5-илметил; фенилпроп-3-ил; тиен-2-илметил или 5-хлортиен-2-илметил.

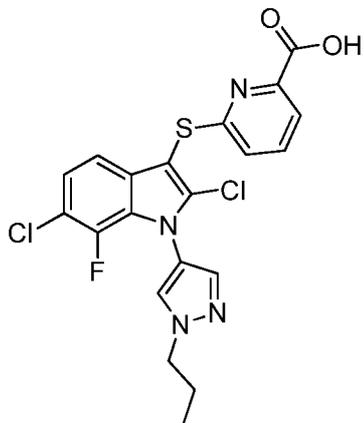
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина характеризуется структурой соединения E:



Соединение E.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение E используют как свободную кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение E используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение E используют как соль натрия.

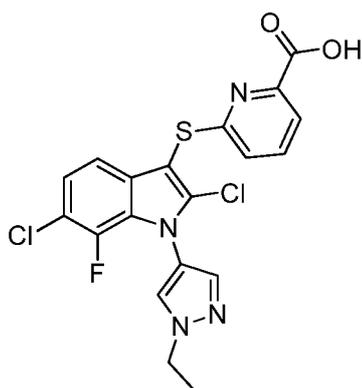
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина характеризуется структурой соединения F:



Соединение F.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение F используют как свободную кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение F используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение F используют как соль натрия.

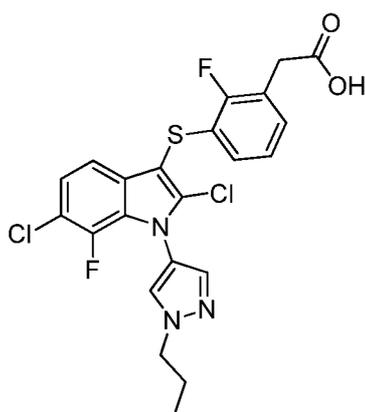
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина характеризуется структурой соединения G:



Соединение G.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение G используют как свободную кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение G используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения G используют как соль натрия.

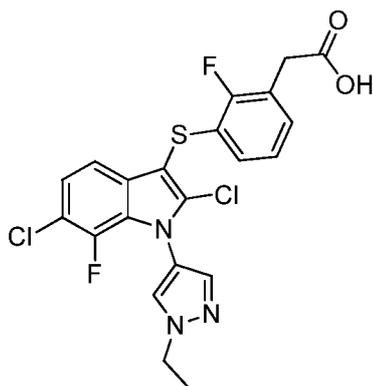
Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина характеризуется структурой соединения H:



Соединение H.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединения H используют как свободную кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения H используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения H используют как соль натрия.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина характеризуется структурой соединения I:



Соединение I.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение I используют как свободную кислоту. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение I используют как фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения I используют как соль натрия.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина для применения согласно любому из вариантов осуществления, описываемых в настоящем документе, представляет собой соединение, описываемое в международной патентной заявке № PCT/US2014/066706, поданной 20 ноября 2014 года, опубликованной как WO/2015/077503, которая тем самым включена в настоящий документ посредством ссылки в отношении таких соединений.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина для применения согласно любому из вариантов осуществления, описываемых в настоящем документе, представляет собой соединение, описываемое в международной патентной заявке № PCT/US2014/066705, поданной 20 ноября 2014 года, опубликованной как WO/2015/077502, которая тем самым включена в настоящий документ посредством ссылки в отношении таких соединений.

Согласно одному аспекту ингибиторы аутоаксина имеют форму фармацевтически приемлемых солей. Также активные метаболиты данных соединений, обладающие тем же типом активности, включены в объем настоящего раскрытия. Кроме того, ингибиторы аутоаксина могут существовать в несольватированной, а также сольватированной формах с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и т.п. Также считается, что сольватированные формы соединений, представленных в настоящем документе, раскрываются в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый» относится к материалу, такому как носитель или разбавитель, который не подавляет биологическую активность или свойства соединения и является относительно нетоксическим, т.е. материал вводят индивидууму без возникновения нежелательных

биологических эффектов или вредного взаимодействия с каким-либо из компонентов композиции, в которой он содержится.

Термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к форме терапевтически активного средства, которая состоит из катионной формы терапевтически активного средства в комбинации с подходящим анионом, или согласно альтернативным вариантам осуществления из анионной формы терапевтически активного средства в комбинации с подходящим катионом. Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use. International Union of Pure and Applied Chemistry, Wiley-VCH 2002; S.M. Berge, L.D. Bighley, D.C. Monkhouse, J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19; P. H. Stahl and C. G. Wermuth, editors, *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, Weinheim/Zürich: Wiley-VCH/VHCA, 2002. Фармацевтические соли, как правило, являются более растворимыми, растворяются в желудочном и кишечном соках быстрее, чем неионные частицы и, таким образом, применимы в твердых дозированных формах. Кроме того, поскольку их растворимость часто является функцией pH, возможно селективное растворение в одной или другой части пищеварительного тракта, и этой способностью можно манипулировать, как одним из аспектов поведения с отложенным и замедленным высвобождением. Кроме того, поскольку солеобразующая молекула может находиться в равновесии с нейтральной формой, можно регулировать проход через биологические мембраны.

Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтически приемлемые соли получают путем осуществления реагирования ингибитора аутотаксина с кислотой. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина (т.е. форма свободного основания) является основным и реагирует с органической кислотой или неорганической кислотой. Неорганические кислоты включают в себя без ограничения хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, серную кислоту, фосфорную кислоту, азотную кислоту и метафосфорную кислоту. Органические кислоты включают в себя без ограничения 1-гидрокси-2-нафтойную кислоту; 2,2-дихлоруксусную кислоту; 2-гидроксиэтансульфоновую кислоту; 2-оксоглутаровую кислоту; 4-ацетамидобензойную кислоту; 4-аминосалициловую кислоту; уксусную кислоту; адипиновую кислоту; аскорбиновую кислоту (L); аспарагиновую кислоту (L); бензолсульфоновую кислоту; бензойную кислоту; камфорную кислоту (+); камфор-10-сульфоновую кислоту (+); каприновую кислоту (декановую кислоту); капроновую кислоту (гексановую кислоту); каприловую кислоту (октановую кислоту); угольную кислоту; коричную кислоту; лимонную кислоту; цикламовую кислоту; додецилсерную кислоту; этан-1,2-дисульфоновую кислоту; этансульфоновую кислоту; муравьиную

кислоту; фумаровую кислоту; галактаровую кислоту; гентизиновую кислоту; глюкогептоновую кислоту (D); глюконовую кислоту (D); глюкуроновую кислоту (D); глутаминовую кислоту; глутаровую кислоту; глицерофосфорную кислоту; гликолиевую кислоту; гиппуровую кислоту; изомаляновую кислоту; молочную кислоту (DL); лактобионовую кислоту; лауриновую кислоту; малеиновую кислоту; яблочную кислоту (-L); малоновую кислоту; миндальную кислоту (DL); метансульфоновую кислоту; нафталин-1,5-дисульфоновую кислоту; нафталин-2-сульфоновую кислоту; никотиновую кислоту; олеиновую кислоту; оксалиновую кислоту; пальмитиновую кислоту; памовую кислоту; фосфорную кислоту; пропионовую кислоту; пироглутаминовую кислоту (-L); салициловую кислоту; себациновую кислоту; стеариновую кислоту; янтарную кислоту; серную кислоту; виннокаменную кислоту (+L); тиоциановую кислоту; толуолсульфоновую кислоту (p) и ундециленовую кислоту.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина получают в виде хлоридной соли, сульфатной соли, бромидной соли, мезилатной соли, малеатной соли, цитратной соли или фосфатной соли. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина получают в виде хлористоводородной соли.

Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтически приемлемые соли получают путем осуществления реагирования ингибитора аутотаксина с основанием. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина является кислотным и реагирует с основанием. В таких случаях кислотный протон ингибитора аутотаксина заменяется ионом металла, например, ионом лития, натрия, калия, магния, кальция или алюминия. В некоторых случаях ингибиторы аутотаксина вступают в координационную связь с органическим основанием, таким как без ограничения этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, трометамин, меглумин, N-метилглюкамин, дециклогексиламин, трис(гидрокси-метил)метиламин. В других случаях ингибиторы аутотаксина образуют соли с аминокислотами, такими как без ограничения аргинин, лизин и т.п. Приемлемые неорганические основания, используемые для образования солей с соединениями, которые включают в себя кислотный протон, включают в себя без ограничения гидроксид алюминия, гидроксид кальция, гидроксид калия, карбонат натрия, карбонат калия, гидроксид натрия, гидроксид лития и т.п. Согласно некоторым вариантам осуществления представленные в настоящем документе соединения получают как соль натрия, соль кальция, соль калия, соль магния, соль меглумина, соль N-метилглюкамина или соль аммония. Согласно некоторым вариантам осуществления представленные в настоящем документе соединения получают как соль натрия.

Следует учитывать, что упоминание фармацевтически приемлемой соли включает в себя формы присоединения растворителя. Согласно некоторым вариантам осуществления сольваты содержат либо стехиометрические, либо нестехиометрические количества растворителя и образуются в процессе кристаллизации с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и т.п. Гидраты образуются, если растворителем является вода, или алкоголяты образуются, если растворителем является спирт. Сольваты ингибиторов аутоаксина успешно получают или образуются в процессах, описываемых в настоящем документе. Кроме того, соединения, представленный в настоящем документе, необязательно существуют в несольватированной, а также сольватированной формах.

Способы и составы, описываемые в настоящем документе, включают применение *N*-оксидов (в случае необходимости), кристаллических форм (также известных как полиморфы) или фармацевтически приемлемых солей ингибиторов аутоаксина, а также активных метаболитов данных соединений, обладающих тем же типом активности.

Согласно некоторым вариантам осуществления участки в органических радикалах (например, алкильных группах, ароматических кольцах) ингибиторов аутоаксина восприимчивы к различным метаболическим реакциям. Включение соответствующих заместителей в органические радикалы будет снижать, минимизировать или устранять такой метаболический путь. Согласно конкретным вариантам осуществления соответствующим заместителем для снижения или устранения восприимчивости ароматического кольца к метаболическим реакциям является, исключительно в качестве примера, галоген, дейтерий, алкильная группа, галогеналкильная группа или дейтероалкильная группа.

Согласно другому варианту осуществления ингибиторы аутоаксина являются мечеными изотопом (например, радиоизотопом) или другим средством, в том числе без ограничения с применением хромофоров или флуоресцентных фрагментов, биолюминесцентных меток или хемилюминесцентных меток.

Ингибиторы аутоаксина включают в себя меченные изотопом соединения, которые являются идентичными упоминаемым в разных формулах и структурах, представленных в настоящем документе, за исключением того факта, что один или несколько атомов заменяются атомом, имеющим атомную массу или массовое число, отличное от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения в соответствии с настоящим изобретением, включают в себя изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фтора и хлора, такие как, например,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ . Согласно

одному аспекту меченные изотопом ингибиторы аутоаксина, например, такие, в которые встроены радиоактивные изотопы, такие как  $^3\text{H}$  и  $^{14}\text{C}$ , применимы в анализах распределения лекарственного средства и/или субстрата в ткани. Согласно одному аспекту замещение изотопами, такими как дейтерий, обеспечивает некоторые терапевтические преимущества, являющиеся результатом более высокой метаболической стабильности, такой как, например, повышенный *in vivo* период полувыведения, или снижения необходимой дозировки.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибиторы аутоаксина имеют один или нескольких стереоцентров, и каждый стереоцентр существует независимо либо в R-, либо в S-конфигурации. Соединения, представленные в настоящем документе, включают в себя все диастереомерные, энантиомерные, атропоизомерные и эпимерные формы, а также их соответствующие смеси. Соединения и способы, представленные в настоящем документе, включают все цис, транс, син, анти, «entgegen» (E) и «zusammen» (Z) изомеры, а также их соответствующие смеси.

Отдельные стереоизомеры получают при необходимости способами, такими как стереоселективный синтез и/или разделение стереоизомеров с помощью хиральных хроматографических колонок. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибиторы аутоаксина получают в виде их отдельных стереоизомеров путем осуществления реагирования рацемической смеси соединения с оптически активным растворяющим средством с образованием пары диастереоизомерных соединений/солей, разделения диастереомеров и извлечения оптически чистых энантиомеров. Согласно некоторым вариантам осуществления разделение энантиомеров выполняют с использованием ковалентных диастереомерных производных ингибиторов аутоаксина. Согласно другому варианту осуществления диастереомеры разделяют методиками отделения/разделения на основании разницы в растворимости. Согласно другим вариантам осуществления разделение стереоизомеров выполняют путем хроматографии или путем образования диастереомерных солей и разделения с помощью перекристаллизации, или хроматографии, или какой-либо их комбинации. Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981. Согласно некоторым вариантам осуществления стереоизомеры получают с помощью стереоселективного синтеза.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибиторы аутоаксина получают в виде пролекарств. Термин «пролекарство» относится к средству, которое превращается в исходное лекарственное средство *in vivo*. Пролекарства применяют часто, поскольку в некоторых случаях их вводить легче, чем исходное лекарственное средство. Они,

например, являются биодоступными при пероральном введении, тогда как исходное средство - нет. В качестве дополнения или альтернативы, пролекарство также обладает улучшенной растворимостью в фармацевтических композициях по сравнению с исходным лекарственным средством. Согласно некоторым вариантам осуществления разработка пролекарства повышает эффективность растворимости в воде. Неограничивающим примером пролекарства является ингибитор аутоаксина, который вводят в виде сложного эфира («пролекарства»), но затем он метаболически гидролизуется с обеспечением активного соединения. Следующим примером пролекарства является короткий пептид (полиаминокислота), связанный с кислотной группой, при этом пептид метаболизируется с обеспечением активного фрагмента. Согласно некоторым вариантам осуществления при *in vivo* введении пролекарство химическим путем превращается в биологически, фармацевтически или терапевтически активную форму соединения. Согласно некоторым вариантам осуществления пролекарство ферментативно метаболизируется одной(одним) или несколькими стадиями или процессами до биологически, фармацевтически или терапевтически активной формы соединения.

Пролекарства ингибиторов аутоаксина включают в себя без ограничения сложные эфиры, эфиры, карбонаты, тиокарбонаты, N-ацильные производные, N-ацилоксиалкильные производные, четвертичные производные третичных аминов, N-основания Манниха, основания Шиффа, аминокислотные конъюгаты, сложные эфиры фосфорной кислоты и сульфонаты сложных эфиров. См., например. Design of Prodrugs, Bundgaard, A. Ed., Elsevier, 1985; Method in Enzymology, Widder, K. *et al.*, Ed.; Academic, 1985, vol. 42, p. 309-396; Bundgaard, H. "Design and Application of Prodrugs" in A Textbook of Drug Design and Development, Krosgaard-Larsen and H. Bundgaard, Ed., 1991, Chapter 5, p. 113-191; и Bundgaard, H., Advanced Drug Delivery Review, 1992, 8, 1-38, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам осуществления гидроксильную группу в соединениях, раскрываемых в настоящем документе, используют для образования пролекарства, при этом гидроксильную группу включают в ацилоксиалкиловый эфир, алкилоксикарбонилоксиалкиловый сложный эфир, алкиловый сложный эфир, ариловый сложный эфир, сложный эфир фосфорной кислоты, сложный эфир сахаров, эфир и т.п. Согласно некоторым вариантам осуществления гидроксильная группа в соединениях, раскрываемых в настоящем документе, является пролекарством, при этом гидроксил затем метаболизируется *in vivo* с обеспечением группы карбоновой кислоты. Согласно некоторым вариантам осуществления карбоксильную группу используют для обеспечения сложного эфира или амида (т.е. пролекарства), который затем метаболизируется *in vivo* с обеспечением группы

карбоновой кислоты. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибиторы аутотаксина получают в виде пролекарств алкилового сложного эфира.

Пролекарственные формы описываемых в настоящем документе соединений, при этом пролекарство метаболизируется *in vivo* с обеспечением ингибитора аутотаксина, как изложено в настоящем документе, включены в объем формулы изобретения. В некоторых случаях некоторые из описываемых в настоящем документе соединений являются пролекарством для другого производного или активного соединения.

Согласно дополнительным или следующим вариантам осуществления ингибиторы аутотаксина метаболизируются при введении в организм в случае необходимости с обеспечением метаболита, который затем используется для получения желаемого эффекта, в том числе желаемого терапевтического эффекта.

Термин «метаболит» ингибитора аутотаксина представляет собой производное того соединения, которое образуется при метаболизировании соединения. Термин «активный метаболит» относится к биологически активному производному соединения, которое образуется при метаболизировании соединения. Используемый в настоящем документе термин «метаболизированный» относится к сумме процессов (в том числе без ограничения гидролизных реакций и реакций, катализируемых ферментами), с помощью которых конкретное вещество изменяется в организме. Таким образом, ферменты могут осуществлять специфические структурные изменения в соединении. Например, цитохром P450 катализирует ряд окислительных и восстановительных реакций, тогда как уридиндифосфатглюкурозилтрансферазы катализируют перенос активированной молекулы глюкуроновой кислоты в ароматические спирты, алифатические спирты, карбоновые кислоты, амины и свободные сульфгидрильные группы. Метаболиты соединений, раскрываемых в настоящем документе, необязательно идентифицируют либо путем введения соединений хозяину и анализа образцов ткани хозяина, либо путем инкубации соединений с печеночными клетками *in vitro* и анализа полученных в результате соединений.

### **Некоторая терминология**

Если не указано иное, следующие используемые в настоящей заявке термины имеют определения, приведенные ниже. Применение термина «включающий в себя», а также других форм, таких как «включать в себя», «включает в себя» и «включают в себя» не является ограничивающим. Заголовки разделов, используемых в настоящем документе, служат исключительно организационным целям и не предназначены ограничивать описываемый заявляемый объект.

Термин «приемлемый» в отношении состава, композиции или ингредиента, используемых в настоящем документе, означает отсутствие постоянного вредного влияния на общее состояние здоровья субъекта, подлежащего лечению.

Используемый в настоящем документе термин «модулировать» означает взаимодействие с целью либо непосредственно, либо опосредованно с изменением активности цели, в том числе, исключительно в качестве примера, с усилением активности цели, с ингибированием активности цели, с ограничением активности цели или с продлением активности цели.

Используемый в настоящем документе термин «модулятор» относится к молекуле, которая взаимодействует с целью либо непосредственно, либо опосредованно. Взаимодействия включают в себя без ограничения взаимодействия агониста, частичного агониста, обратимого агониста, антагониста, деструктора или их комбинаций. Согласно некоторым вариантам осуществления модулятором является антагонист. Согласно некоторым вариантам осуществления модулятором является деструктор.

Используемые в настоящем документе термины «вводить», «применение», «введение» и т.п. относятся к способам, которые могут быть использованы для обеспечения доставки соединений или композиций в желаемый участок биологического действия. Такие способы предусматривают без ограничения пероральные пути, интрадуоденальные пути, парентеральную инъекцию (в том числе внутривенную, подкожную, внутривентрикулярную, внутримышечную, внутрисосудистую или инфузию), местное и ректальное введение. Специалистам в данной области известны методики введения, которые могут быть использованы с соединениями и способами, описываемыми в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения и композиции, описываемые в настоящем документе, вводят перорально.

Используемые в настоящем документе термины «совместное введение» или т.п. охватывают введение выбранных терапевтических средств одному больному и включают режимы лечения, при которых средства вводят одним и тем же или иным путем введения либо одновременно, либо в разное время.

Используемые в настоящем документе термины «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относятся к достаточному количеству средства или соединения, подлежащего введению, которое будет облегчать до некоторой степени один или несколько симптомов заболевания или состояния, подлежащего лечению. Результат включает в себя снижение и/или облегчение признаков, симптомов или причин заболевания или какого-либо другого желаемого облегчения в биологической системе. Например, термин «эффективное количество» для терапевтических применений

представляет собой количество композиции, содержащей соединение, раскрываемое в настоящем документе, необходимое для обеспечения клинически существенного уменьшения симптомов заболевания. Соответствующее «эффективное количество» в любом отдельном случае необязательно определяют с использованием методик, таких как исследование с повышением дозы.

Используемые в настоящем документе термины «усиливать» или «усиление» означают повышение или пролонгирование либо эффективности, либо продолжительности желаемого эффекта. Таким образом, в отношении усиления эффекта терапевтических средств термин «усиление» относится к способности повышать или пролонгировать либо эффективность, либо продолжительность эффекта других терапевтических средств в системе. Используемый в настоящем документе термин «усиливающее эффективное количество» относится к количеству, адекватно усиливающему эффект другого терапевтического средства в желаемой системе.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтическая комбинация» означает продукт, который является результатом смешивания или объединения более чем одного активного ингредиента и включает в себя как фиксированные, так и нефиксированные комбинации активных ингредиентов. Термин «фиксированная комбинация» означает, что активные ингредиенты, например, ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль и сопутствующее средство, вводят больному одновременно в форме одной единицы или дозировки. Термин «нефиксированная комбинация» означает, что активные ингредиенты, например, ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль и сопутствующее средство, вводят больному одновременно, параллельно или последовательно без определенных предельных сроков между ними, при этом такое введение обеспечивает эффективное содержание двух соединений в организме больного. Последнее также применимо для коктейльной терапии, например, для введения трех или более активных ингредиентов.

Термины «набор» и «изделие» используют как синонимы.

Термин «субъект» или «больной» охватывает млекопитающих. Примеры млекопитающих включают в себя без ограничения любого представителя класса млекопитающих: людей, отличных от человека приматов, таких как шимпанзе, других видов узконосых обезьян и отличных от узконосых обезьян; сельскохозяйственных животных, таких как крупный рогатый скот, лошади, овцы, козы, свиньи; домашних животных, таких как кролики, собаки и кошки; лабораторных животных, в том числе грызунов, таких как крысы, мыши и морские свинки, и т.п. Согласно одному аспекту млекопитающим является человек.

Используемые в настоящем документе термины «лечить», «процесс лечения» или «лечение» включают в себя ослабление, смягчение или облегчение по меньшей мере одного симптома заболевания или состояния, предупреждение дополнительных симптомов, ингибирование заболевания или состояния, например, подавление развития заболевания или состояния, устранение заболевания или состояния, обеспечение регрессии заболевания или состояния, устранение состояния, вызванного заболеванием или состоянием, или прекращение симптомов заболевания или состояния профилактически и/или терапевтически.

### **Ингибирование аутоактина**

Согласно различным аспектам в настоящем документе представлены способы предупреждения или лечения заболевания, нарушения или состояния у субъекта, для которого будет полезно ингибирование или снижение активности аутоактина, включающие введение субъекту ингибитора аутоактина. Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе представлены способы снижения активности аутоактина в плазме у субъекта при необходимости этого, включающие введение терапевтически эффективного количества ингибитора аутоактина субъекту при необходимости этого. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект, нуждающийся в лечении, страдает заболеванием, нарушением или состоянием, ассоциированным с активностью аутоактина. В настоящем документе описываются неограничивающие примеры заболеваний, нарушений и состояний.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения одного или нескольких состояний, заболеваний и/или нарушений у человека, включающие введение ингибитора аутоактина, при этом ингибитор аутоактина подходит для введения человеку при терапевтически релевантных дозах по меньшей мере с 50% ингибированием аутоактина при остаточной концентрации.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения одного или нескольких состояний, заболеваний и/или нарушений у субъекта, при этом способ включает введение неконкурентного ингибитора аутоактина. Неограничивающие примеры неконкурентных ингибиторов аутоактина включают в себя соединение А и соединение В.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения одного или нескольких состояний, заболеваний и/или нарушений у субъекта, включающие введение ингибитора аутоактина субъекту, при этом

ингибитор аутоаксина характеризуется *in vitro* IC<sub>50</sub> ингибирования аутоаксина менее приблизительно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 20 нМ или 10 нМ. Согласно некоторым примерам *in vitro* анализ ингибирования аутоаксина включает в себя анализ, описываемый в примерах.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения одного или нескольких состояний, заболеваний и/или нарушений у субъекта, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина, при этом ингибитор аутоаксина предпочтительно ингибирует активность аутоаксина по сравнению с ENPP1, ENPP3, ENPP6 и/или ENPP7. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина, применимый в способах лечения, описываемых в настоящем документе, характеризуется IC<sub>50</sub> для ингибирования ENPP1, ENPP3, ENPP6 или ENPP7 более приблизительно 10, 20 или 100 мкМ в *in vitro* анализе, в котором измеряют такую активность. В таком *in vitro* анализе соединение А и соединение В демонстрировали IC<sub>50</sub> более 10 мкМ для ENPP 1, 3, 6 и 7.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы лечения одного или нескольких состояний, заболеваний и/или нарушений у субъекта, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина, при этом ингибитор аутоаксина по меньшей мере на 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% связывается плазмой.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе описываются способы предупреждения или лечения одного или нескольких состояний, заболеваний и/или нарушений у субъекта, при этом способ включает введение ингибитора аутоаксина, при этом ингибитор аутоаксина вызывает острую или хроническую токсичность в печени. Согласно некоторым вариантам осуществления токсичность в печени может быть оценена в подходящих *in vivo* анализах. Согласно некоторым вариантам осуществления токсичность в печени оценивают путем мониторинга каких-либо повышенный содержания печеночных маркеров ALT, AST, AlkP и билирубина. Например, в подходящем исследовании токсичность в печени собаки соединение А демонстрировало нежелательное повышение печеночных маркеров, тогда как соединение В не демонстрировало таких эффектов. Согласно некоторым вариантам осуществления не наблюдали повышение печеночных маркеров ALT, AST, AlkP и билирубина для соединения В при введении дозы 100 мг/кг массы тела в течение 5 суток.

## **Фармацевтические композиции**

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибиторы аутоаксина составляют в фармацевтические композиции. Фармацевтические композиции составляют традиционным способом с использованием одного или нескольких фармацевтически приемлемых неактивных ингредиентов, которые облегчают обработку активных соединений в препараты, используемые фармацевтически. Соответствующий состав зависит от выбранного пути введения. Краткое описание фармацевтических композиций, описываемых в настоящем документе, находится, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; и Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, 1999), включенных в настоящий документ посредством ссылки для такого раскрытия.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибиторы аутоаксина вводят либо отдельно, либо в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителями, вспомогательными средствами или разбавителями в фармацевтической композиции. Введение ингибиторов аутоаксина и композиций, описываемых в настоящем документе, может быть осуществлено любым способом, который обеспечивает доставку соединений на участок действия. Такие способы включают без ограничения доставку с помощью энтеральных путей (в том числе перорального, желудочного или дуоденального зонда для питания, ректального суппозитория и ректальной клизмы), парентеральных путей (инъекции или инфузии в том числе внутриартериальной, внутрисердечной, внутрисосудистой, внутримышечной, внутривенной, интраперитонеальной, внутриболоочечной, интравитреальной, эпидуральной и подкожной), ингаляционного, чрескожного, чресслизистого, подязычного, буккального и местного (в том числе накожного, внутрисосудистого, внутримышечного, внутривенного, интраназального, вагинального) введения, хотя наиболее подходящий путь может зависеть, например, от состояния и нарушения реципиента. Исключительно в качестве примера, ингибиторы аутоаксина могут быть введены локально в зону при необходимости лечения, например, путем локальной инфузии в ходе хирургического вмешательства, местным нанесением, например, кремами или мазями, инъекцией, катетером или имплантом. Введение также может включать прямую инъекцию в участок больных ткани или органа.

Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции, подходящие для перорального введения, представлены в виде дискретных единиц, таких

как капсулы, саше или таблетки, каждая из которых содержит предварительно определенное количество активного ингредиента; в виде порошка или гранул; в виде раствора или суспензии в водной среде или неводной среде; или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или жидкой эмульсии вода-в-масле. Согласно некоторым вариантам осуществления активный ингредиент представлен в виде болюса, электуария или пасты.

Фармацевтические композиции, которые могут быть использованы перорально, включают в себя таблетки, твердые капсулы, выполненные из желатина, а также мягкие, запечатанные капсулы, выполненные из желатина и пластификатора, такого как глицерин или сорбит. Таблетки могут быть изготовлены путем прессования или формования, необязательно с одним или несколькими вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть получены путем прессования в подходящем устройстве активного ингредиента в сыпучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанного со связующими, инертными разбавителями или скользящими, поверхностно активными или диспергирующими средствами. Формованные таблетки могут быть получены путем формования в подходящем устройстве смеси порошкообразного соединения, смоченного инертным жидким разбавителем. Согласно некоторым вариантам осуществления таблетки покрывают или выполняют насечку и составляют так, чтобы обеспечить медленное или контролируемое высвобождение активного ингредиента из нее. Все составы для перорального введения должны иметь дозировки, подходящие для такого введения. Твердые капсулы могут содержать активные ингредиенты в смеси с наполнителем, таким как лактоза, связующими, такими как крахмалы, и/или скользящими средствами, такими как тальк или стеарат магния, и необязательно стабилизаторами. В мягких капсулах активные соединения могут быть растворены или суспендированы в подходящих жидкостях, таких как нелетучие масла, жидкий парафин или жидкие полиэтиленгликоли. Согласно некоторым вариантам осуществления добавляют стабилизаторы. Дражированные ядра обеспечивают подходящими покрытиями. Для этой цели могут быть использованы концентрированные растворы сахаров, которые необязательно могут содержать аравийскую камедь, тальк, поливинилпирролидон, карбоповый гель, полиэтиленгликоль и/или диоксид титана, растворы лаков и подходящие органические растворители или смеси растворителей. Могут быть добавлены красители или пигменты в таблетки или дражировочные покрытия для идентификации или для характеристики различных комбинаций доз активного соединения.

Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции составляют для парентерального введения путем инъекции, например, путем болюсной

инъекции или непрерывной инфузии. Составы для инъекции могут быть представлены в единичной дозированной форме, например, в ампулах или в многодозовых контейнерах, с добавленным консервантом. Композиции могут принимать такие формы как суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных средах-носителях и могут содержать вспомогательные средства, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие средства. Композиции могут быть представлены в однодозовых или многодозовых контейнерах, например, запечатанных ампулах и флаконах, и могут храниться в порошковой форме или в высушенном вымораживанием (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого носителя, например, физиологического раствора или стерильной апиrogenной воды, непосредственно перед применением. Экстемпоральные инъекционные растворы и суспензии могут быть получены из стерильных порошков, гранул и таблеток ранее описанного вида.

Фармацевтические композиции для парентерального введения включают в себя водные и неводные (масляные) стерильные инъекционные растворы активных соединений, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатики и растворенные вещества, которые делают состав изотоничным крови предполагаемого реципиента; а также водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать в себя суспендирующие средства и загустители. Подходящие липофильные растворители или среды-носители включают в себя нелетучие масла, такие как кунжутное масло, или синтетические сложные эфиры жирных кислот, такие как этилолеат или триглицериды, или липосомы. Водные инъекционные суспензии могут содержать вещества, которые усиливают вязкость суспензии, такие как натрия карбоксиметилцеллюлоза, сорбит или декстран. Необязательно суспензия также может содержать подходящие стабилизаторы или средства, которые усиливают растворимость соединений для обеспечения получения высококонцентрированных растворов.

Фармацевтические композиции также могут быть составлены в виде депо-препарата. Такие составы длительного действия могут быть введены путем имплантации (например, подкожно или внутримышечно) или путем внутримышечной инъекции. Таким образом, соединения могут быть составлены с подходящими полимерными или гидрофобными материалами (например, в виде эмульсии в приемлемом масле) или ионообменными смолами, или в виде умеренно растворимых производных, например, в виде умеренно растворимой соли.

Для буккального или подъязычного введения композиции могут принимать форму таблеток, леденцов, пастилок или гелей, составленных традиционным образом. Такие

композиции могут содержать активный ингредиент со вкусовой основой, такой как сахароза и акациевая камедь или трагакант.

Фармацевтические композиции также могут быть составлены в ректальные композиции, таких как суппозитории или удерживающие клизмы, например, содержащие традиционные основы для суппозитория, такие как масло какао, полиэтиленгликоль или другие глицериды.

Фармацевтические композиции могут быть введены местным путем, то есть путем несистемного введения. Это предусматривает нанесение ингибитора аутоаксина в соответствии с настоящим изобретением внешним образом на эпидермис или буккальную полость и закапывание такого ингибитора аутоаксина в ухо, глаз и нос так, что соединение попадает в кровоток не значительно. Напротив, системное введение относится к пероральному, внутривенному, интраперитонеальному и внутримышечному введению.

Фармацевтические композиции, подходящие для местного введения, включают в себя жидкие или полужидкие препараты, подходящие для проникновения через кожу в участок воспаления, такие как гели, линименты, лосьоны, кремы, мази или пасты и капли, подходящие для введения в глаз, ухо или нос. Активный ингредиент может составлять для местного введения от 0,001% до 10% масса/масса, например, от 1% до 2% от массы состава.

Фармацевтические композиции для введения ингаляцией удобно доставлять из инсуффлятора, аэрозольных баллонов, находящихся под давлением, или других удобных средств доставки аэрозоля. Баллоны, находящиеся под давлением, могут содержать подходящий газ-вытеснитель, такой как дихлордифторметан, трихлорфторметан, дихлортетрафторэтан, диоксид углерода или другой подходящий газ. В случае находящегося под давлением аэрозоля дозированная единица может быть определена путем обеспечения клапана для доставки отмеренного количества. В качестве альтернативы, для введения ингаляцией или инсуффляцией фармацевтические препараты могут принимать форму композиции сухого порошка, например, порошкообразной смеси соединения и подходящей порошковой основы, такой как лактоза или крахмал. Порошковая композиция может быть представлена в единичной дозированной форме, например, в капсулах, картриджах, желатиновых или блистерных упаковках, из которых порошок может быть введен с помощью ингалятора или инсуффлятора.

Следует учитывать, что в дополнение к ингредиентам, конкретно упомянутым выше, ингибиторы аутоаксина и композиции, описываемые в настоящем документе, могут включать в себя другие принятые в данной области средства, имеющие отношение

к типу рассматриваемого состава, например, подходящие для перорального введения, могут включать в себя ароматизаторы.

### **Способы введения дозы и режимы лечения**

Согласно одному варианту осуществления ингибиторы аутотаксина или их фармацевтически приемлемую соль используют в получении лекарственных препаратов для лечения заболеваний или состояний у млекопитающего, при которых будет полезно ингибирование или снижение активности аутотаксина. Способы лечения любого из заболеваний или состояний, описываемых в настоящем документе, у млекопитающего при необходимости такого лечения, включают введение фармацевтических композиций, которые включают в себя по меньшей мере один ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль, активный метаболит, пролекарство или фармацевтически приемлемый сольват, в терапевтически эффективных количествах указанному млекопитающему.

Согласно некоторым вариантам осуществления композиции, содержащие соединение(ия), описываемые в настоящем документе, вводят для профилактического и/или терапевтического лечения. Согласно некоторым терапевтическим применениям композиции вводят больному, уже страдающему заболеванием или состоянием, в количестве, достаточном для излечения или по меньшей мере частичного прекращения проявления по меньшей мере одного из симптомов заболевания или состояния. Количества, эффективные для такого применения, зависят от тяжести и течения заболевания или состояния, предварительной терапии, состояния здоровья больного, массы и ответа на лекарственные средства, а также от мнения лечащего врача. Терапевтически эффективные количества необязательно определяют способами, включающими в себя без ограничения клиническим испытанием с увеличением дозы и/или с подбором оптимальной дозы.

При профилактических применениях композиции, содержащие ингибиторы аутотаксина, вводят больному, восприимчивому к конкретному заболеванию, нарушению или состоянию, или, в противном случае, с риском развития таковых. Такое количество определяют как «профилактически эффективное количество или дозу». При таком применении точные количества также зависят от состояния здоровья больного, массы и т.п. При использовании у больных эффективные количества для такого применения будут зависеть от тяжести и течения заболевания, нарушения или состояния, предварительной терапии, состояния здоровья больного, массы и ответа на лекарственные средства, а также от мнения лечащего врача. Согласно одному аспекту профилактические терапевтические средства включают введение млекопитающему, которое ранее испытывало по меньшей

мере один симптом заболевания, подлежащего лечению, и в настоящий момент находится в состоянии ремиссии, фармацевтической композиции, содержащей ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль, для предупреждения возвращения симптомов заболевания или состояния.

Согласно некоторым вариантам осуществления, если состояние больного не улучшается, то на усмотрение врача введение ингибиторов аутотаксина осуществляют хронически, то есть в течение увеличенного периода времени, в том числе на протяжении жизни больного, для облегчения, или иным образом контролирования, или ограничения симптомов заболевания или состояния у больного.

Согласно некоторым вариантам осуществления, если состояние больного улучшается, то дозу лекарственного средства, подлежащего введению, временно снижают или введение временно приостанавливают на определенный промежуток времени (т.е. «отдых от лекарственного средства»). Согласно конкретным вариантам осуществления продолжительность отдыха от лекарственного средства составляет от 2 суток до 1 года, в том числе, исключительно в качестве примера, 2 суток, 3 суток, 4 суток, 5 суток, 6 суток, 7 суток, 10 суток, 12 суток, 15 суток, 20 суток, 28 суток или более 28 суток. Снижение дозы на протяжении отдыха от лекарственного средства составляет, исключительно в качестве примера, от 10% до 100%, в том числе, исключительно в качестве примера, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% и 100%.

Как только происходит улучшение состояний больного, при необходимости вводят поддерживающую дозу. Затем согласно конкретным вариантам осуществления дозировку, или частоту введения, или и то, и другое снижают как функцию от симптомов до уровня, при котором улучшение заболевания, нарушения или состояния сохраняется. Согласно некоторым вариантам осуществления, однако, больному требуется интермиттирующая терапия на длительной основе при любом рецидиве симптомов.

Количество данного средства, которое соответствует такому количеству, варьирует в зависимости от факторов, таких как конкретный ингибитор аутотаксина, состояние заболевания и его тяжесть, индивидуальная особенность (например, масса, пол) субъекта или хозяина, нуждающегося в лечении, но все таки определяется в соответствии с конкретными обстоятельствами, связанными с этим заболеванием, в том числе, например, конкретное средство, подлежащее введению, путь введения, состояние, подлежащее лечению, и субъект или хозяин, требующий лечения.

Однако обычно дозы, используемые для взрослого человека, как правило, находятся в диапазоне от 0,01 мг 5000 мг в сутки. Согласно одному аспекту дозы,

используемые для взрослого человека, составляют от приблизительно 1 мг до приблизительно 1000 мг в сутки. Согласно одному варианту осуществления желаемая доза для удобства представлена в виде однократной дозы или в виде разделенных доз, вводимых одновременно или с соответствующими интервалами, например, в виде двух, трех, четырех или более частей доз в сутки.

Согласно одному варианту осуществления суточные дозировки, подходящие для ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли, составляют от приблизительно 0,01 до приблизительно 50 мг/кг массы тела. Согласно некоторым вариантам осуществления суточные дозировка или количество активного ингредиента в дозированной форме ниже или выше диапазонов, указанных в настоящем документе, в зависимости от ряда переменных, касающихся индивидуального режима лечения. Согласно различным вариантам осуществления суточные и единичные дозировки меняют в зависимости от ряда переменных, в том числе без ограничения от активности используемого ингибитора аутоаксина, заболевания или состояния, подлежащих лечению, способа введения, требований отдельного субъекта, тяжести заболевания или состояния, подлежащего лечению, и мнения лечащего врача.

Токсичность и терапевтическая эффективность таких терапевтических режимов определяют стандартными фармацевтическими процедурами на клеточных культурах или экспериментальных животных, в том числе без ограничения определение  $LD_{50}$  и  $ED_{50}$ . Отношение доз с токсическим и терапевтическим эффектами представляет собой терапевтический индекс и выражается как отношение  $LD_{50}$  к  $ED_{50}$ . Согласно некоторым вариантам осуществления данные, полученные из анализов с клеточными культурами и исследований на животных, используют в составлении терапевтически эффективного диапазона суточной дозировки и/или терапевтически эффективного количества единичной дозировки для применения у млекопитающих, в том числе людей. Согласно некоторым вариантам осуществления количество суточной дозировки ингибиторов аутоаксина лежит в диапазоне циркулирующих концентраций, которые включают в себя  $ED_{50}$  с минимальной токсичностью. Согласно некоторым вариантам осуществления диапазон суточной дозировки и/или количество единичной дозировки варьирует в этом диапазоне в зависимости от используемой дозированной формы и используемого пути введения.

Согласно какому-либо из вышеупомянутых аспектов представлены дополнительные варианты осуществления, в которых эффективное количество ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли (а) вводят млекопитающему системно; и/или (б) вводят млекопитающему перорально; и/или (с) вводят млекопитающему внутривенно; и/или (д) вводят млекопитающему инъекцией;

и/или (e) вводят млекопитающему местным путем; и/или (f) вводят млекопитающему несистемно или локально.

Согласно какому-либо из вышеупомянутых аспектов представлены дополнительные варианты осуществления, включающие однократные введения эффективного количества ингибитора аутоаксина, в том числе дополнительные варианты осуществления, при которых (i) ингибитор аутоаксина вводят один раз в сутки; или (ii) ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему несколько раз в течение одних суток.

Согласно какому-либо из вышеупомянутых аспектов представлены дополнительные варианты осуществления предусматривающие многократные введения эффективного количества ингибитора аутоаксина, в том числе дополнительные варианты осуществления, при которых (i) ингибитор аутоаксина вводят постоянно или с промежутками: в виде однократной дозы; (ii) время между многократными введениями составляет 6 часов; (iii) ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему каждые 8 часов; (iv) ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему каждые 12 часов; (v) ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему каждые 24 часа. Согласно дополнительным или альтернативным вариантам осуществления способ предусматривает отдых от лекарственного средства, при котором введение ингибитора аутоаксина временно приостанавливают или дозу ингибитора аутоаксина, подлежащего введению, временно снижают; по окончании отдыха от лекарственного средства введение дозы ингибитора аутоаксина возобновляют. Согласно одному варианту осуществления продолжительность отдыха от лекарственного средства варьирует от 2 суток до 1 года.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение терапевтически эффективной дозы ингибитора аутоаксина не вызывает гепатобилиарное повреждение. Согласно некоторым вариантам осуществления введение ингибитора аутоаксина не вызывает повышение или не вызывает существенное повышение содержания в сыворотке крови одного или нескольких печеночных белков. Печеночные белки включают в себя без ограничения аспрататтрансаминазу (AST), билирубин и щелочную фосфатазу (ALP). В качестве примера, существенным повышением является повышение по меньшей мере на приблизительно 50%, 100%, 200% или более содержания белка в сыворотке крови после введения профилактической или терапевтической дозы ингибитора аутоаксина по сравнению с содержанием белка в сыворотке крови до введения ингибитора аутоаксина. Измерение печеночных ферментов после введения включает в себя измерение печеночных ферментов после завершения терапевтического режима. Измерение печеночных ферментов после введения включает в себя измерение печеночных ферментов на протяжении терапевтического режима.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение терапевтически эффективной дозы ингибитора аутоаксина не вызывает повышения в сыворотке крови содержания аспрататтрансаминазы (AST) по сравнению с содержанием в сыворотке крови AST до введения. Согласно некоторым вариантам осуществления введение терапевтически эффективной дозы ингибитора аутоаксина вызывает менее чем 10-кратное, 5-кратное, 3-кратное или 2-кратное повышение содержания AST в сыворотке крови по сравнению с содержанием AST в сыворотке крови до введения. Согласно некоторым вариантам осуществления после введения терапевтически эффективной дозы ингибитора аутоаксина субъекту содержание AST в сыворотке крови у субъекта составляет от приблизительно 8 до приблизительно 200 ед./л, от приблизительно 8 до 100 ед./л, от приблизительно 8 до 80 ед./л или от приблизительно 8 до 60 ед./л.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение терапевтически эффективной дозы ингибитора аутоаксина субъекту не вызывает повышения содержания билирубина у субъекта по сравнению с содержанием билирубина до введения. Согласно некоторым вариантам осуществления содержание билирубина не значительно повышается в пределах 1 или более суток, недель, месяцев или лет после начального введения ингибитора аутоаксина. Значительное повышение включает в себя по меньшей мере 2-кратное, 3-кратное, 4-кратное или 5-кратное повышение содержания билирубина после введения ингибитора аутоаксина.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение терапевтически эффективной дозы ингибитора аутоаксина субъекту не вызывает повышения содержания щелочной фосфатазы (ALP) у субъекта по сравнению с содержанием ALP до введения. Согласно некоторым вариантам осуществления содержание ALP не значительно повышается в пределах 1 или более суток, недель, месяцев или лет после начального введения ингибитора аутоаксина. Значительное повышение включает в себя по меньшей мере 2-кратное, 3-кратное, 4-кратное или 5-кратное повышение содержания ALP после введения ингибитора аутоаксина.

Согласно некоторым вариантам осуществления введение терапевтически эффективной дозы ингибитора аутоаксина субъекту не вызывает усиления в окрашивание желчи в образце печени от субъекта по сравнению с окрашиванием желчи до введения. Согласно некоторым вариантам осуществления окрашивание желчи не значительно усиливается в пределах 1 или более суток, недель, месяцев или лет после начального введения ингибитора АТХ.

Согласно некоторым вариантам осуществления после введения терапевтически эффективной дозы ингибитора аутоаксина субъекту содержание, не вызывающее

видимых неблагоприятных изменений (NOAEL), составляет по меньшей мере 1, 10, 20, 50, 100, 500 или 1000 миллиграмм ингибитора аутоксина на килограмм массы тела (мг/кг массы тела). Согласно некоторым примерам 7-суточное NOAEL для крысы, которой ввели ингибитор аутоксина, составляет по меньшей мере приблизительно 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 или 2000 мг/кг массы тела. Согласно некоторым примерам 7-суточное NOAEL для собаки, которой ввели ингибитор аутоксина, составляет по меньшей мере приблизительно 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500 мг/кг массы тела. Согласно некоторым примерам 5-суточное NOAEL для собаки, которой ввели ингибитор аутоксина, составляет по меньшей мере приблизительно 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500 мг/кг массы тела.

### **Комбинированные терапевтические средства**

В некоторых случаях целесообразно вводить по меньшей мере один ингибитор аутоксина или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с одним или несколькими другими терапевтическими средствами. Согласно вариантам осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит одно или несколько противораковых средств.

Согласно одному варианту осуществления терапевтическую эффективность одного из ингибиторов аутоксина усиливают путем введения адьюванта (т.е. сам по себе адьювант обладает минимальной терапевтической пользой, но в комбинации с другим терапевтическим средством общая терапевтическая польза для больного усиливается). Или согласно некоторым вариантам осуществления пользу, которую ощущает больной, усиливают путем введения одного из ингибиторов аутоксина с другим средством (что также предусматривается терапевтическим режимом), которое также обладает терапевтической пользой.

Согласно одному конкретному варианту осуществления ингибитор аутоксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят совместно со вторым терапевтическим средством, при этом ингибитор аутоксина или его фармацевтически приемлемая соль и второе терапевтическое средство модулируют различные аспекты заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению, с обеспечением тем самым большей общей пользы, чем введение какого-либо терапевтического средства отдельно.

В любом случае независимо от заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению, общая испытываемая больным польза просто суммируется от двух терапевтических средств, или больной испытывает синергический эффект.

Согласно некоторым вариантам осуществления различные терапевтически эффективные дозировки ингибиторов аутоаксина будут использоваться в составлении фармацевтической композиции и/или в режимах лечения, если ингибиторы аутоаксина вводят в комбинации с одним или несколькими дополнительными средствами, такими как дополнительное терапевтически эффективное лекарственное средство, адъювант или подобное. Терапевтически эффективные дозировки лекарственных средств и других средств для применения в комбинированных режимах лечения необязательно определяют с помощью средств, подобных тем, что изложены выше для активных ингредиентов самих по себе. Кроме того, способы предупреждения/лечения, описываемые в настоящем документе, включают применение метрономного введения дозы, т.е. обеспечение более частых, более низких доз, для минимизации токсических побочных эффектов. Согласно некоторым вариантам осуществления комбинированный режим лечения охватывает режимы лечения, при которых введение ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли начинают до, в ходе или после лечения вторым средством, описываемым в настоящем документе, и продолжают до какого-либо момента времени в ходе лечения вторым средством или после окончания лечения вторым средством. Он также включает терапевтические средства, в которых ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль и второе средство, подлежащие использованию в комбинации, вводят одновременно или в разные моменты времени и/или с уменьшающимися или увеличивающимися интервалами на протяжении периода лечения. Комбинированная терапия, кроме того, включает в себя периодические терапевтические средства, которые начинаются и останавливаются в различные моменты времени для содействия клиническому лечению больного.

Следует учитывать, что режим введения дозы для лечения, предупреждения или облегчения состояния(ий), которое требует облегчения, модифицируют в соответствии с рядом факторов (например, заболевание, нарушение или состояние, которым страдает субъект; возраст, масса, пол, диета и медицинское состояние субъекта). Таким образом, в некоторых случаях фактически используемый режим введения дозы меняется и согласно некоторым вариантам осуществления отличается от режимов введения дозы, изложенных в настоящем документе.

Для комбинированных терапевтических средств, описываемые в настоящем документе, дозировки совместно вводимых соединений варьируют в зависимости от типа совместно используемого лекарственного средства, от конкретного используемого лекарственного средства, от заболевания или состояния, подлежащего лечению, и т.д. Согласно дополнительным вариантам осуществления при совместном введении с одним

или несколькими другими терапевтическими средствами ингибитор аутоаксина вводят либо одновременно с одним или несколькими другими терапевтическими средствами, либо последовательно.

При комбинированных терапевтических средствах несколько терапевтических средств (одно из которых является одним из ингибиторов аутоаксина) вводят в любом порядке или даже одновременно. Если введение является одновременным, то несколько терапевтических средств, исключительно в качестве примера, обеспечивают в одной унифицированной форме или в нескольких формах (например, в виде одной пилюли или в виде двух отдельных пилюль).

Ингибиторы аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль, а также комбинированные терапевтические средства вводят до, в ходе или после проявления заболевания или состояния, и время введения композиции, содержащей ингибитор аутоаксина, варьирует. Таким образом, согласно одному варианту осуществления ингибиторы аутоаксина используют как профилактику и вводят постоянно субъектам со склонностью к развитию состояний или заболеваний для предупреждения проявления заболевания или состояния. Согласно другому варианту осуществления ингибиторы аутоаксина и композиции вводят субъекту при проявлении симптомов или в предельно короткие сроки после проявления симптомов. Согласно конкретным вариантам осуществления ингибиторы аутоаксина вводят в кратчайший срок после проявления заболевания или состояния или при подозрении таковых и в течение времени, необходимого для лечения заболевания. Согласно некоторым вариантам осуществления необходимая продолжительность лечения варьирует и регулируется в соответствии с конкретными потребностями каждого субъекта. Например, согласно конкретным вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или состав, содержащий ингибитор аутоаксина, вводят по меньшей мере в течение 2 недель, приблизительно 1 месяца до приблизительно 5 лет.

### **Типичные средства для применения в комбинированной терапии**

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят в комбинации с химиотерапией, блокирующей гормоны терапией, радиационной терапией, моноклональными антителами или их комбинациями.

Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство вводят в то же самое время, что и ингибитор аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере одно

дополнительное терапевтическое средство вводят реже, чем ингибитор аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство вводят чаще, чем ингибитор аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство вводят до введения ингибитора аутоаксина. Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство вводят после введения ингибитора аутоаксина.

Блокирующая гормоны терапия включает применение средств, которые блокируют продуцирование эстрогенов или блокируют эстрогеновые рецепторы. Согласно некоторым вариантам осуществления блокирующая гормоны терапия включает применение модуляторов эстрогеновых рецепторов и ингибиторов ароматазы. Модуляторы эстрогеновых рецепторов включают в себя трифенилэтиленовые производные (например, тамоксифен, торемифен, дролоксифен, 3-гидрокситамоксифен, идоксифен, ТАТ-59 (фосфорилированное производное 4-гидрокситамоксифена) и GW5638 (карбоновокислотное производное тамоксифена)); нестероидные модуляторы эстрогеновых рецепторов (например, ралоксифен, LY353381 (SERM3) и LY357489); стероидные модуляторы эстрогеновых рецепторов (например, ICI-182.780). Ингибиторы ароматазы включают в себя стероидные ингибиторы ароматазы и нестероидные ингибиторы ароматазы. Стероидные ингибиторы ароматазы включают в себя без ограничения такие как эксеместан. Нестероидные ингибиторы ароматазы включают в себя без ограничения такие как анастрозол и летрозол.

Химиотерапия включает применение противораковых средств.

Согласно некоторым вариантам осуществления противораковые средства для применения в комбинации с ингибитором аутоаксина или его фармацевтически приемлемой солью включают в себя один или несколько из следующих: абиратерон; абареликс; абраксан, адриамицин; актиномицин; ацивирин; акларубицин; акодазола гидрохлорид; акронин; адозелезин; алдеслейкин; алемтузумаб; аллопуринол; алитретиноин; алртетамин; аметантрона ацетат; аминоклутетимид; аминоклевулиновая кислота; амифостин; амсакрин; анастрозол; антрамицин; апрепинант; триоксид мышьяка; аспарагиназа; асперлин; азациитидин; азетеп; азотомицин; батимастат; бендамустина гидрохлорид; бензобеп; бевацизумаб; бексаротен; бикалутамид; бисантрена гидрохлорид; биснафид димезилат; бизелезин; блеомицин; блеомицина сульфат; бортезомиб; бреквинар натрия; бропиримин; бусульфан; кактиномицин; калустерон; карацемид; карбетимер; карбоплатин; кармустин; карубицина гидрохлорид; карзелезин; капецитабин; цедефингол; цетуксимаб; хлорамбуцил; циролемицин; цисплатин;

кладрибин; клофарабин; криснатола мезилат; циклофосфамид; цитарабин; дакарбазин; дасатиниб; данорубицина гидрохлорид; дактиномицин; дарбепозитин альфа; децитабин; дегареликс; денилейкин дифтитокс; дексормаплатин; дексразаксана гидрохлорид; дезагуанин; дезагуанина мезилат; диазиквион; доцетаксел; доксорубицин; доксорубицина гидрохлорид; дролоксифен; дролоксифена цитрат; дромостанолон пропионат; дуазомицин; эдатрексат; эфлорнитина гидрохлорид; элсамитруцин; элтромбопаг оламин; энлоплатин; энпромаг; эпипропидин; эпирубицина гидрохлорид; эпоэтин альфа; эбулозол; эрлотиниба гидрохлорид; эзорубицина гидрохлорид; эстрамустин; эстрамустина фосфат натрия; этанидазол; этопозид; этопозиды фосфат; этоприн; эверолимус; эксеместан; фадрозол гидрохлорид; фазарабин; фенретинид; филграстим; флоксуринид; флударабина фосфат; фторурацил; флуорцитабин; фосквидон; фостиэцин натрия; фулвестран; гефитиниб; гемцитабин; гемцитабина гидрохлорид; гемцитабин-цисплатин; гемтузумаб озогамин; гозерелина ацетат; гистрелина ацетат; гидроксимочевина; идарубицина гидрохлорид; ифосфамид; имофозин; ибритутомаб тиуксетан; идарубицин; ифосфамид; иматиниба мезилат; имиквимод; интерлейкин II (в том числе рекомбинатный интерлейкин II или rIL2), интерферон альфа-2a; интерферон альфа-2b; интерферон альфа-n1; интерферон альфа-n3; интерферон бета-1a; интерферон гамма-1b; ипроплатин; иринотекана гидрохлорид; иксабепилон; ланреотида ацетат; лапатиниб; леналидомид; летрозол; леупролида ацетат; лейковорин кальция; лейпролида ацетат; левамизол; липосомальный цитарабин; лиарозол гидрохлорид; лометрексол натрия; ломустин; лосоксантрон гидрохлорид; масопрокол; майтанзин; мехлорэтамид гидрохлорид; мегестрола ацетат; меленгестрола ацетат; мелфалан; меногарил; меркаптопурин; метотрексат; метотрексат натрий; метоприн; метуредеп; митиндомид; митокарцин; митокромин; митоиллин; митомалцин; митомицин C; митоспер; митотан; митоксантрон гидрохлорид; микофеноловая кислота; надролон фенпропионат; неларабин; нилотиниб; нокодазол; нофетумомаб; ногаламицин; офатумумаб; опрелвекин; ормаплатин; оксалиплатин; окисуран; паклитаксел; палифермин; палоностерон гидрохлорид; памидронат; пегфилграстим; пеметрексед динатрия; пентостатин; панитумумаб; пазопаниба гидрохлорид; пеметрексед динатрия; плериксафор; пралатрексат; пегаспаргазе; пелиомицин; пентамустин; пепломицина сульфат; перфосфамид; пипоброман; пипосулфан; пироксантрон гидрохлорид; пликамицин; пломестан; порфирин натрий; порфирамицин; преднимустин; прокарбазина гидрохлорид; пурамицин; пурамицина гидрохлорид; пирозофуридин; квиакрин; ралоксифена гидрохлорид; расбуриказа; рекомбинатная двухвалентная вакцина HPV; рекомбинатная четырехвалентная вакцина HPV; рибоприн; роглетимид; ритуксимаб; ромидепсин;

ромиплостим; сафингол; сафингола гидрохлорид; саграмостин; семустин; симтразен; сипулейцел-Т; сорафениб; спарфосат натрия; спарсомицин; спирогермания гидрохлорид; спирумустин; спироплатин; стрептонигрин; стрептозоцин; сулофенур; сунитиниба малат; талисомицин; тамоксифена цитрат; текогалан натрий; тегафур; телоксантрона гидрохлорид; темозоломид; темопорфин; темсиролимус; тенипосид; тероксирон; тестолактон; талидомид; тиамиприн; тиогуанин; тиотепа; тиазофурин; тирапозамин; топотекана гидрохлорид; торемийен; тозитумомаб и I<sup>131</sup> йод тозитумомаб; трастузумаб; трестолон ацетат; третиноин; трицирибина фосфат; триметрексат; триметресата глюкуронат; трипторелин; тубулозола гидрохлорид; урамустин; уредепа; валрубицин; вапреотид; вертепорфин; винбластина сульфат; винбластин; винкристина сульфат; виндезин; виндезина сульфат; винепидина сульфат; винглицината сульфат; винлеурозина сульфат; винорелбина тартрат; винрозицина сульфат; винзолидина сульфат; вориностат; ворозол; зениплатин; зиностатин; золендроновая кислота и зорубицина гидрохлорид.

Моноклональные антитела включают в себя без ограничения трастузумаб (Herceptin) и ритуксимаб (Rituxan).

Согласно некоторым вариантам осуществления по меньшей мере одно дополнительное химиотерапевтическое средство выбрано, исключительно в качестве примера, из алемтузумаба, триоксида мышьяка, аспарагиназы (пегилированной или непегилированной), бевацизумаба, цетуксимаба, соединений платины, таких как цисплатин, кладрибина, даунорубицина/доксорубицина/идарубицина, иринотекана, флударабина, 5-фторурацила, гемтузумаба, метотрексата, таксола, темозоломида, тиогуанина или классов лекарственных средств, включающих в себя гормоны (антиэстроген, антиандроген или аналоги высвобождающего гонадотропин гормона), интерферонов, таких как интерферон-альфа, азотистых ипритов, таких как бусульфан, или мелвалан, или мехлортамин, ретиноидов, таких как третиноин, ингибиторов топоизомеразы, таких как иринотекан или топотекан, ингибиторов тирозинкиназы, таких как гифенитиниб или иматиниб, или средств для лечения признаков или симптомов, индуцированных такой терапией, в том числе аллопуринол, филгарстим, гранисетрон/ондансетрон/палонсетрон, дронабинол.

Согласно одному аспекту ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят или составляют в комбинации с одним или несколькими противораковыми средствами. Согласно некоторым вариантам осуществления одним или несколькими из противораковых средств являются проапоптотические средства. Примеры противораковых средств включают в себя без ограничения любые из следующих: госсипол, генасенс, полифенол Е, хлорфузин, полностью транс-ретиноевая кислота

(АТРА), бриостатин, связанный с фактором некроза опухоли индуцирующий апоптоз лиганд (TRAIL), 5-аза-2'-дезокситидин, полностью транс-ретиноевая кислота, доксорубин, винкристин, этопозид, гемцитабин, иматиниб, гелданамицин, 17-N-аллиламино-17-деметоксигелданамицин (17-AAG), флавопиридол, LY294002, бортезомиб, карфилзомиб, трастузумаб, BAY 11-7082, PKC412 или PD184352, паклитаксел и аналоги паклитаксела. Также показали, что соединения, которые имеют основной таксановый скелет в качестве общего структурного признака, обладают способностью останавливать клетки в G2-M фазах вследствие стабилизации микротрубочек и необязательно применимы для лечения злокачественной опухоли в комбинации с ингибиторами аутоаксина.

Дополнительные примеры противораковых средств для применения в комбинации с ингибитором аутоаксина или его фармацевтически приемлемой солью включают в себя ингибиторы передачи сигнала митоген-активируемой протеинкиназой, например, U0126, PD98059, PD184352, PD0325901, ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, вортманнин или LY294002; ингибиторы Syk; ингибиторы mTOR; ингибиторы антивина, ингибиторы PKM2, ингибиторы c-fms и ингибиторы гистондеацетилазы. Следующие примеры противораковых средств для применения в комбинации с ингибитором аутоаксина или его фармацевтически приемлемой солью включают в себя ингибиторы ароматазы. Ингибиторы ароматазы включают в себя стероидные ингибиторы ароматазы и нестероидные ингибиторы ароматазы. Стероидные ингибиторы ароматазы включают в себя без ограничения экземестан. Нестероидные ингибиторы ароматазы включают в себя без ограничения анастрозол и летрозол.

Следующие противораковые средства для применения в комбинации с ингибитором аутоаксина или его фармацевтически приемлемой солью включают в себя алкилирующие средства, антиметаболиты, натуральные продукты или гормоны, например, азотистые иприты (например, мехлорэтамин, циклофосфамид, хлорамбуцил и т.д.), алкилсульфонаты (например, бусульфан), нитрозомочевины (например, кармустин, ломкстин и т.д.) или триазены (декарбазин и т.д.). Примеры антиметаболитов включают в себя без ограничения аналог фолиевой кислоты (например, метотрексат) или аналоги пиримидина (например, цитарабин), аналоги пурина (например, мрекаптопурин, тиогуанин, пентостатин).

Примеры натуральных продуктов для применения в комбинации с ингибитором аутоаксина или его фармацевтически приемлемой солью включают в себя без ограничения алкалоиды барвинка (например, винбластин, винкристин), эпиподофиллотоксины (например, этопозид), антибиотики (например, даунорубин,

доксорубин, блеомицин), ферменты (например, L-аспарагиназу) или модификаторы биологического ответа (например, интерферон альфа).

Примеры алкилирующих средств для применения в комбинации с ингибитором аутотаксина или его фармацевтически приемлемой солью включают в себя без ограничения азотистые иприты (например, мехлорэтамин, циклофосфамид, хлорамбуцил и т.д.), этиленимин и метилмеламины (например, гексаметилмеламин, тиотепа), алкилсульфонаты (например, бусульфан), нитрозомочевины (например, кармустин, ломустин, семустин, стрептозоцин и т.д.) или триазены (декарбазин и т.д.).

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль используют для лечения злокачественной опухоли в комбинации с антиэстрогеном (например, тамоксифеном), антиандрогеном (например, бикалутамидом, флутамидом), аналогом высвобождающего гонадотропин гормона (например, леупролидом).

Другие средства, которые необязательно используют в способах и композициях, описываемых в настоящем документе, для лечения или предупреждения злокачественной опухоли включают в себя координационные комплексы платины (например, цисплатин, карбоплатин), антрацендион (например, митоксантрон), замещенную мочевины (например, гидроксимочевину), производное метилгидразина (например, прокарбазин), адренокортикальный супрессор (например, митотан, аминоглутетимид).

Примеры противораковых средств, которые действуют путем подавления клеток в G2-M фазах вследствие стабилизации микротрубочек, включают в себя без ограничения следующие имеющиеся на рынке лекарственные средства и разрабатываемые лекарственные средства: эрбулозол, доластатин 10, мивобулина изетионат, винкристин, NSC-639829, дискодермолид, АВТ-751, алторгиртины (такие как алторгиртин А и алторгиртин С), спонгистатины (такие как спонгистатин 1, спонгистатин 2, спонгистатин 3, спонгистатин 4, спонгистатин 5, спонгистатин 6, спонгистатин 7, спонгистатин 8 и спонгистатин 9), цемадотина гидрохлорид, эпотилоны (такие как эпотилон А, эпотилон В, эпотилон С, эпотилон D, эпотилон Е, эпотилон F, эпотилона В N-оксид, эпотилона А N-оксид, 16-аза-эпотилон В, 21-аминоэпотилон В, 21-гидроксиэпотилон D, 26-фторэпотилон, ауристатин РЕ, соблидотин, винкристина сульфат, криптофицин 52, вителивуамид, тубулизин А, канадензол, centaуреидин, онкоцидин А1, фиджианолид В, лаулималид, наркозин, наскапин, гемиастерлин, ванадоцена ацетилацетонат, инданоцин, элеутеробины (такие как десметилэлеутеробин, дезаэтилэлеутеробин, изоэлеутеробин А и Z-элеутеробин), карибазозид, карибазолин, галихондрин В, диазонамид А, таккалонолид А, диозостатин, (-)-фенилагистин, миосеверин В, ресверастин фосфат натрия.

Согласно одному аспекту ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят совместно с тромболитическими средствами (например, алтеплаза, анistreплаза, стрептокиназа, урокиназа или тканевой активатор плазминогена), гепарином, тинзапарином, варфарином, дабигатраном (например, дабигатрана этексилат), ингибиторами фактора Ха (например, фондапаринукс, драпаринукс, ривароксабан, DX-9065a, отамиксабан, LY517717 или YM150), тиклопидином, клопидогрелем, CS-747 (празугрел, LY640315), ксимелагатраном или VIBR 1048.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль используют в комбинации с противорвотными средствами для лечения тошноты или рвоты, которая возникает в результате применения ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли, противоракового средства(средств) и/или радиационной терапии.

Противорвотные средства включают в себя без ограничения агонисты рецептора нейрокина-1, антагонисты рецептора 5HT<sub>3</sub> (такие как ондансетрон, гранисетрон, трописетрон, палоносетрон и затисетрон), агонисты рецептора GABA<sub>B</sub> (такие как баклофен), кортикостероиды (такие как дексаметазон, преднизон, преднизолон или другие), допаминовые антагонисты (такие как без ограничения домперидон, дроперидол, галоперидол, хлорпромазин, прометазин, прозлорперазин, метоклопрамид), антигистамины (антагонисты рецептора H<sub>1</sub> гистамина, такие как без ограничения циклизин, дифенгидрамин, дименгидрилат, меклизин, прометазин, гидроксизин), каннабиноиды (такие как без ограничения каннабис, маринол, дронабинол) и другие (такие как без ограничения триметобензамид; гингер, эметрол, пропофол).

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль используют в комбинации со средством, применимым в лечении анемии. Таким средством для лечения анемии является, например, активатор рецептора эритропоэза длительного действия (такой как эпоэтин- $\alpha$ ).

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль используют в комбинации со средством, применимым для лечения нейтропении. Примеры средств, применимых в лечении нейтропении, включают в себя без ограничения гематопоэтический фактор роста, который регулирует продукцию и функционирование нейтрофилов, такой как колониестимулирующий фактор гранулоцитов человека (G-CSF). Примеры G-CSF включают в себя филграстим.

Согласно одному аспекту ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят в комбинации с одним или несколькими иммуносупрессантами. Иммуносупрессивную терапию используют клинически для лечения или предупреждения

отторжения трансплантированных органов и тканей (например, костного мозга, сердца, почки, печени); лечения аутоиммунных заболеваний или заболеваний, которые, вероятнее всего, имеют аутоиммунное происхождение (например, ревматоидный артрит, миастения гравис, системная красная волчанка, болезнь Крона и язвенный колит); лечения некоторых других неаутоиммунных воспалительных заболеваний (например, для длительного контроля аллергической астмы); а также лечения фиброзных состояний. Иммуносупрессанты включают в себя без ограничения глюкокортикоиды, цитостатики, антитела и лекарственные средства, которые действуют на иммунофилины. Примеры глюкокортикоидов включают в себя кортизол, кортизон, преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, бетаметазон, триамцинолон, беклометазон, флуодрокортизон, дезоксикортикостерон и альдостерон. Примеры цитостатиков включают в себя алкилирующие средства (например, азотистые иприты, такие как циклофосфамид, нитрозомочевина, соединения платины) и антиметаболиты (например, аналоги фолиевой кислоты, такие как метотрексат, аналоги пурина, такие как азатиоприн и мрекаптопурин, аналоги пиримидина, такие как фторурацил, ингибиторы синтеза белков). Примеры лекарственных средств для применения в описываемых способах включают в себя циклоспорин, такролимус, сиролимус, интерфероны, опиоиды, TNF связывающие белки, микофенолат и финголимод. Примеры антител, применимых для совместного введения с ингибитором аутоактина в способе, описываемом в настоящем документе, включают в себя антитимоцитарный глобулин, 1D09C3, адалимумаб/D2E7 (Humira; Trudexa), афелимомаб, афутузумаб/GA101 (II типа), алемтузумаб/кампат-1H (MabCampath), аполизумаб/Hu1D10, аселизумаб, атлизумаб, базиликсимаб (Simulect), бектумомаб/IMMU-LL2, белимумаб (Benlysta, LymphoStat-B), бертилимумаб, BL22/CAT-3888, брентуксимаб/cAC10/SGN-35, бриакинумаб/ABT-874, канакинумаб/ACZ885 (Paris), цертолизумаб пегол/CDP870 (Cimzia), клетоликсимаб, дацетузумаб/SGN-40, даклизумаб (Zenarax), экулизумаб/5G1.1 (Soliris), эфализумаб (Raptiva, ранее Xanelim), эпратузумаб/hLL2/IMMU-102 (Lymphocyte©), фонтолизумаб, фрезолимумаб/GC-1008, галиксимаб/IDEC-114, гавилимомаб/ABX-CBL, гемтузумаб, голимумаб/CNTO148 (Simponi), HL2434P (IMMU-114), ибритутумаб тиуксетан (MXDPТА)/IDEC Y2B8 (Zevalin), инфликсимаб/химерный A2 (сA2) (Remicade), инолимумаб/BT563, инотузумаб, келиксимаб/IDEC CE9.1, лерделимумаб/CAT-152, линтизумаб/HuM195 (Zamyl), LMB-2, лорвотузумаб мертанзин, лумиликсимаб/IDEC-152, Lym-1 (Oncolym), MDX-060, меполизумаб/SB-240563, метелимумаб/CAT-192, могамулизумаб/KW-0761/AMG-761, моксетумомаб пасудотокс/CAT-8015/HA22, муромонаб-CD3 (Orthoclone OKT3), натализумаб (Tysabri, Antegren), нерелимомаб/CDP571, окрелизумаб/PRO70769 (I типа),

одулимомаб, офатумумаб/2F2/HuMax-CD20 (Arzerra) (I типа), омализумаб (Xolair), отеликсизумаб/TRX4, пасколизумаб/SB 240683, реслизумаб/SCH 55700 (Cinqual), ритуксимаб/химерный 2B8 (IDEC-C2B8) (Rituxan, MabThera) (I типа), руплизумаб (Antova), SAR-3419, секукинумаб/AIN-457, SGN30, сиплизумаб/MEDI-507, теплизумаб/MGA031/hОКТ3 $\gamma$ 1(Ala-Ala), тоцилизумаб (Actemra), тозитумомаб (II типа), устекинумаб/CNTO 1275 (Stelara), ведолизумаб/MNL-0002, велтузумаб/IMMU-106/hA20 (I типа), визилизумаб (Nuvion), занолимумаб/HuMax-CD4, золимомаб аритокс/H65, абатацепт/CTLA4-Ig/BMS-188667 (Orencia), белатацепт/LEA29Y, атацицепт/BLyS/APRIL-Ig, этанерцепт/TNFR-Ig (Enbrel), пегсунерцепт/пегилированный TNFR-Ig, алефацепт (Amevive) и рилонацепт (Arcalyst). Иммуносупрессивные антитела включают в себя антитела, которые нацеливаются на комплемент-зависимые белки и интерлейкины.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоактина или его фармацевтически приемлемую соль вводят с кортикостероидом. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоактина или его фармацевтически приемлемую соль вводят с терапевтическим средством, выбранным из ингибиторов кальциневрина (таких как без ограничения циклоспорин, такролимус); ингибиторов mTOR (таких как без ограничения сиролимус, эверолимус); антипролиферативных средств (таких как без ограничения азатиоприн, микофеноловая кислота); кортикостероидов (таких как без ограничения преднизон, кортизона ацетат, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, бетаметазон, триамцинолон, беклометазон, флудрокортизона ацетат, дезоксикортикостерона ацетат, альдостерон, гидрокортизон); антител (таких как без ограничения моноклональные антитела против рецептора IL-2R $\alpha$  (басиликсимаб, даклизумаб), поликлональных антител против Т-клеток (антитимоцитарный глобулин (ATG), антилимфоцитарный глобулин (ALG)), В-клеточные антагонисты, ритуксимаб, натализумаб.

Другие терапевтические средства, применимые для комбинации с ингибитором аутоактина, описываемым в настоящем документе, включают в себя без ограничения циклофосфамид, пеницилламин, циклоспорин, нитрозомочевины, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, метотрексат, азатиоприн, мрекаптопурин, аналоги пиримидина, ингибиторы синтеза белка, дактиномицин, антрациклины, митомицин С, блеомицин, митрамицин, Atgam<sup>®</sup>, Thymoglobuline<sup>®</sup>, ОКТЗ<sup>®</sup>, базиликсимаб, даклизумаб, циклоспорин, такролимус, сиролимус, интерфероны (IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ ), опиоиды, TNF связывающие белки (инфликсимаб, этанерцепт, адалимумаб, голимумаб), лефлуномид, золото-тиоглюкоза, золото-тиомалат, аурофин, сульфасалазин, гидроксихлорхинин,

миноциклин, рапамицин, микофеноловую кислоту, микофенолата мофетил, FTY720, а также перечисленные в патенте США № 7060697.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят в комбинации с циклоспорином А (CsA) или такролимусом (FK506). Согласно одному варианту осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят млекопитающему в комбинации с противовоспалительным средством, в том числе без ограничения с нестероидными противовоспалительными лекарственными средствами (NSAID), ингибиторами фосфодиэстеразы-4, ингибиторами киназы JNK и кортикостероидами (глюкокортикоидами).

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят с кортикостероидами. Кортикостероиды включают в себя без ограничения: бетаметазон, преднизон, алклометазон, альдостерон, амцинонид, беклометазон, бетаметазон, будесонид, циклесонид, клобетазол, клобетазон, клокортолон, клопреднол, кортизон, кортивазол, дефлазакорт, дезоксикортикостерон, дезонид, дезоксиметазон, дезоксикортон, дексаметазон, дифлоразон, дифлукортолон, дифлупреднат, флуклоролон, флудрокортизон, флудроксикортид, флуметазон, флунизолид, флуоцинолон ацетонид, флуоцинонид, флуокортин, флуокортолон, фторметолон, флуперолон, флупредниден, флутиказон, формокортал, галцинонид, галометазон, гидрокортизон/кортизол, гидрокортизона ацепонат, гидрокортизона бутепрат, гидрокортизона бутират, лотепреднол, педризон, мепреднизон, метилпреднизолон, метилпреднизолон ацепонат, мометазона фуруат, параметазон, предникарбат, преднизон/преднизолон, римексолон, тиксокортол, триамцинолон и улобетазол.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят млекопитающему в комбинации с нестероидным противовоспалительным лекарственным средством (NSAID). NSAID включают в себя без ограничения аспирин, салициловую кислоту, гентизиновую кислоту, холин магния салицилат, холин салицилат, салицилат магния, салицилат натрия, дифлунизал, карпрофен, фенопрофен, фенопрофен кальция, флуробипрофен, ибупрофен, кетопрофен, набутон, кетолорак, кетолорак трометамин, напроксен, оксапрозин, диклофенак, етодолак, индометацин, сулиндак, толметин, меклофенамат, меклофенамат натрия, мефенамовую кислоту, пироксикам, мелоксикам, COX-2 специфические ингибиторы (такие как без ограничения целекоксиб, рофекоксиб, валдекоксиб, парекоксиб, эторикоксиб, лумиракоксиб, CS-502, JTE-522, L-745.337 и NS398).

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль вводят совместно с анальгетиком.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль используют в комбинации с радиационной терапией (или радиотерапией). Радиационная терапия представляет собой лечение злокачественной опухоли и других заболеваний ионизирующим облучением. Радиационную терапию необязательно используют для лечения локализованных солидных опухолей, таких как злокачественные опухоли кожи, языка, гортани, головного мозга, молочной железы, предстательной железы, толстой кишки, печени, матки и/или шейки. Также ее необязательно используют для лечения лейкоза и лимфомы (злокачественных опухолей кроветворных клеток и лимфатической системы, соответственно).

Методика доставки облучения в раковые клетки заключается в помещении радиоактивных имплантатов непосредственно в опухоль или полость организма. Это называется внутренней радиотерапией (брахитерапия, внутреннее облучение и внутрисполостное облучение являются типами внутренней радиотерапии). С использованием внутренней радиотерапии дозу облучения концентрируют на небольшой зоне, и больной остается в больнице на несколько суток. Внутреннюю радиотерапию часто используют при злокачественных опухолях языка, матки, предстательной железы, толстой кишки и шейки.

Термин «радиотерапия» или «ионизирующее облучение» включают в себя все формы облучения, в том числе без ограничения  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  излучение и ультрафиолетовое излучение.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина вводят с понижающим содержание глюкозы средством. Согласно некоторым вариантам осуществления понижающее содержание глюкозы средство выбирают из агониста (гамма, дуального или общего) рецептора, активируемого пероксисомным пролифератором (PPAR), ингибитора дипептидилпептидазы (IV), аналога глюкагон-подобного пептида-1 (GLP-I), инсулина или аналога инсулина, стимулятора секреции инсулина, ингибитора натрийзависимого переносчика глюкозы 2 типа (SGLT2), глюкофага, человеческого аналога амилина, бигуанида, ингибитора альфа-глюкозидазы, меглитинида, тиазолидендиона и сульфонилмочевины. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина вводят с метформином, ситаглиптином, саксаглиптином, репаглинидом, натеглинидом, эксенатидом, лираглутидом, инсулином лизпро, инсулином аспарт, инсулином гларгин, инсулином детемир, инсулином изофан и глюкагон-подобным

пептидом-1 или любой их комбинацией. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина вводят с понижающим содержание липидов средством.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор аутоаксина вводят в комбинации по меньшей мере с одной дополнительной терапией, используемой для лечения сердечно-сосудистого заболевания. Согласно некоторым вариантам осуществления терапией, используемой для лечения сердечно-сосудистого заболевания, является ингибитор ангиотензин-превращающего фермента (ACE), блокатор рецептора ангиотензина II (ARB), бета-блокатор, диуретик, блокатор кальциевых каналов, ингибитор системы ренин-ангиотензин (RAS), разжижающий кровь медикамент, статин и фибрат, а также любая их комбинация.

### **Наборы и изделия**

В настоящем документе описываются наборы для лечения состояния, заболевания или нарушения, ассоциированных с активностью аутоаксина, включающего введение указанному индивидууму ингибитора аутоаксина.

Для терапевтических применений, описываемых в настоящем документе, наборы и изделия также описываются в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления такие наборы включают в себя носитель, упаковку или контейнер, который разделяется на части, для размещения одного или нескольких контейнеров, таких как флаконы, тубы и т.п., при этом каждый из контейнеров, включающих в себя один из отдельных элементов, подлежит использованию в способе, описываемом в настоящем документе. Подходящие контейнеры включают в себя, например, бутылки, флаконы, шприцы и тубы. Контейнеры могут быть сделаны из ряда материалов, таких как стекло или пластик.

Изделия, представленные в настоящем документе, содержат упаковочные материалы. Примеры фармацевтических упаковочных материалов включают в себя без ограничения блистерные упаковки, бутылки, тубы, ингаляторы, насосы, пакеты, флаконы, контейнеры, шприцы, бутылки и какой-либо упаковочный материал, подходящий для выбранного состава и предполагаемого пути введения и лечения. Предусматривается широкий спектр составов соединений и композиций, представленных в настоящем документе, а также ряд терапевтических средств для какого-либо нарушения, при котором полезно ингибирование аутоаксина, или при котором аутоаксин является медиатором или источником симптомов или причины.

Контейнер(ы) необязательно имеет отверстие для стерильного доступа (например, контейнер представляет собой пакет с внутривенным раствором или флаконом, имеющим

пробку, прокалываемую иглой для подкожной инъекции). Такие наборы необязательно содержат соединение с идентифицирующим описанием, или этикеткой, или инструкциями относительно его применения в способах, описываемых в настоящем документе.

Набор, как правило, будет включать в себя один или несколько дополнительных контейнеров, каждый с одним или несколькими различными материалами (такими как реагенты, необязательно в концентрированной форме, и/или устройства), подходящими с коммерческой и потребительской точки зрения, для применения соединения, описываемого в настоящем документе. Неограничивающие примеры таких материалов включают в себя без ограничения буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы; носитель, упаковку, контейнер, флакон, и/или круговые этикетки с перечислением содержимого, и/или инструкции по применению, а также листки-вкладыши с инструкциями по применению. Обычно также включают набор инструкций.

Согласно некоторым вариантам осуществления этикетка находится на контейнере или связана с ним. Этикетка может находиться на контейнере, когда буквы, цифры или другие символы, составляющие этикетку, прикрепляют, формируют или гравировают на самом контейнере; этикетка может быть связана с контейнером, если она представлена в коробке или носителе, которые также содержат контейнер, например, в виде листка-вкладыша. На этикетке может быть указано то, что содержимое подлежит использованию для конкретного терапевтического применения. Этикетка также может указывать направления применения содержимого, например, в способах, описываемых в настоящем документе.

Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтическая композиция, содержащая ингибитор аутоаксина, представлена в упаковке или дозирующем устройстве, которые могут содержать одну или несколько единичных дозированных форм. Упаковка, например, может содержать металлическую или пластиковую фольгу, например, блистерная упаковка. К упаковке или дозирующему устройству могут прилагаться инструкции по введению. К упаковке или дозатору также могут прилагаться уведомление, связанное с контейнером, в форме, предписанной правительственным органом, регулирующим производство, использование или продажу фармацевтических препаратов, при этом в уведомлении отражается одобрение органов формы лекарственного средства для введения человеку или для ветеринарного применения. Например, такое уведомление может быть этикеткой, одобренной Управлением США по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов для рецептурных лекарственных средств, или одобренным листком-вкладышем. Композиции, содержащие представленное в настоящем документе соединение, составленное в совместимом

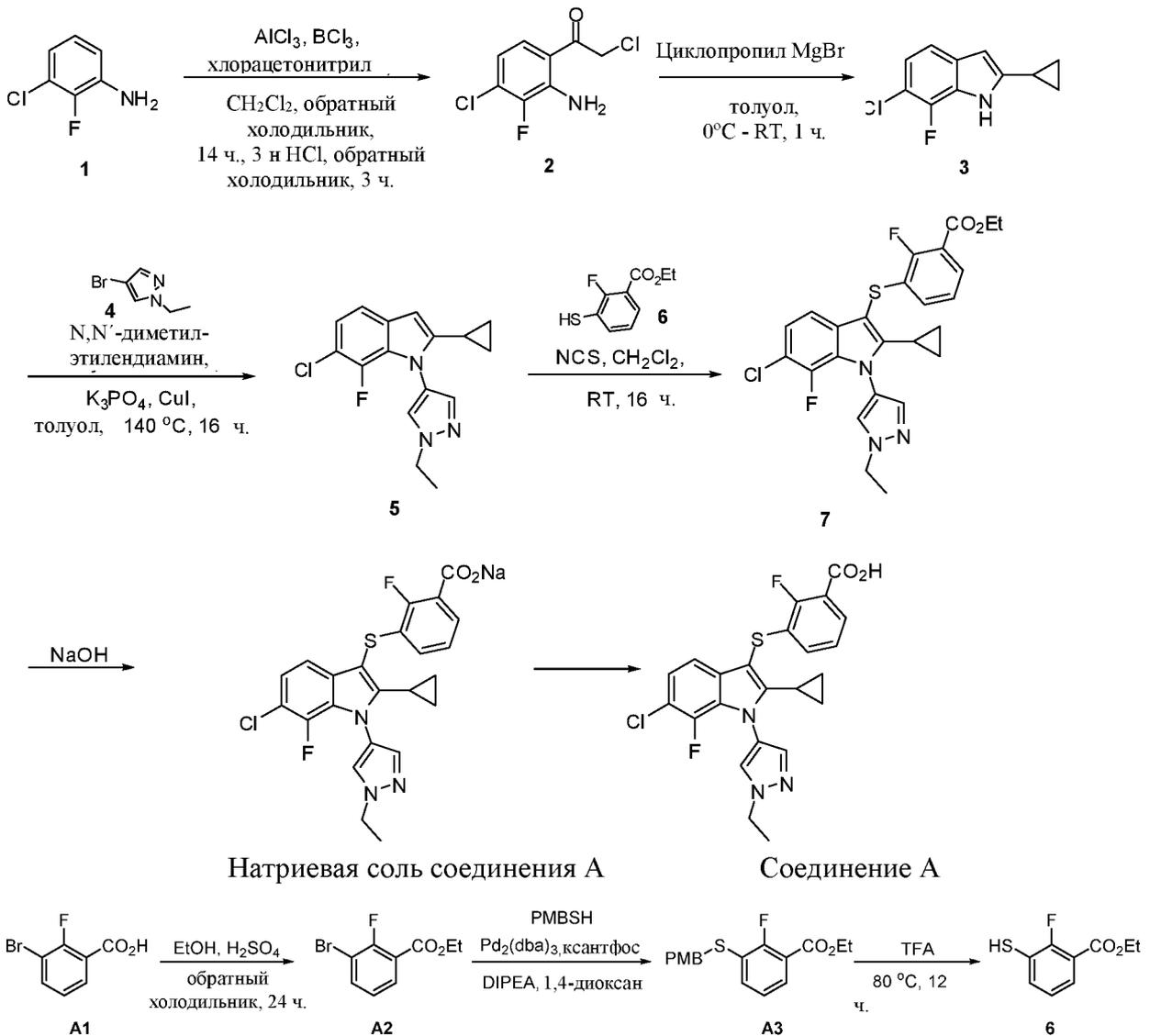
фармацевтическом носителе, также могут быть получены, помещены в соответствующий контейнер и помечены для лечения указанного состояния.

### Примеры

Следующие примеры представлены исключительно в иллюстративных целях и не ограничивают объем формулы изобретения, представленной в настоящем документе.

### **Пример 1. Синтез 3-((6-хлор-2-циклопропил-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойной кислоты (соединения А)**

#### Путь 1



#### Стадия 1. Синтез 1-(2-амино-4-хлор-3-фторфенил)-2-хлорэтан-1-она (2)

В перемешиваемый раствор  $\text{AlCl}_3$  (10,0 г, 75,01 ммоль) и  $\text{VCl}_3$  (1 М в н-гексане) (74 мл, 75,01 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (80 мл) добавляли 3-хлор-2-фторанилин 1 (9,0 г, 6,18 ммоль), а

затем раствор хлорацетонитрила (11,6 г, 153,64 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 мл) при  $0^\circ\text{C}$  в инертной атмосфере. Обеспечивали перемешивание реакционной смеси при RT в течение 30 минут; нагревали до температуры появления конденсации и поддерживали еще 14 часов. Затем реакционную смесь охлаждали до  $0^\circ\text{C}$ , добавляли водный 3 н раствор HCl (100 мл) и повышали температуру до появления конденсата и перемешивали в течение 3 часов. После завершения реакции с помощью TLC реакционную смесь охлаждали до RT, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали с  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 150 мл). Объединенные органические экстракты сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали путем растирания с н-пентаном с получением соединения 2 (4,5 г, 33%) в виде грязно-белого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7,61 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 7,35 (br s, 2H), 6,72 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 5,06 (s, 2H).

#### Стадия 2. Синтез 6-хлор-2-циклопропил-7-фтор-1H-индола (3)

В перемешиваемый раствор соединения 2 (4,5 г, 20,3 ммоль) в толуоле (50 мл) добавляли циклопропилмагния бромид (0,5 М в THF; 102,0 мл, 50,9 ммоль) при  $0^\circ\text{C}$  в инертной атмосфере. Реакционную смесь перемешивали при  $0^\circ\text{C}$  в течение 15 минут, а затем нагревали до RT и перемешивание продолжали еще 1 час. После завершения реакции с помощью TLC реакционную смесь гасили насыщенным раствором хлорида аммония (10 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3 x 75 мл). Объединенные органические экстракты сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали (хроматография на силикагеле; 1% EtOAc/гексаны) с получением соединения 3 (2,7 г, 63%) в виде грязно-белого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  11,55 (s, 1H), 7,18 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 6,97 (dd,  $J = 8,5, 6,5$  Hz, 1H), 6,16 (s, 1H), 2,03-1,99 (m, 1H), 0,99-0,96 (m, 2H), 0,83-0,80 (m, 2H); LC-MS (ESI): 91,6%;  $m/z$  208,1 (M -  $\text{H}^+$ ); (колонка: X Select CSH C-18,  $50 \times 3,0$  мм, 3,5 мкм); RT 4,32 минуты; 5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : ACN; 0,8 мл/минута).

#### Стадия 3. Синтез 4-бром-1-этил-1H-пиразола (4)

В перемешиваемый раствор NaH (34,0 г, 0,85 моль; 60% в минеральном масле) в THF (400 мл) добавляли раствор 4-бром-1H-пиразола (50 г, 0,34 моль) в THF (100 мл) при  $0^\circ\text{C}$  в инертной атмосфере. Реакционную смесь нагревали до RT и поддерживали при той же температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь снова охлаждали до  $0^\circ\text{C}$  и медленно добавляли EtI (63,67 г, 0,408 моль) в течение 5 минут. Обеспечивали нагревание

полученного в результате раствора до RT, а затем перемешивали в течение 16 часов. После завершения реакции (контролировали с помощью TLC) реакционную смесь гасили ледяной водой (100 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3 x 250 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали (хроматографией на силикагеле; 4-6% EtOAc/гексаны) с получением соединения 4 (43 г, 72%) в виде бледно-желтой жидкости. <sup>1</sup>H ЯМР (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,45 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 4,15 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,47 (t, J = 7,5 Hz, 3H); MS (ESI): m/z 175,0 (M + H<sup>+</sup>).

#### Стадия 4. Синтез 6-хлор-2-циклопропил-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индола (5)

В раствор соединения 3 (4,3 г, 20,5 ммоль) в толуоле (50 мл) добавляли 4-бром-1-этил-1H-пиразол 4 (4,0 г, 22,8 ммоль), калия фосфат (11,0 г, 51,2 ммоль), N,N'-диметилендиамин (722 мг, 8,2 ммоль) и Cu(I)I (390 мг, 2,0 ммоль) при RT в инертной атмосфере. Реакционный раствор продували аргоном в течение 15 минут, а затем пробирку закупоривали. Реакционную смесь нагревали до 140°C и перемешивали в течение 16 часов. После завершения реакции с помощью TLC реакционную смесь охлаждали до RT, разбавляли с помощью EtOAc (50 мл) и фильтровали. Фильтрат промывали водой (40 мл), солевым раствором (40 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали (хроматографией на силикагеле; 9% EtOAc/гексаны) с получением соединения 5 (3,9 г, 63%) в виде бледно-коричневого твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,64 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,16 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,01 (dd, J = 8,4, 6,4 Hz, 1H), 6,12 (s, 1H), 4,25 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,69-1,62 (m, 1H), 1,56 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,92-0,87 (m, 2H), 0,76-0,72 (m, 2H); LC-MS (ESI): 98,6%; m/z 304,3 (M + H<sup>+</sup>); (колонокка: X Select C-18, 50 × 3,0 мм, 3,5 мкм); RT 4,23 минуты; 5 mM NH<sub>4</sub>OAc: ACN; 0,8 мл/минута).

#### Стадия 5. Синтез этил-3-бром-2-фторбензоата (A2)

В перемешиваемый раствор 3-бром-2-фторбензойной кислоты A1 (25,0 г, 114,15 ммоль) в этаноле (400 мл) добавляли конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3 мл) при RT и перемешивали при температуре появления конденсата в течение 24 часов. Реакцию контролировали с помощью LC-MS; после завершения реакции реакционную смесь концентрировали с получением осадка. Осадок разбавляли с помощью EtOAc (500 мл), промывали водой (300 мл), солевым раствором (300 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения A2 (26,0 г, 92%) в виде светло-

желтой жидкости.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,88-7,84 (m, 1H), 7,72-7,69 (m, 1H), 7,08-7,04 (m, 1H), 4,39 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 1,39 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H).

#### Стадия 6. Синтез этил-2-фтор-3-((4-метоксибензил)тио)бензоата (A3)

1,4-Диоксан (250 мл) дегазировали путем продувания газообразного  $\text{N}_2$  в течение 30 минут и к нему добавляли раствор соединения A2 (13,2 г, 53,4 ммоль) в 1,4-диоксане (50 мл; дегазированном), (4-метоксифенил)метантиол (PMBSH) (8,2 г, 53,4 ммоль), ксантфос (1,54 г, 2,66 ммоль), диизопропилэтиламин (19,6 мл, 106,8 ммоль) и  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (1,22 г, 1,33 ммоль) при RT. Реакционную смесь нагревали до  $90^\circ\text{C}$  и перемешивали в течение 2 часов. Реакцию контролировали с помощью TLC; после завершения реакции реакционную смесь разбавляли гексаном (450 мл) и перемешивали при RT в течение 15 минут. Полученный в результате раствор фильтровали через целит и промывали гексаном (100 мл). Фильтрат промывали водой (250 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием 3-4% EtOAc/гексаны с получением соединения A3 (15 г, 88%) в виде бледно-желтого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,78-7,74 (m, 1H), 7,43-7,39 (m, 1H), 7,19 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 7,07-7,04 (m, 1H), 6,80 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 4,41 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 4,08 (s, 2H), 3,78 (s, 3H), 1,41 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H). LC-MS (ESI): 89,7%;  $m/z$  318,9 (M -  $\text{H}^+$ ); (колонок: X Select CSH C-18,  $50 \times 3,0$  мм, 3,5 мкм); RT 4,22 минуты; 5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : ACN; 0,8 мл/минута).

#### Стадия 7. Синтез этил-2-фтор-3-меркаптобензоата (6)

Перемешиваемый раствор соединения A3 (30,0 г, 93,75 ммоль) в TFA (54,5 мл) нагревали до  $80^\circ\text{C}$  и перемешивали в течение 12 часов в инертной атмосфере. Реакцию контролировали с помощью TLC; после завершения реакции летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Осадок растворяли в ледяной воде (100 мл), подщелачивали твердым бикарбонатом натрия и экстрагировали с помощью EtOAc (2 x 200 мл). Объединенные органические экстракты сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с использованием 3% EtOAc/гексаны с получением соединения 6 (11,7 г, 62%) в виде бледно-коричневого сиропа.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,70-7,66 (m, 1H), 7,48-7,44 (m, 1H), 7,08-7,04 (m, 1H), 4,20 (q,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 3,67 (s, 1H), 1,40 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H); LC-MS

(ESI): 91,8%;  $m/z$  199,0 ( $M - H^+$ ); (колонка: X Select CSH C-18,  $50 \times 3,0$  мм, 3,5 мкм); RT 2,60 минуты; 5 mM  $NH_4OAc$ : ACN; 0,8 мл/минута).

Стадия 8. Синтез этил-3-((6-хлор-2-циклопропил-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата (7)

В перемешиваемый раствор этил-2-фтор-3-меркаптобензоата 6 (2,8 г, 14,0 ммоль) в  $CH_2Cl_2$  (30 мл) в инертной атмосфере добавляли NCS (1,9 г, 14,0 ммоль) при RT и обеспечивали перемешивание в течение 2 часов. В него добавляли соединение 5 (3,9 г, 12,8 ммоль) в  $CH_2Cl_2$  (10 мл) при RT и перемешивали в течение 16 часов. После завершения реакции с помощью TLC реакционную смесь разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали с  $CH_2Cl_2$  (2 x 80 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2 x 200 мл), сушили над  $Na_2SO_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали путем растирания с *n*-пентаном (2 X 50 мл) с получением соединения 7 (5,2 г, 81%) в виде бледно-желтого твердого вещества.  $^1H$  ЯМР (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7,66-7,7,60 (m, 3H), 7,18 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,08 (dd,  $J = 8,4, 6,5$  Hz, 1H), 6,93 (t,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 6,79-6,75 (m, 1H), 4,40 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 4,26 (q,  $J = 7,6$  Hz, 2H), 1,74-1,68 (m, 1H), 1,56 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 1,41 (t,  $J = 7,6$  Hz, 3H), 1,08-1,04 (m, 2H), 0,89-0,84 (m, 2H); MS (ESI):  $m/z$  502,5 ( $M + H^+$ ); HPLC: 97,5%; (колонка: Acquity BEH C-18 ( $50 \times 2,1$  мм, 1,7 микрона); RT 3,44 минуты; ACN: 0,025% TFA (водн.); 0,5 мл/минута).

Стадия 9. Синтез натриевой соли 3-((6-хлор-2-циклопропил-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойной кислоты (8)

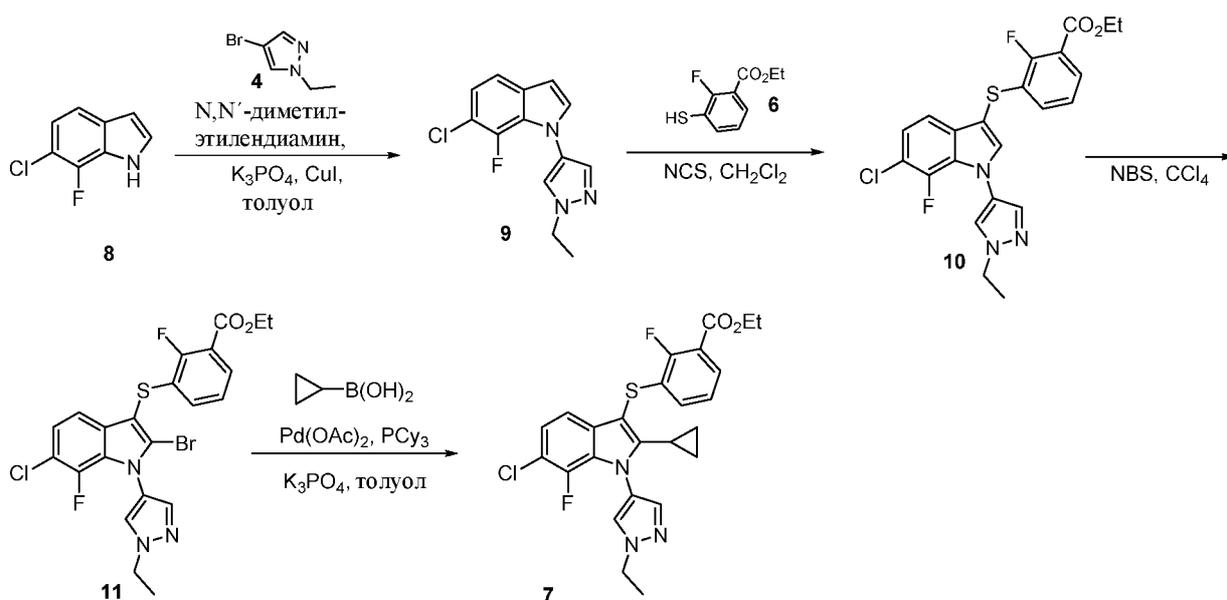
1,0 M NaOH (10,25 мл, 10,2 ммоль) добавляли в раствор соединения 7 (5,14 г, 10,2 ммоль) в THF/MeOH (3:1) (56 мл). Смесь нагревали при 65°C в течение 1,5 часа. Дополнительно добавляли 1,0 M NaOH (0,23 мл, 0,2 ммоль) в реакционную смесь и нагревали при 65°C в течение 0,5 часа. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенной натриевой соли кислоты (5,12 г, 100%) в виде бледно-розового твердого вещества. К неочищенному твердому веществу (600 мг) в THF/EtOH (4:1) (6 мл) добавляли несколько капель воды. Смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с образованием осадителей. Твердые вещества отфильтровывали и промывали с помощью THF/EtOH (9:1) с получением натриевой соли 3-((6-хлор-2-циклопропил-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойной кислоты (натриевой соли соединения А; 449 мг) в виде грязно-белого твердого вещества.  $^1H$  ЯМР (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  8,26 (s, 1H), 7,79 (m, 1H), 7,18-7,13 (m, 3H), 6,81 (t, 1H),

6,43-6,38 (m, 1H), 4,21 (q, 2H), 1,84-1,72 (m, 1H), 1,42 (t, 3H), 0,96-0,93 (m, 2H), 0,84-0,80 (m, 2H); LC-MS: 474 (M<sup>+</sup>).

3-(((6-Хлор-2-циклопропил-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойная кислота (соединение А)

К натриевой соли соединения А (50 мг, 0,10 ммоль), суспендированной в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 мл) и воде (1 мл), добавляли насыщ. лимонную кислоту до pH 3. Суспензию перемешивали до получения прозрачного раствора. Органический слой отделяли, промывали солевым раствором, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного материала с выходом соединения В в виде белого твердого вещества (33 мг, 70%) <sup>1</sup>H ЯМР (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13,39 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,57 (t, 1H), 7,22-7,06 (m, 3H), 6,80 (t, 1H), 4,21 (q, 2H), 1,84-1,72 (m, 1H), 1,42 (t, 3H), 0,96-0,88 (m, 2H), 0,86-0,80 (m, 2H); LC-MS: 474 (M<sup>+</sup>).

Альтернативный путь для промежуточного соединения 7



Стадия 1. Синтез 6-хлор-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индола (9)

В перемешиваемый раствор 6-хлор-7-фтор-1H-индола 8 (400 мг, 2,36 ммоль) в толуоле (10 мл) добавляли 4-бром-1-этил-1H-пиразол 4 (вышеупомянутая стадия 3; 414 мг, 2,36 ммоль), калия фосфат (1,25 г, 5,91 ммоль), N,N'-диметилэтилендиамин (84 мг, 0,95 ммоль) и Cu(I)I (45 мг, 0,24 ммоль) при RT в инертной атмосфере. Полученный в результате раствор продували аргоном и пробирку закупоривали. Реакционную смесь затем нагревали до 140°C в течение 16 часов. После завершения реакции (контролировали с помощью TLC) реакционную смесь охлаждали до RT, разбавляли гексаном (10 мл) и

фильтровали через короткую прокладку целита. Фильтрат промывали водой (2 x 10 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали (хроматографией на силикагеле; 8-10% EtOAc/гексаны) с получением соединения 9 (224 мг, 36%) в виде светло-коричневой густой жидкости. <sup>1</sup>H ЯМР (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,64 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,31 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,12-7,07 (m, 2H), 6,60-6,59 (m, 1H), 4,22 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,55 (t, J = 7,5 Hz, 3H); LC-MS (ESI): 94,7%; m/z 264,1 (M + H<sup>+</sup>); (колонка: X Select C-18, 50 × 3,0 мм, 3,5 мкм); RT 3,87 минуты; 5 mM NH<sub>4</sub>OAc: ACN; 0,8 мл/минута).

Стадия 2. Синтез этил-3-((6-хлор-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата (10)

В перемешиваемый раствор этил-2-фтор-3-меркаптобензоата 6 (вышеупомянутая стадия 7; 212 мг, 1,06 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 мл) в инертной атмосфере добавляли NCS (156 мг, 1,16 ммоль) при 0°C и обеспечивали перемешивание при RT в течение 1 часа. Реакционную смесь охлаждали до 0°C, медленно добавляли соединение 3 (280 мг, 1,06 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 мл) и перемешивали при RT в течение 16 часов. После завершения реакции с помощью TLC реакционную смесь разбавляли с помощью CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 мл) и промывали водой (2 x 20 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали (хроматографией на силикагеле; 8-10% EtOAc/гексаны) с получением соединения 10 (300 мг, 61%) в виде бледно-коричневого твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,69-7,64 (m, 3H), 7,44 (s, 1H), 7,27 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,16 (dd, J = 8,5, 6,0 Hz, 1H), 7,01-6,94 (m, 2H), 4,39 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 4,24 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 1,57 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 1,40 (t, J = 7,5 Hz, 3H); LC-MS (ESI): 98,6%; m/z 462,3 (M + H<sup>+</sup>); (колонка: X Select C-18, 50 × 3,0 мм, 3,5 мкм); RT 4,70 минуты; 5 mM NH<sub>4</sub>OAc: ACN; 0,8 мл/минута).

Стадия 3. Синтез этил-3-((2-бром-6-хлор-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата (11)

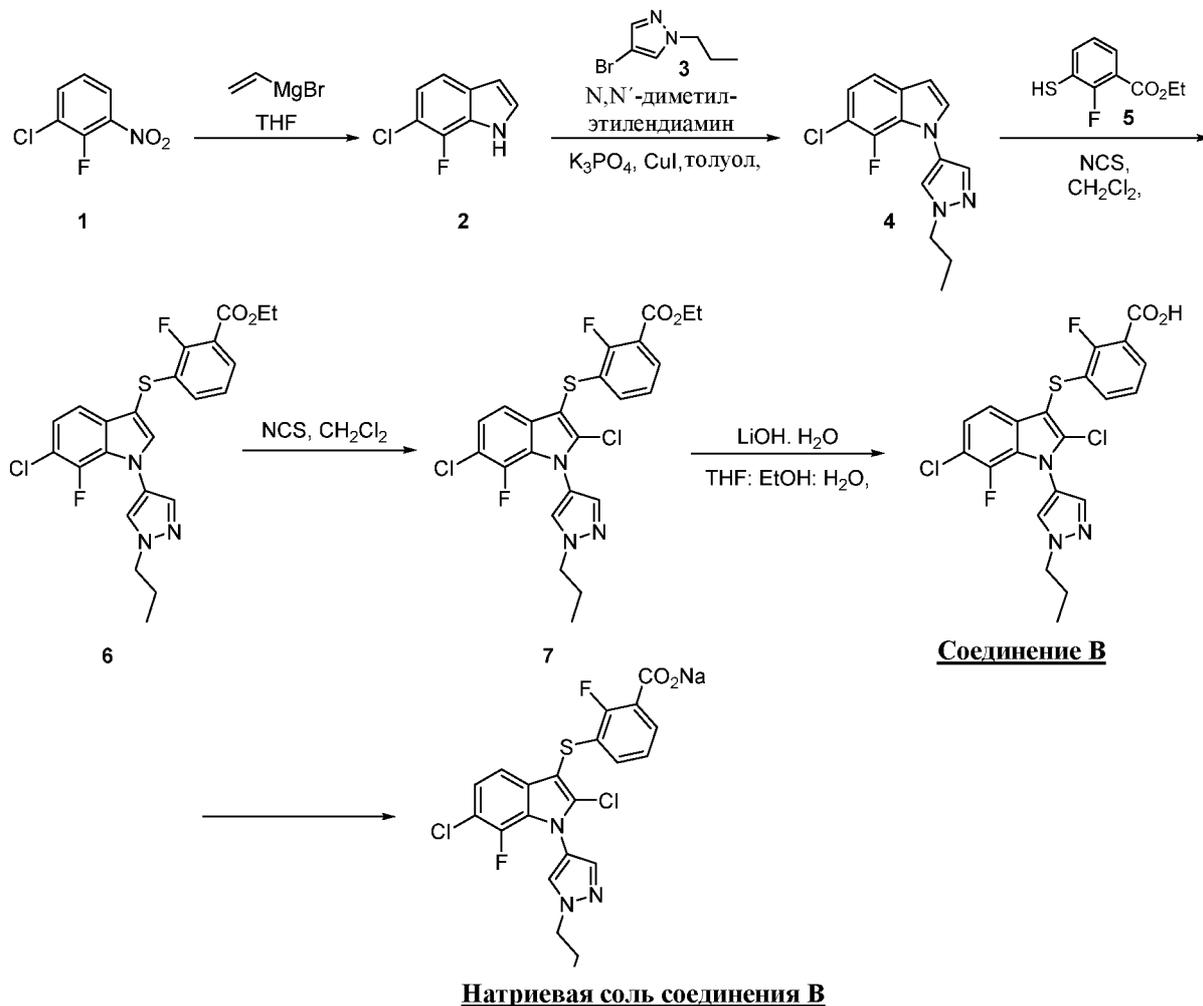
В перемешиваемый раствор соединения 10 (200 мг, 0,43 ммоль) в CCl<sub>4</sub> (10 мл) в инертной атмосфере добавляли NBS (178 мг, 0,99 ммоль) при RT и перемешивали в течение 16 часов. После завершения реакции с помощью TLC реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали с CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (10 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали (хроматографией на силикагеле; 5-7%

EtOAc/гексаны) с получением соединения 11 (180 мг, 77%) в виде грязно-белого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,70-7,67 (m, 1H), 7,65 (s, 2H), 7,30 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,17 (dd, J = 8,5, 6,0 Hz, 1H), 7,00-6,98 (m, 2H), 4,40 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 4,27 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,58 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,40 (t, J = 7,5 Hz, 3H); LC-MS (ESI): 99,5%; m/z 542,4 ( $\text{M}^+ + 2$ ); (колонка: X Select CSH C-18,  $50 \times 3,0$  мм, 3,5 мкм); RT 4,80 минуты; 5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : ACN; 0,8 мл/минута).

Стадия 4. Синтез этил-3-((6-хлор-2-циклопропил-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата (7)

Раствор соединения 11 (150 мг, 0,27 ммоль) в толуоле (10 мл) в инертной атмосфере продували аргоном при RT в течение 10 минут. В него добавляли циклопропилбороновую кислоту (48 мг, 0,55 ммоль), трициклогексилфосфин (16 мг, 0,05 ммоль),  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (6 мг, 0,02 ммоль) и калия фосфат (202 мг, 0,01 ммоль) при RT в аргоне. Полученный в результате раствор снова продували аргоном при RT в течение 5 минут. Реакционную смесь затем нагревали до температуры появления конденсации и перемешивали в течение 3 часов. Реакцию контролировали с помощью TLC и LC-MS; после завершения реакции реакционную смесь охлаждали до RT, разбавляли с помощью EtOAc (20 мл) и фильтровали. Фильтрат промывали водой (2 x 10 мл) и солевым раствором (10 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Его очищали (хроматография на силикагеле; 6% EtOAc/гексаны) с получением соединения 7 в виде бледно-желтого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,66-7,7,60 (m, 3H), 7,18 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,08 (dd, J = 8,4, 6,5 Hz, 1H), 6,93 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 6,79-6,75 (m, 1H), 4,40 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 4,26 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,74-1,68 (m, 1H), 1,56 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,41 (t, J = 7,6 Hz, 3H), 1,08-1,04 (m, 2H), 0,89-0,84 (m, 2H); LC-MS (ESI): 92,9%; m/z 502,5 ( $\text{M}^+$ ); (колонка: X Select CSH C-18,  $50 \times 3,0$  мм, 3,5 мкм); RT 4,85 минуты; 5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : ACN; 0,8 мл/минута); HPLC: 93,1%; (колонка: Acquity BEH C-18 (50 x 2,1 мм, 1,7 микрона); RT 3,44 минуты; ACN: 0,025% TFA (водн.); 0,5 мл/минута).

**Пример 2. Синтез 3-((2,6-дихлор-7-фтор-1-(1-пропил-1Н-пиразол-4-ил)-1Н-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойной кислоты (соединения В)**



Стадия 1. Синтез 6-хлор-7-фтор-1Н-индола (2)

В перемешиваемый раствор 1-хлор-2-фтор-3-нитробензола 1 (10,0 г, 56,98 ммоль) в THF (100 мл) в инертной атмосфере добавляли винилмагния бромид (1 М в растворе THF; 170 мл, 170,94 ммоль) при RT, охлаждали до  $-40^{\circ}\text{C}$  и перемешивали в течение 30 минут. Реакцию контролировали с помощью TLC; после завершения реакции реакционную смесь гасили насыщенным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (50 мл), экстрагировали с помощью EtOAc (2 x 50 мл). Объединенные органические экстракты промывали с помощью раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (40 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Его очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 2% EtOAc/гексаны с получением соединения 2 (1,1 г, 11,4%) в виде коричневого масла.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,36 (br s, 1H), 7,31 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,25-7,22 (m, 1H), 7,08-7,05 (m, 1H), 6,56-6,54 (m, 1H).

Стадия 2. Синтез 6-хлор-7-фтор-1-(1-пропил-1H-пиразол-4-ил)-1H-индола (3)

В перемешиваемый раствор соединения 2 (1,1 г, 6,48 ммоль) в толуоле (15 мл) в инертной атмосфере добавляли N,N'-диметилендиамин (229 мг, 2,60 ммоль), калия фосфат (3,44 г, 16,27 ммоль), 4-бром-1-пропил-1H-пиразол 3 (пример 2, стадия 3; 1,21 г, 6,50 ммоль), CuI (124 мг, 0,65 ммоль) при RT, дегазировали в аргоне в течение 15 минут; нагревали до 140°C и перемешивали в течение 20 часов в закупоренной пробирке. Реакцию контролировали с помощью TLC; после завершения реакции реакцию смесь разбавляли с помощью EtOAc (30 мл), фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Его очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 8-10% EtOAc/гексаны с получением соединения 4 (1,3 г, 72%) в виде коричневой жидкости. <sup>1</sup>H ЯМР (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,64 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,31 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,12-7,07 (m, 2H), 6,60 (s, 1H), 4,13 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 1,99-1,91 (m, 2H), 0,97 (t, J = 8,0 Hz, 3H); LC-MS (ESI): 93,5%; m/z 278,2 (M + H<sup>+</sup>); (колонка: X Select CSH C-18, 50 × 3,0 мм, 3,5 мкм); RT 4,08 минуты; 5 mM NH<sub>4</sub>OAc: ACN; 0,8 мл/минута).

Стадия 3. Синтез этил-3-((6-хлор-7-фтор-1-(1-пропил-1H-пиразол-4-ил)-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата (6)

В перемешиваемый раствор этил-2-фтор-3-меркаптобензоата (соединения 5; 108 мг, 0,54 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 мл) в инертной атмосфере добавляли NCS (72 мг, 0,54 ммоль) при RT и перемешивали в течение 1 часа. К нему добавляли соединение 4 (150 мг, 0,54 ммоль) и перемешивали в течение 16 часов. Реакцию контролировали с помощью TLC; после завершения реакции реакцию смесь разбавляли водой (25 мл) и экстрагировали с CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 25 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (20 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Его очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 10% EtOAc/гексаны с получением соединения 6 (130 мг, 50%) в виде грязно-белого твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,69 (s, 1H), 7,67-7,64 (m, 2H), 7,44 (s, 1H), 7,29-7,27 (m, 1H), 7,17-7,14 (m, 1H), 7,01-6,94 (m, 2H), 4,40 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 4,15 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 1,98-1,94 (m, 2H), 1,40 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 0,98 (t, J = 8,0 Hz, 3H); LC-MS (ESI): 97,6%; m/z 476,7 (M + H<sup>+</sup>); (колонка: X Select CSH C-18, 50 × 3,0 мм, 3,5 мкм); RT 4,84 минуты; 5 mM NH<sub>4</sub>OAc: ACN; 0,8 мл/минута).

Стадия 4. Синтез этил-3-((2,6-дихлор-7-фтор-1-(1-пропил-1H-пиразол-4-ил)-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата (7)

В перемешиваемый раствор этил-3-((6-хлор-7-фтор-1-(1-пропил-1H-пиразол-4-ил)-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата **6** (100 мг, 0,21 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 мл) добавляли NCS (33,7 мг, 0,25 ммоль) при RT в инертной атмосфере. После 8 часов перемешивания добавляли дополнительный NCS (33,7 мг, 0,25 ммоль) при RT и снова перемешивали в течение 24 часов. Реакцию контролировали с помощью TLC; после завершения реакции реакцию смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали с  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 20 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (15 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Его очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 9-11% EtOAc/гексаны с получением соединения **7** (50 мг, 47%) в виде грязно-белого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,71-7,67 (m, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,30 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 7,18 (dd,  $J = 8,4, 6,0$  Hz, 1H), 7,04-6,97 (m, 2H), 4,40 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 4,18 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 2,04-1,93 (m, 2H), 1,40 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 0,97 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H); LC-MS (ESI): 98,8%;  $m/z$  510,4 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ); (колонокка: X Select CSH C-18,  $50 \times 3,0$  мм, 3,5 мкм); RT 4,94 минуты; 5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : ACN; 0,8 мл/минута).

Стадия 5. Синтез 3-((2,6-дихлор-7-фтор-1-(1-пропил-1H-пиразол-4-ил)-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойной кислоты (соединения В)

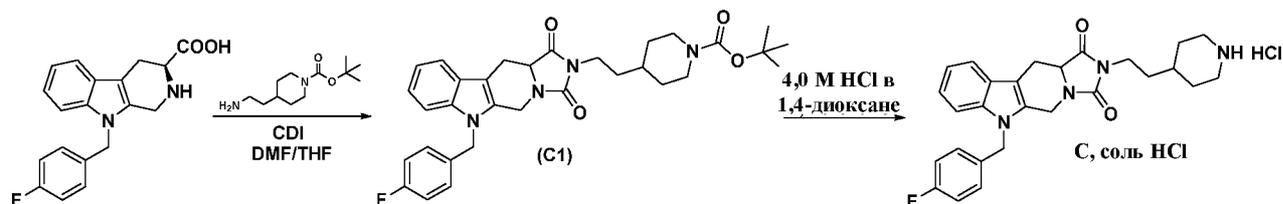
В перемешиваемый раствор соединения **7** (50 мг, 0,09 ммоль) в THF:EtOH:H<sub>2</sub>O (3:1:1, 5 мл) в инертной атмосфере добавляли LiOH·H<sub>2</sub>O (12,3 мг, 0,29 ммоль) при RT и перемешивали в течение 5 часов. Реакцию контролировали с помощью TLC; после завершения реакции летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Осадок разбавляли водой (10 мл), подкисляли с помощью 1 н HCl и экстрагировали с  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 10 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (10 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Его растирали с н-пентаном (2 x 5 мл) с получением названного соединения **В** (15 мг, 34%) в виде грязно-белого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  13,24 (br s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,64-7,60 (m, 1H), 7,36-7,34 (m, 2H), 7,15-7,05 (m, 2H), 4,16 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 1,89-1,80 (m, 2H), 0,85 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H); MS (ESI): 480,1 ( $\text{M} - \text{H}^+$ ); HPLC: 97,0%; (колонокка: Acquity BEH C-18 (50 x 2,1 мм, 1,7 микрона); RT 2,86 минуты; ACN: 0,025% TFA (водн.); 0,5 мл/минута).

Стадия 6: Синтез 3-((2,6-дихлор-7-фтор-1-(1-пропил-1H-пиразол-4-ил)-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойной кислоты, натриевой соли (натриевой соли соединения В)

Сложный эфир 7 (27,6 г, 54,0 ммоль) растворяли в THF (400 мл) и EtOH (100 мл). Добавляли NaOH (54 мл, 1,0 М водн.) и смесь нагревали в течение 1,5 часа при 65°C. Дополнительно добавляли 11 мл NaOH и нагревали в течение 1,5 часа. Растворитель удаляли, осадок растворяли в H<sub>2</sub>O/EtOAc и подкисляли насыщенным раствором лимонной кислоты до pH 3. Смесь экстрагировали 2X с помощью EtOAc, промывали солевым раствором и сушили над сульфатом натрия. После концентрирования продукт осаждали, твердые вещества фильтровали и промывали с помощью 10% EtOAc/Hex. С помощью фильтрования и выпаривания получали названный продукт натриевой соли соединения В в виде белого порошка (23,5 г) MS (ESI): 482,1 (M - H<sup>+</sup>).

В качестве альтернативы, соединение В (34,1 г, 71 ммоль) растворяли в THF (313 мл) и охлаждали в бане с ледяной водой. Каплями добавляли NaOH (62,6 мл, 1,0 М водн.) за один час. Растворитель удаляли и твердое вещество сушили в вакууме с получением названного соединения в виде белого твердого вещества (31,8 г). MS (ESI): 482,1 (M - H<sup>+</sup>).

**Пример 3. Синтез 4-(2-(6-(4-фторбензил)-1,3-диоксо-5,6,11,11a-тетрагидро-1H-имидазо-[1',5':1,6]пиридо[3,4-b]индол-2(3H,5H,6H)-ил)этил)пиперидин-1-ия хлорида (соединения С)**



Стадия 1. Синтез (S)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты

Формальдегид (37% водн. раствор, 39,7 мл, 490 ммоль) добавляли в перемешиваемый раствор L-триптофана (100,0 г, 490 ммоль) в водном растворе NaOH (19,6 г в 200 мл H<sub>2</sub>O, 490 ммоль) и перемешивали в течение 2 часов. Смесь нагревали до появления конденсата и перемешивали в течение 3,5 часа. Смесь охлаждали до 50°C и осторожно подкисляли до pH 5-6 с помощью 6,0 М раствора HCl<sub>(водн.)</sub>. Смесь разбавляли водой (200 мл). Колбу прекращали нагревать и охлаждали до комнатной температуры. Осадки отфильтровывали и промывали водой. Твердые вещества повторно суспендировали в THF (800 мл), перемешивали при RT в течение 1 часа и фильтровали с получением (S)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты (101,3 г, 95 %) в виде бежевого твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 10,93 (s, 1H), 8,88 (br s, 1H), 7,43 (d, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,02 (t, 1H), 6,97 (t, 1H), 4,18 (q, 2H), 3,61-3,56 (m, 1H), 3,12 (dd, 1H), 2,83-2,75 (m, 1H); LC-MS [M + H<sup>+</sup> 217].

Стадия 2. Синтез (S)-2-(трет-бутоксикарбонил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты

K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (129,5 г, 937 ммоль) растворяли в воде (470 мл) вливали в перемешиваемый раствор (S)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты (101,3 г, 468 ммоль) и ди-трет-бутилдикарбоната (122,7 г, 562 ммоль) в THF (470 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. На следующий день THF удаляли при пониженном давлении, а оставшийся осадок осторожно подкисляли до pH 3-4 насыщенным раствором лимонной кислоты. Осадители отфильтровывали и промывали водой с получением (S)-2-(трет-бутоксикарбонил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты (143,5 г, 97%) в виде бежевого порошка. <sup>1</sup>H ЯМР (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,75 (br s, 1H), 10,88 (s, 1/2H), 10,83 (s, 1/2H), 7,40 (d, 1H), 7,28-7,25 (m, 1H), 7,05 (t, 1H), 6,92 (t, 1H), 5,15-5,10 (m, 1H), 4,69 (t, 1H), 4,45-4,29 (m, 1H), 3,30-3,23 (m, 1H), 2,98-2,88 (m, 1H), 1,46 (s, 9 X 1/2H), 1,42 (s, 9 X 1/2H); LC-MS [M + H<sup>+</sup> 317].

Стадия 3. Синтез (S)-2-(трет-бутоксикарбонил)-9-(4-фторбензил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты

(S)-2-(Трет-бутоксикарбонил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновую кислоту (20,0 г, 63,2 ммоль) в DMF (630 мл) дегазировали и колбу охлаждали

в бане с ледяной водой. Медленно порциями добавляли NaN (60% в минеральном масле; 7,8 г, 196,0 ммоль) за 45 минут при 0°C и перемешивали в течение 1 часа. Каплями добавляли 4-фторбензилбромид (8,7 мл, 69,5 ммоль) за 45 минут при 0°C и перемешивали в течение 1,5 часа. Реакцию гасили водой. Смесь разбавляли водой (1,8 л) и промывали с помощью EtOAc (1 л). Водный слой подкисляли до pH 3-4 твердой лимонной кислотой. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc (3 x 300 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (900 мл), солевым раствором (200 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 0-30 % EtOAc/гексан с получением твердого вещества. Твердое вещество промывали с помощью 10% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/гексан с получением (S)-2-(трет-бутоксикарбонил)-9-(4-фторбензил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты (19,5 г, 72%) в виде белого порошка. <sup>1</sup>H ЯМР (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,81 (br s, 1H), 7,48-7,42 (m, 2H), 7,13-6,97 (m, 6H), 5,41-5,28 (m, 2H), 5,14-5,03 (m, 1H), 4,66-4,58 (m, 1H), 4,42-4,27 (m, 1H), 3,32-3,28 (m, 1H), 3,06-2,96 (m, 1H), 1,40 (s, 9 X 1/2H), 1,39 (s, 9 X 1/2H); LC-MS [M + H<sup>+</sup> 425].

#### Стадия 4. Синтез (S)-9-(4-фторбензил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты

(S)-2-(Трет-бутоксикарбонил)-9-(4-фторбензил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновую кислоту (18,9 г, 44,5 ммоль), 4 M HCl в растворе 1,4-диоксана (56 мл, 222,7 ммоль) и 1,4-диоксан (85 мл) перемешивали при RT в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли водой (200 мл) и нейтрализовали до pH 7 с помощью Et<sub>3</sub>N. Добавляли воду (400 мл) и смесь перемешивали в течение 30 минут. Твердое вещество собирали путем фильтрации и промывали водой (300 мл) с получением (S)-9-(4-фторбензил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновой кислоты (13,0 г, 90 %) в виде бледно-желтого порошка. <sup>1</sup>H ЯМР (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,95 (br s, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,39 (d, 1H), 7,14-6,99 (m, 6H), 5,33 (s, 2H), 4,24 (d, 1H), 4,08 (d, 1H), 3,63-3,58 (m, 1H), 3,17-3,10 (m, 1H), 2,86-2,81 (m, 1H); LC-MS [M + H<sup>+</sup> 325].

#### Стадия 5

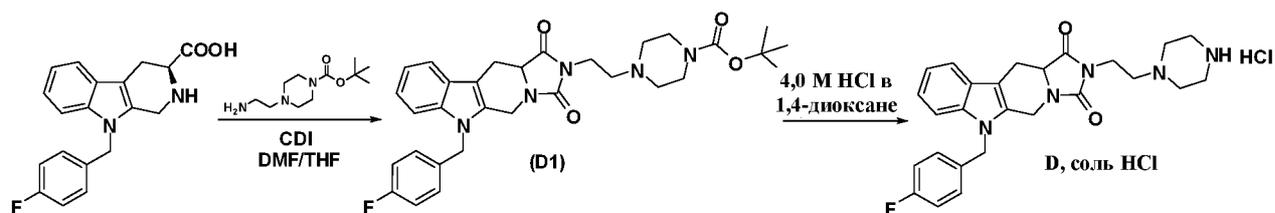
1,1'-Карбонилдиимидазол (37 мг, 0,23 ммоль) в DMF (0,5 мл) каплями добавляли в дегазированный раствор 4-(аминоэтил)-1-N-Вос-пиперидина (53 мг, 0,23 ммоль) и THF (0,5 мл). Смесь перемешивали при RT в течение ночи. Добавляли (S)-9-(4-фторбензил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновую кислоту (75 мг, 0,23 ммоль) и DMF (1 мл) и нагревали при 95°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до RT и

разбавляли водой. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc (3 раза). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный материал очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 0-50% EtOAc/Hex с получением соединения (C1) в виде желтой пены (61 мг, 47%). LC-MS [M + Na 583].

### Стадия 6

Соединение (D1) (61 мг, 0,11 ммоль) и 4 М HCl в растворе 1,4-диоксана (1 мл) перемешивали при RT в течение 1 часа. Реакционную смесь концентрировали, а затем разбавляли водой (10 мл). Ее промывали с помощью EtOAc и подщелачивали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>(водн.). Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2 x 5 мл). Два органических экстракта объединяли, промывали солевым раствором, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный материал очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 0-10% MeOH/DCM с 2% триэтиламина с получением грязно-белого твердого вещества. Твердое вещество растворяли в THF (0,5 мл) и добавляли 2,0 М HCl в диэтиловом эфире (0,05 мл). Растворитель удаляли с получением соединения (C, соли HCl) в виде грязно-белого твердого вещества (31 мг, 57%). LC-MS [M + H<sup>+</sup> 461].

Пример 4. Синтез 4-(2-(6-(4-фторбензил)-1,3-диоксо-5,6,11,11a-тетрагидро-1H-имидазо[1',5':1,6]пиридо[3,4-b]индол-2(3H,5H,6H)-ил)этил)пиперазин-1-ия хлорида (соединения D)



### Стадия 1

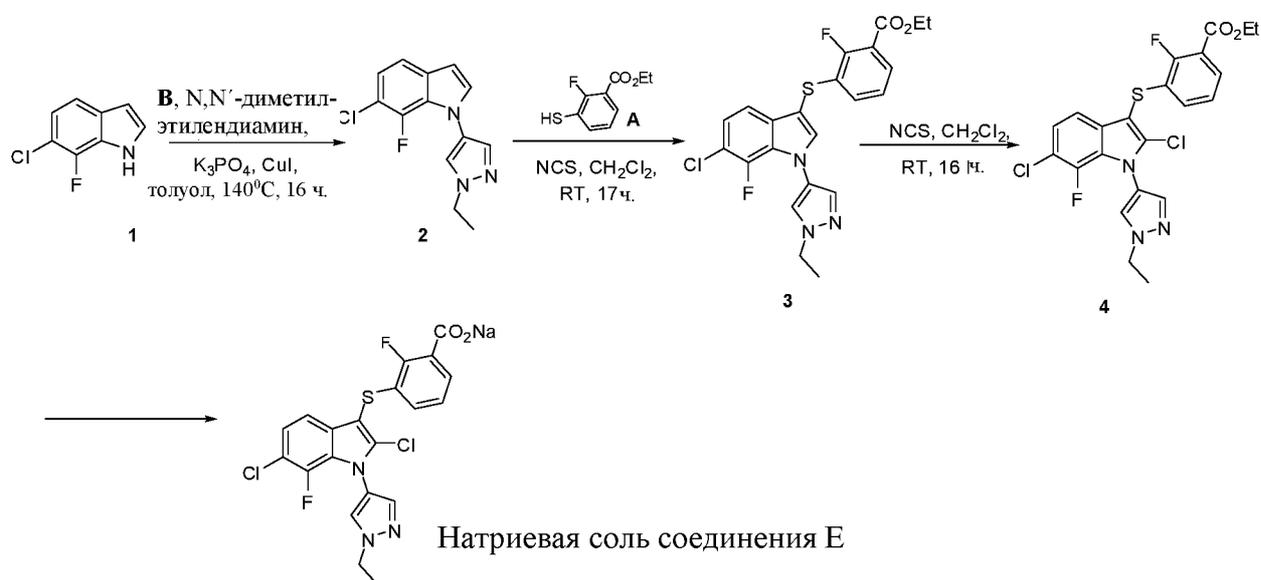
1,1'-Карбонилдиимидазол (37 мг, 0,23 ммоль) в DMF (0,5 мл) каплями добавляли в дегазированный раствор трет-бутил-4-(2-аминоэтил)пиперазин-1-карбоксилата (53 мг, 0,23 ммоль) и THF (0,5 мл). Смесь перемешивали при RT в течение ночи. Добавляли (S)-9-(4-фторбензил)-2,3,4,9-тетрагидро-1H-пиридо[3,4-b]индол-3-карбоновую кислоту (75 мг, 0,23 ммоль) и DMF (1 мл) и нагревали при 95°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до RT и разбавляли водой. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc (3 раза). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, сушили над

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный материал очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 0-100% EtOAc/Hex с получением соединения (D1) в виде желтого твердого вещества (76 мг, 58%). LC-MS [M + H<sup>+</sup> 562].

### Стадия 2

Соединение (D1) (76 мг, 0,14 ммоль) и 4 М HCl в растворе 1,4-диоксана (1 мл) перемешивали при RT в течение 1 часа. Реакционную смесь концентрировали, а затем разбавляли водой (10 мл). Ее промывали с помощью EtOAc и подщелачивали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>(водн.). Водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (2 x 5 мл). Два органических экстракта объединяли, промывали солевым раствором, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный материал очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 0-10% MeOH/DCM с 2% Et<sub>3</sub>N с получением бледно-желтого твердого вещества. Твердое вещество растворяли в THF (0,5 мл) и добавляли 2,0 М HCl в диэтиловом эфире (0,05 мл). Растворитель удаляли с получением соединения (D, соли HCl) в виде бледно-желтого твердого вещества (37 мг, 55%). LC-MS [M + H<sup>+</sup> 462].

### **Пример 5. Синтез натриевой соли 3-((2,6-дихлор-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойной кислоты (соединения E)**



### Стадия 1. Синтез этил-3-((6-хлор-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата (3)

По процедуре из примера 2 стадий 2 и 3 с использованием 4-бром-1-этил-1H-пиразола В (пример 4, стадия 1) вместо 4-бром-1-пропил-1H-пиразола 3 в стадии 2

получали названное соединение 3 в виде светло-коричневого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,69-7,64 (m, 3H), 7,44 (s, 1H), 7,27 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,16 (dd,  $J = 8,5, 6,0$  Hz, 1H), 7,01-6,94 (m, 2H), 4,40 (q,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 4,26 (q,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 1,57 (t,  $J = 8,0$  Hz, 3H), 1,57 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H); LC-MS (ESI):  $m/z$  462,5 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ).

Стадия 2. Синтез этил-3-((2,6-дихлор-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензоата (4)

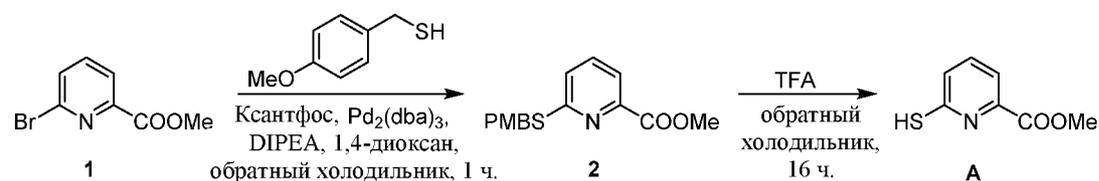
В раствор соединения 3 (100 мг, 0,21 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 мл) в инертной атмосфере добавляли NCS (58 мг, 0,43 ммоль) при RT и перемешивали в течение 16 часов. Реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали с помощью  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 15 мл). Объединенные органические экстракты сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали (силикагель; 14-17% EtOAc/гексаны) с получением соединения 4 (35 мг, 33%) в виде грязно-белого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,71-7,66 (m, 3H), 7,30 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,19 (dd,  $J = 8,8, 6,4$  Hz, 1H), 7,04-6,97 (m, 2H), 4,40 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 4,27 (q,  $J = 7,6$  Hz, 2H), 1,58 (t,  $J = 7,6$  Hz, 3H), 1,49 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H); LC-MS (ESI):  $m/z$  496,7 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ).

Стадия 3. Синтез 3-((2,6-дихлор-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторбензойной кислоты (соединения E)

По процедуре из примера 1 стадии 9, но с использованием промежуточного соединения 4 вместо промежуточного соединения 7, получали названную натриевую соль соединения E в виде грязно-белого твердого вещества. LC-MS:  $m/z$  468 ( $\text{M} + 1$ ).

**Пример 6. Синтез метил-6-меркаптопиколината (промежуточного соединения**

**A)**



Стадия 1. Синтез метил-6-((4-метоксибензил)тио)пиколината (2)

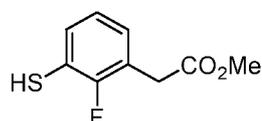
В перемешиваемый раствор метил-6-бромпиколината 1 (8 г, 37,2 ммоль) в 1,4-диоксане (110 мл) в инертной атмосфере добавляли (4-метоксифенил)метантиол (5,7 г, 37,0 ммоль), ксантфос (1,1 г, 1,9 ммоль), диизопропилэтиламин (13,6 мл, 74,0 ммоль),

$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (847 мг, 0,9 ммоль) при RT, дегазировали в аргоне в течение 15 минут; нагревали до появления конденсата и перемешивали в течение 1 часа. После завершения реакции (TLC) реакционную смесь разбавляли водой (500 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3 x 500 мл). Объединенные органические экстракты сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали (силикагель; 10% EtOAc/гексаны) с получением соединения 2 (8 г, 75%) в виде желтого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,78 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,57 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,42-7,40 (m, 2H), 7,29-7,25 (m, 1H), 6,82 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,44 (s, 2H), 4,00 (s, 3H), 3,77 (s, 3H); LC-MS: 95,7%; 290,3 ( $\text{M}^+ + 1$ ); (колонка: X Select C-18,  $50 \times 3,0$  мм, 3,5 мкм); RT 4,10 минуты, 5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : ACN; 0,8 мл/минута).

### Стадия 2. Синтез метил-6-меркаптопиколината (промежуточного соединения А)

Перемешиваемый раствор соединения 2 (6 г, 20,7 ммоль) в трифторуксусной кислоте (50 мл) в инертной атмосфере нагревали до появления конденсата и перемешивали в течение 16 часов. После завершения реакции (TLC) летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Осадок разбавляли с помощью EtOAc (500 мл), промывали с помощью водного раствора  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 250 мл). Органический экстракт сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения 6 (3,5 г, неочищенного) в виде бледно-коричневого твердого вещества. LC-MS: 61,1%; 170 ( $\text{M}^+ + 1$ ); (колонка: X Select C-18,  $50 \times 3,0$  мм, 3,5 мкм); RT 1,41 минуты, 5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ : ACN; 0,8 мл/минута).

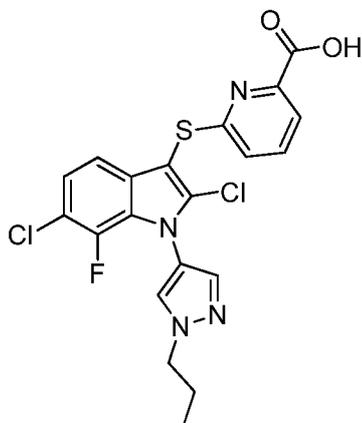
### **Пример 7. Синтез метил-2-(2-фтор-3-меркаптофенил)ацетата (промежуточного соединения В)**



**В**

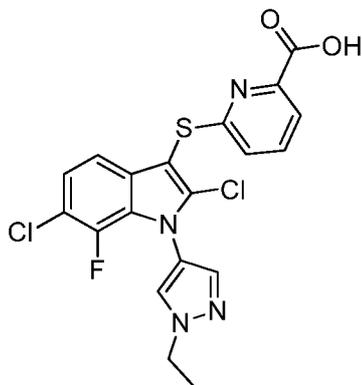
Получали согласно процедуре, описанной в WO2012/024620, пример 154, стр. 203.

**Пример 8. Синтез 6-((2,6-дихлор-7-фтор-1-(1-пропил-1Н-пиразол-4-ил)-1Н-индол-3-ил)тио)пиколиновой кислоты (соединения F)**



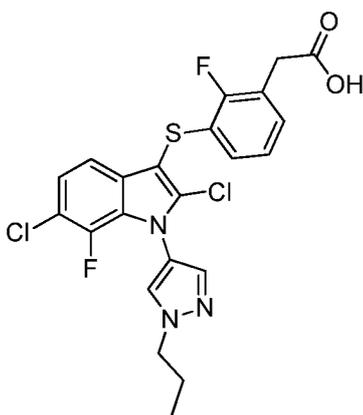
С использованием процедуры из примера 2, но с заменой метил-6-меркаптопиколинатом (промежуточным соединением А) этил-2-фтор-3-меркаптобензоата на стадии 3, получали названное соединение. LC-MS: 465,2 ( $M^{+1}$ ).

**Пример 9. Синтез 6-((2,6-дихлор-1-(1-этил-1Н-пиразол-4-ил)-7-фтор-1Н-индол-3-ил)тио)пиколиновой кислоты (соединения G)**



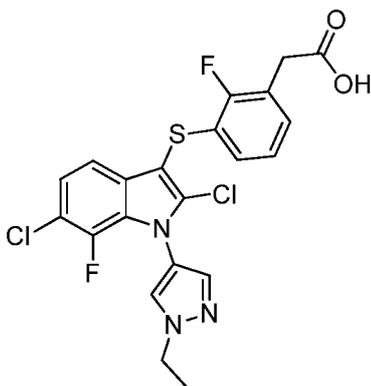
С использованием процедуры из примера 5 за исключением того, что метил-6-меркаптопиколинатом (промежуточным соединением А) заменяли этил-2-фтор-3-меркаптобензоат на стадии 2, получали названное соединение. LC-MS: 449,2 ( $M^{+1}$ ).

**Пример 10. Синтез 2-(3-((2,6-дихлор-7-фтор-1-(1-пропил-1Н-пиразол-4-ил)-1Н-индол-3-ил)тио)-2-фторфенил)уксусной кислоты (соединения H)**



С использованием процедуры из примера 2 за исключением того, что метил-2-(2-фтор-3-меркаптофенил)ацетатом (промежуточным соединением В) заменяли этил-2-фтор-3-меркаптобензоат на стадии 3, получали названное соединение. LC-MS: 496,6 ( $M^+ + 1$ ).

**Пример 11. Синтез 2-(3-((2,6-дихлор-1-(1-этил-1H-пиразол-4-ил)-7-фтор-1H-индол-3-ил)тио)-2-фторфенил)уксусной кислоты (соединения I)**



С использованием процедуры из примера 5 за исключением того, что метил-2-(2-фтор-3-меркаптофенил)ацетатом (промежуточным соединением В) заменяли этил-2-фтор-3-меркаптобензоат на стадии 2, получали названное соединение. LC-MS: 482,3 ( $M^+ + 1$ ).

### **Пример 12. Парентеральная фармацевтическая композиция**

Для получения парентеральной фармацевтической композиции, подходящей для введения путем инъекции (подкожной, внутривенной), 1-100 мг растворимой в воде соли ингибитора аутоксина или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата растворяли в стерильной воде, а затем смешивали с 10 мл 0,9% стерильного физиологического раствора. Необязательно добавляли подходящий буфер, а также необязательно кислоту или основание для регулирования pH. Смесь включали в единичную дозированную форму, подходящую для введения путем инъекции.

**Пример 13. Пероральный раствор**

Для получения фармацевтической композиции для пероральной доставки достаточное количество ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли добавляли в воду (с необязательным солюбилизатором(ами), необязательным буфером(ами) и маскирующими вкус вспомогательными средствами) с получением 20 мг/мл раствора.

**Пример 14. Пероральная таблетка**

Таблетку получали путем смешивания 20-50% по массе ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли, 20-50% по массе микрокристаллической целлюлозы, 1-10% по массе гидроксипропилцеллюлозы с низкой степенью замещения и 1-10% по массе стеарата магния или других соответствующих вспомогательных средств. Таблетки получали путем непосредственного прессования. Суммарную массу прессованных таблеток поддерживали при 100-500 мг.

**Пример 15. Пероральная капсула**

Для получения фармацевтической композиции для пероральной доставки 10-500 мг ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли смешивали с крахмалом или другой подходящей порошкообразной смесью. Смесью включали в пероральную дозированную единицу, такую как твердая желатиновая капсула, которая подходит для перорального введения.

Для другой фармацевтической композиции 10-500 мг ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли помещали в капсулу 4 размера или капсулу 1 размера (гипромеллоза или твердый желатин) и капсулу закрывали.

**Пример 16. Гелевая композиция для местного введения**

Для получения фармацевтической гелевой композиции для местного введения ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль смешивали с гидроксипропилцеллюлозой, пропиленгликолем, изопропилмиририлатом и очищенным спиртом стандарта USP. Затем полученную в результате гелевую смесь включали в контейнеры, такие как тубы, которые подходили для местного введения.

**Пример 17. Анализ аутоаксина человека**

Активность АТХ анализировали в концентрированной кондиционированной среде от клеток печеночноклеточной карциномы человека Нер3В путем измерения количества

холина, высвобожденного из субстрата, лизофосфатидилхолина (LPC), поскольку он расщепляется до LPA. Кондиционированную среду собирали от конфлюэнтных клеток Нер3В и концентрировали в 10-20 раз с использованием фильтрующих устройств Centriprep-30 (Millipore). Для анализа ингибирования аутоаксина 10-20 мкл концентрированной кондиционированной среды инкубировали с 2,5 мкл тестируемого соединения в DMSO и 72,5-82,5 мкл буфера lyso-PLD (100 мМ Tris, pH 9, 500 мМ NaCl, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ CaCl<sub>2</sub>, 0,05% Triton X-100 в присутствии или отсутствии 0,2% не содержащего жирные кислоты альбумина сыворотки крови человека) в течение 15 минут при 37°C. После 15 минут инкубации 5 мкл 2 мМ LPC (14:0; Avanti Polar Lipids, № по каталогу 855575C), разбавленного в буфере lyso-PLD, добавляли до конечной концентрации 100 мкМ и инкубацию продолжали еще 1,5-3 часа при 37°C. Добавляли 100 мкл цветной смеси, содержащей 4,5 мМ 4-аминоантипирин, 2,7 мМ N-этил-N-(2-гидрокси-3-сульфопропил)-м-толуидина, 21 единицу/мл пероксидазы хрена и 3 единицы/мл холиноксидазы в 50 мМ Tris, pH 8, 4,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, и инкубацию продолжали в течение 15 минут при комнатной температуре перед считыванием поглощения при 555 нм.

Иллюстративная биологическая активность типичных соединений в анализе аутоаксина человека, описываемом в настоящем документе, представлена в следующей таблице.

Соединение	IC <sub>50</sub> (мкМ)
Соединение А	А
Соединение В	А
Соединение С	А
Соединение D	А
Соединение E	А
Соединение F	А
Соединение G	А
Соединение H	А
Соединение I	А

А составляет  $\leq 0,5$  мкМ; В составляет  $> 0,5$  мкМ, но  $\leq 1$  мкМ; С составляет  $> 1$  мкМ.

### **Пример 18. Анализ аутоаксина в цельной крови человека**

Ингибирование активности АТХ в цельной крови человека анализировали путем измерения концентрации 20:4 LPA в плазме после длительной инкубации при 37°C. Кровь брали у давших согласие людей-волонтеров в вакуумные пробирки с гепарином и добавляли 200-мкл аликвоты к 2 мкл тестируемого соединения в DMSO или DMSO отдельно. Несколько из пробирок со средой-носителем немедленно центрифугировали при 800 x g в течение 10 минут при 4°C и плазму удаляли для обработки с целью

определения исходной концентрации 20:4 LPA. Остальные образцы крови, содержащие среду-носитель или тестируемое соединение, инкубировали при 37°C в течение 4 часов перед центрифугированием при 800 x g в течение 10 минут при 4°C с получением плазмы. Плазму готовили для LCMS следующим образом: 40 мкл плазмы удаляли, добавляли 5 объемов метанола, содержащего 125 нг/мл 17:0 LPA, в качестве внутреннего стандарта и смесь инкубировали при -20°C в течение 10 минут перед центрифугированием при 4000 x g в течение 10 минут при 4°C. 150 мкл супернатанта переносили в 96-луночный планшет и разбавляли 100 мкл органического раствора (90:10:0,1 вода/ацетонитрил/гидроксид аммония) для анализа концентраций 20:4 LPA с помощью LCMS. LPA 20:4 и внутренний стандарт (LPA 17:0) анализировали на квадрупольном масс-спектрометре (ABI Sciex 4000QTrap) в режиме отрицательных ионов (ESI) с помощью мониторинга множественных реакций (MRM). Подвижные фазы содержали 0,1% гидроксида аммония в 90% воды/10% ацетонитрила (растворитель А) и 0,1% гидроксида аммония в 90% ацетонитрила/10% воды (растворитель В). Скорость потока поддерживали при 0,8 мл/минута, а суммарное время выполнения составляло 3 минуты. Аналиты отделяли с использованием линейного градиента следующим образом: 1) подвижную фазу удерживали в течение 0,5 минуты при 10% В; 2) В повышали от 10% до 90% в течение следующей 1 минуты; 3) В удерживали постоянным в течение 0,5 минуты при 90%; и 4) В возвращали до условий начального градиента.

#### **Пример 19. Модель индуцированного аутоаксином зуда**

Мышей инфицировали аденовирусом, экспрессирующим аутоаксин под контролем промотора CMV (цитомегаловируса) или AFP (альфа-фетопротейна). У инфицированных мышей возникала усиленная реакция чесывания после инфицирования. После инфицирования экспрессирующим АТХ аденовирусом и наблюдения усиленной реакции чесывания мышей обрабатывали ингибитором аутоаксина и контролировали на предмет ингибирования зуда.

Усиленную реакцию чесывания наблюдали у мышей, инфицированных аденовирусом CMV-АТХ.

#### **Пример 20. Модель индуцированного миелиновым олигодендроцитарным гликопротеином (MOG) экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ)**

ЕАЕ индуцировали у мышей путем иммунизации пептидом MOG (35-55), который приводил к прогрессирующему параличу. Мышей обрабатывали ингибитором

аутоаксина при 60 мг/кг массы тела ВІD либо в момент иммунизации (профилактическое введение дозы), либо после первого признака симптомов (терапевтическое введение дозы) и контролировали на предмет признаков паралича.

#### **Пример 21. Анализ миграции клеток меланомы MDA-MB-435**

Клетки линии меланомы человека MDA-MB-435S поддерживали в субконфлюентной культуре в среде, содержащей FBS и пенициллин/стрептомицин. За день до анализа клетки в течение ночи держали в бессывороточной среде, содержащей 0,1-0,2% не содержащего жирные кислоты BSA. В день анализа кондиционированную среду удаляли из клеток, центрифугировали для осветления и отбрасывали. Затем клетки собирали путем соскабливания, подсчитывали и осаждали центрифугированием. Клетки повторно суспендировали при 1,05X конечной желаемой плотности в кондиционированной среде. Анализы выполняли в двух повторностях с использованием 96-луночной системы определения хемотаксической активности Neuprobe с 8-мкм размером пор и покрытыми фибронектином фильтрами. Добавляли 152 мкл клеток в 8 мкл тестируемого соединения ингибитора аутоаксина и инкубировали в течение 15 минут при 37°C. В нижнюю камеру загружали 2-10 мкМ LPC, а затем 50 мкл суспензии клеток с тестируемым соединением добавляли в верхнюю часть каждого участка лунки с фильтром. Фильтры инкубировали при 37°C в течение 1-24 часов и немигрирующие клетки удаляли из верхней части фильтра путем ополаскивания с помощью PBS и соскабливания. Фильтр сушили на воздухе, затем окрашивали перед считыванием поглощения при 580 нм.

В данном анализе миграции клеток соединение А имело IC<sub>50</sub> 4 нМ, а соединение В имело IC<sub>50</sub> 15 нМ.

#### **Пример 22: Мышиная модель индуцированного четыреххлористым углеродом (CCl<sub>4</sub>) печеночного фиброза**

Самки или самцы мышей balb/c получали CCl<sub>4</sub> (0,8-1,0 мл/кг массы тела), разбавленный оливковым маслом, через внутривентриальную инъекцию дважды в неделю в течение 6-8 недель (Higazi, A. A. et al, Clin Exp Immunol. 2008 Apr;152(1): 163-73). Контрольные мыши получали эквивалентный объем только оливкового масла. Ингибитор аутоаксина или среду-носитель доставляли перорально ежедневно, начиная с момента инъекции CCl<sub>4</sub> (профилактически) или начиная через 1-3 недели после первой инъекции CCl<sub>4</sub> (терапевтически). В конце исследования мышей умерщвляли с использованием ингаляционного изофлурана и собирали кровь через пункцию сердца для последующего анализа содержания ALT/AST. Собирали печень и замораживали при -80°C

для биохимического анализа печеночного фиброза или фиксировали в 10% нейтральном буферизированном формалине для гистологической оценки печеночного фиброза. Для биохимической оценки печеночного фиброза гомогенаты ткани печени анализировали на предмет концентрации коллагена с использованием гидроксипролинового анализа. Для гистологической оценки печеночного фиброза фиксированную ткань печени окрашивали пикросириусом красным и печеночный фиброз определяли с помощью количественной компьютерной денситометрии с использованием световой микроскопии.

**Пример 23. Дефицитные по холину мыши, модель печеночного фиброза, определяемая по L-аминокислоте, при диете с высоким содержанием жира (CDAА/HFD)**

Мышей держали на диете с дефицитом холина, дополненной 0,1% метионина и 60% ккал от жира (CDAА/HFD) в течение 12-14 недель. Мыши получали 1, 3, 10 или 30 мг/кг массы тела тестируемого соединения ингибитора аутоаксина или среды-носителя начиная с начала недели 6 после кормления (терапевтически). Затем еженедельно измеряли ферменты печени: аспрататтрансаминазу, щелочную фосфатазу и билирубин. В конце исследования мышей умерщвляли, а печень собирали и замораживали при -80°C для биохимического анализа печеночного фиброза или фиксировали в нейтральном буферизированном формалине для гистологической оценки печеночного фиброза. Для биохимической оценки печеночного фиброза гомогенаты ткани печени анализировали на предмет концентрации коллагена с использованием гидроксипролинового анализа. Для гистологической оценки печеночного фиброза фиксированную ткань печени окрашивали красителем пикросириусом красным (PSR) и тяжесть печеночного фиброза оценивали с использованием световой микроскопии. После качественной оценки печеночного фиброза осуществляли количественную оценку фиброза с использованием изображений цельного препарата, полученных при 20X увеличении, и вычисляли процентное отношение среза печени с позитивным окрашиванием PSR с использованием программного обеспечения для анализа количественной оценки площади изображений Halo® от Indica Labs.

В данной модели печеночного фиброза соединение А существенно снижало печеночный фиброз при введении дозы 30 мг/кг массы тела, а соединение В существенно снижало печеночный фиброз при введении дозы 10 мг/кг массы тела. Обработка либо соединением А (30 мг/кг массы тела), либо соединением В (10 мг/кг массы тела) обеспечивала в результате приблизительно 35% снижение % площади положительного окрашивания PSR.

В данной животной модели обработка мышей 3 мг/кг, 10 мг/кг или 30 мг/кг соединения А обеспечивала в результате приблизительно 72%, 76% и 90% ингибирование при остаточной концентрации в плазме активности аутоксина, соответственно (как измеряли по продуцированию холина). Обработка мышей 1 мг/кг, 3 мг/кг или 10 мг/кг соединения В обеспечивала в результате приблизительно 49%, 67% и 75% ингибирование при остаточной концентрации в плазме активности аутоксина, соответственно (как измеряли по продуцированию холина).

#### **Пример 24. Мышиная модель печеночного фиброза с индуцированным диетой NASH (неалкогольным стеатогепатитом)**

Мышам вводили инъекцией низкую дозу стрептозотоцина через двое суток после рождения, а затем держали на диете с высоким содержанием жира начиная с возраста 4 недели до возраста 12 недель. Мышей обрабатывали тестируемым соединением начиная с возраста 6 недель. В конце исследования мышей умерщвляли и собирали кровь для определения содержания в крови глюкозы после кормления и ALT/AST. Печень собирали, взвешивали и замораживали при -80°C для биохимического анализа печеночного фиброза и триглицеридов печени или фиксировали в нейтральном буферизированном формалине для гистологической оценки печеночного фиброза, стеатоза и воспаления. Для биохимической оценки печеночного фиброза гомогенаты ткани печени анализировали на предмет концентрации коллагена с использованием гидроксипролинового анализа, а на предмет триглицеридов печени с использованием набора Triglyceride E-test (Wako, Japan). Для гистологической оценки воспаления и стеатоза фиксированную ткань печени окрашивали гематоксилином и эозином (H&E) и тяжесть воспаления и стеатоза оценивали с использованием световой микроскопии. Для гистологической оценки печеночного фиброза фиксированную ткань печени окрашивали красителем пикросириусом красным (PSR) и тяжесть печеночного фиброза оценивали с использованием световой микроскопии.

В данной модели фиброза соединение А при 10 мг/кг демонстрировало существенное снижение печеночного фиброза и существенное снижение оценки активности NAFLD (комплексной оценки воспаления, стеатоза и оценок раздувания гепатоцитов).

#### **Пример 25. Индуцированный диэтилнитрозамином (DEN) печеночный фиброз и печеночноклеточная карцинома у крыс**

Самцы крыс Wistar получали еженедельно внутривентрально-перитонеальные инъекции 35-100 мг/кг диэтилнитрозамина (DEN) в течение 13-18 недель в суммарном объеме 1,5 мл

забуференного фосфатом физиологического раствора (PBS) для индуцирования цирроза и печеночноклеточной карциномы (НСС). Контрольные крысы получали еженедельно инъекции эквивалентного объема PBS. Ингибитор аутоксина или среду-носитель доставляли перорально ежесуточно начиная с 6-7 недель после начальной инъекции DEN. В конце исследования крыс умерщвляли с использованием ингаляционного изофлурана и собрали кровь через пункцию сердца для последующего анализа содержания ALT/AST и концентраций лекарственного средства. Собирали печень и замораживали при  $-80^{\circ}\text{C}$  для биохимического анализа фиброза или фиксировали в 10% нейтральном буферизированном формалине для гистологической оценки печеночного фиброза. Для биохимической оценки фиброза гомогенаты ткани печени анализировали на предмет концентрации коллагена с использованием гидроксипролинового анализа. Для гистологической оценки печеночного фиброза фиксированную ткань печени окрашивали красителем пикросириусом и Н&Е, а печеночный фиброз и НСС определяли с использованием световой микроскопии.

В данной животной модели соединение А характеризовалось положительным эффектом в отношении снижения печеночного фиброза при 5 мг/кг массы тела.

#### **Пример 26. Мышиная модель индуцированного блеомицином фиброза кожи**

Мышиную модель индуцированного блеомицином фиброза кожи использовали для оценивания эффекта ингибиторов аутоксина в отношении фиброза кожи. Переделывали способы из Yamamoto, T *et al.* The Journal of Investigative Dermatology, 112: 456-462, 1999. Мышей C57Bl/6 анестезировали изофлураном и обривали две зоны с двух боков на нижнем дорсолатеральном участке. Блеомицин (10-50 мкг в 100 мкл), приготовленный в стерильном фильтрованном PBS, (или контроль в виде PBS) вводили подкожно в каждый обритый участок один раз в сутки в течение 5-7 суток в неделю в общей сложности 4 недели (28 суток).

Соединение А и соединение В готовили в 0,5% метилцеллюлозе и доставляли перорально один раз в сутки от дня 1 до дня 28 (профилактически) или от дня 7 до дня 28 (терапевтически).

В день 28 всех животных умерщвляли. Дорсолатеральную кожу удаляли, снимали прилипший подкожный жир и использовали 6-мм дерматом для забора двух образцов кожи от каждого субъекта. Одни образец фиксировали в 10% нейтральном буферизированном формалине и подвергали гистологическому анализу. Второй образец замораживали при  $-80^{\circ}\text{C}$  для последующей обработки содержащегося коллагена с использованием гидроксипролинового анализа.

В данной модели фиброза кожи соединение А демонстрировало существенное снижение фиброза кожи при введении дозы профилактически или терапевтически.

На фиг. 1 представлено среднее  $\pm$  SEM содержание гидроксипролина в 6-мм кожных биоптатах. Соединение А демонстрировало существенное снижение содержания гидроксипролина в коже при введении дозы профилактически или терапевтически.

В данной животной модели обработка мышей 60 мг/кг соединения А обеспечивала в результате приблизительно 95% ингибирование при остаточной концентрации в плазме активности аутоактина (как измеряли по продуцированию холина).

### **Пример 27. Мышиная модель почечного фиброза с односторонней закупоркой мочеточника (UUO)**

Мышей C57BL/6 подвергали хирургическому вмешательству для односторонней закупорки мочеточника (UUO) или имитации хирургического вмешательства на левой почке. Вкратце, продольный, верхний левый разрез выполняли для обнажения левой почки. Находили почечную артерию и шелковую нить пропускали между артерией и мочеточником. Нить обводили петлей вокруг мочеточника и затягивали узлом с обеспечением полного лигирования мочеточника. Почку возвращали в брюшную полость, абдоминальные мышцы сшивали и кожу соединяли скобами. Тестируемое соединение или среду-носитель доставляли перорально один раз или два раза в сутки либо профилактически (начиная в день 0), либо терапевтически (начиная в день 3). Всех животных умерщвляли с использованием ингаляционного изофлурана через 10 суток после хирургического вмешательства по поводу UUO. После умерщвления собрали кровь через пункцию сердца и брали обе почки. Каждую почку либо моментально замораживали при  $-80^{\circ}\text{C}$  для биохимического анализа фиброза, либо фиксировали в 10% нейтральном буферизированном формалине для гистологической оценки почечного фиброза. Гомогенаты ткани почки анализировали на предмет содержания коллагена с использованием гидроксипролинового анализа. Фиксированную ткань почки окрашивали с использованием гематоксилина и эозина (H&E), а также пикросириуса красного и почечный фиброз определяли с использованием световой микроскопии.

На фиг. 2 показан эффект профилактического введения дозы (А) и терапевтического введения дозы (В) соединения А в отношении содержания гидроксипролина в нелигированных и лигированных почках после UUO.

В анализе профилактического или терапевтического введения дозы соединения А наблюдали снижение содержания гидроксипролина в лигированных почках мышей на приблизительно 40%.

**Пример 28: Мышиная модель перитонеального фиброза**

Перитонеальный фиброз индуцировали у мышей путем инъекции 0,1% хлоргексидина глюконата (CG), растворенного в 15% этанола/PBS, в перитонеальную полость через сутки в течение периода 21 сутки. Ингибитор аутоаксина или средуноситель доставляли перорально один раз или два раза в сутки либо профилактически (начиная в день начальной инъекции CG), либо терапевтически (начиная в день 7 после начальной инъекции CG). В конце исследования мышей умерщвляли и иссекали перитонеальную ткань. Перитонеальный фиброз определяли биохимически с использованием гидроксипролинового анализа.

На фиг. 3 показан эффект соединения А в отношении содержания гидроксипролина в брюшине мышей в день 21 после профилактического введения дозы.

Соединение А при дозе 60 мг/кг массы тела два раза в сутки снижало содержание гидроксипролина в брюшине мышей на приблизительно 50%.

**Пример 29. Мышиная модель индуцированного декстраннатрия сульфатом (DSS) хронического колита**

Самок мышей C57BL/6 подвергали 3 циклам 2% DSS в питьевой воде в течение 6 суток с последующей питьевой водой без DSS в течение 15 суток общей продолжительностью 64 суток. Ингибиторы аутоаксина вводили дозой 30, 60 или 100 мг/кг массы тела РО один раз или два раза в сутки от дня 0 до дня 63. Для положительного контроля циклоспорин А (CsA) вводили дозой 25 мг/кг массы тела в дни 1-7, 22-28 и 43-49. Ежедневно регистрировали массу тела мыши, консистенцию стула, кровотечение и общий индекс активности заболевания (DAI). Через 64 суток у мышей удаляли толстую кишку и регистрировали ее длину и массу. Срезы толстой кишки окрашивали красителями гемотоксилином и эозином (красителем Н&Е) и оценивали по инфильтрации воспалительных клеток и поражению ткани. Срезы толстой кишки также окрашивали методом трехцветности и оценивали на предмет фиброза.

В данной модели колита мыши, обработанные соединением А или соединением В, демонстрировали снижение отношения масса толстой кишки/длина толстой кишки/масса тела по сравнению с мышами, обработанными средой-носителем. Например, отношение (масса толстой кишки/длина толстой кишки/масса тела)\*100 у мышей с индуцированным колитом было по меньшей мере на приблизительно 20% ниже у мышей, обработанных соединением А или соединением В, по сравнению с мышами, обработанными средой-носителем. Мыши, обработанные соединением В, демонстрировали существенное

повышение длины толстой кишки по сравнению с мышами, обработанными средой-носителем. Например, длина толстой кишки у мышей, обработанных соединением В, была по меньшей мере на приблизительно 30% больше, чем у мышей, обработанных средой-носителем.

**Пример 30. Крысиная модель индуцированного динитробензолсульфоновой кислотой (DNBS) острого колита**

Самцам крыс Wistar массой 150-160 г вводили внутрь толстой кишки 0,5 мл 50 мг/мл DNBS в 30% этаноле в день 1 или среду-носитель в качестве контроля. Ингибиторы аутоаксина вводили дозой 5 мг/кг массы тела в 0,5% МС один раз в сутки от дня 0 до дня 6. Сульфасалазин вводили дозой 300 мг/кг массы тела в 0,5% СМС-Na от дня 1 до дня 7. У крыс ежедневно контролировали массу тела и консистенцию стула. По окончании исследования оценивали длину толстой кишки, массу толстой кишки, площадь язвы и окрашивание методом трехцветности по Массону. В одной модели индуцированного DNBS колита соединение А и соединение В демонстрировали положительный эффект в отношении колита за счет снижения площади язвы.

В данной модели острого колита соединение А и соединение В не оказывали заметного эффекта в отношении снижения массы тела или консистенции стула. Соединение А и соединение В уменьшали площадь язвы и массу толстой кишки подобно сульфасалазину. Например, обработка соединением А или соединением В приводила к 30-60% уменьшению площади язвы по сравнению с мышами, обработанными средой-носителем.

**Пример 31. Эффекты ингибиторов аутоаксина на толерантность к глюкозе у мышей, содержащихся на диете с высоким содержанием жира**

Самцов мышей C57Bl6/J держали на нормальном питании до возраста 6-10 недель. Затем мышей держали либо на нормальной диете (ND), либо на диете с высоким содержанием жира (HFD) (20% белка, 35% углеводов, 45% жира; Harlan Laboratories) в течение 8-10 недель. Для определения содержания глюкозы в крови мышам вводили тестируемое соединение перорально в 0,5% Methocel один раз или два раза в сутки в течение нескольких суток до глюкозной нагрузки. В день теста на толерантность к глюкозе (GTT) мышам не кормили в течение 6-8 часов и последнюю дозу тестируемого соединения вводили перорально за 1-3 часа до внутривентрикулярной (i.p.) инъекции 1 г/кг D-глюкозы (Sigma). Брали образцы крови из хвостовой вены перед глюкозной нагрузкой (исходное содержание глюкозы) и каждые 15-30 минут в течение следующих

120 минут после глюкозной нагрузки для контроля концентрации глюкозы в крови. Содержание глюкозы в крови определяли количественно с использованием глюкометра (Accu-Chek, Roche Diagnostics или AlphaTRAK, Abbott Animal Health) и наносили на график как функцию от времени. Вычисляли площадь суммарного содержания глюкозы в крови под кривой (AUC) после i.p. глюкозной нагрузки по графику времени с использованием программы GraphPad Prism6.

Введение соединения В (15 мг/кг) два раза в сутки в течение двух суток до забора образцов и один раз в день забора образцов снижало исходное содержание глюкозы и суммарное содержание глюкозы AUC.

Введение соединения А (30 мг/кг) один раз в сутки в течение 5 суток до забора образцов снижало исходное содержание глюкозы.

### **Пример 32. Анализ с созданием воздушного мешка у мыши**

Активность LPA и аутоаксина индуцировали с помощью инъекции каррагинана в воздушный мешок мыши. Анализ с созданием воздушного мешка у мыши использовали для определения фармакодинамической активности ингибиторов аутоаксина при снижении индуцированной каррагинаном активности биосинтеза аутоаксина и LPA. Воздушный мешок формировали у мышей путем вдвухания 5 мл отфильтрованного через 0,2-мкм фильтр воздуха в подкожное пространство в лопаточной области в день 1. В день 3 вдвухали 3 мл воздуха в мешок, а в день 6 в мешок вдвухали еще 3 мл воздуха. В день 7 вводили тестируемые соединения с помощью перорального зонда. В соответствующий момент времени (0-24 часа) после введения соединений каррагинан, растворенный в стерильном физиологическом растворе, вводили инъекцией в воздушный мешок. Через два часа после нагрузки каррагинана мышью умерщвляли и собирали кровь через пункцию сердца. Вдвухали 0,5-1 мл болюса ледяного забуференного фосфатом физиологического раствора в воздушный мешок и через 20 секунд осторожно массируют, мешок вскрывали и жидкость удаляли. Аликвоту жидкости из воздушного мешка анализировали на предмет концентраций LPA с помощью LC-MS, как описывается в анализе аутоаксин в цельной крови человека (пример 10). Брали отдельную аликвоту жидкости из воздушного мешка, центрифугировали (800 x g, 10 минут) и анализировали на предмет активности АТХ с использованием метода TOOS для концентраций лекарственных средств с помощью LCMS. Анализировали полученную из крови плазму на предмет концентраций лекарственных средств с помощью LCMS.

**Пример 33. Мышиная модель самопроизвольного метастазиса**

Использовали сингенную мышиную модель для тестирования эффективности соединений в отношении ингибирования опухолевых метастаз. Клетки 4Т1 вводили инъекцией в 7 жировых подушек молочной железы самкам мышей Balb/c, при этом мышей анестезировали. Первичные опухоли измеряли с помощью штангенциркуля два раза в неделю до их иссечения под изофлурановой анестезией (между 10-14 сутками). Тестируемое соединение вводили перорального ежедневно в различные моменты времени после инъекции клеток 4Т1. На 8-11 неделях после инъекции 4Т1 лимфатические узлы, легкие, печень и другие органы, в которых предполагали наличие метастаз, собирали для гистологического анализа.

**Пример 34. Модель метастаз легкого**

Модель экспериментального метастазиса легкого использовали для тестирования эффективности соединений в отношении уменьшения числа метастаз инъецированных клеток меланомы мыши В16-F 10 в легкое. Вкратце, использовали самок мышей C57BL/6J, самок (BALB/cByJ x C57BL/6J)Fi, мышей (CByB6Fi/J), самок и самцов атимусных «голых» мышей CByB6Fi/J (nu/nu) и контрольных однопометников (nu/nu) возрастом 7-18 недель, когда они весили от 18 до 28 г. Суспензию отдельных клеток В16F10 собирали в log фазе (приблизительно  $5-10 \times 10^4$  клеток) в 0,2 мл сбалансированном солевом растворе Хенкса вводили инъекцией внутривенно в боковую хвостовую вену мышей. Тестируемое соединение или среду-носитель доставляли ежедневно. Через 21 сутки мышей умерщвляли и легкие удаляли. Легкие фиксировали в 10% забуференном формалине в течение ночи, взвешивали и оценивали колонии опухолевых клеток на поверхности с помощью препаровальной лупы.

**Пример 35. Клиническое испытание печеночного фиброза**

Ниже описывается неограничивающий пример клинического испытания печеночного фиброза на людях.

Цель. Цели данного исследования заключаются в оценивании эффективности ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в качестве отдельного средства или в комбинации при лечении больных печеночным фиброзом, в сборе информации о каких-либо побочных эффектах, которые может вызвать соединение в качестве отдельного средства или в комбинации, и в оценивании фармакокинетических свойств соединения в качестве отдельного средства или в комбинации.

Вмешательство. Больным вводят 1-100 мг/кг ингибитора аутоксина или его фармацевтически приемлемой соли в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации.

Подробное описание. Больным планируется давать ингибитор аутоксина или его фармацевтически приемлемую соль перорально один раз или два раза в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации. Перед каждым циклом введения дозы планируется выполнение врачебного осмотра, анализа крови и оценивания каких-либо побочных эффектов.

Первичные критерии эффективности. Ферменты печени (ALT, AST, ALP), биопсия печени.

Вторичные критерии эффективности. Фармакодинамические маркеры могут включать в себя тканевые PD маркеры через экспрессию mRNA, аутоксин, LOXL2, LOX, другие белки LOXL,  $\alpha$ SMA, коллаген 1A1, NF- $\kappa$ B1, каспазу 1, SMAD и NOD; PD маркеры сыворотки крови и плазмы включают в себя индекс отношения АСТ к количеству тромбоцитов (APRI), активность аутоксина, LOXL2, остеопонтин, гиалуроновую кислоту, CXCL 9, 10 и 11, MMP1, MMP3, MMP9, TIMP1, CD40L, TGF- $\beta$ 1, ET-1, VEGF, GAL3, IL-6/IL-8/TNF $\alpha$ /IFN $\gamma$ ,  $\alpha$ 2-макроглобулин, аполиipoprotein A1, PINP, PIIINP, PVCP-1230, PDGF; оценивание эффектов хронического введения дозы в отношении структуры печени и маркеров фиброза; случаи неблагоприятных явлений, являющихся результатом введения нескольких доз соединения.

Соответствие критериям. Мужчины и женщины возрастом 18-60 лет.

Критерии включения. Фиброз 1-3 стадии по шкале Метабир в биоптате печени; индекс массы тела  $< 36$  кг/м<sup>2</sup>.

Критерии исключения. Любое проявление печеночной недостаточности в прошлом или в настоящее время; субъекты, которые в настоящее время злоупотребляют амфетаминами, кокаином, опиатами или алкоголем; клинически значимое сердечное заболевание; история злокачественной опухоли, кроме неметаноматозной злокачественной опухоли кожи, в течение 5 лет до скрининга; системная грибковая, бактериальная, вирусная или другая инфекция, которая не контролируется; использование системных иммунодепрессантов в течение 28 суток до фазы предварительного лечения; использование одобренной терапии против вируса гепатита С или гепатита В в течение 28 суток до фазы предварительного лечения; беременность или кормление грудью; история геморрагического диатеза в течение последних 6 месяцев до дня 1 исследования.

### **Пример 36. Клиническое испытание жировой болезни печени/стеатоза (NAFLD, NASH)**

Ниже описывается неограничивающий пример клинического испытания жировой болезни печени/стеатоза на людях.

Цель. Цели данного исследования заключаются в оценивании эффективности ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в качестве отдельного средства или в комбинации при лечении больных печеночноклеточной карциномой, в сборе информации о каких-либо побочных эффектах, которые может вызвать соединение в качестве отдельного средства или в комбинации, и в оценивании фармакокинетических свойств соединения в качестве отдельного средства или в комбинации.

Вмешательство. Больным вводят 1-100 мг/кг ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации.

Подробное описание. Больным планируется давать ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль перорально один раз или два раза в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации. Перед каждым циклом введения дозы планируется выполнение врачебного осмотра, анализа крови и оценивания каких-либо побочных эффектов.

Соответствие критериям. Мужчины и женщины возрастом 21-80 лет.

Критерии включения. Больные с клинически подтвержденным диагнозом неалкогольной жировой болезни печени или неалкогольного стеатогепатита; гистологическое проявление определенного или вероятного неалкогольного стеатогепатита (NASH) на основании биопсии печени, полученной не ранее 90 суток до рандомизации и балл активности неалкогольной жировой болезни печени (NAS) 4 или выше.

Критерии исключения. Значительное употребление алкоголя в настоящий момент или в прошлом, использование лекарственных средств, исторически ассоциированных с неалкогольной жировой болезнью печени (NAFLD) (амиодарона, метотрексата, системных глюкокортикоидов, тетрациклинов, тамоксифена, эстрогенов при дозах, превышающих дозы, используемые для гормонального замещения, анаболических стероидов, вальпроевой кислоты и других известных гепатотоксинов), в течение более чем 2 недель в году перед рандомизацией, предшествующее или планируемое (в течение периода исследования) бариатрическое хирургическое вмешательство (например,

гастропластика, шунтирование желудка с гастроюноанастомозом по Ру), неконтролируемый сахарный диабет, определяемый как 9,5% или более гемоглобина A1c в пределах 60 суток до включения в исследование, наличие цирроза в биоптате печени, количество тромбоцитов ниже 100000/мм<sup>3</sup>; клиническое проявление печеночной недостаточности, определяемой наличием любой из следующих патологий: альбумин сыворотки крови менее 3,2 грамма/децилитр (г/дл), INR (международный коэффициент нормализации) более 1,3, прямой билирубин более 1,3 миллиграмма на децилитр (мг/дл), история варикоза пищевода, асцита или печеночной энцефалопатии; проявление других форм хронического заболевания печени: гепатит В, определяемый наличием поверхностного антигена гепатита В (HBsAg), гепатит С, определяемый наличием рибонуклеиновой кислоты (РНК) вируса гепатита С (РНК) или положительной реакцией на антитело против вируса гепатита С (антитела против HCV), проявление текущего аутоиммунного заболевания печени, определяемого по сопоставимой гистологии печени, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит, болезнь Вильсона, дефицит альфа-1-антитрипсина (A1AT), история гемохроматоза или перенасыщения железом, индуцированное лекарственным средством заболевание печени, определяемое по типичному воздействию и истории, известная обструкция желчных протоков, предполагаемая или доказанная злокачественная опухоль печени, любой другой тип заболевания печени, отличный от неалкогольного стеатогепатита (NASH); сывороточная аланинаминотрансфераза (ALT) более 300 единиц на литр (ед./л); сывороточный креатинин 2,0 мг/дл или больше; использование урсодиоксихолевой кислоты (Ursodiol, Urso) в течение 90 суток до включения в исследование; отсутствие возможности безопасного получения биоптата печени, история отведения желчи, известная положительная реакция на инфекцию вируса иммунодефицита человека (HIV); беременность, планируемая беременность, вероятность беременности и нежелание использовать эффективный контроль над рождаемостью во время исследования, кормление грудью.

Первичные критерии эффективности. Тесты функции печени, биопсия печени, балл NAS.

Вторичные критерии эффективности. Биомаркеры фиброза, визуализация печени (ультразвуковое исследование, MRI), резистентность к инсулину, измеряемая с помощью НОМА-IR, липидная панель.

### **Пример 37. Клиническое испытание язвенного колита**

Ниже описывается неограничивающий пример клинического испытания язвенного колита на людях.

Цель. Цели данного исследования заключаются в оценивании эффективности ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в качестве отдельного средства или в комбинации при лечении больных язвенным колитом, в сборе информации о каких-либо побочных эффектах, которые может вызвать соединение в качестве отдельного средства или в комбинации, и в оценивании фармакокинетических свойств соединения в качестве отдельного средства или в комбинации.

Вмешательство. Больным вводят 1-100 мг/кг ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации.

Подробное описание. Больным планируется давать ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль перорально один раз или два раза в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации. Перед каждым циклом введения дозы планируется выполнение врачебного осмотра, анализа крови и оценивания каких-либо побочных эффектов.

Первичные критерии эффективности. Улучшение балла по шкале Майо или другого подходящего индекса активности заболевания для колита и/или IBD.

Вторичные критерии эффективности. Улучшение гистологической оценки с помощью сигмоскопии гибким эндоскопом и биопсии; балла кровотечения; шкал оценивания качества жизни (IBDQ, SF36); оценивания эффектов хронического введения дозы в отношении маркеров воспаления и фиброза; общих оценок безопасности.

Соответствие критериям. Мужчины и женщины возрастом 18-65 лет.

Критерии включения. Подтвержденный диагноз колита в течение по меньшей мере 3 месяцев.

Критерии исключения. Любое проявление печеночной недостаточности в прошлом или в настоящее время; болезнь Крона; больные, госпитализированные по поводу токсичности или имеющие признаки токсичности; история злокачественной опухоли толстой и прямой кишок или дисплазии толстой и прямой кишок; ALP, ALT, AST или билирубин > 1,5 x от нормы; беременность или кормление грудью.

### **Пример 38. Клиническое испытание холестатического зуда**

Ниже описывается неограничивающий пример клинического испытания холестатического зуда на людях.

Цель. Цели данного исследования заключаются в оценивании эффективности ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в качестве отдельного средства или в комбинации при лечении больных холестатическим зудом, в сборе информации о каких-либо побочных эффектах, которые может вызвать соединение в качестве отдельного средства или в комбинации, и в оценивании фармакокинетических свойств соединения в качестве отдельного средства или в комбинации.

Вмешательство. Больным вводят 1-100 мг/кг ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в сутки.

Подробное описание. Больным планируется давать ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль перорально один раз или два раза в сутки. Перед каждым циклом введения дозы планируется выполнение врачебного осмотра, анализа крови и оценивания каких-либо побочных эффектов.

Соответствие критериям. Мужчины и женщины возрастом 21-80 лет.

Критерии включения. Больные с зудом в результате холестатического нарушения.

Критерии исключения. Использование холестирамина; беременность; злокачественное образование/продолжительность жизни < 6 месяцев.

Первичные критерии эффективности. Нормализация печеночных ферментов (ALT, AST, ALP), снижение зуда согласно визуальным аналоговым шкалам.

Вторичные критерии эффективности. Улучшение баллов качества жизни; снижение балла зуда/очагов почесывания.

### **Пример 39. Клиническое испытание легочного фиброза**

Ниже описывается неограничивающий пример клинического испытания легочного фиброза на людях.

Цель. Цели данного исследования заключаются в оценивании эффективности ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в качестве отдельного средства или в комбинации при лечении больных легочным фиброзом, в сборе информации о каких-либо побочных эффектах, которые может вызвать соединение в качестве отдельного средства или в комбинации, и в оценивании фармакокинетических свойств соединения в качестве отдельного средства или в комбинации.

Вмешательство. Больным вводят 1-100 мг/кг ингибитора аутоаксина или его фармацевтически приемлемой соли в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации.

Подробное описание. Больным планируется давать ингибитор аутоаксина или его фармацевтически приемлемую соль перорально один раз или два раза в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации. Перед каждым циклом введения дозы планируется выполнение врачебного осмотра, анализа крови и оценивания каких-либо побочных эффектов.

Первичные критерии эффективности. Выживаемость без прогрессирования заболевания, определяемая как отсутствие смерти или снижение от исходного уровня FVC по меньшей мере на 10%.

Вторичные критерии эффективности. Количество острых обострений IPF; качество жизни, обусловленное состоянием здоровья;  $PO_2$  в состоянии покоя и при физической нагрузке относительно исходных значений;  $P(A-a)O_2$  в состоянии покоя и при физической нагрузке относительно исходных значений; прогнозируемый FEV1 относительно исходных значений; объем форсированного выдоха за 1 секунду (FEV1) к FVC относительно исходных значений; плетизмографические объемы легких относительно исходных значений; диффузионная способность для монооксида углерода (DLco) относительно исходных значений; тест шестиминутной ходьбы относительно исходных значений: состояние покоя и 6 минут SpO<sub>2</sub>, наличие или отсутствие насыщения до 88% или ниже в конце шестиминутной ходьбы, пройденное расстояние; предварительные и постмодифицированные индексы выраженности диспноэ Борга; оценка степени легочного фиброза по HRCT, по мнению двух независимых радиологов грудного отдела относительно исходных значений; число и тяжесть неблагоприятных эффектов.

Соответствие критериям. Мужчины и женщины возрастом 40-80 лет.

Критерии включения. Клинические симптомы IPF по меньшей мере в течение 3 месяцев; форсированная жизненная емкость легких (FVC) от 50 до 90% от предполагаемого значения; DLco по меньшей мере 35% от предполагаемого значения;  $PaO_2 > 55$  мм Hg при вдыхании окружающего воздуха в состоянии покоя; компьютерная томография высокого разрешения (HRCT), показывающая определенные или вероятные критерии IPF.

Критерии исключения. Клинически значимое воздействие известных фиброгенных средств (птиц, плесневых грибков, асбеста, облучения и лекарственных средств, как известно, вызывающих легочный фиброз (амиодарона, нитрофурантоина, блеомицина и т.д.)); история нейрофиброматоза, синдром Германского-Пудлака, метаболические

нарушения накопления и т.д.; история лихорадки, потери веса, миалгии, артралгии, кожной сыпи, артрита; инфекция в активной фазе в пределах одной недели до включения в исследование; альтернативная причина интерстициального заболевания легких; отношение объема форсированного выдоха за 1 секунду (VEF1) к FVC менее 0,6 после применения бронхолитического средства; остаточный объем более 120% предполагаемого объема (при доступности); более 20% лимфоцитов или эозинофилов в бронхоальвеолярном лаваже (BAL) (при доступности); гранулемы, инфекция или злокачественное новообразование при трансбронхиальной или хирургической биопсии (при доступности); предварительная терапия с азатиоприном, преднизолоном (> 0,5 мг/кг/сутки или больше по меньшей мере в течение 3 месяцев), циклофосфамидом или новыми биотехнологическими лекарственными средствами; нестабильное сердечно-сосудистое или неврологическое заболевание; неконтролируемый сахарный диабет; беременность; кормление грудью; вероятность смерти, прогнозируемая исследователем, в течение следующего года; количество белых кровяных клеток < 4000/мм<sup>3</sup>; количество тромбоцитов < 100000/мм<sup>3</sup>; гематокрит < 30% или > 59%; ферменты печени, более чем в 3 раза превышающие предел нормального диапазона; содержание креатинина > 1,5 мг/дл; содержание альбумина < 3 г/дл; отказ пациента или опекуна подписывать информированное согласие.

#### **Пример 40. Клиническое испытание злокачественной опухоли поджелудочной железы**

Ниже описывается неограничивающий пример клинического испытания злокачественной опухоли поджелудочной железы на людях.

Цель. Цели данного исследования заключаются в оценивании эффективности ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в качестве отдельного средства или в комбинации при лечении больных злокачественной опухолью поджелудочной железы, в сборе информации о каких-либо побочных эффектах, которые может вызвать соединение в качестве отдельного средства или в комбинации, и в оценивании фармакокинетических свойств соединения в качестве отдельного средства или в комбинации.

Вмешательство. Больным вводят 1-100 мг/кг ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации.

Подробное описание. Больным планируется давать ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль перорально один раз или два раза в сутки в качестве

отдельного средства или в комбинации. Перед каждым циклом введения дозы планируется выполнение врачебного осмотра, анализа крови и оценивания каких-либо побочных эффектов.

Соответствие критериям. Мужчины и женщины возрастом 21-80 лет с запущенной злокачественной опухолью поджелудочной железы.

Критерии включения. Радиографическое или клиническое доказательство измеряемой запущенной карциномы поджелудочной железы (II, III, IV стадий). Субъекты должны иметь измеряемое заболевание по меньшей мере 2 см в диаметре. Общее состояние больного по шкале ECOG 0 или 1.

Критерии исключения. Предварительная история злокачественного новообразования (за исключением базальноклеточной или плоскоклеточной карциномы или карциномы *in situ* молочной железы), если у субъекта не проявлялось заболевание в течение  $\geq 1$  года. Умеренное или тяжелое заболевание сердца; инфекция в активной фазе; отсутствие беременности или кормления грудью; отрицательный тест на беременность; способные к деторождению больные должны пользоваться эффективным средством контрацепции на протяжении исследования и в течение  $\geq 3$  месяцев после завершения исследовательского лечения; способность проглатывания перорального медикамента; отсутствие другого злокачественного новообразования в последние 5 лет за исключением *in situ* злокачественных опухолей, или базальноклеточной, или плоскоклеточной карциномы кожи; отсутствие гиперчувствительности или непереносимости статинов; отсутствие другого незлокачественного системного заболевания, которое исключало бы введение розувастатина или длительное последующее наблюдение.

Первичные критерии эффективности. Выживаемость без прогрессирования, общая выживаемость, усугубление боли, начало боли.

Вторичные критерии эффективности. Размер опухоли/ответ (RECIST).

#### **Пример 41. Клиническое испытание печеночноклеточной карциномы (НСС)**

Ниже описывается неограничивающий пример клинического испытания печеночноклеточной карциномы клинических испытание на людях.

Цель. Цели данного исследования заключаются в оценивании эффективности ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в качестве отдельного средства или в комбинации при лечении больных печеночноклеточной карциномой, в сборе информации о каких-либо побочных эффектах, которые может вызвать соединение в качестве отдельного средства или в комбинации, и в оценивании

фармакокинетических свойств соединения в качестве отдельного средства или в комбинации.

Вмешательство. Больным вводят 1-100 мг/кг ингибитора аутокаина или его фармацевтически приемлемой соли в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации.

Подробное описание. Больным планируется давать ингибитор аутокаина или его фармацевтически приемлемую соль перорально один раз или два раза в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации. Перед каждым циклом введения дозы планируется выполнение врачебного осмотра, анализа крови и оценивания каких-либо побочных эффектов.

Соответствие критериям. Мужчины и женщины возрастом 21-80 лет.

Критерии включения. Больные с гистопатологически или клинически подтвержденным диагнозом печеночноклеточной карциномы; не отвечающие на стандартную терапию или не переносящие стандартную терапию, или для которых соответствующая терапия отсутствует; общее состояние больного по шкале ECOG 0-2.

Критерии исключения. Больные с первичной злокачественной опухолью; история трансплантации печени; метастазы головного мозга; психиатрическое нарушение, которое может вызвать трудности в получении информированного согласия или в проведении испытания; отсутствие беременности или кормления грудью; способные к деторождению больные должны пользоваться эффективным средством контрацепции на протяжении исследования и в течение  $\geq 3$  месяцев после завершения исследовательского лечения; отсутствие другого злокачественного новообразования в последние 5 лет за исключением *in situ* злокачественных опухолей, или базальноклеточной, или плоскоклеточной карциномы кожи; отсутствие гиперчувствительности или непереносимости статинов; отсутствие другого незлокачественного системного заболевания, которое исключало бы введение розувастатина или длительное последующее наблюдение.

Первичные критерии эффективности: Время до прогрессирования, выживаемость без прогрессирования, общий ответ (RECIST).

Вторичные критерии эффективности. Тесты функции печени, опухолевые биомаркеры.

#### **Пример 42. Клиническое испытание рассеянного склероза**

Ниже описывается неограничивающий пример клинического испытания рассеянного склероза на людях.

Цель. Цели данного исследования заключаются в оценивании эффективности ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в качестве отдельного средства или в комбинации при лечении больных рассеянным склерозом, в сборе информации о каких-либо побочных эффектах, которые может вызвать соединение в качестве отдельного средства или в комбинации, и в оценивании фармакокинетических свойств соединения в качестве отдельного средства или в комбинации.

Вмешательство. Больным вводят 1-100 мг/кг ингибитора аутотаксина или его фармацевтически приемлемой соли в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации.

Подробное описание. Больным планируется давать ингибитор аутотаксина или его фармацевтически приемлемую соль перорально один раз или два раза в сутки в качестве отдельного средства или в комбинации. Перед каждым циклом введения дозы планируется выполнение врачебного осмотра, анализа крови и оценивания каких-либо побочных эффектов.

Первичные критерии эффективности. Композитная функциональная шкала рассеянного склероза (MSFC) или другая подходящая для оценивания ответа и рецидива симптомов при MS.

Вторичные критерии эффективности. Общее число новых очагов GdE, оцениваемых по улучшению MRI головного мозга в отношении одного или нескольких признаков или симптомов рассеянного склероза, оцениваемых по шкалам состояния функциональных систем (FSS) и расширенной шкале оценки состояния инвалидности (EDSS), опроснику качества жизни для больных рассеянным склерозом из 54 пунктов (MSQOL-54), прохождению расстояния в 25 футов на время, тесту с девятью отверстиями и стержнями.

Соответствие критериям. Мужчины и женщины возрастом 18-65 лет.

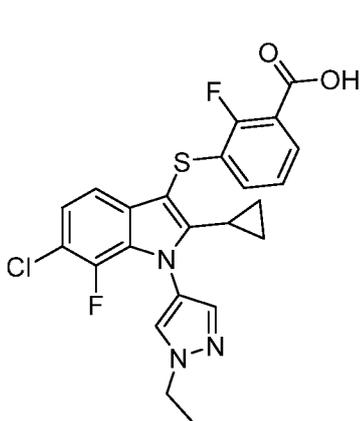
Критерии включения. Подтвержденный диагноз рассеянного склероза.

Критерии исключения. Беременность или кормление грудью.

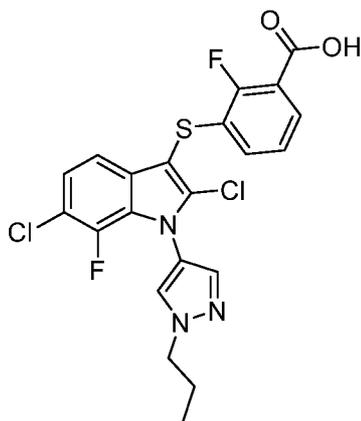
Примеры и варианты осуществления в настоящем документе описываются исключительно в иллюстративных целях, и различные модификации или изменения, предполагаемые специалистами в данной области, подлежат включению в сущность и предмет настоящей заявки, а также в объем прилагаемой формулы изобретения.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

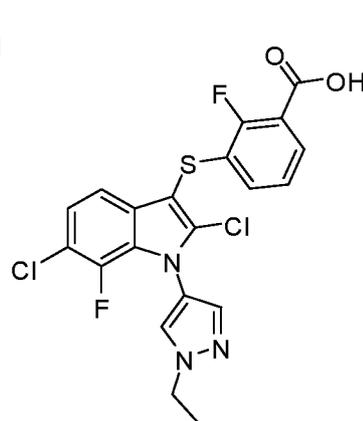
1. Способ лечения или предупреждения фиброза, прурита, воспалительного заболевания или состояния, аутоиммунного заболевания или состояния, злокачественной опухоли, заболевания или состояния дыхательных путей, ожирения, внутриглазного давления, невропатической боли или их комбинаций у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоксина следующей структуры:



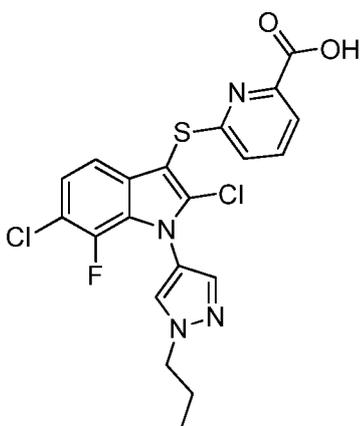
Соединение А,



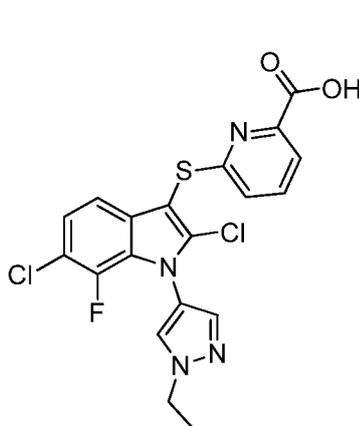
Соединение В,



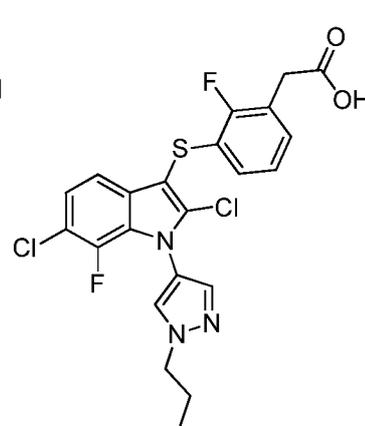
Соединение Е,



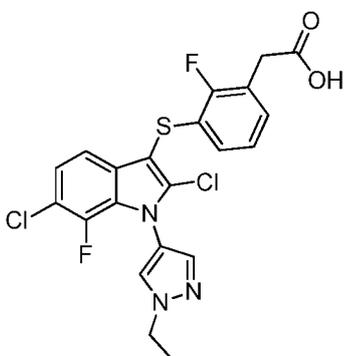
Соединение F,



Соединение G,



Соединение H



или Соединение I,

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

2. Способ по п. 1, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение H, соединение I вводят в форме фармацевтически приемлемой соли.

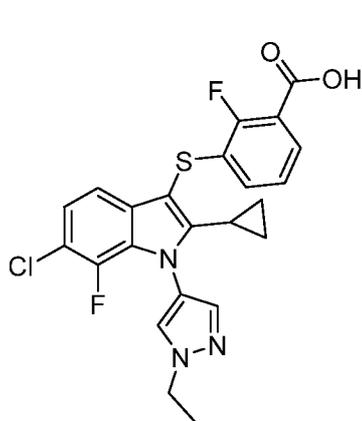
3. Способ по п. 2, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение H, соединение I вводят в форме соли натрия.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором ингибитор аутокаина вводят местным путем, вводят перорально или вводят парентерально млекопитающему.

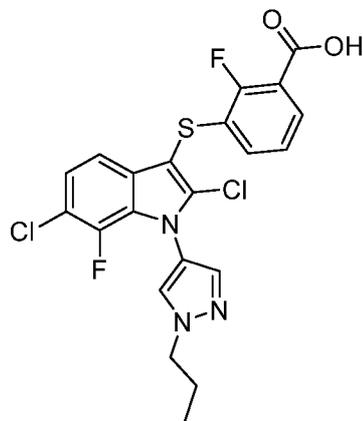
5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором ингибитор аутокаина вводят системно млекопитающему.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором ингибитор аутокаина вводят перорально млекопитающему.

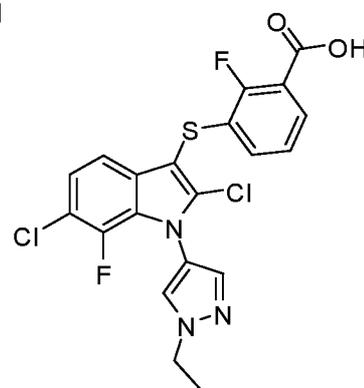
7. Способ лечения или предупреждения фиброза у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутокаина следующей структуры:



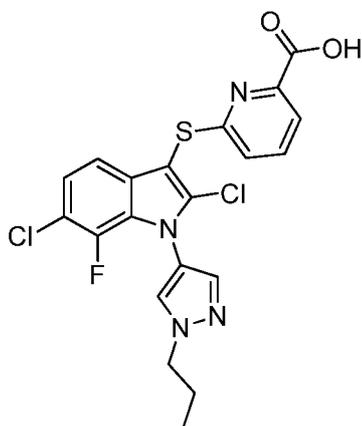
Соединение А,



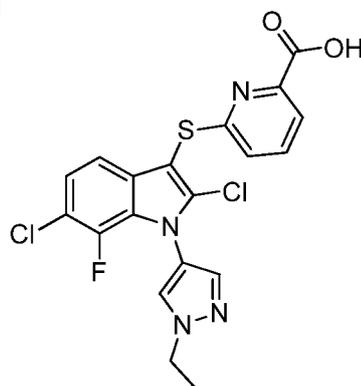
Соединение В,



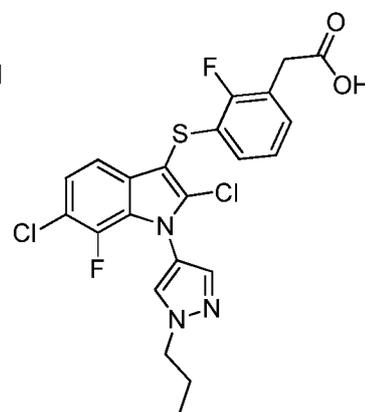
Соединение Е,



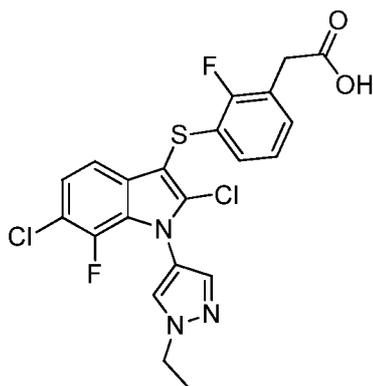
Соединение F,



Соединение G,



Соединение H



или Соединение I,

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

8. Способ по п. 7, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение Н, соединение I вводят в форме фармацевтически приемлемой соли.

9. Способ по п. 8, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение Н, соединение I вводят в форме соли натрия.

10. Способ по любому из пп. 7-9, в котором фиброз является восприимчивым к лечению ингибитором аутокаина.

11. Способ по любому из пп. 7-10, в котором фиброзом является легочный фиброз, печеночный фиброз, почечный фиброз, глазной фиброз, перитонеальный фиброз, или фиброз кожи, или их комбинации.

12. Способ по любому из пп. 7-11, в котором ингибитор аутокаина вводят местным путем, вводят перорально или вводят парентерально млекопитающему.

13. Способ по любому из пп. 7-12, в котором ингибитор аутокаина вводят системно млекопитающему.

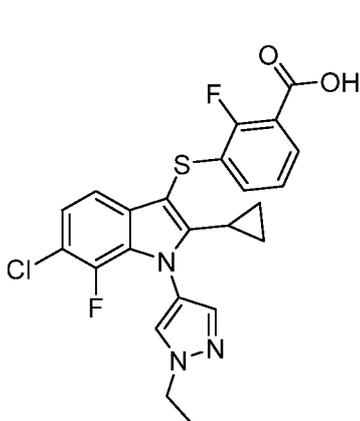
14. Способ по любому из пп. 7-13, в котором ингибитор аутокаина вводят перорально млекопитающему.

15. Способ по п. 14, в котором ингибитор аутокаина вводят млекопитающему в форме перорального раствора, пероральной суспензии, порошка, пилюли, таблетки или капсулы.

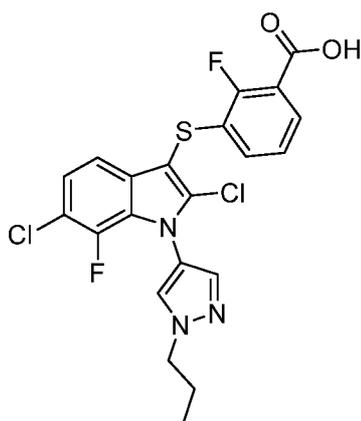
16. Способ по любому из пп. 7-13, в котором ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему инъекцией или внутривенно.

17. Способ по п. 7, в котором ингибитор аутоаксина ингибирует или снижает скорость накопления фиброгенных клеток и отложение белков внеклеточного матрикса в тканях млекопитающего.

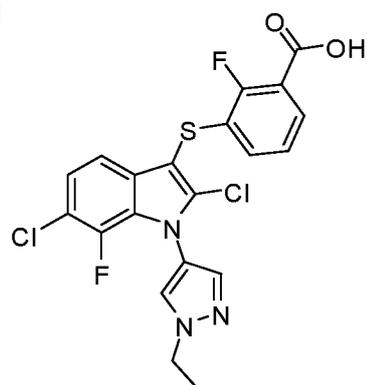
18. Способ лечения или предупреждения прурита у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоаксина следующей структуры:



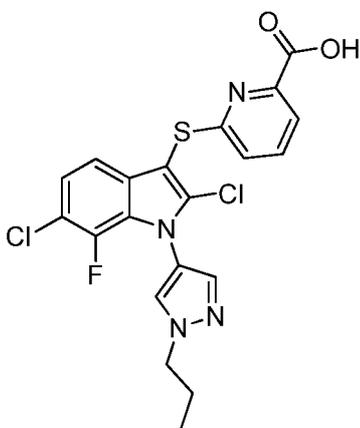
Соединение А,



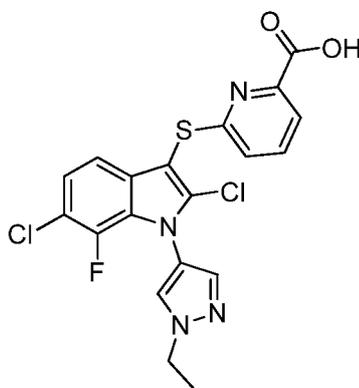
Соединение В,



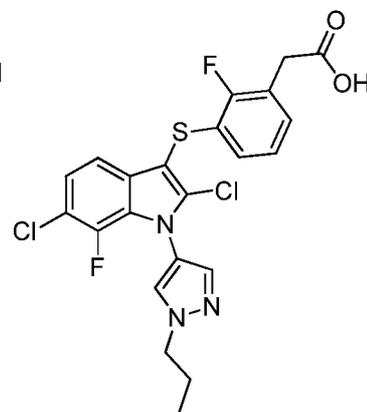
Соединение Е,



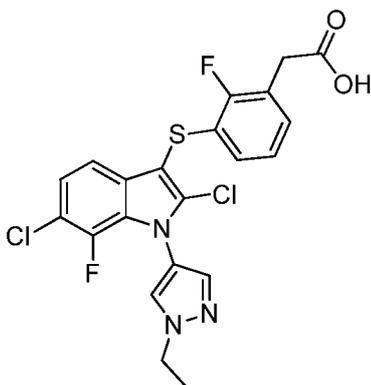
Соединение F,



Соединение G,



Соединение H



или Соединение I,

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

19. Способ по п. 18, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение Н, соединение I вводят в форме фармацевтически приемлемой соли.

20. Способ по п. 19, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение Н, соединение I вводят в форме соли натрия.

21. Способ по любому из пп. 16-20, в котором зуд ассоциируется с герпетиформным дерматитом, дерматомиозитом, пемфигоидом, синдромом Шегрена, болезнью Дарье, болезнью Хейли-Хейли, ихтиозом, синдромом Шегрена-Ларссона, дерматофитией, фолликулитом, импетиго и другими бактериальными инфекциями, укусами насекомых, педикулезом, чесоткой, вирусной инфекцией, астеатозом, атопической экземой, контактным дерматитом, реакцией на лекарственное средство, красным плоским лишаем, простым хроническим лишаем, мастоцитозом (пигментной крапивницей), малярией, псориазом, рубцом(ами), крапивницей, кожной Т-клеточной лимфомой или фунгоидным микозом, кожной В-клеточной лимфомой, поражением кожи при лейкозе, пемфигоидом беременных, полиморфным дерматозом беременных или почесухой беременных.

22. Способ по любому из пп. 18-20, в котором зуд вызван холестатическим пруритом.

23. Способ по любому из пп. 18-22, в котором ингибитор аутоаксина вводят местным путем, вводят перорально или вводят парентерально млекопитающему.

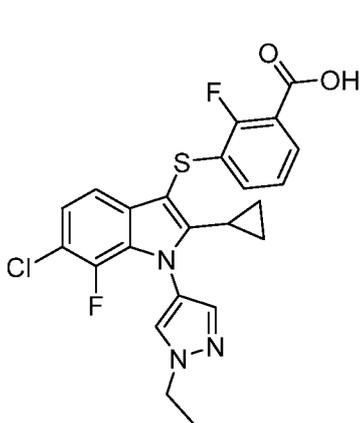
24. Способ по любому из пп. 18-23, в котором ингибитор аутоаксина вводят системно млекопитающему.

25. Способ по любому из пп. 18-24, в котором ингибитор аутоаксина вводят перорально млекопитающему.

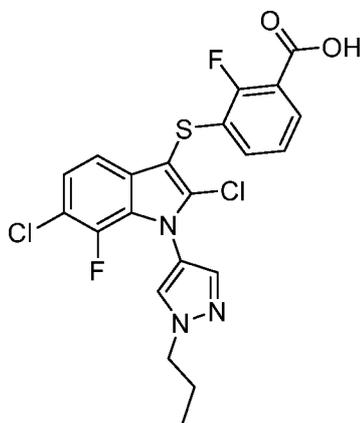
26. Способ по п. 25, в котором ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему в форме перорального раствора, пероральной суспензии, порошка, пилюли, таблетки или капсулы.

27. Способ по любому из пп. 18-23, в котором ингибитор аутоаксина вводят млекопитающему инъекцией или внутривенно.

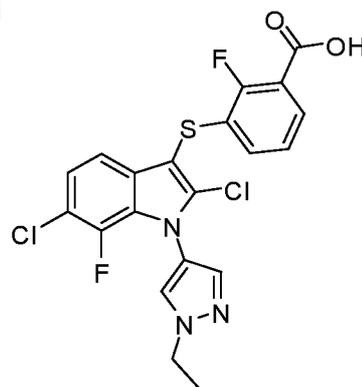
28. Способ лечения или предупреждения воспалительного заболевания или состояния, или аутоиммунного заболевания или состояния у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоаксина следующей структуры:



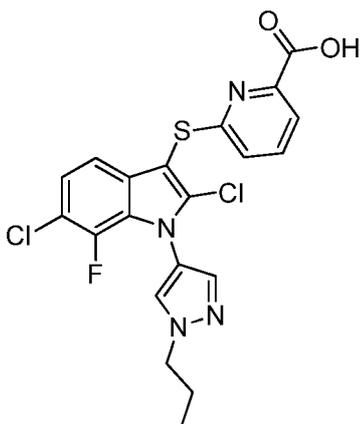
Соединение А,



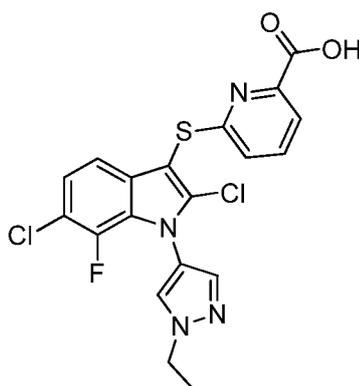
Соединение В,



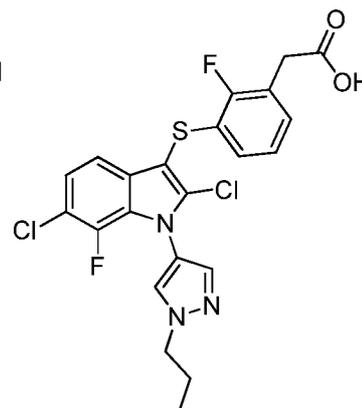
Соединение Е,



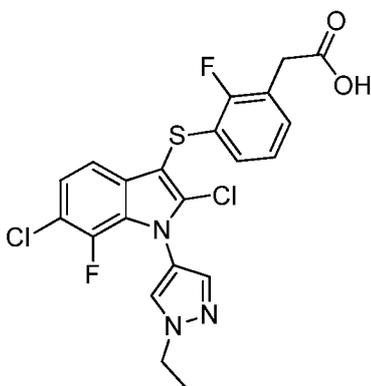
Соединение F,



Соединение G,



Соединение H



или Соединение I,

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

29. Способ по п. 28, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение H, соединение I вводят в форме фармацевтически приемлемой соли.

30. Способ по п. 29, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение H, соединение I вводят в форме соли натрия.

31. Способ по любому из пп. 28-30, в котором воспалительным заболеванием или состоянием, или аутоиммунным заболеванием или состоянием является псориаз, ревматоидный артрит, васкулит, воспалительное заболевание кишечника, дерматит, остеоартрит, астма, воспалительное заболевание мышц, аллергический ринит, вагинит, интерстициальный цистит, склеродермия, экзема, красная волчанка, дерматомиозит, синдром Шегрена, тиреоидит, миастения гравис, аутоиммунная гемолитическая анемия, рассеянный склероз, кистозный фиброз, хронический рецидивирующий гепатит, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит, аллергический конъюнктивит или атопический дерматит.

32. Способ по п. 31, в котором воспалительным заболеванием или состоянием, или аутоиммунным заболеванием или состоянием является воспалительное заболевание кишечника.

33. Способ по п. 32, в котором воспалительным заболеванием кишечника является колит.

34. Способ по п. 33, в котором колитом является острый колит.

35. Способ по п. 33, в котором колитом является хронический колит.

36. Способ по п. 33, в котором колитом является аутоиммунный колит, идиопатический колит, ятрогенный колит, сосудистое заболевание или инфекционный колит.

37. Способ по п. 33, в котором колитом является язвенный колит.

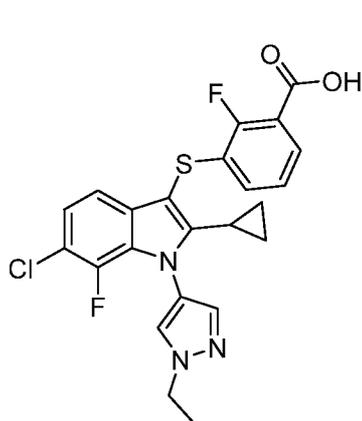
38. Способ по любому из пп. 28-30, в котором воспалительным заболеванием или состоянием, или аутоиммунным заболеванием или состоянием является рассеянный склероз.

39. Способ по п. 38, в котором рассеянным склерозом является рецидивный/ремиттирующий рассеянный склероз, рецидивный рассеянный склероз, первично прогрессирующий рассеянный склероз или вторично прогрессирующий рассеянный склероз.

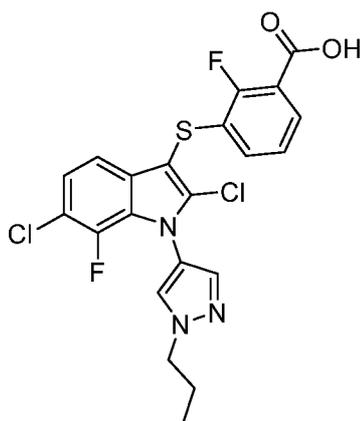
40. Способ по п. 39, в котором ингибитор аутотаксин снижает частоту, тяжесть и/или продолжительность рецидива одного или нескольких симптомов рассеянного склероза.

41. Способ по п. 40, в котором симптомы рассеянного склероза включают в себя онемение или слабость в конечности, частичную или полную потерю зрения, двойное зрение, неясность зрения, ощущение покалывания, тремор, отсутствие координации, неустойчивую походку, невнятную речь, усталость, головокружение или их комбинации.

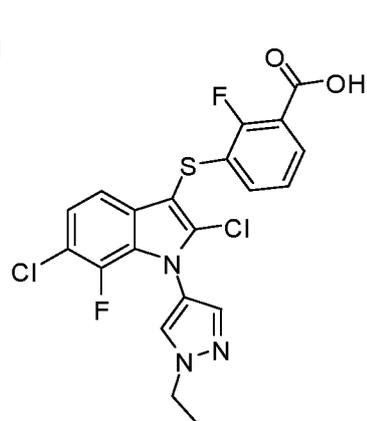
42. Способ лечения злокачественной опухоли у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутотаксина следующей структуры:



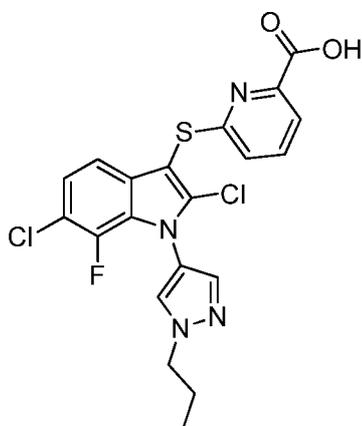
Соединение А,



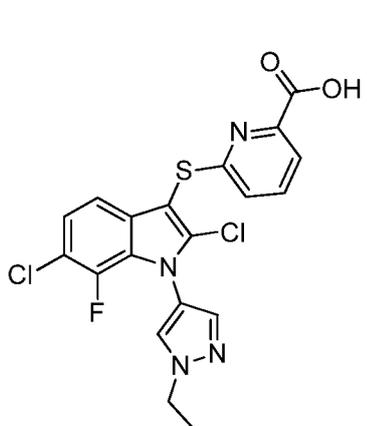
Соединение В,



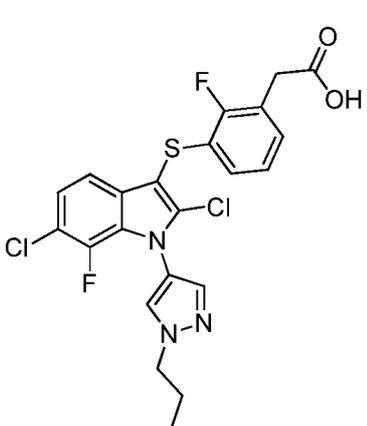
Соединение Е,



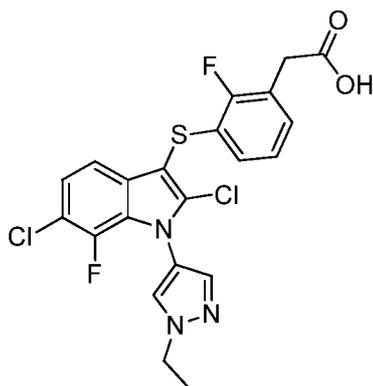
Соединение F,



Соединение G,



Соединение H



или Соединение I,

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

43. Способ по п. 40, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение Н, соединение I вводят в форме фармацевтически приемлемой соли.

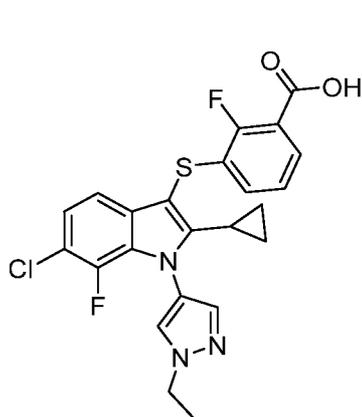
44. Способ по п. 41, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение Н, соединение I вводят в форме соли натрия.

45. Способ по любому из пп. 40-42, в котором злокачественной опухолью является солидная опухоль.

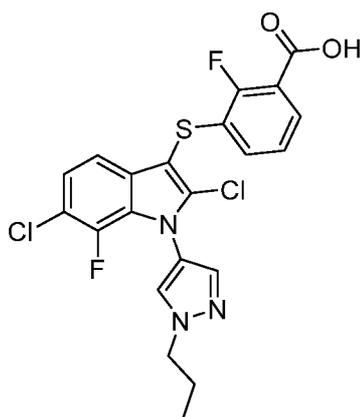
46. Способ по любому из пп. 40-42, в котором злокачественной опухолью является злокачественная опухоль мочевого пузыря, злокачественная опухоль толстой кишки, злокачественная опухоль головного мозга, злокачественная опухоль молочной железы, злокачественная опухоль эндометрия, злокачественная опухоль сердца, злокачественная опухоль почки, злокачественная опухоль легкого, злокачественная опухоль печени, злокачественная опухоль матки, злокачественная опухоль кровеносной и лимфатической систем, злокачественная опухоль яичника, злокачественная опухоль поджелудочной железы, злокачественная опухоль предстательной железы, злокачественная опухоль щитовидной железы или злокачественная опухоль кожи.

47. Способ по любому из пп. 40-42, в котором злокачественной опухолью является саркома, карцинома или лимфома.

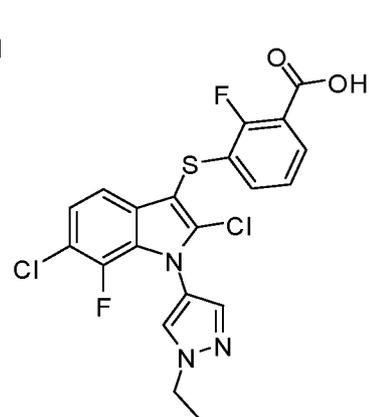
48. Способ снижения или ингибирования ангиогенеза у млекопитающего, включающий введение млекопитающему ингибитора аутоаксина следующей структуры:



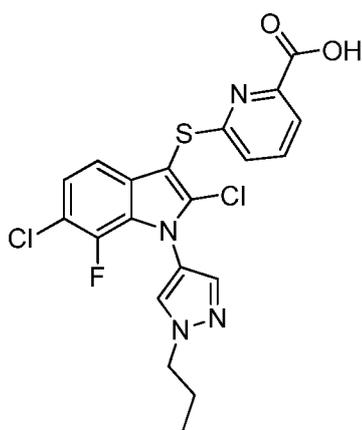
Соединение А,



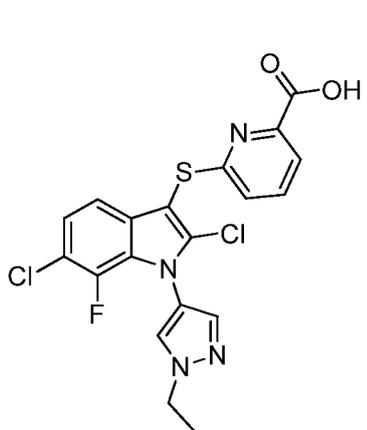
Соединение В,



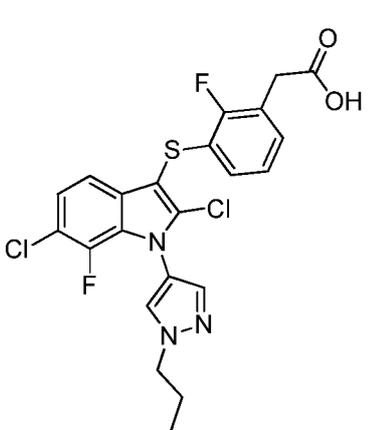
Соединение Е,



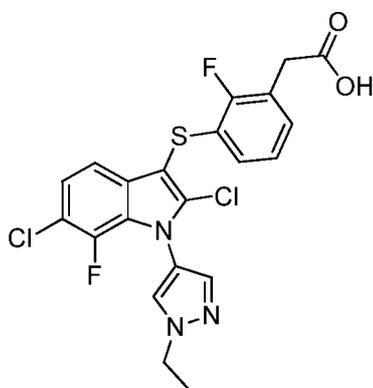
Соединение F,



Соединение G,



Соединение Н



или Соединение I,

или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

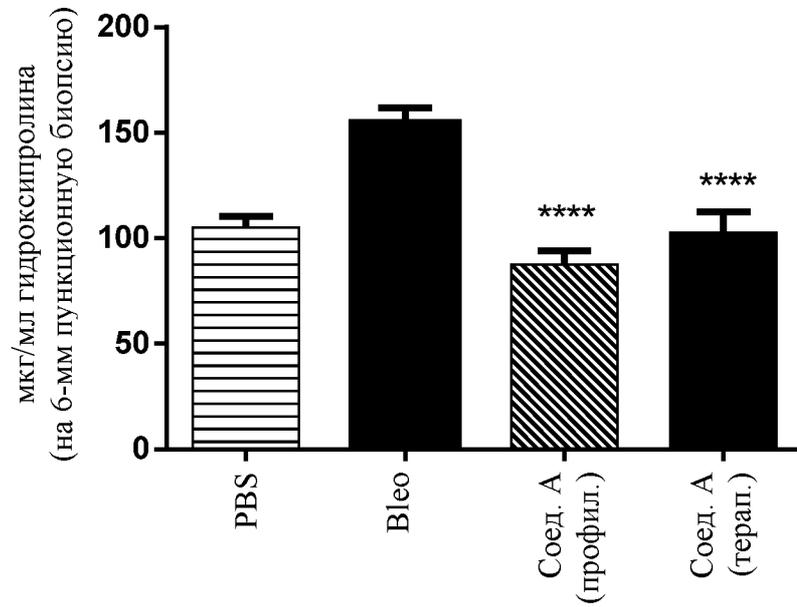
49. Способ по п. 48, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение Н, соединение I вводят в форме фармацевтически приемлемой соли.

50. Способ по п. 49, в котором соединение А, соединение В, соединение Е, соединение F, соединение G, соединение Н, соединение I вводят в форме соли натрия.

51. Способ по любому из пп. 48-50, в котором снижение или ингибирование ангиогенеза у млекопитающего лечит атеросклероз, гипертензию, рост опухоли, воспаление, ревматоидный артрит, влажную форму дегенерации желтого пятна, хориоидальную неоваскуляризацию, ретинальную неоваскуляризацию или диабетическую ретинопатию.

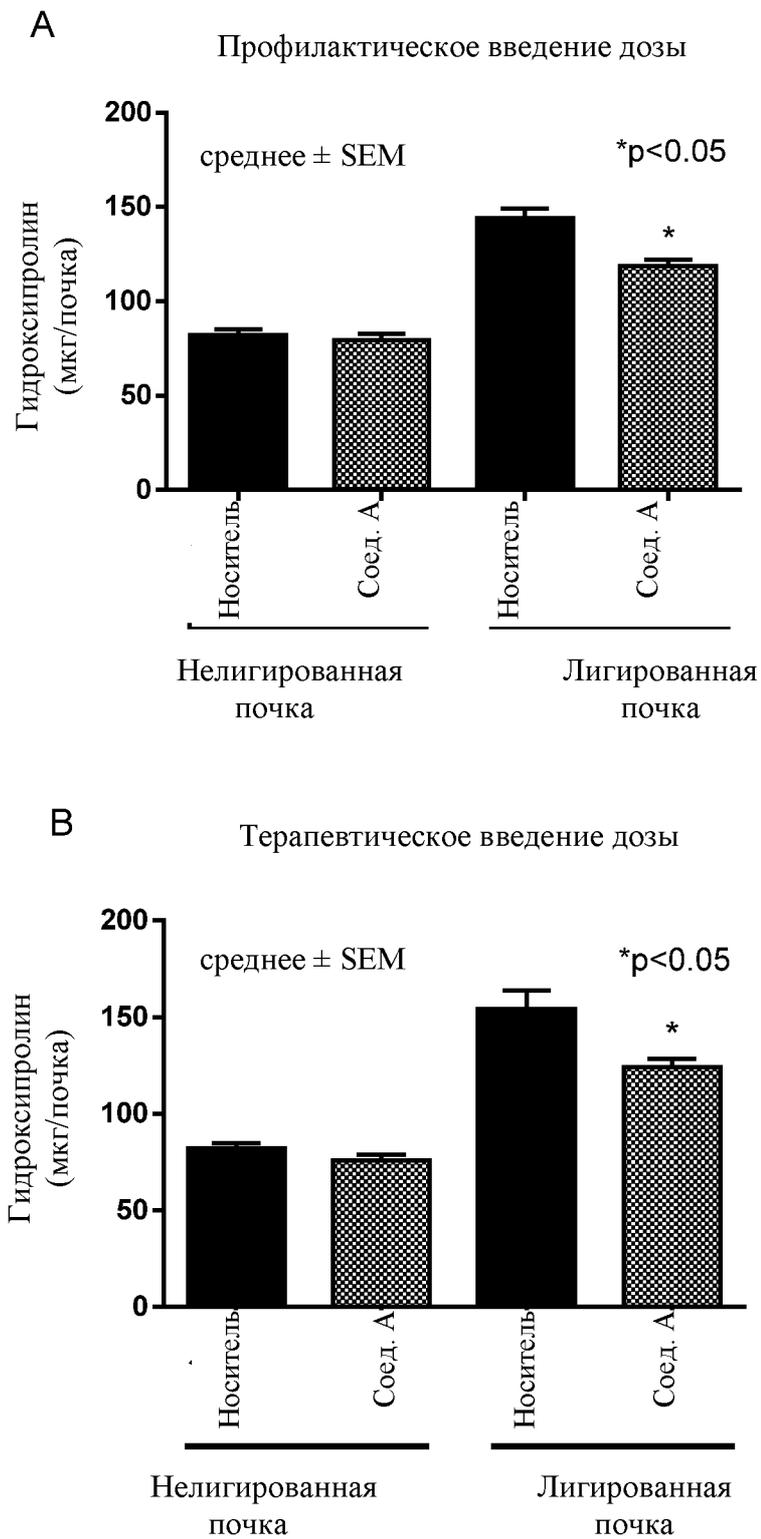
52. Способ по любому из пп. 1-51, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного дополнительного терапевтического средства млекопитающему.

53. Способ по любому из пп. 1-52, в котором млекопитающим является человек.

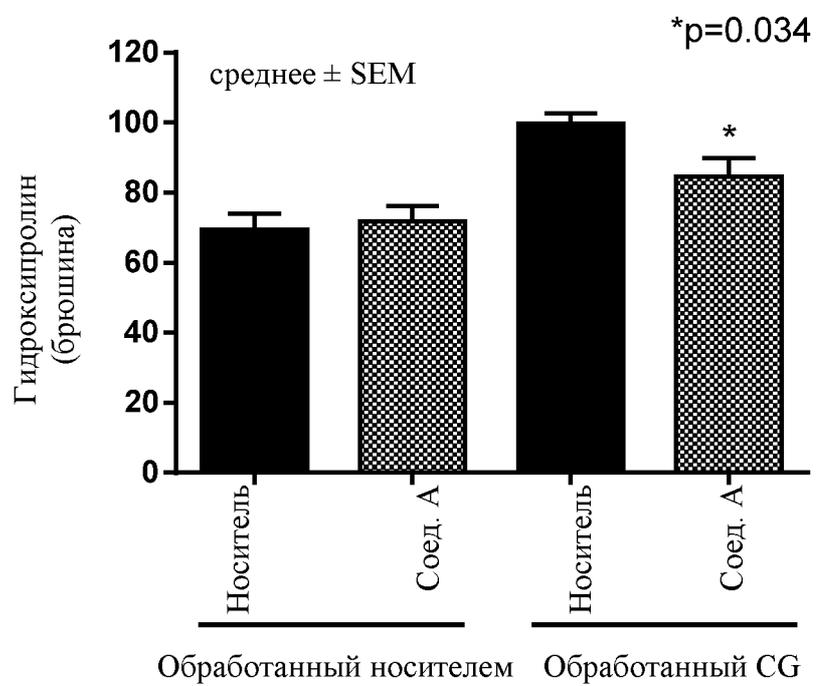


\*\*\*\*  $p < 0,0001$  по сравнению с Bleo  
Однофакторный ANOVA (критерий Даннетта)

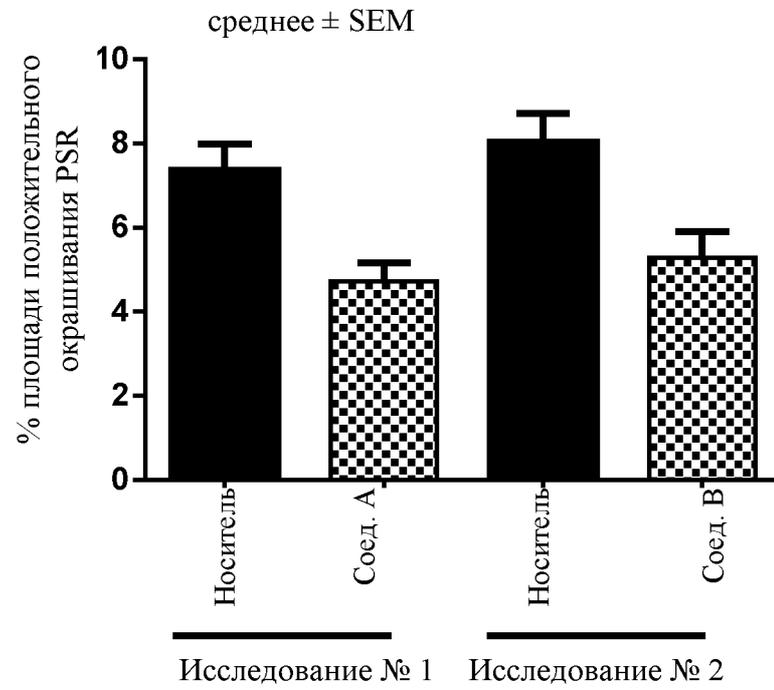
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4